

Prevalencia de Papilomavirus Humano en trabajadoras sexuales atendidas en dos centros de salud de Chiclayo

Prevalence of Human Papillomavirus in sex workers treated in two health centers of Chiclayo

Luis M. Serquén-López^{1,a}; Sebastian A. Iglesias-Osores^{2,a}; Zhandra L. Arce-Gil^{3,a}.

RESUMEN

Objetivo: Determinar la frecuencia de Papilomavirus en trabajadoras sexuales atendidas en dos centros de salud de Chiclayo entre los meses de octubre a diciembre del 2016. **El estudio:** estudio descriptivo de corte transversal. **Hallazgos:** se procesaron 74 muestras del área cervical de mujeres atendidas en los centros de salud José Olaya y La Victoria Sector II, entre los meses de octubre a diciembre, se les realizó despistaje de VPH, utilizando la técnica molecular de PCR, se realizó el llenado de una ficha de registro. **Resultados:** el PCR detectó 17 (23%) muestras positivas para PVH. De estas 23,5% pertenecieron al centro de salud de La Victoria Sector II y el 76,5% al centro de salud de José Olaya. **Conclusiones:** mujeres trabajadoras sexuales presentaron alta frecuencia de casos VPH-positivos a quienes se debe incluir en programas de tamizaje con métodos moleculares y citológicos combinados, a fin de detectar oportunamente el riesgo de desarrollar cáncer de cuello uterino.

Palabras clave: Infecciones por Papillomavirus, Reacción en Cadena de la Polimerasa, Neoplasias del Cuello Uterino. (Fuente: DeCS-BIREME).

ABSTRACT

Objective: Determine the frequency of Papillomavirus in sex workers attended at two health centers in Chiclayo between October and December 2016. **The study:** Descriptive cross-sectional study. **Findings:** 74 samples of the cervical area of women treated in The health centers José Olaya and La Victoria Sector II, from October to December, HPV screening was performed using the molecular PCR technique. A registration form was filled out. The PCR detected 17 (23%) samples positive for HPV. Of these, 23.5% belonged to the health center of La Victoria Sector II and 76.5% to the health center of José Olaya. **Conclusions:** women sex workers had high frequency of HPV-positive cases who should be included in screening programs with combined molecular and cytological methods, to detect the risk of developing cervical cancer in a timely manner.

Keywords: Papillomavirus Infections, Polymerase chain reaction, Uterine Cervical Neoplasms (Source: DeCS-BIREME).

INTRODUCCIÓN

El cáncer de cérvix (CC) es la segunda neoplasia más frecuente y causa de muerte por cáncer en mujeres en todo el mundo, y más frecuente en países en desarrollo^(1,2). Los países en desarrollo se ven afectados en manera desmedida por cánceres asociados a agentes infecciosos, como es el caso del Virus Papiloma Humano (VPH), se dice que los nuevos casos diagnosticados de cáncer aumentarán en 60% en países en desarrollo debido a las mejoras en la calidad de vida⁽³⁾.

Estudios moleculares y epidemiológicos sostiene la asociación entre el ADN del Virus Papiloma Humano (VPH) de alto riesgo y carcinomas cervicales presentes en el 95% al 100% de muestras de CC^(1,4,5). Los VPH infectan las células epiteliales y causan una variedad de lesiones, desde verrugas hasta neoplasias malignas cervicales, anales y orales⁽⁶⁾. El VPH se clasifica en más de 100 genotipos según la secuencia de su ADN siendo muchos de ellos carcinógenos cervicales. Se subdividen en genotipos de alto riesgo (AR) VPH16/18/31/33/35/39/45/52/56/58, y de bajo riesgo (BR)

1. Hospital Regional Lambayeque.

2. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

3. Universidad Santo Toribio de Mogrovejo.

a. Biólogo.

VPH/6/11/40/42/43/44/54/59/61/70/72/81(7,8). Por tal motivo el propósito del estudio fue determinar la prevalencia de infección por Papilomavirus Humano y sus factores asociados en pacientes trabajadoras sexuales, admitidas en dos centros de salud de la ciudad de Chiclayo mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa.

EL ESTUDIO

El diseño de estudio fue descriptivo, de corte transversal y prospectivo. Se recolectaron datos generales de los todos los pacientes que accedieron al estudio de los centros de salud José Olaya y La Victoria Sector-II, las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Biología Molecular del Hospital Regional Lambayeque-Chiclayo, durante los meses de octubre a diciembre del 2016. El tamaño de la muestra fue de 74 pacientes trabajadoras sexuales que fueron atendidas por medio de la Estrategia Sanitaria Prevención y Control del Cáncer. El diseño de muestreo fue aleatorio simple.

Muestras cervicales: En el año 2016 se recibieron 74 muestras de cepillados cervicales de pacientes sin diagnóstico de cáncer de cérvix (CC), que acudieron al área de gineco-obstetricia para tamizaje de Papanicolau, las muestras fueron guardadas en un tubo de centrifuga Falcon de 15ml conteniendo 2ml de buffer fosfato salino (PBS). Cada tubo fue mantenido a una temperatura entre 10-20 °C. Posteriormente fueron guardados a 4 °C y fueron remitidas al área de Biología Molecular del Hospital Regional Lambayeque, para el estudio de detección molecular.

Detección del VPH: Se realizó la extracción de ADN de las muestras empleando el método de *Salting Out* (Método precipitación salina). Se usó el vórtex para remover del cepillo y homogenizar las células, se retiró el citocepillo, la solución restante fue trasvasada a un tubo de 1.5ml para centrifugarse a 15000 RPM por 5min, se eliminó el sobrenadante, así mismo se adicionó a la muestra 450 µl de buffer de lisis, con 3µl de 2-Mercaptoetanol, se incubó por 1 hora en baño maría a 65 °C, agitando en vórtex cada 10min y se adicionó 90µl de acetato de potasio 8M pH 7, para posteriormente centrifugar a 12000 RPM por 5min, se recuperó el sobrenadante en otro tubo de 1,5ml (fue repetido dos veces). Se realizó la amplificación del ADN mediante técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), utilizando los primers degenerados MY09/11(9) que amplificaron un fragmento de 450 pares de bases (pb) del gen VPH L1 con el cebador directo MY09 (CGTCCMARRGGAWACTGATC) y el cebador inverso MY11 (GCMCAGGGWCATAAATGG)(10), y se usó el gen de la β-globina (BGH) como control interno para verificar si había presencia de ADN amplificable humano, que corresponde a una banda de 268 pb⁽¹¹⁾. Para precipitar la muestra se añadió 450µl de isopropanol y se centrifugó

12000 RPM/5min, eliminando el sobrenadante. Se lavó con 450µl de etanol al 70% y se centrifugó a 12000 rpm/5min, se resuspendió la muestra en 25µl de H₂O grado molecular, realizándose después la corrida electroforética en geles de agarosa al 2% usando un marcador de peso molecular y coloreándose durante 10 minutos bromuro de etidio para luego visualizarse en un escáner Molecular Imager PharoFX de Bio-rad.

Clasificación: Los genotipos amplificables de VPH por la enzima MY09/11 son los siguientes: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 66, 68, 73, 82, 83, 84⁽¹²⁾.

Consideraciones Éticas: La información obtenida se mantuvo en completa confidencialidad. El proyecto del estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo.

HALLAZGOS

Un total de 74 mujeres trabajadoras sexuales fueron evaluadas, con un rango de 18 a 52 años edad, con una media de 25. De estas 17 (23%) resultaron positivas para la presencia de VPH con la técnica de PCR. De estas 23,5% pertenecieron al Centro de Salud de La Victoria Sector II y el 76,5% al Centro de Salud de José Olaya. Un 64,4% de las participantes en este estudio se realizaban sus exámenes de PAP anualmente; 97,2% utilizaban preservativo durante el acto sexual; el 49,3 % utilizaba a la vez otro método anticonceptivo como el de la inyección hormonal, el 18,1 % indicó que fumaba de 1 a 3 cigarrillos diarios, el mismo porcentaje indicó también que consumía alcohol de manera frecuente; finalmente el máximo número de hijos fue 3 y todas tenían grado de instrucción secundario.

DISCUSIÓN

La citología (PAP) es el método más utilizado en nuestros centros de salud para la detección del VPH, por ser de bajo costo en comparación con la técnica del PCR y el PAP presenta una sensibilidad del 51% y una especificidad del 98%, atribuyéndosele los diagnósticos falsos negativos a errores en la interpretación de la lámina o a la calidad en la preparación de esta⁽¹³⁾. Las pruebas utilizando la PCR para detectar ADN del VPH son más precisas, sensibles y específicas en la detección de lesiones premalignas y han demostrado su utilidad en la disminución tanto de la mortalidad como de la morbilidad por cáncer cervicouterino⁽¹⁴⁾. En los últimos años se ha desarrollado la técnica de biología molecular Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), muy específica y sensible, para la detección y tipificación del VPH, que es capaz de detectar entre 10 y 200 copias de genoma viral por muestra, así como los marcadores E6/E7^(15,16). Esta técnica es capaz de detectar la presencia del ADN viral diana incluso en

pequeñas cantidades de muestra, por el contrario, el análisis histopatológico busca determinar la presencia de lesiones más allá de si éstas se encuentran asociadas o no al VPH.

En un estudio en mujeres de Haití se examinaron 1845 muestras, en donde 446 fueron positivas para VPH⁽¹⁷⁾. El ADN del VPH se detectó en 95% de las mujeres peruanas con carcinoma de células escamosas y en 92% de las mujeres con adenocarcinoma comparado con el 18% del control⁽¹⁸⁾. En el Perú se ha reportado una prevalencia de papiloma virus de hasta tres veces mayor en trabajadoras sexuales de 36 a 46% en comparación con el resto de mujeres que va de un 5 a 35%⁽¹⁹⁾ superior al 23% encontrado en este estudio.

En el año 2014, en el Perú se realizó un trabajo en mujeres jóvenes (17 a 29 años) provenientes de diferentes áreas urbanas en donde se demostró la alta prevalencia de virus del papiloma de alto riesgo (HR-HPV) en muestras cervicales, detectando hasta 12 genotipos, incluyendo el 16 y 18, de 2247 muestras, resultaron positivas 775 (34,49%)⁽²⁰⁾, a futuro se recomendaría realizar la genotipificación de las muestras positivas a papilomavirus para conocer la epidemiología de esta infección de transmisión sexual.

Los cánceres generalmente surgen en personas que no logran redimir su infección durante años o décadas. En la mayoría de los individuos, la regresión inmune finalmente conduce a la eliminación del virus, o a su mantenimiento en un estado latente o asintomático en las células basales⁽⁶⁾.

Si bien es cierto el tamaño de muestra en el presente trabajo es pequeño, consideramos que ese 23% de mujeres positivas al Virus del Papiloma Humano es importante por tratarse de una población de alto riesgo. Siendo una limitación importante en nuestro estudio el no haber realizado la genotipificación de las muestras para los tipos 16 y 18 del Virus Papiloma Humano de alto riesgo y un bajo número de muestra.

A futuro se deberán realizar más trabajos en este tipo de población o con sus parejas en donde se puedan incluir factores asociados de infección como el despistaje de infección de transmisión sexual.

Agradecimiento: Agradecemos a Fernando García Bracamonte, Gianella Ayala Abad, Anshelith Reátegui Zuloeta, Claudia Rufasto Ñañez por el apoyo dado a esta investigación.

Conflictos de interés: Los autores niegan conflictos de interés.

Financiamiento: Autofinanciado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bosch FX, de Sanjose S. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer--burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003;(31):3-13.
2. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015;65(2):87-108. doi:10.3322/caac.21262
3. Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol biomarkers Prev.* 2010;19(8):1893-1907. doi:10.1158/1055-9965.EPI-10-0437
4. Burd E. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16(1):1-17. doi:10.1016/S0968-8080(00)90259-3
5. Schiffman M, Wentzensen N, Wacholder S, Kinney W, Gage JC, Castle PE. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2011;103(5):368-383. doi:10.1093/jnci/djq562
6. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci.* 2006;110(5):525-541. doi:10.1042/CS20050369
7. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Biological agents. Volume 100 B. A review of human carcinogens. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2012;100(Pt B):1-441.
8. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, et al. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *N Engl J Med.* 2003;348(6):518-527. doi:10.1056/NEJMoa021641
9. Gravitt PE, Peyton CL, Alessi TQ, et al. Improved Amplification of Genital Human Papillomaviruses Improved Amplification of Genital Human Papillomaviruses. 2000;38(1):357-361. doi:PMC88724
10. Leungwutiwong P, Bamrungsak B, Jittmittraphap A, et al. Molecular Genotyping of Human Papillomavirus L1 Gene in Low-Risk and High-Risk Populations in Bangkok. *Sex Transm Dis.* 2015;42(4):208-217. doi:10.1097/OLQ.0000000000000259
11. Gravitt PE, Peyton CL, Apple RJ, Wheeler CM. Genotyping of 27 human papillomavirus types by using L1 consensus PCR products by a single-hybridization, reverse line blot detection method. *J Clin Microbiol.* 1998;36(10):3020-3027. doi:PMC105104
12. Koliopoulos G, Nyaga VN, Santesso N, et al. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;2017(8):1-120. doi:10.1002/14651858.CD008587.pub2

13. Luciani S, Winkler J, OPS. Prevención Del Cáncer Cervicouterino En El Perú: Lecciones Aprendidas Del Proyecto Demostrativo TATI.; 2006. doi:ISBN 9275326746
14. Cuzick J, Bergeron C, von Knebel Doeberitz M, et al. New technologies and procedures for cervical cancer screening. *Vaccine*. 2012; 30 (S U P P L . 5) : F 1 0 7 - F 1 1 6 . doi:10.1016/j.vaccine.2012.05.088
15. Quintero M, Bastidas M, Márquez L, Puig J. Detección y tipificación de virus del papiloma humano (VPH) mediante PCR-RFLP. *Rev Obs Ginecol Venez*. 2008;6868(11):25-31.
16. Morris BJ. Cervical human papillomavirus screening by PCR: Advantages of targeting the E6/E7 region. *Clin Chem Lab Med*. 2005;43(11):1171-1177. doi:10.1515/CCLM.2005.203
17. Boggan JC, Walmer DK, Henderson G, et al. Vaginal Self-Sampling for Human Papillomavirus Infection as a Primary Cervical Cancer Screening Tool in a Haitian Population. *Sex Transm Dis*. 2015; 42 (1 1) : 6 5 5 - 6 5 9 . doi:10.1097/OLQ.0000000000000345
18. Santos C, Muñoz N, Klug S, et al. HPV types and cofactors causing cervical cancer in Peru. *Br J Cancer*. 2001; 85 (7) : 9 6 6 - 9 7 1 . doi:10.1038/sj.bjc.6691948
19. Montano SM, Hsieh EJ, Calderon M, et al. Human papillomavirus infection in female sex workers in Lima, Peru. *Sex Transm Infect*. 2011;87(1):81-82. doi:10.1136/sti.2010.043315
20. Iwasaki R, Galvez-Philpott F, Arias-Stella J, Arias-Stella J. Prevalence of high-risk human papillomavirus by cobas 4800 HPV test in urban Peru. *Brazilian J Infect Dis*. 2014;18(5):469-472. doi:10.1016/j.bjid.2014.01.010.

Correspondencia

Sebastian A. Iglesias Osores.

Correo: siglesias@unprg.edu.pe

Revisión de pares

Recibido: 08/10/2017

Aceptado: 12/12/2017