



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

PREVALENCIA DE INFECCIÓN POR VIRUS DE PAPILOMA HUMANO  
(VPH) EN MUJERES EMBARAZADAS EN LA POBLACIÓN DE  
TEMBLADOR, ESTADO MONAGAS. ENERO-ABRIL, 2008  
(Modalidad: Investigación)

DAYANA LIZETH ARIAS APARICIO

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

CUMANÁ, 2009

PREVALENCIA DE INFECCIÓN POR VIRUS DE PAPILOMA HUMANO (VPH)  
EN MUJERES EMBARAZADAS EN LA POBLACIÓN DE TEMBLADOR,  
ESTADO MONAGAS.ENERO-ABRIL 2008

APROBADO POR:

---

Prof. Juan C. Merheb  
Asesor académico

---

Prof. Marcos De Donato  
Coasesor académico

---

---

## INDICE

DEDICATORIA .....	IV
AGRADECIMIENTOS .....	V
LISTA DE TABLAS .....	VI
LISTA DE FIGURAS .....	VII
RESUMEN.....	VIII
INTRODUCCIÓN .....	1
METODOLOGÍA .....	7
Población de estudio .....	7
Recolección y procesamiento de muestras de células cervicovaginales.....	7
Estudio histopatológico.....	8
Tipificación de VPH por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	8
Análisis estadístico.....	10
RESULTADOS.....	11
DISCUSIÓN .....	16
CONCLUSIONES .....	19
RECOMENDACIONES.....	20
BIBLIOGRAFÍA .....	21
ANEXOS .....	24

## **DEDICATORIA**

A

Dios por guiarme y acompañarme en el camino de mi formación personal y profesional.

Mi madre por su inmenso amor y por su apoyo incondicional.

Mi padre por apoyarme en todo momento, por creer en mí y por estar siempre que lo necesite.

Mis hermanos, de quienes me siento orgullosa y esperando ser motivación de que continúen realizando sus metas.

## **AGRADECIMIENTOS**

A

Los profesores Juan Carlos Merheb y Marcos De Donato por brindarme su apoyo, orientación, confianza y dedicación en la realización de este trabajo.

La Dra. Aura Castro y todo el personal de “DNA probes” por toda la ayuda brindada y por sus aportes en cuanto a conocimientos sobre genética molecular.

La Dra. Ana Torrealba y todo el personal del área de ginecología del Hospital tipo I “Temblador” por ayudarme en la recolección de las muestras y por toda su colaboración.

Mis amigos por estar conmigo siempre que los necesite.

Todas las mujeres embarazadas que me dieron su muestra.

Todas aquellas personas que de alguna manera u otra hicieron posible la realización de este trabajo GRACIAS.

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Secuencia de los primers utilizados en este estudio.....	9
Tabla 2. Resultados del diagnóstico y tipificación molecular de VPH en las muestras cervicales de mujeres embarazadas que acudieron a consulta en la sala prenatal del hospital tipo I “Temblador”. .....	11
Tabla 3. Características clínicas observadas en el examen citológico de las muestras cervicales de mujeres embarazadas que acudieron a consulta en la sala prenatal del hospital tipo I “Temblador” .....	13
Tabla 4. Análisis de regresión logística binaria entre la presencia de VPH y los diferentes factores de riesgo estudiados, en muestras cervicales de mujeres embarazadas que acudieron a consulta en la sala prenatal del hospital tipo I “Temblador”.....	14
Tabla 5. Análisis de regresión logística binaria entre la presencia de VPH tipo 11 y los diferentes factores de riesgos estudiados, en muestras cervicales de mujeres embarazadas que acudieron a consulta en la sala prenatal del hospital tipo I “Temblador”.....	15

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa al 3% donde se muestran los fragmentos para cada tipo de VPH amplificados mediante PCR en las muestras de hisopado cervical de las mujeres embarazadas atendidas en la sala prenatal del hospital tipo I “Temblador” .....	12
---	----

## RESUMEN

En el presente estudio se determinó la prevalencia de infección por VPH mediante estudio citológico (papanicolaou) y molecular (reacción en cadena de la polimerasa) en mujeres embarazadas de la población de Temblador, estado Monagas en el período enero-abril 2008, y sus posibles factores de riesgo. El estudio se realizó en muestras cervicovaginales de 59 mujeres embarazadas que acudieron a consulta en la sala prenatal del Hospital tipo I “Temblador”. De las 59 muestras analizadas todas resultaron negativas para VPH en el estudio citológico y 15 resultaron positivas por la técnica de PCR, obteniéndose una prevalencia de 25,4%. De las 15 muestras positivas 10 correspondieron al VPH 11, 2 al VPH 6, 2 al VPH 16 y 1 al VPH 31. En cuanto a la asociación de los factores de riesgo estudiados y la presencia de infección por VPH, se observó que sólo el factor edad mostró asociación estadísticamente significativa, observándose que las mujeres mayores de 26 años son 6,8 veces más susceptibles de presentar infección por VPH y son 6,5 veces más propensas a presentar infección por VPH tipo 11. Se pudo observar que en el estudio citológico solo 3 mujeres presentaron lesiones intraepiteliales (LIE), lo que coincidió con infección por VPH de alto riesgo en éstas mujeres. Queda establecido que el diagnóstico de VPH por citología de cuello uterino no permite detectar al virus en estadio temprano, ya que ninguna de las pacientes con VPH mostraron cambios característicos de esta infección en el estudio citológico, posiblemente debido a que el virus se encuentra presente de forma latente o subclínica, por lo tanto es más seguro diagnosticar la presencia del virus mediante la técnica de PCR ya que es un método muy sensible para evidenciar lesiones latentes o subclínicas, e identificar pacientes con tipos de VPH con potencial oncogénico, y por lo tanto, un alto riesgo de desarrollar cáncer cervical.



## INTRODUCCIÓN

En la década de los sesenta se identificaron las lesiones condilomatosas como precursoras de cáncer en el cuello uterino (CCU), y desde entonces se han venido realizando investigaciones para conocer el papel de la actividad sexual en el riesgo de CCU, indicando que las mujeres con relaciones sexuales a una edad temprana o varios compañeros sexuales, tendían a presentar un mayor riesgo de desarrollar CCU. Con el desarrollo de técnicas en biología molecular para detectar la presencia de ADN del virus de papiloma humano (VPH) en muestras tomadas mediante citologías durante la década de los ochenta, se pudo establecer el papel del VPH de alto riesgo en la etiología del CCU. Posteriormente, estudios epidemiológicos conducidos en la década de los noventa, permitieron mostrar la asociación causal entre infecciones con VPH y el desarrollo de CCU (Sierra *et al.*, 2003).

El VPH pertenece a la familia Papovaviridae, es un virus epiteliotrófico, que por lo general causa un crecimiento irregular de células o verrugas, es icosaédrico, no posee cubiertas de lípidos ni membrana, por lo que es considerado un virus desnudo, constituido por un genoma de ADN circular de doble cadena el cual contiene alrededor de 7 900 pares de bases. Frecuentemente produce proliferaciones epiteliales focales en el sitio de la infección (Burrow y Ferris, 1999; Tjoung-Won *et al.*, 1995).

Los papilomavirus infectan epitelios estratificados (piel y mucosa). Las células diana del virus se llaman queratinocitos y están en la capa basal del epitelio que es la que separa la dermis de la epidermis. Las células que se dividen migran hacia arriba al tiempo que se van diferenciando. El ciclo vital de los papilomavirus está ligado al proceso de diferenciación de la célula a la que infecta (Jenson *et al.*, 1987).

Las proteínas virales tempranas (early) E5, E6 y E7 se expresan en los estadios iniciales de la infección, desestabilizando a la célula infectada promoviendo su replicación. Las proteínas E1 y E2 se expresan después y su función es generar copias del genoma viral, mientras que la proteína E4 se une a proteínas del citoesqueleto, desorganizándolo. En los últimos estadios de la diferenciación se expresan las proteínas tardías (late) L1 y L2, donde L1 es el principal componente de la cápside del virus. El papel de L2 es unirse a una copia del genoma del virus y empaquetarlo en el interior de la cápside, dando así lugar al virión maduro. Los virus son liberados al exterior junto con los restos de los

queratinocitos que continuamente desescaman en la superficie de la epidermis (Broker, 1987).

Basándose en las propiedades de integración, los tipos de VPH se han clasificado como grupos de bajo riesgo (BR) como son: VPH 6,11,42,43,44,54, los cuales predominan en lesiones escamosas y están fundamentalmente asociados a verrugas y condilomas generalmente benignos (Loricz *et al.*, 1992; Meisels *et al.*, 1997); y grupos de alto riesgo (AR) como son: VPH 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56 y 58 (Saragoni *et al.*, 1992; Costa *et al.*, 1995) a los cuales se les atribuye un riesgo altamente significativo para el desarrollo de cáncer invasivo y conducta agresiva del mismo.

La infección por VPH puede manifestarse clínicamente en varias formas: en forma latente, en la cual el virus está presente pero no presenta manifestaciones clínicas; en forma subclínica, el paciente presenta lesiones blanco acéticas a nivel del cuello uterino y la forma clínica típica donde se presentan verrugas genitales o condiloma acuminado (Campio *et al.*, 1996).

La detección de signos morfológicos por infección de VPH es sencilla mediante el examen citológico Papanicolaou (PAP) o histopatológico y la colposcopia. Además, debe considerarse que la detección indirecta de VPH mediante estos exámenes no permite la tipificación viral, importante información en el momento de categorizar sub-grupos de pacientes de una perspectiva clínica práctica. En este sentido, se ha utilizado la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para su detección y tipificación (Lorinchz *et al.*, 1992).

La técnica de PCR, permite replicar entre cientos de miles y millones de veces, en el transcurrir de pocas horas e *in vitro*, pequeñas cantidades de ADN. Uno de los aportes fundamentales de esta metodología a la investigación básica en biología molecular consiste, precisamente, en la rapidez y eficiencia mediante las cuales se realiza una tarea que antes requería largas y tediosas jornadas, esta técnica se basa en su forma más simple, en la realización de tres reacciones sucesivas llevadas a cabo a distintas temperaturas. Estas reacciones se repiten cíclicamente entre veinte y cuarenta veces (Satz y Kornblihtt, 1993).

La muestra se calienta, en el primer paso, hasta lograr la separación de las dos cadenas que constituyen el ADN, hecho que se conoce como desnaturalización. En el segundo paso, la temperatura

se reduce para permitir el apareamiento de cada una de dos cadenas cortas de nucleótidos (oligonucleótidos) con cada una de las hebras separadas del ADN molde. Se trata de segmentos de ADN de cadena simple, sintetizados en el laboratorio y diseñados de manera tal que permiten definir los límites del tramo de ADN que se desea replicar. Obviamente, para que se pueda producir el apareamiento, cada uno de estos oligonucleótidos, a los que se denomina iniciadores o *primers*, debe ser complementario del tramo al que tienen que unirse en las cadenas separadas del ADN molde. En tercer lugar, una enzima ADN polimerasa extiende los *primers*, en el espacio comprendido entre ambos, sintetizando las secuencias complementarias de las hebras del ADN molde. Para ello, la ADN polimerasa usa desoxinucleósidos trifosfato (dNTPs) agregados a la mezcla de reacción. La temperatura a la que se realiza el tercer paso está condicionada por aquella a la cual trabaja la enzima ADN polimerasa. Al cabo del primer ciclo de tres reacciones (desnaturalización, apareamiento, extensión) el tramo de ADN elegido se ha duplicado y el doble de su cantidad original se encuentra disponible para ser nuevamente replicado en un segundo ciclo. El resultado de la aplicación de numerosos ciclos en cadena da lugar a la amplificación geométrica del segmento de ADN delimitado por los *primers* (Satz y Kornblihtt, 1993).

El tipo de muestra a utilizar en la tipificación de VPH es fundamental, debido a que la calidad de ADN extraído puede variar considerablemente afectando la sensibilidad y especificidad del método usado. La detección de VPH se realiza a partir de diferentes tipos de muestras, como tejido de archivo, tejido congelado, cepillo endocervical (cepillado), espátula de Ayre, incluso desde frotis teñidos. Sin duda, cada método tiene sus ventajas o desventajas (Melo *et al.*, 2005).

En la mayoría de los casos, las infecciones por VPH son subclínicas y es difícil detectarlas por examen citológico, histopatológico o por técnicas inmunohistoquímicas. Por esta razón, los métodos moleculares como PCR son recomendados para el diagnóstico. Se puede utilizar, además, sondas de hibridación para aumentar la sensibilidad y especificidad de los productos de PCR, las que combinadas con el uso de enzimas de restricción (RFLP) y secuenciación, identifican los distintos tipos virales de VPH. La estrategia de diagnóstico es seleccionar genes de VPH de consenso altamente conservado para la detección de los tipos virales del VPH. Luego, utilizando pequeñas diferencias en la secuencia del ADN, lograr la tipificación viral (Melo *et al.*, 2003).

Diversos estudios han propuesto que la infección por VPH es una de las infecciones de transmisión sexual más frecuentes y actualmente se considera a este virus un agente causal necesario para el CCU. De más de 200 genotipos de VPH descubiertos, 12 de ellos representa más de 95% de tipos virales asociados a CCU (Muñoz *et al.*, 1993). Algunos predictores importantes de infección por VPH en mujeres son: edad, alto consumo de bebidas alcohólicas y tabaco, uso de anticonceptivos orales, inicio temprano de relaciones sexuales, factores genéticos y ciertos factores hormonales endógenos asociados con el embarazo (Syrjanen, 1994).

Estudios recientes han informado prevalencia de infección por VPH en mujeres embarazadas que van desde 5 hasta 80% con mayor riesgo en menores de 26 años, lo que sugiere la posibilidad de que el proceso fisiológico del embarazo modifique alguna característica del hospedero e incremente tanto el riesgo de infección como de persistencia de la infección por VPH (Hernández *et al.*, 2002).

El virus de papiloma humano esta involucrado en la mayoría de las lesiones preinvasivas e invasivas del cérvix. Ambos tipos oncogénicos o no oncogénicos pueden complicar el embarazo. La infección por VPH con tipos oncogénicos puede conducir a una citología cervical anormal detectada durante el embarazo la cual requiere un diagnóstico oportuno y en casos indicados realizar tratamiento, ya que el cáncer cervical es una consecuencia común de la infección por VPH en la mujer y puede ocasionar la muerte en muchos casos, si no son diagnosticados y tratados a tiempo.

En Venezuela, se ha podido establecer en diferentes zonas del país la existencia de la infección por VPH en la población femenina. Correnti *et al.* (2002) estudiaron 1 046 mujeres y reportaron en la zona Oriental un 85%; zona Occidental un 40% y área metropolitana un 67%. En un análisis de la población femenina estudiada, también se observó una alta presencia de VPH de alto riesgo oncogénico (70%), asociado a lesión intraepitelial (LIE) de bajo grado y LIE de alto grado. Un hallazgo, importante en este estudio fue la observación de un 45% de muestras positivas para VPH de genotipos de alto riesgo oncogénico y citología normal.

En el estado Sucre existen altos porcentajes de infecciones genitales causadas por VPH. Según estudio retrospectivo realizado en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (SAHUAPA), en el periodo comprendido entre los años 1991-1995, en una población de 70

pacientes femeninas, estudiadas en el área de oncología, mediante análisis cito-histológicos, 55 (78,57%) de estos casos estuvieron asociados a infección por VPH. Así mismo cabe destacar un estudio preliminar realizado en el área de ginecología del SAHUAPA; en el cual de 12 pacientes estudiadas, 8 (66,67%) resultaron positivas para VPH mediante la técnica de PCR. Más recientemente en trabajos simultáneos realizados por Moreno (1999), Oliveros (1999) y Romero (1999), en pacientes femeninas de diferentes estratos sociales arrojaron cifras relativamente altas 71,11%, 46,66% y 68,89%, respectivamente, de VPH tipificado por la técnica de PCR ( D'alessio, 2000).

En el estado Monagas también existe una alta incidencia de infección por VPH, principalmente en zonas rurales. Figueroa (2003) realizó un estudio comparativo entre dos poblaciones rurales, la isla de Guara y Azagua, estudiando 120 mujeres (60 de la isla de Guara y 60 de Azagua) con edades comprendidas entre 15 y 45 años a las cuales se les practicó examen ginecológico y estudio citológico de cuello uterino. El estudio citológico determinó la presencia de infección por VPH en la isla de Guara en 17 pacientes (28,3 %) y en Azagua 18 pacientes (30,0%).

Debido al alto porcentaje de mujeres que presentan infección por VPH en la zona oriental de Venezuela (Correnti *et al.*, 2002), y al fracaso terapéutico que en muchos casos se presenta motivado a la falta de diagnóstico expedito, se propone realizar estudios asociados a la técnica de PCR, la cual es una prueba de alta sensibilidad y especificidad, ya que permite revelar cantidades mínimas del genoma viral y diagnosticar, de esta forma, la infección por VPH, aún en su forma asintomática, además nos permite tipificar genotipos de alto riesgo oncogénico, contribuyendo directamente a la prevención de la progresión de la enfermedad en un estado tan delicado como lo es el embarazo.

En el presente estudio se determinó la prevalencia de infección por VPH en una muestra de mujeres embarazadas que acudieron a consulta ginecológica en la sala prenatal del hospital tipo I "Temblador" del estado Monagas, mediante pruebas citológicas (papanicolau) y pruebas moleculares (PCR) para tipificar el tipo de VPH en dichas pacientes y así conocer el riesgo oncogénico presente, además de asociar la presencia y tipo de VPH con posibles factores de riesgo de infección, mediante los datos suministrados en la encuesta epidemiológica.



# METODOLOGÍA

## **Población de estudio**

Se estudiaron citologías cervicovaginales de 59 mujeres embarazadas que asistieron en el período de enero-abril de 2008 a consulta en la sala prenatal del hospital tipo I “Temblador”, en la población de Temblador, estado Monagas.

A toda mujer embarazada que acudió a la consulta ginecológica en la sala prenatal del hospital tipo I “Temblador”, se le realizó una entrevista con la finalidad de obtener su autorización para participar en este estudio (anexo 1); así mismo, para determinar los posibles factores de riesgo de la infección por VPH en mujeres embarazadas, se les realizó una encuesta de datos clínicos y epidemiológicos (anexo 2).

El trabajo se realizó tomando en cuenta las normas de ética establecidas por la organización mundial de la salud (OMS) y la oficina panamericana de la salud (OPS) para trabajos de investigación en seres humanos y la declaración de Helsinki, ratificado por la vigésima asamblea mundial en Tokio en el año 1993. Este estudio no comprometió bajo ningún aspecto la salud o vida de los individuos que participaron en el mismo.

## **Recolección y procesamiento de muestras de células cervicovaginales**

Las muestras fueron recolectadas por la ginecóloga del servicio, mediante la técnica citológica exo-endocervical, para la cual se le indicó a la paciente que se colocara en posición ginecológica para la posterior inducción de un espéculo estéril, se realizó la toma de muestra con una espátula de Ayre rotándola 360 grados para la obtención de muestra a nivel de exocervix, la toma de muestra de endocervix se realizó utilizando un hisopo de algodón y por último se realizó un hisopado cervical que fue colocado en un tubo estéril para la realización de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa. Las muestras para citología fueron extendidas y fijadas en láminas portaobjetos para su posterior estudio.

## **Estudio histopatológico**

Papanicolaou: Se colocaron las láminas portaobjetos en una cesta con alcohol isopropílico por un minuto, luego se lavaron con agua corriente durante 30 segundos, para hidratar las células, posteriormente se colocaron en hematoxilina de SHANDOM por un minuto, se lavaron con agua corriente por 30 segundos, luego se colocaron en agua acidulada por 2 segundos, luego se lavaron con agua corriente por 30 segundos, posteriormente se colocaron en carbonato de litio por un minuto, se lavaron con agua corriente por 30 segundos y seguidamente fueron colocadas 2 veces en alcohol isopropílico por 15 segundos, luego se colocaron en Pap-mart por 2 segundos, posteriormente se colocaron en alcohol isopropílico por 15 segundos (esto se realizó 3 veces). Por último se colocaron dos veces en xilol por 15 segundos.

Una vez realizada la tinción, se observaron las láminas en un microscopio óptico con objetivos de 40X y 100X y se realizó el diagnóstico mediante la utilización de la nomenclatura de Bethesda que clasifica las lesiones del tracto genital de acuerdo a las características morfológicas y a la tasa de regresión y progresión en:

- a. Lesión intraepitelial escamosa (LIE) de bajo grado: agrupa los cambios morfológicos sugestivos de VPH y neoplasia intraepitelial cervical (NIC) I.
- b. Lesión intraepitelial escamosa (LIE) de alto grado: ocupa a las NIC II y NIC III (displasia moderada, displasia severa y carcinoma *in situ*).
- c. Células escamosas atípicas de significancia no determinada (ASCUS): comprende los cambios celulares de tipo reparativo, atrófico e inflamatorio.

## **Tipificación de VPH por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

En la tipificación del VPH se utilizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que de acuerdo con Satz y Kornbliht (1993) esta técnica consiste en multiplicar de forma simple y muy rápida ADN presente en diferentes muestras biológicas, obteniéndose millones de copias de una determinada secuencia de ADN.



Para la concentración de células y extracción del ADN viral se colocaron los hisopos con muestras cervicales que fueron conservados a 4°C, en tubos que contienen 500 µl de buffer salino (PBS 10 mmol/l, pH 7,0) y se frotó el hisopo contra las paredes del tubo para que las células quedaran adheridas al mismo. Seguidamente, las muestras fueron centrifugadas a 16 000 g durante 5 minutos en una microcentrífuga MC-1400 HOEFER. Terminado el proceso de centrifugación se descartó el sobrenadante y el pellet o botón de células obtenidas, se resuspendió en un buffer de lisis (10 mmol/l Tris-HCl, pH 8,0, 0,5% de sarcocine y 100 µg/ml de Proteinasa K) en proporción del doble con respecto al volumen del pellet. Posteriormente se colocaron los tubos de 0,2 ml en baño de maria por 20 minutos a 45°C. Al terminar, se sacaron los tubos del baño de maria y se guardaron en nevera a -20°C hasta su procesamiento.

La amplificación se llevó a cabo en tubos eppendorf de 0,2 ml de pared delgada que contenían 7,825 µl de agua grado PCR, 3,0 µl de Buffer de la Taq, 0,3 µl dNTPs, 0,3 µl Primers (mezcla de primers tabla 1), 3,0 µl de MgCl<sub>2</sub> 0,075 µl de Taq polimerasa y 0,5 µl de muestra. Los tubos fueron colocados en un termociclador y las condiciones de reacción fueron las siguientes: se realizaron 35 ciclos con 3 pasos: 1)Desnaturalización a 95°C durante un minuto, 2)Hibridación a 58°C durante un minuto y 3)Extensión a 72°C durante un minuto. Además se realizó una extensión final a 72°C durante 10 minutos.

Tabla 1. Secuencia de los primers utilizados en este estudio

<b>Primers</b>	<b>fragmento (bp)</b>	<b>Secuencia (5'-3')</b>
VPH 16	587	CAC AGT TAT GCA CAG AGC TGC CAT ATA TTC ATG CAA TGT AGG TGT A
VPH 18	822	CAC TTC ACT GCA AGA CAT AGA GTT GTG AAA TCG TCG TTT TTC A
VPH 31	151	GAA ATT GCA TGA ACT AAG CTC G CAC ATA TAC CTT TGT TTG TCA A
VPH 33	598	ACT ATA CAC AAC ATT GAA CTA GTT TTT ACA CGT CAC AGT GCA
VPH 11	394	TGC AAG AAT GCA CTG ACC AC TGC ATG TTG TCC AGC AGT GT

VPH 35	918	CAA CGA GGT AGA AGA AAG CAT C CCG ACC TGT CCA CCG TCC ACC G
VPH 6	152	TTC AGT GTA TGG GGC AAC AT AAA CAT GAC CCG GTC CAT GC

---

Los productos de la PCR se observaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 3%. Preparado en buffer TBE 1X (Tris borato 45 mmol/l, EDTA 1 mmol/l, pH 8,0). Se empleó el marcador de masa molecular 1kb ADN ladder (Promega). Los productos fueron corridos a 100 V por 30 minutos utilizando una cámara de electroforesis.

La calidad de las extracciones de ADN de cada muestra se evaluó usando como control de ausencia de inhibidores de PCR, la amplificación de parte del gen de la hemoglobina, con los cebadores: GH20: 5'-gaagagccaaggaaggta-3' y PCO4: 5'-caacttcacccacgttcacc-3', en las mismas condiciones de temperatura.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico de los resultados fue realizado mediante una regresión logística binaria utilizando el programa SPSS versión 11.5. Para esto, las variables cuantitativas fueron transformadas a variables dicotómicas, en donde, el número de embarazos fue categorizado en: 1=0 y >1=1; la edad del primer embarazo en: <18=0 y ≥18=1; la edad de la primera relación sexual en: <18=0 y ≥18=1; el número de parejas sexuales en: 1 ó 2=0 y >2=1 y la edad en: <26=0 y ≥26=1. El resto de las variables fueron de tipo dicotómicas y no fueron transformadas.

## RESULTADOS

La población estudiada estuvo comprendida por 59 mujeres embarazadas que acudieron a consulta en la sala prenatal del hospital tipo I “Temblador”, ninguna de ellas presentaba cambios sugestivos de infección por VPH, como presencia de verrugas o condilomas.

En la tabla 2 se muestran los resultados de la detección y tipificación de VPH por PCR en los hisopados cervicales analizados, observándose que de las 59 muestras analizadas 15 estaban positivas para el virus obteniéndose una prevalencia de 25,4% (15/59).

También se pudo observar que el tipo de VPH mas común fue el tipo 11, seguido de los tipos 6, 16 y 31, lo que nos permitió establecer que existe una mayor prevalencia de infección por los tipos de VPH de bajo riesgo (11 y 6) que por los tipos de alto riesgo (16 y 31).

Tabla 2. Resultados del diagnóstico y tipificación molecular de VPH en las muestras cervicales de mujeres embarazadas que acudieron a consulta en la sala prenatal del hospital tipo I “Temblador”.

Resultado	Nº	Prevalencia (%)
VPH 11	10	16,9
VPH 6	2	3,4
VPH 16	2	3,4
VPH 31	1	0,4
TOTAL	15	25,4

En la figura 1, se muestran los fragmentos amplificados por PCR para VPH 11, 6, 16 y 31 visualizados en gel de agarosa al 3%. En la figura 1 A se observa que la muestra (M) amplificó un fragmento igual al fragmento de VPH 11 (C+). Aquí el control positivo muestra los fragmentos de los VPH 18, 16, 11 y 6, mientras que el control interno (Ci) y la muestra negativa solo amplificaron los fragmentos propios del control interno. En las figuras 1B, 1C y 1D también se observa solo la amplificación de los fragmentos del control interno en estas muestras negativas. En las figuras 1B y 1C los controles positivos amplificaron los fragmentos típicos de los VPH 18, 16, 11 y 6 mientras que en la figura 1D los fragmentos de los VPH 35, 33 y 31. En estas figuras se observa que las muestras

analizadas (M) amplificaron tanto el fragmento del control interno como los fragmentos para los VPH 16, 6 y 31, respectivamente.

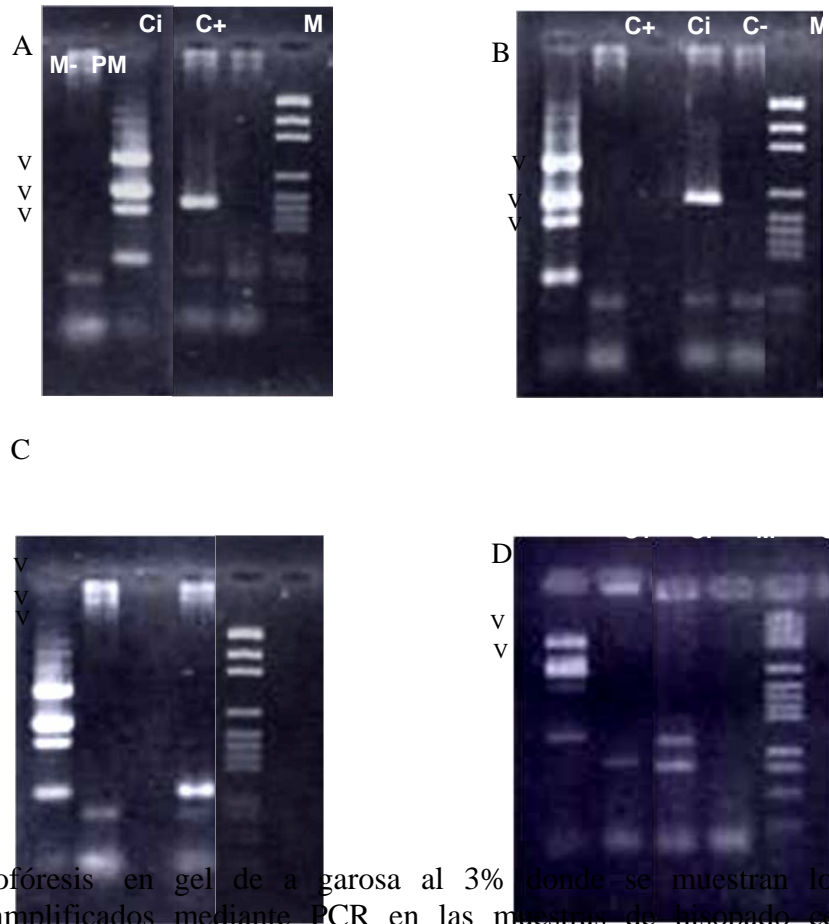


Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa al 3% donde se muestran los fragmentos para cada tipo de VPH amplificados mediante PCR en las muestras de hisopado cervical de las mujeres embarazadas atendidas en la sala prenatal del hospital tipo I “Temblador”. A: VPH 11, B: VPH 16, C: VPH 6, D: VPH 31, C+: Control Positivo, Ci: Control interno, C-: Control negativo, M: Muestra estudiada, M-: Muestra negativa y PM: Marcador de peso molecular (1Kbp ladder, Promega)

Los primers utilizados para la amplificación de los tipos de VPH amplifican una región que codifica los genes E6-E7 de la primera región genómica del virus. Las proteínas codificadas por estos genes juegan un papel mayor en la progresión del carcinoma de las células del cuello uterino. El oncogén E6 induce la inactivación del gen p53 de la célula hospedera, el cual es responsable de activar los genes p21 y GADD45 que intervienen en la reparación del ADN para evitar transmisión de mutaciones. También puede inducir la apoptosis en células que han sufrido daño mayor en el ADN. Por su parte, la proteína del oncogén E7 se asocia a la del gen humano pRb, liberando al factor de transcripción E2F que activa la expresión de genes que estimulan la síntesis del ADN en la célula. Si

esta activación de la replicación coincide con la inactivación de p53, entonces la célula que posee mutaciones puede replicar el ADN viral e induce la división descontrolada de las células hospedadoras, implicando una progresión al cáncer (Motoyama *et al.*, 2004).

La tabla 3, muestra las características clínicas observadas en el estudio citológico (Papanicolaou) de las muestras cervicales analizadas, observándose que en ninguna de ellas se pudo detectar la presencia del virus, esto probablemente se deba a que el virus esta presente pero aún no ha mostrado manifestaciones clínicas.

La mayoría de las mujeres cursaron con inflamación (34/59) (57,6%) y sólo se obtuvieron 3 citologías con LIE de las cuales una fue de alto grado, la cual correspondió a una paciente con infección por VPH tipo 16 y las otras 2 citologías con LIE fueron de bajo grado una con VPH tipo 16 y la otra con VPH tipo 31. Se pudo observar que las 3 mujeres embarazadas que presentaron LIE están infectadas con los tipos de VPH de alto riesgo (16 y 31).

Tabla 3. Características clínicas observadas en el examen citológico de las muestras cervicales de mujeres embarazadas que acudieron a consulta en la sala prenatal del hospital tipo I “Temblador”.

<b>Característica</b>	<b>Nº</b>	<b>Frecuencia (%)</b>
Inflamación	34	57,6
Infección bacteriana	7	11,8
Infección por hongos	3	5,1
LIE bajo grado	2	3,4
LIE alto grado	1	1,7
Citología normal	20	33,8

Se pudo observar en este estudio que todas aquellas mujeres embarazadas que presentaron infección por VPH cursaron con inflamación, aunque esta asociación no fue estadísticamente significativa (tabla 3).

Los datos reportados en la tabla 4 muestran el análisis estadístico de la asociación entre la infección por VPH y los diferentes factores de riesgo estudiados en las encuestas aplicadas a dichas pacientes.

De las variables estadísticas estudiadas (tabla 4), solo el factor edad resultó ser significativo ( $p=0,003$ ), lo que establece que de acuerdo al cálculo de la razón del prevalencia (OR) las mujeres embarazadas mayores de 26 años tienden a ser 6,8 veces más susceptibles de presentar infección por VPH que las mujeres de menor edad.

Tabla 4. Análisis de regresión logística binaria entre la presencia de VPH y los diferentes factores de riesgo estudiados, en muestras cervicales de mujeres embarazadas que acudieron a consulta en la sala prenatal del hospital tipo I “Temblador”.

<b>Factores de riesgo</b>	<b>p</b>
Nº de embarazos	0,369
Edad de primer embarazo	0,713
Edad de la primera relación sexual	0,838
Nº de parejas sexuales	0,684
Edad	0,003
Infección	0,137
Inflamación	0,905
Fuma	0,549
Uso de anticonceptivo oral	0,579
Uso de preservativo	0,800

No significativo:  $p > 0,05$

La tabla 5 muestra el análisis estadístico de la asociación entre la infección por VPH tipo 11 y los diferentes factores de riesgo, siendo este tipo de VPH el que mas se encontró en los hisopados cervicales procesados por PCR.

Al igual que en la tabla 4, se puede observar que la edad es el único factor que muestra un resultado estadísticamente significativo ( $p=0,014$ ), lo que nos permite establecer que las mujeres embarazadas mayores de 26 años son 6,5 veces más propensas a presentar infección por VPH tipo 11 que las de menor edad, calculado de la razón del prevalencia (OR) con el programa SPSS.

Tabla 5. Análisis de regresión logística binaria entre la presencia de VPH tipo 11 y los diferentes factores de riesgos estudiados, en muestras cervicales de mujeres embarazadas que acudieron a consulta en la sala prenatal del hospital tipo I “Temblador”.

<b>Factores de riesgo</b>	<b>Presencia de VPH 11</b>
Nº de embarazos	0,059
Edad de primer embarazo	0,748
Edad de la primera relación sexual	0,240
Nº de parejas sexuales	0,205
Edad	0,014
Infección	0,347
Inflamación	0,811
Fuma	0,588
Uso de anticonceptivo oral	0,180
Uso de preservativo	0,906

No significativo:  $p > 0,05$

Es importante señalar que aunque todos los VPH tipo 11 presentaban procesos inflamatorios no hubo asociación estadísticamente significativa

## DISCUSIÓN

Se ha postulado que los cambios fisiológicos e inmunológicos que ocurren en el epitelio cervical durante el embarazo predisponen a un incremento del riesgo de infección por VPH y su progresión (Armbruster-Moraes *et al.*, 2000). También se ha informado que mujeres infectadas con VPH muestran mayor persistencia y progresión de la infección durante y después del embarazo; sin embargo, no se encuentran bien documentados los mecanismos por medio de los cuales el embarazo modifica el riesgo de la infección y la persistencia y progresión a lesiones clínicas (Arena *et al.*, 2002; Nobbenhuis *et al.*, 2002)

En este estudio se encontró una prevalencia de infección por VPH de 25,4 % que es una cifra similar a las informadas por Fife *et al.* (1996) (29,5%) que realizaron un estudio comparativo de infección por VPH en mujeres embarazadas. Sin embargo, este mismo estudio evaluó a pacientes de clínicas de enfermedades de transmisión sexual y pacientes de consulta ginecológica, encontrando que estos dos grupos presentaron una prevalencia de VPH menor (17,7% y 18,6% respectivamente) que en las pacientes embarazadas. En otro estudio, Hernández *et al.* (2005) encontró una prevalencia un poco mayor (37,2%), en mujeres embarazadas que asisten al instituto mexicano del seguro social (IMSS) en el estado de Morelos.

La prevalencia de infección por VPH en la población rural de temblador (25,4%), mostró concordancia con la prevalencia de infección por VPH encontrada por Figueroa (2003); quien también estudio 2 poblaciones rurales del estado Monagas: Isla de Guara y Azagua, en donde encontró prevalencias de 28,3% y 30,0% respectivamente, en mujeres con edades comprendidas entre 15 y 45 años que acudieron a consultas ginecológicas en los principales centros de salud, a las cuales se les practicó examen ginecológico y estudio citológico de cuello uterino entre los meses de julio a septiembre del año 2003.

Sin embargo, estas prevalencias son bastante inferiores a las reportadas en poblaciones urbanas del oriente de Venezuela. En este sentido, Correnti *et al.* (2002) establecen un 85% de prevalencia de infección por VPH en el oriente de Venezuela. De igual manera, Moreno (1999) y Romero (1999) mostraron prevalencias de 71,11 y 68,89% en pacientes de cinco grupos etarios y condición socio-



económica baja, atendidas en el Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” y en pacientes de condición socio-económica media-alta atendidas en clínica privadas, respectivamente, ambas de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Sin embargo, Oliveros (1999) encontró una prevalencia menor de 46,66% en pacientes atendidas en el ambulatorio “Cruz Salmerón Acosta” de la península de Araya, estado Sucre. Todos estos estudios permiten establecer la existencia de una alta prevalencia de infección por VPH en el oriente de Venezuela, pero mayor en zonas urbanas que en las rurales.

El tipo de VPH más común encontrado en este estudio fue el tipo 11 (16,9%) seguido de los tipos 6, 16 y 31 (3,4%, 3,4% y 1,7% respectivamente), observándose una mayor prevalencia de infección por los VPH de bajo riesgo oncogénico. Esto difiere de lo expuesto por Hernández *et al.* (2005) que establecieron una mayor prevalencia de infección por VPH de alto riesgo (37,2%) en las mujeres embarazadas estudiadas. Igualmente difiere de lo expresado por Correnti *et al.* (2002) que obtuvieron una mayor prevalencia de infección por VPH tipo 16 en una población de mujeres estudiantes con edades comprendidas entre 16 y 35 años atendidas en el servicio de obstetricia y ginecología de la organización de bienestar estudiantil de la Universidad Central de Venezuela.

En este estudio se observó que la presencia de infección por VPH con relación a la mayoría de los factores de riesgo estudiados no mostraron asociación estadísticamente significativa, a excepción de la edad de las pacientes, que mostró que las mujeres embarazadas mayores de 26 años tienden a ser 6,8 veces más susceptibles de presentar infección por VPH y de igual manera son 6,5 veces más propensas a adquirir infección por VPH tipo 11, esto difiere de lo expresado en el estudio realizado por Hernández *et al.* (2005) donde informan una mayor prevalencia de VPH en mujeres embarazadas menores de 26 años.

Morrison *et al.* (1996) observaron un mayor riesgo de infección por VPH en quienes iniciaron su vida sexual antes de los 17 años, cuando estudiaron una población de 189 mujeres que acudieron a consulta en el Hospital Central de la ciudad de Nueva York. En el presente estudio, en cambio, no se encontró asociación positiva con este factor y la infección por VPH.

Las mujeres que refirieron el uso de condón en sus parejas como método anticonceptivo no presentaron infección por VPH, lo que difiere de lo informado por Hernández *et al.* (2005) quienes reportaron un 74% más de posibilidades de tener infección por VPH en aquellas mujeres que refieren el

uso de preservativos, lo que podría ser variable indicadora de comportamiento sexual (múltiples parejas).

Quienes indicaron más de 2 parejas sexuales no presentaron mayor riesgo de infección por VPH a diferencia de otros estudios como el de Kjellber *et al.* (2000) que informaron un riesgo de hasta 5 veces mayor en quienes indicaron 2 o más parejas sexuales en su vida en una población de estudio de casos y controles en el condado de Västerbotten, Suecia del Norte, de 137 mujeres con un alto grado de neoplasia intraepitelial cervical (CIN 2-3). Hangensee *et al.* (1999) señalaron también una asociación entre el número de parejas sexuales y la infección por VPH en embarazadas (2-5 parejas sexuales).

Aunque se ha estudiado el efecto carcinogénico del hábito tabáquico, que puede afectar la respuesta inmune del epitelio cervical, se acepta que también está relacionado con estilos de vida. Este estudio no encontró asociación significativa de hábito tabáquico y la infección por VPH, lo que difiere de lo expresado por Chang *et al.* (1996) quienes informaron un mayor riesgo de infección por VPH en aquellas mujeres que fuman más de 20 cigarrillos al día, este estudio fue realizado en una población de 108 embarazadas y 192 mujeres no embarazadas para determinar los efectos del embarazo y otros factores sobre la detección de infección por VPH (RM =1,8; IC 95% 0,7-4,5). Kjellberg *et al.* (2000) informan de un mayor riesgo en fumadoras de 1-4, 5-14 y más de 14 cigarrillos al día.

En cuanto a la edad de la menarquia, se observó que no hubo relación significativa de esta variable con la infección por VPH. Hernández *et al.* (2005) tampoco encontró asociación entre la edad de la menarquia y la infección por VPH.

Es importante señalar que ninguna de las mujeres que presentaron infección por VPH mostraron cambios citológicos característicos de esta infección, esto probablemente debido a que el virus se encuentra en forma latente, por lo tanto no se producen cambios a nivel epitelial, de este hecho se puede decir que no es confiable diagnosticar infección por VPH por el método citológico convencional (Papanicolaou). Por lo tanto la PCR mostró ser una técnica mucho más sensible para el diagnóstico de VPH ya que permite detectar el virus en lesiones latentes o subclínicas, e identificar pacientes que presentan infección con tipos de VPH que poseen un potencial oncogénico, y por lo tanto, un alto riesgo de desarrollar cáncer cervical.

## CONCLUSIONES

Se pudo establecer que el diagnóstico de VPH por citología de cuello uterino no permite detectar al virus en estadio temprano, ya que ninguna de las pacientes con VPH mostró cambios sugestivos en el estudio citológico.

El tipo de VPH más frecuente encontrado en este estudio fue el tipo 11, el cual es de bajo riesgo carcinogénico y los tipos de alto riesgo tuvieron una prevalencia baja.

En la población estudiada se encontró que las mujeres embarazadas mayores de 26 años tienen mayor riesgo de presentar infección por VPH.

Aunque se consideró un tamaño de muestra aceptable para este estudio, la mayoría de las variables estudiadas no mostraron asociaciones estadísticas significativas con infección por VPH. Esto podría resolverse si se incrementa el número de embarazadas en estudios futuros.

## **RECOMENDACIONES**

Se recomienda que el Papanicolaou se debe realizar en la primera visita prenatal y otra a las seis semanas postparto. Para así mantener un control en esta población.

También es recomendable que todas aquellas mujeres que resultaron positivas a VPH se realicen estudio citológico de 6 meses a un año para llevar un control de la progresión de las lesiones y de esta forma evitar la aparición del cáncer de cuello uterino.

De igual forma se recomienda realizar charlas, jornadas, que hagan referencia a la existencia del virus en la región, a fin de concientizar a la colectividad, sobre el problema de salud pública que la misma implica para esta comunidad.

## BIBLIOGRAFÍA

- Arena, S.; Marchoni, M.; Ubertosi, M.; Frega, A.; Arena, G.; Villani, C. 2002. HPV and pregnancy: diagnosis, methods, transmission and evolution. *Journal Minerva Gynecology*, 54(3): 225-237.
- Armbruster-Moraes, E.; Loshimoto, L.; Leao, E.; Zugaib, M. 2000. Prevalence of high-risk HPV in the lower genital tract of Brazilian gravidas. *International Journal Gynecology and Obstetric*, 69(3): 223-227.
- Broker, T. 1987. Estructura y expresión genética de los papilomavirus. *Clínicas de Ginecología y Obstetricia Temas Actuales*, 2: 230-242.
- Burrow, G. y Ferris, T. 1996. *Complicaciones médicas de embarazo*. Médica Panamericana. Madrid.
- Campion, M.; Greenberg, M. y Kazamel T. 1996. Manifestaciones clínicas y evolución natural de las infecciones genitales por virus de papiloma humano. *Clínicas de Ginecología y Obstetricia Temas Actuales*, 4: 540-568.
- Chang, J.; Schneider, A.; Smith, E.; Blettner, M.; Wahrendorf, J. y Turek, L. 1996. Longitudinal study of the effects of pregnancy and other factor on detection of HPV. *Gynecologic Oncology*, 60: 355-362.
- Correnti de Plata, M.; Alfonzo, B.; Cavazza, M. y Lozada, C. 2002. La infección por el VPH: un problema de salud pública en Venezuela. *Vitae: Academia Biomédica Digital*, 13: 987-1317
- Costa, S.; Syrjanen, S. y Vendra, C. 1995. Human papillomavirus infection in vulvar precancerous lesions and cancer. *Journal Medical*, 40(4): 291-298.
- D'alessio, M. 2000. Detección e identificación del virus de papiloma humano en compañeros sexuales de mujeres portadoras del virus mediante reacción en cadena de la polimerasa. Cumaná, estado Sucre. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Fife, K.; Katz, P.; Roush, J.; Handy V.; Brown, D. y Hansell, R. 1996. Cancer associated human papillomavirus types are selectively increased in the cervix of women in the first trimester of pregnancy. *American Journal Obstetric and Gynecology*, 174: 1487-1493.
- Figueroa, A. 2003. Estudio comparativo de la incidencia del virus del papiloma humano (VPH) en mujeres que habitan las comunidades isla de Guara y Azagua, estado Monagas. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Hernández, C.; Smith, J.; Lorincz, A.; Arreola, E.; Lazcano, E.; Hernández, M. y Salmeron, J. 2005. Prevalencia de infección por virus de papiloma humano (VPH) de alto riesgo y factores asociados en embarazadas derechohabientes del IMSS en el estado de Morelos. *Sexually Trasmitted Diseases*, 32: 613-618.

Hernández, D.; Apresa, T.; Alvarado, I.; García, A.; Guido, M.; González, J.; Cruz, F.; Martínez, O.; Ornelas, L. y Muñoz, S. 2002. Virus de papiloma humano de alto riesgo y neoplasia intraepitelial cervical en mujeres de dos hospitales de la ciudad de México. *Revista de Investigación Clínica*, 54: 299-306.

Jenson, B.; Kurman, R. y Lancaster, W. 1987. Efectos titulares y respuestas del huésped a la infección humana por papilomavirus. *Clínicas de Ginecología y Obstetricia Temas Actuales*, 2: 299-306.

Kjellberg, L.; Hallmans, G.; Ahren, A.; Johansson, R.; Bergman, F. y Wadel, G. 2000. Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *British Journal of Cancer*, 82(7): 1332-1338.

Loricz, A.; Reid, R. y Jenson, A. 1992. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstetrics and Gynecology*, 79: 329-370.

Meisels, A.; Forlin, R. y Roy, M. 1997. Condylomatous lesions of the cervix II. Cytology, colposcopy and histopatologic study. *Acta Cytological*, 21: 379-389.

Melo, A.; Montenegro, S.; Hooper, T.; Capurro, I.; Roa, J. y Roa, I. 2003. Tipificación del virus de papiloma humano (VPH) en lesiones preneoplásicas y carcinoma del cuello uterino en mujeres de la IX región-Chile. *Revista Médica de Chile*, 131: 1382-1390.

Melo, A.; Roa, I.; Capurro, I. y Roa, J. 2005. Estudio comparativo de detección del virus papiloma humano (VPH) en muestras citológicas y biopsias de cuello uterino. *Revista Médica de Chile*, 133: 639-644.

Moreno, M. 1999. Evaluación de la presencia del virus de papiloma humano (VPH) en el cuello uterino de pacientes de cinco grupos etarios y condición socio-económica baja, atendidas en el hospital universitario "Antonio Patricio Alcalá", Cumaná, estado Sucre. Tesis de pregrado. Departamento de biología. Universidad de Oriente, Cumaná.

Morrison, E.; Gammon, M.; Goldberg, G.; Vermund, S. y Burk, R. 1996. Pregnancy and cervical infection with human papillomaviruses. *International Journal Gynecology and Obstetric*, 54(2): 125-130.

Motoyama, S.; Ladines-Llave, C.A.; Villanueva, S.L. y Maruo, T. 2004. The Role of Human Papilloma Virus in the Molecular Biology of Cervical Carcinogenesis. *Kobe Journal of Medical Science*, 50(1): 9-19.

Muñoz, N.; Bosch, F.; Sanjosé, S.; Valadul, P. y Tormo, J. 1993. El virus del papiloma humano en la etiología del cáncer cervicouterino. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 115(84): 301-308.

Nobbenhuis, M.; Helmorhorst, T.; Van den Brule, A.; Bezemer, P.; Voorhorst, F. y Meijer, C. 2002. High-risk human papilloma clearance in pregnant women: trends for lower clearance during pregnancy with a catch-up postpartum. *British Journal of Cancer*, 85: 75-80.

Oliveros, A. 1999. Evaluación de la presencia del virus de 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.

Romero, M. 1999. Evaluación de la presencia del virus de papiloma humano (VPH) en el cuello uterino de pacientes de condición socio-económica media-alta atendidas en clínica privadas de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Tesis de pregrado. Departamento de Biología. Universidad de Oriente, Cumaná.

Saragoni, A.; Medri, L.; Bacci, F.; Padovani, F.; Sabattini, E.; Nanni, O. y Gaudio, M. 1992. Valore della tecnica di ibridizzazione *in situ* nella diagnosi delle infezioni da papilloma virus umano de aspetti morfologici. *Patologica*, 84: 57-66.

Satz, L. Y Kornblihtt, A. 1993. La reacción en cadena de la polimerasa: el método y sus aplicaciones. *Ciencia Hoy*, 4: 120-131.

Sierra, C.; Acosta, M. y Orejuela, L. 2003. Papilomavirus y factores asociados a neoplasia intraepitelial cervical de alto grado en Cauca, Colombia. *Revista de Salud Pública*, 8: 32-42.

Sokal, R. y Rohlf, F. 1981. *Biometría: principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. Blume, Madrid.

Syrjanen, K. 1994. Human papillomavirus in genital carcinogenesis. *Sexually Transmitted Diseases*, 21(2): 86-89.

The Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diagnosis.1993. *Acta Cytological*, 37: 115-124.

Tjoung-Won, P.; Hisayou, F. y Wright, T. 1995. Molecular biology of cervical cancer and its precursor. *Cáncer*, 76(10): 1902-1913.

# ANEXOS

## Anexo 1

### Consentimiento válido

Bajo la coordinación del profesor Juan Carlos Merheb asesor académico del Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, se realizará el proyecto de investigación titulado: prevalencia de infección por virus de papiloma humano (VPH) en mujeres embarazadas en la población de temblador, estado Monagas, entre enero-abril 2008.

Yo: \_\_\_\_\_

C.I: \_\_\_\_\_ Nacionalidad: \_\_\_\_\_

Estado Civil: \_\_\_\_\_ Domiciliado en: \_\_\_\_\_

En uso pleno de mis facultades mentales sin que medie coacción, ni violencia alguna, en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio indicado, declaro mediante la presente:

1. Haber sido informado de manera clara y sencilla por parte del grupo de investigadores de este proyecto, de todos los aspectos relacionados con el proyecto de investigación titulado: prevalencia de infección por virus de papiloma humano (VPH) en mujeres embarazadas en la población de temblador, estado Monagas. enero-abril 2008.
2. Tener conocimiento claro del objetivo del trabajo.
3. Conocer bien el protocolo experimental expuesto por el investigador, en el cual se establece que mi participación en el trabajo consiste en: donar de manera voluntaria una muestra cervico vaginal, la cual se me tomará mediante la técnica citológica exo-endocervical, para la cual debo estar en posición ginecológica para la posterior inducción de un espéculo estéril, realizando una toma de muestra con una espátula de Ayre rotándola 360 grados para la obtención de muestra a nivel de exocervix y la toma de muestra de endocervix será realizada utilizando un hisopo de algodón, por una persona capacitada y autorizada por el coordinador del proyecto.



4. Que la muestra que acepto donar será utilizada única y exclusivamente para detección y tipificación de VPH.
5. Que el equipo de personas que realiza esta investigación me ha garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi identidad como a cualquier otra información relativa a mi persona a la que tenga acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado.
6. Que bajo ningún concepto podré restringir el uso para fines académicos de los resultados obtenidos en el presente estudio
7. Que mi participación en este estudio no implica riesgo para mi salud
8. Que cualquier pregunta que tenga en relación con este estudio me será respondida oportunamente por parte del equipo de personas antes mencionadas.
9. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendido recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto de investigación.

#### Declaración del voluntario

Luego de haber leído, comprendido y aclaradas mis interrogantes con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto mi participación en este estudio es totalmente voluntaria por tal motivo acuerdo:

1. Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigadores a realizar el diferido estudio en la muestra cervico vaginal que acepto donar para los fines indicados anteriormente.
2. Reservarme el derecho de revocar esta autorización y donación en cualquier momento sin que ello conlleve algún tipo de consecuencia negativa para mí.

Firma del voluntario:

Nombre y apellido:

C.I:

Lugar:

Fecha:

## Declaración del investigador

Luego de haber explicado detalladamente al voluntario la naturaleza del protocolo antes mencionado, certifico mediante la presente que, a mi leal saber, el sujeto que firma este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación en este estudio. Ningún problema de índole médica, de idioma o de instrucción ha impedido al sujeto tener una clara comprensión de compromiso con este estudio.

Por el proyecto,

Nombre: \_\_\_\_\_

Lugar y fecha: \_\_\_\_\_

## Anexo 2

Universidad de Oriente  
Núcleo de Sucre  
Escuela de Ciencias  
Departamento de Bioanálisis

### Encuesta clínica y epidemiológica:

Nombre: \_\_\_\_\_ N°: \_\_\_\_\_

Lugar de residencia: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

N° de parejas sexuales: \_\_\_\_\_

Edad de primera relación sexual: \_\_\_\_\_

Edad de la menarquia: \_\_\_\_\_

Edad de primer embarazo: \_\_\_\_\_

¿Cuantos embarazos ha tenido?: \_\_\_\_\_

¿Que método anticonceptivo utiliza?:

Anticonceptivos orales: \_\_\_\_\_ preservativo: \_\_\_\_\_

Coito interrumpido: \_\_\_\_\_ otros: \_\_\_\_\_ ninguno: \_\_\_\_\_

Tiempo de gestación: \_\_\_\_\_

¿Hábitos tabáquicos?: si \_\_\_\_\_ no \_\_\_\_\_

¿Ha adquirido infección por VPH antes del embarazo?: si \_\_\_\_\_ no \_\_\_\_\_

En caso afirmativo ¿hace cuanto tiempo lo adquirió?: \_\_\_\_\_

# Hoja de Metadatos

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

<b>Título</b>	<b>PREVALENCIA DE INFECCIÓN POR VIRUS DE PAPILOMA HUMANO (VPH) EN MUJERES EMBARAZADAS EN LA POBLACIÓN DE TEMBLADOR DE TEMBLADOR, ESTADO MONAGAS. ENERO-ABRIL 2008</b>
<b>Subtítulo</b>	

Autor(es)

<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Código CVLAC / e-mail</b>	
<b>Arias Aparicio Dayana Lizeth</b>	<b>CVLAC</b>	<b>16.712.727</b>
	<b>e-mail</b>	<b>Dayana2a@hotmail.com</b>
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	

Palabras o frases claves:

<b>VPH, prevalencia, mujeres embarazadas</b>

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
<b>Ciencias</b>	<b>Bioanálisis</b>

Resumen (abstract):

En el presente estudio se determinó la prevalencia de infección por VPH mediante estudio citológico (papanicolaou) y molecular (reacción en cadena de la polimerasa) en mujeres embarazadas de la población de Temblador, estado Monagas en el período enero-abril 2008, y sus posibles factores de riesgo. El estudio se realizó en muestras cervicovaginales de 59 mujeres embarazadas que acudieron a consulta en la sala prenatal del Hospital tipo I “Temblador”. De las 59 muestras analizadas todas resultaron negativas para VPH en el estudio citológico y 15 resultaron positivas por la técnica de PCR, obteniéndose una prevalencia de 25,4%. De las 15 muestras positivas 10 correspondieron al VPH 11, 2 al VPH 6, 2 al VPH 16 y 1 al VPH 31. En cuanto a la asociación de los factores de riesgo estudiados y la presencia de infección por VPH, se observó que sólo el factor edad mostró asociación estadísticamente significativa, observándose que las mujeres mayores de 26 años son 6,8 veces más susceptibles de presentar infección por VPH y son 6,5 veces más propensas a presentar infección por VPH tipo 11. Se pudo observar que en el estudio citológico solo 3 mujeres presentaron lesiones intraepiteliales (LIE), lo que coincidió con infección por VPH de alto riesgo en éstas mujeres. Queda establecido que el diagnóstico de VPH por citología de cuello uterino no permite detectar al virus en estadio temprano, ya que ninguna de las pacientes con VPH mostraron cambios característicos de esta infección en el estudio citológico, posiblemente debido a que el virus se encuentra presente de forma latente o subclínica, por lo tanto es más seguro diagnosticar la presencia del virus mediante la técnica de PCR ya que es un método muy sensible para evidenciar lesiones latentes o subclínicas, e identificar pacientes con tipos de VPH con potencial oncogénico.

Contribuidores:

<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>ROL / Código CVLAC / e-mail</b>	
<b>Merheb Juan</b>	<b>ROL</b>	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	<b>CVLAC</b>	<b>5.696.248</b>
	<b>e-mail</b>	<b>jmerheb@yahoo.com</b>
	<b>e-mail</b>	
<b>De Donato Marcos</b>	<b>ROL</b>	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	<b>CVLAC</b>	<b>7.259.865</b>
	<b>e-mail</b>	<b>Marcosdedonato@yahoo.com</b>
	<b>e-mail</b>	
<b>Rodriguez Yoleida</b>	<b>ROL</b>	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	<b>CVLAC</b>	<b>5.699.860</b>
	<b>e-mail</b>	<b>Yolirl@cantv.net</b>
	<b>e-mail</b>	
<b>Rada Guillermo</b>	<b>ROL</b>	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	<b>CVLAC</b>	<b>3.174.623</b>
	<b>e-mail</b>	<b>guillermorada@gmail.com</b>
	<b>e-mail</b>	

Fecha de discusión y aprobación:

<b>Año</b>	<b>Mes</b>	<b>Día</b>
<b>2009</b>	<b>03</b>	<b>11</b>

Lenguaje: Spa

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

Archivo(s):

<b>Nombre de archivo</b>	<b>Tipo MIME</b>
<b>Tesis_DA.doc</b>	<b>Aplication/Word</b>

Alcance:

**Espacial: Universal** (Opcional)

**Temporal: Intemporal** (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciada en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio: Bioanálisis

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

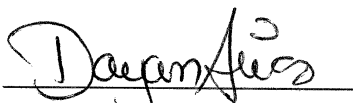
Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre



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

## Derechos:

Los autores nos reservamos los derechos de propiedad intelectual así como todos los derechos que pudieran derivarse de patentes industriales o comerciales. Solo le damos el derecho de publicar el resumen de dicho trabajo.



**Br. Dayana L. Arias A.  
AUTOR**



**Prof. Juan C. Merheb  
ASESOR**



**Prof. Marcos De Donato  
COASESOR**

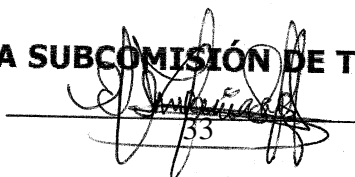


**Profa. Yoleida Rodríguez  
JURADO 1**



**Dr. Guillermo Rada  
JURADO 2**

**POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:**



53