

Determinación de HPV en biopsia Low Cost

PATOLOGÍA GINECOLÓGICA

**119ª REUNIÓN DE LA ASOCIACIÓN
TERRITORIAL VALENCIANA DE LA
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ANATOMIA
PATOLÓGICA**
Universidad CEU Cardenal Herrera

22 de marzo de 2024

Marina Estarlich Mateu
Hospital Lluís Alcanyís
Xàtiva (Valencia)

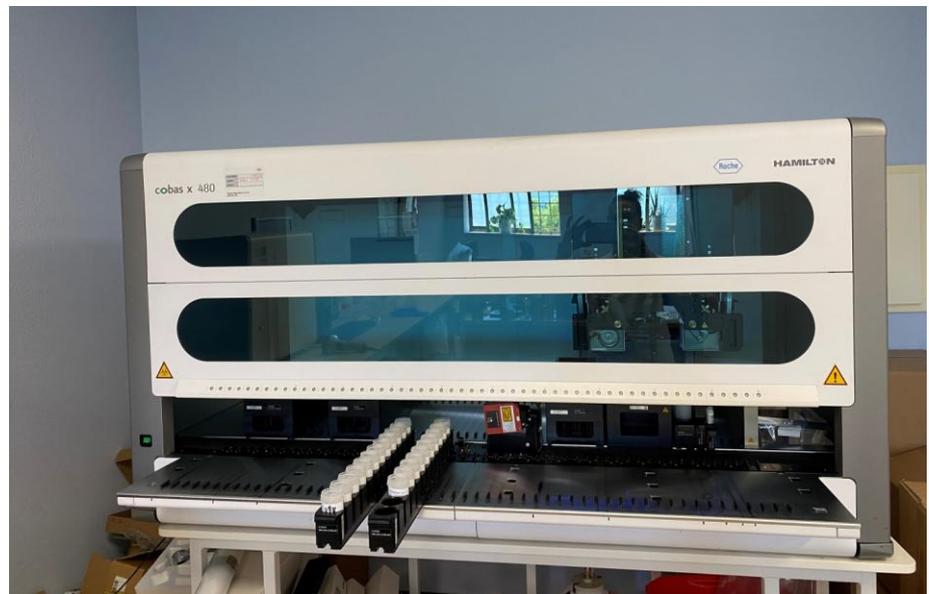
¿QUÉ ES UNA PCR?

Reacción en Cadena de la Polimerasa

- La reacción en cadena de la polimerasa es una técnica de la biología molecular desarrollada en **1986** por Kary Mullis.
- Su objetivo es **obtener un gran número de copias** de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo
- En teoría basta partir de **una sola copia** de ese fragmento original o molde.



COBAS 4800



USO PREVISTO

- La prueba utiliza la amplificación del fragmento de ADN objetivo mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y la hibridación de ácidos nucleicos para la detección de **14 tipos de alto riesgo del HPV** en un único análisis.
- Identifica específicamente los genotipos:
 - **HPV16 y HPV18**
 - Además de detectar el resto de los tipos de alto riesgo: (**31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68**)



Caso N.º 1

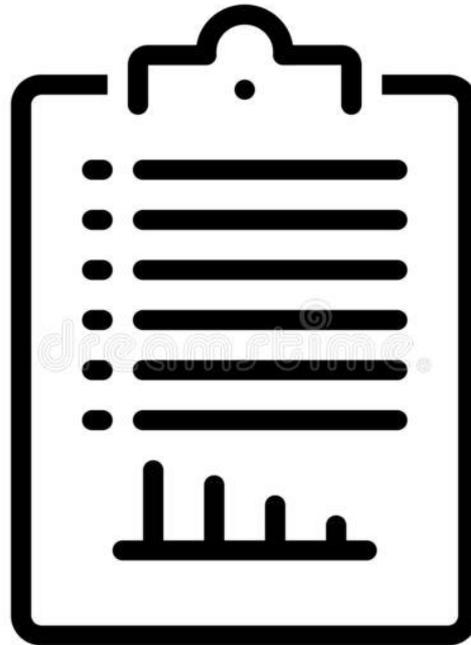
- Mujer de 53 años, fumadora, **SIN CITOLOGIAS PREVIAS.**
- Consulta por sangrado irregular cada 3 días y algias pélvicas.
- En la colposcopia se observa una tumoración cervical que se biopsia:
 - Diagnóstico: **Carcinoma de células escamosas infiltrante.**
 - Se realiza HPV por el método Low Cost
 - ✓ Resultado: **HPV18**
- Posteriormente en la Resonancia Magnética se vio un tumor cervical de 4,2 x 3,8 cm



LOW COST

- **Low Cost** es un modelo que se basa principalmente en la reducción de costes.
- **Low Cost** ofrece un producto básico, funcional, sin extras, pero de la misma calidad que el producto tradicional equivalente.
- **La calidad de los servicios no se reduce al abaratar los costes.**

Protocolo Low Cost



1er. Paso: Cortar 10 rulitos de tejido a 5 μ



- 2º paso:
- A). 60 microlitros de **xilol**
 - B). Voltear
 - C). Centrifugar 1 minuto (2 veces)
 - D). Extraer el **xilol**

A



B



C



D



3er. paso: A). 60 microlitros de **alcohol 100°**

B). Voltear

C). Centrifugar 1 minuto (2 veces)

D). Extraer el **alcohol**

A



B



C



D



4º Paso: Estufar 15-20 minutos a 60º, hasta que el OH se evapore por completo



5º Paso: Introducir la muestra en un vial de ThinPrep y voltear (1 vez)



6º Paso: Colocar dentro del cobas 4800 con el resto de citologías



Protocolo para obtener HPV desde el tejido

- 1. 10 rulos de tejido a 5 μ .**
- 2. 60 microlitros de xilol. Voltear y centrifugar 1 minuto (2 veces).**
- 3. Extraer el xilol.**
- 4. 60 microlitros de alcohol de 100°. Voltear y centrifugar (2 veces).**
- 5. Extraer el alcohol.**
- 6. Estufar 15-20 minutos en estufa a 37°, hasta que el OH se evapore por completo.**
- 7. Introducirlo en un vial de ThinPrep y voltear (1 vez).**
- 8. Colocar el vial dentro del COBAS 4800 como una citología más.**

Protocolo Low Cost II

Variación del protocolo (Low Cost II):

Para casos de biopsias donde el tumor o la displasia sea muy focal en un fragmento muy grande.

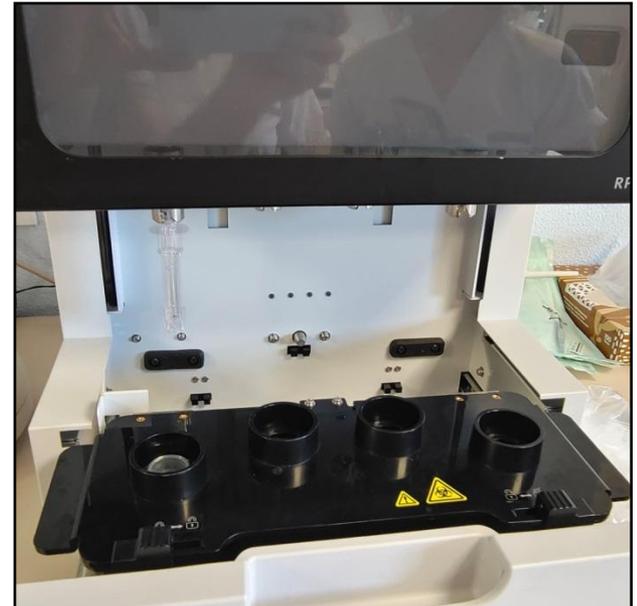


- ## Protocolo Low cost II:
1. Deshacer el bloque.
 2. Seleccionar y seccionar el foco a estudio.
 3. A partir de aquí, repetir el protocolo Low Cost I **hasta estufar**.



Después de estufar

- Se añade líquido Cytolyt, se tritura y se voltea.
- Se continúa como en protocolo Low cost:
 - *Se introduce en el vial ThinPrep*
 - *Se procesa en el cobas 4800*



Variación del protocolo (Low Cost II):

Para casos de biopsias donde el tumor o la displasia sea muy focal

1. Deshacer el bloque.
2. Seleccionar y seccionar el foco a estudio (en vez de hacer el rulito).
3. A partir de aquí, repetir el protocolo Low Cost I

Con la única diferencia de que se tritura la muestra con Cytolyt antes de introducirlo al vial.

Aspecto final del vial antes de introducirlo en el cobas 4800

Low Cost I



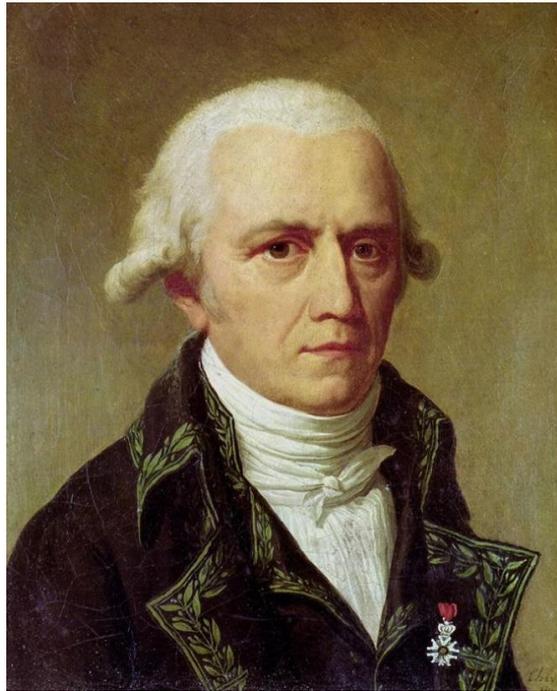
Low Cost II



Caso N.º 2

- Mujer de 59 años
- En **2015** citología: **HSIL con HPV18**
- En **2016** biopsia cérvix: **HSIL** y citología: **HSIL y HPV18**
- Tres meses después, en **2016**: Conización: **HSIL. Márgenes libres.**
- **2017, 2018 y 2019** citologías de control: **Negativas y HPV negativo**
- **2021** molestias abdominales: sospecha de neoplasia de duodeno:
 - Se hacen biopsias de estómago y duodeno con resultados negativos.
 - Se hace laparoscopia y biopsia de **implante peritoneal**: Diagnóstico: Tejido fibroso infiltrado por **carcinoma de células escamosas**. Compatible con origen cervical. (positividad para **p16**)
 - Realizamos nuestro protocolo para determinar HPV en la biopsia: Resultado: **HPV18 positivo**

Conclusión



“La función crea el órgano y la necesidad crea la función”.

Jean-Baptiste de Lamarck (Naturalista)

Ante un reto diagnóstico, con los recursos disponibles se pueden idear soluciones con la misma calidad, sin añadir sobrecoste.

Gracias por su atención

