



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE MEDICINA

TÍTULO

**SEROCONVERSIÓN DE LA VACUNA DEL VIRUS DEL
PAPILOMA HUMANO (HPV) EN NIÑAS DEL
COLEGIO DE BACHILLERATO FISCOMISIONAL
“NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO” DE CATAMAYO
EN EL PERIODO DE ENERO-JUNIO 2016.**

TESIS PREVIA A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE MÉDICO GENERAL

AUTORA:

Rosa María Pinzón Imaicela

DIRECTOR:

Dr. Raúl Arturo Pineda Ochoa, Esp.

LOJA – ECUADOR

2017

*El secreto del
éxito...es la
perseverancia.*



CERTIFICACIÓN

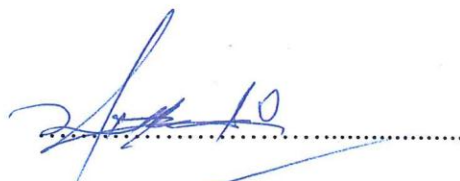
Loja, 18 de septiembre de 2017

Dr. Raúl Arturo Pineda Ochoa, Esp.

DIRECTOR DE TESIS**CERTIFICO:**

Que he revisado y orientado todo el proceso de la elaboración de la tesis de grado titulada: **SEROCONVERSIÓN DE LA VACUNA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) EN NIÑAS DEL COLEGIO DE BACHILLERATO FISCOMISIONAL “NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO” DE CATAMAYO EN EL PERIODO ENERO-JUNIO DEL 2016, de la estudiante Rosa María Pinzón Imaicela**, previo a la obtención del título de Médica General, el mismo que ha sido revisado minuciosamente y devuelto para que realice los cambios sugeridos, una vez cumplido con las observaciones realizadas por el interesado, autorizo la presentación del mismo, que cumple con el reglamento del Régimen Académico concerniente a la graduación, para la defensa privada y la sustentación de la misma para la respectiva sustentación y defensa.

Atentamente,

**Dr. Raúl Arturo Pineda Ochoa, Esp.****DIRECTOR DE TESIS**

AUTORÍA

Yo, Rosa María Pinzón Imaicela, declaro ser autora del presente trabajo de tesis por lo que los criterios, opiniones e ideas vertidas en esta investigación son de mi exclusiva responsabilidad, de tal manera se prohíbe la reproducción total o parcial del presente trabajo, sin previa autorización de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autora: Rosa María Pinzón Imaicela

Firma:

Cédula: 1104373855

Fecha: 18 de septiembre de 2017

AGRADECIMIENTO

Agradezco al Dios Todopoderoso, por ser la guía espiritual en este caminar; por fortalecer mi voluntad y las ganas de superación en todo momento. A mi Sra. Madre Rosa Esperanza Imaicela, porque con sacrificio, dedicación, humildad y amor incondicional me has enseñado el valor del estudio, y lo importante que es conseguir los logros en la vida, por su apoyo constante que se ven reflejados en este sueño ya cumplido. A toda mi familia, por su apoyo constante y desinteresado.

Al Alma Mater, Universidad Nacional de Loja, por haber abierto sus puertas para mi formación integral y profesional, para fortalecer mi compromiso en servir a la humanidad y hacer quedar en alto el nombre de mi querida Universidad especialmente a la Facultad de Medicina Humana (ASH). Al Dr. Raúl Pineda Ochoa, director de tesis, por su valiosa orientación y asesoramiento para la realización de la misma. A la Dra. Sandra Mejía por enseñarme las estrategias básicas del trabajo investigativo y colaborar en la presentación de la misma. Al Ing. José Antonio Moreno por brindarme su asesoría en las técnicas estadísticas y presentación de resultados con técnicas actualizadas.

Mi agradecimiento especial a todos mis maestros por inculcarme el humanismo para servir a la sociedad con humildad y sencillez, y sobre todo con amor al enfermo (a) que yace en su enfermedad. Humanismo del que nace la entrega segura al ejercicio de esta noble misión con bases científicas y de la experiencia de los especialistas.

La Autora

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo investigativo a Dios, por ser el dador de vida, sabiduría y orientar mi proceso de formación integral brindándome las habilidades y destrezas características de esta formación en salud. A mi madre: Sra. Rosa Esperanza Imaicela Jima por ser el ejemplo de lucha constante. A mi tío Mg. Manuel Benigno Imaicela Jima, por su apoyo y ánimo para culminar con entereza mi formación profesional. A mi abuelito José Ignacio Imaicela Narváez, que es un ángel en el cielo que guío cada escalón que he dado en mi vida. A mis hermanos Juan, Luis, Yadira, Rubén, Darwin, Henry y Alexander que con sus muestras de cariño y ejemplo sembraron esperanza y perseverancia en esta meta cumplida. A mi esposo Lic. Didio Gaona por su ánimo ferviente en todo momento y a mi Hija Dayana Salomé Gaona por ser la luz de alegría y felicidad en mi vida.

De igual manera a mis maestros de formación, quienes con sus sabios conocimientos y valores han sabido instruirme y guiarme en la bellísima y más noble de las artes: Medicina. A mis amigas y amigos quienes tuvieron una palabra de aliento y ánimo en el caminar de mi carrera.

Rosa María

ÍNDICE

CARÁTULA	i
CERTIFICACIÓN	ii
AUTORÍA	iii
CARTA DE AUTORIZACIÓN	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE	vii
1. TÍTULO	1
2. RESUMEN	2
SUMMARY	3
3. INTRODUCCIÓN	4
4. REVISIÓN DE LA LITERATURA	7
4.1. Virus del Papiloma Humano (HPV).....	7
4.1.1 Concepto.....	7
4.1.2. Historia natural del Virus del Papiloma Humano (HPV).....	7
4.1.3. Período de latencia	8
4.1.4. Período de regresión	9
4.1.5. Período de presentación de la clínica del VPH	10
4.1.6. Factores de riesgo del Virus del Papiloma Humano (HPV).....	10
4.1.7. Tipos	11
4.1.8. Ciclo Vital de HPV.....	11
4.1.9. Etiología del (HPV).....	12
4.1.10. Epidemiología del (HPV).....	12
4.1.11. Clínica del (HPV).....	12
4.1.12. Diagnóstico (HPV).....	13
4.1.13. Prevención.....	14
4.1.13.1. Primaria.....	14
4.1.13.2. Secundaria	15
4.1.13.3. Terciaria.....	16
4.1.14 Tratamiento (HPV).....	16
4.1.14.1 Fluoracilo.....	16
4.1.14.2 Crioterapia.....	16
4.1.14.3 Electro Cirugía.....	17
4.1.14.4 Cimetidina.....	17
4.1.14.5 Inosine Pranobex.....	17
4.1.14.6 Imiquimod.....	18
4.1.15 Tratamiento de verrugas cutáneas.....	18
4.1.15.1 Ácido salicílico	18
4.1.15.2 Inmunoterapia de Contacto	19
4.1.15.3 Bleomicina intralesional.....	19
4.1.16 Tratamiento de Verrugas genitales.....	19

4.1.16.1	Ácido tricloro-acético.....	19
4.1.16.2	Resina de Podofilino.....	20
4.1.16.3	Podofilotoxina.....	20
4.1.16.4	Cidofovir	20
4.1.16.5	Preservativo.....	21
4.2	Seroconversión de la Vacuna del Virus del Papiloma Humano (HPV).....	21
4.2.1	Concepto.....	21
4.2.2	Vacunas del Virus del Papiloma Humano (HPV)	22
4.2.2.1	Cervarix.....	22
4.2.2.2	Giardasil.....	22
4.3	Tiempo de Seroconversión después de su exposición a la vacuna HPV.....	24
4.3.1	Relación del tiempo con la Seroconversión.....	24
4.3.1.1	Giardasil.....	24
4.3.1.2	Cervarix.....	24
5.	MATERIALES Y MÉTODOS	25
6.	RESULTADOS.....	30
7.	DISCUSIÓN.....	36
8.	CONCLUSIONES.....	40
9.	RECOMENDACIONES	41
10.	BIBLIOGRAFÍA.....	42
11.	ANEXOS.....	46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1. Distribución de las niñas por edades, y tiempo de post-inmunización.....	30
Cuadro N°2. Distribución de porcentaje (%) de Seroconversión de Grupos de niñas.....	32
Cuadro N°3 Distribución de Seroconversión y tiempo de inmunización en niñas.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1. Distribución de las niñas por edades, y tiempo de post-inmunización.....	30
Figura N°2. Distribución de porcentaje (%) de Seroconversión de Grupos de niñas.....	32
Figura N°3 Distribución de Seroconversión y tiempo de inmunización en niñas.....	34

1. TÍTULO

SEROCONVERSIÓN DE LA VACUNA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) EN NIÑAS DEL COLEGIO DE BACHILLERATO FISCOMISIONAL “NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO” DE CATAMAYO EN EL PERIODO ENERO-JUNIO DEL 2016.

2. RESUMEN

El Virus del Papiloma Humano (HPV) es una enfermedad que causa muerte a nivel mundial; existen más de cien cepas de las cuales se establece dos grupos: los de bajo riesgo quienes producen verrugas genitales y los de alto riesgo que ocasionan los cambios celulares que a veces generan cáncer cervical y otros tipos de cáncer en los genitales y la garganta. Teniendo como tema: Seroconversión de la Vacuna del Virus del Papiloma Humano (HPV) en niñas del Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario” de Catamayo en el período Enero-Junio del 2016. Con el Objetivo de identificar la Seroconversión de la vacuna del Virus del Papiloma Humano (VPH) en niñas post-inmunizadas partiendo de definir los grupos etarios y tiempo de post- inmunización de la vacuna del Virus del Papiloma Humano (HPV) ; para de esta manera determinar la seroconversión de la vacuna del Virus del Papiloma Humano (HPV) y relacionar esta Seroconversión con el tiempo de post-inmunización de las niñas . Este estudio fue un estudio transversal y descriptivo con una muestra de 59 estudiantes de 9, 10 y 12 años, utilizando el análisis bioquímico para la vacuna bivalente Cervarix con la IgG HPV; se comprueba la Seroconversión en el tiempo de post- inmunización de 3 a 12 meses de la muestra antes mencionada.

Palabras Claves: Seroconversión; HPV; Vacuna; post-inmunización.

SUMMARY

Human Papillomavirus (HPV) is a disease that causes death worldwide; there are more than 100 strains of which two groups are established: those at low risk who produce genital warts and those at high risk that cause the cellular changes that sometimes generate cervical cancer and other cancers in the genitals and throat. With the theme: Seroconversion of the Human Papilloma Virus Vaccine (HPV) in girls from "Nuestra Señora del Rosario" High school in Catamayo in the period January-June 2016. In order to identify the seroconversion of human papillomavirus (HPV) vaccine in post-immunized girls, based on the definition of the age groups and time of immunization of the human papillomavirus (HPV) vaccine; in order to determine the seroconversion of the Human Papillomavirus (HPV) vaccine and to relate this Seroconversion to the post-immunization time of the girls. This study was a cross-sectional and descriptive study with a sample of 59 students aged 9, 10 and 12 years using biochemical analysis for bivalent Cervarix vaccine with HPV IgG; seroconversion is checked in the post-immunization time of 3 to 12 months of the aforementioned sample.

Key Words: Seroconversion; HPV; Vaccine; post-immunization.

3. INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de que ciertas cepas de alto riesgo del virus del papiloma humano (VPH-AR) causan casi el 100% del cáncer cervical invasivo, lo que ha provocado una revolución en la prevención del cáncer de cuello uterino.

El cáncer cervicouterino (CACU) en el mundo es devastador, constituye la segunda causa de muerte en la mujer en países desarrollados y la primera causa por cáncer en naciones en vías de desarrollo.

Algunos tipos de VPH se denominan virus de “bajo riesgo” puesto que raramente causan cáncer y entre ellos se incluyen el VPH-6 y el VPH-11. Los VPH de alto riesgo, transmitidos sexualmente, se han relacionado con cánceres tanto en mujeres como en hombres y entre ellos se encuentran los tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 y 69. Estos VPH de alto riesgo producen lesiones que en general son planas y prácticamente invisibles, en comparación con las verrugas genitales causadas por el VPH-6 y el VPH-11. Sin embargo, es importante señalar que la mayoría de infecciones por el VPH desaparecen por sí mismas y no causan ninguna lesión anormal

Las infecciones por VPH son las más comunes que se transmiten sexualmente en los Estados Unidos. Cerca de 14 millones de infecciones genitales nuevas por VPH ocurren cada año. De hecho, los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) calculan que más de 90% y de 80%, respectivamente, de hombres y mujeres activos serán infectados por al menos un tipo de VPH alguna vez en sus vidas.

Casi la mitad de estas infecciones son por un tipo de VPH de alto riesgo. La mayoría de las infecciones por VPH de alto riesgo ocurren sin síntomas, desaparecen en 1 o 2 años y no causan cáncer. Sin embargo, algunas infecciones por VPH pueden persistir por muchos años. Las infecciones persistentes por tipos de VPH de alto riesgo pueden presentar cambios celulares que, si no se les da la terapéutica adecuada, evolucionar a cáncer.

En el 2012, más de 83.000 mujeres fueron diagnosticadas de cáncer cervicouterino y casi 36.000 fallecieron por esta enfermedad en las Américas. Si se mantienen las tendencias actuales, el número de muertes en las Américas aumentará en un 45% en el

2030. Las tasas de mortalidad son 3 veces más altas en América Latina y el Caribe que en Norteamérica, evidenciando enormes desigualdades en salud.

En Ecuador, durante el año 2012, 664 mujeres murieron por cáncer de cuello del útero y la incidencia estimada en Ecuador para 2013 fue de 15,8 casos por cada 100 mil habitantes, según el Registro Nacional de Tumores Solca–Quito. Afirma (Vallejo, 2015) que: “Con esta estrategia y la prevención adecuada respondemos a este problema de salud pública, de gran impacto en la sobrevivencia, calidad de vida y salud reproductiva de las mujeres en el territorio ecuatoriano”. Para cubrir las tres cohortes programadas (niñas de 9, 10 y 11 años) se han adquirido 1,4 millones dosis de vacuna contra el virus del papiloma humana.

Es necesario que las mujeres conozcan que este es un problema que aparece con mucha frecuencia en el mundo y está originado por el Virus del Papiloma Humano, provocando una lesión. En Ecuador existen 2.500 casos de cáncer de cuello de útero al año, constituyéndose la primera causa de muerte en las mujeres y luego viene el cáncer de estómago. Estas cifras alarmantes apuntan a que mueren 17 mujeres por semana, en el Ecuador lo que equivale a que fallezcan más de 2.3 mujeres por día. A nivel mundial, el cáncer cervical es el tercer tipo de cáncer más común en las mujeres.

El Cáncer Cervicouterino se ha convertido en un problema de Salud Pública mostrando una cifra de casi el 75 al 80 % de mortalidad nivel Mundial; seguido por América Latina, y el Caribe; esta cifra nos alerta a la búsqueda de estrategias que se pueden emplear en la Prevención Primaria de cada país y del mundo.

Es posible que en algunos años tomando en cuenta los factores predisponentes de riesgo del HPV y las estrategias que se manejen a nivel de Promoción y Prevención Primaria en Salud logremos el objetivo, que muchos ya lo indagan y es el de combatir a esta enfermedad que por décadas se ha convertido en el arma mortal de mucha población a nivel mundial.

En este estudio en el cual se aborda el problema de que si existe o no Seroconversión de la vacuna del Papiloma Humano (HPV) en niñas del Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora Del Rosario” de Catamayo en el período Enero-Junio del 2016; se lo llevó a cabo para comprobar la existencia de anticuerpos formados para este virus. En nuestro país se trabaja con la vacuna bivalente Cervarix y el

Misnisterio de Salud Pública (MSP) elabora programas de vacunación con la finalidad de prevenir el Ca de cuello uterino, ya que esta vacuna no es terapéutica, y por lo tanto no podrán beneficiar a las mujeres ya infectadas, teniendo menos efectos significativos. Esta vacuna es profiláctica y brindará protección sólo contra los tipos del VPH con los que todavía no hayan estado en contacto; de esta manera la vacuna Cervarix contribuye a la atención primaria de salud, que está determinada como una estrategia para combatir el cáncer cervical, actuando de forma dinámica y combinada con la vacunación, la detección precoz y el tratamiento oportuno del cáncer.

El Objetivo de esta investigación fue de identificar la Seroconversión de la vacuna del Virus del Papiloma Humano (VPH) en niñas post-inmunizadas en el Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario” de Catamayo en el período Enero-Junio del 2016; primeramente definiendo los grupos etarios y el tiempo de exposición de la vacuna HPV para determinar la seroconversión de la vacuna (HPV) y de esta manera relacionar la Seroconversión de la vacuna (HPV) con el tiempo de post-inmunización de las niñas. Todo este trabajo se fortaleció con la Hipótesis de que: Existe seroconversión de la vacuna del Virus del Papiloma Humano (HPV) en niñas post-inmunizadas de 3, 6 y 12 meses en el Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario” de Catamayo en el período Enero-Junio del 2016?; siendo su variable dependiente la Seroconversión y la independiente la Vacuna HPV, para dirigir el estudio hacia los fines propuestos. Fue un estudio de tipo descriptivo y de corte trasversal.

En los resultados obtenidos de la muestra de 59 estudiantes con un tiempo estimado de 3, 6 y 12 meses de su exposición de la vacuna HPV, se evidencia que en el Grupo 1 quien está representado por 10 niñas de 9 años con un tiempo de post-inmunización de 3 meses representa el 81% de Seroconversión; el Grupo 2 representado por 31 niñas de 10 años con un tiempo de post-inmunización de 6 meses representa el 93% de Seroconversión y el Grupo 3 que representa a un total de 18 niñas de 12 años con un tiempo de post-inmunización de 12 meses representa el 100% de Seroconversión para la vacuna antes denominada.

4. REVISIÓN DE LA LITERATURA

4.1 Virus del Papiloma Humano (HPV)

4.1.1 Concepto

Los Virus del Papiloma Humano (HPV) son un grupo de virus de ADN de doble banda que pertenecen a la familia Papovaviridae, no poseen envoltura, y tienen un diámetro aproximado de 52-55 nm. Estas partículas virales están compuestas por una cápside proteica, conformada en un 95% por la proteína L1 y en un 5% por la proteína L2, las cuales se ensamblan para formar capsómeros heicosaédricos. Las mismas que son usadas para la fabricación de vacunas profilácticas. Hacia el interior de la cápside se encuentra un DNA circular de doble cadena de aproximadamente 8000 pares de bases, constituido por ocho genes y una región regulatoria no codificante, la cual contiene sitios de unión para factores proteicos y hormonales del hospedero, necesarios para que el virus pueda completar su ciclo de replicación.

4.1.2 Historia natural del Virus del Papiloma Humano (HPV).

Cuando se produce una erosión o microtrauma en la capa superficial de los epitelios diana, se facilita que el virus pueda penetrar en las células de la capa basal, donde amplifica su genoma, expresando las proteínas E1, E2, E6 y E7⁴⁹. En las capas intermedias, se ve que tanto células como virus se replican en tándem, sin haber amplificación de las copias del virus y con poca expresión de los genes anteriores. En las capas superiores, donde el epitelio es diferenciado, el virus se amplifica sin replicación celular, llegando a haber 1000 copias del genoma viral por célula. En este momento, comienzan a expresarse los genes de las proteínas estructurales (L1 y L2), así como el de la proteína E4, produciéndose el ensamblaje de la cápside del virus. El virus infecta la célula, produciendo lesiones en un periodo de tiempo que puede durar de semanas a meses, induciendo una replicación viral en la que no hay viremia detectable, ya que las células diana finales son los queratinocitos diferenciados^{10, 47, 51}.

Estas células están destinadas a descamarse en el estrato superficial del epitelio, donde no se producen señales de peligro obvias que alerten al sistema inmune, por lo que las lesiones no van acompañadas de inflamación. Anticuerpos circulantes contra la proteína viral de la cápside L1, son detectables tras la infección, con tendencia decreciente en las 2-

3 semanas siguientes, manteniéndose niveles bajos de anticuerpos estables y detectables a lo largo del tiempo. La seroconversión confiere inmunidad tipo-específica frente a futuras infecciones, habiéndose descrito cierto grado de inmunidad cruzada entre tipos virales. La inmunidad celular contra la infección viral es crítica en el control y aclaramiento del VPH y, por tanto, en el desarrollo, persistencia y/o progresión de las lesiones displásicas. Las células de Langerhans son las encargadas de presentar los antígenos virales a los queratinocitos, produciéndose una respuesta inmune contra la infección.

La duración media estimada de la infección para los virus de alto riesgo es de 8 a 12 meses, aunque los tipos 16 y 18 tienden a persistir por periodos más prolongados, entre 16 y 24 meses. El 90% de las infecciones por VPH son benignas, subclínicas y autolimitadas, y gran proporción de infecciones se asocian con displasias de bajo grado que regresan espontáneamente^{17, 55, 56}.

Los LSIL pueden ser causados tanto por virus de alto como de bajo riesgo. La infección cervical persistente (definida como detección del virus más de una vez, en un intervalo igual o mayor a 6 meses), es producida por tipos virales de alto riesgo y es el más importante factor de riesgo para progresión a displasia de alto grado. Según un estudio realizado en Costa Rica, con resultados similares a los de otros países desarrollados, las infecciones por VPH 16 y 18 que progresaron a CIN-3 fueron un 17,7 y 13,6% respectivamente^{57, 58}. (Tejeda Diestro, 2007).

4.1.3 Período de latencia.

Es el período desde el momento de infecciones hasta que se manifiestan los primeros síntomas puede variar entre un par de semanas hasta más de un año. (Carlos M. R.). La mayoría de las personas que contraen el VPH no tienen verrugas u otra enfermedad relacionada con el VPH (es decir, los cambios en las células histológicas detectables).

Por lo tanto, no puede ser detectada mediante inspección visual, citología o la prueba de HPV, siendo en esta etapa no contagioso. Sin embargo, debido a que el virus puede pasar de la latencia a la enfermedad del HPV, como verrugas o cambios en las células cervicales, no es posible garantizar que el individuo permanecerá, no contagioso, de forma indefinida. El uso consistente del condón se ha demostrado reducir el riesgo de transmisión del HPV en un 70 %.

En la Subclínica infección por el HPV se aplica a los cambios en las células epiteliales del tracto genital inferior que no puede ser visto macroscópicamente. El cambio más evidente es la neoplasia intraepitelial de cérvix (cuello del útero cambio precanceroso, displasia, CIN 1, 2 o 3) que se puede ver después de la aplicación de (ácido acético) a la piel, seguido de un examen minucioso, por lo general con un aumento de las áreas que se vuelven blancas (zonas acetoblancas). Por lo tanto los médicos deben ser un poco cautelosos de la aplicación del término " subclínicas " contra el HPV a menos que una biopsia confirmó el diagnóstico. En la clínica contra el HPV presenta verrugas y cambios precancerosos en los genitales externos (vulva perianal y la neoplasia intraepitelial de pene), así como de cuello uterino y otros cánceres del tracto genital inferior por lo general se puede ver con el " desnudo " ojo. Las manifestaciones clínicas más comunes de VPH son los siguientes: El Condiloma acuminado, cuando una verruga se presenta en forma de coliflor (papilar) se llama condiloma acuminado. La mayoría de verrugas son causadas por " bajo riesgo " del VPH 6 u 11; son los más comunes (65 %) de la vulva y de pene externa lesiones del VPH. También se puede encontrar en la vagina y el ano. Sólo el 3% de las lesiones cervicales son de este tipo. Condiloma Plano que son verrugas planas o condilomas planos. La mayoría de las verrugas externas que son planas son secundarias al HPV 16, o en otros de "alto riesgo". Se deben tratar como las verrugas genitales y no como una verdadera condición precancerosa. Neoplasia intraepitelial de alto grado "precancerosas" del HPV pueden producir lesiones en la vulva, la zona del canal anal y perianal, y el pene. La mayoría de estas lesiones son planas. Pueden ser muy blanco, debido a gruesas capas de queratina, o rojo debido a la oferta creciente de la sangre, o distintas tonalidades de marrón a gris oscuro debido al aumento de pigmento. El VPH es la causa del Cáncer de cuello uterino, así como cerca del 80 % de Cáncer de vagina, el 50 % de los cánceres de pene, y el 90 % de los cánceres anales. En cualquiera de estas áreas, el cáncer puede aparecer indistintamente como un nódulo, la erosión o úlcera, un engrosamiento, etc. (VPH, 2011).

4.1.4 Período de regresión.

Una vez que se contagia el virus tiene una incubación desde el contacto inicial de entre 3 semanas a 8 meses. Los síntomas no son evidentes, haciendo fácil su propagación. En casi el 90 % de los casos, el sistema inmunitario combate la infección en un lapso de dos años y son eliminados del organismo, solo el 10 % continuará con la infección y estas

pueden llegar a evolucionar hasta lesiones precancerosas (neoplasia intraepitelial cervical grado 3, NIC III) o desarrollar cáncer cervical o de cuello uterino, así como genital o anal al cabo de 10 o 12 años. (Emilia, 2016).

4.1.5 Período de presentación de la clínica del HPV.

En el hombre, las verrugas genitales pueden aparecer alrededor del ano o en el pene, escroto (testículos), ingle o en los muslos y en la región bucofaríngea por la práctica sexual orogenital con mujeres u hombres que estén infectados por el virus. Las verrugas pueden aparecer semanas o meses después del contacto sexual con la persona infectada. El cáncer en los hombres puede producirse en el pene, ano o cavidad oro aríngea . Y a pesar de que la incidencia de cáncer es menor que en la mujer, lo que sí es seguro es que son portadores del virus.

En las mujeres, los métodos más utilizados para detectar y diagnosticar la presencia de lesiones de VPH son: mediante el control ginecológico, la citología (Papanocolau) y la colposcopia, pero también se pueden observar a simple vista las lesiones coliformes o acuminadas en el área genital o del periné o perianales. (Emilia, Todos podemos tenerlo y no saberlo: Virus del Papiloma Humano (VPH), 2016).

4.1.6 Factores de riesgo del Virus del Papiloma Humano (HPV)

Los factores de riesgo para cáncer cervicouterino son los 15 tipos de VPH de alto riesgo u oncogénico. Los estudios de biología molecular demuestran que la infección por virus del papiloma humano persistente es causa necesaria, pero no suficiente, para que éste aparezca. Los factores de riesgo que predominan son: edad de inicio de vida sexual activa entre 14-16 años 72 pacientes (53%), de 4-6 parejas sexuales 73 pacientes (54%), de 1 – 3 gestas 75 pacientes (56%). Se realizó colposcopia a 91 pacientes (67%) y 79 presentaron Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo grado más HPV. El tratamiento más utilizado fue Antimicótico a 83 pacientes (61%). Por esta razón es importante poner atención a este problema de salud con la finalidad de prevenir y disminuir la tasa de infectados. (Noemi & Fernanda, 2014).

4.1.7 Tipos

Los tipos de HPV mucosos asociados con lesiones benignas (tipos 6 y 11 principalmente) son conocidos como tipos de "bajo riesgo" y se encuentra preferentemente en los condilomas acuminados, mientras que aquellos tipos asociados a lesiones malignas (tipos 16, 18, 30, 31, 33, 35, 45, 51 y 52, principalmente) son conocidos como virus de "alto riesgo".^{2, 3} Entre ellos, los VPH 16 y 18 son los oncogénicos más comunes, que causan aproximadamente el 70 % de los cánceres cervicales en todo el mundo. Otras clasificaciones menos estrictas incluyen a los tipos 56, 58 y 59, 68, 73 y 82, y los tipos 26, 53 y 66 como probablemente carcinogénicos.

4.1.8 Ciclo vital de los HPV

El ciclo de los VPH está estrechamente ligado al crecimiento y diferenciación de las células epiteliales hospederas. El HPV inicia su ciclo productivo infectando a las células poco diferenciadas de las capas basales del epitelio, donde inicia la transcripción de sus genes. La forma en que el HPV alcanza las células de los estratos bajos del epitelio es a través de lesiones, micro-heridas y abrasiones del tejido. El virus se une a su célula blanco a través de un receptor de membrana, la molécula $\alpha 6$ -Integrina. Una vez ocurrida la infección el virus se establece dentro del núcleo de las células basales. El DNA viral permanece en estado episomal (circular) fuera de los cromosomas del hospedero, replicándose a niveles muy bajos en coordinación con la división celular. Cuando las células infectadas se diferencian y migran desde la capa basal hacia el estrato espinoso del epitelio, la replicación viral se estimula, produciendo la acumulación de viriones dentro del núcleo. El análisis de las moléculas de ARN mensajero viral durante las diferentes etapas de diferenciación de las células infectadas demuestra que la expresión de los genes tempranos ocurre a lo largo de todos los estratos epiteliales, sin embargo la expresión de los genes tardíos se observa únicamente en los queratinocitos totalmente diferenciados de los estratos más superficiales, donde también ocurre el ensamblado de las cápsides virales que dan lugar a la formación de viriones, 9-11 que al parecer siguen fases bien definidas pero variables en la infección transitoria y en el desarrollo de lesiones premalignas y malignas del cuello uterino que se han determinado por medio de marcadores celulares.

Los HPV no presentan una fase lítica, por lo tanto se valen de las características propias de las células que los albergan para propagar su progenie, la cual es liberada

cuando las células terminales del estrato corneo sufren un proceso de descamación. Cuando se estudian las lesiones histológicas y los marcadores moleculares, en un mismo tipo de lesión histológica puede mostrar diferentes marcadores, y en dentro de una misma biopsia pueden haber diferentes expresiones. Estas anomalías tempranas en el ciclo viral pueden desencadenar el desarrollo de lesiones NIC o del CCU. Es decir, los marcadores celulares pueden constituir técnicas adecuadas para mejor predecir el futuro de las lesiones. (G. José, 2009).

4.1.9 Etiología del Virus del Papiloma Humano (HPV)

El virus del papiloma humano (VPH) es la infección de transmisión sexual (ITS) más común. Más del 50% de las mujeres y los hombres sexualmente activos son infectados por VPH en algún momento de sus vidas. Actualmente se considera a este virus un agente causal necesario para el cáncer cervical (CC). Aproximadamente el 100% de los CCU escamosos o glandulares se asocian a la infecciones por esto que VPH es un agente que se ha establecido como causa necesaria pero no suficiente para el desarrollo de la enfermedad. (F & Martha, 2010).

4.1.10 Epidemiología del Virus del Papiloma Humano (HPV).

El CCU constituye la segunda causa de muerte por cáncer en las mujeres en todo el mundo. Su incidencia mundial es de 530.000 casos por año y mortalidad de 275.000 muertes durante el 2008. Del total de cánceres relacionados al HPV, el 94% afecta a mujeres; de éstas más del 85% vive en países no desarrollados. Según datos epidemiológicos y virológicos se estima que el HPV causa 100% de los casos de CCU, 90% de los casos de cáncer anal, 40% de los de órganos genitales externos (vulva, vagina y pene) y al menos 20% de los orofaríngeos. Se observa mayor incidencia en África subsahariana, Oceanía, América Latina, Caribe, Sudeste y Centro Asiático. El CCU ocurre más comúnmente en mujeres mayores de 40 años. (Argentina, 2014).

4.1.11 Clínica del Virus del Papiloma Humano (HPV).

Son diferentes manifestaciones clínicas que van desde infecciones asintomáticas, infecciones latentes, condilomas acuminados hasta displasias y carcinoma invasivo de cuello uterino. Se estima que la infección por este virus es responsable de aproximadamente 500,000 casos de cáncer cervical y 275,000 muertes asociadas a nivel

mundial, de las cuales 80% ocurre en países en vías de desarrollo. El VPH puede no manifestar síntomas y, en muchas personas, no llega a causar problemas de salud, sino que el virus es eliminado por el sistema inmune del organismo. Sin embargo, cuando la infección por VPH no se cura, y dependiendo del tipo de virus, puede provocar desde verrugas genitales, hasta enfermedades graves, como diversos tipos de cáncer. En las mujeres, el papilomavirus puede provocar la aparición de verrugas genitales, que pueden ser de diversos tamaños, planas o elevadas, y que el médico puede observar a simple vista. Si no se sigue ningún tratamiento, con el tiempo estas verrugas pueden desaparecer, permanecer inalterables, o crecer y multiplicarse, (Marta, 2016).

El virus del papiloma humano HPV 16 se ha vinculado estrechamente con la Papulosis bowenoide periungueal PB. Otros tipos de VPH relacionados con la BP han sido 18, 31-35, 39, 42, 48 y 51 a 54. El HPV 16, 18 y el 33 son los considerados con mayor potencial oncogénico. Se considera un carcinoma escamoso in situ, con un riesgo estimado de transformación a carcinoma invasivo, Lesión periungueal exofítica, de coloración rojo grisácea y superficie hiperqueratósica del 2,6%. El mecanismo oncogénico se iniciaría con la infección de las células por el HPV induciendo en ellas alteraciones genéticas. Los serotipos de alto riesgo producen 2 oncoproteínas (E6-E7) capaces de inactivar las proteínas de supresión tumoral RB y la P53, respectivamente, dando lugar a la proliferación celular descontrolada. Se ha demostrado la presencia de VPH en las lesiones de PB y en la piel sana adyacente, lo que indica que la infección por el VPH es necesaria pero no suficiente para el desarrollo de una PB. Su desarrollo puede necesitar la presencia de otras alteraciones, como mutaciones genéticas adicionales de la célula huésped. La histopatología es similar a la de la EB, observándose en la PB la presencia de cambios más focales y menos intensos. El diagnóstico diferencial entre estas 2 entidades requiere siempre un correlato clinicopatológico. Suelen ser lesiones recurrentes, y dada su posible capacidad de evolución a un carcinoma invasivo se recomienda la exploración periódica del paciente y de sus parejas sexuales y el estudio de su inmunidad en el caso de lesiones persistentes o recidivantes. (Gómez Vázquez & Navarra Amayuelas, 2013).

4.1.12 Diagnóstico del Virus del Papiloma Humano (HPV)

Entre los métodos que se han desarrollado para el diagnóstico de las infecciones por VPH genital destacan:

Ensayo en base a reacción de polimerasa en cadena (*PCR-based assay*- Amplicor VPH; Roche Diagnostic, Basel, Switzerland), disponible actualmente en Europa. Identifica a 30 genotipos, incluyendo 13 de alto riesgo u oncogénicos.

Reacción de polimerasa en cadena y ADN/ARN viral mediante la prueba de captura de híbridos (Hybrid capture® 2-HC2; Digene, Gathesburg, MD, E.U.A.). Prueba rápida en lote (menos de 2 horas) para detectar por lo menos 13 genotipos oncogénicos. El Programa para la Tecnología Apropriada para la Salud (PATH), en colaboración con Arbor Vita Corporation (E.U.A.), está desarrollando una segunda prueba, una tira de flujo lateral, para la detección de la proteína E6 en los tipos oncogénicos de VPH, en menos de 20 minutos. El Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología ha entregado una guía para la utilización de estas técnicas y recomendaciones para la interpretación de resultados, en conjunto con resultados citopatológicos y tecnología en el diagnóstico celular. El diagnóstico de las verrugas comunes se basa en su presentación clínica, su localización anatómica y su histología. En la mayoría de los casos no es necesaria la identificación del genotipo viral, ya que todos corresponden a tipos de bajo riesgo o benignos (VPH 11 en papilomatosis laríngea; verrugas vulgares: VPH 2, 27 y 57; verrugas planas: 3 y 10; manos y pies: VPH1). Ninguno de los exámenes disponibles para la detección de genotipos mucosos ha sido aprobada por la *Food and Drug Administration*, para su utilización en tipos cutáneos. En el caso de estudios de carcinomas cutáneos no melanoma (VPH 5/8), lo ideal es realizar una RPC anidada, con el fin de identificar la presencia de la mayor cantidad de tipos cutáneos. (María, 2007).

4.1.13 Prevención

La prevención se la considera eminentemente importante debido a que se estima que se disminuye el número de casos de cáncer de cuello uterino en mujeres de todas las edades.

4.1.13.1 Primaria.- Tanto vacunas preventivas como terapéuticas se encuentran en actual desarrollo, constituyendo una gran esperanza en el tratamiento del VPH.

Las primeras vacunas desarrolladas, con finalidad profiláctica, están conformadas por sub-unidades de pseudo-cápsides virales-PCV generadas por auto-ensamblaje de L1, la principal proteína capsular. Las vacunas contienen L1 PCV de los virus VPH tipo 16,18, 6 y 11, aislados o combinados con sustancias estimuladoras de la respuesta inmune. La

protección de estas vacunas es específica para cada tipo de virus y sólo es efectiva si se utiliza antes de la exposición al virus (en la práctica, antes de la primera relación sexual). Estas vacunas son polivalentes incluyendo los tipos predominantes en la población a inmunizar y se colocan en tres dosis (0, 1 mes y 6 meses). Se han llevado a cabo ensayos clínicos de fase III para evaluar la vacuna cuadrivalente (Gardasil® de Merck, Sharp & Dohme) que contiene los serotipos 6, 11, 16 y 18, en más de 25.000 participantes reclutadas de todo el mundo. También se encuentra en evaluación la vacuna bivalente genotipos 16 y 18 (Cervarix de Glaxo SmithKline) esperándose su comercialización durante el año 2007. Los primeros resultados con la vacuna cuadrivalente son extremadamente positivos: durante un período de dos años, comparado con el grupo placebo, no se ha observado ningún caso de neoplasia intraepitelial, en aproximadamente las 6.000 mujeres vacunadas. Todavía existen varios aspectos importantes no conocidos, tales como la duración de la protección, la prevención de la infección y de la enfermedad causada por otros genotipos virales, y los beneficios globales de una vacunación universal. Se espera que sea altamente efectiva en la prevención de la infección por los tipos de HPV responsables de aproximadamente el 70% de los casos de cáncer de cuello uterino (tipos 16 y 18), y de ~ 90% de los casos de verrugas genitales (tipos 6 y 11). La FDA aprobó su comercialización en E.U.A., en junio 2006 y se estima su lanzamiento comercial en Chile dentro de pocos meses. Las Vacunas terapéuticas inducen inmunidad contra E6 y E7, y otros antígenos expresados en el epitelio infectado por VPH, e inducen una respuesta antígeno específico mediado por linfocitos T. Estas vacunas serían capaces de inducir una regresión tumoral y se utilizarían como terapia oncológica. Se han diseñado: vacunas recombinantes proteicas o peptídicas, vacunas PCV-L1, vectores recombinantes y vacunas con ADN específico. (María, 2007).

4.1.13.2 Secundaria.- Por consenso, los controles de diagnóstico precoz deben iniciarse no más tarde de 3 años del inicio de relaciones sexuales. Deben realizarse 2 citologías seguidas con periodicidad anual. Si ambas son normales, puede realizarse control trienal. El período de expresión comprende el tiempo que transcurre desde que la persona infectada comienza a mostrar algún síntoma de la enfermedad y hasta que se produce el desenlace. Una Neoplasia Cervical Intraepitelial (CIN) es la aparición de células atípicas en el epitelio escamoso cervical sin llegar a romper la membrana basal. CIN1 se clasifica en 3 grados diferentes según su patogenia: CIN1: las atipias no llegan al estrato medio. No debe considerarse precancerosa. CIN2: las atipias llegan al estrato

medio.CIN3: las atipias abarcan todo el grosor del epitelio. Los CIN 2 y 3 deben considerarse lesiones con riesgo de desarrollar carcinoma de cérvix. La evolución del virus depende de su agresividad, inmunocompetencia de la paciente y cofactores (tabaquismo). En general, desde la aparición del virus hasta el desarrollo de un cáncer de cuello. (Beatriz, 2016).

4.1.13.3 Terciaria.-Tratamiento y seguimiento de las lesiones detectadas .El gran avance experimentado en los últimos años de nuestro conocimiento de las causas del cáncer de cuello de útero (CCU) y del proceso de su desarrollo nos ha permitido introducir nuevos planteamientos en su prevención, haciendo posible por vez primera la prevención primaria y modificando muy profundamente las pautas de prevención secundaria. (Javier, 2015).

4.1.14 Tratamiento del Virus del Papiloma Humano (HPV)

En la actualidad, no existe algún fármaco específico contra el HPV, de uso sistémico, que presente un bajo perfil de toxicidad, y con eficacia comprobada. La solución ha sido la utilización de métodos terapéuticos que destruyen las células infectadas (físicos, químicos o quirúrgicos). En la literatura médica, múltiples publicaciones relatan terapias contra el HPV, pero lamentablemente se presentan escasos trabajos randomizados y con seguimiento a largo plazo. Es llamativa la escasa diferencia en resultados de las distintas terapias utilizadas. Destaca la menor efectividad del podofilino, lo cual ha sido confirmado por sucesivos estudios comparativos. En las terapias quirúrgicas (láser de CO₂, electrocirugía y extirpación quirúrgica), no existen estudios que avalen este supuesto mayor porcentaje de éxito, en realidad estas tres terapias son equivalentes en resultados.

4.1.14.1 Fluoracilo.-Aparece con un porcentaje mucho menor de recidiva, pero los estudios en los que se basa esta afirmación presentan un número insuficiente de pacientes y su metodología es poco clara. En la actualidad es poco utilizado, dada su escasa respuesta en la práctica clínica (similar respuesta que al podofilino), y la presencia de efectos colaterales, tales como considerables erosión e irritación.

4.1.14.2 Crioterapia.- Es la aplicación de nitrógeno líquido en la verruga, a través de un fino *spray* desde un *cryojet*, o congelando directamente la lesión con criosondas. El mecanismo de acción es la producción de una necrosis epidérmica y dérmica, junto a una trombosis de la microvasculatura dérmica. El tratamiento recomendado es cada dos o tres

semanas, y en cada sesión se utiliza una técnica de: congelación descongelación congelación, hasta que aparezca un halo de congelación a unos pocos milímetros alrededor de la lesión. Esta técnica ha demostrado ser más efectiva que una sola congelación (Guía del Reino Unido para el tratamiento de verrugas genitales). La duración de la congelación aconsejada hoy en día es la que el paciente pueda tolerar. En un estudio de revisión de terapia, la criocirugía fue igual de efectiva que el ácido tricloroacético y más efectivo que el podofilino. Sorprendentemente, no existe evidencia suficiente sobre la efectividad de la crioterapia *versus* placebo, pero sí que ésta debe ser aplicada por lo menos en dos congelaciones para ser más efectiva.

4.1.14.3 Electro-cirugía, tratamiento con láser y extirpación quirúrgica .- No es posible establecer las indicaciones claras para la elección del método quirúrgico, en general, ya que esto depende de la distribución de las lesiones, su tamaño y la experticia del cirujano. Los pacientes son tratados bajo anestesia local, la que muchas veces produce una separación y elevación de las lesiones exofíticas, facilitando la extirpación exacta y evitando el daño de la piel no afectada, con resultados quirúrgicos generalmente muy favorables. Si se destruye con mayor profundidad, se pueden producir fibrosis y cicatrices retráctiles. No se han publicado estudios que muestren, en forma estadísticamente significativa, que alguna de las terapias quirúrgicas utilizadas sea mejor que otra. En verrugas genitales, los resultados son similares a la criocirugía y mejores que el podofilino. Todos los miembros del equipo que utilizan, tanto el electro-cirugía como la cirugía con láser, deben usar mascarillas quirúrgicas y extractor de humo, dado la presencia de virus viable en los extractores.

4.1.14.4 Cimetidina.- Aumenta la respuesta inmunitaria bloqueando los receptores de las células Tsupresoras. No existen en la literatura científica revisiones sistemáticas sino, tan solo, trabajos randomizados con escaso número de pacientes, por lo cual su respuesta no es clara en relación a las terapias tópicas (crioterapia y ácido salicílico).

4.1.14.5 Inosine pranobex. Esta molécula es también un inmunomodulador inespecífico como la cimetidina, pero existe una mayor evidencia de su eficacia. Hay dos estudios randomizados que concluyeron una leve diferencia en relación al placebo, con dosis de 1 gr 3 veces al día por un mes. Se utiliza como terapia adyuvante a la crioterapia, al ácido salicílico, y al podofilino interferón. Ha demostrado su eficacia en forma tópica y sistémica, sólo en trabajos randomizados, con pequeños grupos de pacientes. Lo más

significativo ha sido la reducción del área comprometida por la verruga, usándose como terapia coadyuvante junto al podofilino.

4.1.14.6 Imiquimod. Es un análogo de nucleótidos que, aplicado en forma tópica, actúa como un modificador de la respuesta inmune, induciendo la producción de interferón y factor de necrosis tumoral (FNT). Estas citoquinas aumentan la respuesta celular de los linfocitos T-helper (Th)1, incrementando la producción de interferón, el que, a su vez, activa a los linfocitos citotóxicos. Además, es capaz de estimular en forma directa las células NK (*natural killer*) y las células de Langerhans. Actualmente se comprende la importancia de la respuesta inmune innata (barreras epiteliales, fagocitos y complemento) y, en especial, de las células dendríticas y macrófagos, para activar una respuesta inmune específica. El imiquimod utilizado en forma tópica actúa como un ligando de los receptores *Toll-like 7*, induciendo la producción de interferón y otras citoquinas pro-inflamatorias. Existe una segunda generación de moléculas, tales como el resiquimod, que es capaz de activar los receptores *Toll-like 8*, que se encuentran actualmente en fase de evaluación para patologías virales, tales como infecciones por virus herpes simple. En su conjunto, estos modificadores de respuesta se presentan como una opción terapéutica promisoriosa. Los pacientes deben aplicarse el imiquimod al 5% crema, una vez al día, (al acostarse), generalmente tres veces por semana, durante hasta 16 semanas. Se ha ensayado hasta tres veces al día, según tolerancia del paciente, con resultados similares. Son comunes las reacciones inflamatorias locales, en forma moderada a grave, las que se resuelven al suspender la terapia durante dos semanas. Su eficacia está demostrada en las verrugas genitales, con una respuesta local hacia las ocho semanas de uso, muy por el contrario a terapias que actúan en forma inmediata (ácido tricloroacético y podofilino). En las verrugas cutáneas su uso diario, nocturno, oclusivo, disminuye el área en verrugas recalcitrantes, junto a otras terapias coadyuvantes.

4.1.15 Tratamiento específico de las verrugas cutáneas.

4.1.15.1 Ácido salicílico. La efectividad de este queratolítico e irritante local, es similar a la crioterapia, lo cual fue demostrado en un meta-análisis, con la ventaja de que puede ser aplicado por el propio paciente, y a un menor costo económico. El sistema de revisión sistemática Cochrane 2006 demostró que la efectividad del ácido salicílico era mejor que el placebo. La mayoría de los estudios analizados eran de baja calidad metodológica. Además se encontró gran heterogeneidad entre los estudios en cuanto a diseño,

metodología y resultados. La aplicación debe ser muy constante, en forma diaria, en las noches (oclusivo), retirando previamente la capa de queratina que recubre las verrugas.

Los efectos adversos pueden ser considerables, por lo cual los pacientes deben graduar la utilización según tolerancia. No debe utilizarse en áreas extensas, ni en altas concentraciones, especialmente en niños, ya que se ha reportado toxicidad sistémica. Se utiliza en forma asociada, en verrugas recalcitrantes (ácido salicílico, crioterapia, imiquimod).

4.1.15.2 Inmunoterapia de contacto. El dinitro-clorobenceno y la difenciprona pueden ser usados como sensibilizadores de contacto en pacientes con verrugas recalcitrantes. La solución es aplicada en 1 cm² de piel sana, en la cara interna del brazo no dominante, para provocar una sensibilización y luego, se aplica directamente en la verruga. Este tratamiento no se utiliza en verrugas faciales ni en genitales, pues puede producir reacciones adversas mayores (ampollas). Sólo dos trabajos randomizados, con una escasa cantidad de pacientes, ha demostrado una eficacia mayor al placebo. En la actualidad se prefiere el uso de la difenciprona, dada la presencia de un riesgo teórico de mutagenicidad del dinitro-clobenceno.

4.1.15.3 Bleomicina intralesional. Es considerada una terapia de tercera línea en las verrugas cutáneas. Presenta actividad anti-mitótica, uniéndose al ADN, y actividad antiviral. Se han publicado cuatro trabajos randomizados y controlados, con una evidencia poco sustentable. En uno de ellos, se obtuvieron los mismos resultados con diferentes concentraciones (0,25% *versus* 1,0%). La infiltración debe ser superficial hasta lograr el blanqueamiento total de la verruga, produciéndose luego dolor y, en ciertos casos, rezume hasta la formación de una escara, al tercer día post terapia. El fármaco debe ser usado con precaución en las zonas periungueales, dado el riesgo de comprometer la matriz. Es teratogénico en el embarazo, aunque no se han demostrado efectos sistémicos similares a los observados cuando se utiliza como quimioterapia en el cáncer.

4.1.16 Tratamiento específico de las verrugas genitales.

4.1.16.1 Ácido tricloro-acético. (TCA) Junto al ácido bicloroacético (BCA) son agentes cáusticos que destruyen las verrugas por coagulación química de las proteínas y destrucción directa del ADN viral. Pese a que estas preparaciones son ampliamente utilizadas, no han sido completamente estudiadas (no existen publicaciones de BCA). Sólo

se reportan dos estudios randomizados, comparativos entre crioterapia y TCA, con resultados de eficacia similares, y un tercer estudio comparativo, como adyuvante a la terapia con podofilino, sin mostrarse mayor mejoría con el uso conjunto de ambas terapias, en comparación con podofilino solo. Es el tratamiento de elección en mujeres embarazadas, con una efectividad de ~ 90% y una recurrencia de ~ 6%. Es un tratamiento económico, pero requiere de una colocación con extremo cuidado, ya que, cuando se aplica en forma excesiva, puede dañar áreas adyacentes. Se aplica una pequeña cantidad directamente sobre la verruga, se deja secar, desarrollándose un color blanco en la verruga. Si produce mucho dolor se neutraliza, y generalmente se utiliza en forma semanal.

4.1.16.2 Resina de podofilino o podophyllum. El podofilino es un extracto alcohólico de rizomas y raíces de plantas (*Podophyllum peltatum* y *P. emodi*), que presenta un efecto antimitótico al unirse en forma irreversible a la tubulina, siendo capaz además de destruir los viriones del VPH en 85% de la verrugas tratadas. Estos extractos no son estandarizados, y se han descrito efectos mutagénicos (por los compuestos flavonoides quercetina y kenferol), y efectos sistémicos irreversibles de intoxicación: vómitos, coma, depresión respiratoria, hematuria, falla renal, y muerte por frenación medular. Por esta razón, se recomienda utilizar < 0,5 ml de podofilino o un área menor a 10 cm² y, para reducir la irritación local, lavar la zona en 1 a 4 horas postaplicación.

4.1.16.3 Podofilotoxina. Extracto purificado de la podofilina, se une a los microtúbulos, inhibe las mitosis e induce necrosis de las lesiones, efecto que es máximo a los 3 o 5 días de uso y, en particular en las primeras dos semanas de aplicación. Se presenta en una concentración de 0,5% solución, gel o crema al 0,15%. La aplicación se realiza dos veces al día durante 3 días, seguido por 4 a 7 días sin tratamiento. Este ciclo puede ser repetido durante 4 semanas. Los efectos adversos locales son moderados, especialmente cuando los resultados son favorables. No es oncogénico ni teratogénico y, cuando es utilizado como quimioterápico a altas dosis, sólo se ha reportado malestar gastrointestinal y depresión medular transitoria. En un reciente meta-análisis se reportó una alta eficacia, con un bajo porcentaje de recidiva. En un estudio randomizado se demostró que incluso su efectividad mejoraba si se utilizaba durante 8 semanas. No tiene efecto en verrugas muy queratinizadas, habiéndose reportado una baja efectividad en verrugas cutáneas.

4.1.16.4 Cidofovir. Es un análogo de nucleótidos que actúa sobre el ADN viral. Se aplica en crema al 1%, 5 días a la semana. Se demostró su efectividad en pacientes

portadores de verrugas peri-anales, con una efectividad promedio de 32% a las 12 semanas de uso, tanto en pacientes inmunocompetentes como pacientes con SIDA. Recurrencia de enfermedad: 3,7% al año de seguimiento. El único efecto adverso encontrado fue dolor, en un tercio de los pacientes. Cidofovir en crema se puede preparar a partir de las ampollas para uso parenteral, a un costo promedio US \$ 1,000 para dos semanas de tratamiento.

4.1.16.5 Preservativos de látex. No cubren toda la superficie cutánea capaz de transmitir el VPH; son más efectivos en el caso de la prevención de infecciones transmitidas por medio de fluidos. No existe una evidencia clara en relación al beneficio del preservativo en la transmisión del VPH. Para realizar una siembra del virus, no es necesaria la penetración en el coito, ya que ésta puede producirse tan sólo con el contacto de genital con genital y manos con genitales. Para que exista una siembra, el virus se debe encontrar en su estado de virión, lo que sólo ocurre en lesiones proliferativas. Interesante fue el hallazgo, en un estudio randomizado, de mejoría en mujeres portadoras de neoplasias intraepiteliales, y de parejas masculinas con menor índice de verrugas, cuando éstos utilizaban siempre preservativos. (María, 2007).

4.2 SEROCONVERSIÓN DE LA VACUNA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV)

4.2.1 Concepto

Demostración de la presencia de anticuerpos específicos para un antígeno concreto en el suero de un individuo, previamente negativo para dicha especificidad antigénica. (Navarra, 2016).

El trabajo de Torrecilla et al⁴, que analiza mediante encuesta telefónica a una muestra de las adolescentes vacunadas en Andalucía, con datos fundamentalmente referidos a la primera y segunda dosis, indica que los efectos adversos tras la administración de la vacuna frente al virus del papiloma humano, en este caso la bivalente, son frecuentes (22%), pero en su gran mayoría locales, y cuando son generales resultan leves. A pesar de las limitaciones propias del diseño del estudio (no se incluye la totalidad sino una muestra de adolescentes vacunadas, encuesta telefónica con una respuesta de sólo el 42%), son importantes los resultados obtenidos y contribuyen a resaltar que, con los datos disponibles hasta el momento, la vacuna contra el virus del papiloma humano es segura. (Batalla, 2010).

4.2.2 Vacunas del Virus del Papiloma Humano (HPV)

4.2.2.1 Cervarix.- Suspensión inyectable producida por GlaxoSmithKline (GSK). Es una vacuna bivalente que protege contra los genotipos 16 y 18 del VPH. Al igual que Gardasil, se trata de una vacuna obtenida mediante tecnología del ADN recombinante, en este caso, preparada a partir de VLPs altamente purificadas de la proteína principal de la cápside L1, de los genotipos 16 y 18 del VPH10. La proteína L1 ha sido producida mediante un sistema de expresión de baculovirus en células de *Trichoplusia ni*. Cada dosis de 0,5 ml contiene:

- 20 µg de proteína L1 del genotipo 16 del VPH.
- 20 µg de proteína L1 del genotipo 18 del VPH.
- Adyuvante AS04 que contiene 500 µg de hidróxido de aluminio y 50 µg de 3-O-desacil-4'-monofosforil lípido A. El 20 de Septiembre del 2007 la EMA autorizó su comercialización. A diferencia que Gardasil sólo está recomendada para el sexo femenino. Con fecha 20 de Diciembre de 2013, GlaxoSmithKline anunció la aprobación por parte de la EMA de la comercialización de su vacuna (Cervarix) para una pauta de dos dosis. La EMA ha modificado su ficha técnica 10, apareciendo dicha pauta con fecha 20 de Enero 2014 en el calendario de vacunación de la Asociación Española de Pediatría².

Según la EMA el régimen de vacunación depende de la edad del sujeto: De 9 a 14 años de edad inclusive, se administrarán dos dosis: a los 0 y 6 meses respectivamente.

A partir de los 15 años de edad, se administrarán tres dosis: a los 0,1 y 6 meses respectivamente. En el caso de que la segunda dosis de la vacuna haya sido administrada en un plazo inferior a los 5 meses, se deberá administrar siempre una tercera dosis independientemente de la edad del sujeto. Al igual que Gardasil la vía de administración es mediante inyección intramuscular¹. Está indicada para la prevención de:

- -Lesiones genitales premalignas (cervicales, vulvares y vaginales).
- Cáncer de cérvix. (Vanessa E. N., 2014).

4.2.2.2 Gardasil.- Suspensión inyectable fabricada por Merck & Co., Inc. Es una vacuna tetravalente que protege frente a los genotipos 6, 11, 16 y 18 del VPH. Se trata de una vacuna obtenida mediante tecnología del ADN recombinante, preparada a partir de

partículas similares al virus (VLPs) altamente purificadas de la proteína principal de la cápside L1, de los genotipos 6,11,16,y 18 del VPH . Las VLPs no contienen ADN viral, es decir, no pueden infectar células, reproducirse ni causar enfermedad. La proteína L1 en forma de VLPs ha sido producida en células de levadura (*Saccharomyces cerevisiae* CANADE 3C-5 (Cepa 1895). Cada dosis de 0,5 ml contiene:

- 20 µg de proteína L1 del genotipo 6 del VPH.
- 40 µg de proteína L1 del genotipo 11 del VPH.
- 40 µg de proteína L1 del genotipo 16 del VPH.
- 20 µg de proteína L1 del genotipo 18 del VPH.
- 225 µg de hidroxifosfato sulfato de aluminio amorfo como adyuvante.

El 20 de Septiembre del 2006 la Agencia Europea del Medicamento (EMA) autorizó su comercialización. El régimen de vacunación consiste en la administración de tres dosis de 0,5 ml de acuerdo con el siguiente calendario: 0, 2 y 6 meses. La vía de administración es mediante inyección intramuscular preferiblemente en la región deltoides del brazo o en la zona anterolateral superior del muslo, no siendo necesaria una dosis de recuerdo. La vacuna se recomienda para ambos sexos, y está indicada a partir de los 9 años de edad hasta los 26 años, para la prevención de: Lesiones genitales precancerosas (cervicales, vulvares, vaginales y anales), cáncer cervical y anal relacionado con los tipos oncogénicos 16 y 18 del VPH. Verrugas anogenitales (condiloma acuminado) en ambos sexos, relacionadas con los genotipos 6 y 11 del VPH. Con fecha 27 de Febrero de 2014, en Lyon (Francia), Sanofi Pasteur MSD anunció que “la vacuna tetravalente contra el VPH, ha recibido un dictamen positivo del Comité de la Agencia Europea del Medicamento, para su uso en un calendario de dos dosis en niños y niñas de 9 a 13 años”. Con fecha 7 de Abril del 2014 Sanofi Pasteur MSD anunció la autorización por parte de la EMA para la comercialización de una pauta de dos dosis (0 y 6 meses) en niños y niñas de 9 a 13 años para la vacuna tetravalente, basándose en los resultados obtenidos en el estudio de Dobson et al. En Canadá. (Vanessa E. N., 2014).

4.3 TIEMPO DE SEROCONVERSIÓN DESPUÉS DE SU EXPOSICIÓN A LA VACUNA HPV

4.3.1 Relación del tiempo de exposición a la vacuna HPV con la Seroconversión

4.3.1.1 Gardasil.- Las publicaciones existentes señalan a poco más de 5 años de seguimiento una eficacia de 96% (95% IC, 84-100) frente a la infección persistente de VPH, con una protección de 100% frente a NIC. Recientemente se ha comunicado, con un seguimiento de 18 meses, una protección del 100% (95% IC, 56-100) frente a NIV 2-3 (neoplasia intraepitelial vaginal). Asimismo, se han presentado algunos datos de inmunidad cruzada para los tipos 45, 31, 52 y 58 del VPH filogenéticamente cercanos, que sin estar cubiertos por la vacuna podrían significar un incremento de su poder profiláctico. Quedan estudios que demuestren sin lugar a dudas el grado de eficacia de esta inmunidad cruzada hacia estos tipos de VPH. Los resultados de los estudios de inmunogenicidad de la vacuna tetravalente muestran que la respuesta inmunitaria de niños y niñas de 9 a 15 años es superior que en mujeres adultas jóvenes (16 a 23 años); con estudios que permiten suponer que la protección de esta vacuna podrá ser de larga duración. El 9 de junio de 2006, el Comité Asesor sobre Prácticas de Inmunización (ACIP, por sus siglas en inglés) recomendó el uso de la vacuna tetravalente en las mujeres entre 9 y 26 años de edad.

4.3.1.2 Cervarix.- Los resultados publicados hasta la fecha describen a los 4 y 5 años de seguimiento, una eficacia de 100% (95% IC, 30-100) frente a la infección persistente de VPH y una protección de 100% (95% IC, 42-100) frente a NIC. Ha mostrado también un cierto grado de protección cruzada frente a infección para los tipos VPH 31 (54.5% de eficacia) y VPH 45 (94.2% de eficacia). Fue aprobada por la Comisión Europea en septiembre 2007. Idealmente, la vacuna debe administrarse antes del inicio de la actividad sexual, entre los 11 y 12 años; incluso a los 9 años. Sin embargo, las mujeres sexualmente activas también pueden beneficiarse con la vacuna. Las mujeres infectadas por uno o más tipos de VPH recibirían protección únicamente para el tipo o los tipos en la vacuna que no tienen. (F & Martha, 2010).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Tipo de estudio

Este trabajo de investigación fue estudio descriptivo y de corte transversal.

5.2 Área de estudio

Lugar: La investigación se realizó en el Cantón Catamayo, en el Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario”, ubicado en las calles Eugenio Espejo y 9 de Octubre.

Tiempo: El estudio se llevó a cabo en el período Enero-Junio del año en curso.

5.3 Universo y Muestra

- **Universo:** integrado por 95 estudiantes de 9, 10 y 12 años del Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario”, de Catamayo; los cuales pertenecen a sexto año, séptimo y octavo de Educación Básica.
- **Muestra:** Con la fórmula de Fistera (Anexo 8), tomando el número de los que componen el universo, obtuve una muestra de 59 estudiantes de 9, 10 y 12 años del Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario”, los cuales cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión

- Niñas de 9, 10, y 12 años post-inmunizadas hace 3, 6 y 12 meses.
- Estado de Ayuno previo a realizar análisis bioquímico.
- Niñas que se encuentren debidamente matriculadas en el Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario”.
- Niñas que tengan el consentimiento informado; el mismo que debe estar firmado por sus representantes.

Criterios de exclusión

- Niñas de 9, 10 y 12 años vacunadas actualmente con un período de inmunización de 14 meses.
- Niñas vacunadas hace 3 y 4 años atrás.

- Niñas que estén vacunadas por otra vacuna; y que la HPV no esté en su registro.

5.4 Procedimiento y Procesamiento de la Información

5.4.1 Fase Pre-analítica.- El presente trabajo se realizó, dando cumplimiento a los objetivos propuestos; realizando las actividades propias para alcanzar dicho propósito.

- Una vez que se aceptó el proyecto de investigación por las autoridades competentes de la Universidad Nacional de Loja, de la Carrera de Medicina Humana, los cuales fueron: La Aprobación del tema de Investigación (Anexo 3); Pertinencia (Anexo 4); Director de tesis (Anexo 5) y permiso de la Institución respectiva a realizarse la investigación (Anexo 6), se empezó a recolectar los datos respectivos.
- La primera actividad que se realizó, fue adquirir el permiso para la recolección de datos a la Rvda Hermana Clara Inés Pardo Rectora de la Institución; la cual accedió a la petición realizada previa explicación de los objetivos y alcances de la investigación (Anexo 6). Abordando de esta manera el universo y muestra (Anexo 8), para la adquisición de los materiales que se emplearan en dicha investigación.
- Para la recolección de datos se utilizó una hoja de recolección de datos (Anexo 7) en donde se anotó el nombre, la edad y el tiempo de inmunización de la vacuna del Virus del Papiloma Humano (HPV) en la muestra seleccionada; previamente se explicó concisamente las condiciones en las cuales iban a colaborar y sobre la importancia de la vacuna en esta edad; y en el caso de que deseen colaborar se les entregó el consentimiento informado (Anexo1), para que lo firmen sus representantes. Además se les comunicó que el día de la toma de la muestra debe estar en ayuno y presentar el consentimiento informado.
- Una vez presentado el consentimiento informado se extrajo la muestra de sangre, (cabe recalcar que para este proceso el paciente debe estar en estado de ayuno), y luego se entregó un refrigerio.

5.4.2 Fase Analítica.- - Se llevó a cabo la centrifugación de las muestras, y se utilizó la Técnica de ELISA (Sandwich) la misma que se detalla (Anexo 10); siguiendo las instrucciones del manual que se registra con el respectivo reactivo de IgG para la HPV.

5.4.2.1 Equipos:

- Microelisa

- -Centrifuga: **CLAY ADAMS**

5.4.2.2 Materiales:

- Pipetas Automáticas: 1000ul, 100ul y 10ul.
- Tubos de ensayo.
- Gradillas
- Microplacas
- Papel Absorbente
- Guantes, entre otros.

5.4.2.3 Reactivos DiApro:

- Control Negativo (Contiene suero humano negativo para IgG anti HPV)
- Control Positivo (Contiene suero humano positivo para IgG anti HPV)
- Tampón de Lavado
- Conjugado enzimático
- Cromógeno/Sustrato
- Ácido Sulfúrico
- Diluyente

5.4.2.4 Procedimiento:

Luego de la extracción sanguínea al grupo de estudio se procedió a:

- Centrifugación de las muestras.
- Separación del suero.
- Se diluye las muestras 1:101 (1000ul de diluyente y 10ul de muestra).
- No diluir los controles, mezclarlos cuidadosamente para usarlos
- Coloque el número de tiras necesarias en el soporte de plástico. Deje A1 pocillo vacío para el funcionamiento de supresión.
- Dispensar 100ul de control negativo y de control positivo por duplicado.
- A continuación, vierta 100ul de muestras diluidas en cada uno identificado correctamente también.
- Incubar la microplaca durante 60 minutos a + 37 ° C.
- Lavar la microplaca

- Pipetear 100 ul de conjugado de enzima en cada pocillo, excepto en el pocillo A1, y cubrir con el sellador.
- Incubar la microplaca durante 60 minutos a + 37 ° C.
- Lavar los pocillos.
- Pipetear 100 l de cromógeno / mezcla de sustrato en cada pocillo.
- A continuación se incuba la microplaca a temperatura ambiente (18-24 ° C) durante 20 minutos.
- Pipetear 100 ul de ácido sulfúrico en todos los pocillos usando la misma secuencia de pipeteado.
- La Lectura se hace posiblemente, a 620-630 nm (substracción de fondo), calibrando el instrumento con A1.

5.4.2.5 Cálculo del punto de corte:

Para calcular el cut off se toma los valores de la lectura del control negativo se saca el promedio de los dos y luego se suma 0,250. Para calcular la cantidad de IgG en muestras positivas como control a la respuesta inmunológica de la vacuna calcular para cada muestra la DO Muestra / Cut-Off (o S / Co); es decir el valor de lectura que da el equipo dividido para el cut- off mediante este cálculo proporcionan un índice cuyo valor es directamente proporcional al contenido de IgG en la muestra. Mayor de 0.150 es positivo para carga inmune de anticuerpos formados para la vacuna HPV.

El cuadro que antecede refleja la carga de anticuerpos presentes en el grupo de estudio frente a la vacuna, esta es directamente proporcional a la IgG de HPV. De acuerdo al punto de corte las muestras se consideran positivas para la IgG específica a los antígenos de PVH presentes en la vacuna. Este estudio se realizó en Laboratorio de Micro propagación vegetal de la UNL de la Argelia, dirigido por el Ing José Antonio Moreno. (Anexo 13).

5.4.3 Fase Pos-analítica.- Una vez realizada la técnica requerida para la Seroconversión de la vacuna HPV se obtuvieron los resultados por nivel de absorbancia (Anexo 10); y para la cuantía del porcentaje de la Seroconversión se utilizó la siguiente fórmula: Se multiplica el nivel superior que salió en la absorbancia (Anexo 10) ; que es de 0.247 pero se la transforma a entero quedando 247; se empieza a utilizar los enteros que es de 199, 225 y 247 estos se los multiplica por 100 y se los divide para 247, dándonos los niveles de seroconversión respectiva que es de 81, 93 y 100 %.

- Para poder realizar el análisis respectivo de estos resultados y tomando en cuenta los objetivos, se utilizó el **Programa Estadístico Infostat** cuyos resultados se encuentran (Anexo 12).
- Para jerarquizar de una mejor manera y entendimiento de las tablas y gráficos; los grupos etarios fueron clasificados como: Grupo 1 (G1) que corresponde a las niñas de 9 años con un tiempo de post-inmunización de 3 meses; Grupo 2 (G2) que corresponde a las niñas de 10 años con un tiempo de post-inmunización de 6 meses, y el Grupo 3 (G3) que corresponde a las niñas de 12 años con un tiempo de post-inmunización de 12 meses.
- Finalmente se realizó la interpretación y análisis de los resultados con sus respectivas conclusiones y recomendaciones. Y se realiza la respectiva discusión tomando en cuenta estos resultados y los estudios encontrados acerca de la Seroconversión de la Vacuna del.

6. RESULTADOS

6.1 Resultado para el Primer Objetivo: Definir los grupos etarios y tiempo de post-inmunización de la vacuna del Virus del Papiloma Humano (HPV) en niñas del Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario” de Catamayo en el período Enero-Junio del 2016.

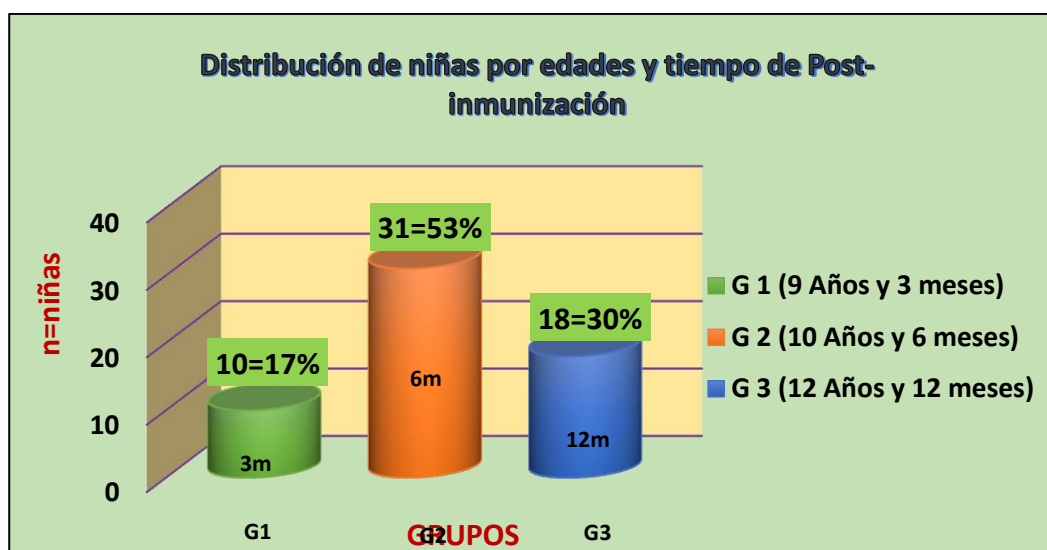
Cuadro 1. *Distribución de las niñas por edades, y tiempo de post-inmunización del Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario” de Catamayo en el período Enero-Junio del 2016.*

Grupos	Tiempo de inmunización= meses	Frecuencia: n=niñas	Porcentaje %
G1(9 años)	3	10	17%
G2 (10 años)	6	31	53%
G3 (12 años)	12	18	30%
TOTAL		59	100%

Fuente: Seroconversión (HPV) de Cervarix.

Elaborado por: Rosa María Pinzón I.

Figura 1. *Distribución de las niñas por edades, y tiempo de post-inmunización del Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario” de Catamayo en el período Enero-Junio del 2016.*



Fuente: Seroconversión (HPV) de Cervarix.

Elaborado por: Rosa María Pinzón I.

Interpretación:

Las niñas del Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario”, en edades comprendidas entre 9-12 años y de tiempo de post-inmunización de 10-12 meses se encuentra que un 17% que corresponde a (n=10) tienen un tiempo de inmunización de 3 meses y cuya edad esta en 9 años; un 53% que corresponde a (n=31) tienen un tiempo de inmunización de 6 meses y cuya edad esta en 10 años y finalmente un 30% que corresponde a (n=18) tienen un tiempo de inmunización de 12 meses y cuya edad esta en 12 años. Agrupando estos grupos se especifica una muestra de n=59 niñas en total.

6.2 Resultado para el Segundo Objetivo: Determinar la seroconversión de la vacuna del Virus del Papiloma Humano (HPV) en niñas post-inmunizadas en el Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario” de Catamayo en el período Enero-Junio del 2016.

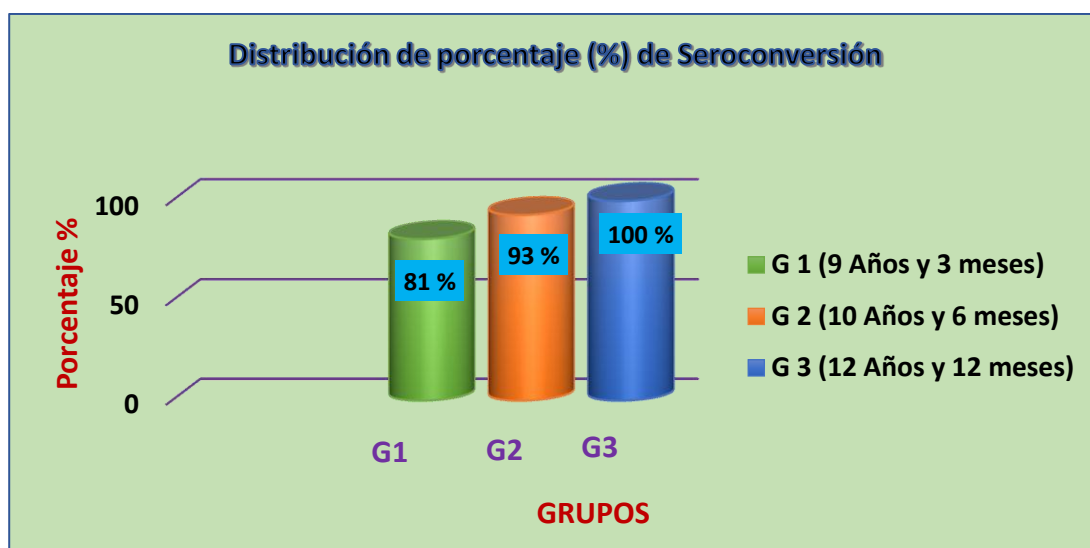
Cuadro 2. *Distribución de porcentaje (%) de Seroconversión de Grupos de niñas del Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario” de Catamayo en el período Enero-Junio del 2016.*

Grupos	Título de Anticuerpo/Media \bar{x} Mayor de 0,150nm	DS	% Seroconversión
G1(9 años)	0,18-019	2,2 E-0.3	81%
G2 (10 años)	0,20-0.22	1,3 E-0.3	93%
G3 (12 años)	0,23-0.24	1,7 E-0.3	100%

Fuente: Seroconversión (HPV) de Cervarix.

Elaborado por: Rosa María Pinzón I.

Figura 2. *Porcentaje (%) de Seroconversión Grupos en niñas del Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario” de Catamayo en el período Enero-Junio del 2016.*



Fuente: Seroconversión (HPV) de Cervarix.

Elaborado por: Rosa María Pinzón I.

Interpretación:

En la variable de Seroconversión de acuerdo al Grupo etario en niñas de 9 años, con un tiempo de inmunización de 3 meses y según el análisis de ELISA se obtuvo un 81% para el Grupo (G1); en niñas de 10 años, con un tiempo de inmunización de 6 meses y según el análisis de ELISA se obtuvo un 93% para el Grupo (G2) y en niñas de 12 años, con un tiempo de inmunización de 12 meses y según el análisis de ELISA se obtuvo un 100% para el Grupo (G3).

6.3 Resultado para Tercer Objetivo: Relacionar la Seroconversión de la vacuna del Virus del Papiloma Humano (HPV) con el tiempo de post-inmunización en niñas en el Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario” de Catamayo en el período Enero-Junio del 2016.

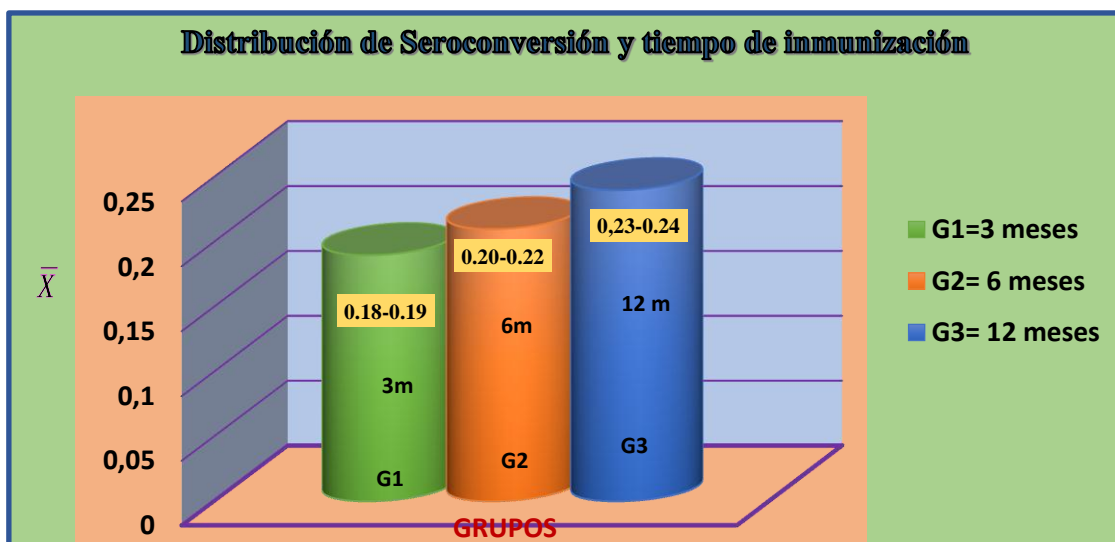
Cuadro 3. *Distribución de Seroconversión y tiempo de inmunización en niñas del Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario” de Catamayo en el período Enero-Junio del 2016.*

Grupos	Tiempo Post-inmunización	Título de Anticuerpo/Media \bar{X} Mayor de 0,150nm	Seroconversión
G1 (9 años)	3	0,18-019	81%
G2 (10 años)	6	0,20-0.22	93%
G3 (12 años)	12	0,23-0.24	100%

Fuente: Seroconversión (HPV) de Cervarix.

Elaborado por: Rosa María Pinzón I.

Figura 3. *Seroconversión y tiempo de inmunización en niñas del Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario” de Catamayo en el período Enero-Junio del 2016.*



Fuente: Seroconversión (HPV) de Cervarix.

Elaborado por: Rosa María Pinzón I.

Interpretación:

En el análisis de la relación de la Seroconversión de la vacuna del Virus del Papiloma Humano (HPV) y el tiempo de inmunización; se evidenció que el G3 (12 años-12 meses) presentaron un porcentaje de seroconversión del 81% que corresponde a una media de 0,23-0,24; G2 (10 años-6 meses) presentaron un porcentaje de seroconversión del 93% que corresponde a una media de 0,20-0,22 y el G1 (9 años-3 meses) presentaron un porcentaje de seroconversión del 100 % que corresponde a una media de 0,18-0,19.

7. DISCUSIÓN

El descubrimiento de que ciertas cepas de alto riesgo del virus del papiloma humano (VPH-AR) causan casi el 100% del cáncer cervical invasivo ha provocado una revolución en la prevención del cáncer de cuello uterino. Ensayos controlados aleatorios (ECA) que evaluaron la eficacia de dos vacunas profilácticas: Cervarix (también conocidos como HPV2 o vacuna bivalente) cuyos objetivos es solamente HPV16 y HPV18. Los resultados de los ensayos demuestran una protección casi completa contra la enfermedad cervical causada por los genotipos específicos en mujeres previamente infectadas durante un máximo de 8 años.

Las mujeres adquieren el VPH a través de las relaciones sexuales con una persona infectada, por lo que la prevalencia del VPH y la ausencia de inmunidad es alta alrededor de la edad de la primera relación sexual; a los dos 2 años aumenta su prevalencia en un 90% de los individuos por lo que en un 60% de estas infecciones induce seroconversión de tipo específico, y si se recogen muestras cervicales durante la infección viral productiva, que puede estar asociado con anomalías cervicales leves (es decir, de bajo grado lesiones escamosas intraepiteliales (LSIL). (Gravitt, 2011).

En el presente estudio se encontró que en las niñas del Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario” , en edades comprendidas entre 9-12 años y de tiempo de post-inmunización de 10-12 meses se encuentra que un 17% que corresponde a (n=10) tienen un tiempo de inmunización de 3 meses y cuya edad esta en 9 años; un 53% que corresponde a (n=31) tienen un tiempo de inmunización de 6 meses y cuya edad esta en 10 años y finalmente un 30% que corresponde a (n=18) tienen un tiempo de inmunización de 12 meses y cuya edad esta en 12 años.

Según (Vanessa E. N., 2014) , la vacuna Cervarix® se comercializa en Europa con una pauta de dos dosis, en niñas de 9 a 14 años, con una inmunogenicidad de 48 meses (4 años). Según la EMA el régimen de vacunación depende de la edad del sujeto: De 9 a 14 años de edad inclusive, se administrarán dos dosis: a los 0 y 6 meses respectivamente. A partir de los 15 años de edad, se administrarán tres dosis: a los 0,1 y 6 meses respectivamente. En el caso de que la segunda dosis de la vacuna haya sido administrada en un plazo inferior a los 5 meses, se deberá administrar siempre una tercera dosis independientemente de la edad del sujeto.

Estos estudios que se han realizado en Europa según EMA cerca de la dosis y del grupo etario a quien se lo aplica específicamente recalca de 9-14 años, en nuestro estudio esta de 9-12 años, evidenciando la semejanza que existe. En el Ecuador la MSP muestra la misma pauta de vacunación de estas edades debido a que aún no se exponen a la enfermedad como tal y que de una manera segura brindará una mejor inmunidad, además este criterio se relaciona con la eficacia de la vacuna en estas edades por lo que se coincide de que la pauta sea en este laxo de grupo de edad.

En la variable de Seroconversión de acuerdo al Grupo etario en niñas de 9 años, con un tiempo de inmunización de 3 meses y según el análisis de ELISA se obtuvo un 85,5% para el Grupo (G1); en niñas de 10 años, con un tiempo de inmunización de 6 meses y según el mismo análisis se obtuvo un 94,5% para el Grupo (G2) y en niñas de 12 años, con un tiempo de inmunización de 12 meses se obtuvo un 98% para el Grupo (G3).

Según el autor (Christian, 2015), de la Seroconversión de la vacuna HPV en el análisis de la base de datos de inmunogenicidad combinado de fase 2/3 sometidos a estudios, incluyendo datos de 12.343 sujetos con edades entre 9-26 años encontraron que la edad de vacunación fue inversamente proporcional a la respuesta anti-HPV inducida por la vacuna, ensayos prospectivos compararon la respuesta inmune a la vacunación entre la adolescencia temprana, niñas y mujeres jóvenes (10-14 o 10-15 vs 15-25 o 16-23 años). Ambos grupos de edad lograron el 99% de seroconversión para el VPH 16 y 18, y los títulos de media geométrica (GMT) medida a 1 mes después de la finalización del régimen de vacunación eran 1.7-2 veces más alta en el grupo de edad más joven. Según (Vanessa E. N., 2014) afirma que los resultados obtenidos de distintos estudios de la vacuna bivalente coinciden en que independientemente de la administración de dos (a los 0 y 6 meses) o tres (a los 0,1 y 6 meses) dosis, se produce seroconversión de los sujetos vacunados, generando anticuerpos contra los genotipos 16 y 18 del VPH. Los resultados sólo son aplicables para un rango de edad de 9 a 14 años, así como para un régimen de vacunación de 0 y 6 meses en el caso de administrar dos dosis.

Los resultados obtenidos en nuestra muestra existe Seroconversión a pesar del corto tiempo de 3-12 meses con un límite de 84-98% de seroconversión y un grupo etario joven lo que en el estudio realizado muestra que más carga inmune existirá en una población joven lo que se llega a comparar estos resultados, de una manera semejante. Lo que quiere

decir que mientras menos edad más carga inmune y más edad su inmunidad decrece debido a factores concomitantes o enfermedades asociadas.

En el análisis de la relación de la Seroconversión de la vacuna del Virus del Papiloma Humano (HPV) y el tiempo de inmunización; se evidenció que el G3 (12 años-12 meses) presentaron un porcentaje de seroconversión del 98% que corresponde a una media de 0,23-0,24; G2 (10 años-6 meses) presentaron un porcentaje de seroconversión del 94,5% que corresponde a una media de 0,21-0,22 y el G1 (9 años-3 meses) presentaron un porcentaje de seroconversión del 85,5 % que corresponde a una media de 0,19-0,22.

En el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos (NCI), recientemente ha publicado que las mujeres que han sido vacunadas con una única dosis del VPH (Cervarix®) han mantenido estable su nivel de anticuerpos en sangre durante 4 años .Los investigadores examinaron la presencia de anticuerpos en las mujeres que habían recibido 1, 2 y 3 dosis de la vacuna respectivamente. Aunque los niveles de anticuerpos eran más bajos en las mujeres que recibieron una dosis, éstos se mantuvieron estables. “Sus resultados mostraron que el 100% de las mujeres de los tres grupos tenían anticuerpos contra los genotipos 16 y 18 del VPH tras 48 meses del inicio de la vacunación. Los niveles de las mujeres que recibieron una dosis fueron comparables al grupo de las mujeres que recibieron dos y tres dosis”. Aun así, concluyeron que se precisan más estudios para poder recomendar la vacunación con una única dosis de Cervarix®. (Vanessa E. N., 2014). También se ha publicado que las mujeres de 10 a 14 años vacunadas con Cervarix® producían títulos de anticuerpos con niveles que doblaban a los producidos por mujeres entre 15 y 25 años. Los anticuerpos frente al VPH se han identificado trasudados en los epitelios del tracto genital inferior. En mujeres vacunadas con Cervarix® existe correlación entre los niveles de anticuerpos en suero y los hallados en mucosa cervical Se ha comunicado que los títulos de anticuerpos inducidos tras la vacunación con Cervarix® se mantienen al menos 10 veces más elevados en relación con los inducidos tras una infección natural durante al menos 5,5 años y que estos niveles permanecen en niveles altos en mujeres hasta 55 años. (B., 2010).

Estudios de inmunogenicidad , hace referencia que con tres dosis de cualquiera de las dos vacunas, prácticamente todas las adolescentes y mujeres jóvenes vacunadas y sin contacto previo con los tipos de VPH presentes en la vacuna responden generando anticuerpos contra esos antígenos. Los datos disponibles de hasta 5–6,4 años después de la

vacunación han demostrado que los títulos de anticuerpos alcanzan niveles máximos después de la tercera dosis, disminuyen gradualmente y luego se estabilizan alrededor de 24 meses después de la primera dosis. Las medias geométricas de los títulos (MGT) de anticuerpos séricos en las niñas de 10-15 años fueron superiores a las de los observados en el suero de mujeres más mayores (16–23 años en el caso de la vacuna tetravalente y 15–25 años en el caso de la vacuna bivalente).

Hasta la fecha, la información sobre la respuesta inmunitaria a la vacuna anti-VPH de las personas infectadas por VIH se limitan a un estudio de 120 niños de 7-11 años en los Estados Unidos; algunos de estos niños estaban siendo tratados con antirretrovíricos. El 99,5% de ellos generaron anticuerpos contra los tipos 6, 11, 16 y 18 del VPH después de recibir la vacuna tetravalente (Weinberg A y cols., datos no publicados, 2008). Las MGT para los cuatro tipos de VPH fueron más bajas en los niños con infección por VIH que en los controles históricos de edades comparables, pero sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas en relación con los tipos 6 y 18 del VPH. Todavía no se cuenta con datos sobre la inmunogenicidad de la vacuna bivalente en personas jóvenes con infección por VIH.

En el estudio realizado se ve que la Seroconversión de la HPV se encuentra directamente proporcional al tiempo de inmunización y se establece que mientras menos edad más carga de anticuerpos y más cuando no existe la enfermedad como tal; la seroconversión es positiva en un 90% desde la primera dosis administrada.

8. CONCLUSIONES

- En la investigación realizada se encontró los siguientes grupos etarios: G1 (n= 9años y 3 meses de inmunización) y un total de 10 niñas; G2 (n= 10años y 6 meses de inmunización) y un total de 31 y G3 (n= 12 años y 12 meses de inmunización) y un total de 18 niñas; porque cumple los esquemas de las dosis y corresponde el grupo etario idóneo para prevenir la enfermedad y así evitar la tasa de morbimortalidad de Cáncer de cuello uterino.
- Se evidenció que en el grupo de post-inmunización de la vacuna del Papiloma Humano (HPV) Cervarix de 3-12 meses correspondientes a las edades de 9-12 años, existe Seroconversión.
- La relación existente entre la Seroconversión de la Vacuna del Papiloma Humano (HPV), y el tiempo de post-inmunización es directamente proporcional, en cuanto a la dosis es decir que mientras más sean las dosis mayor carga de inmunidad frente a la vacuna (HPV) y en cuanto a la edad, mientras menos edad mejor inmunidad, siempre y cuando no se haya expuesto a la enfermedad como tal.

9. RECOMENDACIONES

- Es importante que el Ministerio de Salud Pública (MSP), continúe con la vacunación de la HPV en estas edades entre 9 -12 años según lo establece la norma para prevenir el Cáncer cervicouterino, y de esta manera mejorar la calidad de vida de la comunidad.
- Seguir motivando a la Comunidad Lojana, a la colocación de las dosis de la vacuna que en nuestro medio se utiliza que es la Cervarix, y que se da en dos dosis con un refuerzo; las mismas que ayudan a fortalecer la inmunidad frente al Virus del Papiloma Humano.
- Es importante comunicar a la comunidad Lojana que con una dosis habrá inmunidad para el Virus del Papiloma Humano (HPV); pero eso no quiere decir que no se deba poner las siguientes dosis; al contrario se debe cumplir con la normativa para tener la seguridad de que se está previniendo esta enfermedad.
- Motivar a la comunidad de la Universidad Nacional de Loja (UNL), a la facultad de Medicina Humana para desarrollar estudios investigativos acerca de Prevención y promoción primaria en salud en todas las unidades de atención y en todos los niveles con el fin de disminuir la incidencia de enfermedades letales para la humanidad.

10. BIBLIOGRAFÍA

- (NIH), I. N. (2015). Virus del Papiloma Humano y el cáncer. *NIH*. Recuperado el Sábado 9 de Enero de 2016, de <http://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/germenes-infecciosos/hoja-informativa-vph>.
- Argentina, M. d. (2014). Vacuna contra el Virus del Papiloma Humano (VPH). En *LINEAMIENTOS TÉCNICOS TRANSICIÓN A VACUNA CUADRIVALENTE Argentina | 2014* (pág. 42). Argentina. Recuperado el Diciembre de 2015, de <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- B., V. (2010). *Vacunas frente al virus del papiloma Humano*.
- Batalla, M. (2010). Sobre la seguridad de la vacuna del virus del papiloma. *Atención Primaria*, 43 (1), pág. 2. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.1016/j.aprim.2010.08.002>
- Beatriz, G. C. (2016). Virus del Papiloma Humano y cáncer de cuello de útero. *XI Curso de Experto Universitario en Epidemiología y nuevas tecnologías aplicadas*, 11. Recuperado el 18 de 02 de 2016, de http://sameens.dia.uned.es/Trabajos11/Trab_Publicos/Trab_2/Garcia_Castro_2/hipotesis.htm
- Carlos, M. R. (s.f.). Transmisión del Virus de Papiloma Humano. *GeoSalud*. Recuperado el 09 de 02 de 2016, de <http://www.geosalud.com/VPH/transmision.vph.htm>
- Carr, D. U. (2004). Intra-abdominal fat is a major determinant of the national cholesterol education program adult treatment panel criteria for the metabolic syndrome. *Diabetes*.
- Christian, H. (2015). *European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening*. Luxemburgo. Recuperado el 05 de 06 de 2016
- Emilia, F. D. (2016). Todos podemos tenerlo y no saberlo: Virus del Papiloma Humano (VPH). *Medicina Preventiva Santa Fe*. Recuperado el 09 de 02 de 2016, de <http://medicinapreventiva.info/medicina-interna/6197/todos-podemos-tenerlo-y-no-saberlo-virus-del-papiloma-humano-vph-por-drafadlallah/>

- Escobedo, J. (2009). *Prevalence of the Syndrome in Latin America and its association with sub-clinical carotid atherosclerosis*. Mexico: the Carmela cross sectional study.
- F, G. C., & Martha, M. C. (09 de Octubre de 2010). VACUNAS Y NUEVAS TENDENCIAS PARA EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO. *Gaceta Médica Boliviana*, 33(2), 8. Recuperado el Enero de 2016
- G. José, N. S. (2009). Virus del Papiloma humano. 23. Recuperado el Diciembre de 2015
- Garza, F. F. (2005). *Prevención y tratamiento del síndrome metabólico*. Zaragoza: Revista Española de Cardiología.
- Gervas, J. (2008). La vacuna contra el virus del papiloma humano desde el punto de vista de atención primaria en España. *Rev Bras Epidemiol*, 505.
- Gómez Vázquez, M., & Navarra Amayuelas, R. (2013). Papulosis bowenoide periungueal por el virus del papiloma humano 42., 104 (10), págs. 932-934. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.1016/j.ad.2012.11.013>
- Grundty, S. C. (2005). Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *PublMed*.
- Hernán, N. (14 de Marzo de 2013). El Cáncer Cervicouterino se tiene que prevenir. *La Tarde del Diario Vespertino de Cuenca*. Recuperado el 11 de Enero de 2016, de <http://www.latarde.com.ec/2013/03/14/el-cancer-cervico-uterino-se-puede-prevenir/>
- Herrera, J. (2008). *Efecto de la Actividad Física y la Educación Nutricional sobre los niveles plasmáticos de TNF en Individuos con Síndrome Metabólico*. Chile: UTALCA.
- Javier, C. B. (2015). Nuevas estrategias para la prevención del cáncer de cuello de útero. *Editorial al aire*. Recuperado el 18 de 02 de 2016, de <http://www.editorialal aire.es/revistas-de-la-editorial-al aire/revista-no7-julio-2008/nuevas-estrategias-para-la-prevencion-del-cancer-de-cuello-de-utero/>
- Lizarzaburu, J. (2013). Síndrome Metabólico: Concepto y Aplicación Práctica. *Scielo*.

- Lord, J. F. (2003). Metformin in polycystic ovary syndrome: sistematic review and meta-analisis. *BrMed*.
- M.D, D. T., M, S. V., & F., G.-P. N. (2007). Cáncer de cuello uterino. Estado actual de las vacunas frente al virus del papiloma humano (VPH). *Scielo*, 18. Recuperado el 07 de 05 de 2016, de <http://scielo.isciii.es/pdf/onco/v30n2/02.pdf>
- Maiz, A. (2005). *El síndrome metabólico y riesgo cardiovascular*. Chile: UCHILE.
- María, C. (23 de 03 de 2007). Diagnóstico y terapia del virus papiloma humano. *Revista chilena infectología*, 6. Recuperado el 18 de 02 de 2016, de <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v24n3/art06.pdf>
- Marta, T. (2016). VPH (Virus del Papiloma Humano). *Webconsultas tu centro médico online*. Recuperado el 18 de 02 de 2016, de <http://www.webconsultas.com/salud-al-dia/vph/vph-en-la-mujer-sintomas-y-enfermedades-asociadas-8884>
- Navarra, C. U. (2016). Seroconversión. En *Diccionario médico*. Recuperado el 18 de 02 de 2016, de <http://www.cun.es/diccionario-medico>
- Noemi, A. C., & Fernanda, V. A. (2014). *Incidencia de lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LIEBG) por virus del papiloma humano (HPV) en el servicio de ginecología del Hospital San Luis de Otavalo en el período Enero-Agosto, 2013*. Quito. Recuperado el 28 de 12 de 2015
- OPS, O. M. (s.f.). Análisis de situación: tamizaje con IVAA y tratamiento con crioterapia en América Latina y el Caribe. Recuperado el Domingo 10 de Enero de 2016, de http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=3595&Itemid=3637&lang=es.
- Organizatio, W. H. (2009). *Vacunas contra el Virus del Papiloma Humano*. De posición de la OMS. Recuperado el 06 de 06 de 2016
- Pineda, C. (2008). Síndrome metabólico: definición, historia, criterios. *Editora Médica del Valle*, 100.
- Raven, G. (1988). Role of insulin resistance in human disease. *PublMed*.
- Rosa, P. (2016). *Seroconversión de la vacuna del Virus del Papiloma Humano (HPV)*. Catamayo-Loja.

- Rosengren, A. (2004). Association of psychosocial risk factors with risk of acute myocardial infarction. *PublMed*.
- Salvador, D. J. (23-07-2008). *El Virus del Papiloma Humano y el cáncer*. Recuperado el Sábado de Enero de 2016, de http://www.medicina21.com/Articulos/V824El_virus_del_papiloma_humano_y_el_cancer.html.
- Tejeda Diestro, V. S. (2007). Cáncer de cuello uterino: Estado actual de las vacunas frente al virus del papiloma humano (VPH). En *Oncología Barcelona* (pág. 18). Barcelona. Obtenido de <http://doi.org/10.4321/S0378-48352007000200002>
- Vallejo. (26 de Diciembre de 2015). Virus del Papiloma Humano Prevención. *Ministerio de Salud Publica*. Recuperado el 10 de Enero de 2016, de www.salud.gob.ec/vacuna-contra-el-virus-del-papiloma-humano-previene-cancer-uterino-en-el-ecuador/).
- Vanessa, E. N. (2014). *Vacunas profilácticas frente al VPH*. Leioa. Recuperado el 28 de 12 de 2015
- Vanessa, E. N. (2014). *Vacunas profilácticas frente al VPH*. Tesis de grado, Leioa. Recuperado el 05 de 06 de 2016
- Virus del Papiloma Humano. (2014). *Planned Parenthood*. Recuperado el 07 de Mayo de 2016, de <https://www.plannedparenthood.org/esp/temas-de-salud/enfermedades-de-transmision-sexual/virus-del-papiloma-humano-vph>
- Virus del Papiloma Humano. (2015). *AEP*. Obtenido de <http://vacunasaep.org/documentos/manual/cap-42>
- VPH. (2011). *Ladipap*. Recuperado el 09 de 02 de 2016, de <http://www.ladipap.com/vph.aspx>

11. ANEXOS

ANEXO 1: Consentimiento informado.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, con C.I:,
 certifico que he sido informada/o sobre la investigación titulada: **SEROCONVERSIÓN DE LA VACUNA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) EN NIÑAS DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR “NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO” DE CATAMAYO EN EL PERIODO ENERO-JUNIO DEL 2016** , y el propósito de la misma, y además que los datos obtenidos sobre mi persona serán almacenados en absoluta confidencialidad.

Que cualquier duda o pregunta que tenga sobre este trabajo me será explicado por el investigador. Saber que los resultados alcanzados en este estudio será utilizados únicamente para fines investigativos.

Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir, ningún beneficio de tipo económico mediante la participación de mi representado o por los hallazgos que resulten del estudio.

.....

C.I:

Investigadora.

CONSENTIMIENTO INFORMADO OMS

Organización Mundial de la Salud (OMS)

Comité de evaluación Ética de Investigación (CEI)

Este formulario de consentimiento informado está dirigido para los representantes de las niñas del colegio de bachillerato Fiscomisional “Nuestra señora del Rosario”, para la tesis denominada: SEROCONVERSIÓN DE LA VACUNA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) EN NIÑAS DEL COLEGIO DE BACHILLERATO FISCOMISIONAL “NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO” DE CATAMAYO EN EL PERIODO ENERO-JUNIO DEL 2016.

Investigadora: Rosa María Pinzón I.

Director de Tesis: Dr. Raúl Pineda Ochoa

Introducción

Yo soy Rosa María Pinzón Imaicela estudiante de la carrera de la Medicina de la Universidad Nacional de Loja estoy investigando acerca de la existencia de la Seroconversión de la vacuna HPV, en niñas de 9-12 años periodo en el cual se colocaron dicha vacuna. Le voy a dar información e invitarle a participar de esta investigación. No tiene que decidir hoy si participar o no en esta investigación. Si tiene alguna pregunta del test no dude en preguntarme.

Propósito

Es determinar la Seroconversión de la vacuna del Virus del Papiloma Humano (HPV) en niñas del Colegio de Bachillerato Fiscomisional “Nuestra Señora del Rosario” de Catamayo en el Periodo Enero-Junio del 2016.

Tipo de intervención de investigación

Esta investigación incluirá la Técnica de análisis bioquímico ELISA (Sandwich).

Selección de participantes

La muestra es de 59 estudiantes vacunadas con la HPV.

Participación voluntaria

Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria. Usted elige participar o no hacerlo. Usted puede cambiar de idea más tarde y dejar de participar aun cuando haya aceptado antes.

Información sobre la Técnica de análisis bioquímico ELISA (Sandwich).

Aquí se va a extraer sangre en estado de ayuno, para por medio de la técnica de Elisa determinar si existe la formación de anticuerpos de la HPV.

Procedimiento y.....

Es propio de la técnica de ELISA, una vez extraídas estas muestras se llevaran a cabo la centrifugación y luego el proceso propio de la determinación de anticuerpos.

Descripción del proceso

Durante la investigación se hará visitas al colegio con el tiempo disponible para la explicación de la Investigación y la importancia de la Seroconversión.

Duración

Esta investigación durará seis meses, mientras que la toma de muestras será un día y su determinación será en tres días aproximadamente.

Beneficios

Si usted participa en esta investigación, tendrá los siguientes beneficios: podrá conocer si el existe anticuerpos formados para el Virus del Papiloma Humano; y el estado de su sistema inmune.

Confidencialidad

Con esta investigación será confidencial, sólo estará disponible para el investigador.

Compartiendo los resultados

El conocimiento que obtengamos por realizar esta investigación se compartirá en el repositorio digital de la Universidad Nacional de Loja. No se compartirá información confidencial.

Derecho a negarse o retirarse; Usted no tiene por qué participar en esta investigación si no desea hacerlo.

A quién contactar

Si tiene cualquier pregunta pueda hacerla ahora o más tarde, más tarde puede contactarse al siguiente correo electrónico rpinzonimaicela@yahoo.com.

He leído la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente que mi representada participe en esta investigación y entiendo que tengo el derecho a retirarme de la investigación en cualquier momento.

Nombre del participante _____

Firma del participante _____

Fecha _____

Día/mes/año _____

ANEXO 2: Oficio para aprobación del Tema de Investigación.

Loja, 21 de enero del 2016

Doctora

Ruth Maldonado

COORDINADORA DE LA CARRERA DE MEDICINA DE LA UNL**En su despacho,**

Yo, Rosa María Pinzón Imaicela portadora de CI 1104373855; estudiante del Noveno Módulo, Paralelo A-3 de la Carrera de Medicina de la UNL, me dirijo a usted muy respetuosamente con el fin de solicitar proceda a dar la aceptación correspondiente al tema de investigación de mi autoría, denominado: **SEROCONVERSIÓN DE LA VACUNA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) EN NIÑAS DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR “NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO” DE CATAMAYO EN EL PERIODO DE ENERO –JUNIO 2016.**

Segura de contar con su respuesta positiva, le antelo mis agradecimientos.



Rosa María Pinzón Imaicela

*ESTUDIANTE DEL NOVENO MÓDULO**PARALELO A3*

CI: 1104373855

 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
AREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE MEDICINA

RECIBIDO POR: *[Signature]*
FECHA: *21/01/16*
HORA: *10:55*
FIRMA: *[Signature]*

ANEXO 3: Aprobación del Tema de Investigación

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
COORDINACIÓN CARRERA DE MEDICINA

MEMORÁNDUM NRO. 02722 CM-ASH-UNL

PARA: Srta. Rosa María Pinzón Imaicela
ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE MEDICINA

DE: Dra. Ruth Maldonado Rengel
COORDINADORA DE LA CARRERA DE MEDICINA

FECHA: 30 de noviembre de 2015

ASUNTO: **APROBACIÓN DEL TEMA DE TESIS**

En atención a su comunicación presentada en esta Coordinación, me permito comunicarle que luego del análisis respectivo se aprueba su tema: **SEROCONVERSIÓN DE LA VACUNA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) EN NIÑAS DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR “NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO” DE CATAMAYO EN EL PERIODO DE ENERO-JUNIO 2016**, por consiguiente deberá continuar con el desarrollo del mismo.

Con aprecio y consideración.

Atentamente,

Dra. Ruth Maldonado Rengel
COORDINADORA DE LA CARRERA DE MEDICINA
DEL ÁREA DE LA SALUD HUMANA - UNL

C.c.- Archivo
Sip

ANEXO 4: Pertinencia del tema de tesis



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
COORDINACIÓN CARRERA DE MEDICINA

MEMORÁNDUM NRO. 0480CCM-ASH-UNL

PARA: Srta. Rosa María Pinzón Imaicela
ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE MEDICINA

DE: Dra. Ruth Maldonado Rengel
COORDINADOR DE LA CARRERA DE MEDICINA

FECHA: 10 de febrero de 2016.

ASUNTO: Informe del trabajo de Investigación

Mediante el presente expreso un cordial saludo, a la vez que me permito informarle sobre el proyecto de investigación, **SEROCONVERSIÓN DE LA VACUNA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) EN NIÑAS DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR "NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO" DE CATAMAYO EN EL PERIODO DE ENERO-JUNIO 2016**, de su autoría, que su tema **es pertinente**, sugiriendo únicamente una modificación puntual en el tema, en el nombre de la Institución, quedando de la siguiente manera: **SEROCONVERSIÓN DE LA VACUNA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) EN NIÑAS DEL COLEGIO DE BACHILLERATO FISCOMISIONAL "NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO" DE CATAMAYO EN EL PERIODO DE ENERO-JUNIO 2016**, según informe del **Dr. Raúl Pineda Ochoa**, por lo que puede continuar con el trámite respectivo.

En la seguridad de contar con su colaboración, le expreso mi agradecimiento.

Atentamente,

Dra. Ruth Maldonado Rengel
COORDINADORA DE LA CARRERA DE MEDICINA
DEL ÁREA DE LA SALUD HUMANA - UNL

C.c.- Estudiante y Archivo
 Sip

ANEXO 5: Asignación del Director de Tesis.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
COORDINACIÓN CARRERA DE MEDICINA

MEMORÁNDUM Nro. 0488CCM-ASH-UNL

PARA: Dr. Raúl Pineda Ochoa
DOCENTE DE LA CARRERA DE MEDICINA

DE: Dra. Ruth Maldonado Rengel
COORDINADORA DE LA CARRERA DE MEDICINA

FECHA: 16 de febrero de 2016

ASUNTO: Designar Director de Tesis

Por el presente y dando cumplimiento a lo dispuesto en el "Capítulo II del Proyecto de Tesis, Artículos 133, y 134 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja, aprobado el 7 de julio de 2009" una vez que ha cumplido con todos los requisitos y considerando que el proyecto de tesis fue aprobado; me permito hacerle conocer que esta Coordinación le ha designado Director del trabajo de Investigación adjunto, cuyo tema es **SEROCONVERSIÓN DE LA VACUNA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) EN NIÑAS DEL COLEGIO DE BACHILLERATO FISCOMISIONAL "NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO" DE CATAMAYO EN EL PERIODO DE ENERO-JUNIO 2016**, de autoría de la Srta. Rosa María Pinzón Imaicela, estudiante de la Carrera de Medicina.

Con los sentimientos de consideración y estima, quedo de usted agradecido.

Atentamente,

Dra. Ruth Maldonado Rengel
COORDINADORA DE LA CARRERA DE MEDICINA
DEL ÁREA DE LA SALUD HUMANA - UNL

C.c.- Secretaria Abogada, Estudiante y Archivo
 Sip

RECIBIDO
 FOR: *Maga Ley*
 FECHA: *16/02/2016*
14145

ANEXO 6: Permiso en el institución

Catamayo 02 de Marzo del 2016

Rvda. Hermana

Clara Inés Pardo

**RECTORA DEL COLEGIO DE BACHILLERATO FISCOMISIONAL
"NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO"**

Ciudad.

Yo, Rosa María Pinzón Imaicela con CI 1104373855, estudiante de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Loja, me permito expresarle un cordial saludo y el buen deseo que se encuentre bien de salud en compañía de su comunidad religiosa, educativa y familiar.

En este año me ha tocado realizar la tesis de grado previo a la obtención del título de MEDICO GENERAL; por lo cual elabore mi Proyecto de investigación con el tema: **SEROCONVERSIÓN DE LA VACUNA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) EN NIÑAS DEL COLEGIO DE BACHILLERATO FISCOMISIONAL "NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO" DE CATAMAYO EN EL PERIODO ENERO-JUNIO DEL 2016**; para lo cual pido su autorización para la realización del mismo.

Segura de su favorable respuesta a esta petición le antelo mis más sinceros agradecimientos.


Atentamente:

Rosa María Pinzón Imaicela

ESTDIANTE DE MEDICINA

CI. 1104373855



ANEXO 8: Fórmula de Fisterra.

tamaño_muestral [Modo de compatibilidad] - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Pegar Fuente Alineación Número Formato De condicional

D28

Indique número del tipo de test	
Tipo de test (1.unilateral o 2.bilateral)	1 UNILATERAL
Nivel de confianza o seguridad (1- α)	95%
Poder estadístico	80%
P_1 (proporción en el grupo de referencia, placebo, control o tratamiento habitual)	70%
P_2 (proporción en el grupo del nuevo tratamiento, intervención o técnica)	90%
TAMAÑO MUESTRAL (n)	48

EL TAMAÑO MUESTRAL AJUSTADO A PÉRDIDAS

Proporción esperada de pérdidas (R)	15%
MUESTRA AJUSTADA A LAS PÉRDIDAS	57

Beatriz López Calviño
Salvador Pita Fernández
Sonia Pértega Díaz
Teresa Seoane Pillado
Unidad de epidemiología clínica y bioestadística
Complejo Hospitalario Universitario A Coruña

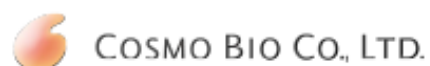
Contrase hipótesis (proporción) Contrase hipótesis (media) Cuantiles normales

ANEXO 9: Cuadros de Seroconversión.

GRUPO DE ESTUDIO	EDAD	TIEMPO POS-INMUNIZACIÓN	DOSIS	SEROCONVERSION
1	9	3	1	0.191
1	9	3	1	0.192
1	9	3	1	0.193
1	9	3	1	0.194
1	9	3	1	0.195
1	9	3	1	0.196
1	9	3	1	0.197
1	9	3	1	0.198
1	9	3	1	0.189
1	9	3	1	0.199
2	10	6	2	0.200
2	10	6	2	0.201
2	10	6	2	0.202
2	10	6	2	0.203
2	10	6	2	0.204
2	10	6	2	0.205
2	10	6	2	0.206
2	10	6	2	0.207
2	10	6	2	0.208
2	10	6	2	0.209
2	10	6	2	0.210
2	10	6	2	0.211
2	10	6	2	0.212
2	10	6	2	0.213
2	10	6	2	0.214
2	10	6	2	0.215
2	10	6	2	0.216
2	10	6	2	0.216
2	10	6	2	0.217
2	10	6	2	0.218
2	10	6	2	0.219
2	10	6	2	0.220
2	10	6	2	0.221
2	10	6	2	0.222
2	10	6	2	0.223
2	10	6	2	0.224
2	10	6	2	0.225
2	10	6	2	0.226
2	10	6	2	0.227
2	10	6	2	0.228
2	10	6	2	0.229
3	12	12	3	0.230
3	12	12	3	0.231
3	12	12	3	0.232
3	12	12	3	0.233
3	12	12	3	0.234
3	12	12	3	0.235

3	12	12	3	0.236
3	12	12	3	0.237
3	12	12	3	0.238
3	12	12	3	0.239
3	12	12	3	0.240
3	12	12	3	0.241
3	12	12	3	0.242
3	12	12	3	0.243
3	12	12	3	0.244
3	12	12	3	0.245
3	12	12	3	0.246
3	12	12	3	0.247

ANEXO 10: Técnica de ELISA



User's Manual



HPV IgG ELISA

Enzyme Immunoassay for the determination of IgG antibodies to Human Papilloma Virus in human serum and plasma

RUO

REF	EIA-4907
-----	----------

Σ	96
---	----



*DRG Instruments GmbH, Germany
Frauenbergstr. 18, D-35039 Marburg*

Telefon: +49 (0)6421-1700 0, Fax: +49-(0)6421-1700 5020128 Milano - Italy

Internet: www.drg-diagnostics.de

+390226007726

E-Mail: drg@drg-diagnostics.de



DIA.PRO

Diagnostic Bioprobes Srl

Via Columella n°37

Phone +390227007161 Fax

E-Mail : info@diapro.it

HPV IgG ELISA EIA-4907

Version 4.0
Effective, October 2011

(R0- 09/2011)

*Please use only the valid version of the package insert provided with the kit.
Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Arbeitsanleitung.
Si prega di usare la versione valida dell'inserto del pacco a disposizione con il kit.
Por favor, se usa solo la version valida de la metodico técnico incluido aqui en el kit.*

Table of Contents / Inhaltsverzeichnis / Tabella die Contenuti / Tabla de Contenidos

1	INTENDED USE	2
2	INTRODUCTION.....	2
3	PRINCIPLE OF THE TEST.....	2
4	COMPONENTS	3
5	MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED.....	3
6	WARNINGS AND PRECAUTIONS.....	4
7	SPECIMEN: PREPARATION AND WARNINGS.....	4
8	PREPARATION OF COMPONENTS AND WARNINGS.....	5
9	INSTRUMENTS AND TOOLS USED IN COMBINATION WITH THE KIT.....	6
10	PRE-ASSAY CONTROLS AND OPERATIONS.....	6
11	ASSAY PROCEDURE.....	7
12	ASSAY SCHEME.....	8
13	INTERNAL QUALITY CONTROL	8
14	CUT-OFF CALCULATION.....	9
15	INTERPRETATION OF RESULTS.....	10
16	PERFORMANCE CHARACTERISTICS.....	10
17	LIMITATIONS.....	10
18	REFERENCES.....	10
	SYMBOLS USED WITH DRG ASSAYS.....	11

For Research Use Only. Not for in vitro diagnostic use

1 INTENDED USE

Enzyme ImmunoAssay (ELISA) for the semi-quantitative determination of IgG class antibodies to Human Papilloma Virus (or HPV) in human plasma and sera.

The product is supplied for research purpose only. It is not for use in the diagnosis or for the follow-up of patients administered with the vaccines containing HPV antigens.

2 INTRODUCTION

Human Papilloma Viruses are double stranded DNA organisms, without envelope, bearing to the group of Papovavirus.

HPV infects epithelial cells and are associated with benign and malign lesions as papillomas, condilomas and carcinomas.

Human Papilloma Viruses are pretty heterogenic and are classified in several types that include high-risk oncogenic types (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68) and low risk non oncogenic types. Synthetic antigens have been recently used to produce vaccines able to protect against infections due to the most carcinogenic strains of HPV, whose distribution has started in many countries of the world and whose real efficacy as vaccine is under field investigation.

3 PRINCIPLE OF THE TEST

Microplates are coated with recombinant VLP's derived from HPV Type 6, 11, 16 e 18.

In the 1st incubation, the solid phase is treated with diluted samples and anti-HPV IgG are captured, if present, by the antigens. After washing out all the other components of the sample, in the 2nd incubation bound anti-HPV IgG are detected by the addition of anti hIgG antibody, labeled with peroxidase (HRP).

The enzyme captured on the solid phase, acting on the substrate/chromogen mixture, generates an optical signal that is proportional to the amount of anti-HPV IgG antibodies present in the sample.

A cut-off value turns the measured optical densities into positive or negative results.

4 COMPONENTS

Each kit contains sufficient reagents to perform 96 tests.

1. **Microplate: [MICROPLATE]**
12 strips x 8 breakable microwells coated with recombinant VLP's derived from HPV Type 6, 11, 16 e 18. Plates are sealed into a bag with desiccant. Allow the microplate to reach room temperature before opening; reseal unused strips in the bag with desiccant and store at 4°C.
2. **Negative Control: [CONTOL -]**
1 x 2.0 mL/vial. Ready to use and pale yellow color coded.
Contains human serum negative for IgG anti HPV, 2% casein, 10 mM Na-citrate buffer pH 6.0 +/-0.1, 0.1% Tween 20, 0.09% Na-azide and 0.1% Kathon GC as preservatives.
3. **Positive Control: [CONTROL +]**
1 x 2.0 mL/vial. Ready to use and dark green color coded.
Contains human serum positive for IgG anti HPV, 2% casein, 10 mM Na-citrate buffer pH 6.0 ± 0.1, 0.1% Tween 20, 0.09% Na-azide and 0.1% Kathon GC as preservatives. .
4. **Wash buffer concentrate, 20X [WASHBUF 20X]**
1 x 60 mL/bottle. 20x concentrated solution. Once diluted, the wash solution contains 10 mM phosphate buffer pH 7.0+/-0.2, 0.05% Tween 20 and 0.05% Kathon GC.
5. **Enzyme Conjugate : [CONJ]**
1x16 mL/vial. Ready to use and red colour coded.
It contains Horseradish peroxidase conjugated polyclonal antibodies to human IgG, 5% BSA, 10 mM Tris buffer pH 6.8+/-0.1, 0.1% Kathon GC and 0.02% gentamicine sulphate as preservatives.
6. **Chromogen/Substrate: [SUBS TMB]**
1 x 16 mL/vial. It contains 50 mM citrate-phosphate buffer pH 3.5-3.8, 4% dimethylsulphoxide, 0.03% tetra-methyl-benzidine (or TMB) and 0.02% hydrogen peroxide (or H₂O₂).
Note: To be stored protected from light as sensitive to strong illumination.
7. **Sulphuric Acid: [H2SO4 0.3M]**
1 x 15 mL/vial. It contains 0.3 M H₂SO₄ solution. *Attention !: Irritant (Xi R36/38; S2/26/30)*
8. **Specimen Diluent: [DILSPE]**
2 x 60mL/vial. It contains 2% casein, 10 mM Na-citrate buffer pH 6.0 +/-0.1, 0.1% Tween 20, 0.09% Na-azide and 0.1% Kathon GC as preservatives.
To be used to dilute the sample.
9. **Plate sealing foils n°2**
10. **Package insert n°1**

5 MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Calibrated Micropipettes (1000, 100 and 10 µL and disposable plastic tips).
2. EIA grade water (bidistilled or deionised, charcoal treated to remove oxidizing chemicals used as disinfectants).
3. Timer with 60 minute range or higher.
4. Absorbent paper tissues.
5. Calibrated ELISA microplate thermostatic incubator (dry or wet) set at +37°C (± 0.5°C tolerance).
6. Calibrated ELISA microwell reader with 450nm (reading) and possibly with 620 - 630nm (blinking) filters.
7. Calibrated ELISA microplate washer.
8. Vortex or similar mixing tools.

6 WARNINGS AND PRECAUTIONS

For Research Use Only. Not for in vitro diagnostic use

1. The kit has to be used by skilled and properly trained technical personnel only, under the supervision of a medical doctor responsible of the laboratory.
2. All the personnel involved in performing the assay have to wear protective laboratory clothes, talc-free gloves and glasses. The use of any sharp (needles) or cutting (blades) devices should be avoided. All the personnel involved should be trained in biosafety procedures, as recommended by the Center for Disease Control, Atlanta, U.S. and reported in the National Institute of Health's publication: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed. 1984.
3. All the personnel involved in sample handling should be vaccinated for HBV and HAV, for which vaccines are available, safe and effective.
4. The laboratory environment should be controlled so as to avoid contaminants such as dust or air-borne microbial agents, when opening kit vials and microplates and when performing the test. Protect the Chromogen (TMB) from strong light and avoid vibration of the bench surface where the test is undertaken.
5. Upon receipt, store the kit at 2°C - 8°C into a temperature controlled refrigerator or cold room.
6. Do not interchange components between different lots of the kits. It is recommended that components between two kits of the same lot should not be interchanged.
7. Check that the reagents are clear and do not contain visible heavy particles or aggregates. If not, advise the laboratory supervisor to initiate the necessary procedures for kit replacement.
8. Avoid cross-contamination between serum/plasma samples by using disposable tips and changing them after each sample.
9. Avoid cross-contamination between kit reagents by using disposable tips and changing them between the use of each one.
10. Do not use the kit after the expiration date stated on the external container and internal (vials) labels. A study conducted on an opened kit did not pointed out any relevant loss of activity up to six 6 uses of the device and up to 6 months.
11. Treat all specimens as potentially infective. All human serum specimens should be handled at Biosafety Level 2, as recommended by the Center for Disease Control, Atlanta, U.S. in compliance with what reported in the Institutes of Health's publication: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed. 1984.
12. The use of disposable plastic-ware is recommended in the preparation of the liquid components or in transferring components into automated workstations, in order to avoid cross contamination.
13. Waste produced during the use of the kit has to be discarded in compliance with national directives and laws concerning laboratory waste of chemical and biological substances. In particular, liquid waste generated from the washing procedure, from residuals of controls and from samples has to be treated as potentially infective material and inactivated before waste. Suggested procedures of inactivation are treatment with a 10% final concentration of household bleach for 16-18 hrs or heat inactivation by autoclave at 121°C for 20 min..
14. Accidental spills from samples and operations have to be adsorbed with paper tissues soaked with household bleach and then with water. Tissues should then be discarded in proper containers designated for laboratory/hospital waste.
15. The Sulphuric Acid is an irritant. In case of spills, wash the surface with plenty of water
16. Other waste materials generated from the use of the kit (example: tips used for samples and controls, used microplates) should be handled as potentially infective and disposed according to national directives and laws concerning laboratory wastes.

7 SPECIMEN: PREPARATION AND WARNINGS

1. Blood is drawn aseptically by venepuncture and *plasma or serum* is prepared using standard techniques of preparation of samples for clinical laboratory analysis. No influence has been observed in the preparation of the sample with citrate, EDTA and heparin.
2. Samples have to be clearly identified with codes or names in order to avoid misinterpretation of results. Bar code labeling and electronic reading is strongly recommended.
3. Haemolysed ("red") and visibly hyperlipemic ("milky") samples have to be discarded as they could generate false results. Samples containing residues of fibrin or heavy particles or microbial filaments and bodies should be discarded as they could give rise to false results.
4. Sera and plasma can be stored at +2°C - 8°C for up to five days after collection. For longer storage periods, samples can be stored frozen at -20°C for several months. Any frozen samples should not be frozen/thawed more than once as this may generate particles that could affect the test result.
5. If particles are present, centrifuge at 2.000 rpm for 20 min or filter using 0.2-0.8 µ filters to clean up the sample for testing.

8 PREPARATION OF COMPONENTS AND WARNINGS**Microplate:**

Allow the microplate to reach room temperature (about 1 hr) before opening the container. Check that the desiccant is not turned to dark green, indicating a defect of storage. In this case call DRG's customer service.

Unused strips have to be placed back into the aluminium pouch, in presence of desiccant supplied, firmly zipped and stored at +2°C - 8°C. When opened the first time, residual strips are stable till the indicator of humidity inside the desiccant bag turns from yellow to green.

Controls

Ready to use. Mix well on vortex before use.

Wash buffer concentrate:

The whole content of the concentrated solution has to be diluted 20x with bidistilled water and mixed gently end-over-end before use. During preparation avoid foaming as the presence of bubbles could impact on the efficiency of the washing cycles.

Note: Once diluted, the wash solution is stable for 1 week at +2°C - 8°C.

Enzyme Conjugate:

Ready to use. Mix well on vortex before use.

Be careful not to contaminate the liquid with oxidizing chemicals, air-driven dust or microbes.

If this component has to be transferred use only plastic, possibly sterile disposable containers.

Chromogen/Substrate:

Ready to use. Mix well on vortex before use.

Be careful not to contaminate the liquid with oxidizing chemicals, air-driven dust or microbes. Do not expose to strong illumination, oxidizing agents and metallic surfaces. If this component has to be transferred use only plastic, possible sterile disposable container

Sample Diluent

Ready to use component. Mix carefully on vortex before use.

Sulphuric Acid:

Ready to use. Mix well on vortex before use.

Legenda: R 36/38 = Irritating to eyes and skin.

S 2/26/30 = In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.

9 INSTRUMENTS AND TOOLS USED IN COMBINATION WITH THE KIT

1. Micropipettes have to be calibrated to deliver the correct volume required by the assay and must be submitted to regular decontamination (household alcohol, 10% solution of bleach, hospital grade disinfectants) of those parts that could accidentally come in contact with the sample. They should also be regularly maintained in order to show a precision of 1% and a trueness of +/-2%. Decontamination of spills or residues of kit components should also be carried out regularly.
2. The ELISA incubator has to be set at +37°C (tolerance of +/-0.5°C) and regularly checked to ensure the correct temperature is maintained. Both dry incubators and water baths are suitable for the incubations, provided that the instrument is validated for the incubation of ELISA tests.
3. The ELISA washer is extremely important to the overall performances of the assay. The washer must be carefully validated and correctly optimised using the kit controls and reference panels, before using the kit for routine laboratory tests. Usually 4-5 washing cycles (aspiration + dispensation of 350 µL/well of washing solution = 1 cycle) are sufficient to ensure that the assay performs as expected.
A soaking time of 20-30 seconds between cycles is suggested. In order to set correctly their number, it is recommended to run an assay with the kit controls and well characterized negative and positive reference samples, and check to match the values reported below in the section O "Internal quality Control". Regular calibration of the volumes delivered by, and maintenance (decontamination and cleaning of needles) of the washer has to be carried out according to the instructions of the manufacturer.
4. Incubation times have a tolerance of +5%.
5. The ELISA microplate reader has to be equipped with a reading filter of 450nm and ideally with a second filter (620-630 nm) for blanking purposes. Its standard performances should be (a) bandwidth < 10 nm; (b) absorbance range from 0 to > 2.0; (c) linearity to > 2.0; repeatability > 1%.
Blanking is carried out on the well identified in the section "Assay Procedure".
The optical system of the reader has to be calibrated regularly to ensure that the correct optical density is measured. It should be regularly maintained according to the manufacturer's instructions.
6. When using an ELISA automated work station, all critical steps (dispensation, incubation, washing, reading, data handling) have to be carefully set, calibrated, controlled and regularly serviced in order to match the values reported in the section "Internal quality Control". The assay protocol has to be installed in the operating system of the unit and validated as for the washer and the reader. In addition, the liquid handling part of the station (dispensation and washing) has to be validated and correctly set. Particular attention must be paid to avoid carry over by the needles used for dispensing and for washing. This must be studied and controlled to minimize the possibility of contamination of adjacent wells. The use of ELISA automated work stations is recommended when the number of samples to be tested exceed 20-30 units per run.

10 PRE-ASSAY CONTROLS AND OPERATIONS

1. Check the expiration date of the kit printed on the external label (primary container). Do not use if expired.
2. Check that the liquid components are not contaminated by visible particles or aggregates.
3. Check that the Chromogen (TMB) is colourless or pale blue by aspirating a small volume of it with a sterile plastic pipette.
4. Check that no breakage occurred in transportation and no spillage of liquid is present inside the box (primary container). Check that the aluminium pouch, containing the microplate, is not punctured or damaged.
5. Dilute all the content of the 20x concentrated Wash Solution as described above.
6. Allow all the other components to reach room temperature (about 1 hr) and then mix gently on vortex all liquid reagents.
7. Set the ELISA incubator at +37°C and prepare the ELISA washer by priming with the diluted washing solution, according to the manufacturer's instructions. Set the right number of washing cycles as found in the validation of the instrument for its use with the kit.
8. Check that the ELISA reader is turned on or ensure it will be turned on at least 20 minutes before reading.
9. If using an automated work station, turn on, check settings and be sure to use the right assay protocol.
10. Check that the micropipettes are set to the required volume.
11. Check that all the other equipment is available and ready to use.
12. In case of problems, do not proceed further with the test and advise the supervisor.

11 ASSAY PROCEDURE

The assay has to be carried out according to what reported below, taking care to maintain the same incubation time for all the samples in testing.

1. **Dilute samples 1:101** into a properly defined dilution tube (example: 1000 μ L Sample Diluent + 10 μ L sample). Do not dilute the Controls as they are ready to use. Mix carefully all the liquid components on vortex and then proceed as described below.
2. Place the required number of Microwells in the microwell holder. Leave A1 well empty for the operation of blanking.
3. Dispense 100 μ L of Negative Control and of Positive Control in duplicate. Then dispense 100 μ L of diluted samples in each properly identified well.
4. **Incubate the microplate for 60 min at +37°C.**

Important note: Strips have to be sealed with the adhesive sealing foil, supplied, only when the test is carried out manually. Do not cover strips when using ELISA automatic instruments.

5. Wash the microplate with an automatic washer as reported previously (section 9.3).
6. Pipette 100 μ L Enzyme Conjugate into each well, except the A1 well, and cover with the sealer. Check that this red coloured component has been dispensed in all the wells, except A1.

Important note: Be careful not to touch the plastic inner surface of the well with the tip filled with the Enzyme Conjugate. Contamination might occur.

7. **Incubate the microplate for 60 min at +37°C.**
8. Wash microwells as in step 5.
9. Pipette 100 μ L Chromogen/Substrate mixture into each well, the blank well included. Then **incubate the microplate at room temperature (18-24°C) for 20 minutes.**

Important note: Do not expose to strong direct illumination. High background might be generated.

10. Pipette 100 μ L Sulphuric Acid into all the wells using the same pipetting sequence as in step 9. Addition of acid will turn the positive control and the positive samples from blue to yellow.
11. Measure the colour intensity of the solution in each well, as described in section 9.5, at 450 nm filter (reading) and possibly at 620-630 nm (background subtraction), blanking the instrument on A1.

General Important notes:

1. If the second filter is not available ensure that no finger prints are present on the bottom of the microwell before reading at 450 nm. Finger prints could generate false positive results on reading.
2. Reading has to be carried out just after the addition of the Stop Solution and anyway not any longer than 20 minutes after its addition. Some self oxidation of the chromogen can occur leading to high background.

12 ASSAY SCHEME

Method	Operations
Controls	100 µL
Samples diluted 1:101	100 µL
1st incubation	60 min
Temperature	+37°C
Wash step	4-5 cycles
Enzyme conjugate	100 µL
2nd incubation	60 min
Temperature	+37°C
Wash step	4-5 cycles
TMB/H ₂ O ₂	100 µL
3rd incubation	20 min
Temperature	r.t.
Sulphuric Acid	100 ul
Reading OD	450nm

An example of dispensation scheme is reported below:

Microplate

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BLK	S 4										
B	NC	S 5										
C	NC	S 6										
D	PC	S 7										
E	PC	S 8										
F	S 1	S 9										
G	S 2	S 10										
H	S 3	S 11										

Legenda: BLK = Blank, NC = Negative Control, PC = Positive Control, S = Sample

13 INTERNAL QUALITY CONTROL

A validation check is carried out on the controls and the calibrator any time the kit is used in order to verify whether the performances of the assay are as expected and required by the IVDD directive 98/79/EC.

Control that the following data are matched:

Check	Requirements
Blank well A1	< 0.100 OD 450 nm
Negative Control	< 0.150 OD 450 nm after blanking
Positive Control	> 0.500 OD 450 nm after blanking

HPV IgG ELISA EIA-4907

If the results of the test match the requirements stated above, proceed to the next section. If they do not, do not proceed any further and operate as follows:

Problem	Check
Blank well > 0.100 OD450nm	1. that the Chromogen/Sustrate solution has not got contaminated during the assay
Negative Control > 0.150 OD450nm after blanking	<ol style="list-style-type: none"> 1. that the washing procedure and the washer settings are as validated in the pre qualification study; 2. that the proper washing solution has been used and the washer has been primed with it before use; 3. that no mistake has been done in the assay procedure (dispensation of a positive calibrator instead of the negative one); 4. that no contamination of the negative calibrator or of their wells has occurred due spills of positive samples or the enzyme conjugate; 5. that micropipettes haven't got contaminated with positive samples or with the enzyme conjugate, 6. that the washer needles are not blocked or partially obstructed.
Positive Control < 0.500 OD450nm	<ol style="list-style-type: none"> 1. that the procedure has been correctly executed; 2. that no mistake has been done in its distribution (dispensation of a wrong calibrator instead); 3. that the washing procedure and the washer settings are as validated in the pre qualification study; 4. that no external contamination of the positive control has occurred.

Should one of these problems have happened, after checking, report to the supervisor for further actions.

14 CUT-OFF CALCULATION

If data are valid, calculate the mean OD 450 nm value of the Negative Control (or NC) and then apply the following formulation to calculate the cut-off value:

$$NC + 0.250 = \text{Cut-Off}$$

Important Note:

When the calculation of results is made by an automatic work station, assure that the system has been loaded with the right formulation.

15 INTERPRETATION OF RESULTS

Samples with an OD 450 nm lower than the Cut-Off value are considered *not reactive* for IgG specific to the HPV antigens present in the vaccine.

Samples with an OD 450nm higher than the Cut-Off value are considered *positive* for IgG specific to the HPV antigens present in the vaccine..

In case the quantification of IgG present in positive samples is required to better monitor the immunological response to the vaccine in a prolonged time, calculate for each sample the value

OD Sample/Cut-Off (or S/Co)

that provide an index whose value is directly proportional to the content of IgG in the sample..

Important notes:

1. The product is not intended to provide any diagnosis of Human Papilloma Virus infection or active immunological protection against HPV. The device provides only an indication about the presence, or not, of antibodies elicited specifically by the vaccination treatment, despite any therapeutically effect that such antibodies could have or not in protecting the vaccinated individual against HPV infection.
2. Other tests for HPV as PAP test and RT PCR assays should be carried out on patients suspected to bear a HPV infection.
3. Interpretation of results should be done under the supervision of the laboratory supervisor to reduce the risk of judgment errors and misinterpretations.
4. When test results are transmitted from the laboratory to another facility, attention must be paid to avoid erroneous data transfer.

16 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

As no data were available on the presence of IgG to HPV specific VLPs so far ,as this test is pretty new, the evaluation of the kit **performances** has been first conducted on panels of female teenagers aging up to 14 years as IgG negative specimens to define a range of negativity, and then a random population of adult individuals to define a range of positivity due to natural HPV infection.

Finally the device was studied on a panel of female teenagers before and after the process of vaccination.

Reproducibility was studied on three samples of different IgG reactivity, examined in 18 replicates in three separate runs; the study has shown CV% values ranging 4-20% depending on the OD450nm readings.

The variability observed did not result in any sample misclassification.

17 LIMITATIONS

The product is for research use only.

The product is not intended to provide any diagnosis of Human Papilloma Virus infection or active immunological protection against HPV.











The device provides only an indication about the presence, or not, of antibodies elicited specifically by the vaccination treatment, despite any therapeutically effect that such antibodies could have or not in protecting the vaccinated individual against HPV infection.




18 REFERENCES

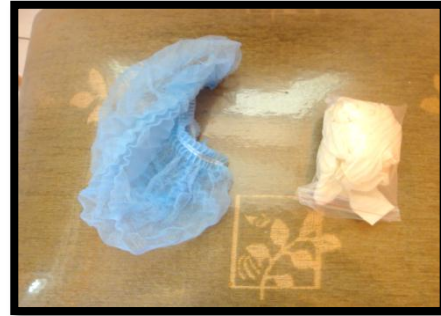
1. Rose RC et al.. Journal of Virology (1993), pp. 1936-1944.
2. Kimbauer R et al.. Journal of the National Cancer Institute (1994), vol.86, N°7, pp. 494-499.
3. Wang X et al.. Journal of General Virology (2005), vol.86, pp.65-73.
4. Coissard CJ et al.. Modern Pathology (2005), vol.18, pp.1606-1609.
5. Carter JJ et al.. Virology (1994), vol.199, pp.284-291.

HPV IgG ELISA EIA-4907

SYMBOLS USED WITH DRG ASSAYS

Symbol	English	Deutsch	Français	Español	Italiano
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Usage Diagnostic in vitro	Para uso Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Numéro de catalogue	Número de catálogo	Numero di Catalogo
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	Numéro de lot	Número de lote	Numero di lotto
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservación	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
Distributed by	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore
Content	Content	Inhalt	Conditionnement	Contenido	Contenuto
Volume/No.	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantité	Volumen/Número	Volume/Quantità

Symbol	Portugues	Dansk	Svenska	Ελληνικά
	Consulte as instruções de utilização	Se brugsanvisning	Se bruksanvisningen	Εγχειρίδιο χρήσης
	Conformidade com as normas europeias	Europaelsk overensstemmelse	Europeiskt överensstämelse	Ευρωπαϊκή Συμμόρφωση
	Diagnóstico in vitro	In vitro diagnostik	Diagnostik in vitro	in vitro διαγνωστικό
				
	Catálogo n.º	Katalognummer	Katalog nummer	Αριθμός καταλόγου
	No do lote	Lot nummer	Batch-nummer	Αριθμός Παρτίδος
		Indeholder tilstrækkeligt til "n" test	Innehåller tillräckligt till "n" tester	Περιλαμβάνει επαρκές για «n» εξετάσεις
	Temperatura de conservação	Opbevarings-temperatur	Förvaringstemperatur	Θερμοκρασία αποθήκευσης
	Prazo de validade	Udløbsdato	Bäst före datum	Ημερομηνία λήξης
	Fabricante	Producent	Tillverkare	Κατασκευαστής
Distributed by				
Content	Conteúdo	Indhold	Innehåll	Περιεχόμενο
Volume/No.	Volume/Número	Volumen/antal	Volym/antal	Όγκος/αριθ.

ANEXO 11: Procedimientos**PROCESO DE TOMA DE MUESTRAS****1. MATERIALES****Torniquete****Gorro y guantes****Recipiente para material
cortopunzante****Torundas****Tubos para tomas de
muestras****Desechos infecciosos y
comunes**



Curitas



Lápiz para rotular



Jeringas de 5ml



Alcohol

2. PROCESO DE TOMA DE MUESTRAS



Fig. 1: Venopunción

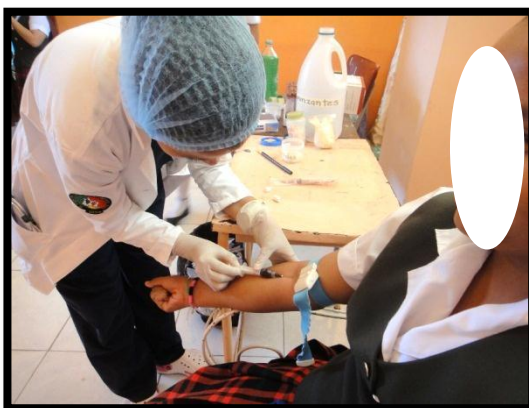


Fig. 2: Venopunción



Fig. 3: Muestras de sangre



Fig. 4: Refrigerio



Fig. 5: Estudiantes

PROCESO PARA PROCESAR MUESTRAS

1. MATERIALES



Kit de seroconversión



Pocillos para microelisa



**Gorro, mascarilla
y guantes**



**Recipiente para puntas, pipeta, gradilla, agua
destilada**



Tubos para realizar lavados



Centrifuga y baño María

2. PROCESO BIOQUÍMICO



Centrifugar las muestras



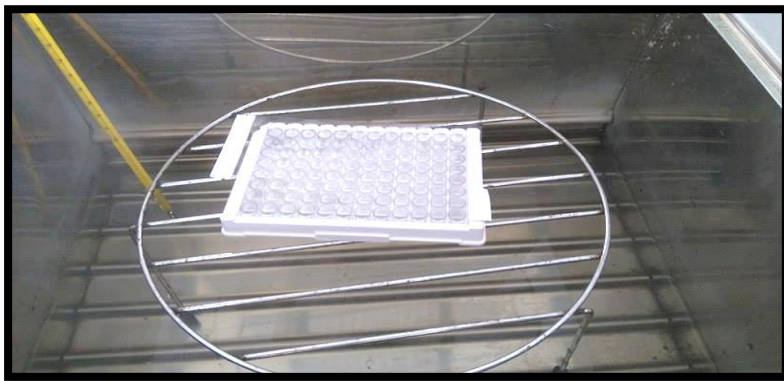
Colocar agua destilada en casa



Colocar a refrigeración



Colocar las muestras a los micropocillos para realizar el lavado, se deben hacer tres lavados



Realizar la anidación de las muestras, tres veces



Luego de haber terminado esta última anidación, se la coloca a la máquina Elisa para poder revisar los resultados



Finalmente se la programa según los rangos que nos da la técnica, para visualizar los resultados

ANEXO 12: Fórmulas

Nueva tabla : 27/05/2016 - 21:13:18 - [Versión : 31/03/2015]

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
SEROCONVERSION	59	0,83	0,82	3,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	2	0,01	133,65	<0,0001
DOSIS	0,01	2	0,01	133,65	<0,0001
Error	2,8E-03	56	5,0E-05		
Total	0,02	58			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,00504

Error: 0,0001 gl: 56

DOSIS Medias n E.E.

1,00	0,19	10	2,2E-03	A
2,00	0,21	31	1,3E-03	B
3,00	0,24	18	1,7E-03	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Nueva tabla_1 : 27/05/2016 - 22:04:41 - [Versión : 31/03/2015]

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
SEROCONVERSION	59	0,83	0,82	3,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	2	0,01	133,65	<0,0001
EDAD	0,01	2	0,01	133,65	<0,0001
Error	2,8E-03	56	5,0E-05		
Total	0,02	58			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,00504

Error: 0,0001 gl: 56

EDAD Medias n E.E.

9,00	0,19	10	2,2E-03	A
10,00	0,21	31	1,3E-03	B
12,00	0,24	18	1,7E-03	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Nueva tabla_1 : 27/05/2016 - 22:00:36 - [Versión : 31/03/2015]

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
SEROCONVERSION	59	0,83	0,82	3,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	2	0,01	133,65	<0,0001
TIEMPO POS-INMUNIZACIÓN	0,01	2	0,01	133,65	<0,0001
Error	2,8E-03	56	5,0E-05		
Total	0,02	58			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,00504

Error: 0,0001 gl: 56

TIEMPO POS-INMUNIZACIÓN Medias n E.E.

3,00 0,19 10 2,2E-03 A

6,00 0,21 31 1,3E-03 B

12,00 0,24 18 1,7E-03 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Fisher Dosis					
Dosis	Medias	n	E.E		
1	0,19	10	0	A	
2	0,21	31	0		B
3	0,24	18	0		C

Varianza					
FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	2	0	134	0
DOSIS	0,01	2	0	134	0
Error	0	56	0		
Total	0,02	58			

Varianza					
F.V	SC	gl	CM	F	P valor
Modelo.	0,01	2	0	134	0
TIEMPO POS-INMUNIZACIÓN	0,01	2	0	134	0
Error	0	56	0		
Total	0,02	58			

Fisher Tiempo					
Tiempo	Medias	n	E.E		
3	0,19	10	0	A	
6	0,21	31	0		B
12	0,24	18	0		C

Varianza					
F.V	SC	gl	CM	F	P valor
Modelo.	0,01	2	0	134	0
EDAD	0,01	2	0	134	0
Error	0	56	0		
Total	0,02	58			

Fisher					
Tiempo	Medias	n	E.E		
9	0,19	10	0	A	
10	0,21	31	0		B
12	0,24	18	0		C

ANEXO 13: Permiso para realizar el ensayo ELISA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
AREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
LABORATORIO DE MICROPROPAGACIÓN VEGETAL


TÉCNICO DE LABORATORIO.
Oficio N° 050 – LMV – AARNR
Loja, 21 de Marzo del 2016

Ing. Jose Antonio Moreno Serrano Mg. Sc
Técnico-Docente Investigador del Laboratorio de Micropropagación Vegetal

Certifico.-

Que la Señorita **Rosa María Pinzón Imaicela**; ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE MEDICINA, que dentro de las actividades de su Tesis denominada: **SEROCONVERSIÓN DE LA VACUNA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) EN NIÑAS DEL COLEGIO DE BACHILLERATO FISCOMISIONAL “NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO” DE CATAMAYO EN EL PERIODO ENERO-JUNIO DEL 2016**, y con la finalidad de realizar el trabajo práctico se le proporcionó el uso del Lector de ELISA para que realice la cuantificación de las muestras biológicas mediante la Técnica de ELISA el día **lunes 14 de Marzo del 2016**, bajo mi dirección y tutela, y con ayuda del equipo Técnico del Laboratorio. Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, facultando a la peticionaria hacer uso del presente certificado para sus fines particulares

Atentamente,
**“EN LOS TESOROS DE LA SABIDURIA
ESTA LA GLORIFICACION DE LA VIDA”**


Ing. Jose Moreno-Serrano Mg.Sc
Esp. Biotec. Docente-Investigador

ANEXO 14: Certificado de traducción del Resumen



Líderes en la Enseñanza del Inglés

Lic. Yohana Novillo
DOCENTE DE FINE-TUNED ENGLISH CÍA LTDA.

CERTIFICA:

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma inglés del resumen de tesis titulada "SEROCONVERSIÓN DE LA VACUNA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) EN NIÑAS DEL COLEGIO DE BACHILLERATO FISCOMISIONAL "NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO" DE CATAMAYO EN EL PERIODO ENERO – JUNIO 2016" autoría de Rosa María Pinzón Imaicela con número de cédula 1104373855.

Lo certifica en honor a la verdad y autorizo a la interesada hacer uso del presente en lo que a sus intereses convenga.

Loja, 01 de Septiembre de 2017

Lic. Yohana Novillo
DOCENTE DE FINE-TUNED ENGLISH CÍA LTDA.



Líderes en la Enseñanza del Inglés