



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DE LA SALUD**  
**IICS-UNA**

**Socialización de Estancia de  
vinculación de Científicos y  
Tecnólogos**



**CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA**  
**CONACYT**





# DETECCIÓN Y TIPIFICACIÓN DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO



## *Conceptos generales de los Virus de Papiloma Humano cutáneos. Detección y tipificación*

Bioq. Jessica Riveros

IICS-UNA

Instituto Malbrán

Tutor: Dra. Laura Mendoza

Tutor: Ma. Dra. Alejandra Picconi

Co-tutor: MSc. Adriana Valenzuela

Asesor técnico: Dra. Mariel Correa



# CONTENIDO



Item 1

**INTRODUCCIÓN**

Item 2

**OBJETIVOS**

Item 3

**MATERIALES Y MÉTODOS**

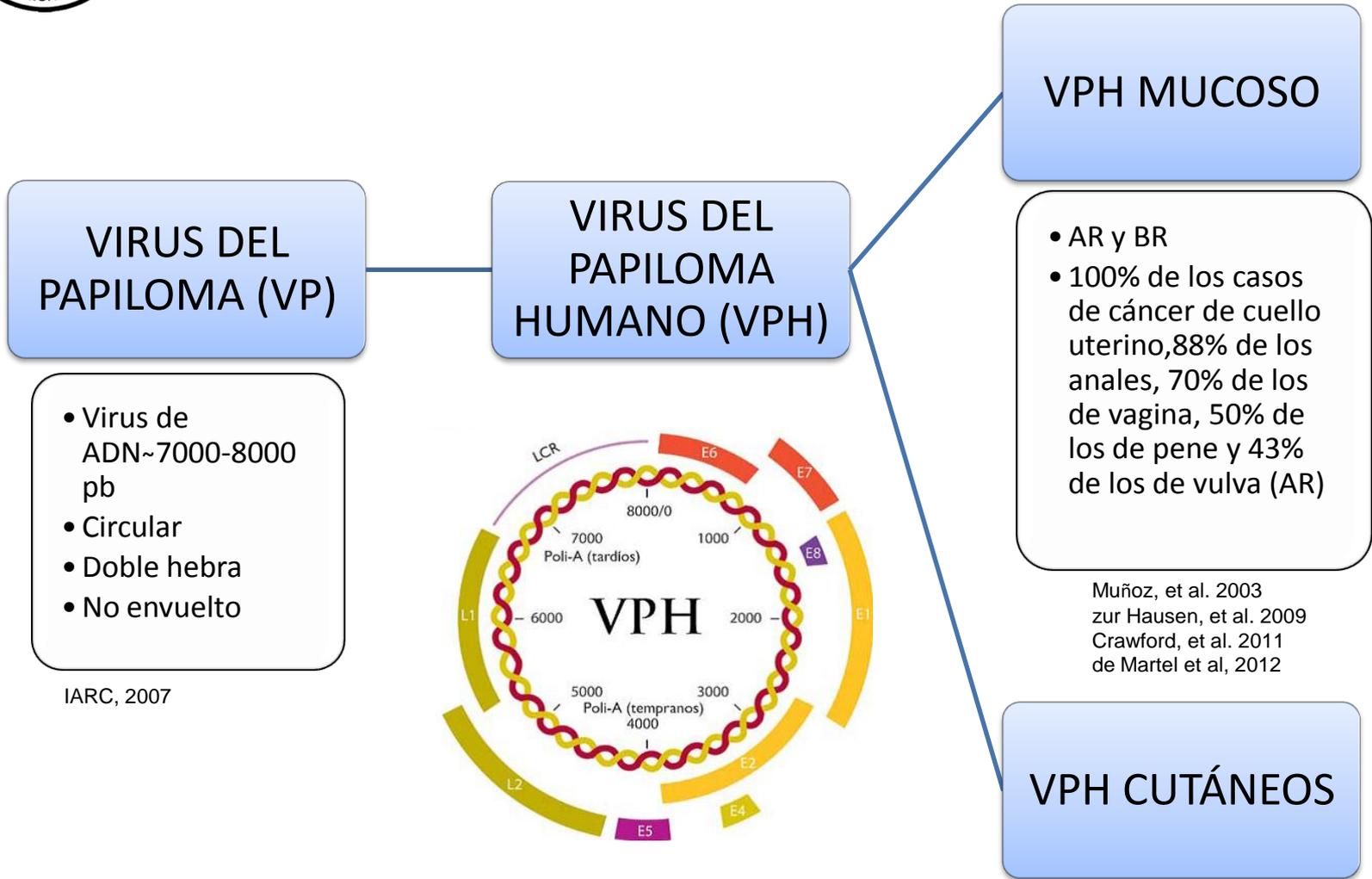
Item 4

**RESULTADOS**

Item 5

**PERSPECTIVA**

# VPH-Generalidades

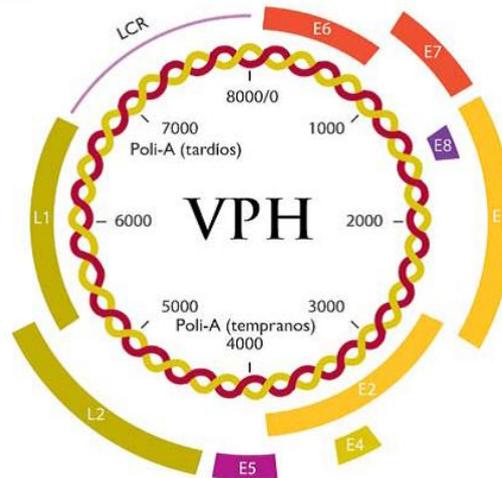


**VIRUS DEL PAPILOMA (VP)**

- Virus de ADN~7000-8000 pb
- Circular
- Doble hebra
- No envuelto

IARC, 2007

**VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH)**



**VPH MUCOSO**

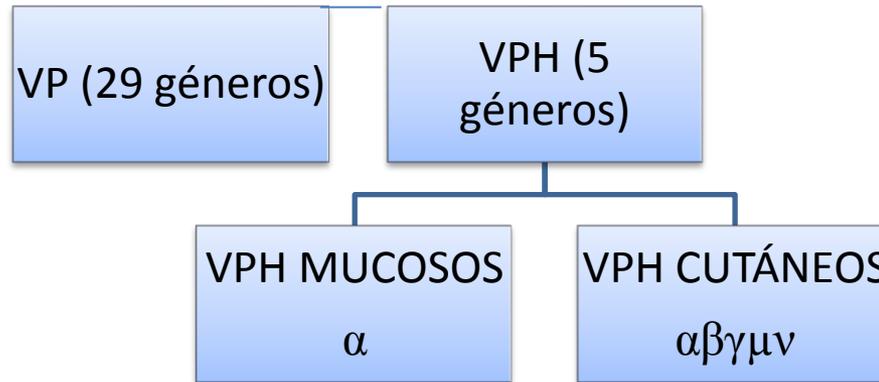
- AR y BR
- 100% de los casos de cáncer de cuello uterino, 88% de los anales, 70% de los de vagina, 50% de los de pene y 43% de los de vulva (AR)

Muñoz, et al. 2003  
zur Hausen, et al. 2009  
Crawford, et al. 2011  
de Martel et al, 2012

**VPH CUTÁNEOS**



# Virus del papiloma humano - Clasificación



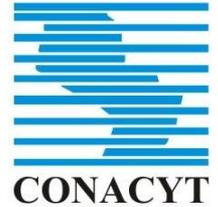
de Villiers. 2013  
Bernard, et al. 2010



- 201 Tipos:  $\alpha$  (65),  $\beta$  (51),  $\gamma$  (81),  $\mu$  (3),  $\nu$  (1).
- Los VPH mucosos han sido ampliamente estudiados, no así los VPH cutáneos.
- La detección de VPH cutáneos es engorrosa y su diversidad hace un tanto limitado su estudio.



# Primeras evidencias de los VPH cutáneos



Jablonska y col.,1972- detectaron VPH del género  $\beta$  en lesiones cutáneas de mujeres que padecían Epidermodisplasia verruciforme.

VPH del género  $\gamma$  fueron detectados en piel sana, lesiones cutáneas (cáncer de piel no melanoma, queratosis actínica y queratoacantomas)

de Martel, et al. 2012  
Ekström, et al. 2011  
Ma, et al. 2014  
Antonsson, et al. 2003  
Proby, et al. 2011  
Struijk, et al. 2003  
Neale, et al. 2013

Exposición a radiación estimularía la actividad cancerígena de estos virus .

Jackson, et al. 2000  
Muschik, et al. 2011

También fueron detectados en epitelio mucoso oral y nasal, cejas, pene, genitales con y sin lesión, y canal anal.

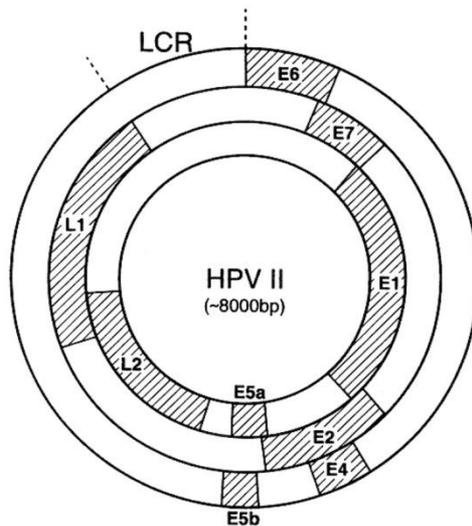
Bottalico, et al. 2011  
Forslund, et al. 2013  
Pierce Campbell, et al. 2013  
Sichero, et al. 2013



# VPH cutáneos- Generalidades



Brink, et al. 2005  
Nindl, et al. 2007

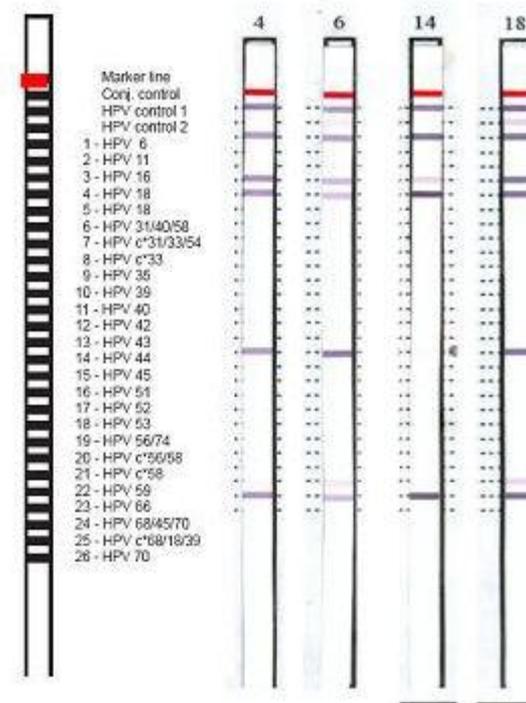


### Assigned Functions

- Replication
- Transcription Control
- Cellular Proliferation (Transformation)
- Capsid Proteins
- Cytokeratin Disruption

### Viral Proteins

- E1, E2
- E2
- E5, E6, E7
- L1, L2
- E4





# Hallazgos en áreas genitales con o sin lesión



	Población	Muestras analizadas	Resultados del estudio
Sichero y col., 2013	Hombres positivos para VPH tipo indeterminado (Brasil, México y USA)	Surco coronal, glande del pene, escroto	55% fueron tipificados 13,0% $\alpha$ 38,7% $\beta$ 2,0% $\gamma$
Sturegard y col., 2013	Hombres y mujeres (Suecia)	Condilomas en áreas genitales	42% fueron negativas para VPH mucoso y positivas para VPH del género $\beta$ (tipos 36, 49, 75, 80)
Pierce Campel y col., 2013	Hombres	Lesiones de genitales externos	Mayor prevalencia de coinfección con VPH mucoso tipo 6 u 11 con VPH $\beta$ . Coinfección de VPH mucoso tipo 16 o 18 y VPH $\beta$ en carcinoma de pene in situ.



# Distribución en canal anal

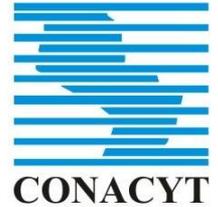


## Variación de frecuencia de VPH cutáneos según la población analizada

	Población	Muestras analizadas	Resultados del estudio
Torres y col., 2015	Hombres que tienen sexo con otros hombres (HSH)	Canal anal	59,1% $\beta$ , 57,7% $\gamma$
Donnà y col., 2013	HSH (Italia)	Canal anal	27,6% $\beta$ , 29,3% $\gamma$ .
Mlakar y col., 2014	HSH (Eslovenia)	Canal anal	65,2% VPH género $\beta$



# Co-infecciones VPH mucoso y cutáneo



	Población	Muestras analizadas	Resultados del estudio
Donnà y col., 2013	HSH con o sin VIH	Canal anal	Asociación entre : -Presencia de VPH mucoso tipo 16 y/o 18 con VPH cutáneo género $\beta$ ( $p=0,02$ )  - Presencia de VPH mucoso tipo 6 y /o 11 con cualquier VPH $\gamma$ (sólo en infectados con VIH)



# Importancia del estudio



Mayor parte de los estudios sobre VPH cutáneos están enfocados a HSH. No así en trabajadoras sexuales.

En Paraguay en el estudio de Valenzuela y col., 2015 detectaron en muestras de canal anal de trabajadoras sexuales una frecuencia de 36,1% de VPH-AR. No se dispone aún en el país de estudios de detección de VPH cutáneos.



# CONTENIDO



Item 1

**INTRODUCCIÓN**

Item 2

**OBJETIVOS**

Item 3

**MATERIALES Y MÉTODOS**

Item 4

**RESULTADOS**

Item 5

**PERSPECTIVA**



# OBJETIVO



Determinar la frecuencia de tipos VPH cutáneos en muestras de canal anal de mujeres trabajadoras sexuales por PCR seguida de hibridación reversa.



# CONTENIDO



Item 1

**INTRODUCCIÓN**

Item 2

**OBJETIVOS**

Item 3

**MATERIALES Y MÉTODOS**

Item 4

**RESULTADOS**

Item 5

**PERSPECTIVA**



## DISEÑO

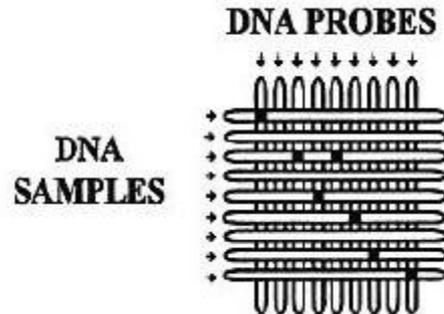
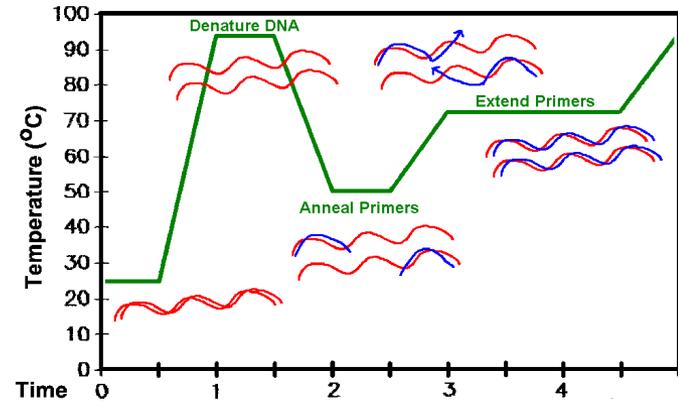
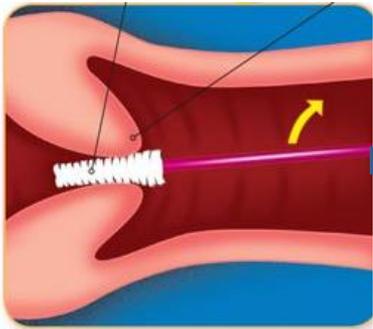
- Estudio transversal descriptivo

## SUJETOS

- **Población enfocada:** Mujeres trabajadoras sexuales a partir de 18 años de edad.
- **Población de accesible:** Mujeres trabajadoras sexuales a partir de 18 años de edad de la Organización Unidas en la Esperanza (UNES), incluidas en el marco del proyecto “Caracterización molecular del virus papiloma humano en cuello uterino y ano de trabajadoras sexuales del Paraguay” durante el periodo 2012-2016.



# Mediciones-esquema general

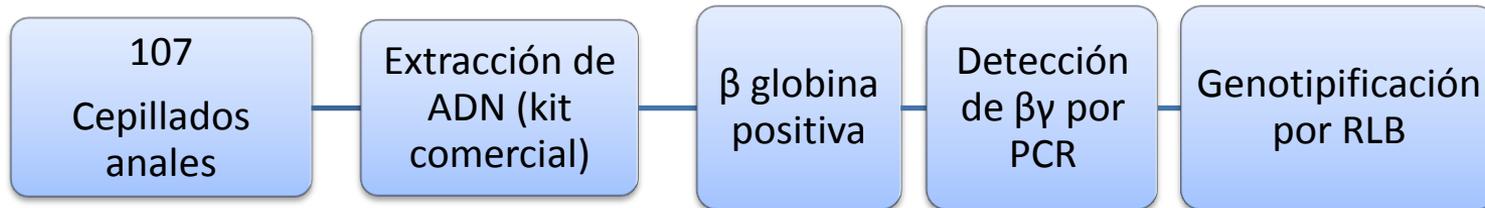




# Mediciones- Variables

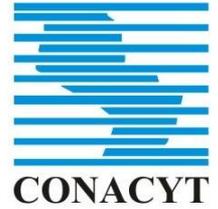


## Detección de VPH cutáneos en muestras de ano por BGC-PCR y tipificación por RLB- SECUENCIA DE TRABAJO





# Mediciones- Variables



## Detección de VPH cutáneos en muestras de ano por BGC-PCR tipificación por RLB

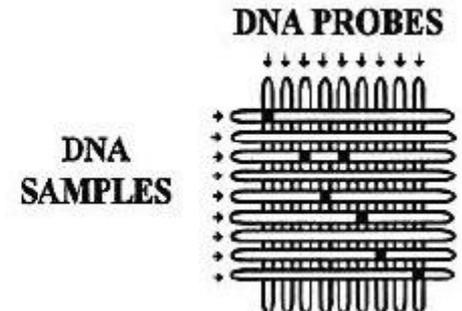
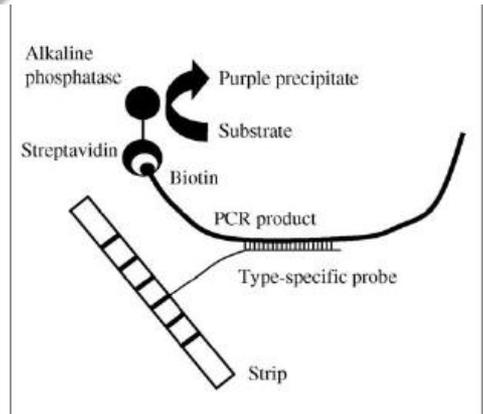
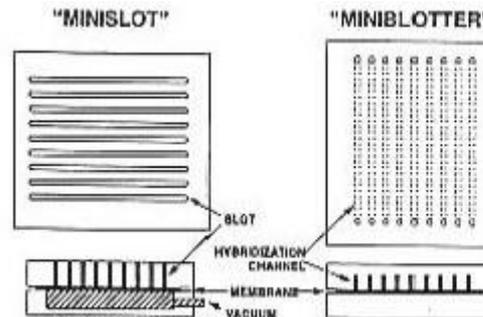
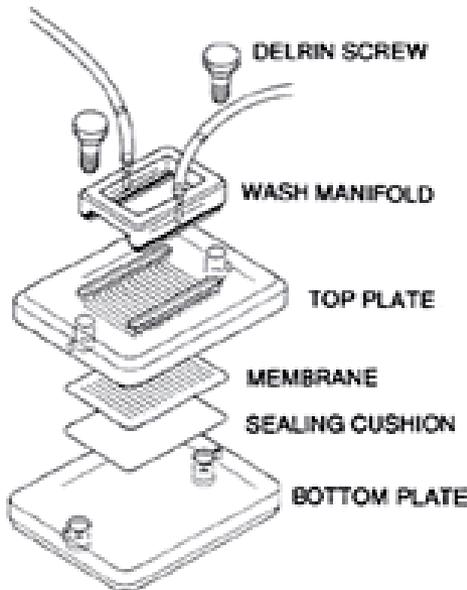
BGC-PCR

Amplificación del  
fragmento de 72 pb  
de la Región L1

RLB

Detección de 30 tipos  
de VPH (25 género  $\beta$  y  
5 género  $\gamma$ )

Brink, et al. 2005  
Nindl, et al. 2007





# CONTENIDO

Item 1

**INTRODUCCIÓN**

Item 2

**OBJETIVOS**

Item 3

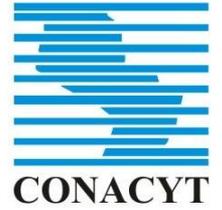
**MATERIALES Y MÉTODOS**

Item 4

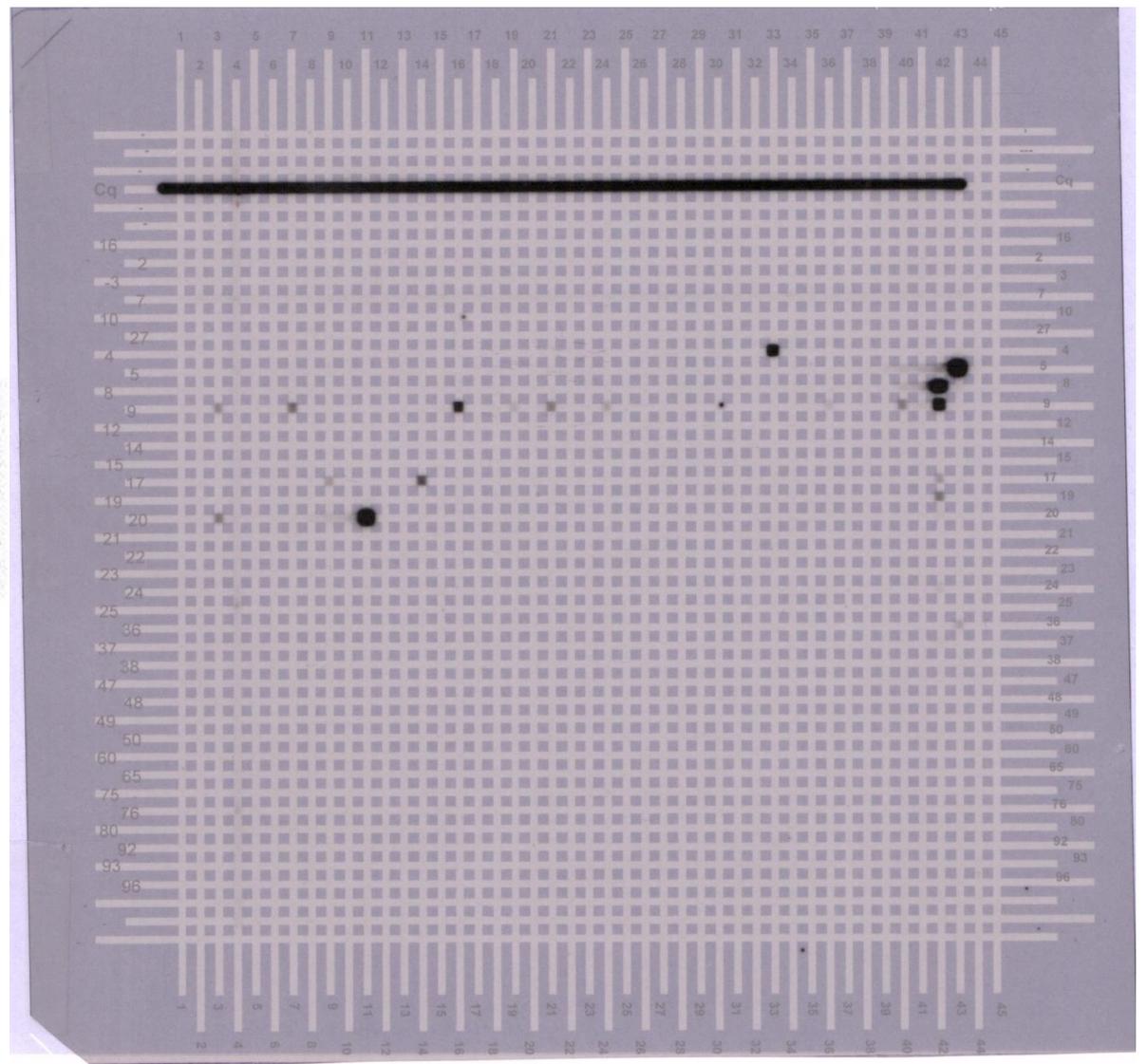
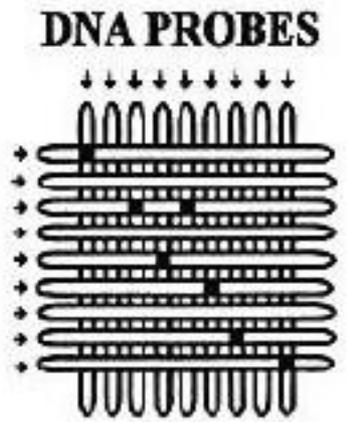
**RESULTADOS Y CONCLUSIONES**

Item 5

**PERSPECTIVA**

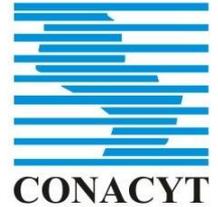


**DNA  
SAMPLES**

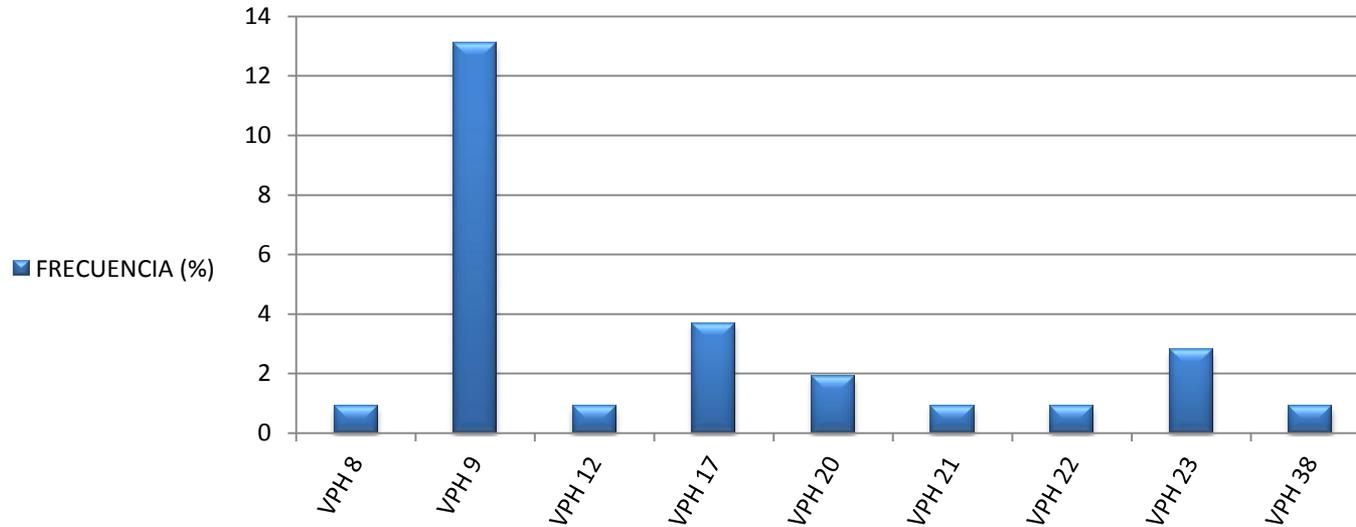




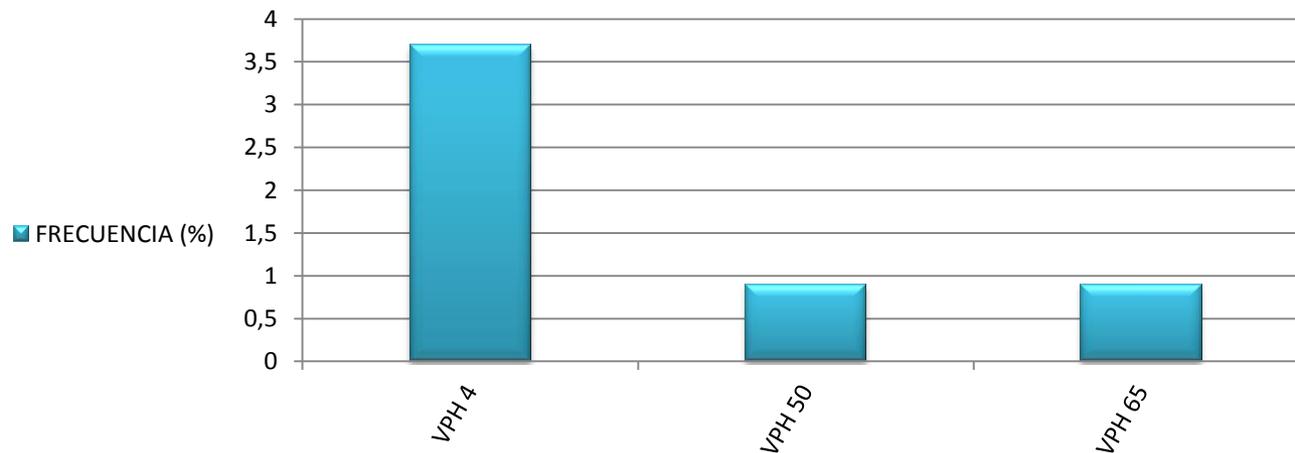
# Tipos de VPH según su Género



## VPH DEL GÉNERO BETA



## VPH DEL GÉNERO GAMMA



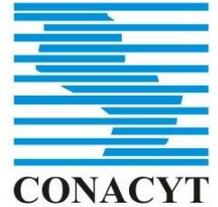


# CONCLUSIONES

- Se obtuvieron los primeros resultados que contribuyen al desarrollo de la tesis de maestría denominada **“Tipificación de virus del papiloma humano cutáneos en muestras de cepillado de canal anal de mujeres trabajadoras sexuales y caracterización de determinantes de la infección viral”**
- Se capacitó un recurso humano que colaborará con la implementación a futuro de dichas técnicas moleculares en el IICS



# CONTENIDO



Item 1

**INTRODUCCIÓN**

Item 2

**OBJETIVOS**

Item 3

**MATERIALES Y MÉTODOS**

Item 4

**RESULTADOS**

Item 5

**PERSPECTIVAS**



# Perspectivas



Contribuir con los primeros datos sobre distribución de tipos de VPH cutáneos en canal anal de trabajadoras sexuales y determinantes de estas infecciones.

Serviría como base para futuros estudios que analicen la distribución de estos tipos en diferentes sitios anatómicos en presencia o ausencia de lesión, de co-infecciones con VPH mucosos o en diferentes poblaciones.



# Agradecimientos



- AL CONACYT y a su equipo técnico
- Servicio de Virus Oncogénico- Departamento de Virología- Dr. Carlos Malbrán
- Departamento de Salud Pública IICS-UNA









**MUCHAS GRACIAS!!!**