Distribución de genotipos del virus de papiloma humano en mujeres del edo. Aragua, Venezuela.

Dr. Henry Aguiar¹, Lcdo. Fernando González², Lcdo. César Pacheco³,
Dr. Heriberto Correia⁴, Dra. Flor Herrera⁴.

RESUMEN

Objetivo: Determinar los genotipos de virus de papiloma humano presentes en mujeres del Municipio Girardot, Edo. Aragua y la relación entre *C. trachomatis*, virus de papiloma humano y cambios neoplásicos.

Métodos: Se incluyeron 184 mujeres que acudieron para tamizaje de lesiones en cuello uterino y detección molecular de virus de papiloma humano y *C. trachomatis*, en el Hospital Central de Maracay. Se realizó hisopado vaginal para la detección, por reacción en cadena de polimerasa, de ADN de virus de papiloma humano y *C. trachomatis*, y citología.

Resultados: Se obtuvieron 48 muestras positivas para virus de papiloma humano (26,1 %), 12 % con un solo tipo y 4,9 % con dos o más tipos. Se tipificaron 27 virus de alto riesgo, 18 de bajo riesgo y 17 indeterminados. Los genotipos fueron: 45 (5); 59, 57, 11 y 6 (4 cada uno); 16, 53 y 52 (3 cada uno); 58 y 26 (2 cada uno) y 73, 31, 51, 66, 68, 30, 40, 42, 43, 44 y 83 (1 cada uno). Hubo 56 muestras positivas para *C. trachomatis* (30,4 %). La citología reportó cambios en 13 muestras (5 lesiones de bajo grado, 1 de alto grado, 6 atipias de células escamosas y 1 atipia de células glandulares).

Conclusiones: Hubo relaciones estadísticas significativas entre la infección de VPH con respecto a la edad de las pacientes, pero no se encontró asociación significativa, de manera individual o conjunta, entre VPH y *C. trachomatis* y la aparición y/o progresión de lesiones neoplásicas.

Palabras clave: Virus de papiloma humano, *Chlamydia trachomatis*, Reacción en cadena de polimerasa, Genotipificación, Cáncer.

SUMMARY

Objective: To determine the genotypes of human papillomavirus present in women from Girardot Municipality, Edo. Aragua and the relationship between *C. trachomatis*, human papilloma virus and neoplastic changes.

Methods: We included 184 women who attended screening of cervical lesions and molecular detection of human papillomavirus and *C. trachomatis*, at the Central Hospital of Maracay. Vaginal swab was performed for the detection, by polymerase chain reaction, of DNA from human papilloma virus and *C. trachomatis*, and cytology.

Results: 48 positive samples were positive for human papilloma virus (26.1%), 12% with a single type and 4.9% with two or more types. We classified 27 high risk, 18 low risk and 17 undetermined viruses. The genotypes were: 45 (5); 59, 57, 11 and 6 (4 each); 16, 53 and 52 (3 each); 58 and 26 (2 each) and 73, 31, 51, 66, 68, 30, 40, 42, 43, 44 and 83 (1 each). There were 56 positive samples for *C. trachomatis* (30.4%). Cytology reported changes in 13 samples (5 low-grade lesions, 1 high-grade lesion, 6 squamous cell atypia and 1 glandular cell atypia).

Conclusions: It was statistically significant association between the presence of human papilloma virus and the patient age. However, no significant association was observed between the infections, individually or together, with human papillomavirus and *C. trachomatis* and the appearance and / or progression of neoplastic lesions

Keywords: Human papillomavirus, *Chlamydia trachomatis*, Polymerase chain reaction, Genotyping, Cancer.

INTRODUCCIÓN

La infección por el virus de papiloma humano (VPH) es la infección más común transmitida por vía sexual en las mujeres y juega un papel fundamental en el

¹Especialista en Obstetricia y Ginecología, Hospital Central Maracay, FCSSA-UC. ²Biólogo, Facultad de Ciencias de la Salud, Sede Aragua, Universidad de Carabobo (FCSSA-UC). ³Biólogo, Estudiante de la Maestría de Ciencias Biomédicas (MCB), FCSSA-UC. ⁴Dr. Biología, Profesor Titular FCSSA-UC, Investigador del BIOMED-UC.

DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO EN MUJERES DEL EDO. ARAGUA, VENEZUELA.

desarrollo de cáncer cervical, según el Informe de la Agencia Internacional para Investigación en Cáncer (*International Agency for Research on Cancer: IARC*) (1). Este tipo de cáncer ocupa el cuarto puesto de todos los cánceres de mujeres a nivel mundial, con 528 000 nuevos casos y 266 000 muertes en el año 2012. En Venezuela, últimamente, las cifras oficiales de prevalencia y proyección de la mortalidad para este tipo de patología son escasas; sin embargo, según la IARC, para el año 2012, se estimaron 4973 nuevos casos con una mortalidad de 1780 mujeres y para el año 2015 la estimación de nuevos casos se incrementó a 5313 (1).

Existen diversos tipos de VPH, clasificados de acuerdo a la capacidad de los virus de producir transformaciones celulares malignas o precancerosas en el epitelio infectado (2, 3). Así se tienen genotipos de alto riesgo (VPH-AR) (16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 y 70, 73 y 82), riesgo intermedio (VPH-IR) (26, 53, y 66) y bajo riesgo (VPH-BR) (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81). Los genotipos de alto riesgo más importantes y frecuentes a nivel mundial son 16, 18, 45, 31 y 33, los cuales son responsables de 85 % de los cánceres cervicales invasivos (4).

Sin embargo, el VPH es una causa necesaria pero no suficiente para la aparición de las neoplasias cervicales, debido a que la mayoría de las infecciones por VPH no progresan a lesiones precancerosas o neoplasias, sino que tienen una remisión espontánea por lo cual los factores de riesgo asociados presentan una gran relevancia (5). Entre estos factores se pueden mencionar: el inicio de la actividad sexual a temprana edad, la paridad precoz, multiplicidad de parejas sexuales, deficiencias culturales, higiénicas, nutricionales, socio-económicas, hábito tabáquico; además de las variables biológicas implicadas en el sexo femenino, tales como disfunciones endocrinas con su consecuente afectación hormonal, terapia prolongada con anticonceptivos hormonales, infecciones vaginales de etiología variada, así como las infecciones recurrentes o inadecuadamente tratadas (5,6). La influencia de todos estos factores en la infección por VPH y el desarrollo posterior a cáncer de cuello uterino todavía no se comprende en su totalidad.

En el caso del papel de las infecciones bacterianas vaginales comunes, en la patogénesis de VPH se presentan resultados contradictorios (7 - 9). Se sabe que estos microorganismos pueden dañar el epitelio vaginal,

degradar el moco cervical y la inmunoglobulina A y se podría considerar que estas lesiones faciliten la entrada del VPH (7-9). En el caso particular de la bacteria *Chlamydia trachomatis*, la magnitud de la asociación entre coinfecciones de *C. trachomatis* y VPH varía en estudios epidemiológicos y aún permanece controversial (7, 10-15).

En Venezuela, *Chlamydia trachomatis* es una bacteria con alta prevalencia en la población sexualmente activa, infértiles, de ambos sexos y la prevalencia disminuye en la población fértil, especialmente entre el grupo etario más joven (16, 17).

El objetivo de este trabajo fue obtener mayor información sobre la frecuencia de las infecciones de los diferentes genotipos de VPH en mujeres asintomáticas del Municipio Girardot del Estado Aragua, la asociación entre la infección por el virus y la presencia de *C. trachomatis* y la asociación entre ambas infecciones y cambios citológicos indicadores de patología.

MÉTODOS

La muestra estuvo integrada por pacientes de sexo femenino (n=184), elegidas entre voluntarias a un llamado público y abierto para un tamizaje de lesiones en el cuello uterino, realizado durante los meses de agosto de 2015 a julio de 2016 en el Hospital Central de Maracay (HCM), ubicado en el Edo. Aragua. Las pacientes firmaron un consentimiento informado, aprobado por el Comité de Bioética del Instituto de Investigaciones Biomédicas “Dr. Francisco Triana Alonso”, de la Universidad de Carabobo (BIOMED-UC). Las muestras fueron tomadas por lavado exo-endocervical y para ello, se utilizó una jeringa de 10 cc, previa colocación del espéculo, se roció el cuello con 3 cc de solución fisiológica al 0,9 %, se recogió con la misma jeringa en la valva inferior del espéculo, para luego emplear un aplicador de algodón con el fin de alcanzar el fondo de saco vaginal y el canal cervical. La solución recolectada y el aplicador se colocaron en un tubo de vidrio, el cual se refrigeró a 4 °C (muestra de lavado). Todas las muestras fueron trasladadas en hielo desde el HCM al BIOMED para la detección molecular de VPH.

Las muestras obtenidas se procesaron para extraer el ADN siguiendo el método modificado de fenol-cloroformo

y precipitación con etanol (18). La cuantificación se realizó mediante mediciones espectro-fotométricas a 260 nm, la calidad por la determinación de la relación de absorbancia 260nm/280nm y la integridad se verificó por electroforesis en gel de agarosa al 1 %.

La presencia de VPH fue detectada mediante un ensayo de reacción en cadena de polimerasa (PCR), en un volumen final de 25 µL, según el protocolo previamente optimizado en el laboratorio (19). Como control positivo se empleó VPH 18, identificado en el BIOMED. En todos los ensayos se amplificó una secuencia del gen HLA (antígeno leucocitario humano) como control interno. El producto de PCR se refrigeró a 4 °C hasta su posterior utilización. La positividad del ensayo se consideró en función de la presencia de una secuencia con un tamaño de 450 pb, correspondiente a una región altamente conservada del gen L1 viral. La genotipificación se realizó por la técnica de hibridación específica para cada genotipo y revelado por quimioluminiscencia de acuerdo al protocolo publicado (20).

Con el fin de realizar el análisis estadístico se elaboró una base de datos en formato .xls, de Microsoft Excel®, que posteriormente se exportó al paquete estadístico IBM SPSS Statistics® versión 23.0.0.0 para Windows® (21)

y OpenEpi® para Windows® (22). Se realizó un análisis descriptivo usando para ello la clasificación básica en variables cualitativas y cuantitativas. A las cualitativas se les calculó la frecuencia absoluta y relativa. A las variables cuantitativas se les calculó los estadísticos de tendencia central (frecuencia, media, moda, desviación estándar o típica).

Con la finalidad de la comparación y obtención de relación de dependencia entre el resultado y genotipificación del VPH, *C. trachomatis* y los hallazgos anatomo-patológicos, así como los epidemiológicos obtenidos, se usó el test Chi-cuadrado como test de independencia/homogeneidad. En aquellas tablas donde el uso de Chi cuadrado no tenía validez, se usó el test T de Student y el coeficiente de contingencia.

RESULTADOS

Se procesaron 184 muestras de mujeres cuya procedencia fue la siguiente: 127 (69 %) del municipio Girardot, 53 (28,8 %) de otros municipios del estado Aragua y 4 (2,2 %) de otras localizaciones, fuera del estado. La prevalencia de *C. trachomatis* fue de 56 (30,4%) pacientes infectadas mientras que la prevalencia de VPH fue 48 pacientes (26,1 %). La tabla 1, muestra

Tabla 1
Características sociales de las pacientes

Características	Total= 184	VPH + (n=48)	VPH – (n= 136)	p	<i>C. trachomatis</i> + (n=56)	<i>C. trachomatis</i> – (n=128)	p
Edad (años)				0,02			0,41
Media	40 (14-76)						
14-17: n (%)	5 (2,7)	4	1		1	4	
18-39: n (%)	80 (43,5)	23	57		19	61	
40-59: n (%)	86 (46,7)	20	66		29	57	
> 60: n (%)	13 (7,1)	1	12		7	6	
Inicio actividad sexual				0,31			0,94
≤ 18: n (%)	73	22 (30,1)	51 (69,8)		22 (30,1)	51 (69,9)	
>18: n (%)	111	26 (23,4)	85 (76,6)		34 (30,6)	77 (69,4)	
Nº parejas sexuales				0,55			0,98
Media	3						
≤ 2: n (%)	89	25 (28,1)	64 (71,9)		27 (30,3)	62 (69,7)	
>2: n (%)	95	23 (24,2)	72 (75,8)		29 (30,5)	66 (69,5)	
Antecedentes familiares de cáncer				0,05			0,6
No: n (%)	120	28 (23,3)	92 (76,7)		37 (30,8)	83 (69,2)	
Cuello uterino: n (%)	18	9 (50)	9 (50)		7 (38,9)	11 (61,1)	
Otro: n (%)	46	11 (23,9)	35 (76,1)		12 (26,1)	34 (73,9)	
Antecedentes de infección de VPH				0,94			0,18
No: n (%)	154	40 (26)	114 (74)		50 (32,5)	104 (67,5)	
Si: n (%)	30	8 (26,7)	22 (73,3)		6 (20)	24 (80)	

VPH: Virus de papiloma humano

DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO
EN MUJERES DEL EDO. ARAGUA, VENEZUELA.

las características sociales de las pacientes y se observa, con significancia estadística, que la infección por VPH es mayor en las mujeres con edades entre 18-59 años. Al analizar los antecedentes familiares de cáncer de cuello uterino con respecto a la infección por VPH, se encontró igualdad de resultados con o sin infección, sin embargo, para otros tipos de cáncer (gástrico, próstata, mama, entre otros), el resultado fue dispar (35 negativos para VPH contra 11 positivos) ($p= 0,05$). Con respecto a las otras características (inicio de la actividad sexual y número de parejas sexuales), no hubo diferencia significativa entre pacientes con y sin VPH. Ninguno de los resultados obtenidos con la infección de la bacteria *Chlamydia trachomatis* tuvo significancia estadística.

La genotipificación de las muestras positivas para VPH por el método de hibridación (Tablas 2 y 3), mostró la existencia de genotipos de alto (14,7 %) y bajo (9,8 %) riesgo con diferentes frecuencias absolutas que varían desde 2,7 % hasta 0,5 % y es esta última, la que presentan la mayoría de los genotipos. Hubo 22 mujeres con una sola infección (12 %), 9 (4,9 %) con dos o más infecciones. También, se evidenció un número importante de muestras positivas a VPH con genotipo indeterminado, 17 casos (9,2 %).

Tabla 2
Frecuencia de los genotipos de virus de papiloma humano de alto riesgo

Genotipo de virus de papiloma humano de alto riesgo	n (%)
VPH-AR	27 (14,7)
45	5 (2,7)
59	4 (2,2)
52	3 (1,6)
16	3 (1,6)
58	2 (1,1)
73	1 (0,5)
31	1 (0,5)
51	1 (0,5)
68	1 (0,5)
Probable VPH-AR	
53	3 (1,6)
26	2 (1,1)
66	1 (0,5)

VPH-AR: Genotipos de VPH de alto riesgo.

Tabla 3
Frecuencia de los genotipos de virus de papiloma humano de bajo riesgo.

Genotipo de virus de papiloma humano de bajo riesgo	n (%)
VPH-BR	18 (9,8)
6	4 (2,2)
11	4 (2,2)
57	4 (2,2)
83	1 (0,5)
30	1 (0,5)
42	1 (0,5)
40	1 (0,5)
43	1 (0,5)
44	1 (0,5)

VPH-BR: Genotipos de VPH de bajo riesgo

Las infecciones solamente por VPH o *C. trachomatis* o con los dos microorganismos simultáneamente no mostraron asociación con los cambios citológicos (Tabla 4).

Tabla 4
Relación entre presencia de virus de papiloma humano, *C. trachomatis* y citología

Citología	Frecuencia (%)	VPH +	p	<i>C. trachomatis</i> +	p
Normal	166 (90,2)	44	0,33	48	0,49
LIEBG*	5 (2,7)	2		2	
LIEAG**	1 (0,5)	1		0	
ASCUS***	6 (3,3)	1		3	
AGUS****	1 (0,5)	0		0	
No realizada	5 (2,7)	0		3	

*Lesión intraepitelial cervical de bajo grado, **Lesión intraepitelial cervical de alto grado, ***atipias escamosas de significado indeterminado, ****atipias glandulares de significado indeterminado.

DISCUSIÓN

Existe una íntima relación entre el desarrollo neoplásico de lesiones en el cuello uterino y la presencia

de VPH (23 - 26). Sin embargo, la presencia del virus es condición necesaria pero no suficiente para el progreso de estas lesiones, de allí que se requiere el manejo multifactorial y la aplicación de varias pruebas diagnósticas para su estudio (24). La prevalencia de la infección por VPH, se estimó en 26,1 %, lo cual concuerda con un metanálisis, que integró estudios de 59 países, con la participación de más de un millón de mujeres con citologías normales y el cual mostró que globalmente, 11,7 % de las mujeres con citología normal están infectadas con VPH, sin embargo, este número varía de acuerdo a las regiones geográficas y para Latinoamérica es de 41,9 % o menos (25).

Con respecto a las características sociales de las pacientes, se evidenció que la edad tiene una asociación significativa con la presencia de VPH. La mayoría de las infecciones se hallaron en mujeres mayores de 18 años y lo cual, aparentemente, se debe a la rápida respuesta de un sistema inmune eficiente en mujeres jóvenes que permite la eliminación del virus (27), aunque el número de mujeres menores a 18 años fue solo de 5, lo cual representa de forma débil a este grupo. Otros estudios han señalado que la prevalencia de VPH en mujeres mayores está asociada con el estado menopáusico, lo cual implicaría alguna interacción hormonal con el ciclo de vida del VPH (28). También se encontró asociación significativa entre la presencia de VPH con los antecedentes de familiar con cáncer, pero específicamente no de cáncer de cuello uterino. Esto indica la existencia de factores genéticos-hereditarios que representan factores de riesgo en las pacientes, como ya se ha reportado globalmente (29).

La prevalencia de genotipos de VPH en mujeres sanas, por otra parte, mostró un comportamiento distinto a reportes previos, en los cuales los genotipos de alto riesgo más frecuentes son el 16 y el 18 con una prevalencia global de 3,2 % y 1,4 % respectivamente (25). En este trabajo, no hubo ningún genotipo 18 y la frecuencia del genotipo 16 fue más baja (1,6 %) que la reportada a nivel mundial. Asimismo, se observó una variedad de otros genotipos de VPH-AR, incluso unos más importantes que el 16 como el 45 y el 59 con frecuencias de 2,7 % y 2,2 %, respectivamente. También se evidenció la presencia de un número importante de genotipos que no fueron identificados porque no estaban representados en la batería de oligonucleótidos utilizados en la membrana de hibridización. Esto

significa que dichos genotipos, probablemente, sean de VPH-BR, porque todos los VPH-AR estaban presentes.

Estos datos también son diferentes a los de un trabajo previo realizado por este grupo, en mujeres sanas del Municipio Francisco Linares Alcántara, en el cual se obtuvo como genotipo principal el 16 con una frecuencia de 5,6 % y al genotipo 18 en 1 % (19). Esto sugeriría que el patrón de genotipos puede variar de una localidad a otra dentro de un mismo estado o de una época a otra, porque hay una diferencia de tres años en la toma de muestra entre las investigaciones.

Asimismo, en otro estudio realizado en Caracas, en hombres y mujeres aparentemente sanos pero referidos por un especialista a realizarse un examen de detección de VPH, se encontró que, en las mujeres, el genotipo 16 fue el segundo más importante con una frecuencia más alta del promedio global (6,6 %) y en los hombres se presentó el genotipo 18 en un buen porcentaje (30). No obstante, también hubo similitud con el presente trabajo en que se detectó en las mujeres, el genotipo 45 con una frecuencia de 2,1 %, similar a la aquí reportada. Esto refuerza la idea de que la distribución de genotipos varía de acuerdo a la zona del país estudiada (31).

Los resultados obtenidos en este trabajo con el genotipo 45 hay que verlos con atención ya que 94 % de los adenocarcinomas cervicales presentan los genotipos 16, 18 o 45 (4, 23, 32). Sin embargo, la prevalencia global del genotipo 45 en mujeres con citología normal es más baja (0,4 %) que la del 16 o 18 pero en el presente trabajo, la prevalencia está aumentada 6 veces (2,4 % / 0,4 %). Sería recomendable continuar este estudio en pacientes venezolanas con adenocarcinomas cervicales, para ver si este genotipo es uno de los predominantes. Además, se debería hacer un monitoreo constante en pacientes con este genotipo, tal cual como se recomienda para los genotipos 16 y 18, de tal manera de prevenir el desarrollo de lesiones y cáncer.

Estos datos también tienen diferencias y semejanzas con otro estudio realizado en la Región Central del país (sobre todo el estado Carabobo) entre 1999 y 2009, con 24 734 pacientes que presentaban hallazgos clínico-ginecológico y/o cito-histológicos de sospecha de infección por VPH (33). El análisis de estos resultados indica que el genotipo 45, el primero en frecuencia en mujeres sanas del edo. Aragua, también fue relevante

DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO EN MUJERES DEL EDO. ARAGUA, VENEZUELA.

en mujeres con sospecha de anomalías en las células cervicales y asimismo fue más frecuente que el VPH 16. Con respecto a otros genotipos de VPH-AR, se evidenciaron frecuencias muy distintas entre ambas poblaciones, como el VPH 31 con 7,2 % en el edo. Carabobo y solo 0,5 % en el edo. Aragua. Asimismo, los VPH 33 y 35 se encontraron en Carabobo con frecuencias de 3,3 % y 2,2 %, respectivamente. Esto es similar a lo señalado previamente en relación a que el patrón de genotipos puede variar de acuerdo a la localidad estudiada.

Con respecto a los genotipos de bajo riesgo, los más importantes fueron el 57, el 6 y el 11 con una frecuencia de 2,2 % cada uno. Tampoco los valores de los genotipos 6 y 11 concuerdan con los reportados a nivel mundial los cuales son menos de 1 % y el valor del genotipo 57 no pudo ser comparado porque ni siquiera es referido globalmente (25). Estos resultados también sugieren que la distribución de los genotipos de bajo riesgo depende del área de estudio.

Hubo presencia de múltiples genotipos en 4,9 % de las mujeres participantes en el estudio. Esta frecuencia está en el rango de varios reportes realizados con mujeres sin problemas aparentes e incluso con citologías anormales y con edades entre 30 y 50 años (34). Estudios solo con mujeres más jóvenes (18 - 25 años) o con lesiones neoplásicas, indicaron una prevalencia mayor (35). En este estudio no se observó asociación entre presencia de múltiples genotipos del virus y las lesiones citológicas. Existe polémica sobre el papel que juegan las infecciones múltiples por VPH en el desarrollo de lesiones neoplásicas (34 - 37). Hay reportes que sugieren que las infecciones múltiples aumentan el riesgo de cáncer cervical porque cada genotipo adicional aumenta el riesgo, pero la controversia surge en relación a si estas infecciones causan un efecto sinérgico o si cada genotipo actúa de forma independiente. También se ha sugerido que la prevalencia de múltiples VPH es determinada por mecanismos inmunológicos, de hecho, en pacientes inmunosuprimidas las infecciones múltiples son altas (38). Habría que hacer más estudios para aclarar este punto.

Actualmente, hay dos vacunas (Gardasil y Cervarix) que previenen infecciones contra el VPH. Gardasil, para los genotipos 6, 11, 16 y 18 y Cervarix, para los genotipos 16 y 18 (39). Ahora bien, de acuerdo a los

resultados de este trabajo, se puede concluir que estas vacunas no son las más apropiadas para Venezuela por lo cual se deberían hacer estudios con un mayor número de muestras y en diferentes regiones para determinar la distribución de los genotipos de alto riesgo más importantes en Venezuela.

Otro aspecto estudiado en este trabajo fue el efecto de la presencia de la bacteria *C. trachomatis* sobre la infección por VPH. Esta posible influencia de la bacteria a aumentar la predisposición a contraer VPH y/o a la persistencia del virus en las pacientes, es un punto actualmente muy discutido por haber reportes contradictorios (12, 15, 40, 41). Los resultados de este trabajo, al comparar la infección por *C. trachomatis* y VPH, indicaron ausencia de asociación significativa que permitiera inferir la influencia de la primera sobre la aparición de la segunda; en particular, esto es relevante, porque la prevalencia de *C. trachomatis* encontrada fue alta (30,4 %). De igual forma, no se encontró relación significativa entre los cambios citológicos y la presencia de ambos microorganismos, lo cual sugiere que la bacteria no predispone a la progresión de lesiones de bajo o alto riesgo causadas por el virus. Habría que complementar este estudio en mujeres con lesiones citológicas ya existentes para determinar, si en este caso, existe una asociación entre la presencia de la *C. trachomatis* y la de VPH.

Asimismo, no se encontró relación significativa entre los cambios citológicos y la presencia de VPH, sin embargo, se podría argumentar que la mayoría de la muestra se ubicó en citología normal y que el VPH presente estaba en la etapa latente por lo cual no se evidenciaron cambios citológicos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a las pacientes, sin cuya participación se haría imposible proseguir este tipo de investigaciones; a la MSc. Yda Méndez por su colaboración en la realización de algunas PCR y al Departamento de Ginecología del Hospital Central de Maracay, Venezuela, cuya colaboración fue determinante en la consecución satisfactoria de las metas trazadas en este trabajo.

Este estudio fue utilizado como Trabajo de Grado por el Médico Cirujano Henry Aguiar para la obtención

del título de Especialista en Obstetricia y Ginecología del postgrado de la Universidad de Carabobo (UC). Recibió una Distinción Honorífica en las I Jornadas de Investigación de los Estudios de Postgrado de la UC el 30-11-2016 y un Reconocimiento de la Comisión Coordinadora del Postgrado por haber obtenido el Primer Lugar en la cohorte de graduandos el 03-12-2016.

Financiamiento: Proyectos: Prevalencia de infección por VPH, usando métodos moleculares, en mujeres que asisten al programa de prevención y control del cáncer cérvico uterino del Estado Aragua (FONACIT-N°2012000973) y Fortalecimiento de la Maestría en Ciencias Biomédicas de la Universidad de Carabobo” (FONACIT- N°2012002328)

REFERENCIAS

1. IARC. Globocan 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2014. (Actualizado 2014, revisado 12/01/2016). Disponible en: <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>.
2. Bernard HU, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, Hausen H, de Villiers EM. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*. 2010; 401 (1): 70–79.
3. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, *et al.* Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*. 2003; 348 (6): 518–527.
4. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, *et al.* Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol*. 2010; 11 (11): 1048–1056.
5. Skinner S, Wheeler C, Romanowski B, Castellsagué X, Lazcano-Ponce E, Del Rosario-Raymundo M, *et al.* Progression of HPV infection to detectable cervical lesions or clearance in adult women: Analysis of the control arm of the VIVIANE study. *Int J Cancer*. 2016; 138 (10): 2428–2438.
6. Scott M, Shvetsov Y, Thompson P, Hernandez B, Zhu X, Wilkens L, *et al.* Cervical cytokines and clearance of incident human papillomavirus infection: Hawaii HPV cohort study. *Int J Cancer* 2013; 133 (5): 1187–1196.
7. King C, Jamieson D, Wiener J, Cu-Uvin S, Klein R, Rompalo A, *et al.* Bacterial vaginosis and the natural history of human papillomavirus. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2011; 2011: 319460. Doi: 10.1155/2011/319460.
8. Mao C, Hughes JP, Kiviat N, Kuypers J, Lee SK, Adam DE, *et al.* Clinical findings among young women with genital human papillomavirus infection. *Am J Obstet Gynecol*. 2003; 188 (3): 677 – 684.
9. Watts DH, Fazzari M, Minkoff H, Hillier SL, Sha B, Glesby M, *et al.* Effects of bacterial vaginosis and other genital infections on the natural history of human papillomavirus infection in HIV-1-infected and high-risk HIV-1-uninfected women. *J Infect Dis*. 2005; 191 (7): 1129 – 1139.
10. de Abreu AL, Malaguti N, Souza RP, Uchimura NS, Ferreira ÉC, Pereira MW, *et al.* Association of human papillomavirus, *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* co-infections on the risk of high-grade squamous intraepithelial cervical lesion. *Am J Cancer Res*. 2016; 6 (6): 1371 - 1383.
11. Zhu H, Shen Z, Luo H, Zhang W, Zhu X. *Chlamydia trachomatis* infection-associated risk of cervical cancer: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016; 95 (13): e3077. Doi: 10.1097/MD.0000000000003077.
12. Wohlmeister D, Vianna DR, Helfer VE, Gimenes F, Consolaro ME, Barcellos RB, *et al.* Association of human papillomavirus and *Chlamydia trachomatis* with intraepithelial alterations in cervix samples. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2016; 111 (2): 106 - 113.
13. de Castro-Sobrinho JM, Rabelo-Santos SH, Figueiredo RR, Derchain S, Zanatta LO, Rocha D, *et al.* *Chlamydia trachomatis* co-infection in HPV positive women brings no additional risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *J Cytol Histol*. 2015; S3: 023. doi:10.4172/2157-7099.S3-023
14. Smith JS, Bosetti C, Muñoz N, Herrero R, Bosch FX, Eluf-Neto J, *et al.* *Chlamydia trachomatis* and invasive cervical cancer: a pooled analysis of the IARC multicentric case-control study. *Int J Cancer*. 2004; 111 (3): 431 – 439.
15. Robial R, Longatto-Filho A, Roteli-Martins CM, Silveira MF, Stauffert D, Ribeiro GG, *et al.* Frequency of *Chlamydia trachomatis* infection in cervical intraepithelial lesions and the status of cytological p16/Ki-67 dual-staining. *Infect Agent Cancer*. 2017; 12: 3. doi 10.1186/s13027-016-0111-8
16. Arráiz N, Marcucci R, Colina S, Reyes F, Rondón N, Bermúdez V, *et al.* Infección por *Chlamydia trachomatis* en mujeres consultantes en Maracaibo, Venezuela. *Rev salud pública*. 2008; 10: 615 - 624.
17. Urdaneta J, Cantillo E, Alarcón A, Karame A, Salazar J, Romero Z, *et al.* Infertilidad tubárica e infección genital por *Chlamydia trachomatis* – *Ureaplasma urealyticum*. *Rev chil obstet ginecol*. 2013; 78 (1): 32 – 43.
18. Rivero J, Zoghbi N, Rubio-Palis Y, Urdaneta L, Herrera F. DNA degradation of *Anopheles darlingi* collected at high relative humidity and preserved in isopropanol. *Bol Malariol Sal Amb*. 2007; 47 (1): 149 - 151.
19. Aguiar H, Goñi N, Pinto L, Carrozza M, Abou Orm S, Correia H, *et al.* Asociación entre presencia del virus del papiloma humano y hallazgos anatómo-patológicos. *Rev*

DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO
EN MUJERES DEL EDO. ARAGUA, VENEZUELA.

- Obstet Ginecol Venez. 2015; 75 (3): 164 - 171.
20. WHO. 2010. Human papillomavirus laboratory manual. First edition 2009. Geneva, Switzerland. (Revisado 16/12/2015). Disponible en: www.who.int/vaccines-documents
 21. IBM Corp. Released 2016. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.
 22. Dean AG, Sullivan KM, Soe MM. Openepi: open source epidemiologic statistics for public health, version 3.01. (Actualizado 2013/04/06, revisado XXX) Disponible en: www.openepi.com
 23. Franceschi S, Clifford GM. Re: A study of the impact of adding HPV types to cervical cancer screening and triage tests. *J Natl Cancer Inst.* 2005; 97 (5): 938 – 939.
 24. Bicca GL, Silveira MF, Silva KR, Barros FC. HPV infection and cervical cancer: a review of screening and preventive strategies in developed countries and brazilian policies. *J Bras Doenças Sex Transm.* 2013; 25 (3): 157 - 162.
 25. Bruni L, Diaz M, Castellsague´ X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjose´ S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis.* 2010; 202 (12): 1789 – 1799.
 26. Kim HS, Kim TJ, Lee IH, Hong SR. Associations between sexually transmitted infections, high-risk human papillomavirus infection, and abnormal cervical Pap smear results in OB/GYN outpatients. *J Gynecol Oncol.* 2016; 27 (5): e49. doi.org/10.3802/jgo.
 27. Rodriguez AC, Schiffman M, Herrero R, Wacholder S, Hildesheim A, Castle PE, *et al.* Rapid clearance of human papillomavirus and implications for clinical focus on persistent infections. *J Natl Cancer Inst.* 2008; 100 (7): 513 – 517.
 28. Althoff KN, Paul P, Burke AE, Viscidi R, Sangaramoorthy M, Gravitt PE. Correlates of cervicovaginal human papillomavirus detection in perimenopausal women. *J Womens Health (Larchmt)* 2009; 18 (9): 1341–1346.
 29. Sanabria J, Fernández Z, Cruz I, Oriolo L, Llanuch M. El cáncer cervicouterino y las lesiones precursoras: revisión bibliográfica. *Rev Ciencias Médicas.* 2011; 15 (4): 295-319.
 30. Rivas E, Verlezza S, Flores M. Distribución genotipo-específico del virus papiloma humano entre hombres y mujeres de Caracas, Venezuela. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 2012; 72 (3): 171 - 176.
 31. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Albero G, Serrano B, Mena M, Gómez D, *et al.* ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. Summary Report 15 December 2016; (Actualizado 27/6/2017. Revisado 29/07/2017). Disponible en: <http://www.hpvcentre.net/statistics/reports/XWX.pdf>.
 32. Tjalma WA, Depuydt CE. Don't Forget HPV-45 in Cervical Cancer Screening. *Am J Clin Pathol.* 2012; 137 (1): 161-163.
 33. Reigosa A, Fernández A, Hung CY, Graterol I, Fernández Y, Espinal JD, *et al.* Genotipos del virus papiloma humano en el cuello uterino de mujeres de la región central de Venezuela. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 2015; 75 (3): 177 - 186.
 34. Dickson EL, Vogel RI, Bliss RL, Downs LS. Multiple-type human papillomavirus (HPV) infections: a cross-sectional analysis of the prevalence of specific types in 309,000 women referred for HPV testing at the time of cervical cytology. *Int J Gynecol Cancer.* 2013; 23 (7): 1295 - 1302.
 35. Lan TV. High-risk and multiple human papillomavirus infections among married women in Can Tho, Viet Nam. *Western Pac Surveill Response J.* 2012; 3 (3): 57 - 62.
 36. Chaturvedi AK, Katki HA, Hildesheim A, Rodríguez AC, Quint W, Schiffman M, *et al.* Human papillomavirus infection with multiple types: pattern of co-infection and risk of cervical disease. *J Infect Dis.* 2011; 203 (7): 910 - 920.
 37. Del Río-Ospina L, Soto-de León SC, Camargo M, Sánchez R, Moreno-Pérez DA, Pérez-Prados A, *et al.* Multiple high-risk HPV genotypes are grouped by type and are associated with viral load and risk factors. *Epidemiol Infect.* 2017; 145 (7): 1479 – 1490. doi: 10.1017/S095026881700018
 38. Chaturvedi AK, Myers L, Hammons AF, Clark RA, Dunlap K, Kissinger PJ, *et al.* Prevalence and clustering patterns of human papillomavirus genotypes in multiple infections. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005; 14 (10): 2439 - 2445.
 39. Gupta G, Glueck R, Patel PR. HPV vaccines: Global perspectives. *Hum Vaccin Immunother.* 2017; 13 (6): 1 – 4. doi: 10.1080/21645515.2017.1289301.
 40. Smelov V, Gheit T, Sundström K, Ploner A, McKay-Chopin S, Eklund C, *et al.* Lack of significant effects of *Chlamydia trachomatis* infection on cervical adenocarcinoma risk: Nested case-control study. *PLoS ONE.* 2016; 11(5): e0156215. doi: 10.1371/journal.pone.0156215.
 41. Bhatla N, Puri K, Joseph E, Kriplani A, Iyer VK, Sreenivas V. Association of *Chlamydia trachomatis* infection with human papillomavirus (HPV) and cervical intraepithelial neoplasia - a pilot study. *Indian J Med Res.* 2013; 137 (3): 533-539.

Recibido el 20/4/2017
Aprobado el 10/10/2017