



MECANISMO DE INFECCIÓN DEL VPH Y MÉTODOS MOLECULARES PARA SU IDENTIFICACIÓN. REVISIÓN DOCUMENTAL

Andrea Catalina Rocha Chamorro

**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico
Bogotá D. C. 2020**



MECANISMO DE INFECCIÓN DEL VPH Y MÉTODOS MOLECULARES PARA SU IDENTIFICACIÓN. REVISIÓN DOCUMENTAL

**Edith Hernández Rojas MSc
Asesora**

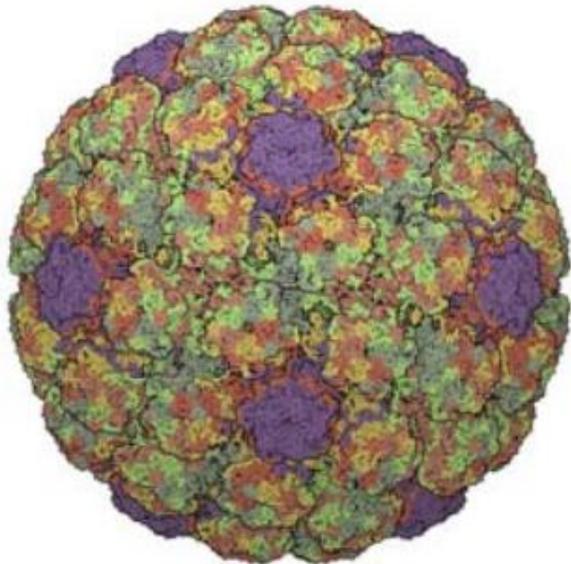
**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico
Bogotá D. C. 2020**

CONTEXTO

VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH)

CARACTERÍSTICAS

Microscopia electrónica del VPH



https://ddd.uab.cat/pub/tesis/2015/hdl_10803_310595/jdaa1de1.pdf

- ✓ Familia: Papillomaviridae.
- ✓ Genero: papilomavirus.

- ✓ Virus especie específico.
- ✓ Ampliamente distribuido en la naturaleza.
- ✓ Epitelio trópicos
- ✓ Agente causal de Cáncer de cuello uterino.
- ✓ Identificados más de 200 tipos, de los cuales 1/3. infecta células epiteliales del tracto genital.

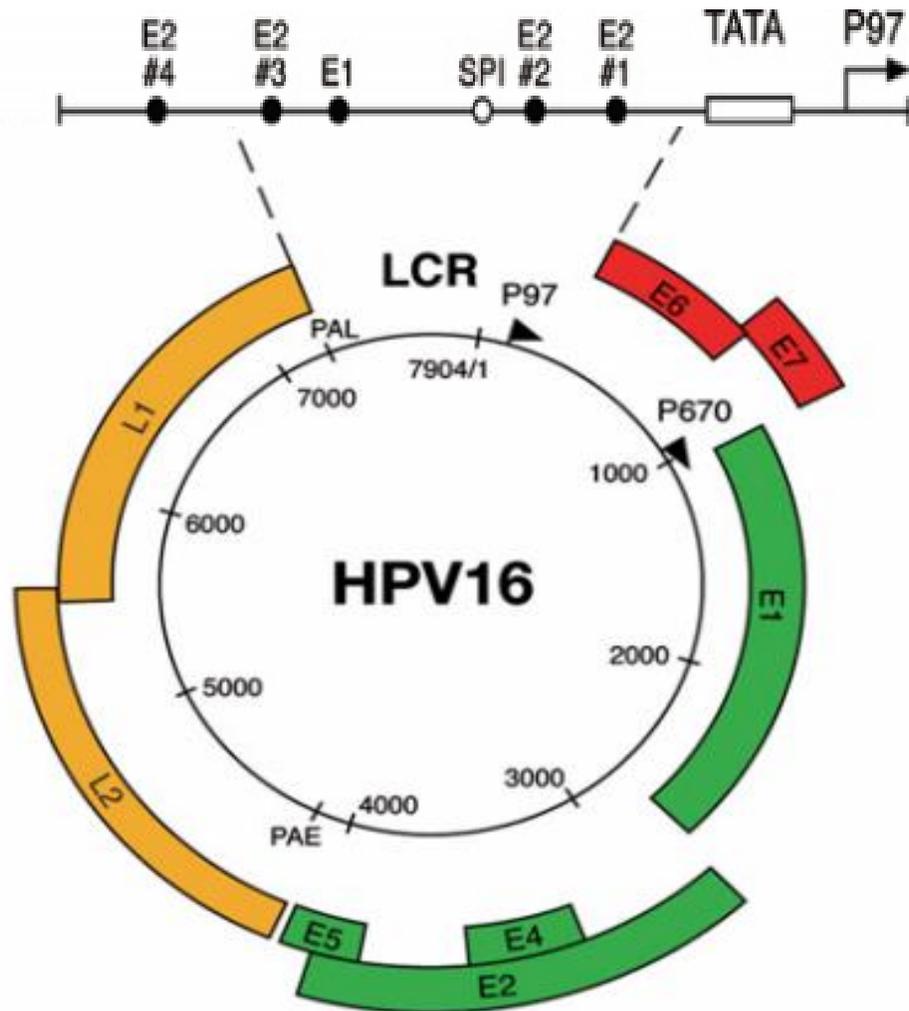
1949

1983

CLASIFICACIÓN DEL VPH

Clasificación epidemiológica	Tipos de VPH
Alto riesgo	16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59.
Probable alto riesgo	26,53,66,68,73,82.
Bajo riesgo	6,11,40,42,43,44,54,61,70,72,81.

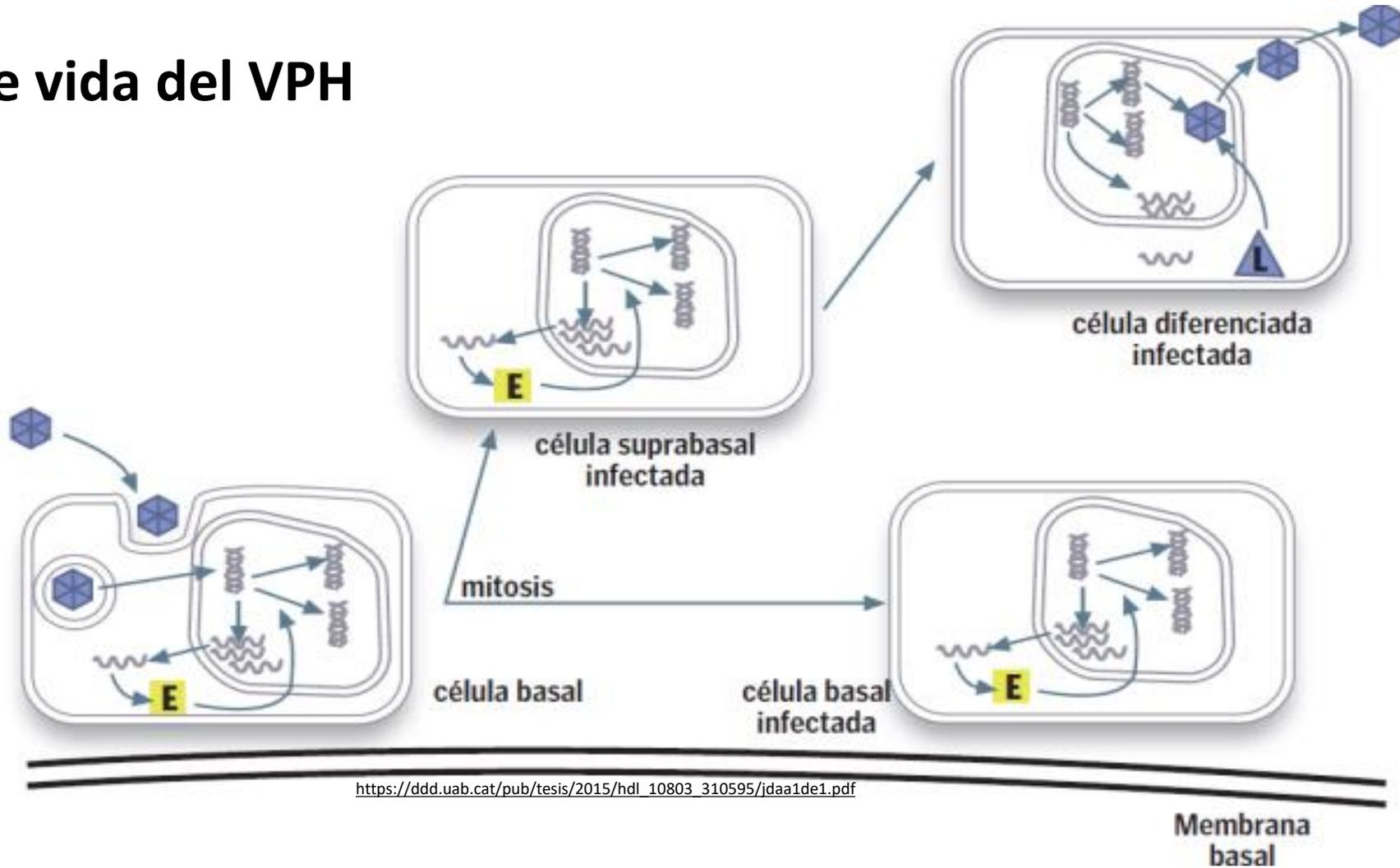
GENOMA DE VPH



- Región temprana **E**: (E1 – E6)
 - Controlan la replicación del ADN e induce la transformación maligna de la célula huésped .
- Región tardía **L**: (L1 – L2)
 - Genes que codifican para proteínas estructurales de la cápside.
- Región de control largo **LCR**:
 - Contiene los promotores que inician la replicación y controlan la transcripción.

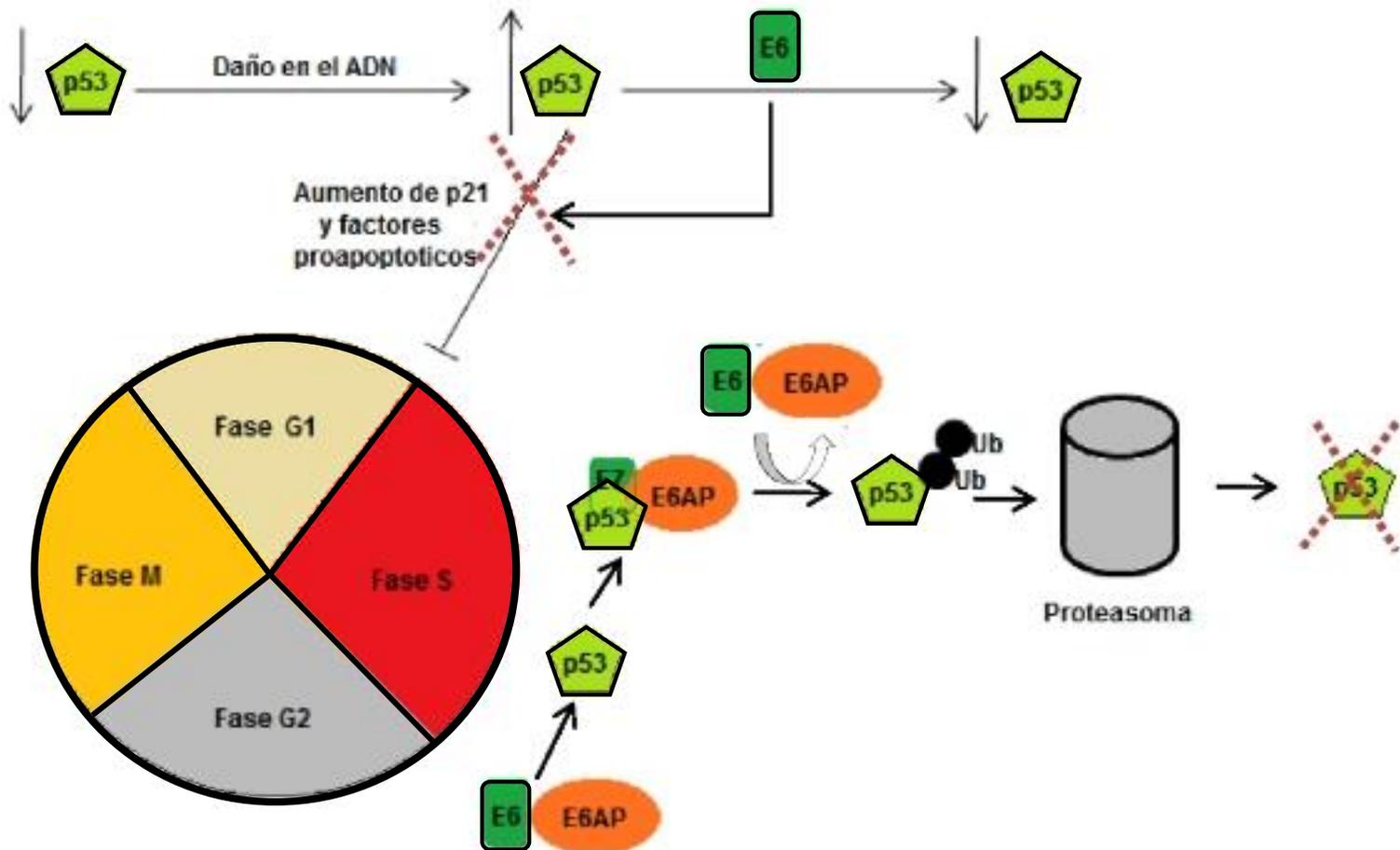
MECANISMO DE INFECCIÓN DEL VPH

Ciclo de vida del VPH

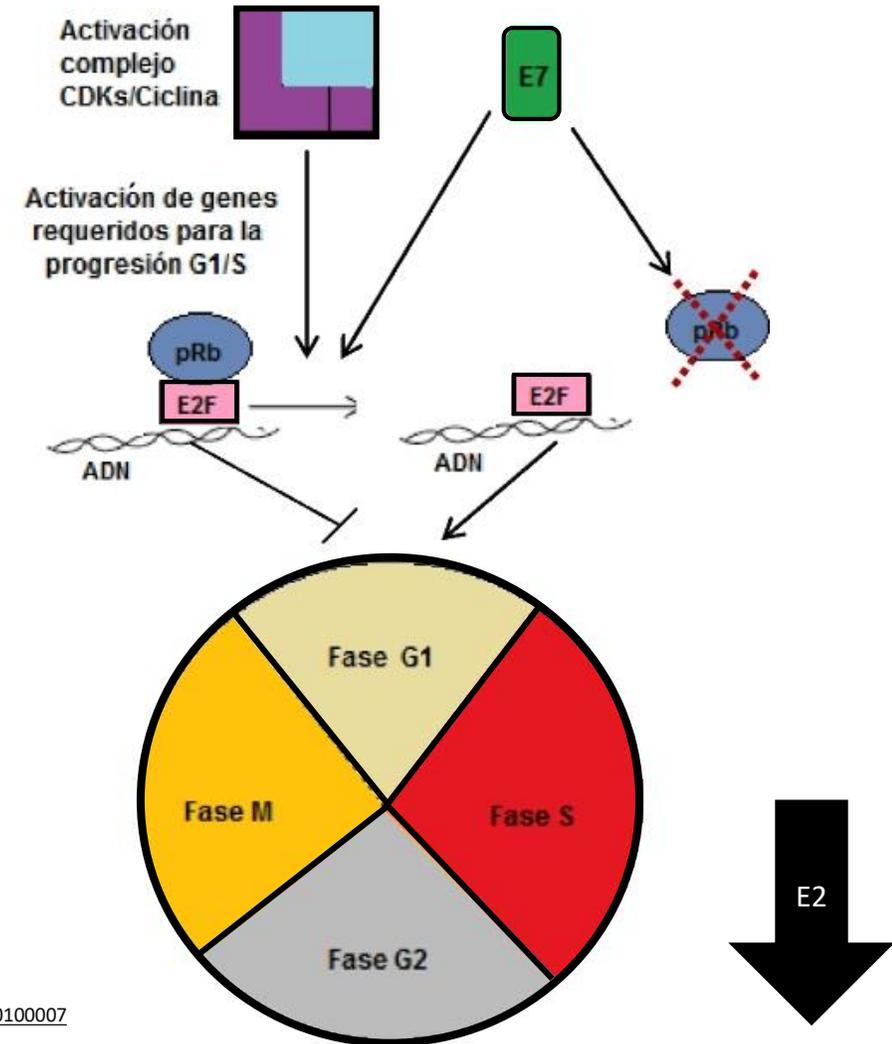


FUNCIÓN DE LAS PROTEINAS E6/7

Inhibición de la función de P53 por E6



Unión de E7 con pRB



PATOLOGIAS CAUSADAS POR EL VPH

Proporción del papel de VPH en los cánceres más comunes.

VPH
16 Y 18

Tipo de cáncer	Relación con el VPH	Presencia en mujeres	Presencia en hombres
Cáncer de cuello uterino	100%	X	
Cánceres anales	90% –93%	X	X
Cánceres de orofaringe	12% –63%	X	X
Cánceres de pene	36% –40%		X
Cánceres vaginales	40% –64%	X	
Cánceres vulvares	40% –51%	X	



Esófago

Pulmón

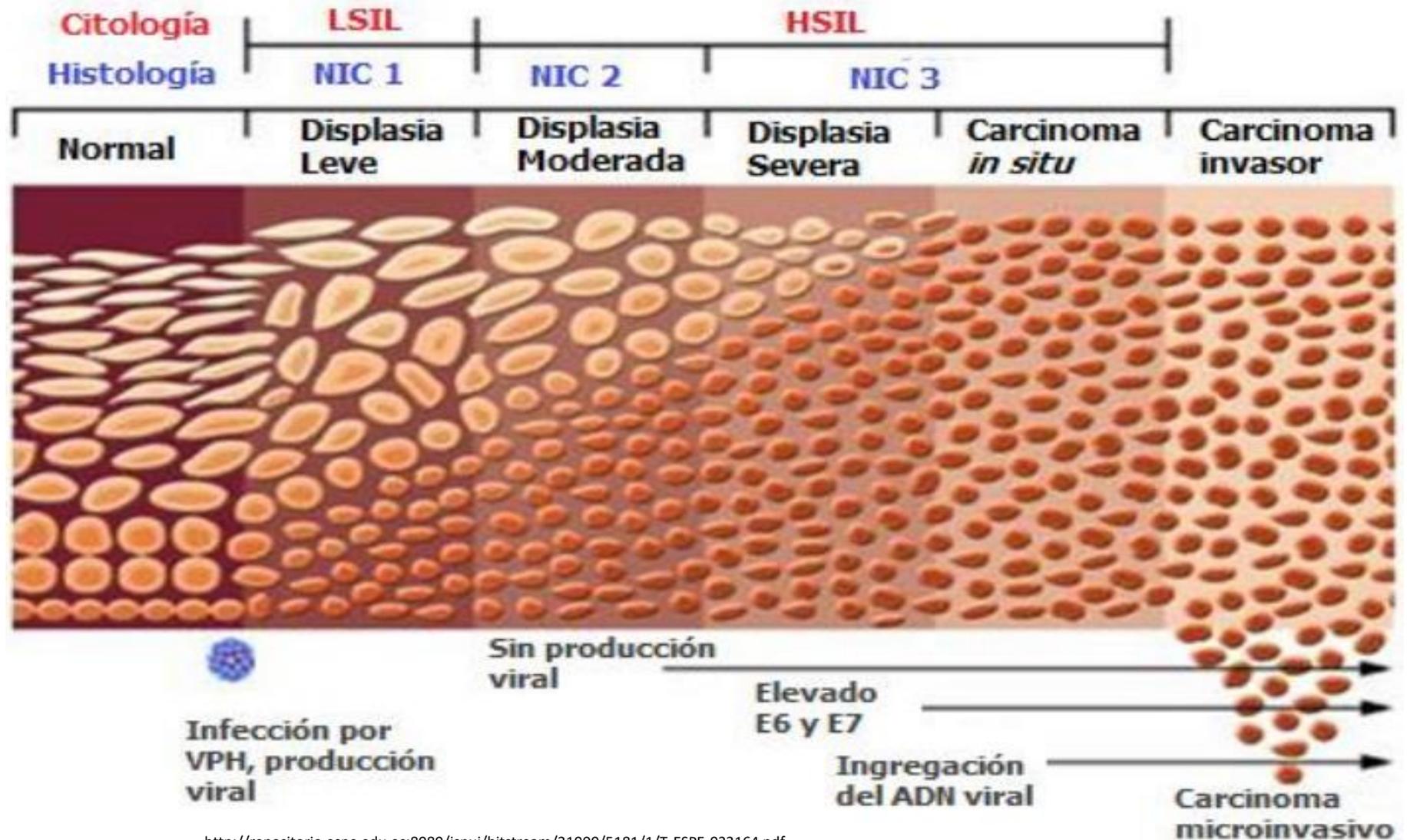
Próstata

Seno

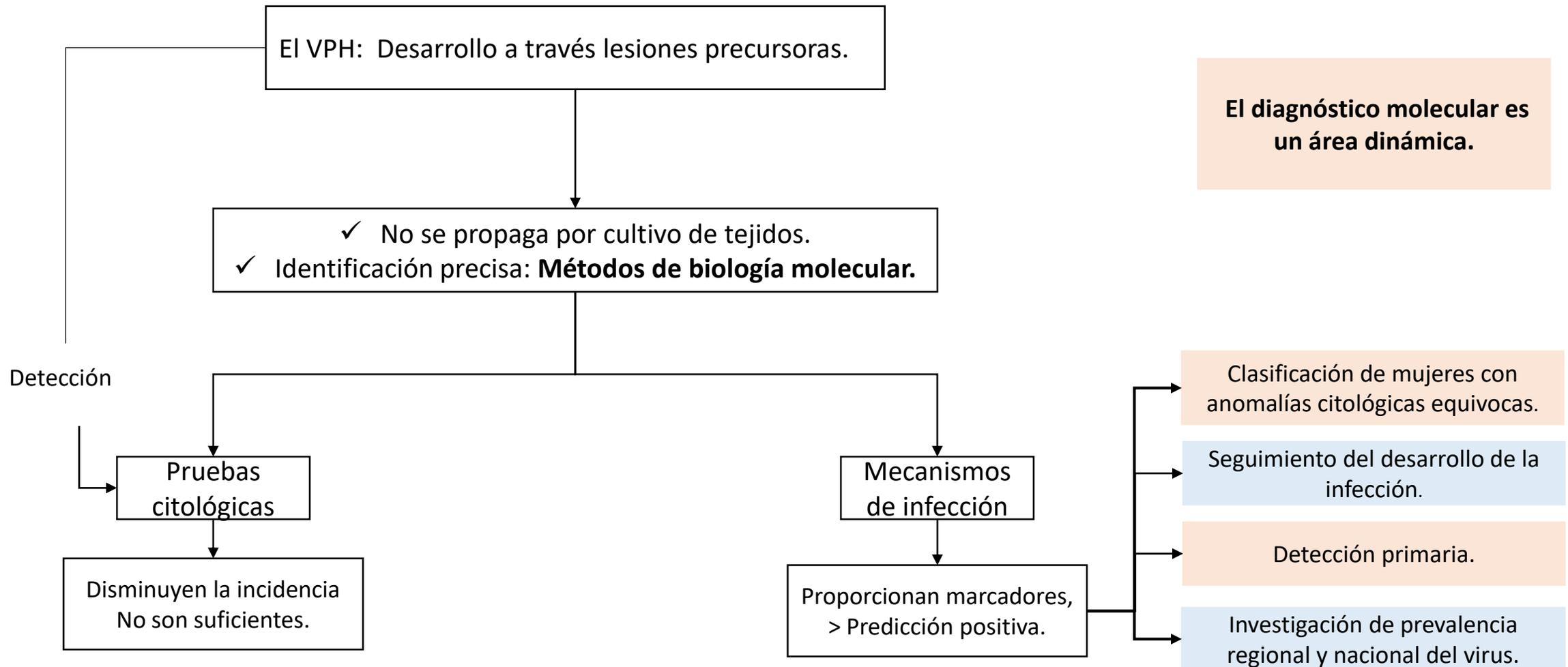


CÁNCER DE CUELLO UTERINO

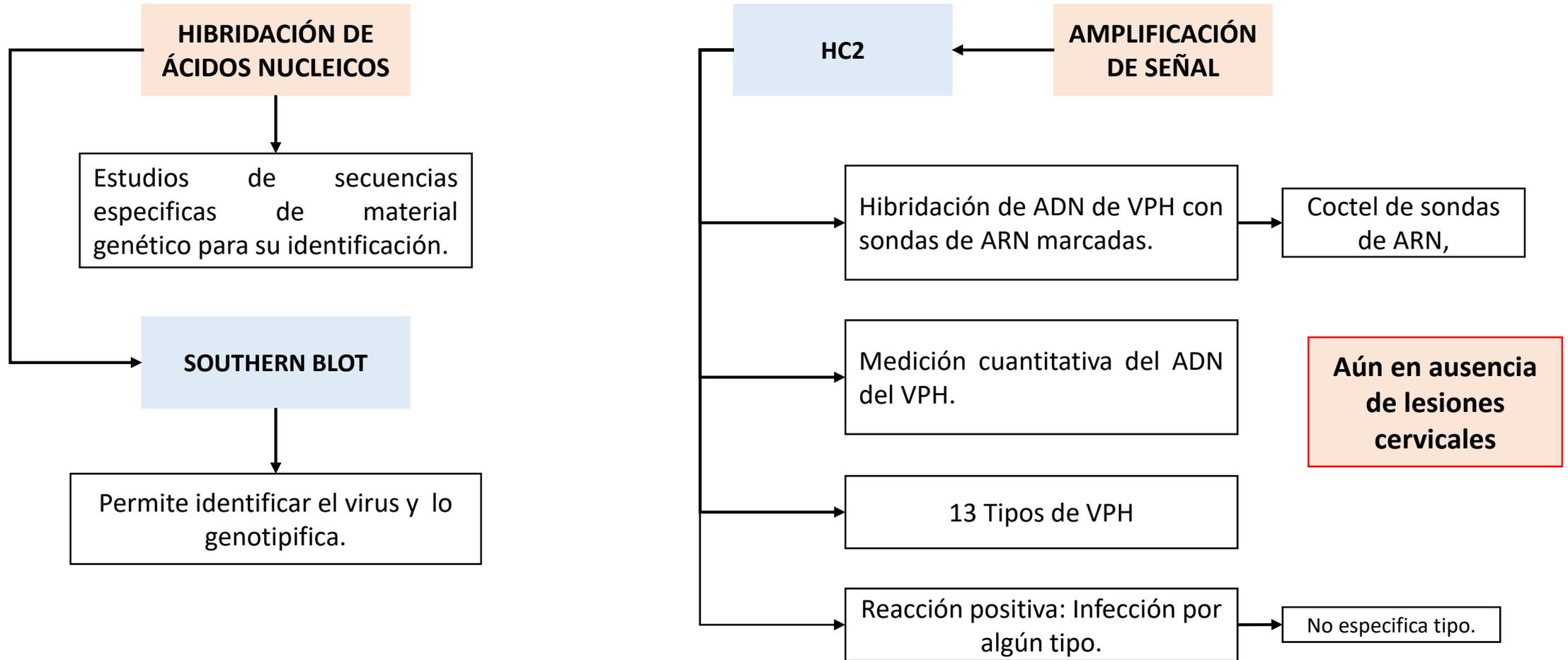
Desarrollo
oncogénico



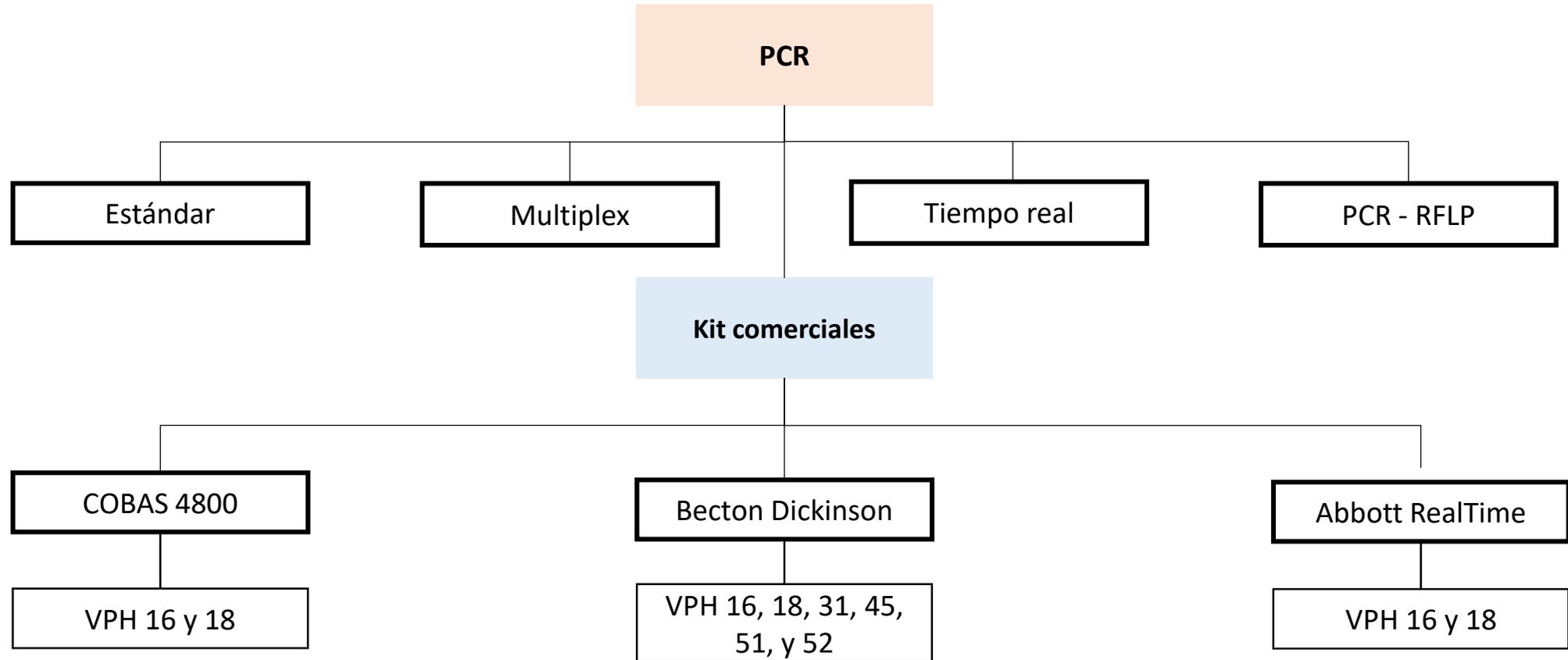
MÉTODOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE VPH



MÉTODOS MOLECULARES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE VPH



REACCIÓN EN CADENA DE POLIMERASA (PCR)



ANÁLISIS DE MICROARRAYS

Detección de la expresión de múltiples genes a la vez, mediante el uso de muchas secuencias génicas.

**HPV Direct Flow
Chip Kit**

Detección cualitativa del virus HPV y el genotipado de 36 tipos.

Papillo check

Detección cualitativa del virus HPV y el genotipado de 24 tipos.

GenoFlow

Detección cualitativa del virus HPV y el genotipado de 23 tipos.

DETECCIÓN DE EXPRESIÓN DE E6/7

Detección de pacientes con resultados de **ASC US**
(Células Escamosas atípicas con significado incierto)

Especificidad significativa mas alta
< Falsos positivos
< Costos y estrés (Colposcopia)

Aptima HPV assays

Detección cualitativa in vitro del RNA mensajero vírico E6/E7 procedente de los 14 tipos del virus del papiloma humano de alto riesgo, no discrimina entre estos tipos.

**PreTect HPV
Proofer**

Detección cualitativa de la presencia de VPH, mediante la detección del ARN de las oncoproteína E6 / E7 de los tipos de VPH cancerígenos 16, 18, 31, 33 y 45.

OBJETIVOS

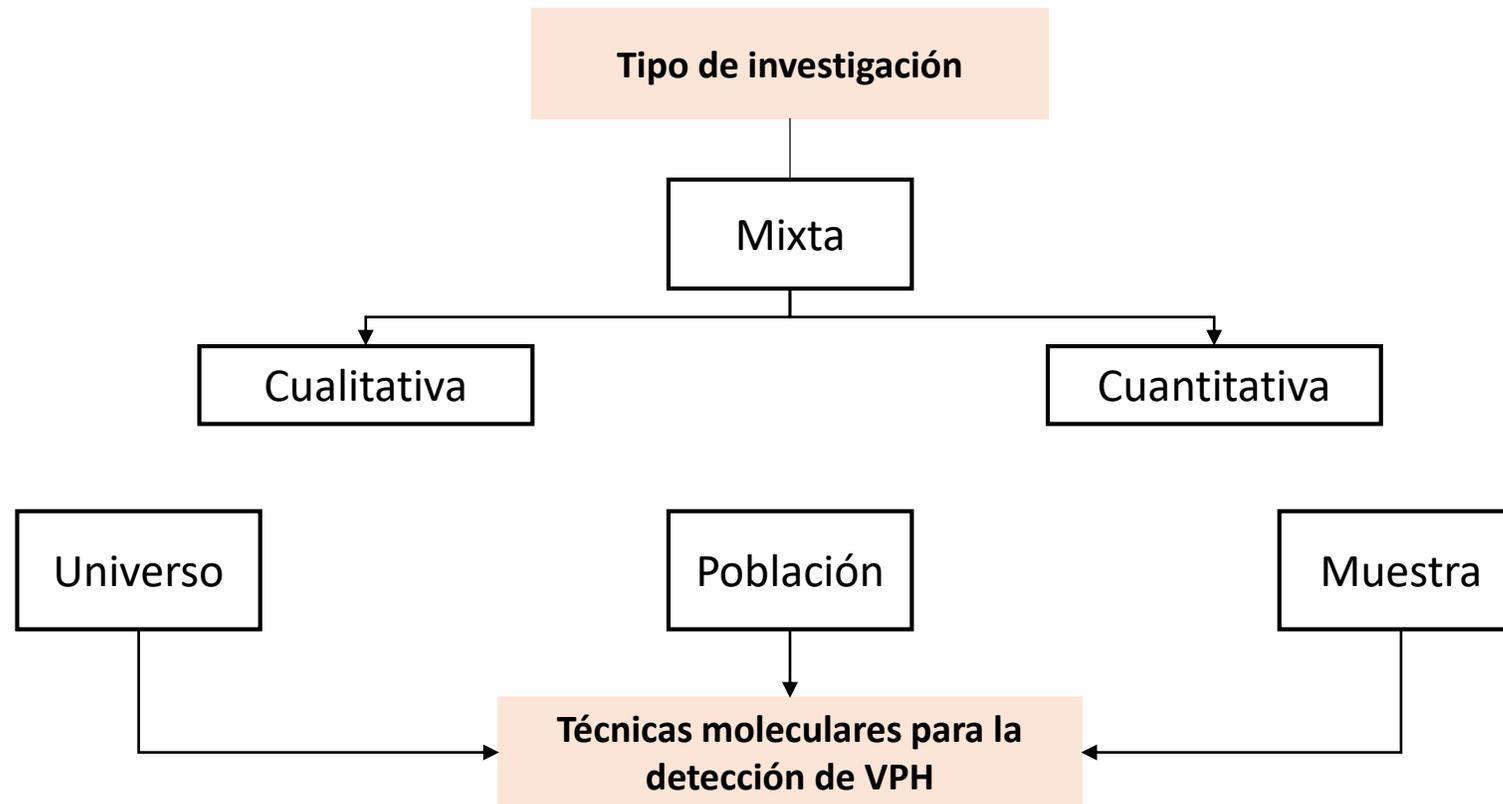
GENERAL

Realizar revisión documental sobre los mecanismos por los cuales el VPH infecta las células diana y los métodos moleculares empleados para su identificación.

ESPECÍFICOS

- Describir el proceso y los mecanismos moleculares por los cuales el VPH logra infectar las células diana.
- Recopilar información sobre las técnicas moleculares empleados para la identificación de VPH en la actualidad.
- Determinar el impacto, las ventajas y desventajas de las técnicas moleculares empleadas para la identificación de VPH.

DISEÑO METODOLÓGICO



CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

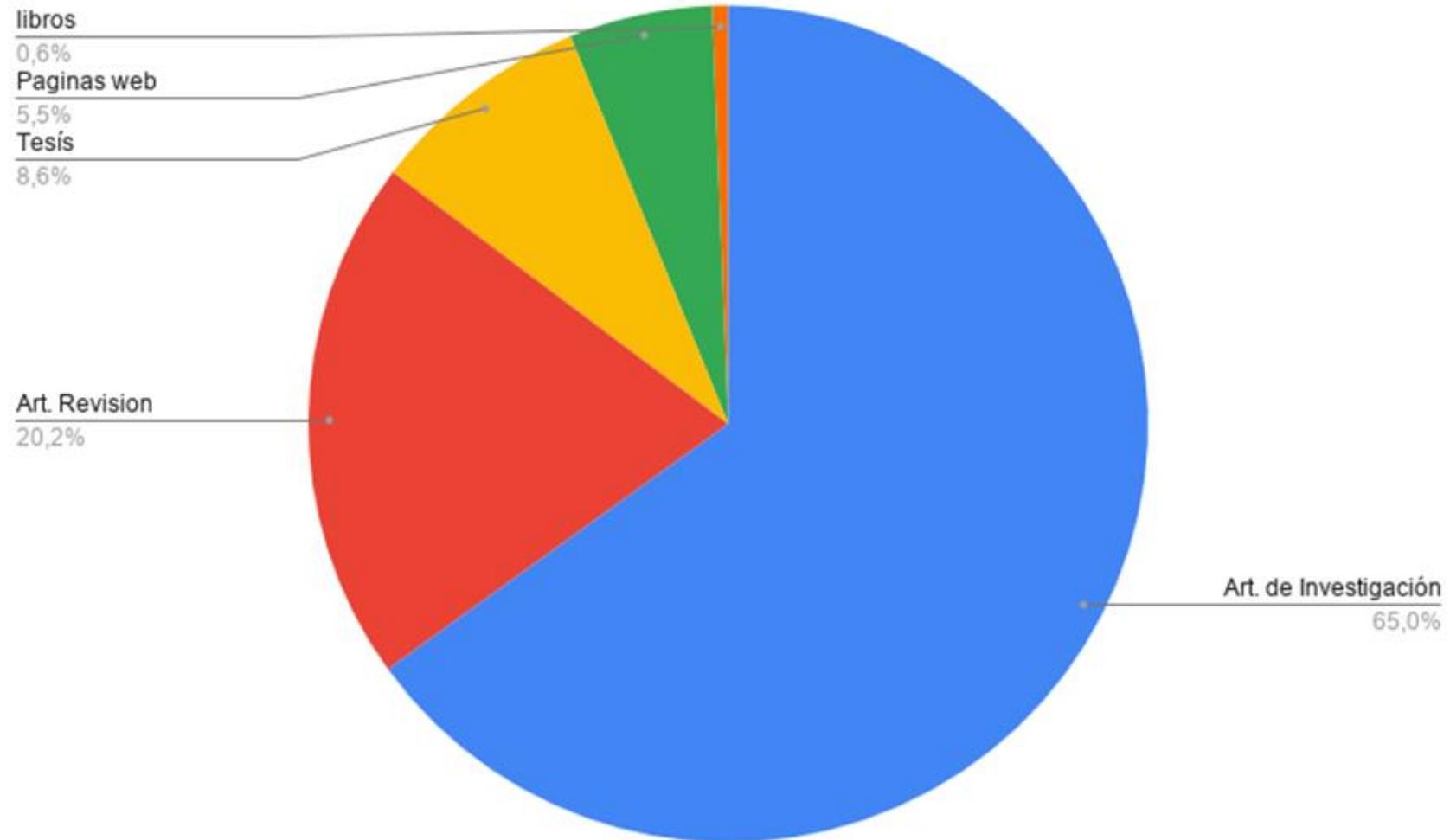
INCLUSIÓN	EXCLUSIÓN
<ul style="list-style-type: none">• Información relacionada con las técnicas moleculares para la detección de VPH.• Publicaciones en revistas reconocidas.• Publicaciones en inglés y español (1996-2020).	<ul style="list-style-type: none">• No tratar temas relacionados con las técnicas moleculares para la detección de VPH.• Bibliografía publicada en fuentes no confiables.• Idiomas diferentes al inglés y español.

PROCEDIMIENTO

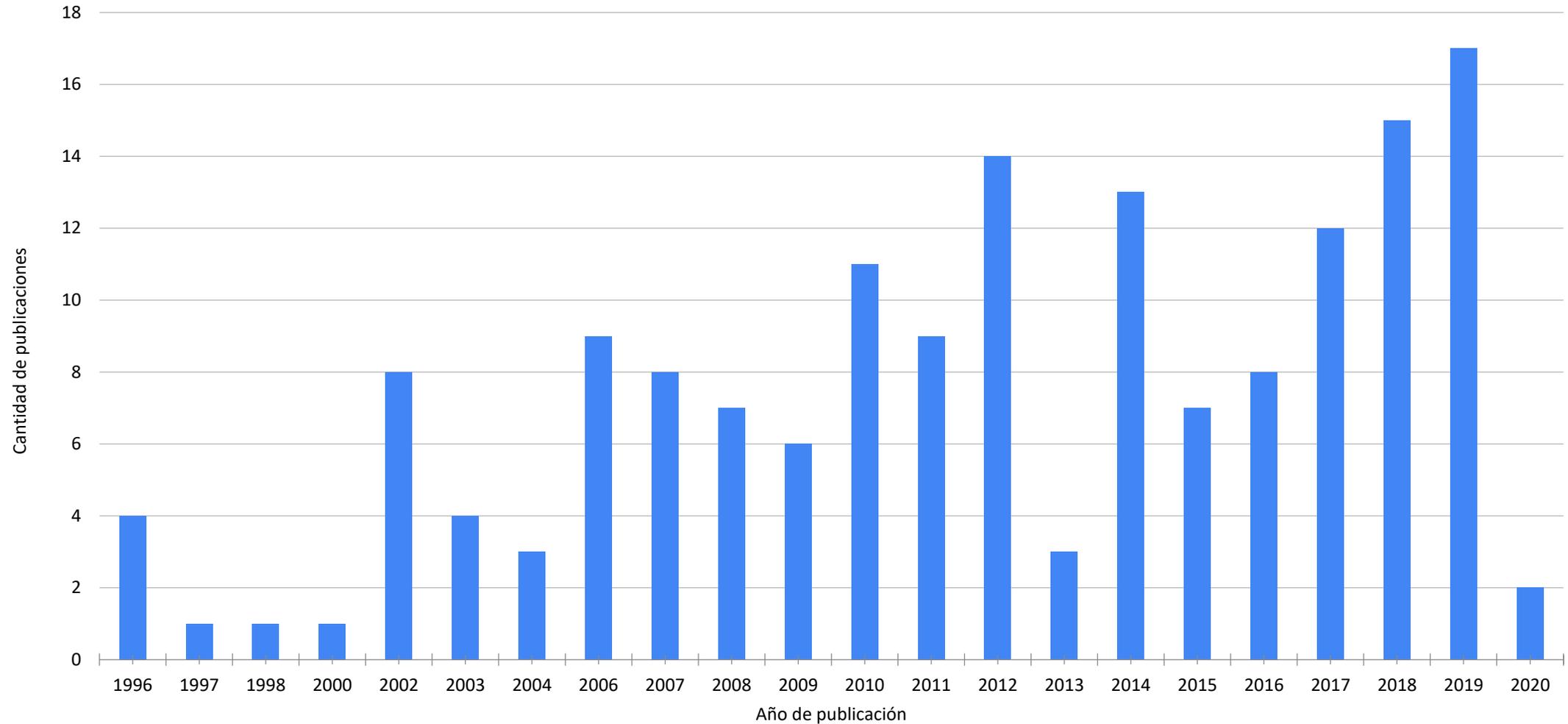


RESULTADOS Y DISCUSIÓN

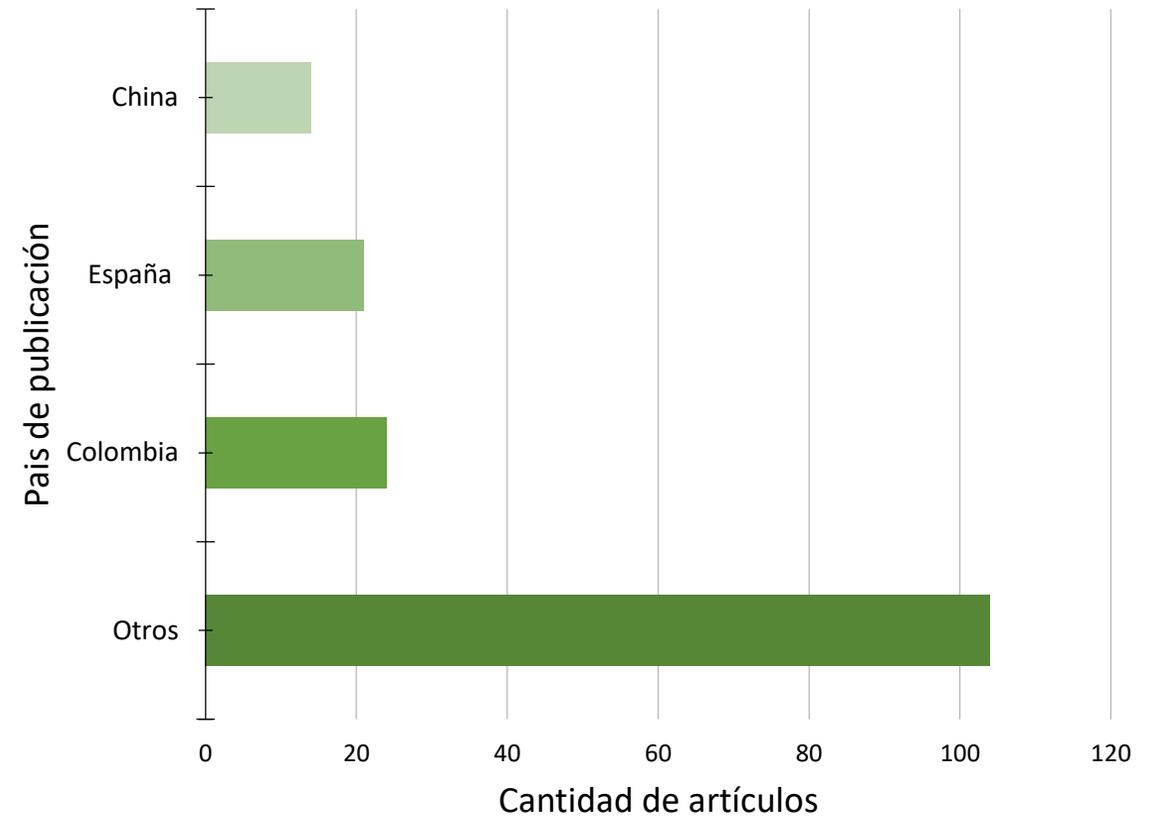
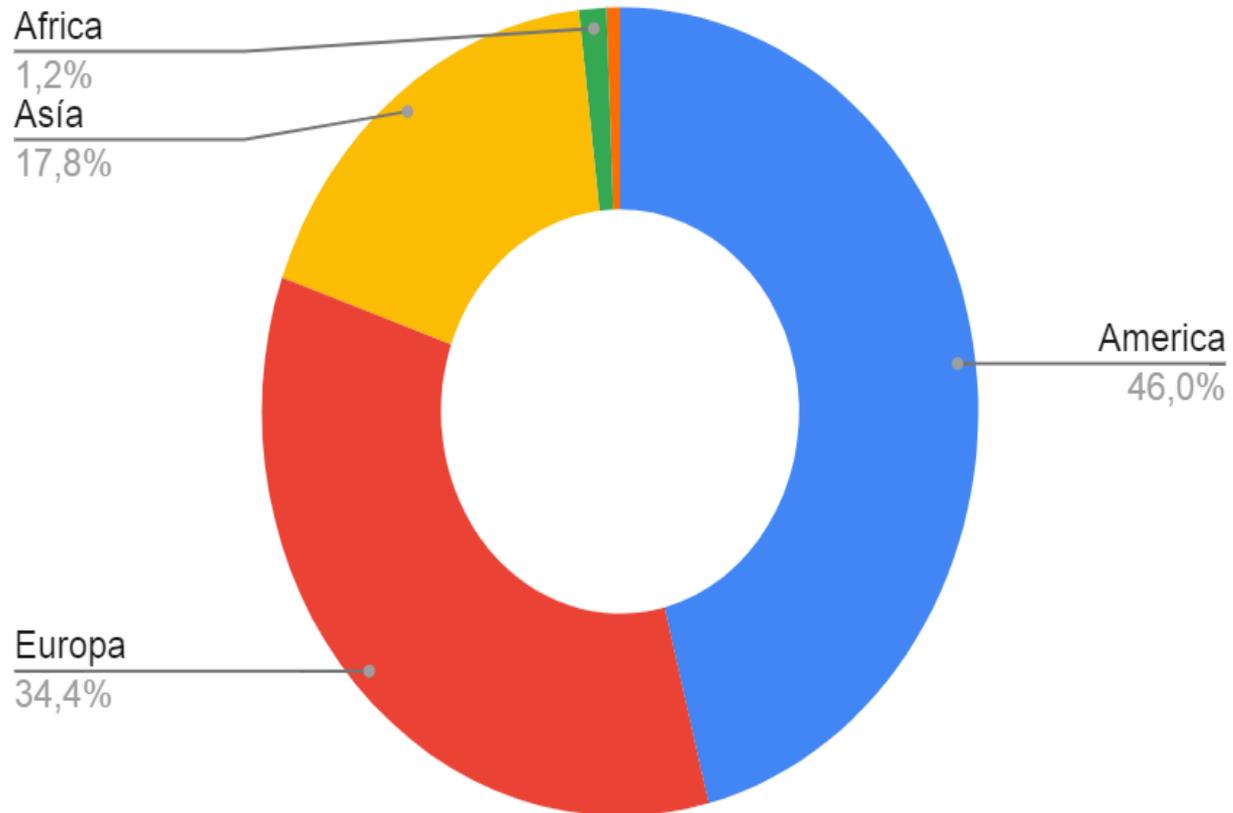
TIPO DE DOCUMENTO



AÑO DE PUBLICACIÓN



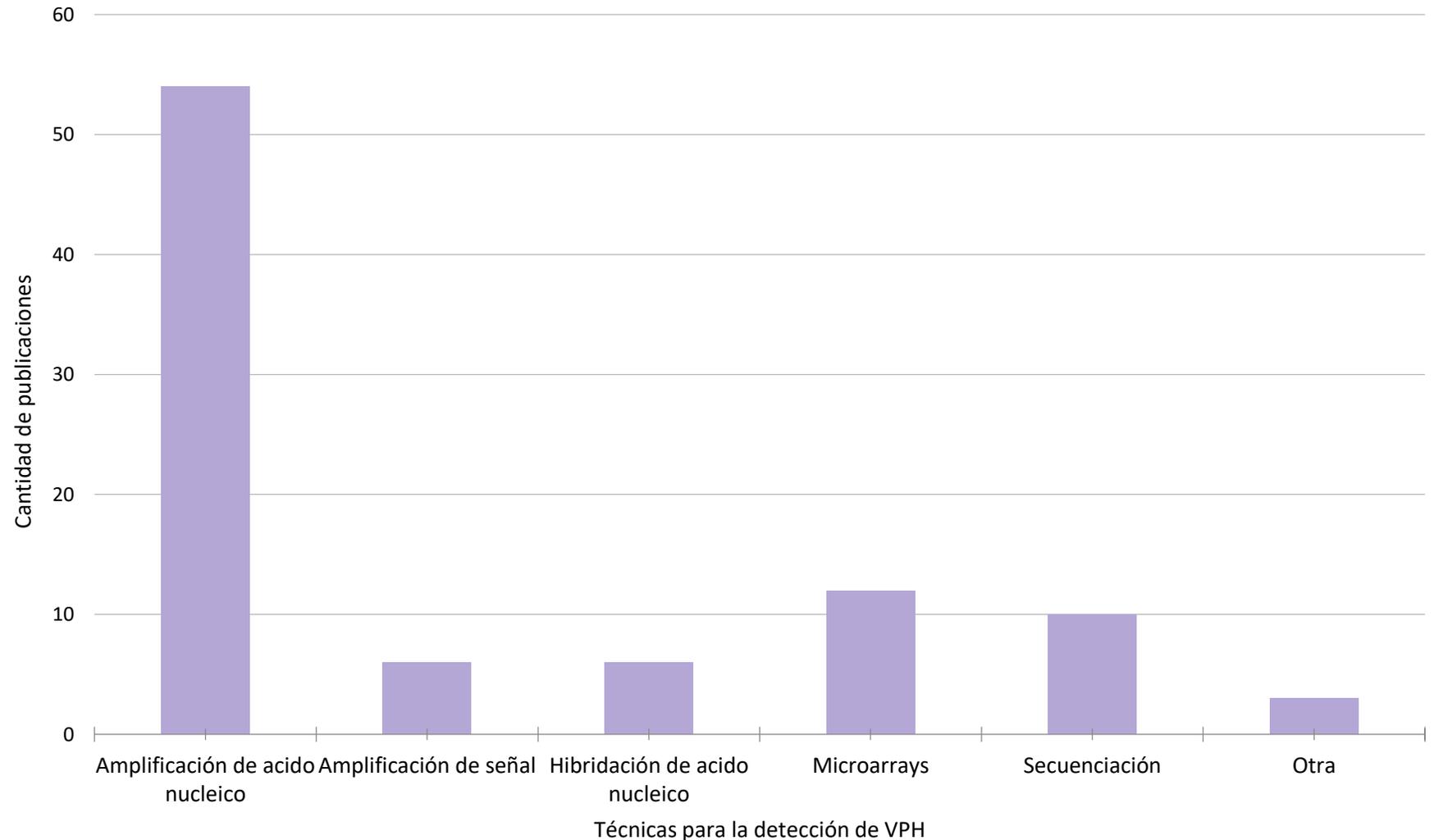
LUGAR DE PUBLICACIÓN



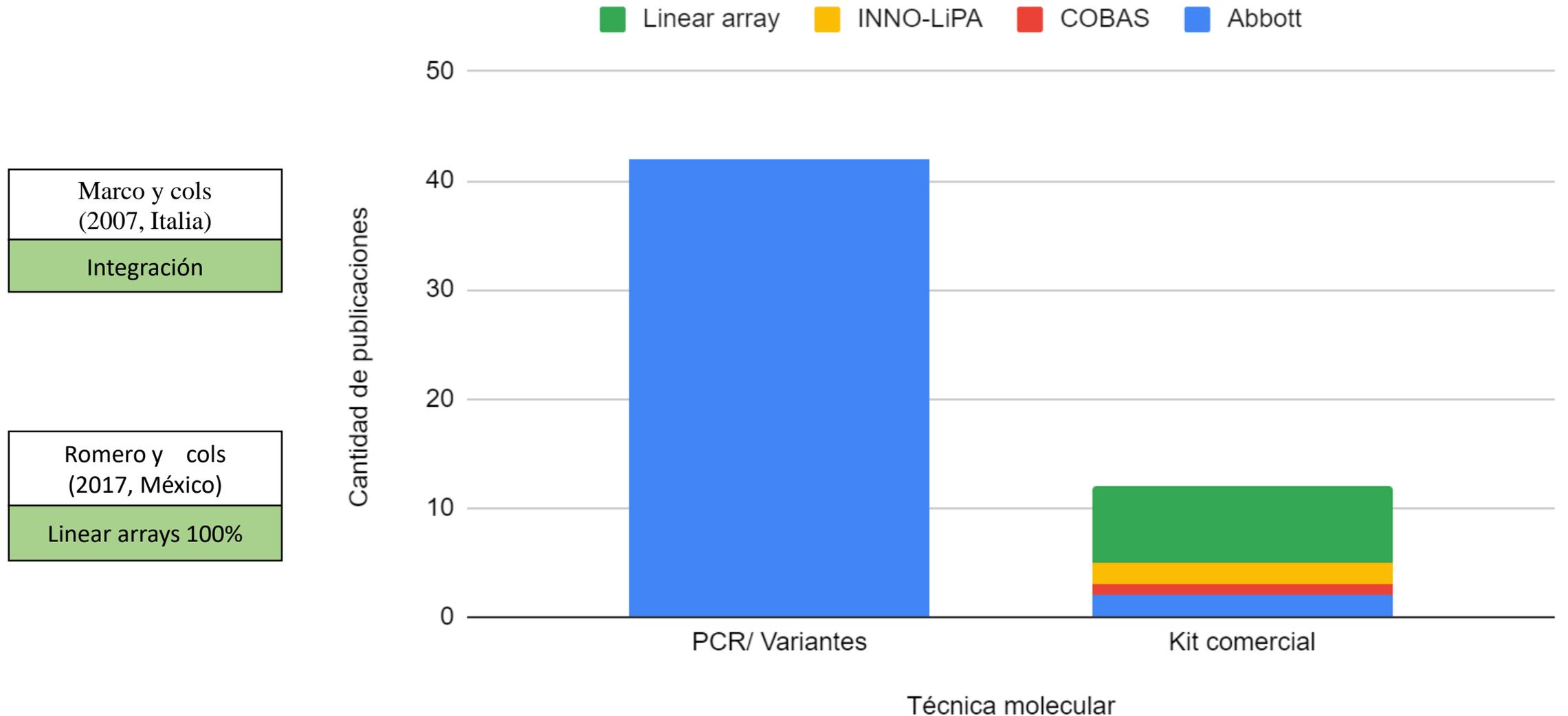
Colombia → VPH 16 y 18, VPH 31 y 58

METODO MOLECULAR EMPLEADO PARA LA DETECCIÓN DE VPH

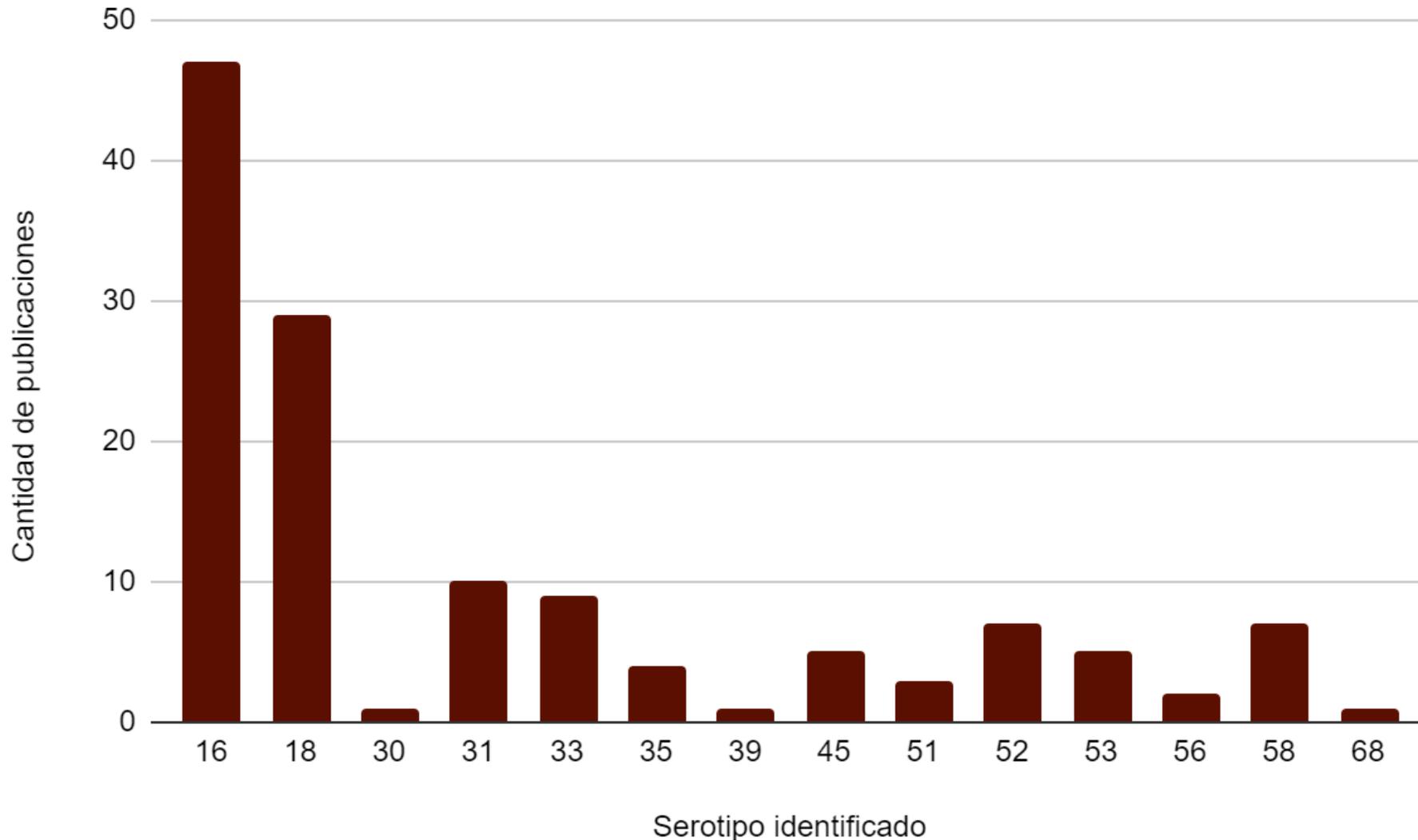
Khunamornpong S y cols (2014, Tailandia)	CH2 78,5%
Keegan y cols (2009, Irlanda)	CH2 68,6% Pretect 37,5%
Pannier y cols (2008, Francia)	PCR 100% CH2 78,8%
Aedo A y cols (2007, Chile)	PCR - RFLP 100%
Shim y cols (2010, Corea del sur)	PCR 96,6% ≈ Microarrays
Wong O y cols (2012, China)	GenFlow 23,08% CH2 8,97%



DETECCIÓN DE VPH POR PCR



SEROTIPOS IDENTIFICADOS



16

18

31

33

52

58

Gardasil 9®



[Human Papillomavirus
9-valent Vaccine, Recombinant]

6,11,16,18,31,33,45,52,58
(FDA 2014)

Gardasil®



6,11,16,18,
(FDA 2006)

(PAI Colombia)

ENSAYOS COMERCIALES PARA DETECCIÓN DE VPH

Nombre del ensayo	Método	Ácido nucleico	Diana	Tipos detectados	Avalados FDA
Captura de híbridos 2	Hibridación de sondas ARN y detección por quimioluminiscencia	ADN	Genoma completo	VPH-AR 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68	Si
COBAS 4800	PCR multiplex a tiempo real	ADN	L1	VPH-AR 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 Identifica 16 y 18	Si
Abbott RealTime	PCR en tiempo real	ADN	L1	VPH-AR 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 Identifica 16 y 18	No
Becton Dickinson	PCR multiplex a tiempo real	ADN	L1	VPH-AR, Identifica: 16, 18, 31, 45, 51, y 52. (14 serotipos de AR)	No
Linear arrays	PCR + hibridación inversa	ADN	L1	VPH-AR (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82. Probables 26, 53 66. VPH-BR 6, 11, 40, 42, 54, 61, 70, 72, 81, CP6108. No determinado 55, 62, 64, 67, 69, 71, 83, 84 y IS39.	No

ENSAYOS COMERCIALES PARA DETECCIÓN DE VPH

Nombre del ensayo	Método	Ácido nucleico	Diana	Tipos detectados	Avalados FDA
HPV Direct Flow chip kit	PCR + hibridación inversa	ADN	L1	HPV-AR 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73 y 82. HPV-BR 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 61, 62, 67, 69, 70, 71, 72, 81 y 84.	No
PapilloCheck	PCR Multiplex (cebadores fluorescentes) + hibridación inversa	ADN	E1	VPH 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 053, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73 y 82.	No
Geno Flow	PCR en tiempo real	ADN	L1	VPH AR y BR 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 66, 68, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 84	No
Aptima HPV	Detecta ARNm de E6/E7	ARN	E6/E7	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	No

PRINCIPALES CEBADORES EMPLEADOS PARA LA DETECCIÓN DE VPH

Muñoz M y colaboradores
(2010, Inglaterra)

Camargo y colaboradores
(2013, Colombia)

Cañadas M y colaboradores
(2010, Colombia)

Cebador	Secuencia	Ubicación	Gen Diana
MY11	GCMCAGGGWCATAAYAAAYGG	6722 - 6741	L1
MY09	CGTCCMARRGGAWACTGATC	7151 - 7170	L1
GP5	TTTGTTACTGTGGTAGATAC	6764 - 6786	L1
GP6	GAAAAATAAACTGTAAATCA	6975 - 6902	L1
GP5+	TTTGTTACTCTGGTAGATACTAC	6764 - 6786	L1
GP6+	GAAAAATAAACTGTAAATCATATTC	6975 - 6902	L1
E2	TTATTAGGCAGCACTTGGC	3383 - 3401	E2
E6	CACCAAAGAGAACTGC	86 - 102	E6

CONCLUSIONES

- El diagnóstico temprano del virus, mediante técnicas moleculares, aun en ausencia de lesiones cervicales, disminuye la incidencia de cáncer a partir de infección.
- La PCR, fue la técnica más empleada en los artículos de investigación, permitiendo el diagnóstico, la identificación y seguimiento, tanto en muestras frescas como conservadas en parafina.

- La tecnología de microarrays fue la segunda técnica más utilizada, por lo que se convierte en una buena alternativa tanto para investigación como para diagnóstico.
- Como producto de la presente revisión se generó un cuadro resumen con la información mas relevante sobre las principales técnicas para la detección del VPH.
- Se proporciono una tabla con los principales cebadores utilizados para la detección y seguimiento de la infección a partir PCR, a los cuales se les evaluó el rendimiento positivamente.

DIVULGACIÓN

- “XVII Encuentro Regional de Semilleros de Investigación - Fundación REDCOLSI, Fundación Universidad Autónoma de Colombia los días 8, 9 y 10 de mayo de 2019”.
- “XXII Encuentro Nacional y XVI Encuentro Internacional de Semilleros de Investigación - Fundación REDCOLSI. 8 al 12 de octubre de 2019, Valledupar – Cesar”.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la vida y la sabiduría para cumplir este sueño.

A mi familia, por soñar conmigo, estar presente en los buenos y malos momentos, por ser el mejor ejemplo.

A mi asesora Edith Hernández, por compartir sus conocimientos conmigo, ser inspiración y haber estado presente en muchas etapas de este proceso.

Al grupo de investigación ECZA, por abrirme las puertas y brindarme herramientas que marcaron positivamente mi carrera.

A la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, por permitirme desarrollar mi carrera profesional, darme excelentes docentes, compañeros y muy buenas experiencias.