



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DE LA SALUD

Socialización de Estancia de Vinculación de Científicos y Tecnólogos

Conceptos generales de los Virus de Papiloma Humano mucosos. Detección y tipificación

Bioq. Sandra Caballero Gómez

Tutor: Dra. Laura Mendoza

Co-Tutor: MSc. Pamela Mongelós

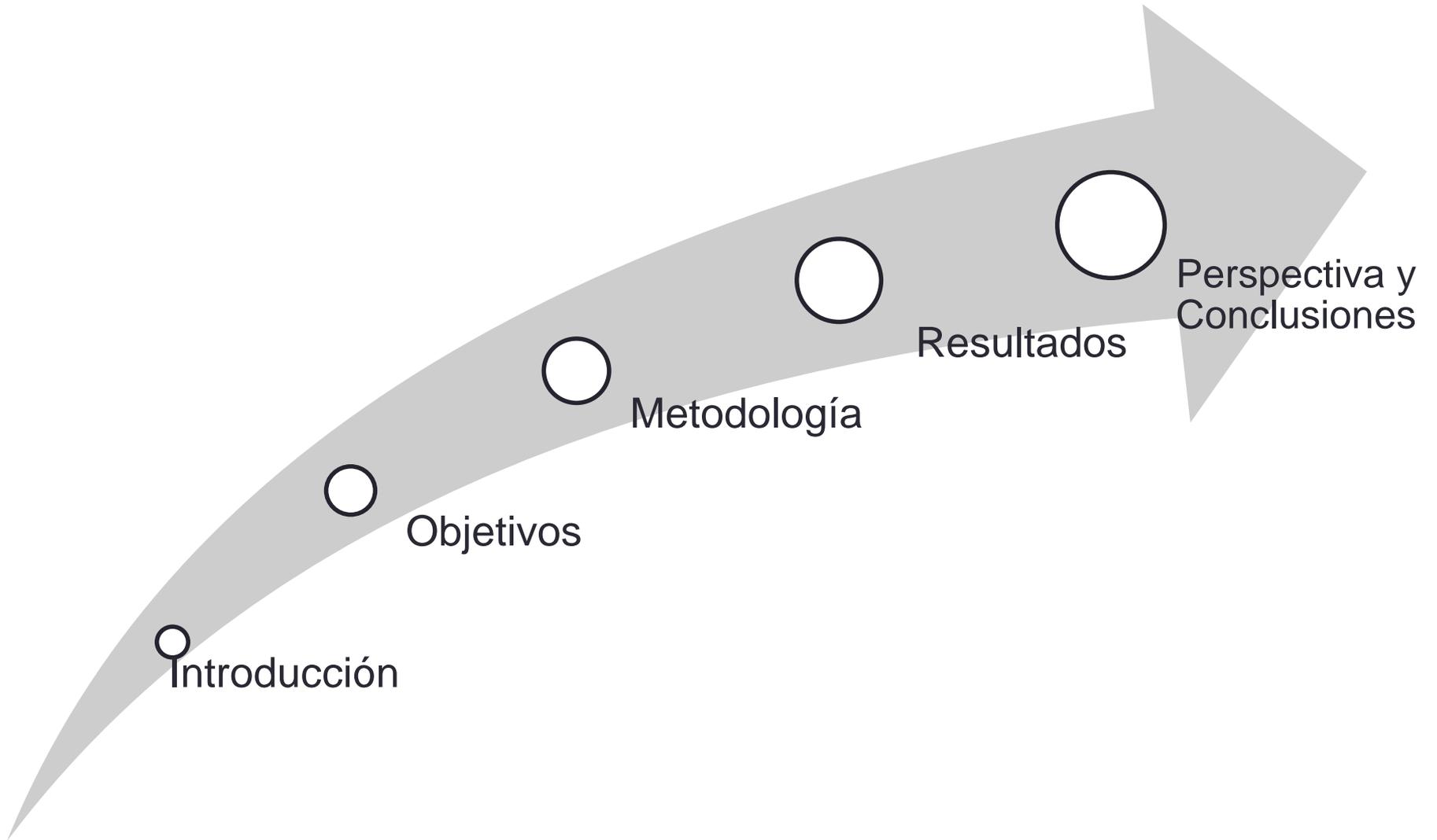
Tutor: Dra. Ma. Alejandra Picconi

Asesor Técnico: MSc. Jorge Basiletti



Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
CONACYT





Papiloma virus (VP)

Familia: *Papillomaviridae*
29 géneros. (de Villiers EM, et al; 2004; Bernard HU, et al; 2010)

Papiloma virus humano (VPH)

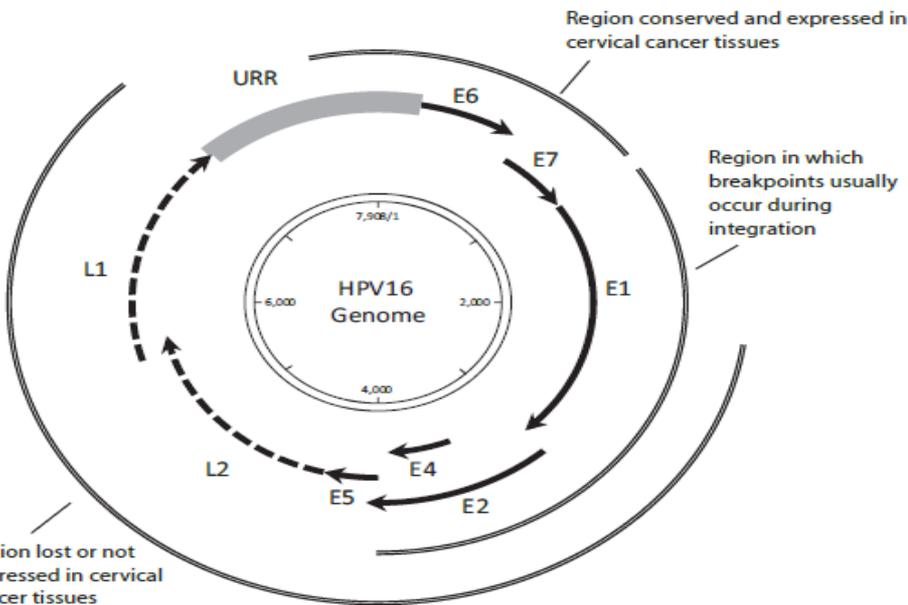
a) 5 géneros
b) Su genoma mide 7,9 kb y se divide en tres regiones: (Bernard HU, et al; 2010; IARC; 2007; Doorbar J, et al; 2012)

a) región URR (*upstream regulatory region*)
b) región temprana
c) región tardía (Burk RD, et al; 2009)

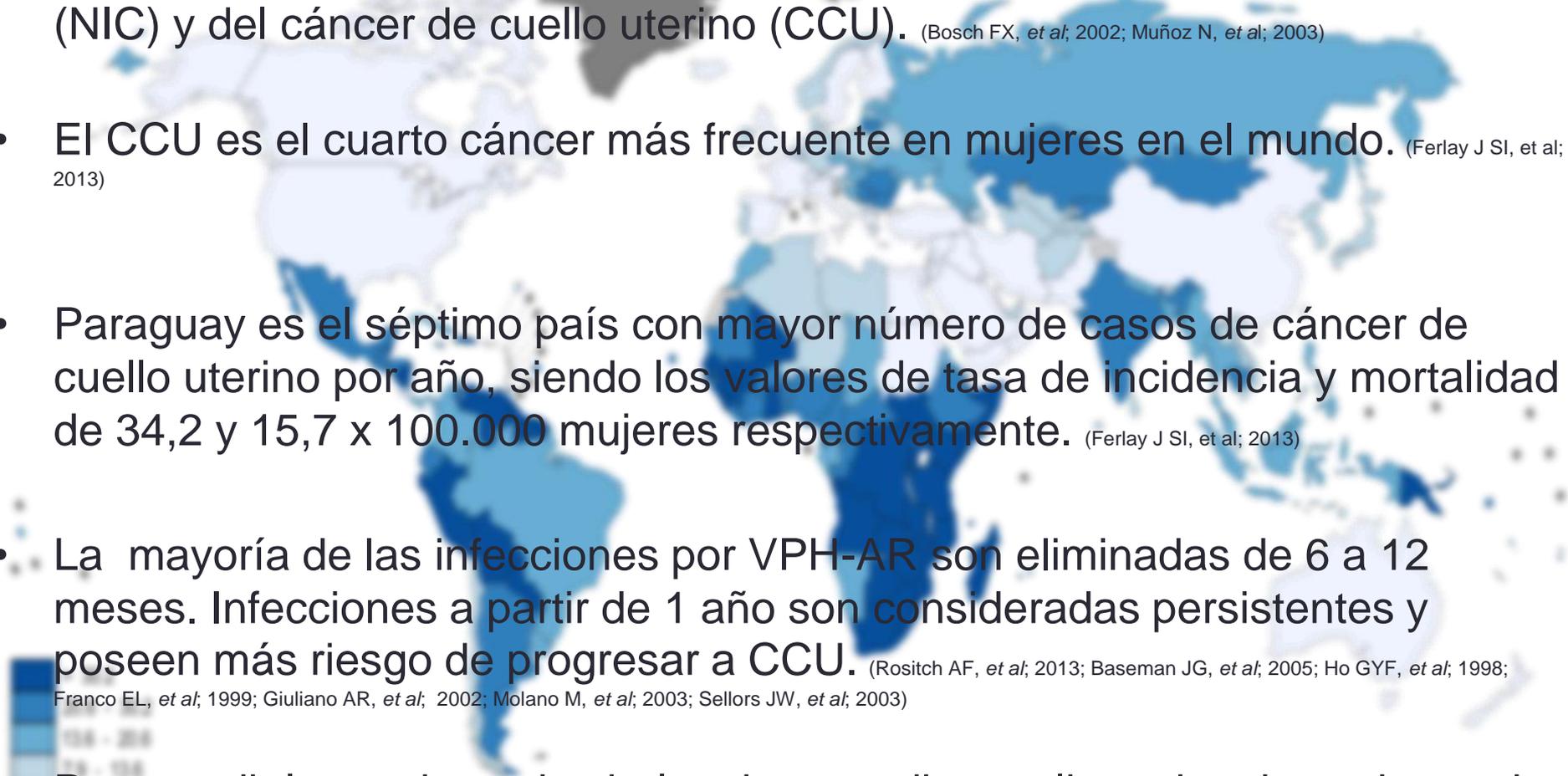
Papiloma virus humano mucoso (VPH)

a) Género alfa
b) Asociados con el desarrollo de tumores de los epitelios mucosos (IARC; 2007)

a) Alto riesgo oncogénico (AR)
b) Bajo riesgo oncogénico (BR) (Shukla S, et al; 2009; IARC; 2007)



Los VPH-AR incluyen los VPH 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 59, 66, 68, 69, 73 y 82 (Shukla S, et al; 2009)

- 
- El VPH es el principal agente causal de la neoplasia cervical intraepitelial (NIC) y del cáncer de cuello uterino (CCU). (Bosch FX, *et al*; 2002; Muñoz N, *et al*; 2003)
 - El CCU es el cuarto cáncer más frecuente en mujeres en el mundo. (Ferlay J SI, *et al*; 2013)
 - Paraguay es el séptimo país con mayor número de casos de cáncer de cuello uterino por año, siendo los valores de tasa de incidencia y mortalidad de 34,2 y 15,7 x 100.000 mujeres respectivamente. (Ferlay J SI, *et al*; 2013)
 - La mayoría de las infecciones por VPH-AR son eliminadas de 6 a 12 meses. Infecciones a partir de 1 año son consideradas persistentes y poseen más riesgo de progresar a CCU. (Rositch AF, *et al*; 2013; Baseman JG, *et al*; 2005; Ho GYF, *et al*; 1998; Franco EL, *et al*; 1999; Giuliano AR, *et al*; 2002; Molano M, *et al*; 2003; Sellors JW, *et al*; 2003)
 - Para medir la persistencia viral varios estudios realizan dos detecciones de VPH-AR tipo específicas con al menos un año de intervalo. (Stensen S, *et al*; 2016; Soto-De León SC, *et al*; 2014; Muñoz N, *et al*; 2009; Oh JK, *et al*; 2008; Xi LF, *et al*; 2009; Schettino MT, *et al*; 2014)

UNO DE LOS DETERMINANTES DE LA PERSISTENCIA VIRAL

(Bosch FX, *et al*; 2002; Josefsson AM, *et al*; 2000; Lorincz AT, *et al*; 2002)

TIPO VIRAL

Es sabido que:

- Infecciones por el VPH 16 → lesiones de neoplasia cervical intraepitelial de grado III (NIC III) o *carcinoma in situ* en un **17,2%**.
 - Por el VPH 18, en un **13,6%**.
 - Por otros VPH-AR, en un 3%.
- (Baseman JG, *et al*; 2005; Muñoz N, *et al*; 2004; Koutsky LA, *et al*; 1992)

Aún no se comprenden completamente

CO-FACTORES DE RIESGO PARA DESARROLLO DE LESIONES O CÁNCER

Hábito prolongado de fumar

(Muñoz N, *et al*; 2006)

Alta paridad

(Muñoz N, *et al*; 2006)

Uso prolongado de anticonceptivos orales

(Muñoz N, *et al*; 2006)

Otras Infecciones de transmisión sexual

(Moscicki AB, *et al*; 2012)

Respuesta inmune alterada

(Moscicki AB, *et al*; 2012)

Mayor edad del hospedador (Castle PE, *et al*; 2005; Muñoz N, *et al*; 2009; Trottier H, *et al*; 2008)

Desarrollo de CCU en mujeres positivas para VPH-AR, los agentes más estudiados: *Chlamydia trachomatis*, virus de herpes simple (VHS) y VIH. (Oakeshott P, *et al*; 2012; Veldhuijzen NJ, *et al*; 2011; Castle PE, *et al*; 2003; da Silva Barros NK, *et al*; 2012)

CO-INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL

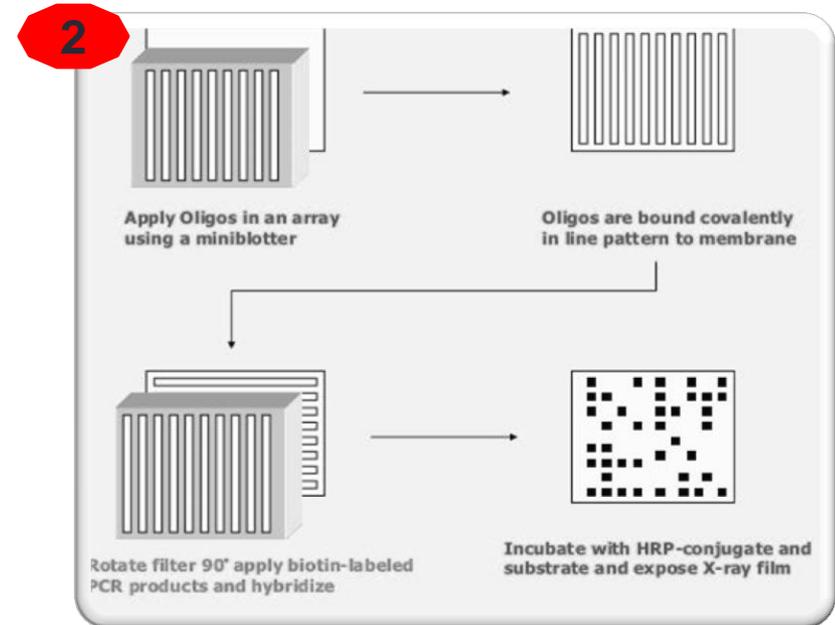
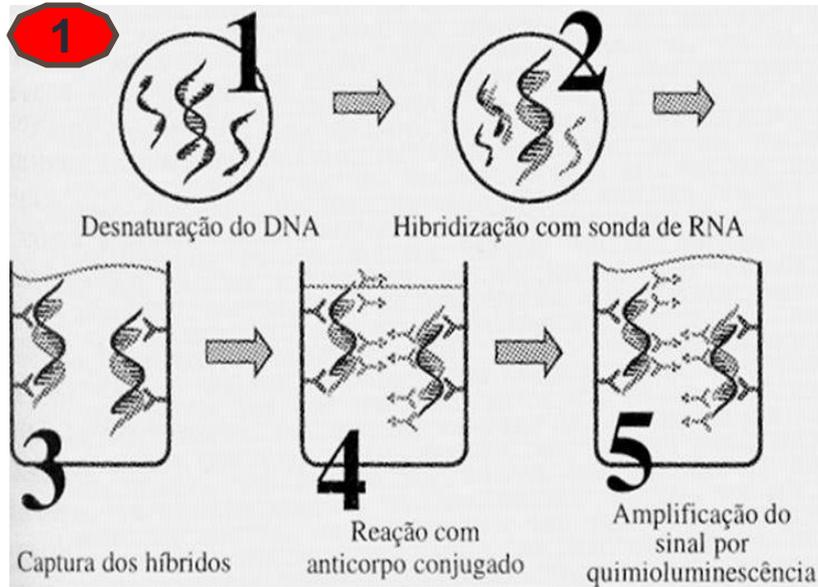
```
graph TD; A[CO-INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL] --> B["MAYOR frecuencia de VHS-2 en mujeres con lesión cervical (ORs =4,9; P < 0,05) y cáncer (ORs = 4,7; P < 0,05) que en mujeres sin lesión. (Zhang LD, et al; 2012)"]; A --> C["Infecciones repetidas con Chlamyda trachomatis AUMENTA el riesgo de NIC III en mujeres con infección persistente por VPH-AR. (Jensen KE, et al; 2014)"]; A --> D["Mycoplasma genitalium, Ureaplasma urealyticum se han asociado con procesos inflamatorios de cuello uterino, lo que podría facilitar la entrada del VPH. (Roeters AM, et al., 2010; Oliveira FA, et al., 2007)"];
```

MAYOR frecuencia de VHS-2 en mujeres con lesión cervical (ORs =4,9; P < 0,05) y cáncer (ORs = 4,7; P < 0,05) que en mujeres sin lesión. (Zhang LD, et al; 2012)

Infecciones repetidas con *Chlamyda trachomatis* **AUMENTA** el riesgo de NIC III en mujeres con infección persistente por VPH-AR. (Jensen KE, et al; 2014)

Mycoplasma genitalium, *Ureaplasma urealyticum* **se han asociado** con procesos inflamatorios de cuello uterino, lo que podría facilitar la entrada del VPH. (Roeters AM, et al., 2010; Oliveira FA, et al., 2007)

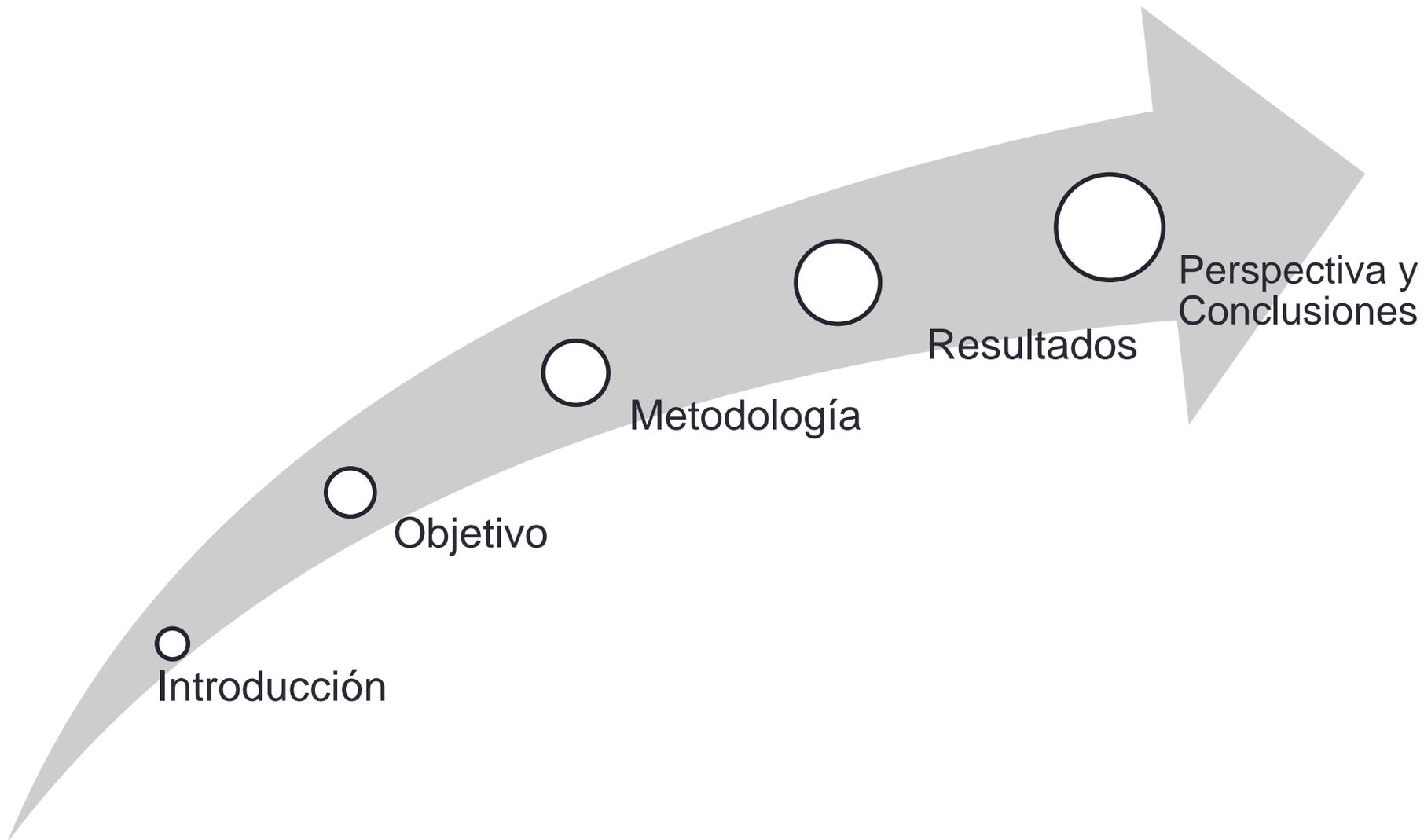
El VPH no puede ser aislado de células, por ello, las pruebas diagnósticas dependen de técnicas moleculares como: (Coutlée F, *et al*; 2009; Gravitt PE, *et al*; 2008)



Método de Captura Híbrida 2 (CH2): detección del ADN viral de 13 tipos de VPH-AR (valores de carga viral relativa, pero no tipo viral presente)

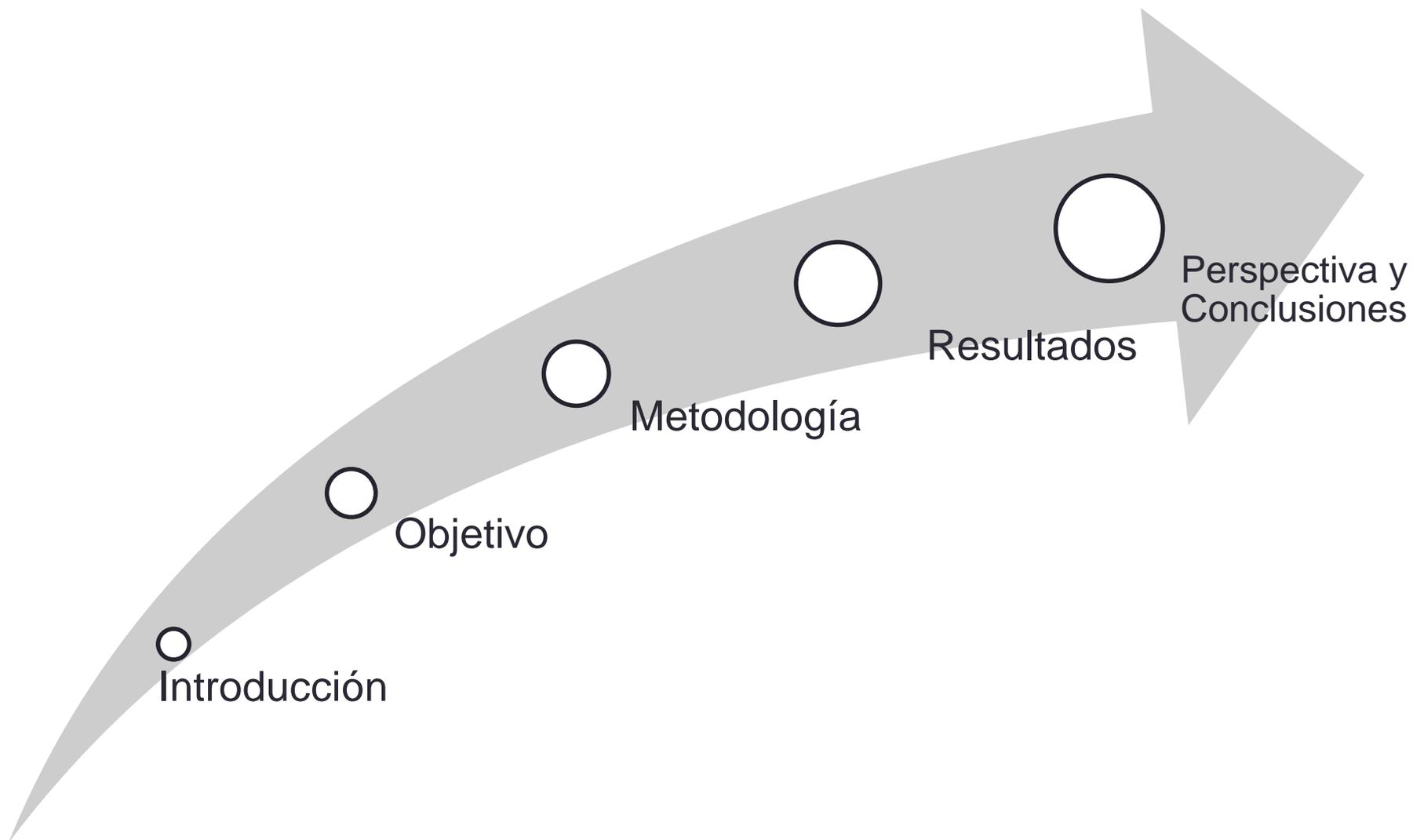
Técnica de la PCR: (PGMY09/11 o GP5+/6+), asociada a técnicas de hibridación reversa, secuenciamiento o polimorfismo de fragmentos de ADN obtenidos por Enzimas de Restricción (RFLP), tipificación específica de aproximadamente 40 tipos de VPH.

- En Paraguay existen estudios de tipificación de VPH en mujeres con y sin lesión de diferentes etnias. (Mendoza LP, *et al*; 2011; Mongelos P, *et al*; 2015; Mendoza L, *et al*; 2013; Kasamatsu E, *et al*; 2012; Cardozo F, *et al*; 2012; Mendoza LP, *et al*; 2010; Mendoza LP, *et al*; 2009)
- Sin embargo, aún no existen estudios que analicen la persistencia viral de infecciones por VPH en cuello uterino, así como los co-factores de riesgo relacionados a la persistencia.
- Considerando que las mujeres con infección persistente son las que poseen más riesgo de desarrollar lesiones o cáncer, y que el CCU en nuestro país causa 439 muertes por año (Ferlay J SI, *et al*; 2013), con el presente estudio se contribuirá con datos que servirán de base para orientar medidas de control de los determinantes de persistencia viral analizados.



OBJETIVO GENERAL

Detectar y determinar tipos de VPH-AR presentes en muestras de cepillado cervical de mujeres de 30 a 64 años de Itauguá



Las muestras utilizadas fueron colectadas en el periodo 2014/2015 en el marco del proyecto denominado “Estudio multicéntrico de tamizaje y triaje de cáncer de cuello uterino con pruebas del Virus del Papiloma Humano” (ESTAMPA).

**Detección de VPH-AR por CH2:
822 mujeres
(PROYECTO ESTAMPA)**



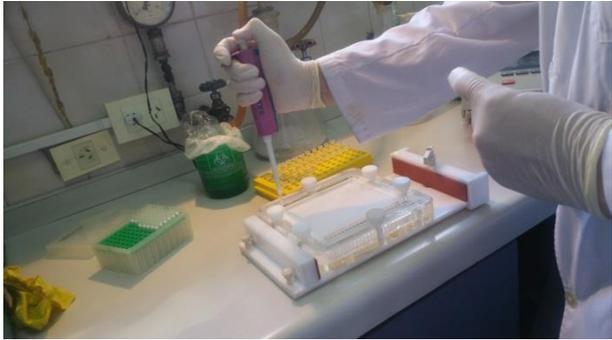
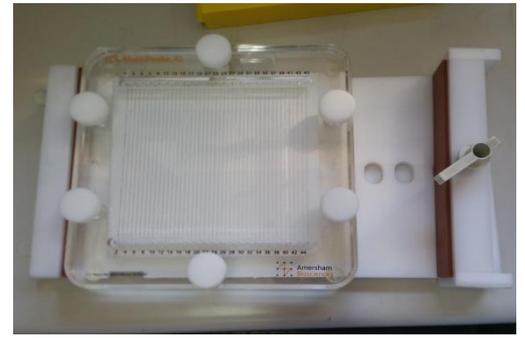
113 mujeres positivas para VPH-AR fueron tipificadas por la técnica de PCR utilizando cebadores genéricos PGMY 09/11 seguida de RLB

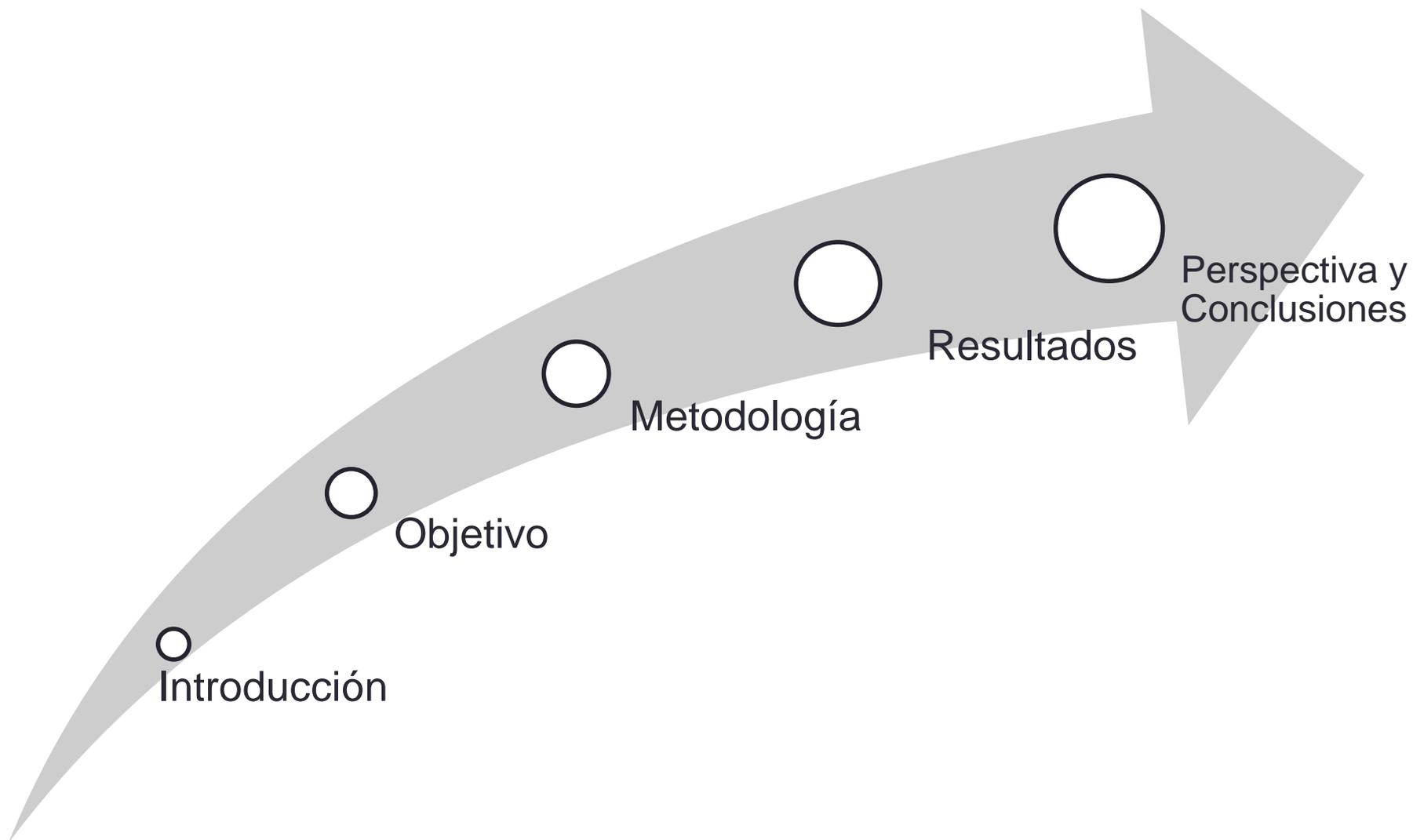


A 78 muestras fueron tipificadas

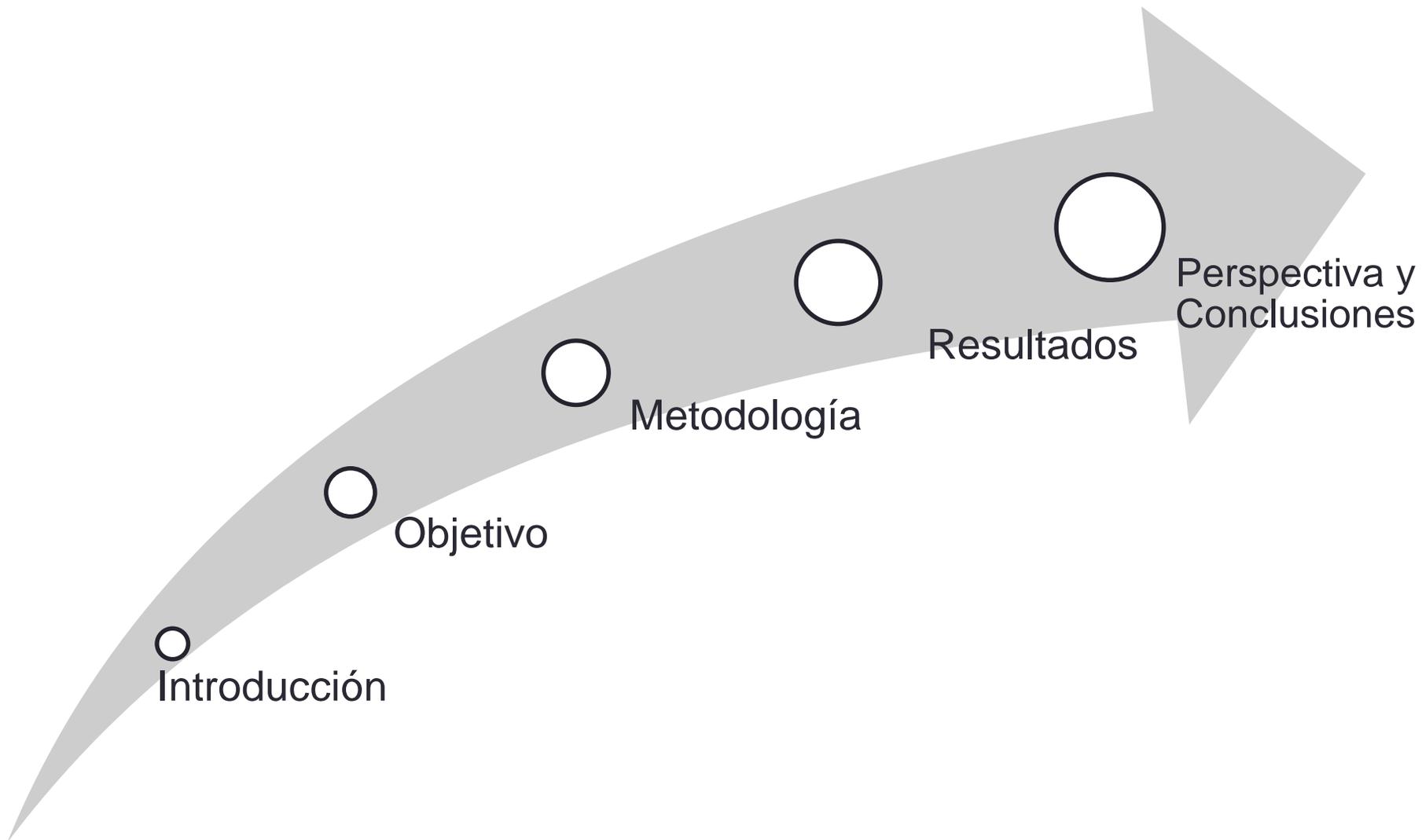
Tipificación de VPH-AR en muestras de cuello uterino

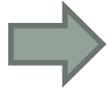
•Amplificación de aprox. 450 pb del gen L1 del VPH por PCR PGMY 09/11biot seguido de RLB (37 tipos de VPH) (Eklund C, *et al*; 2010)



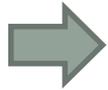


- Las mujeres incluidas en el estudio presentaron una frecuencia de VPH-AR del 13,7% (113/822) detectados por el método de CH2.
- En 78 de 113 muestras (68%) fue posible identificar el tipo viral.
- 59/78 presentaron infecciones simples y 19/78 presentaron infecciones múltiples.
- El tipo viral más frecuente fue el 16 seguido del 31.

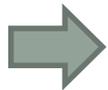




✓ Los datos de tipificación pueden servir para monitorear la circulación de estos tipos en la era postvacunal.



✓ Primeros datos poblaciones demostrando una alta prevalencia de VPH-AR, lo cual explica en parte la alta incidencia de este cáncer en el país.



✓ Sugiere al igual que otros estudios, que la CH2 es una herramienta de tamizaje efectiva que puede ser implementada en nuestro país contribuyendo así al fortalecimiento del programa de prevención de cáncer de cuello uterino.

AGRADECIMIENTOS

- ✓ AI CONACYT
- ✓ Al Equipo del Departamento de Virología del Instituto Malbrán, Buenos Aires, Argentina
- ✓ Al Equipo del Departamento de Salud Pública del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, San Lorenzo, Paraguay

The image features three spherical objects with a complex, textured surface. Each sphere is composed of numerous small, rounded, green protrusions that resemble cells or microorganisms. The spheres are set against a dark green background with faint, light green lines that create a grid-like pattern. The largest sphere is on the left, a medium-sized one is on the right, and a smaller one is positioned in the upper right quadrant. The text 'MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCIÓN!!' is overlaid in the center in a bold, white, sans-serif font.

**MUCHAS GRACIAS POR SU
ATENCIÓN!!**