



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

DETECCIÓN DE VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN MUJERES Y SUS
PAREJAS SEXUALES
(Modalidad: Investigación)

IVETTE CAROLINA MARTÍNEZ MILLÁN

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOANÁLISIS

Cumaná, 2009

DETECCIÓN DE VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN MUJERES Y SUS
PAREJAS SEXUALES

Aprobado por:

Dr. Juan Carlos Merheb
Asesor

Dra. Liamny Albornoz
Co-Asesora

Jurado Principal

Jurado Principal

INDICE GENERAL

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE FIGURAS	V
RESUMEN.....	vi
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	6
Muestra poblacional.....	6
Encuesta epidemiológica.....	6
Procedimiento para la obtención de la muestra.....	6
Diagnóstico molecular de VPH.....	7
Condiciones de amplificación de la PCR.....	8
Interpretación de los resultados.....	9
Tipificación del Virus de Papiloma Humano mediante la reacción en cadena de la polimerasa	9
Visualización de los productos amplificados.....	10
Análisis Estadístico	10
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
CONCLUSIONES	30
RECOMENDACIONES	31
BIBLIOGRAFÍA	32
ANEXOS	38

DEDICATORIA

A Dios por mostrarme siempre la luz en el camino.

A mi madre Rosimary Millán por creer en mí.

A mis hermanos Freddy Josué, Rosimary Estefanía y a mi sobrina Mariana Valentina para que se den cuenta que todos los sacrificios valen la pena.

A mi ángel de la guarda por protegerme todos los días de la vida.

A mis santos por escucharme siempre.

A mis parientes y amigos difuntos por estar cerca de mí.

A la vida por aprender de ella.

A mi misma por la fortaleza y perseverancia.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por nunca dejarme sola en los momentos más difíciles de mi vida.

A todo el equipo de trabajo del Laboratorio de Genética Molecular del Instituto de Oncología y Hematología de la Universidad Central de Venezuela ubicado en la ciudad de Caracas por facilitar el área física, equipos y materiales para el procesamiento de las muestras en esta investigación.

A todo el equipo de salud que labora en las áreas de Ginecología, Oncología y Urología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” ubicado en la ciudad de Cumaná por su colaboración en la toma de muestras.

A mis asesores: Dra. María Correnti por haberme dado la oportunidad de realizar este estudio y su excelente asesoría al Dr. Juan Carlos Merheb y a la Dra Liamny Albornoz también por su excelente asesoría.

A la Dra. Del Valle Guilarte por orientarme.

A los señores: Carlos Díaz Hernández y Alexis Villegas Petit de la Biblioteca del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) por su colaboración en la recopilación de material bibliográfico.

A mi madre por sus sacrificios, paciencia y consejos durante toda mi carrera.

Al T.S.U. Héctor Simón Marín por su ayuda en la recopilación de datos clínicos y a la Lcda. Vidalina Gómez y el Lcdo. Carlos Márquez por su colaboración en la conservación de muestras.

A mis santos, parientes y amigos difuntos por escuchar mis ruegos.

A todas las personas que de una u otra forma siempre me brindaron su mano amiga y apoyo incondicional.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de genotipificación para VPH en los pacientes evaluados.	11
Tabla 2. Concordancia entre parejas para los genotipos de VPH	14
Tabla 3. Resumen de datos clínicos obtenidos de las mujeres evaluadas	15

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Presencia de VPH por parejas (Femenino (F) y Masculino (M)	13
Figura 2. Relación entre la presencia de VPH y el consumo de café.....	16
Figura 3. Relación entre la presencia del VPH y el hábito de fumar cigarrillo.	17
Figura 4. Relación entre la presencia de VPH y la edad.....	18
Figura 5. Relación entre la presencia de VPH y el inicio de las relaciones sexuales.	20
Figura 6. Relación entre la presencia de VPH y el número de parejas.	21
Figura 7. Relación entre la presencia de VPH y el número de hijos.....	22
Figura 8. Relación entre la presencia de VPH y la primera menstruación.	24
Figura 10. Relación entre la presencia de VPH y el primer embarazo.	26
Figura 11. Relación entre la presencia del VPH y el número de abortos.....	27
Figura 12. Relación entre el VPH y el sexo.....	28

RESUMEN

Se evaluó el genotipaje del virus papiloma humano en mujeres y sus parejas sexuales en pacientes que asistieron a la consulta de Patología Cervical del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (SAHUAPA), Cumaná, estado Sucre, durante el período agosto de 2006 hasta abril de 2007. Una cantidad significativa de reportes sugieren la existencia de tipos específicos de virus del papiloma humano (VPH) como causales primarios en la patogénesis de las lesiones precursoras del cáncer de cuello uterino. En este estudio, realizado en la ciudad de Cumaná utilizando para la tipificación el Kit de Multiplex PCR de Maxim Biotech que detectó simultáneamente 5 genotipos en un mismo tubo de reacción; genotipos 6 (263 pb) y 11 (144 pb) de bajo riesgo oncogénico y los genotipos 16 (601 pb), 18 (360 pb) y 33 (413 pb) de alto riesgo oncogénico, se encontraron en los pacientes evaluados: 3 genotipos de VPH: 6, 11 y 18, siendo el más común el VPH genotipo 11. En total, de 102 pacientes evaluados hubo 23 hombres y 20 mujeres infectados (42,16%); en cuanto a los resultados negativos: 29 mujeres y 21 hombres (49,02%), los nueve pacientes restantes (8,82%) son casos sin determinar por material insuficiente o degradación del producto amplificado. La mayoría de las infecciones virales con 2 ó más genotipos fueron solo observados en mujeres. Se encontró también una prevalencia mayor de la infección viral de 14 parejas (33,33%), donde la mujer era negativa y el hombre positivo. En cuanto a los resultados de amplificación y los encontrados en biopsias, citología y colposcopias, los mismos no fueron concordantes. Con respecto a los factores de riesgo solo el consumo de café resultó ser estadísticamente significativo ($p > 0,05$). Se concluyó que el VPH genotipo 18 y las combinaciones de dos o más genotipos virales fueron encontradas exclusivamente en mujeres, mientras los VPH de bajo riesgo genotipo 6 y 11 tanto en hombres como en mujeres.

INTRODUCCIÓN

A través del tiempo, las investigaciones han permitido determinar factores de riesgo y agentes involucrados en la génesis del cáncer cervical. Una cantidad significativa de reportes sugieren la existencia de tipos específicos del virus de papiloma humano (VPH) como causales primarios en la patogénesis de las lesiones precursoras del cáncer de cuello uterino (CCU). Existen más de 100 tipos de VPH, con más de 40 tipos anogenitales de los cuales aproximadamente son 15 los oncogénicos. (Muñoz y col., 2003). La infección por VPH ha sido asociada a lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado LIEbg y de alto grado LIEag. Los LIEbg podrían ser considerados como una manifestación de la exposición al VPH, sin embargo, son notables la discrepancia entre las tasas de infección por el VPH y el desarrollo de los LIEbg (Molano y col., 2002). Los LIEbg están clasificados dentro de las categorías citológicas asociadas al VPH, con cambios celulares (atipia coilocítica) y neoplasia intraepitelial cervical grado 1 (NIC I). (Zuna y col., 2006). Se ha determinado que algunos genotipos de VPH que poseen potencial oncogénico, considerados de alto riesgo, sumado a la presencia de una infección persistente en la mucosa cervicouterina puede detonar la progresión de lesiones premalignas hacia cáncer *in situ* y cáncer invasor (Poljak, 1999).

Uno de los mayores intereses de la investigación sobre la infección por VPH reside en la asociación etiológica, recientemente establecida, de algunos de los tipos de VPH con el carcinoma de cervix; en la mayoría de los pacientes que presentan lesiones producidas por el VPH, la infección se resuelve espontáneamente; y en una fracción considerable la infección de VPH es subclínica, lo que ocurre con frecuencia en el varón el cual se convierte en portador y vehículo de la infección. Los pacientes, en los que la detección del ADN viral demuestre la persistencia de la infección, constituyen el grupo de alto riesgo para la progresión neoplásica. Los determinantes

conocidos que intervienen en la progresión de las lesiones son: el tipo viral, la persistencia de la infección y, probablemente, la carga viral por unidad celular. Otros factores adicionales involucrados son: la edad de inicio de las relaciones sexuales, el número de parejas sexuales, la utilización prolongada de anticonceptivos orales, tratamientos con esteroides, el consumo de tabaco y recientemente se ha propuesto la coinfección por *Chlamydia trachomatis* y herpesvirus (Bosch y col., 2002).

El virus del papiloma humano (VPH) es un virus ADN, epiteliotropo, integrante de la familia Papovaviridae, constituido por una cápside icosaédrica desnuda que consta de 72 capsómeros y un genoma formado por una molécula de ADN de doble cadena circular cerrada por uniones covalentes con replicación intranuclear y potencial oncogénico.

Dichos virus originan proliferación cutánea y mucosa, evidenciándose generalmente como lesiones verrugopapilares, bien sea en forma de lesiones benignas, premalignas, malignas como también en forma latente cuando el papilomavirus persiste en la célula huésped sin manifestación clínica aparente. Las fases de infección se inician al unirse el virus a la membrana plasmática, penetrando posteriormente al citoplasma bien sea mediante pinocitosis o por fusión con la membrana. El virus se libera en el citoplasma y pierde su cubierta, produciéndose la síntesis del VPH dentro del núcleo de la célula epitelial por estimulación de la síntesis del ADN circular. (Prescott y col., 2004).

Los estudios citológicos y colposcópico son de gran utilidad para el diagnóstico de lesiones asociadas a la infección por virus del papiloma humano por su sensibilidad y especificidad, métodos clínicos que se utilizan en el sur de Europa y Alemania, la evaluación de muchos trastornos no neoplásicos del tracto genital inferior para localizar de forma temprana la fuente de células anómalas detectadas por el examen de Papanicolau y tratar de aminorar el riesgo de neoplasia cervicouterina no

detectadas por la citología. La colposcopia es una técnica que permite al médico seleccionar la toma de la biopsia de manera confiable para determinar el diagnóstico definitivo por histología (Rodríguez, 1999).

El cáncer de cuello uterino es la segunda neoplasia maligna más frecuente en la población femenina a nivel mundial. En Chile, es una neoplasia de alta incidencia y mortalidad, ocupando el cuarto lugar como causa de muerte en mujeres, mientras que en Venezuela se ubica como la primera causa de mortalidad femenina (Parkin y col., 1999).

El virus del papiloma humano es considerado uno de los patógenos más comunes transmitidos sexualmente y el principal agente causal de las neoplasias intraepiteliales (NIC) y el cáncer de cuello uterino (Bosch, 2002), también está asociado a tumores de la región anogenital, tracto respiratorio alto y digestivo (Bjorge y col., 2002); cavidad bucal (Correnti y col., 2004). Los NIC son clasificados en lesiones de bajo grado y lesiones de alto grado según el riesgo de transformación neoplásica. La estrategia de diagnóstico para la detección molecular del VPH se basa en la selección de genes de consenso, altamente conservados para la mayoría de los tipos virales; luego utilizando la existencia de pequeñas diferencias en la secuencia del genoma se logra la tipificación viral (Shen y col., 2002).

La progresión de lesiones premalignas a carcinoma *in situ* o invasor está fuertemente asociada al potencial oncogénico de los VPH de alto riesgo (AR), principalmente 16 y 18, debido a la capacidad que poseen estos virus de integrar su ADN al genoma de la célula hospedera y determinar la expresión continua de las oncoproteínas E6/E7 capaces de interferir con las funciones del gen supresor del tumor p53 debido a que E6 se une a la proteína p53 degradándola y no permite que

se cumpla la función supresora ya que se altera el ciclo celular favoreciendo la proliferación neoplásica (Helt y col., 2002).

El establecimiento de la infección por VPH se inicia durante la actividad sexual, el microtrauma del epitelio genital, en particular, en la zona de transformación del epitelio cervical conlleva a la exposición de las células basales en activa proliferación, a los diferentes tipos de VPH, permitiendo la unión entre el receptor de la célula basal con la proteína de la cápside viral L1, a nivel de su extremo carboxi – terminal (Giroglou y col., 2001).

Una vez que se produce la unión del virus a la superficie celular, se produce su internalización al citoplasma de la célula hospedera, proceso que ha sido identificado como endocitosis mediada por receptores (Bousarghin, 2003). Dos sistemas de internalización del virus han sido reconocidos; el primero involucra un complejo proteico llamado clatrina, utilizado por los tipos 16 y 18; y el segundo sistema utiliza un grupo de proteínas principalmente caveolina, denominado endocitosis por caveolas. Posterior a la endocitosis, existe evidencia en modelos de infección por partículas virales tipo 11 y 16 que la cápside viral de 55 nm de diámetro experimenta degradación en el citoplasma celular. La población viral no productiva, localizada en el estrato basal, mantiene la replicación del ADN viral en un número de copias bajo (30-50 copias por célula infectada), en forma extracromosómica, llamados episomas que se estructuran en base a histonas y material genético (Holmgren y col., 2005). Durante esta etapa se aseguraría que el ADN viral se distribuya difusamente por las células basales proliferantes que es donde se inicia generalmente la infección y que al mantener un número reducido de copias se impediría la activación de la respuesta inmunológica (Ling y col., 2002). Un evento central para la transformación de las células infectadas es la integración del genoma viral al de la

célula hospedera, proceso que ocurre en el estrato espinoso y en el que destaca por su importancia, el ADN de alto riesgo oncogénico (Bosch y col., 2002).

Una fracción considerable de las infecciones por VPH es subclínica; el varón puede ser portador y vehículo de la infección. El cáncer de pene muestra marcadores virales en un 70-80% de los casos y el cáncer de vagina en un 40-50% de los casos. Así como la vagina y la vulva, el cuerpo del pene alberga VPH frecuentemente, mientras que el desarrollo del cáncer es muy raro. La circuncisión reduce la probabilidad de infección por VPH, probablemente debido a la reducción del epitelio no queratinizado propenso a la infección. Así, la circuncisión masculina disminuye ligeramente el riesgo de cáncer cervical entre sus parejas sexuales femeninas; la presencia de VPH en hisopados de la superficie del pene, conduce a un riesgo de cinco (5) veces de cáncer cervical en sus esposas (Castellsague y col., 2002).

Para finalizar, este trabajo tiene importancia en todos los estratos socio-económicos, ya que es un aporte útil para el sector responsable de la salud pública, ayudando a la implementación de medidas adecuadas de control de las enfermedades de transmisión sexual; en especial el VPH que es asintomático, particularmente en los grupos de alto riesgo y representa el factor etiológico central del cáncer cervical.

Debido a que las ITS se presentan en personas sexualmente activas sin distinciones de ningún tipo y es clínicamente significativo determinar el agente causal de la infección para poder aplicar el tratamiento precozmente y evitar consecuencias futuras como el cáncer y/o la muerte, creando consciencia en la población afectada.

METODOLOGÍA

Muestra poblacional

En el estudio participaron 51 mujeres sexualmente activas con diagnóstico histopatológico sugestivo de infección por VPH y sus parejas sexuales, que acudieron a la consulta de patología cervical del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (SAHUAPA) de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, durante el período agosto 2006 hasta abril 2007.

Encuesta epidemiológica

A cada uno de los pacientes se le aplicó una encuesta epidemiológica (anexo 1), diseñada para obtener información sobre aspectos epidemiológicos, antecedentes de infecciones de transmisión sexual, conocimiento sobre las mismas y características del comportamiento sexual. Previamente a la ejecución de la encuesta y la toma de muestra los individuos estudiados firmaron un consentimiento informado (anexo 2).

Procedimiento para la obtención de la muestra

Las muestras de citología especial de cuello uterino para tipificar el VPH, se recogieron antes del uso del ácido acético o del yodo, en el caso de realizarse el examen colposcópico. Se insertó el hisopo o cepillo cervical estéril, pasando la unión escamo columnar, hasta la cervix. Rotar el mismo a 360 grados, para coleccionar células cervicales exfoliadas desde el canal endocervical hasta el exocervix; pasando por el sitio de la lesión en caso de observarla. Se colocó el hisopo o cepillo cervical en el tubo con el medio de transporte. Se marcó la etiqueta con el nombre y número del paciente, fecha y nombre del médico. Se tapó el tubo correctamente y se verificó que

el líquido no se saliera. Este procedimiento lo realizó la especialista de ginecología y obstetricia, en el caso de la mujer.

En el caso del hombre o pareja sexual el procedimiento fue realizado por el especialista en urología: con el prepucio hacia atrás y el hisopo estéril se procedió a hacer un barrido con firmeza en el cuerpo del pene y el glande para arrastrar células que sirvan al estudio. Se colocó el hisopo en el tubo con el medio de transporte y se rotularon con los datos del paciente. En los casos que así lo ameritaron se realizó una observación visual previa para verificar si existe lesión externa o condilomas (Correnti y col., 1996).

Diagnóstico molecular de VPH

Después de tomada la muestra, el hisopo se colocó dentro de un tubo con aproximadamente 0,5 ml de solución salina fisiológica y mediante agitación por vortex (durante aproximadamente 30 seg.) se desprendieron las células adheridas al hisopo y éstas quedan sueltas en la solución, la cual se transfiere a un tubo eppendorf, se centrifugó por 10 min., a 14000 rpm para sedimentar las células. Para la extracción del ADN total se incubó el “pellet” de las células en 100 µl de proteinasa K (1000 µg/ml) y 100 µl de buffer lisis ($100 \text{ mol.} \cdot 10^{-3}$) de tris HCl, pH: 8 y 0,1% de sarcosina) a 55°C durante toda la noche (anexo 3). Se agregaron 100 µl de cloroformo - fenol - isoamílico cuya proporción es 25:24:1 respectivamente, saturado con buffer Tris HCl pH: 8. Se aplicó agitación por vortex durante 20 seg., aproximadamente y centrifugó a 14 000 rpm por 5 min. La fase acuosa se transfirió a otro tubo eppendorf limpio y se agregaron 100 µl de cloroformo (anexo 4), aplicando agitación por vortex durante 20 seg., nuevamente (anexo 5).

Se centrifugó a 14 000 rpm durante 5 min. (anexo 6). La fase acuosa, se transfirió a un nuevo tubo eppendorf limpio, se precipitó el ADN agregando 1/10

volúmenes de acetato de amonio 3 mol.l^{-1} y un volumen doble de etanol frío. Se dejó a -20°C hasta el siguiente día. Nuevamente se centrifugó a 14 000 rpm durante 20 a 30 min. Y se descartó el sobrenadante. Se agregaron 500 μl de etanol 75% y se centrifugó a 14 000 rpm durante 5 min. Se descartó el sobrenadante y seguidamente se colocaron los tubos en posición invertida para un secado rápido de las paredes de los tubos (anexo 7). Se resuspendió el ADN en 50 μl de agua libre de nucleasas. La detección del virus de papiloma humano se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La reacción se llevó a cabo en un volumen de 50 μl utilizando los oligonucleótidos cebadores, consenso MY09/MY11, que permiten amplificar un extenso espectro de tipos de VPH.

Secuencia de los primers:

MY09: CgTCCAAgAggATACTgATC

MY11: gCACAgggACATAATAATgg

β -globina: CAACTTCATCCACgTTCACCgAAgAgCCAaggACaggTAC

10 x MPCR: Se realiza con un Kit comercial de Maxim Biotech y no se indica su secuencia (Cañadas y col., 2006).

Los oligonucleótidos se unen a una región altamente conservada del gen L1 que codifica para una proteína de la cápside viral, amplificando un fragmento de 450 pb. 1 μg de ADN se incubó con los siguientes reactivos:

dNTP's ($100 \text{ mol.}10^{-3}$) (0,4 μl); primers MY09 (0,2 μl); primers MY11 (0,2 μl); primers β -globina (1,2 μl); buffer 10X (6,25 μl); MgCl_2 ($50 \text{ mol.}10^{-3}$) (4,0 μl); taq polimerasa (5U/ μl) (0,5 μl); agua destilada (26,05 μl) (Correnti y col., 1996).

Condiciones de amplificación de la PCR

Temperatura inicial de desnaturalización 94°C por 4 min., seguido de 40 ciclos, temperatura de desnaturalización 94°C por 15 seg., temperatura de

anillamiento 55°C por 30 seg., temperatura de extensión 72°C por 45 seg., y una temperatura de extensión final 72°C por 7 min. El producto amplificado se visualizó en un gel de agarosa al 2%, teñido con bromuro de etidio y posteriormente en un transluminador con UV para su registro fotográfico (Correnti y col., 1996).

Interpretación de los resultados

Una muestra se consideró positiva, cuando se observó en el gel dos bandas, una de 450 pb correspondiente al amplificado del VPH y otra de 268 pb correspondiente a la banda de β -globina (control interno). Una muestra se consideró negativa cuando se observó en el gel una sola banda de 268 pb correspondiente al gen β -globina (anexo 11).

Tipificación del Virus de Papiloma Humano mediante la reacción en cadena de la polimerasa

Para la tipificación del virus de papiloma humano, se empleó el Kit de Multiplex PCR de Maxim Biotech, Inc., que detectaron simultáneamente 5 genotipos en un mismo tubo de reacción. El kit detectó los genotipos 6 (263 pb) y 11 (144 pb) de bajo riesgo oncogénico y los genotipos 16 (601 pb), 18 (360 pb) y 33 (413 pb) de alto riesgo oncogénico. Los reactivos que se utilizaron fueron los siguientes: Buffer 2 x MPCR (25 μ l); primers 10 x MPCR (5 μ l); taq ADN polimerasa (0,5 μ l); agua (14,5 μ l). A cada uno de los tubos en reacción, se le agregaron 10 μ l del ADN extraído y posteriormente se colocaron en el termociclador bajo las siguientes condiciones de amplificación: temperatura inicial de desnaturalización 95°C por 4 min., seguida de 40 ciclos, temperatura de desnaturalización 95°C por 15 seg., temperatura de anillamiento 55°C por 30 seg., temperatura de extensión 72°C por 45 seg., temperatura de extensión final 72°C por 5 min. (anexo 8) (Correnti y col., 1996).

Visualización de los productos amplificados

La visualización de los productos amplificados, se realizó en un gel de agarosa al 2%, teñido con bromuro de etidio. En cada pozo, se cargaron 4 µl del buffer de carga mas 20 µl del amplificado, la corrida se realizó a 100 voltios durante 30-40 min. (anexo 9). Posteriormente se visualizó el gel en el transluminador.

Análisis Estadístico

La asociación entre los factores de riesgo y la presencia de VPH en las muestras fue analizada por Chi cuadrado, donde el valor de probabilidad (p: 0,05) muestra un 95% de significancia y los resultados obtenidos se presentaron en tablas, realizadas con datos clínicos de los pacientes en estudio y en gráficos, donde se expresaron los factores de riesgo encontrados en la población evaluada y su relación con la presencia y el tipo de infección por VPH.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un total de 102 muestras fueron analizadas para determinar la presencia de VPH en individuos sexualmente activos sin ningún tipo de criterio de exclusión.

En la tabla 1, se observan los resultados de la genotipificación para VPH utilizando la prueba de PCR en donde se diferencian el número de hombres y mujeres que aparecen infectados para cada genotipo viral.

Tabla 1. Resultados de genotipificación para VPH en los pacientes evaluados.

VPH genotipo	Nro. Hombres (%)	Nro. Mujeres (%)	Total (%)
11	12 (11,76%)	5 (4,90%)	17 (16,67%)
6	2 (1,96%)	1 (0,98%)	3 (2,94%)
6 y 11	9 (8,82%)	12 (11,76%)	21 (20,59%)
11 y 18	0 (0%)	1 (0,98%)	1 (0,98%)
6, 11 y 18	0 (0%)	1 (0,98%)	1 (0,98%)
Negativo	21 (20,59%)	29 (28,43%)	50 (49,02%)
Sin determinar	7 (6,86%)	2 (1,96%)	9 (8,83%)

El análisis tipo específico de PCR demostró que la infección viral de VPH por los genotipos de bajo riesgo 6 y 11 combinados, fue la mas frecuente (11,76%) encontrada en mujeres sexualmente activas en este estudio; mientras que las combinaciones de VPH genotipos 11 y 18 y la combinación 6, 11 y 18 fueron diagnosticados en menor proporción (0,98%) en estos pacientes femeninos. Liaw y col. (2001) señalaron que cada tipo de VPH es una especie genética separada que puede ser considerada como una infección de transmisión sexual diferente; por lo que son muy comunes las infecciones con múltiples tipos.

Se encontró que los VPH genotipo 6 (1,96%) y genotipo 11 (11,76%) de bajo riesgo son más predominantes en los pacientes masculinos que en los femeninos (0,98% y 4,90% respectivamente). Sin embargo, el VPH genotipo 18 de alto riesgo (0,98%) solo fue diagnosticado en mujeres.

Deluca y col. (2006), encontraron que de 186 mujeres estudiadas, los genotipos de alto y bajo riesgo de mayor frecuencia encontrados se distribuyeron de la siguiente manera: VPH genotipo 6 (7%), genotipo 11 (3%), genotipo 16 (15%), genotipo 18 (4%), genotipo 31 (6%), genotipo 53 (8%) y genotipo 58 (7%); reflejándose también en menor proporción los VPH de bajo riesgo.

Los resultados negativos de este estudio como se demuestra, superaron a los positivos, 50 y 43 respectivamente (tabla 1) pero esto no quiere decir que los pacientes estudiados no posean la infección viral; es probable que como para el genotipaje del virus de papiloma humano, se empleó el Kit de Multiplex PCR de Maxim Biotech, Inc., que detectó simultáneamente 5 genotipos en un mismo tubo de reacción. El kit detectó los genotipos 6 (263 pb) y 11 (144 pb) de bajo riesgo oncogénico y los genotipos 16 (601 pb), 18 (360 pb) y 33 (413 pb) de alto riesgo oncogénico. Se puede hacer la especulación que estos individuos pudieran tener otro genotipo de VPH que no está incluido en el Kit.

Por otra parte, hubo nueve casos sin determinar (8,82%); de los cuales siete (6,86%) fueron del sexo masculino y dos (1,96%) femeninos; esto debido al material insuficiente y la degradación de la muestra al terminar la corrida electroforética.

Bleeker y col. (2005) mencionaron que las células son más abundantes en las muestras uretrales, mientras que, obtener células suficientes del interior del prepucio, frenulum y alrededor del surco coronal, que son partes externas del pene es mucho más difícil para detectar VPH y el 25-30% de estas muestras son inadecuadas por la

insuficiente cantidad de ADN. Según Aguilar y col. (2006), una mejor manera de optimizar la toma de muestras en hombres es no lavar por un día.

En este estudio es importante acotar que los pacientes masculinos mostraron mayor cantidad de casos positivos (22,54%) para la infección por VPH que las pacientes femeninas (19,6%). Difiriendo en esto, Bleeker y col. (2006) expresaron que el VPH tiene un riesgo de infección de 80% en mujeres.

En la figura 1 se muestra la presencia de VPH por parejas y en que porcentaje se encuentran cada uno de estos.

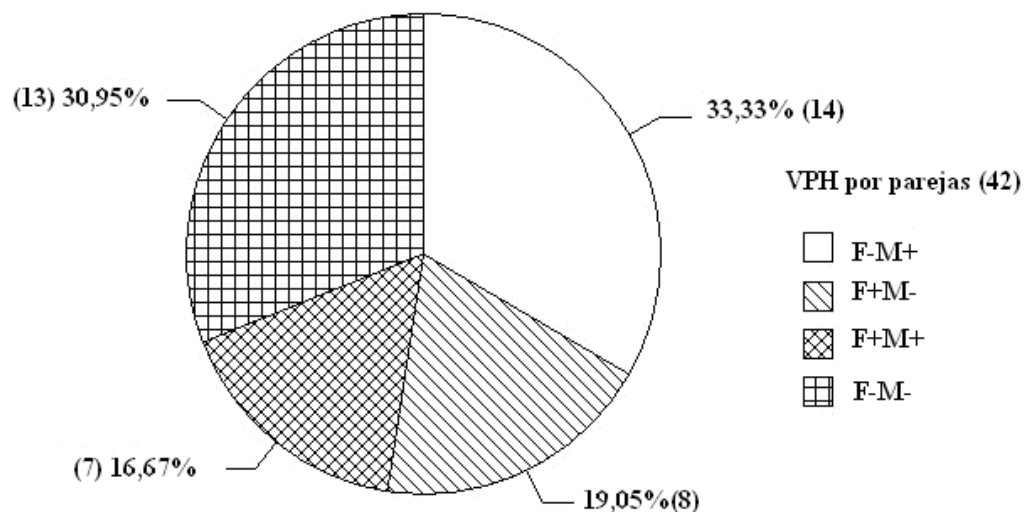


Figura 1. Presencia de VPH por parejas (Femenino (F) y Masculino (M))

El mayor porcentaje de casos con VPH se encontró en aquellas parejas donde la mujer resultó negativa y el hombre positivo (33,33%); en estos pacientes se diagnosticaron los VPH genotipos 6 y genotipo 11 de bajo riesgo y la combinación de estos dos genotipos virales.

En segundo lugar, están las parejas donde la mujer es positiva y el hombre negativo (30,95%) se hallaron la combinación de VPH genotipos 6 y 11; VPH genotipos 11 y 18; VPH genotipos 6, 11 y 18. Cuando el hombre y la mujer fueron positivos a la infección viral, se diagnosticaron solamente VPH genotipo 6 y genotipo 11 y la combinación de estos dos genotipos virales.

En la tabla 2 se indica el número de parejas que concuerdan con el mismo genotipo de VPH y el porcentaje de cada uno de ellos, estableciendo una comparación entre los valores.

Tabla 2. Concordancia entre parejas para los genotipos de VPH

VPH genotipo	Nro. Parejas (%)
6 y 11	3 (5,88)
11	1 (1,96)
Negativo	13 (25,49)

En la presente investigación fueron estudiadas un total de 51 parejas, de las cuales solo correspondieron cuatro (7,84%) con el mismo tipo de infección viral, mientras que hubo 13 (25,49%) que fueron negativas. La combinación de los VPH genotipos 6 y 11 de bajo riesgo tuvieron un mayor porcentaje (5,88%) en comparación con el VPH genotipo 11 (1,96%). Con respecto a esto, Sin Jders y col. (2006) afirmaron que el intercambio viral entre las parejas sexuales puede tener consecuencias para la persistencia viral y la historia natural de las lesiones genitales en esas parejas. Además, diferencias en la susceptibilidad de ciertos tipos de VPH están relacionadas con cierta predisposición genética.

Se compararon los resultados de biopsias, citologías, colposcopias y diagnóstico de biología molecular en los pacientes femeninos evaluados en este

estudio (anexo 24) y se realizó una tabla resumen donde se especifican los casos negativos y positivos obtenidos para mejor comprensión y análisis.

Tabla 3. Resumen de datos clínicos obtenidos de las mujeres evaluadas

Biopsia (%)	PCR (%)	Citología (%)	Colposcopia (%)
51 (50%)	29 negativos (28,43%) 20 positivos (19,61%)	12 negativos (11,76%) 39 positivos (38,24%)	22 negativos (21,57%) 19 positivos (18,63%)

Analizando estos datos, se observa que en el estudio molecular (PCR) se encontraron 20 casos positivos (19,61%) comparando estos resultados con los del estudio citológico donde hubo más casos positivos (38,24%), se puede sugerir que debido a que la técnica de PCR es mas sensible y confiable para la detección de la presencia del VPH que la técnica de Papanicolaou utilizada en la citología; la diferencia de los 19 casos positivos encontrados allí, puedan probablemente ser falsos positivos.

Por su parte, Vince y col. (2001) afirmaron que la discordancia entre la citología y la detección molecular puede ser influenciada por la propia eliminación parcial del virus en el organismo. Reforzando esto Schiffman y col. (2000) indicaron que una alta carga viral de VPH está asociada con anormalidades citológicas y por lo tanto con la aparición de la infección viral; esto va a depender también del sistema inmunológico y su eficiencia para combatir el virus.

En cuanto a los resultados de las biopsias de las mujeres evaluadas que representan un 50% de los pacientes en estudio; todas presentaron cambios sugestivos por VPH y los análisis colposcópicos positivos obtenidos, representan un 18,63%; se podría decir que, los cambios histológicos llamados coilocíticos observados en las células infectadas podrían ser debidos a otros agentes externos que no es el VPH.

Para aclarar esto, Dallenbach y col. (2006) afirman que hay agentes como la estimulación hormonal por prostágenos que provocan cambios celulares coilocíticos similares a los producidos por el VPH.

Pero a pesar de todo lo anteriormente expresado y comprobado en esta investigación, Dallenbach y col. (2006) destacan que no todas las infecciones por VPH generan cambios morfológicos detectables y que alrededor del 10% de las muestras que se toman a mujeres cuyo extendido citológico es normal, contienen VPH de alto riesgo.

En la figura 2 se observa la relación que existe entre el consumo de café y la presencia de VPH y el número de pacientes evaluados.

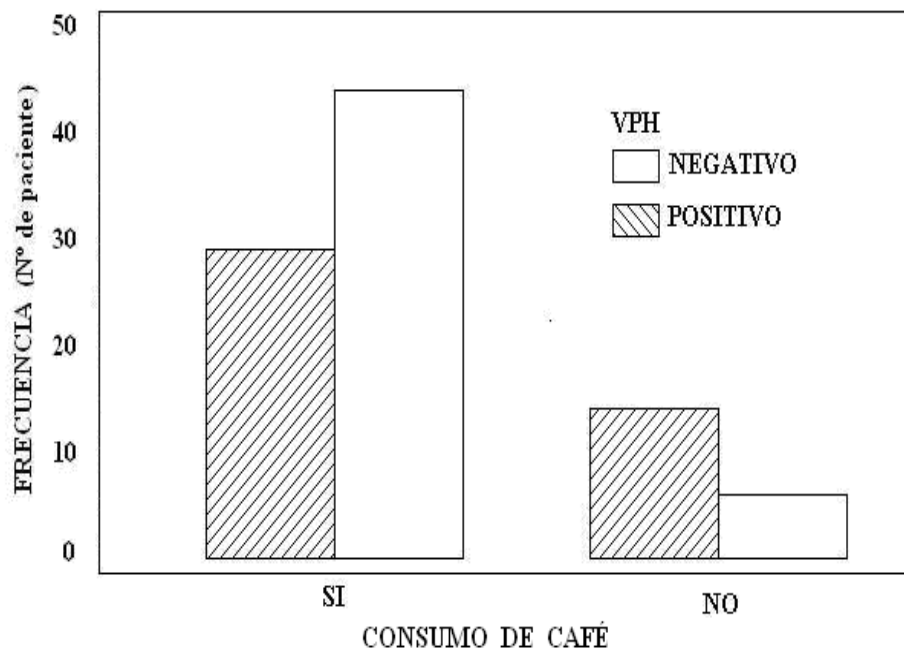


Figura 2. Relación entre la presencia de VPH y el consumo de café.

Según los resultados obtenidos en este estudio, la presencia de VPH está asociada significativamente con el consumo de café (anexo 18 y 23).

En la figura 2 se puede observar que se encuentran mas individuos positivos al virus cuando hay consumo de café (31,18%) que cuando no lo hay (15,05%); esta asociación es importante ya que puede ser el principio de una serie de investigaciones que aborden este factor de riesgo para ciertos individuos; debido a que no existe hasta el momento ningún otro estudio que se haya realizado relacionando esta variable al VPH.

En la figura 3 se observa la relación que existe entre el cigarrillo, la presencia de VPH y el número de pacientes evaluados.

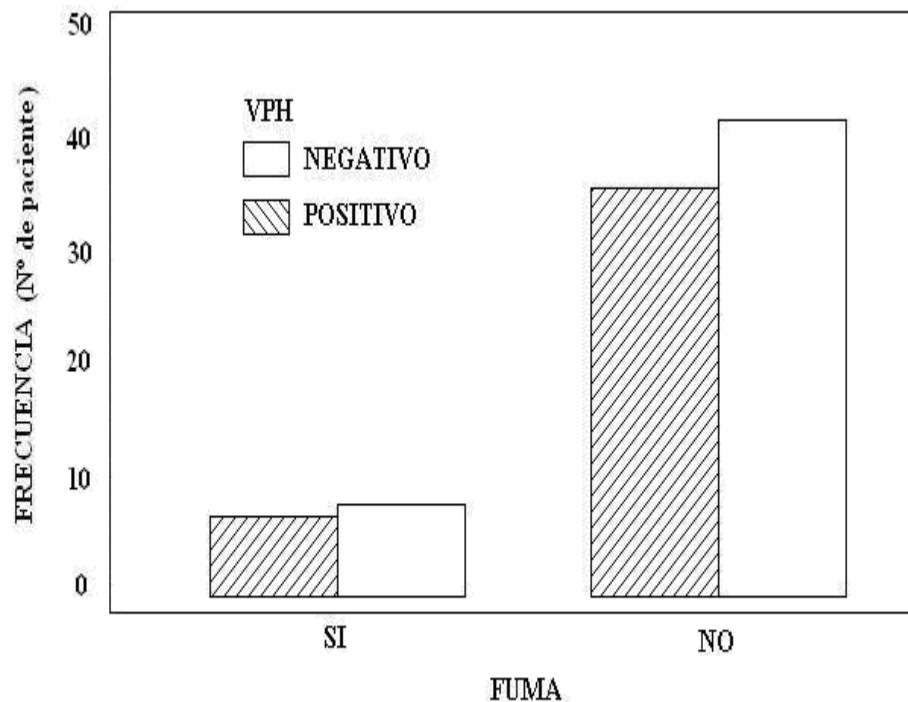


Figura 3. Relación entre la presencia del VPH y el hábito de fumar cigarrillo.

Hay un mayor número de pacientes positivos al virus (38,71%) cuando no poseen el hábito de fumar que al fumar (7,53%); por ello se puede afirmar que esta variable no fue significativa (anexo 16 y 23).

En contraste con esto Schiffman y col. (2003) refirieron que el hábito de fumar por largo tiempo incrementaba el riesgo de persistencia y progresión para el VPH y que es probable encontrar en pacientes fumadores elevadas concentraciones de nicotina en moco cervical y una marcada disminución de células de Langerhans en tejido cervical que también incrementa el riesgo de infección por VPH.

En la figura 4 se observa la relación que existe entre la edad del paciente, la presencia de VPH y el número de pacientes evaluados.

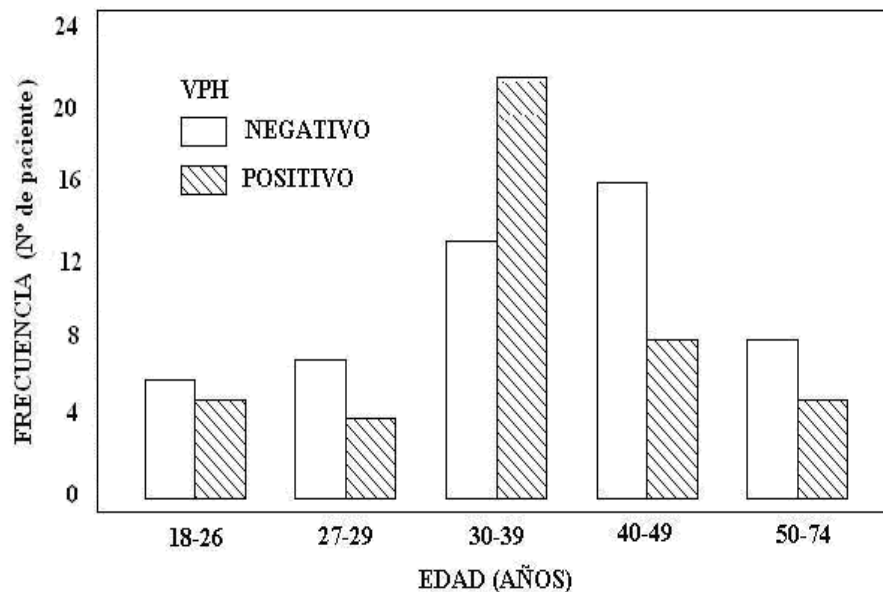


Figura 4. Relación entre la presencia de VPH y la edad.

En esta figura 4 se puede observar que el paciente al incrementar su edad, no aumenta la posibilidad del establecimiento de la infección por VPH; esto demuestra

que no existe asociación entre esta variable y el virus (anexo 23). Burger y col. (1996), indican que la edad no muestra una relación significativa con la presencia de VPH.

Sin embargo, se puede observar que hay un mayor grupo de pacientes de edades comprendidas entre 30-39 años que presentaron (22,58%) la infección viral (anexo 12), en concordancia con esto Rivera y col. (2006) afirmaron que la prevalencia de la infección por VPH ocurre en el grupo de edad entre 20-40 años con un pico de incidencia a los 30 años. Basándonos en esta referencia se puede especular que el incremento de la actividad sexual puede influenciar a los individuos de las edades entre 30-39 años; aunque no es determinante para el establecimiento del virus en este grupo de pacientes.

En la figura 5 se observa la relación existente entre la edad inicio de la relaciones sexuales, la presencia de VPH y el número de pacientes evaluados.

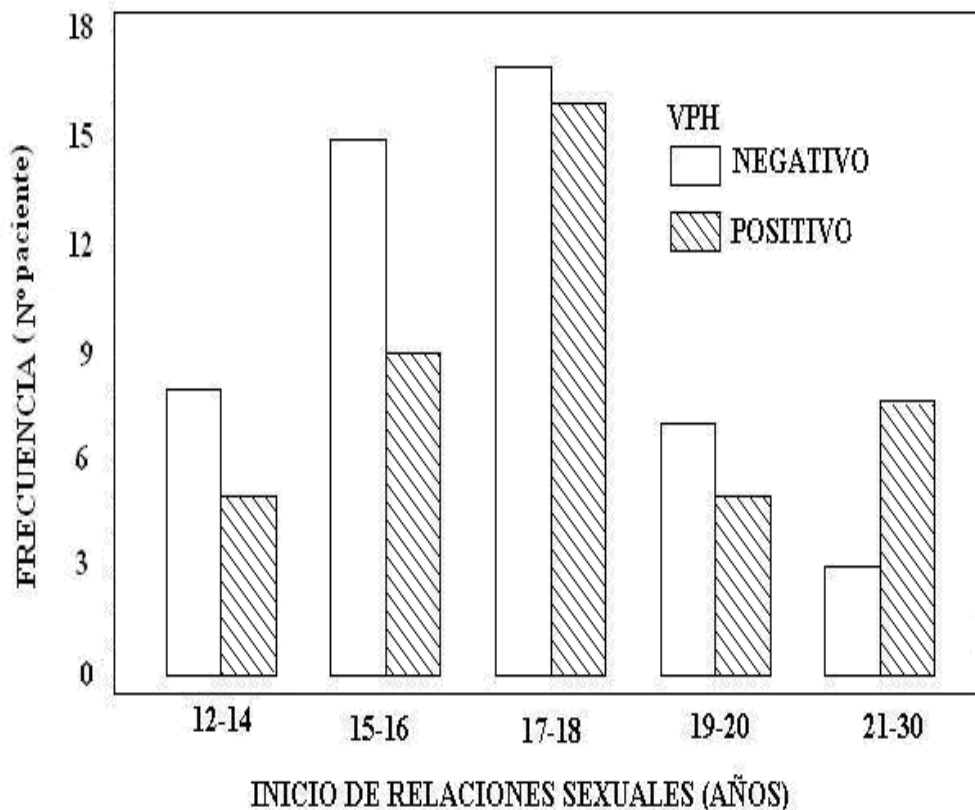


Figura 5. Relación entre la presencia de VPH y el inicio de las relaciones sexuales.

En la figura 5 se observa que hay mayor número de casos positivos (8,60%) que negativos (3,23%) cuando el inicio de las relaciones sexuales es de 21-30 años (anexo 14); sin embargo comparando entre las diferentes edades de inicio de las relaciones sexuales, el rango entre 17-18 años tiene un mayor porcentaje de casos positivos (17,20%). Sin embargo, estos resultados no arrojaron una asociación entre este factor de riesgo y el VPH.

Collins y col. (2005) y Herrero y col. (2005) sugieren que la edad de inicio de la relación sexual es un factor de riesgo que determina la aparición de la infección por VPH.

En la figura 6 se relaciona el número de parejas, la presencia de VPH y el número de pacientes evaluados.

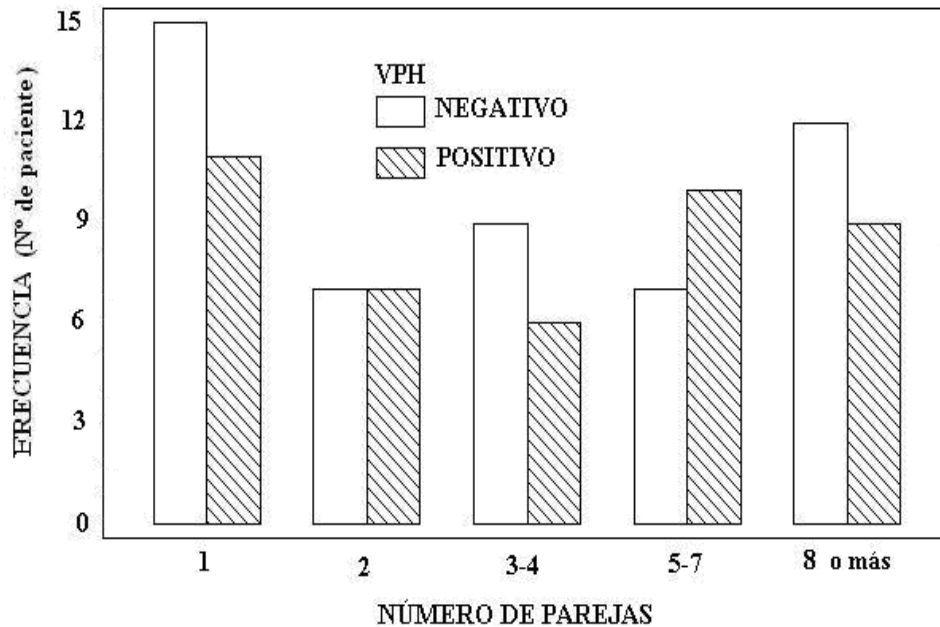


Figura 6. Relación entre la presencia de VPH y el número de parejas.

En la figura 6 se observa que el incremento del número de parejas no es significativo (anexo 23) para la aparición del VPH; puesto que cuando el individuo tiene 8 ó mas parejas, los casos positivos (9,68%) son menores a los negativos (12,90%); sin embargo hay una diferencia (anexo 15) porcentual acentuada entre los pacientes positivos anteriormente mencionados y los que tenían una sola pareja (11,83%).

En cuanto a los individuos que tenían dos parejas, el número de casos positivos es igual a los negativos (7,53%). Con todo lo anteriormente analizado, se dice que en esta investigación no existe asociación entre el número de parejas y el VPH. Por ello, Muñoz y col. (2003) mencionaron que la promiscuidad, sin ser sinónimo de cáncer de cuello uterino, constituye un importante factor de riesgo para

la adquisición de la infección por VPH. Numerosos mecanismos han sido sugeridos para explicar la relación entre el riesgo de padecer la enfermedad y los diversos elementos asociados con las relaciones sexuales. Diferiendo de esta opinión, Carrington y col. (2005), afirmaron que el número de parejas sexuales es un factor de riesgo para la adquisición del VPH. El número de parejas sexuales no es más que el reflejo de la probabilidad de exposición al VPH así, la vida sexual incrementa la frecuencia del padecimiento de forma importante (Bosch y col., 2002). También se puede mencionar que estos resultados (figura 6) están sujetos a la encuesta aplicada a estos pacientes (anexo 1) y no hay seguridad alguna que hayan dicho la verdad completamente, por ello, Schiffman y col. (2003) afirmaron que es algo difícil obtener datos confiables sobre el comportamiento sexual de los pacientes en estudio.

En la figura 7 se relaciona el número de hijos con la presencia de VPH y el número de pacientes evaluados.

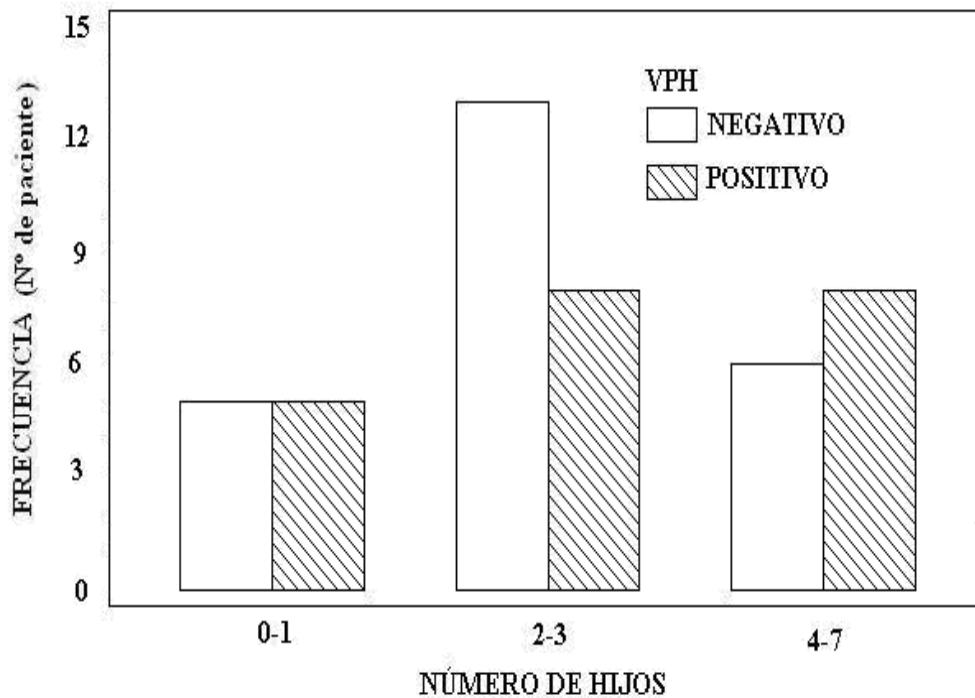


Figura 7. Relación entre la presencia de VPH y el número de hijos.

El número de hijos en las mujeres en estudio no fue significativo para la presencia del VPH (anexo 23), a pesar que cuando tienen de 4-7 hijos el número de casos positivos es mayor (17,78%), este resultado contrasta con la mujer cuando no tiene hijos ó simplemente uno solo, los resultados positivos y negativos (11,11%) tienen igual proporción (anexo 20).

Mujeres con 7 ó más embarazos tienen un riesgo de padecer la enfermedad de 4 veces más que las que tienen menor número de hijos o nulípara debido a que con los partos se debilita el cuello uterino y queda fácilmente expuesto a la infección viral (Bosch y col., 2002).

En la figura 8 se muestra la relación existente entre la edad de la primera menstruación, la presencia de VPH y el número de pacientes afectados.

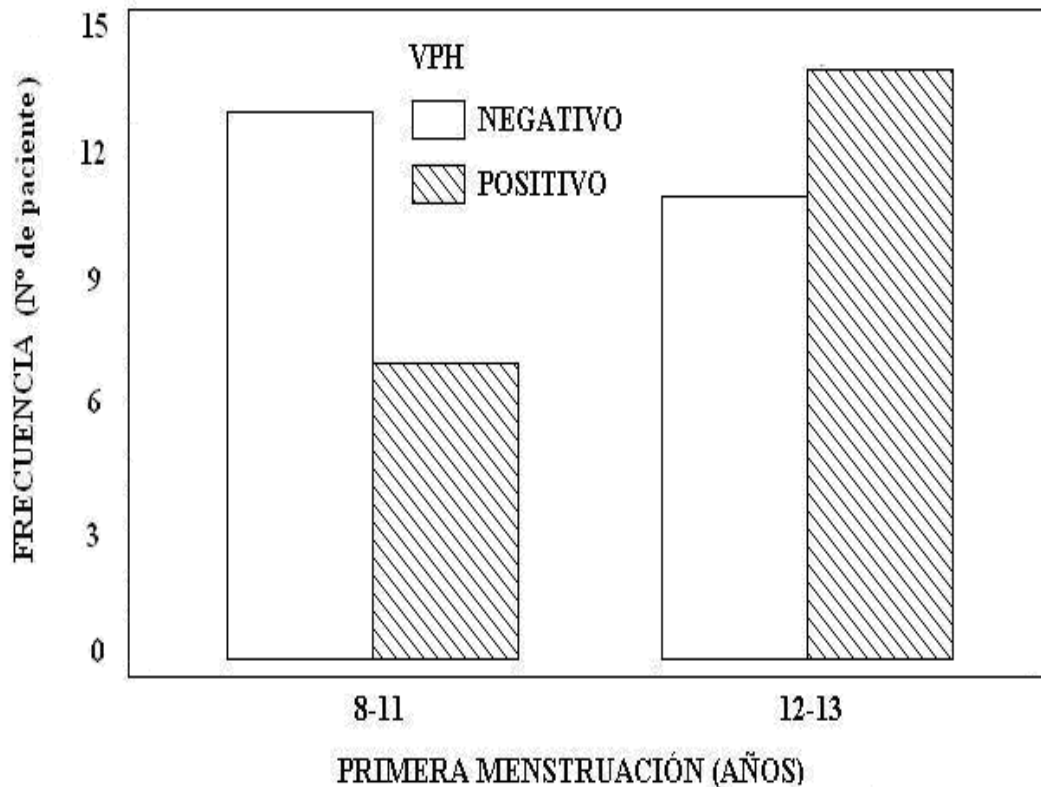


Figura 8. Relación entre la presencia de VPH y la primera menstruación. Se puede observar, que cuando la mujer tiene la primera menstruación (anexo 19) entre los 12-13 años, el número de casos positivos (31,11%) es mayor que de 8-11 años (15,56%); esto demuestra que no hay asociación entre la edad de la primera menstruación y la presencia del virus (anexo 23).

La puerta de entrada del VPH es el epitelio erosionado, el cual se observa en la menstruación y éste se muestra mas susceptible al virus, quedando a expensas de éste (Bosch y col., 2002).

En la figura 9 se observa la relación existente entre el alcohol, la presencia de VPH y el número de pacientes afectados.

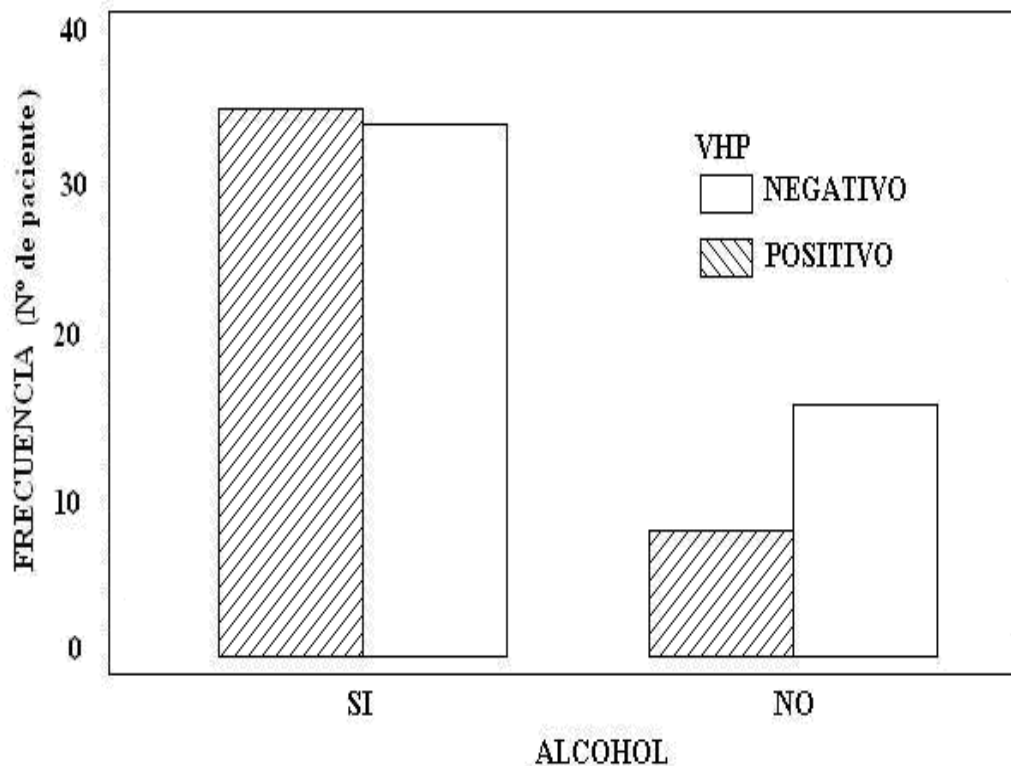


Figura 9. Relación entre la presencia de VPH y la ingesta de alcohol.

En la figura 9 se puede apreciar que el número de casos negativos (36,56%) y positivos (37,63%) para la presencia de VPH es relativamente semejante (anexo 17)) cuando los pacientes ingieren alcohol, estadísticamente esto no es significativo (anexo 23).

Es por ello, que se puede especular, que el alcohol de manera directa no afecta para el establecimiento del VPH y no hay bibliografía que lo vincule directamente a la infección viral, se puede decir que el exceso de éste en el organismo comúnmente debilita el sistema inmune y el individuo se queda con pocas o ninguna probabilidad de combatir eficientemente esta infección.

Las membranas celulares son altamente permeables al alcohol, así está en el torrente sanguíneo y se expande a todos los tejidos del cuerpo, afectando la eficiencia del sistema inmunológico del individuo para poder erradicar cualquier tipo de infección (Gil, 2008).

En la figura 10 se muestra la relación existente entre la edad del primer embarazo, la presencia de VPH y el número de pacientes evaluados.

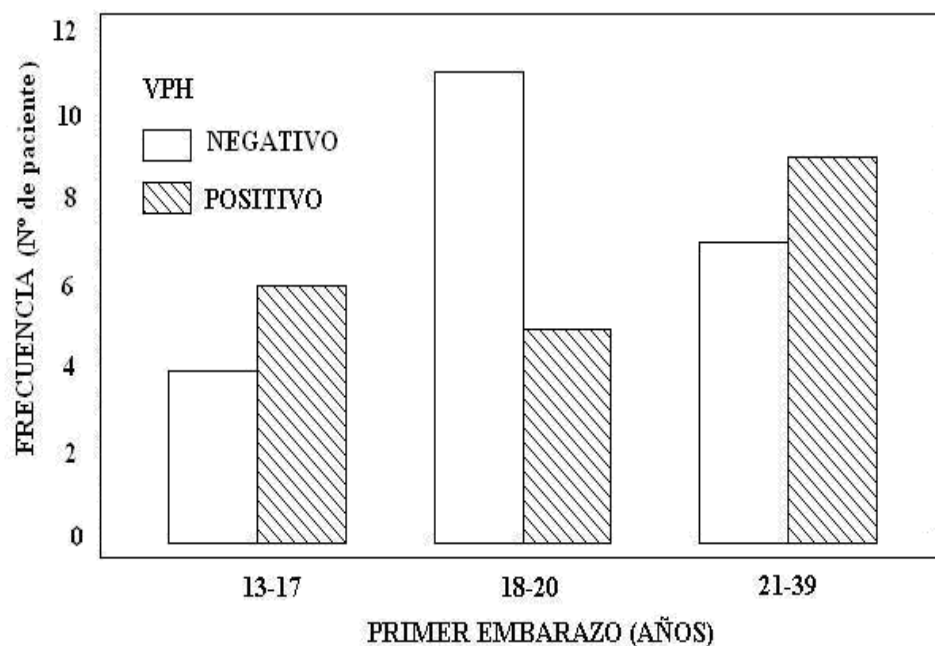


Figura 10. Relación entre la presencia de VPH y el primer embarazo.

En la figura 10 se observa que hay mayor número de casos positivos (21,43%) cuando la edad del primer embarazo oscila entre 21-39 años (anexo 22). Sin embargo, es importante mencionar que entre 18-20, los pacientes positivos (11,90%) están en menor proporción que los negativos (26,19%); por lo tanto este factor de riesgo no resultó significativo (anexo 23).

Parra (2006) afirmó que durante los primeros embarazos se produce la migración fisiológica de la unión escamo-columnar hacia el endocérnix, el epitelio cilíndrico es reemplazado por el epitelio plano estratificado originando la llamada zona de transición, donde la susceptibilidad al riesgo de transformación maligna/célula blanco es probablemente mayor que en cualquier otro tejido; estos cambios son mas activos en etapas tempranas de la vida, donde también la vida sexual es mas activa.

En la figura 11 se relaciona el número de abortos, la presencia de VPH y el número de pacientes evaluados.

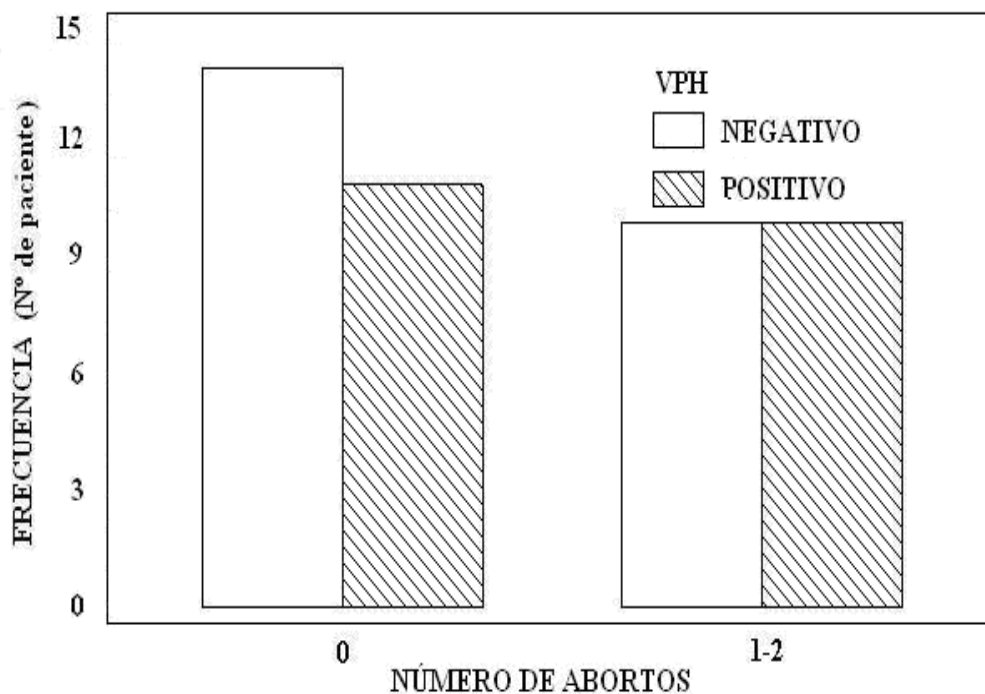


Figura 11. Relación entre la presencia del VPH y el número de abortos.

Como se puede observar (figura 11) cuando la mujer en estudio no presenta abortos (anexo 21), la cantidad de casos positivos (24,44%) es mayor al haber de 1-2 abortos (22,22%). Pero es relevante mencionar que cuando la paciente tiene de 1-2

abortos los casos positivos y negativos a la presencia del VPH poseen el mismo porcentaje. Afirmando con todo esto, que no es significativa esta variable (anexo 23).

Parra (2006) La severidad de traumas epiteliales en el cuello uterino crea una ruptura del tejido para fácil entrada del virus y favorece su crecimiento.

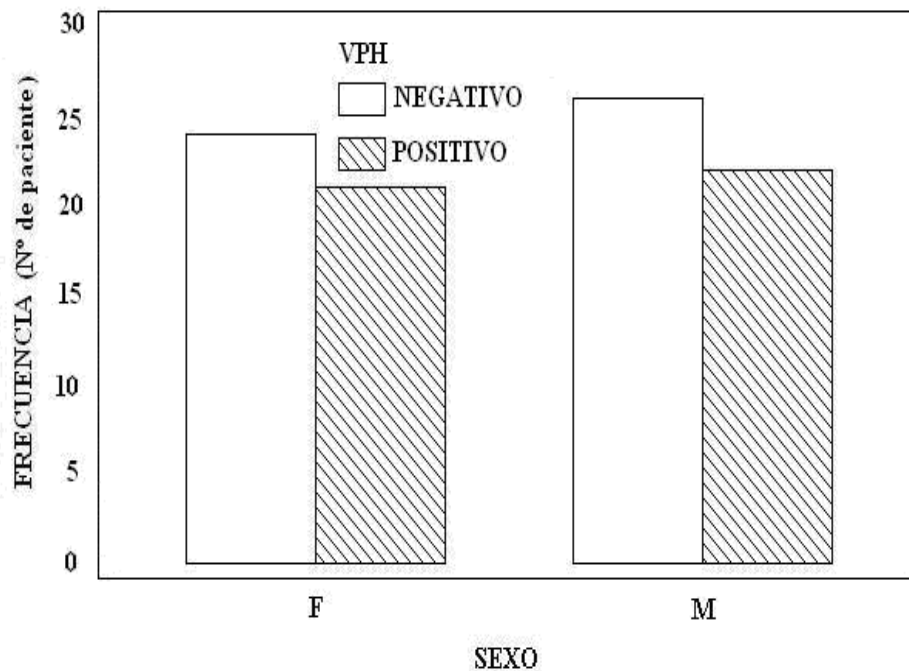


Figura 12. Relación entre el VPH y el sexo.

El hecho de ser hombre ó mujer no es significativo (anexo 23) para que la infección viral se establezca en un paciente determinado, hay mayor número de casos negativos en ambos sexos, femenino (25,81%) y masculino (27,96%); aunque no es muy marcada la diferencia entre los porcentajes de pacientes femeninos y masculinos afectados (anexo 13).

La vagina y el cuerpo del pene albergan VPH frecuentemente y las diferencias individuales de hombres y mujeres en la respuesta inmunológica contra el VPH, juegan un papel importante al determinar el destino de las infecciones (Schiffman y col., 2003).

CONCLUSIONES

En el diagnóstico molecular realizado en este estudio se encontraron 3 genotipos de VPH: 6, 11 y 18 con predominio de la infección viral por los genotipos de VPH 6 y 11.

El VPH de alto riesgo (genotipo 18) solamente fue diagnosticado en mujeres y los de bajo riesgo (genotipo 6 y 11) en hombres y mujeres.

Las combinaciones de dos o más genotipos de VPH se observaron exclusivamente en mujeres.

El consumo de café significó un factor de riesgo estadísticamente significativo en este estudio.

RECOMENDACIONES

Es necesario realizar estudios de carga viral cuando los resultados de biología molecular sean negativos y los pacientes aporten antecedentes donde hay una posible infección de virus de papiloma humano.

Para futuras investigaciones sobre el compañero sexual de la mujer infectada por el virus se debe tomar muestras uretrales y el paciente no debe bañarse un día anterior al procedimiento y abstenerse de recoger muestra de las partes externas del pene.

En el caso de las encuestas a realizar para estudios similares a este, se sugiere que al evaluar algunos factores de riesgo se debe tomar en cuenta con que frecuencia son consumidos en los pacientes evaluados (poco, moderado o mucho) en tal caso, puede ser para el café, alcohol y cigarrillo facilitando así el análisis de los resultados.

Promover campañas educativas públicas entre las mujeres sexualmente activas, relacionadas con medidas preventivas para esta enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, L.V.; Lazcano-Ponce, E.; Vaccarella, S.; Cruz, A.; Hernández, P.; Smith, J.S.; Muñoz, N.; Kornegay, J.R.; Hernández-Ávila, M. y Franceschi, S. 2006. Human papillomavirus in men: comparison of different genital sites. *Sex. Transm. Infect.*, 82: 3-31.
- Benevolo, M.; Mottolise, M.; Marandino, F.; Carosi, M.; Diodoro, M.; Sentinelli, S.; Visca, P.; Rollo, F.; Mariani, L.; Vocaturo, G.; Sindico, R.; Terrenato, I.; Perrone, R.; Vocaturo, A. 2008. HPV prevalence among healthy Italian male sexual partners of women with cervical HPV infection. *Journal of Medical Virology*, 80: 1275-1281.
- Bjorge, T.; Engeland, A.; Luostarinen, T.; Mork, J.; Gislefoss, R. y Jellum, E. 2002. Human papillomavirus infection as a risk factor anal and perianal skin cancer in a prospective study. *J. Cancer*, 87: 4-61.
- Bleeker, M.C.; Hogewoning, C.J.; Voorhorst, F.J.; Van Den Brule, A.J.; Berkjof, J.; Hesselink, A.T.; Lettink, M.; Starink, T.M.; Stoof, T.J.; Snijders, P.J. y Meijer, C.J. 2005. HPV-associated flat penile lesions in men of a non-STD hospital population: less frequent and smaller in size than in male sexual partners of women with CIN. *J. Cancer*, 33: 36-41.
- Bleeker, M.C.; Snijders, P.F.; Voorhorst, F.J. y Meijer, C.J. 2006. Flat penile lesions: The infections “invisible” link the transmission of human papillomavirus. *J. Cancer*, 119: 12-2505.
- Bosch, F.; Lorincz, A.; Muñoz, N.; Meijer, C. y Shah, K. 2002. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J. Clin. Patol.*, 55: 65-244.
- Bousarghin, L.; Touzè, A.; Sizaret, P. y Coursage, T. 2003. Human papillomavirus types 16, 31 and 58 use different endocytosis pathways to enter cells. *J. Virol.*, 77: 74-77.
- Burger, M.P.; Hollema, H.; Pieters, W.J.; Schroder, F.P. y Quint, W.G. 1996. Epidemiological evidence of cervical intraepithelial neoplasia without the presence of human papillomavirus. *J. Cancer*, 73: 6-831.
- Cañadas, M.; Lloveras, B.; Lorincz, A.; Ejarque, M.; Font, R.; Bosch, F.; San José, S. 2006. Evaluación de las técnicas de detección del VPH en los programas de cribado para cáncer de cuello uterino. *Salud pública de México*, 48(5): 373-378.

Carranza, F. y Newman M. 2004. *Periodontología Clínica*. Interamericana McGraw-Hill.

Carrington, M.; Wang, S.; Martin, M.P.; Gao, X.; Schiffman, M.; Cheng, J.; Herrero, R.; Rodríguez, A.C.; Kurman, R.; Mortel, R.; Schwartz, P. y Glass, A. 2005. Hierarchy of resistance to cervical neoplasia mediated by combinations of keller immunoglobulin-like. *J. Exp. Med.*, 201: 75-1069.

Castellsague, X.; Bosch, F.X. y Muñoz, N. 2002. Male circumcision, penile human papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners. *J. Med.*, 346: 1105-1112.

Collins, S.I.; Mazloomzadeh, S. y Winter, H. 2005. Proximity of first intercourse to menarche and the risk of human papillomavirus infection: a longitudinal study. *J. Cancer*, 114: 498-500.

Correnti, M.; Rivera, H. y Cavazza, M. 2004. Detection of Human Papillomavirus of High Oncogenic potencial in oral squamous cell carcinoma in a Venezuelan population oral Oncology/ Microbiology. *Oral diseases*, 10: 163-166.

Correnti M.; Uribe, M. y Cavazza, M. 1996. Detección del virus papiloma humano mediante la reacción en cadena de la polimerasa e hibridación molecular en citologías del cuello uterino. *Ginecología*, 96: 127-135.

Dallenbach G.; Knebel M.; Trunk M. 2006. *Histopatología del Cuello Uterino*. Ediciones Journal, 31-92.

D'Alessio, M. 2000. Detección e identificación del virus del papiloma humano en compañeros sexuales de mujeres portadoras del virus mediante reacción en cadena de la polimerasa. Tesis de Pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná – Estado Sucre.

Deluca, G.; Marin, H.; Schelover, E.; Chamorro, E.; Vicente, L.; Albhom, M.; Alonso, J. 2006. Infección por *Chlamydia trachomatis* y Papilomavirus en mujeres con alteraciones Citohistológicas de Cuello uterino. *Medicina*, 66: 303-306.

Franceschi, S.; Castellsague, X.; Dalmaso, L.; Smith, JS.; Plummer, M.; Ngelangel, C.; Chichareon, S.; Eluf-Neto, J.; Shah, K.V.; Snijders, P.J.; Meijer, C.J. y Bosch, F.X. 2002. Prevalence and determinants of human papillomavirus genital infection in men. *J. Cancer*, 86: 11-705.

Gil, A. 2008. "El alcohol". <http://es.wikipedia.org/wiki/bebida_alcohol> (02/03/2008).

Giroglou, T.; Florin, L.; Schafer, F.; Streeck, R. y Sapp, M. 2001. Human papillomavirus Infection requires cell surface heparan sulfate. *J. Virol.*, 75(3): 70-1565.

Helt, A.; Funk, J. y Galloway, D. 2002. Inactivation of both the retinoblastoma tumor suppressor and p21 by the human papillomavirus types 16 E7 oncoprotein is necessary to inhibit cell cycle arrest in human epithelial cells. *J. Virol.*, 76: 68-10559.
Holmgren, S.; Patterson, N.; Ozbun, M. y Lambert, P. 2005. The minor capsid protein L2 contributes to two steps in the human papillomavirus type 31 life cycle. *J. Virol.*, 79 (7): 48-3938.

Herrero, R.; Castle, P.E. y Schiffman, M. 2005. Epidemiologic profile of type-specific human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Guanacaste, Costa Rica. *J. Infect.*, 191: 1796-1807.

Herrero, R.; Hildesheim, A. y Bratti, C. 2000. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J. Natl. Cancer Inst.*, 92: 464-474.

Liaw, K.L.; Hildesheim, A. y Burk, R.D. 2001. A prospective study of human papillomavirus (HPV) type 16 DNA detection by polymerase chain reaction and its association with acquisition and persistence of other HPV types. *J. Infect.*, 183: 8-15.

Ling Peh, W.; Middleton, K.; Christensen, N.; Nicholls, P.; Egawa, K. y Sotlar, K. 2002.

Life cycle heterogeneity in animal models of human papillomavirus – associated disease. *J. Virol.*, 76(20): 16-10401.

Lorincz, A.T.; Castle, P.E. y Sherman, M.E. 2002. Viral load of human papillomavirus and risk of CIN3 or cervical cancer. *Lancet.*, 360: 228-229.

Macek, M. 2007. "La Cafeína". <<http://www.zonadiet.com>> (08/06/2007).

Molano, M.; Van den Brule, A.J.C.; Posso, H.; Weiderpass, E.; Ronderos, M.; Franceschi, S.; Meijer, C.; Aíslan, A. y Muñoz, N. 2002. Low grade squamous intraepithelial lesions and human papillomavirus infection in Colombia women. *J. Cancer*, 87: 1417-1421.

Moreno, M. 1999. Evaluación de la presencia del virus del papiloma humano (VPH) en el cuello uterino de pacientes de 5 grupos etarios y condición socio-económica baja, atendidos en el Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná – Estado Sucre. Tesis de pregrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Muñoz, N.; Bosch, F.X. y San José, S. 2003. Epidemiologic clasidication of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *J. Med.*, 348: 518-527.

Oliveros, A. 1999. Evaluación de la presencia del virus del papiloma humano (VPH) en el cuello uterino de pacientes atendidas en el ambulatorio “Cruz Salmerón Acosta” de la península de Araya, estado sucre. Tesis de pregrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Parra, D. 2006. Virus de papiloma humano y cáncer de cuello uterino. *Int. J. Cancer*, 60: 31-737.

Parkin, D.; Pisani, P. y Ferlay, J. 1999. Estimates of the world wide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int. J. Cancer*, 80: 41-827.

Poljak, M. 1999. Comparative evaluation of first and second generation digene hybrid capture assays for detection of human papillomavirus associated with high or intermediate risk for cervical cancer. *J. Clin. Microbiol.*, 37(3): 796-797.

Prescott, L.; Harley, J. y Klein, D. 2004. *Microbiología*. Quinta edición. Editorial McGrawHill. España.

Prozialeck, W.; Fay, M.; Lamar, P.; Pearson, C.; Sigar, I. y Ramsey, K. 2002. Chlamydia trachomatis disrupts N-cadherin-dependent cell-cell junctions and sequesters beta catenin in human cervical epithelial cells. *Infec. inmun.*, 70(5): 13-2605.

Rodríguez, C. 1999. Coexistencia del Virus del papiloma humano y lesiones premalignas de cerviz uterino demostrado a través de citología, biopsia cervical, colposcopia y reacción en cadena de la polimerasa e hibridación molecular. H.U.A.P.A. Tesis de postgrado de ginecología y obstetricia. Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, Venezuela.

Rivera, R.; Delgado, J.; Painel, V.; Barrero, R.; Larraín, A. 2006. Mecanismo de infección y transformación neoplásica producido por virus papiloma humano en el epitelio cervical. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.*, 71 (2): 135-140.

- Rohde, V.; Erles, K.; Sattler, HP.; Devoret, H.; Wullich, B. y Schlehofer, JR. 1999. Detection of adeno-associated virus in human semen: Does viral infection play a role in the pathogenesis of male infertility?. *Fertility and Sterility*, 72: 814-816.
- Romero, M. 1999. Evaluación de la presencia del virus del papiloma humano (VPH) en el cuello uterino de pacientes de condición socio-económica media-alta atendidas en clínicas privadas de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Tesis de pregrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- Salazar, E. 1999. Detección del virus del papiloma humano de cerviz uterino mediante reacción en cadena de la polimerasa e hibridación molecular. H.U.A.P.A. Tesis de postgrado de ginecología y obstetricia. Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, Venezuela.
- Schiffman, M. y Castle, P.E. 2003. Human papillomavirus: epidemiology and public health. *Arch. pathol. Lab. Med.*, 127(8): 4-930.
- Schiffman, M.; Herrero, R. y Hildesheim, A. 2000. HPV ADN testing in cervical cancer screening: Results from women in a high-risk province of Costa Rica. *JAMA.*, 283: 87-93.
- Shen, Z.; Hu, S.; Lu, L.; Tang, C.; Kuang, Z. y Zhong, S. 2002. Detection of human papillomavirus in esophageal carcinoma. *J. Med. Virol.*, 68: 6-412.
- Snijders, P.J.; Hogewoning, C.J.; Hesselink, A.T.; Berkhof, J.; Voorhorst, FJ.; Bleeker, MC. y Meijer, C.J. 2006. Determination of viral load thresholds in cervical scrapings to rule out CIN3 in HPV 16, 18 and 33-positive women with normal cytology. *J. Cancer*, 119: 7-1102.
- Snijders, P.J.; Van Den Brule, A.J. y Meijer, C.J. 2003. The clinical relevance of human papillomavirus testing: Relationship between analytical and clinical sensitivity. *J. Pathol.*, 201: 1-6.
- Velásquez, C. 2003. Identificación del virus del papiloma humano (VPH) en lesiones intraepiteliales escamosas del cuello uterino mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). H.U.A.P.A., Cumaná-Estado sucre. Tesis de pregrado, Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- Vince, A.; Ivanisevic, M.; Hami, V.; Skalko, D. y Jeren, T. 2001. Molecular detection of human papillomavirus in women with minor-grade cervical cytology abnormalities. *J. Virology*, 20: 91-94.

Weaver, B.A.; Feng, Q.; Holmes, K.K.; Kiviat, N.; Lee, S.K.; Meyer, C.; Stern, M. y Koutsky, LA. 2004. Evaluation of genital sites and sampling techniques for detection of human papillomavirus DNA in men. *J. Infect.*, 189: 85-677.

Wickenden, C.; Hanna, N.; Taylor-Robinson, D.; Harnis, J.R.; Bellamy, C.; Carroll, P. y Malcolm, A.D. 1988. Sexual transmission of human papillomavirus in heterosexual and male homosexual couples, studied by DNA hybridisation. *Genitourin. Med.*, 64: 8-34.

Zuna, R.E.; Wang, S.S.; Schiffman, M. y Solomon, D. 2006. Comparison of human papillomavirus distribution in cytologic subgroups of low-grade squamous intraepithelial lesion. *J. Cancer*, 108(5): 97-288.

ANEXOS

ANEXO 2

INSTITUTO DE ONCOLOGÍA Y HEMATOLOGÍA. INSTITUTO DE BIOMEDICINA

Ministerio de Salud. Universidad central de Venezuela

Apartado 4043. Caracas. Venezuela

Estudio multidisciplinario para el Diagnóstico Temprano y prevención de las infecciones de Transmisión Sexual y su Asociación con Procesos Neoplásicos en población Venezolana: Un problema de Salud Pública bajo el Nro. G-2005000408

Yo, _____, portador de la Cédula de Identidad Nro. _____, hago constar que ha sido informado de la Posible relación existente entre la enfermedad que actualmente presento y la infección por agentes Microbiológicos asociados a las infecciones de transmisión sexual, la cual se encuentra bajo investigación, en este proyecto; por lo cual accedo voluntariamente a que se me realicen los estudios Gastroenterológicos y sexológicos pertinentes.

Los resultados serán guardados con estricta confidencialidad y me serán suministrados si los requiero. Hago explícito que en carácter de paciente voluntario podré retirarme del estudio en el momento que lo crea conveniente sin ninguna consecuencia.

En caso de ser el paciente voluntario menor de edad el representante legal se hará responsable de lo anteriormente expuesto.

En Caracas, a los ____ días del mes de _____ del 200 ____.

Firma del paciente voluntario: _____

Teléfono de localización: _____

En caso de ser el paciente menor de edad firma el representante legal:

_____ C. I: _____
Firma

Apellido y Nombre en letra de imprenta: _____

Responsable:
Dra. María Eugenia Cavazza
Dr. En Ciencias Biológicas

INSTITUTO DE ONCOLOGÍA Y HEMATOLOGÍA

Ministerio de Salud y Desarrollo Social

Caracas. Venezuela

Planilla No. 00001/4650

Consentimiento Informado para participar en el proyecto de investigación sobre:

***Estudio multidisciplinario para el Diagnóstico Temprano y Prevención de las infecciones de Transmisión Sexual y su Asociación con Procesos Neoplásicos en Población Venezolana:
Un problema de Salud Pública bajo el Nro.29.707***

Objetivos del Proyecto

1. Estudio de los agentes infecciosos asociados a las infecciones de transmisión sexual en distintas entidades anatómicas: detección y tipificación de VPH, detección de *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Virus Herpes simples 1, 2, II y VIII*, *VIH 1 y 2*, *Hepatitis B* en la población venezolana en los estados andinos, Cojedes, Zulia, Sucre y Gran Caracas.
2. Realizar la detección del virus del papiloma humano (VPH) mediante técnicas de biología molecular a partir de muestras cervicales como tamizaje primario en mujeres venezolanas mayores de 15 años sexualmente activas y analizar su asociación con cáncer cervical en poblaciones juveniles de la Universidad Central de Venezuela y Universidad Bolivariana de Venezuela. Caracas.
3. Conformar un Grupo de Trabajo que integre a especialistas de las áreas de ginecología, epidemiología, microbiología, odontología, anatomía patológica, sociología y economía, que garantice el establecimiento de una red regional y nacional de trabajo dirigida a la disminución de los casos de infecciones de transmisión sexual, cáncer cervical y otros procesos Neoplásicos, en las comunidades estudiadas, con énfasis en la prevención de estas enfermedades en la población adolescente y juvenil.

Procedimiento de la investigación

- La toma de muestras se realizará mediante métodos convencionales clínicos ginecológicos y urológicos según sea el caso, entidad de piel y entidad bucal, sin representar riesgos físicos. En cuanto a la incomodidad y experiencias emocionales desagradables será manejado por el especialista de la salud a cargo siguiendo los lineamientos de la práctica médica legal.
- El paciente estará amparado (a) por: la constitución de la República Bolivariana de Venezuela, ley del código civil, ley del ejercicio de la medicina y en caso de ser menor de edad por la Ley de protección al menor y los adolescentes.
- Los resultados serán guardados con estricta confidencialidad y me serán suministrados si lo requiero. En calidad de paciente voluntario se podrá retirar del estudio en el momento que lo crea conveniente sin ninguna consecuencia.
- El protocolo de investigación se realizará en un número total de 4650 pacientes y tendrá una duración de tres (3) años.
- Auditores y algunas autoridades debidamente identificadas tendrán acceso a su historia clínica para la verificación de procedimientos y/o datos, sin violar su confidencialidad.
- El (la) paciente tendrá el beneficio de control médico gratuito así como los exámenes de laboratorio contemplados dentro del protocolo. Además recibirá la información apropiada para manejar su enfermedad y en casos posibles, los tratamientos adecuados para su curación.
- Los resultados obtenidos en la presente investigación serán destinados a:
 - 1.- Centro de información del Ministerio de Salud
 - 2.- Publicaciones Científicas
- En caso de ser el (la) paciente voluntario (a) menor de edad el (la) representante legal se hará responsable de lo anteriormente expuesto

Yo,

_____, portador de la
 cédula de identidad Nro. _____, hago constar que he sido
 informado de la posible relación existente entre la enfermedad que actualmente presento y la infección por
 microorganismos asociados a infecciones de transmisión sexual, los cuales se encuentran bajo investigación en
 este proyecto; por lo que accedo voluntariamente a que se me realicen los estudios de diagnóstico y seguimiento
 pertinente.

En Caracas, a los _____ días del mes de _____ del 200_____.

Firma del Paciente Voluntario
Teléfono de localización: _____

En caso de ser el paciente menor de edad firma el representante legal:

Firma C.I: _____

Apellido y Nombre en letra de imprenta:

Responsable: **Será colocado el nombre de cada responsable de la unidad ó centro de investigación**

Dr. _____

Médico u otro personal de salud

Instituto. _____ Tel. _____ Ext. _____

Testigo Nro. 1

Nombre y Apellido: _____ C.I: _____

Testigo Nro. 2

Nombre y Apellido: _____ C.I: _____

Se expiden dos copias del mismo tenor.

A.

B.



Anexo 3. Fotografía del baño de maría con las muestras para ser preservadas toda la noche. (A) Destapado con las muestras y (B) Tapado con las muestras.



Anexo 4. Muestras enumeradas y el cloroformo.



Anexo 5. Vortex y las muestras enumeradas.



Anexo 6. Centrifuga 5415 C para tubos Eppendorf.



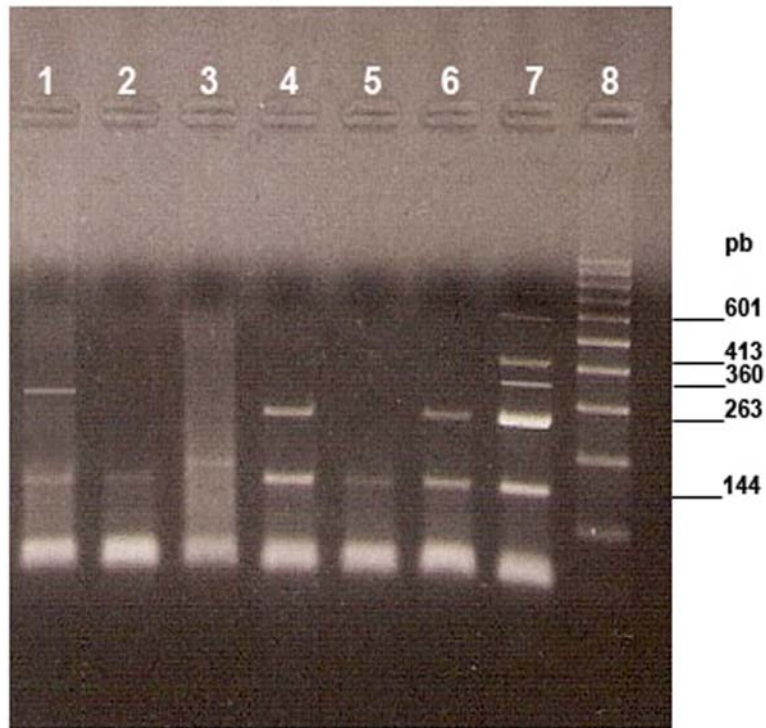
Anexo 7. Tubos eppendorf en posición invertida en la estufa.



Anexo 8. Termociclador con las muestras.



Anexo 9. Cámara de electroforesis con un gel de agarosa (2%) y cargada con muestras



Anexo 10. Resultados de la tipificación viral (Muestras de pacientes positivas)

Tipificación viral mediante RCP-Múltiple

Carriles 1-6: Muestras de pacientes positivas para la detección de VPH

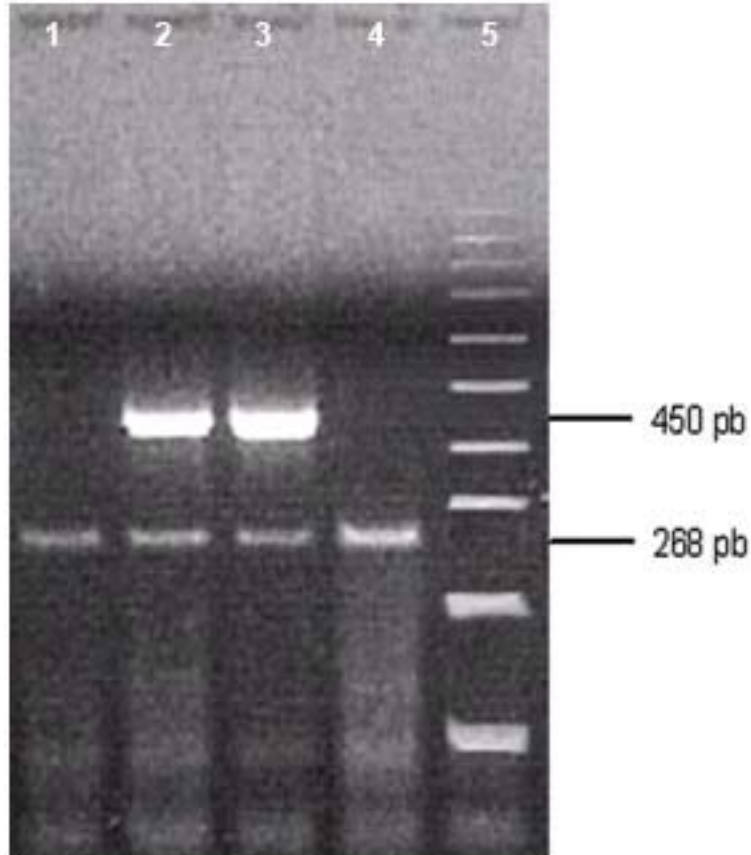
Carril 1: VPH tipos 11 y 18

Carriles 2, 3 y 5: VPH tipo 11

Carriles 4 y 6: VPH tipos 6 y 11

Carril 7: Control positivo del kit, donde se observan las bandas correspondientes a los tipos 11 (144 pb), 6 (263 pb), 18 (360 pb), 33 (413 pb) y 16 (601 pb)

Carril 8: Marcador de peso molecular (100 pb)



Anexo 11. Resultados de la tipificación viral

Detección de ADN de VPH mediante RCP con iniciadores genéricos MY09 y MY11

Carril 1: Control negativo (ADN de individuo sano)

Carril 2: Control positivo

Carril 3-4: Muestras en estudio

Carril 5: Marcador de peso molecular (100 pb)

La banda de 268pb corresponde al gen humano de β -globina utilizado como control interno, y la de 450 pb corresponde al genoma de VPH

Anexo 12. Asociación entre la edad y pacientes negativos y positivos para VPH

Edad (años)	Negativos	Positivos	Total por filas
18 a 26	6 6,45%	5 5,38%	11 11,38%
27 a 29	7 7,53%	4 4,30%	11 11,83%
30 a 39	13 13,98%	21 22,58%	34 36,56%
40 a 49	16 17,20%	8 8,60%	24 25,81%
50 a 74	8 8,60%	5 5,38%	13 13,98%
Total por columnas	50 53,76%	43 46,24%	93 100,00%

$X^2 = 5,66$ NS; $X^2_{(4;0,05)} = 9,448$

Anexo 13. Asociación entre el sexo y pacientes negativos y positivos para VPH

Sexo	Negativos	Positivos	Total por filas
Femenino	24 25,81%	21 22,58%	45 48,39%
Masculino	26 27,96%	22 23,66%	48 51,61%
Total por columnas	50 53,76%	43 46,24%	93 100,00%

$X^2 = 0,00$ NS con corrección de Yates; $X^2_{(1;0,05)} = 3,841$

Anexo 14. Asociación entre el inicio de las relaciones sexuales y pacientes negativos y positivos para VPH

Edad (años)	Negativos	Positivos	Total por filas
12 a 14	8 8,60%	5 5,38%	13 13,98%
15 a 16	15	9	24

	16,13%	9,68%	25,81%
17 a 18	17	16	33
	18,28%	17,20%	35,48%
19 a 20	7	5	12
	7,53%	5,38%	12,90%
21 a 30	3	8	11
	3,23%	8,60%	11,83%
Total por columnas	50	43	93
	53,76%	46,24%	100,00%

$\chi^2 = 4,33$ NS; $\chi^2_{(4;0,05)} = 9,448$

Anexo 15. Asociación entre el número de parejas y pacientes negativos y positivos para VPH

Parejas (número)	Negativos	Positivos	Total por filas
1	15	11	26
	16,13%	11,83%	27,96%
2	7	7	14
	7,53%	7,53%	15,05%
3 a 4	9	6	15
	9,68%	6,45%	16,13%
5 a 7	7	10	17
	7,53%	10,75%	18,28%
8 o más	12	9	21
	12,90%	9,68%	22,58%
Total por columnas	50	43	93
	53,76%	46,24%	100,00%

$\chi^2 = 1,66$ NS; $\chi^2_{(4;0,05)} = 9,448$

Anexo 16. Asociación entre el hábito de fumar cigarrillo y pacientes negativos y positivos para VPH

Fuma	Negativos	Positivos	Total por filas
Si	8	7	15
	8,60%	7,53%	16,13%
No	42	36	78
	45,16%	38,71%	83,87%
Total por columnas	50	43	93
	53,76%	46,24%	100,00%

$\chi^2 = 0,00$ NS con corrección de Yates; $\chi^2_{(1;0,05)} = 3,841$

Anexo 17. Asociación entre la ingesta de alcohol y pacientes negativos y positivos para VPH

Consume Alcohol	Negativos	Positivos	Total por filas
Si	34 36,56%	35 37,63%	69 74,19%
No	16 17,20%	8 8,60%	24 25,81%
Total por columnas	50 53,76%	43 46,24%	93 100,00%

$X^2 = 1,52$ NS con corrección de Yates; $X^2_{(1;0,05)} = 3,841$

Anexo 18. Asociación entre el consumo de café y pacientes negativos y positivos para VPH

Consume Café	Negativos	Positivos	Total por filas
Si	44 47,31%	29 31,18%	73 78,49%
No	6 6,45%	14 15,05%	20 21,51%
Total por columnas	50 53,76%	43 46,24%	93 100,00%

$X^2 = 4,63$ * con corrección de Yates; $X^2_{(1;0,05)} = 3,841$

Anexo 19. Asociación entre la primera menstruación y pacientes negativos y positivos para VPH

Primera menstruación	Negativos	Positivos	Total por filas
8 - 11	13 28,89%	7 15,56%	20 44,44%
12 - 13	11 24,44%	14 31,11%	25 55,56%
Total por columnas	24 53,33%	21 46,67%	45 100,00%

$X^2 = 1,22$ NS con corrección de Yates; $X^2_{(1;0,05)} = 3,841$

Anexo 20. Asociación entre el número de hijos y pacientes negativos y positivos para VPH

Número de hijos	Negativos	Positivos	Total por filas
0 - 1	5 11,11%	5 11,11%	10 22,22%
2 - 3	13	8	21

	28,89%	17,78%	46,67%
4 - 7	6	8	14
	13,33%	17,78%	31,11%
Total por columnas	24	21	45
	53,33%	46,67%	100,00%

$X^2 = 1,28$ NS con corrección de Yates; $X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 21. Asociación entre el número de abortos y pacientes negativos y positivos para VPH

Número de abortos	Negativos	Positivos	Total por filas
0	14	11	25
	31,11%	24,44%	55,56%
1 - 2	10	10	20
	22,22%	22,22%	44,44%
Total por columnas	24	21	45
	53,33%	46,67%	100,00%

$X^2 = 0,01$ NS con corrección de Yates; $X^2_{(1;0,05)} = 3,841$

Anexo 22. Asociación entre el primer embarazo y pacientes negativos y positivos para VPH

Primer embarazo	Negativos	Positivos	Total por filas
13 - 17	4	6	10
	9,52%	14,29%	23,81%
18 - 20	11	5	16
	26,19%	11,90%	38,10%
21 - 39	7	9	16
	16,67%	21,43%	38,10%
Total por columnas	22	20	42
	52,38%	47,62%	100,00%

$X^2 = 2,81$ NS con corrección de Yates; $X^2_{(2;0,05)} = 5,991$

Anexo 23. Factores de riesgo en la población evaluada y su relación con la presencia de la infección por VPH.

Variable	X^2 experimental	X^2 teórico	Significancia
Edad	5,66	9,448 (4;0,05)	NS
Sexo	0,00	3,841 (1;0,05)	NS
Inicio De Relaciones Sexuales	4,33	9,448 (4;0,05)	NS
Numero De Parejas	1,66	9,448 (4;0,05)	NS
Fuma	0,00	3,841 (1;0,05)	NS
Alcohol	1,52	3,841 (1;0,05)	NS
Café	4,63	3,841 (1;0,05)	*

1era. Menstruación	1,22	3,841 (1;0,05)	NS
Numero De Hijos	1,28	5,991 (2;0,05)	NS
Numero De Abortos	0,01	3,841 (1;0,05)	NS
1er. Embarazo	2,81	5,991 (2;0,05)	NS

* Significativo ($p < 0,05$); NS: no significativo.

Anexo 24. Relación de los resultados histopatológicos, citológicos, colposcópicos con los de biología molecular en las mujeres evaluadas.

Nro. De Casos (%)	Biopsia	Citología	Colposcopia	PCR
4 (7,84%)	VPH	LIEag	Normal	Negativo
2 (3,92%)	VPH	LIEbg	Normal	Negativo
2 (3,92%)	VPH	LIEbg	C. P. B.	Negativo
2 (3,92%)	VPH	LIEbg	Normal	VPH tipos 6, 11
2 (3,92%)	VPH	LIEbg	C. P. R.	Negativo
1 (1,96%)	VPH	LIEbg	No	Negativo
1 (1,96%)	VPH	LIEag	Normal	VPH tipos 6, 11
1 (1,96%)	VPH	LIEbg	(EBA)L. A. y P.	VPH tipos 6, 11
1 (1,96%)	VPH	LIEbg	(EBA) Base 12	VPH tipos 6, 11
1 (1,96%)	VPH	LIEbg	(EBA) Base7.Canal	VPH tipo 11
1 (1,96%)	VPH	LIEbg	Normal	Sin ADN
1 (1,96%)	VPH	A. S. VPH	(EBA) Base 3-4 Ext	Negativo
1 (1,96%)	VPH	C. C. B.	(EBA) Base 6 y 12	Negativo
1 (1,96%)	NIC II VPH	LIEbg	Normal	VPH tipo 11
1 (1,96%)	VPH	A. S. VPH	No	VPH tipos 6, 11
1 (1,96%)	VPH	C. C. B.	Normal	VPH tipo 6
1 (1,96%)	NIC II VPH	LIEag	No	Negativo
1 (1,96%)	VPH	LIEag VPH	No	VPH tipos 6, 11
1 (1,96%)	NICIII VPH	LIEag	Rec. Base 1 y 2	Negativo
1 (1,96%)	VPH	LIEbg VPH	Rec. Base 10-12	VPH tipos 11, 18
1 (1,96%)	NIC I VPH	LIEbg	Atipia Base 12	VPH tipo 11
1 (1,96%)	VPH	LIEbg	No	VPH tipo 11
1 (1,96%)	NIC I VPH	LIEbg	Normal	Negativo

1 (1,96%)	VPH	LIEbg	Atipia Base 11-1	Negativo
1 (1,96%)	NIC II VPH	C. C. B.	Rec. Base 3, 9-11	Negativo

Continuación:

1 (1,96%)	VPH	C. C. B.	C. P. R.	Material Insuf.
1 (1,96%)	NIC I VPH	Bacterias	C. P. R.	Negativo
1 (1,96%)	VPH	C. C. B.	M.Base 3, 9-11	Negativo
1 (1,96%)	VPH	LIEbg	(EBA) Periorif.	VPH tipos 6, 11
1 (1,96%)	NIC I VPH	LIEbg	(EBA) Base10-11	Negativo
1 (1,96%)	VPH	C. C. B.	Normal	Negativo
1 (1,96%)	VPH	LIEbg	(EBA) Base 1, 2-3	Negativo
1 (1,96%)	VPH	LIEbg	No	VPH tipos 6, 11
1 (1,96%)	NIC I VPH	C. C. B.	Normal	Negativo
1 (1,96%)	VPH	LIEbg	(EBA) Base 11	Negativo
1 (1,96%)	VPH	Bacterias	(EBA) Base 11	Negativo
1 (1,96%)	VPH	LIEbg	Atipia Base 3-10	VPH tipos 6, 11
1 (1,96%)	VPH	Bacterias	Normal	Negativo
1 (1,96%)	NIC I VPH	Bacterias	Atipia Periorif.	Negativo
1 (1,96%)	NIC III VPH	LIEbg VPH	No	VPH tipo 11
1 (1,96%)	VPH	Bacterias	No	Negativo
1 (1,96%)	NIC I VPH	LIEbg VPH	No	VPH tipos 6, 11
1 (1,96%)	VPH	LIEbg	No	VPH tipos 6, 11
1 (1,96%)	NIC III VPH	Carc. Cel.	(EBA) Base 3-9	VPH tipos 6, 11, 18

LIEbg = Lesiones Intraepiteliales Escamosas de Bajo Grado; **EBA** = Epitelio Blanco al Acético; **LIEag** = Lesiones Intraepiteliales Escamosas de Alto Grado; **NIC** = Neoplasia Intraepitelial Cervical; **A. S. VPH** = Atipia sugestiva para VPH; **C. C. B.** = Cambios Celulares Benignos; **Carc. Cel.** = Carcinoma Celular; **C. P. B.** = Colpitis a Puntos Blancos; **C. P. R.** = Colpitis a Puntos Rojos; **L. A y P.** = Labio Anterior y Posterior; **Rec.** = Recuadrado; **M. Base** = Mosaico en Base; **Periorif.** = Periorificiaria.

Hoja de Metadatos

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	Detección de virus del papiloma humano en mujeres y sus parejas sexuales
---------------	--

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
MARTÍNEZ M. IVETTE C.	CVLAC	
	e-mail	ivettecarolina3@hotmail.com
	e-mail	ivettecarolina10@yahoo.com
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

PAPILOMA, VIRUS, CÁNCER, PCR, SEXUALIDAD, FACTORES DE RIESGO, CARGA VIRAL.
CONDILOMA, VPH, GENOTIPIFICACIÓN, PAREJAS SEXUALES, DIAGNÓSTICO MOLECULAR, ADN.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencia	BIOANÁLISIS

Resumen (abstract):

Se evaluó el genotipaje del virus papiloma humano en mujeres y sus parejas sexuales en pacientes que asistieron a la consulta de Patología Cervical del Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (SAHUAPA), Cumaná, estado Sucre, durante el período agosto de 2006 hasta abril de 2007. Una cantidad significativa de reportes sugieren la existencia de tipos específicos de virus del papiloma humano (VPH) como causales primarios en la patogénesis de las lesiones precursoras del cáncer de cuello uterino. En este estudio, realizado en la ciudad de Cumaná utilizando para la tipificación el Kit de Multiplex PCR de Maxim Biotech que detectó simultáneamente 5 genotipos en un mismo tubo de reacción; genotipos 6 (263 pb) y 11 (144 pb) de bajo riesgo oncogénico y los genotipos 16 (601 pb), 18 (360 pb) y 33 (413 pb) de alto riesgo oncogénico, se encontraron en los pacientes evaluados: 3 genotipos de VPH: 6, 11 y 18, siendo el más común el VPH genotipo 11. En total, de 102 pacientes evaluados hubo 23 hombres y 20 mujeres infectados (42,16%); en cuanto a los resultados negativos: 29 mujeres y 21 hombres (49,02%), los nueve pacientes restantes (8,82%) son casos sin determinar por material insuficiente o degradación del producto amplificado. La mayoría de las infecciones virales con 2 ó más genotipos fueron solo observados en mujeres. Se encontró también una prevalencia mayor de la infección viral de 14 parejas (33,33%), donde la mujer era negativa y el hombre positivo. En cuanto a los resultados de amplificación y los encontrados en biopsias, citología y colposcopias, los mismos no fueron concordantes. Con respecto a los factores de riesgo solo el consumo de café resultó ser estadísticamente significativo ($p > 0,05$). Se concluyó que el VPH genotipo 18 y las combinaciones de dos o más genotipos virales fueron encontradas exclusivamente en mujeres, mientras los VPH de bajo riesgo genotipo 6 y 11 tanto en hombres como en mujeres.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
CORRENTI MARÍA	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2009	01	29

Lenguaje: SPA _____

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_ICMM	word

Alcance:

Espacial : Cumaná, estado sucre (Opcional)

Temporal: 2007 – 2008 (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciada en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio: Virología

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso –
5/5

Derechos:

YO, IVETTE CAROLINA MARTINEZ MILLAN, AUTORIZO
A LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE A LA PUBLICACION
DEL RESUMEN DEL TRABAJO DE GRADO TITULADO:
"DETECCION DE VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN
MUJERES Y SUS PAREJAS SEXUALES" SOLO CON FINES
EDUCATIVOS Y CIENTIFICOS.-



AUTOR 1



AUTOR 2



AUTOR 3



TUTOR



JURADO 1



JURADO 2

POR LA SUBCOMISION DE TESIS:

