



CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA –CONCYT
SECRETARIA NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA-SENACYT
FONDO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA –FONACYT
HOSPITAL ROOSEVELT

INFORME FINAL

“DETERMINACIÓN Y EVALUACIÓN DE PREVALENCIA DE VIRUS DE
PAPILOMA HUMANO EN MUJERES VIVIENDO CON VIH”.

PROYECTO FODECYT No. 036-2012

Carlos Rodolfo Mejía Villatoro
Investigador principal

Guatemala, Febrero 2016



AGRADECIMIENTO

La realización de este trabajo ha sido posible gracias al apoyo financiero del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACYT), otorgado por la Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología (SENACYT) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT).

EQUIPO DE TRABAJO

- Carlos Rodolfo Mejía Villatoro
- Amalia Carolina Girón Callejas
- Ricardo Mendizábal Burastero
- Jorge Alberto Rodas Cruz
- Claudia Fabiola Estrada
- Axel Ernesto Martínez Castellanos
- Claudia Pérez

OTROS AGRADECIMIENTOS

- Al equipo de laboratorio de la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt por su invaluable colaboración como contraparte en el estudio.
- Al personal logístico y administrativo de la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt, en especial a Nataly García, por su excelente disposición y colaboración como soporte institucional.
- A la Dirección Ejecutiva del Hospital Roosevelt

INDICE	
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
PARTE I	3
I.1 INTRODUCCIÓN	3
I.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
I.2.1 Antecedentes en Guatemala.....	4
I.2.2 Justificación	6
I.3 OBJETIVOS	7
I.3.1 Objetivo general	7
I.3.2 Objetivos específicos.....	7
I.4 METODOLOGIA	8
I.4.1 Localización	8
I.4.2 Estrategia metodológica	8
I.4.2.1 Universo del estudio	8
I.4.2.2 Selección y tamaño de la muestra.....	8
I.4.3 Materiales	9
I.4.4 Metodología.....	10
I.4.5 Análisis estadístico	17
I.4.6 Consideraciones Éticas	17
PARTE II	21
MARCO TEÓRICO	21
PARTE III	36
III.1 RESULTADOS	36
III.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	44
PARTE IV	47
IV. 1 CONCLUSIONES	47
IV.2 RECOMENDACIONES	48
IV.3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
IV.4 ANEXOS.....	55
PARTE V	58
V.1. INFORME FINANCIERO	58

GLOSARIO

- **ADN** Ácido nucléico formado por una doble cadena de ribonucleotidos
- **ADNasas** Enzimas capaces de degradar ADN
- **ARN** Ácido nucléico formado por una cadena de ribonucleótidos
- **ARNasas** Enzimas capaces de degradar ARN
- **CELULAS T CD4+** Los linfocitos T CD4+ son responsables de las respuestas inmunes mediadas por células que dirigen el ataque contra infecciones
- **PREVALENCIA** Es la proporción de individuos de un grupo o una población que presentan una característica o evento determinado en un momento o en un período determinado. La prevalencia de una enfermedad es el número total de los individuos que presentan un atributo o enfermedad en un momento o durante un periodo dividido por la población en ese punto en el tiempo o en la mitad del periodo.
- **GENOTIPO** Se refiere a la información genética que posee un organismo en particular, en forma de ADN. Normalmente el genoma de una especie incluye numerosas variaciones o polimorfismos en muchos de sus genes.
- **FLEBOTOMIA** Es el procedimiento de extracción de sangre desde una vena periférica a través de un sistema estéril con aguja.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1: Características de coinfección de tipos de vph en mujeres que presentaron o no anomalías en la citología cervicovaginal.....	39
Cuadro 2: Características generales de la población y su relación con la infección por VPH.....	40
Cuadro 3: Características de la infección por VIH y su relación con la coinfección por VPH.....	42
Cuadro 4: Asociación entre el estatus de infección con VIH y el resultado de la citología cervicovaginal.....	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Características del enrolamiento de las pacientes al estudio..36

Figura 2: Prevalencia de infección por vph según tipos de VPH.....38

LISTA DE FOTOGRAFÍAS

- Fotografía 1: Determinación de carga viral plasmática de VIH-1 utilizando la prueba cobas ampliprep/taqman HIV-1 v.2.0 de roche molecular diagnostics 12
- Fotografía 2: Extracción de ácidos nucleicos: lisis de muestras de células cervicales y purificación en columna de extracción 13
- Fotografía 3: Amplificación del adn mediante PCR en un termociclador de punto final, usando primers específicos de vph y β -globina 14
- Fotografía 4: Hibridización específica del amplicón biotinilado con sondas de los genotipos de VPH y del gen de la β -globina 15
- Fotografía 5: Detección colorimétrica de la hibridización específica del amplicón biotinilado con sondas de los genotipos de VPH y del gen de la β -globina 16

RESUMEN

Antecedentes: En Guatemala 42% de los cánceres corresponden al cervical, fuertemente asociado a la infección por VPH, sin embargo, la información sobre prevalencia y genotipos de VPH es limitada. La coinfección por VIH y VPH se ha asociado a mayor riesgo de cáncer de cérvix. El Hospital Roosevelt atiende aproximadamente a 2,600 pacientes femeninas con VIH. Determinar la prevalencia y características de la coinfección por VIH y VPH en esta institución dará evidencia científica para la toma de acciones preventivas y de control de cáncer cervical.

Metodología: Se realizó un muestreo probabilístico sistematizado, con un tamaño muestral de 150 mujeres con VIH. Se obtuvo consentimiento informado, se llenó cuestionario de datos y se tomaron muestras hemáticas y ginecológicas para determinar la carga viral de VIH, conteo de linfocitos TCD4+, realizar citología cervical, y detectar los genotipos de VPH. Análisis de datos: estadística descriptiva y estimación de asociación entre presencia y genotipos de VPH con hallazgos citológicos.

Resultados: Se enrolaron 136 mujeres con VIH, estimándose una prevalencia de VPH de 52.9% (IC95% 44.6-61.1) y VPH de alto riesgo de 32.4% (IC95% 25.1-40.6). Los tipos más prevalentes de VPH fueron el VPH84 (11.0%), VPH66 (8.8%), VPH62 (8.1%), VPH71 (8.1%), VPH16 (7.4%) y VPH83 (7.4%). Se encontró relación significativa entre infección por algún tipo de VPH y la edad del primer embarazo ($p=0.004$) y tener más de 3 parejas sexuales en la vida ($p=0.049$). No se encontró relación entre las características de la infección por VIH, ni respecto al resultado de la citología cervicovaginal.

Conclusiones: La prevalencia de VPH reportada en mujeres con VIH fue notablemente más alta a la reportada en estudios previos en población general en Guatemala. La diversidad de tipos de VPH identificados fue amplia y no se evidenció que un grupo o un tipo de VPH en particular predominaran considerablemente. El número de parejas sexuales y la edad de primer embarazo sugirieron asociación para presentar infección por VPH en esta cohorte de mujeres con VIH.

ABSTRACT

Background: The cervical carcinoma is strongly associated with HPV infection. In addition, HIV-HPV coinfection has been reported as an increased risk for cervical cancer. In Guatemala, this cancer type represents 42% of the cancer cases reported yearly. However, high risk HPV prevalence information is not available for women with HIV in Guatemala. Therefore, this study was conducted to assess the HPV prevalence in Guatemalan females with HIV.

Methods: 150 patients were randomly selected from the cohort of females with HIV who are at care at the Roosevelt hospital, the largest HIV clinic in Guatemala. Informed consents were obtained to collect blood and cervical samples; Laboratory analysis included lymphocyte T CD4+ cell count, HIV viral load, PAP smear, and HPV types identification. Data were collected using a standard questionnaire. Descriptive statistics and association measures were estimated for the presence of HPV using Stata 11.0 and Epi-InfoTM 7.0.

Results: The HPV prevalence among women with HIV was estimated to be 52.9% (CI 95% 44.6-61.1) and 32.4% (CI 95% 25.1-40.6) for high risk HPV. Most prevalent HPV types were VPH84 (11.0%), VPH66 (8.8%), VPH62 (8.1%), VPH71 (8.1%), VPH16 (7.4%) and VPH83 (7.4%). Early age (<18 years old) of first pregnancy (p=0.004) and having more than 3 sexual partners in their life (p=0.049) were statistically associated with HPV infection.

Conclusions: The HPV prevalence in women with HIV was remarkably higher compared to previous studies in general population in Guatemala. HPV type diversity was high, with no predominance of a particular type of virus. Higher number of sexual partners and early age of first pregnancy were associated with HPV infection.

PARTE I

I.1 INTRODUCCIÓN

El cáncer cervical representa un grave problema de salud pública, a nivel global, el cáncer cervical es la segunda causa más común de muerte por cáncer en mujeres. En países en desarrollo, el cáncer cervical es el cáncer más común en mujeres. Diversos estudios han demostrado que la infección por virus de papiloma humano (VPH) es una causa necesaria, pero insuficiente, para el desarrollo de este cáncer (E. M. Burd, 2003).

En Guatemala, se han desarrollado pocas investigaciones sobre la prevalencia de VPH en la población general. El Instituto Nacional de Cancerología (INCAN) en el año 2006 reportó que el 42% de los cánceres diagnosticados en dicho servicio, correspondían a cáncer de cérvix (INCAN, 2006). Por otra parte, en una investigación desarrollada por Vallés y colaboradores, se encontró en mujeres una prevalencia de infección por VPH de 38 y 67% en población general y trabajadoras sexuales, respectivamente (Vallés et al., 2009). En el año 2008, el 67% de las pacientes que asistieron al INCAN y APROFAM a realizarse procedimiento de colposcopia tenían infección con VPH de alto riesgo; en pacientes con lesiones histopatológicas de cérvix se identificó con mayor frecuencia el genotipo 16, 50% en lesión intraepitelial de bajo grado, 47.06% en lesión intraepitelial de alto grado y 60% en pacientes con cáncer invasivo de cérvix. Además se identificó la presencia de otros genotipos de VPH, tales como el 58, 18, 59, 53, 31, 51, 39, 56, 33, 66 y 52 (A. García & Vásquez, 2008).

La coinfección con VIH y VPH representa uno de los problemas de salud más importantes, debido a la capacidad oncogénica del VPH y la potencial inmunodeficiencia causada por el VIH, condición que facilita o acelera el desarrollo de neoplasia a nivel del tracto genital (Maiman, 1997). En Guatemala, para el año 2014 se estima una prevalencia en población adulta (mayores de 14 años) de 0.88%, el número de mujeres mayores de 15 años viviendo con VIH se estima en 22,166 según datos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (J. García, 2010). Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt es la unidad de atención integral de VIH más grande de Guatemala, prestando servicio regular a aproximadamente 4,500 pacientes, 1,400 de ellos de sexo femenino (Clínica de Enfermedades Infecciosas, 2010; J. García, 2011). Actualmente, se desconoce la prevalencia y distribución de genotipos de VPH en pacientes infectadas con el VIH en Guatemala. Es por ello que con este estudio, se pretendía estimar la prevalencia de VPH en pacientes de sexo femenino infectadas con VIH que asisten regularmente a la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt, a fin de generar información con base científica sobre las características de la coinfección VIH-VPH que permita tomar acciones preventivas y de control en esta población.

I.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

I.2.1 Antecedentes en Guatemala

El Instituto Nacional de Cancerología (INCAN) en el año 2006 reportó que el 42% de los cánceres diagnosticados en dicho servicio, correspondían a cáncer de cérvix. La infección por VPH se ha relacionado con distintas patologías benignas y malignas como verrugas/condilomas, papilomatosis respiratoria recurrente y carcinomas de células escamosas (E. M. Burd, 2003).

En Guatemala la información sobre la epidemiología molecular del VPH es limitada y no hay estudios que caractericen la coinfección de VIH con VPH. Esto se debe principalmente a que el diagnóstico en Guatemala se basa en procedimientos citológicos. Este método indirecto es adecuado para un tamizaje de alteración en el tejido cervical; sin embargo, no permite detectar la infección por VPH, ni discernir si es un genotipo de alto riesgo para progresión oncogénica.

La mayor parte de trabajos realizados en Guatemala, se han enfocado en el reporte de casos por medio de alteraciones citológicas utilizando la tinción citológica de papanicolau - PAP-. En un estudio realizado en el año 2006, se reportó en la organización no gubernamental Asociación Pro Bienestar de la Familia de Guatemala (APROFAM – ONG) una baja prevalencia de VPH (1.35%) en población femenina (Hernández, 2007). Sin embargo, Vallés y colaboradores (2009), realizaron en Guatemala un estudio en población femenina y mujeres trabajadoras del sexo (MTS), detectando una alta prevalencia de VPH en ambas poblaciones, 38% y 67% respectivamente. La gran diferencia en las prevalencias reportadas puede atribuirse a la sensibilidad del método empleado, en el primer estudio el diagnóstico se realizó por medio de citología y en el segundo estudio se emplearon pruebas moleculares para detección del genoma viral. Es más, Vallés y colaboradores (2009) no solo pudieron estimar prevalencia, sino que también determinaron que los genotipos de alto riesgo fueron los más prevalentemente encontrados en la población, con un 19% en población en general y 40% en MTS con citología normal, y en un 61% en población en general y 73% en MTS con citología alterada (Vallés et al., 2009).

A nivel mundial, se ha reportado prevalencias más altas de VPH en población que vive con VIH que en población en general. En dicho aspecto, un estudio desarrollado entre los años 1991 y 1993 en Nueva York se observó que existían diferencias estadísticamente significativas entre la prevalencia de VPH en poblaciones VIH positivo y VIH negativo (Sun & Kuhn, 1997). Además, en las mujeres infectadas con VIH es más común en ellas la coinfección con múltiples genotipos de VPH y tienen mayores prevalencias de VPH de alto riesgo (Vermund, Kelley, & Klein, 1991).

Según el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala, para el año 2014 se estima una prevalencia en población adulta (mayores de 14 años) de 0.88%, el número de personas viviendo con VIH se estima en 82,828, de los cuales el 26.8% (22,166) corresponde a mujeres de 15 años y más. Para el año 2014 ha sido estimado que 8,610 personas se infectaran con el VIH (J. García, 2010). Sin embargo, en Guatemala no existen información sobre la prevalencia y características de la infección por VPH en población que vive con VIH.

La falta de información sobre las características de esta coinfección limita la toma de decisiones en prevención y control, como determinar la necesidad de incluir el diagnóstico molecular de VPH aunado a los exámenes citológicos, como parte del panel anual de monitoreo de las pacientes VIH positivo. De igual manera, la identificación y distribución los genotipos de VPH sería importante para determinar la utilidad de la implementación de la vacuna para VPH en esta población en el país.

I.2.2 Justificación

El cáncer cervical, asociado a infección por el virus de papiloma humano-VPH-, es un grave problema de salud pública, especialmente en países en vías de desarrollo. En Guatemala representa el 42% de los diagnósticos de cáncer. Sin embargo, la vacuna contra VPH aún no ha sido incluida en el programa nacional de inmunizaciones.

Estudios han reportado mayores prevalencias de infección con VPH en personas con VIH que en población general; esta coinfección aumenta la tasa de progresión de lesiones cervicouterinas a cáncer. Aun así, en Guatemala no hay datos sobre la coinfección con estos dos virus.

Con este estudio de investigación, se buscó determinar la prevalencia y las características de la infección por el VPH en pacientes de sexo femenino que viven con VIH y que asisten regularmente a la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt. También se pretendía determinar la distribución de los genotipos VPH que están afectando a esta población, ya que dependiendo del tipo viral hay mayor o menor riesgo a padecer condilomas y cáncer cervicouterino.

Estimar la prevalencia de coinfección con VIH y VPH e identificar los genotipos de VPH circulantes en la población de estudio puede ser utilizado como evidencia científica a ser considerada en las políticas de salud, para realizar intervenciones de prevención como la vacunación contra VPH y medidas de control pertinentes para evitar la progresión a cáncer.

I.3 OBJETIVOS

I.3.1 Objetivo general

Determinar y evaluar la prevalencia de virus de papiloma humano en pacientes de sexo femenino viviendo con el virus de inmunodeficiencia humana.

I.3.2 Objetivos específicos

I.3.2.1 Determinar y evaluar la prevalencia de virus de papiloma humano en pacientes de sexo femenino, viviendo con el virus de inmunodeficiencia humana.

I.3.2.2 Identificar los genotipos de VPH en la población de estudio.

I.3.2.3 Relacionar y evaluar hallazgos citológicos y lesiones cervicales con la presencia y genotipo de VPH.

I.3.2.4 Determinar y evaluar los factores de riesgo para presentar infección por VPH.

I.3.2.5 Divulgar a las autoridades, actores sociales e instituciones en el campo de su competencia la información obtenida de la investigación.

I.4 METODOLOGIA

I.4.1 Localización

El estudio fue llevado a cabo en la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt, en la ciudad de Guatemala. Coordenadas geográficas 14 ° 37' 16" latitud norte y 90 ° 31' 37" oeste longitud. Altitud 1500 metros sobre el nivel del mar. Temperatura promedio 21°C, entre 12-27°C. Precipitación total 1247.1 mm, humedad relativa del 77%. En las instalaciones se realizaron las fases pre-analítica, analíticas y post-analíticas.

I.4.2 Estrategia metodológica

I.4.2.1 Universo del estudio

I.4.2.1.1 Población

1,400 pacientes de sexo femenino, con diagnóstico de VIH confirmado, que reciben tratamiento antirretroviral y seguimiento regular en la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt. Como seguimiento regular se entiende, las pacientes que no han abandonado su seguimiento clínico por 12 meses.

I.4.2.2 Selección y tamaño de la muestra

I.4.2.2.1 Muestra

El tamaño de muestra fue de 136 pacientes, para un nivel de confianza de 95%. El mismo fue estimado tomando una población aproximada de 1,400 pacientes de sexo femenino con diagnóstico confirmado de VIH, que asisten regularmente a la Clínica de Enfermedades Infecciosas; ya que se desconoce la prevalencia de VPH en la población de estudio, se consideró de un 50%, con una precisión del 8% para la prevalencia y un nivel de confianza del 95%, dando como resultado 136 pacientes. Se ajustó la muestra a 150 pacientes, asumiendo un 10% de rechazo a participar en el estudio. Dicho tamaño de muestra fue calculado con el software OpenEpi, basado en la ecuación de tamaño poblacional de Schaeffer y Mendenhall (Sullivan, Dean, & Mir, 2007)

I.4.2.2.2 Muestreo

Se realizó un muestreo aleatorio sistemático incluyendo todo paciente de sexo femenino, con diagnóstico de VIH confirmado, que se encuentre en tratamiento antirretroviral y seguimiento regular en la Clínica de Enfermedades Infecciosas, Hospital Roosevelt.

I.4.2.2.3 Criterios de inclusión

Solamente se tomaron en cuenta pacientes mayores de 18 años, que no estuvieran gestando, que no hubieran sido sometidas a histerectomía, que no padecieran enfermedades mentales u otro criterio que comprometiera la comprensión adecuada sobre el objetivo de estudio y posibles riesgos. Se incluyeron solo a las pacientes que después de haber sido informadas del estudio, accedieron a participar mediante la firma de un consentimiento.

I.4.3 Materiales

I.4.3.1 Equipo e insumos

- Refrigeradores de 2 - 8 °C
- Congelador a -20 °C
- Cabinas de bioseguridad de flujo laminar
- Centrífuga para microtubos de 1.5 ml
- Bomba de vacío de un paso con 20 psi de presión
- Agitador orbital de 25 - 250 rpm
- Agitador térmico para tubos de 2.0 ml
- Baño caliente en seco con rotación, enfriamiento, mezclado y cronometro, con rango de temperatura desde 0°C hasta 99°C, temporizador de 1 minutos a 99:59 horas
- Mezclador vortex
- Pipetas automáticas de volumen variable
- Termociclador en tiempo real
- Cronómetro digital con cuatro canales de tiempo separados
- Termómetro digital para refrigeradora
- Criocajas para crioviales de 2 ml
- Computadora de escritorio
- Impresora

I.4.3.2 Reactivos

- Reactivo LINEAR ARRAY HPV Genotyping Test, ROCHE
- AmpliLute Liquid Media, kit extracción ROCHE
- LINEAR ARRAY, kit detección ROCHE

I.4.3.3 Consumibles

- PreservCyt (vial para Pap líquido ThinPrep®) de Cytoc Corporation (Marlborough, Massachusetts).
- Láminas portaobjetos esmeriladas
- Espéculos descartables
- Fijador en aerosol para muestras citológicas
- Tubos cónicos de 15 ml de propileno con tapa de rosca
- Citobrush estéril

- Espátulas de Ayre
- Viales de propileno estériles de 2 ml con tapadera de rosca
- Guantes de nitrilo sin talco diferentes tamaños
- Pipetas de transferencia estériles desechables de al menos 2.0 ml
- Alcohol al 70%
- Alcohol al 99 %
- Solución de cloro al 0.5%
- Puntas libres de ARNasas y ADNasas, con filtro, de 100-1000 ul
- Puntas libres de ARNasas y ADNasas, con filtro, de 20-200 ul
- Puntas libres de ARNasas y ADNasas, con filtro, de 2-20 ul
- Batas desechables
- Papel absorbente
- Marcador indeleble
- Lapiceros
- Hojas de papel bond 80g

I.4.4 Metodología

I.4.4.1 Enrolamiento al estudio, toma y manejo de muestra,

El enrolamiento al estudio y la toma de muestras se realizó de acuerdo a la fecha de cita para atención médica de los pacientes, de acuerdo al flujo de consultas ya establecido por la Consulta Externa de la Clínica de Enfermedades Infecciosas, Hospital Roosevelt.

El médico responsable de la atención a la paciente, posteriormente a realizar la atención médica rutinaria, evaluó si se cumplían los criterios de inclusión y le expuso a la paciente los aspectos relacionados al estudio. Se obtuvo el consentimiento informado, y se solicitó la información requerida en la hoja de datos del estudio.

A cada paciente, se le tomó dos tipos de toma de muestras biológicas: muestra sanguínea y muestra ginecológica. En el caso de la primera muestra, personal técnico especializado realizó de manera aséptica la técnica de flebotomía con sistema de extracción al vacío, extrayendo dos tubos de 5 ml con EDTA como anticoagulante; uno para el proceso de recuento de linfocitos T CD4+ y el otro para determinación de carga viral de VIH-1. En el laboratorio de biología molecular de la Clínica de Enfermedades Infecciosas, las muestras para determinación de carga viral de VIH-1 fueron centrifugadas a temperatura ambiente por 20 minutos a 2000 rpm; se procedió a separar el plasma con pipetas estériles, transfiriéndolo a criotubos que fueron almacenados a -20°C hasta el momento su procesamiento. Las muestras para determinación de cantidad de linfocitos T CD4+ fueron transferidas a temperatura ambiente al laboratorio de citometría de flujo de la Clínica de Enfermedades Infecciosas, donde fueron procesadas el mismo día de la toma de muestra.

En el caso de la muestra ginecológica, los criterios para la toma de muestra fueron: no estar menstruando o tener menos de tres días posterior a la última menstruación, no haber tenido relaciones sexuales o uso de tampón en las últimas 48 horas, no haber utilizado duchas vaginales, no encontrarse en uso de óvulos vaginales, ni la aplicación de ninguna crema o ungüento en el área genital. A toda paciente que no aplicó a los criterios para la toma de muestra ginecológica, se les reprogramó la fecha de toma de muestra.

La toma de muestra ginecológica fue realizada por una ginecologista capacitada, realizándola de la siguiente manera: un espéculo descartable sin lubricar se introdujo vaginalmente a fin de visualizar el cuello del útero. En la unión escamo-columnar, se tomaron dos muestras, una con espátula de Ayre y la otra muestra con cepillo cervical (Organización Mundial de la Salud, 2007). La muestra tomada con la espátula de Ayre se utilizó para realizar un frote que se fijó inmediatamente y fue referido para tinción de Papanicolau para determinación citológica, en el laboratorio de Citología del Hospital Roosevelt. La otra muestra se guardó en solución PreservCyt de Cytoc Corporation (Marlborough, Massachusetts) y fue trasladada a la sección de biología molecular del laboratorio de la Clínica de Enfermedades Infecciosas, donde se almacenó en refrigeración de 2 a 8 °C por no más de un mes; esta muestra fue utilizada para determinar los genotipos del VPH por medio de la prueba molecular de Linear Array, de Roche Molecular Diagnostics (Alameda, California).

I.4.4.2 Determinación de recuento de linfocitos T CD4+ y carga viral para VIH-1

Como pruebas de laboratorio complementarias, de acuerdo a las metodologías que se utilizan de manera rutinaria en el Laboratorio de la Clínica de Enfermedades Infecciosas se realizó el recuento de linfocitos T CD4+ y carga viral de VIH-1.

Para la determinación de recuento de linfocitos T CD4+, se utilizó la prueba FACSCount, de Beckton Dickinson (San José, California). La misma consiste en la determinación por medio de citometría de flujo, utilizando anticuerpos monoclonales marcados con fluorocromo. Esta prueba de laboratorio se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Strauss, y otros, 1996).

Para la determinación de carga viral de VIH-1 se utilizó la prueba COBAS Ampliprep/Taqman HIV-1 v.2.0 de Roche Molecular Diagnostics (Alameda, California), con una alícuota de plasma anticoagulado con EDTA. Este es un ensayo de laboratorio basado en el principio reacción en cadena de la polimerasa -PCR- de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* en tiempo real (Fotografía No.1). Esta metodología se utilizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Pas et al., 2010).

Fotografía 1: Determinación de carga viral plasmática de VIH-1 utilizando la prueba COBAS Ampliprep/Taqman HIV-1 v.2.0 de Roche Molecular Diagnostics



FUENTE: Proyecto FODECYT 36-2012

I.4.4.3 Prueba citológica cervical: Prueba de Papanicolau

La citología cervico-vaginal, estudia las células exfoliadas de la unión escamo columnar del cuello uterino. Esta prueba citológica con tinción de Papanicolaou constituye el método por excelencia de tamizaje para detección temprana de cáncer de cuello uterino.

En el Laboratorio de Citología del Hospital Roosevelt se realizó la tinción policrómica de Papanicolau: introduciendo secuencialmente las láminas portaobjetos con los frotos en diferentes soluciones (agua, alcohol etílico a diferentes concentraciones, colorantes, acetona y xilol) con el propósito hidratar las células y prepararlas para la tinción, colorear los componentes celulares y facilitar la observación al microscopio. Una vez procesadas las láminas se observaron al microscopio óptico con el fin de determinar si eran o no normales la forma, tamaño, patrón de tinción nuclear y celular; se realizó la interpretación de los hallazgos y posteriormente la categorización de los resultados (Solomon, Davey, & Kurman, 2002)

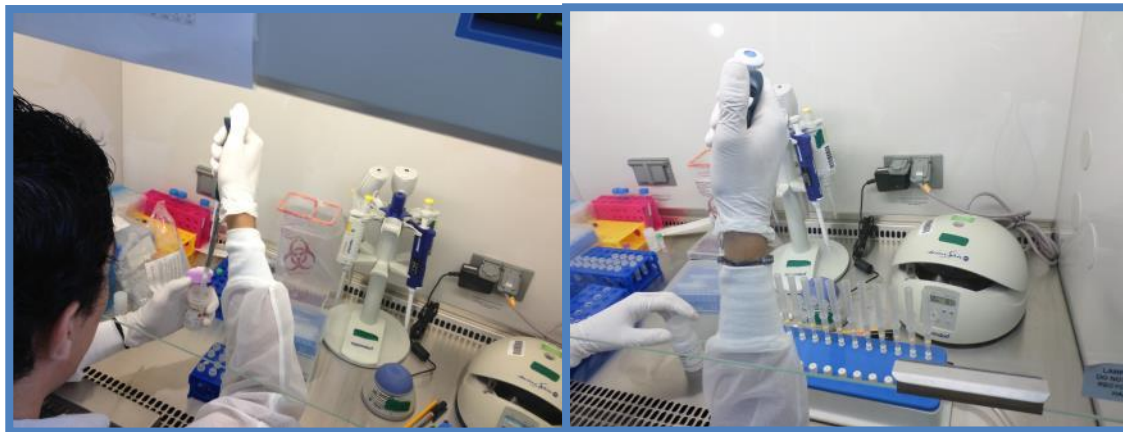
I.4.4.4 Prueba molecular para tipificación de VPH

Se trabajó con la prueba de genotipado “HPV LINEAR ARRAY” de Roche que es una prueba cualitativa *in vitro* para la detección del ADN viral en muestras clínicas. La prueba utiliza la amplificación del ADN mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la hibridación de ácidos nucleicos, permite detectar treinta y siete genotipos de VPH anogenital en células cervicales: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 (MM9), 81, 82 (MM4), 83 (MM7), 84 (MM8), IS39 y CP6108.

La prueba de genotipado del “HPV LINEAR ARRAY” se basa en cuatro procesos principales:

1. Preparación de las muestras: la preparación de las muestras se realiza usando el kit de extracción de material líquido AmpliLute prepara el ADN para la amplificación mediante PCR. El ADN del VPH se libera por acción de la lisis de las muestras de células cervicales bajo condiciones de desnaturalización a temperaturas elevadas. La lisis se lleva a cabo ante la presencia de la proteinasa K, un agente caotrópico y detergente. A continuación se procede al aislamiento y purificación del ADN en una columna de extracción (Fotografía No.2). El ADN es recuperado mediante el reactivo de elución. El gen de la β -globina se aísla de forma simultánea y sirve como control interno de la extracción y amplificación de cada muestra.

Fotografía 2: Extracción de ácidos nucleicos: lisis de muestras de células cervicales y purificación en columna de extracción



FUENTE: Proyecto FODECYT 36-2012

2. Amplificación del ADN mediante PCR: La prueba de genotipado del “HPV LINEAR ARRAY” utiliza primers biotinilados para definir una secuencia de la región polimórfica L1 del genoma del VPH, con una longitud de aproximadamente 450 pares de bases. Un lote de primers de VPH presente en la mezcla maestra está diseñado para amplificar el ADN del VPH de 37 genotipos, incluidos 13 genotipos de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68). Las secuencias de las sondas de captura están ubicadas en regiones polimórficas de L1 limitadas por estos primers. Un par de primers adicional se dirige al gen de la β -globina, usado como control interno de la extracción y amplificación. Este proceso se lleva a cabo en un termociclador de punto final (Fotografía No.3). La polimerasa de ADN AmpliTaq® Gold se utiliza para “iniciar en caliente” la amplificación del ADN de VPH y de la β -globina. Primero se calienta la mezcla de reacción de la PCR para activar la polimerasa de ADN AmpliTaq® Gold y para desnaturalizar el ADN para exponer las secuencias de la región objetivo de los primers. A medida que la mezcla se enfría, los primers inician la fase de anidación específica con el ADN. La polimerasa de ADN

AmpliTaq® Gold, en presencia de Mg^{2+} y un exceso de dNTP, cataliza la elongación del ADN. La amplificación se produce sólo en la región del genoma de VPH (450 pares de bases) o del gen β -globina (268 pares de bases) comprendida entre el par de primers. No se amplifica el genoma completo.

Fotografía 3: Amplificación del ADN mediante PCR en un termociclador de punto final, usando primers específicos de VPH y β -globina



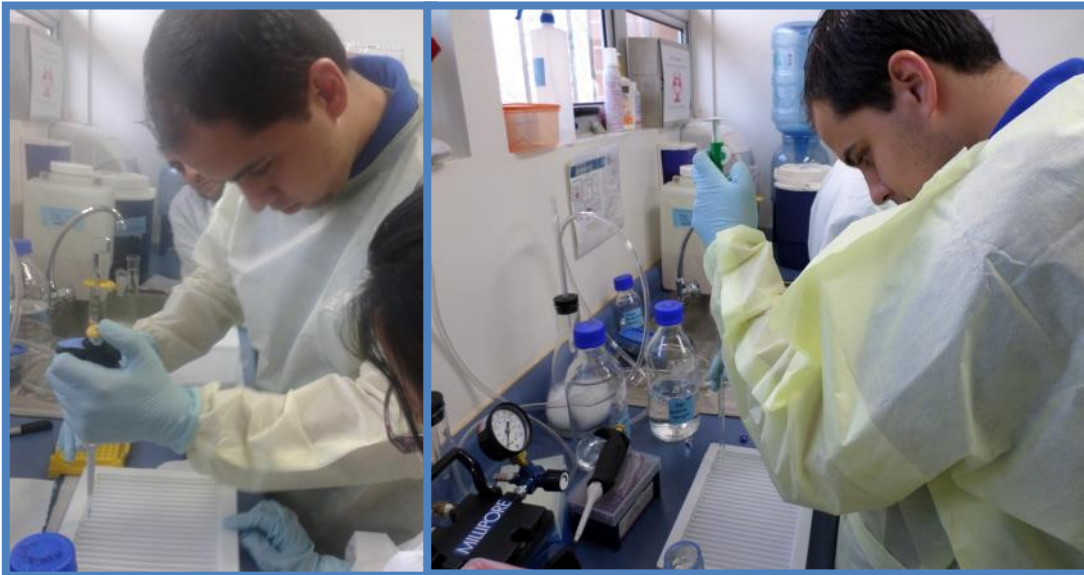
FUENTE: Proyecto FODECYT 36-2012

La amplificación selectiva del ácido nucleico de la muestra se logra en la prueba de genotipado del “HPV LINEAR ARRAY” mediante el uso de la enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) y el trifosfato de desoxiuridina (dUTP). La enzima AmpErase reconoce y cataliza la destrucción de las cadenas de ADN que contienen desoxiuridina, pero no del ADN que contiene desoxitimidina. La desoxiuridina está siempre presente en el amplicón debido al uso de trifosfato de desoxiuridina; este nucleótido hace susceptible al amplicón a la destrucción por la enzima AmpErase antes de la amplificación del ADN, evitando así la contaminación con amplicones. La enzima AmpErase, cataliza la escisión del ADN que contiene desoxiuridina en la posición de los residuos de desoxiuridina abriendo la cadena de desoxirribosa en la posición C1. Cuando se calienta en el primer paso del ciclo térmico al pH alcalino de

la mezcla maestra, la cadena de ADN del amplicón se rompe en la posición de la desoxiuridina, lo que hace que el ADN ya no pueda amplificarse. La enzima AmpErase es inactiva a temperaturas superiores a los 55°C y por consiguiente, no destruye el amplicón objetivo.

3. Reacción de hibridización: Después de la amplificación del ADN, una solución desnaturalizante es añadida al amplicón para generar ADN monocatenario y permitir así la hibridización con las sondas específicas de VPH y de β -globina. El amplicón desnaturalizado es transferido a la bandeja de tipificación, que contiene tampón de hibridización y una tira de genotipado del “HPV LINEAR ARRAY” revestida con sondas de VPH y de β -globina (Fotografía No. 4). El amplicón marcado con biotina se hibridiza con alguna de las sondas oligonucleótidas sólo si el amplicón contiene la secuencia correspondiente de la sonda complementaria. Además, la tira de genotipado del “HPV LINEAR ARRAY” está revestida con una sonda oligonucleótica de reacción cruzada que se hibridiza con los genotipos 33, 35, 52 y 58 del VPH.

Fotografía 4: Hibridización específica del amplicón biotinilado con sondas de los genotipos de VPH y del gen de la β -globina

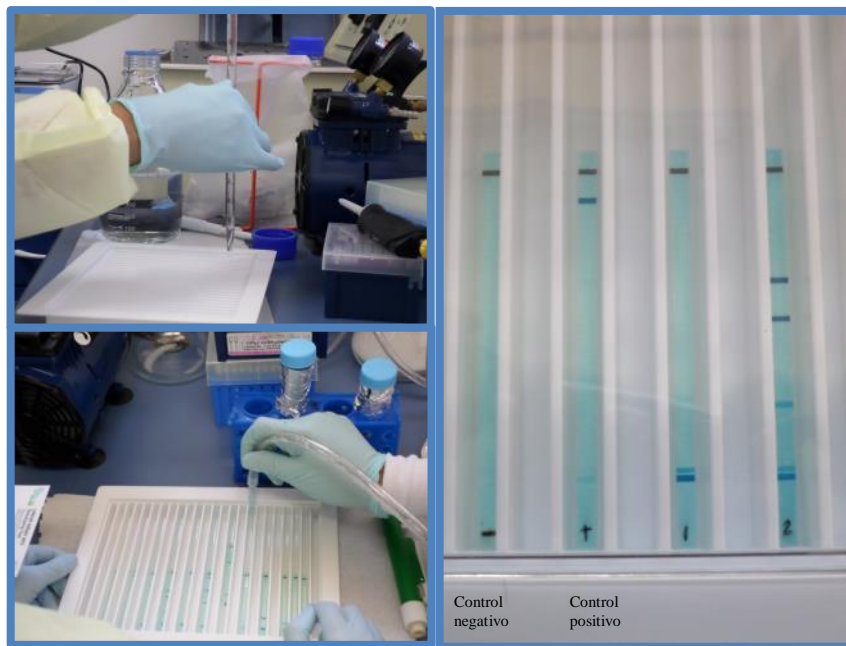


FUENTE: Proyecto FODECYT 36-2012

4. Reacción de detección: después de la reacción de hibridización, la tira de genotipado del HPV LINEAR ARRAY se lava para eliminar todo el material no fijado. A continuación, se añade a la tira el conjugado de estreptavidina y peroxidasa de rábano picante. El conjugado se une al amplicón marcado con biotina e hibridizado con las sondas de la tira. Tras lavar nuevamente la tira para eliminar el conjugado y

peroxidasa que no se ha fijado, se añade a cada tira una solución substrato que contiene peróxido de hidrógeno y 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB). En presencia de peróxido de hidrógeno, el conjugado de estreptavidina y peroxidasa de rábano picante cataliza la oxidación de la TMB para formar un complejo de color azul que se precipita en las posiciones de las sondas donde ha tenido lugar la hibridización (Fotografía No. 5). La tira de genotipado del “HPV LINEAR ARRAY” se lee visualmente comparando el patrón de las líneas azules con la guía de referencia de la tira de genotipado del “HPV LINEAR ARRAY” a fin de validar el ensayo, evaluar la detección del virus (ver anexo No.3) y, con base a los patrones de líneas, establecer cuál o cuáles son los genotipos de VPH detectados.

Fotografía 5: Detección colorimétrica de la hibridización específica del amplicón biotinilado con sondas de los genotipos de VPH y del gen de la β -globina



FUENTE: Proyecto FODECYT 36-2012

El resultado del control negativo debía ser: ausencia de bandas positivas. El resultado del ensayo del control positivo debía ser: detección de genotipo 16 del VPH, control alto de β -globina y control bajo de β -globina.

I.4.5 Análisis estadístico

I.4.5.1 Registro de Datos

Se registraron los datos en una base de datos elaborada en EpiInfo, donde se consignó toda la información contenida en la boleta de recolección de datos (anexo 2), que incluyó datos demográficos, factores de riesgo, así como datos de laboratorio accesorios, recuento de linfocitos TCD4+ y determinación de carga viral de VIH-1; así como resultado de Papanicolau y prueba molecular de VPH.

I.4.5.2 Análisis de Resultados

Se realizó estadística descriptiva para las características generales de la población, distribución por edades, lugares de procedencia, frecuencia de genotipos y de factores de riesgo.

Se realizó una prueba de hipótesis para variables categóricas, por medio de chi cuadrado con un 95% de confianza; y para correlacionar variables categóricas con numéricas, se realizó análisis de varianza, también con un 95% de confianza.

Se determinó el odds ratio (OR) para establecer la relación entre los diferentes factores de riesgo evaluados, y la presencia de VPH en las pacientes. De igual manera, se realizó el OR para comparar la presencia de genotipos de alto riesgo con dichos factores de riesgo y con los hallazgos citológicos.

I.4.6 Consideraciones Éticas

Esta propuesta de investigación fue sometida para evaluación y aprobación del Departamento de Docencia, Investigación y Comité de Ética del Hospital Roosevelt (ver anexo No 4).

Las pacientes seleccionadas en el muestreo fueron invitadas a participar en este estudio, indicándoles que la participación era de carácter voluntario y que no se les suspendería ningún servicio regular de seguimiento o tratamiento en caso decidieron no participar en el estudio. Los médicos responsables de enrolarlos en el estudio les explicaron a cada participante detenidamente y de manera comprensible, los objetivos del estudio, el tipo de muestra que se obtendría y para que se utilizarían dichas muestras; así como el seguimiento y tratamiento que tendrían, dependiendo de los resultados. Las pacientes fueron informadas sobre los riesgos y beneficios de participar en el estudio. Además, se recalcó el carácter

voluntario de la participación en el estudio, así como la posibilidad de retirarse del mismo, sin que esto afectara la atención médica y de laboratorio recibida.

El presente estudio consistió en una mejora en el diagnóstico de los pacientes, y un apoyo para el seguimiento de las pacientes VIH positivo. Los riesgos asociados a la toma de muestra ginecológica y sanguínea, fueron mínimos. En ambos casos, todo material utilizado era estéril y nuevo, descartado luego de la utilización en cada paciente. El personal que realizó la toma de muestra de ambos tipos, es personal con experiencia en la extracción de este tipo de muestras, lo cual permitió la disminución de los posibles riesgos asociados a la toma de muestra.

En este estudio no se dieron incentivos por participar en el estudio, para no coaccionar a los participantes, por medio de la entrega de un incentivo monetario. La selección de los participantes se realizó de manera aleatoria, esto permitió dar la misma oportunidad de participar a todas las pacientes de sexo femenino que reciben terapia antirretroviral que asisten regularmente a la Clínica de Enfermedades Infecciosas.

A cada paciente que decidió voluntariamente participar en el presente estudio, firmó una forma de consentimiento informado (anexo 1), el cual fue previamente aprobado por el Comité de Docencia y Ética del Hospital Roosevelt. El consentimiento informado fue leído y explicado en su totalidad por el médico a cargo de la evaluación.

El estudio incluyó un cuestionario sobre datos demográficos y factores de riesgo. El mismo fue explicado y preguntado por el médico que evaluó a la paciente. Se aseguró la adecuada comprensión de la paciente a cada pregunta y se explicó sobre la confidencialidad del mismo.

Con respecto a la confidencialidad de los datos, todos los datos clínicos e identidades de los participantes fueron manejados con estricta confidencialidad, asignándoles un código numérico a los participantes del estudio. Los datos recolectados en el cuestionario, solamente fueron consultados por el investigador principal e investigadores asociados del estudio. Al ser archivados los resultados al expediente del paciente, los datos de número de registro médico fueron manejados de manera confidencial, tanto por el personal que forma parte del estudio como por el personal de la Clínica de Enfermedades Infecciosas.

Los hallazgos del estudio se darán a conocer a la comunidad científica, respetando la confidencialidad de las pacientes que participaron en el estudio.

I.4.6.1 Seguimiento

El seguimiento a las parejas y núcleos familiares de pacientes positivos a VIH se encuentra establecido en la Clínica de Enfermedades Infecciosas, acorde al Decreto Ley 27-2000. El o la paciente debe notificar en 10 días hábiles a su pareja(s) de su diagnóstico conforme y realizarse la prueba voluntariamente si lo desea en la clínica para brindarle una atención integral (Congreso de la República de Guatemala, 2000).

Con relación a este estudio, los resultados de los ensayos de laboratorio y copia del consentimiento informado fueron adjuntados al expediente médico. El seguimiento clínico fue de acuerdo al protocolo actual que se sigue en la Clínica de Enfermedades Infecciosas.

Las pacientes con resultado positivo a VPH, fueron evaluadas por la médica ginecóloga de la clínica, quien hizo la correlación con los hallazgos clínicos, citológicos, colposcópicos o histopatológicos, para decidir la mejor decisión terapéutica y de seguimiento.

I.4.7 Aspectos de seguridad laboral y ambiental

I.4.7.1 Riesgos biológicos / bioseguridad:

Todas las áreas de análisis de muestras están restringidas al público. Se contó con provisión constante de agua potable. El abastecimiento de insumos de protección personal (batas de manga larga, guantes de látex, lentes de bioseguridad, etc.) fue constante (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2006).

El laboratorio de la Clínica de Enfermedades Infecciosas trabaja según los procedimientos y prácticas estándar de bioseguridad, basándose en lineamientos internacionales de referencia como el manual de bioseguridad en el laboratorio de la Organización Mundial de la Salud y el manual de bioseguridad de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades-CDC- (Organización Mundial de la Salud, 2005). El personal de laboratorio tenía el esquema completo de vacunación de hepatitis B.

I.4.7.2 Riesgos físicos:

El laboratorio de la Clínica de Enfermedades Infecciosas tenía extinguidores portátiles de incendios que permanecen cargados y en buen estado de funcionamiento. Las instalaciones eléctricas están en buenas condiciones, intramuros o recubiertas de material adecuado para tal efecto (Organización Mundial de la Salud, 2005).

I.4.7.3 Manejo de desechos sólidos hospitalarios:

Los desechos generados durante las diferentes etapas de atención fueron separados y clasificados en recipientes identificados y embalados para su fácil manejo, según las normas

establecidas en el acuerdo gubernativo 509-2001 sobre el reglamento para el manejo de desechos sólidos hospitalarios (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2001)

Los desechos infecciosos fueron descartados en bolsas rojas, incluyendo: materiales procedentes de aislamientos de pacientes (desechos biológicos, algodones, gasas, guantes), materiales biológicos (muestras almacenadas), sangre humana y productos derivados.

Los desechos punzocortantes fueron descartados en recipientes identificados y resistentes a la perforación. Estos desechos incluyen agujas hipodérmicas, agujas, bisturíes y lancetas. Los desechos bioinfecciosos fueron trasladados al centro de acopio temporal del Hospital Roosevelt. Posteriormente la empresa Ecotermo recolectó y transportó los desechos a una planta de tratamiento para su disposición final (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2001)

PARTE II

MARCO TEÓRICO

A. Características del Virus de Papiloma Humano

El virus de papiloma humano (VPH) es un virus sin envoltura con cápside icosaédrica compuesta de 72 capsómeros que contienen las proteínas L1 y L2 (Sapp & Volpers, 1995). El genoma viral consiste de una sola cadena de ADN bicatenario circular de aproximadamente 7,900pb. Si bien el ADN de estos virus es bicatenario, el genoma de los papilomavirus está organizado de tal manera que todos los marcos de lectura-ORF- (por sus siglas en inglés: open reading frame) están localizados en una sola hebra del ADN (Fields et al., 2001). El genoma está funcionalmente dividido en tres regiones; la primera es una región regulatoria no codificante de 400 a 1,000pb llamada LCR (por sus siglas en inglés: long control región) que regula la replicación del ADN mediante el control de la transcripción de los OFRs. La región LCR es la de mayor variabilidad genética del VPH (E. M. Burd, 2003).

La segunda región del genoma viral codifica los genes tempranos, es decir los ORF E1, E2, E4, E5, E6 y E7 que están relacionados con la replicación viral y oncogénesis (E. M. Burd, 2003). Tres de las proteínas tempranas, E5, E6 y E7, tienen propiedades que interfieren con las funciones celulares que normalmente impiden el crecimiento excesivo, ya que inactivan proteínas supresoras del crecimiento celular (McLaughlin-Drubin & Münger, 2009) permitiendo que las células infectadas pasen de la fase-G1 a la fase-S celular (en la que se realiza la síntesis de ADN) en lugar de diferenciarse, de manera tal que el virus tiene disponible la maquinaria replicativa celular para llevar a cabo la replicación viral; esta regulación del crecimiento celular por los oncogenes E6 y E7 está directamente asociado con las propiedades cancerígenas del VPH (Zuckerman, Banatvala, Pattison, Griffiths, & Schoub, 2004).

La tercera región corresponde a los genes tardíos que codifican las proteínas estructurales L1 y L2 de la cápside viral. Cada capsómero es un pentámero de la proteína mayor L1. Cada cápside viral contiene aproximadamente 12 copias de la proteína menor L2 (Sapp & Volpers, 1995).

Los papilomavirus tienen tres modos de replicación de su genoma. El primero corresponde a la infección primaria o inicial en los keratocitos basales, en los que se da una amplificación del genoma viral de aproximadamente 50-100 copias. La segunda fase corresponde a la persistencia del genoma viral de las células basales en división de la porción inferior de la epidermis; en estas células, el ADN viral se mantiene estable replicándose en promedio de una copia por fase-S del ciclo celular de replicación. El tercer tipo de replicación viral, llamada replicación vegetativa, ocurre en las células epiteliales más diferenciadas en las que se generan los genomas virales a ser empacados en los viriones (Fields et al., 2001).

En el caso del VPH16, su expresión celular varía en células de lesiones premalignas de las lesiones malignas; en lesiones intraepiteliales escamosas de bajo y alto grado, el ADN viral se encuentra libre en su forma bicatenaria circular, mientras que en las células cancerosas, el ADN viral se encuentra integrado al genoma celular. Esta integración es aleatoria en los cromosomas celulares, pero a nivel viral la integración se da a nivel de los genes E1 o E2, de manera tal que no se ven afectados los oncogenes E6 y E7, permitiendo su continua expresión (Zuckerman et al., 2004).

B. Clasificación de los papilomavirus

A la fecha, se ha caracterizado la secuencia nucleotídica completa de más de 240 tipos de virus pertenecientes a la familia *Papillomaviridae*, descubiertos en una amplia gama de vertebrados (Van Doorslaer, 2013). Los papilomavirus están clasificados en 5 supergrupos según su evolución genética deducida a partir del grado de similitud de su ADN. En el supergrupo A se incluye a los virus de papiloma humano (VPH) que afectan los genitales, en el supergrupo B se agrupan los virus

asociados a epidermodisplasia verruciforme, el supergrupo C agrupa a los virus de fibropapilloma de ungulados, en el supergrupo D están los papilomavirus bovinos, y en el supergrupo E están los papilomavirus cutáneos que afectan a humanos y otros animales. El supergrupo A incluye 11 grupos, los B y C incluyen 2 grupos cada uno y los D y E tienen un solo grupo cada uno (Fields et al., 2001; Zuckerman et al., 2004).

Cada uno de los VPH exhibe un tropismo particular por sitios anatómicos específicos, de los cuales 40 pueden infectar al ser humano por vía sexual mediante contacto directo con piel o mucosas. La clasificación de los VPH está basada en diferencias en su secuencia genómica de los ORF L1, E6 y E7 se divide en tipos cuando la diferencia es mayor al 10% (E.-M. de Villiers, 2013; E. De Villiers, Fauquet, & Broker, 2004). Un mismo tipo puede ser dividido en subtipos cuando hay diferencias de 2-10% y en variantes cuando las diferencias en la secuencia del tipo varían entre 2% en regiones codificantes y 5% en regiones no codificantes (Lizano, Berumen, & García-Carrancá, 2009; Ong, Chan, & Campo, 1993).

Los tipos de VPH se pueden clasificar por su localización, en cutáneos y mucosos, y por su riesgo oncogénico. La agencia internacional para investigación del cáncer (*International Agency for Research on Cancer*, IARC) de la Organización mundial de la salud (OMS) los clasifica como “carcinogénicos”, “probablemente carcinogénicos” y “posiblemente carcinogénicos”. Los genotipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 66 han sido asociados en el desarrollo del cáncer cervicouterino (World Health Organization, 2007).

C. Manifestaciones clínicas y patogénesis viral

La infección por VPH puede ser asintomática o sintomática y está definida en gran medida por el tipo de VPH. La infección latente o inactiva está relacionada con los VPH de bajo riesgo 6 y 11; esta infección se caracteriza por ser asintomática y el área afectada permanece citológicamente normal. Por otro lado, las verrugas/condilomas anogenitales son un tipo de manifestación clínica de la infección

por VPH, generalmente asociadas los tipos 6 y 11. Por lo general son asintomáticas y puede resolverse espontáneamente en 3 a 4 meses o incrementar en tamaño y número. El tratamiento puede incluir ablación o medicamentos tópicos como podofilina 0.5%. Finalmente, la infección activa con VPH de alto riesgo se caracteriza por cambios celulares mediados por el virus que pueden resultar en neoplasia de pene, uretra, vejiga, vagina, vulva o cérvix (E. M. Burd, 2003).

La patogénesis del VPH está relacionada con la expresión de sus proteínas tempranas no estructurales. A fin de facilitar la replicación viral en células completamente diferenciadas, las proteínas E6 y E7 interfieren en los mecanismos de control de crecimiento y diferenciación celular. La proteína E6 se une y media la degradación de la proteína de supresión tumoral-p53-, de esta manera inhibe la apoptosis, la reparación del ADN y el control en la fase G1 del ciclo celular (Scheffner, Werness, & Huibregtse, 1990). Para evitar el acortamiento de los telómeros por la constante división celular, la proteína E6 activa la transcripción de la telomerasa transcriptasa inversa-hTERT- (por sus siglas en inglés: telomerase reverse transcriptase) causando la inmortalización celular (McLaughlin-Drubin & Münger, 2009).

La proteína celular retinoblastoma-pRB- es una proteína inhibidora del factor de transcripción celular E2F-1 que media la transcripción de los genes requeridos para que la célula entre en la fase S del ciclo celular. La proteína viral E7 se une a pRB y media su degradación, resultando en la promoción de la síntesis de ADN y proliferación celular (Dyson, Guida, Münger, & Harlow, 1992; Syrjänen & Syrjänen, 1999). En HSIL y cáncer, el ADN del VPH está por lo general integrado al genoma celular, situación que interrumpe o elimina el ORF E2, proteína que reprime la transcripción de los genes E6 y E7 (Lizano et al., 2009). Como consecuencia, la infección por VPH propicia la excesiva proliferación celular en la capa basal, aunado al incremento de procesos de mitosis, algunos anormales, y a la acumulación de ADN dañado que no puede ser reparado; eventualmente, en un período de 10 a 20 años, el tejido es transformado a células cancerosas (Holowaty & Miller, 1999).

D. Aspectos inmunológicos de la infección por VPH

En la mayoría de los casos de infección por VPH se caracterizan por el aclaramiento viral mediado por el sistema inmune en respuesta humoral y celular. La respuesta humoral conlleva la producción de anticuerpos neutralizantes que previenen que las partículas virales penetren las células epiteliales. Por lo general se requiere entre 6 y 18 meses para montar la respuesta humoral específica contra un epítipo L1. Esta respuesta humoral es leve y no es suficiente para prevenir nuevas infecciones (Dochez, Bogers, Verhelst, & Rees, 2014).

Cuando las partículas virales penetran las células epiteliales, estas son decapsidadas, perdiendo las proteínas L1 y L2, por lo que los anticuerpos específicos contra el epítipo L1 que han sido generados, dejan de ser efectivos. Por lo tanto, el proceso de aclaramiento viral depende de la respuesta celular, mediada por las células T citotóxicas que reaccionan contra células epiteliales infectadas, mediante el reconocimiento de las proteínas no estructurales como E6 y E7 (Dochez et al., 2014).

E. Vacunación y respuesta inmune

Las vacunas comercialmente disponibles están basadas en pseudopartículas virales que contienen la proteína L1. Este tipo de vacunas contienen adyuvantes que propician una respuesta humoral mucho mayor a la respuesta humoral que se da en una infección natural (Dochez et al., 2014).

Las vacunas contra VPH se han desarrollado con ingeniería recombinante que permite la expresión de la proteína L1 en levaduras o baculovirus; las proteínas L1 resultantes son ensambladas en pseudopartículas virales, similares en tamaño a los VPH, que no contienen el genoma viral y por ende no son infectivas ni oncogénicas. Existen dos vacunas, una bivalente y otra tetravalente, es decir que ambas protegen

contra los tipos VPH16 y 18, pero la tetravalente también protege contra VPH6 y VPH11 (Chelimo, Wouldes, Cameron, & Elwood, 2013).

Ambos tipos de vacunas son administrados en tres dosis y tienen cierto grado de protección cruzada contra otros tipos de VPH, debido a las similitudes filogenéticas de L1 entre diferentes tipos de VPH; por ejemplo, la vacuna tetravalente ha mostrado protección cruzada contra VPH31, y la bivalente contra VPH31, 33 y 45 (Malagón, Drolet, Boily, & Franco, 2012). Esta protección cruzada recientemente ha sido evidenciada también en infecciones naturales por tipos de VPH genéticamente similares, incluso reduciendo el riesgo de progresión a lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado en mujeres con VIH (Sobota, Ramogola-Masire, Williams, & Zetola, 2014).

Las vacunas disponibles comercialmente proveen protección para el 70% de los casos de cáncer cervical de células escamosas. Para aumentar este porcentaje, actualmente se están realizando ensayos clínicos con vacunas que incluyen nueve tipos de VPH en una vacuna que ha agregado los tipos VPH31, 33, 45 y 52 a la vacuna tetravalente. Matemáticamente se ha estimado que podría elevarse el nivel de protección del 70% al 90% de los cánceres cervicales de células escamosas (Serrano, Alemany, & Tous, 2012).

La principal limitante de las vacunas basadas en la proteína viral L1 es que la respuesta inmune que se genera es específica de tipo de VPH, y aunque se puede generar protección cruzada y se incluyan más tipos de VPH, las vacunas basadas en L1 no logran una cobertura total como vacuna pangénómica, que sería más fácil y económica de producirse y, que por ende, permitiría aumentar las coberturas de vacunación en países con recursos limitados. Si bien la proteína L1 se encuentra de manera abundante en el core viral, la proteína L2 se encuentra en mucho menor proporción y es expuesta al sistema inmune, por cambios conformacionales, hasta después de que el virus se une a la membrana celular, siendo este un período breve de exposición que no permite la generación de anticuerpos neutralizantes. Esta menor

exposición al sistema inmune puede explicar el alto nivel de conservación en la secuencia aminoacídica de L2, es más, la región entre los aminoácidos 20 y 38 es altamente conservada entre los tipos de VPH de alto riesgo y por ello es que otra línea de investigación en vacunas contra el VPH es el desarrollo de vacuna dirigido contra la proteína L2. Si bien la principal limitante es que L2 es pobremente inmunogénico, se ha sugerido que, debido al rol de L2 en la entrada viral y el tráfico intracelular, una vacuna basada en L2 podría ser terapéutica aunque no genere anticuerpos neutralizantes (Dochez et al., 2014).

F. Cáncer cervical y su asociación con la infección con VPH

Los mecanismos de patogénesis del VPH para controlar el crecimiento y diferenciación celular han sido ampliamente estudiados. Sin embargo, no todas las personas que se infectan con un tipo de VPH de alto riesgo, desarrollan cáncer, es más muchas de las infecciones son transitorias, con regresión espontánea o sin lesiones. Si bien el sistema inmune juega un rol en la evolución de la infección, no está claro por qué el resultado de la infección por VPH puede ser tan variado, desde una infección asintomática y transitoria a una que progrese a cáncer (Zuckerman et al., 2004).

La lesión genital más común causada por la infección con VPH son las verrugas genitales, principalmente asociadas a la infección por VPH16 y VPH11. Estas lesiones son benignas por lo general, y su conversión a lesiones malignas es rara, descrita únicamente en población con inmunodeficiencias (Zuckerman et al., 2004).

En el caso de las lesiones causadas por VPH de alto riesgo cancerígeno, estas localizan principalmente en el cuello uterino, aunque también pueden identificarse en la pared vaginal, vulva y región perianal. Las lesiones premalignas en el cuello uterino ocurren en la zona de transformación celular, la zona de metaplasia entre el epitelio escamoso basal del exocervix y el epitelio columnar del canal endocervical,

de donde las células cancerosas migran al útero y a los nódulos linfáticos próximos (Zuckerman et al., 2004).

G. Diagnóstico de infección por VPH

Citología cervicovaginal

En la actualidad la exploración ginecológica y la realización de citologías periódicas (prueba de Papanicolaou) en las mujeres sexualmente activas son las estrategias que han permitido el diagnóstico temprano y el control de las lesiones precancerosas, con disminución importante de la frecuencia de cáncer de cuello uterino. El Papanicolaou es la herramienta de tamizaje que permite identificar cambios en las células cervicales. El sistema actual de reporte del Papanicolaou es el Sistema Bethesda 2001 que clasifica las anomalías en las células escamosas en cuatro categorías: células escamosas atípicas-ASC- (por sus siglas en inglés: atypical squamous cells), LSIL, HSIL y carcinoma de células escamosas (Solomon et al., 2002). La categoría ASC contiene dos subcategorías: ASCUS en la que se incluyen las lesiones sugestivas de LSIL y la subcategoría ASC-H (por sus siglas en inglés: atypical squamous cells, cannot exclude HSIL) que por lo general es indicador de referencia para colposcopia (E. M. Burd, 2003).

El Papanicolaou tiene como limitantes que aproximadamente el 8% de las muestras son inadecuadas y que resultados falsos negativos han sido reportados en tasas de hasta 20-30%. Las estrategias para mejorar el diagnóstico citológico incluyen el uso de medios automatizados para la preparación de la muestra y lectura de los resultados, así como el uso de tinciones inmunohistoquímicas para detección del VPH (E. M. Burd, 2003).

Métodos moleculares

La mayor parte de los métodos de identificación directa de infección por VPH están basados en la detección del genoma del virus. De manera ideal, un método para la detección del ADN de VPH debe ser capaz de detectar, identificar y cuantificar la presencia de múltiples tipos de VPH.

Actualmente, la tecnología disponible para la detección molecular del ADN viral, consiste en sistemas de hibridación directa en soporte sólido (hibridación *in situ*, Southern blotting), hibridación en soporte líquido (captura de híbridos) y los métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando oligonucleótidos sintéticos específicos y/o consenso para su aplicación en métodos “*in house*” y comerciales (Abreu, Souza, Gimenes, & Consolaro, 2012).

H. Tratamiento

El 90% de los casos de anomalías citológicas asociadas con VPH son transitorios y revierten espontáneamente entre 12 y 36 meses. La reversión del daño citológico correlaciona inversamente con la severidad de la lesión cervical; solamente una pequeña proporción del daño cervical leve o moderado, progresa a cáncer invasivo, pero el riesgo de progresión a carcinoma en el caso de daño celular severo es de al menos 12% (E. Burd, 2003).

Diversos factores, tales como predisposición genética, frecuencia de reinfecciones, variación genética entre tipos de VPH, coinfección con más de un tipo de VPH, niveles hormonales y la capacidad de respuesta inmune median la capacidad de aclaramiento viral durante la infección por VPH. En general, las lesiones no invasivas intraepiteliales identificadas solamente a nivel microscópico son tratadas con procedimientos ablativos superficiales como crioterapia o tratamiento con láser; con crioterapia, el tejido anormal es congelado con una sonda de manera repetitiva para inducir la necrosis de las células anormales. El tratamiento con láser es más

efectivo que la crioterapia, y el tejido sana más rápidamente, pero el procedimiento es más costoso (E. M. Burd, 2003).

La escisión electroquirúrgica es considerada el tratamiento de elección para lesiones escamosas no invasivas; en este procedimiento, son eliminadas las células de la zona de transformación y las del canal endocervical. Esta alternativa es menos costosa que la terapia con láser y, además, preserva el tejido removido para análisis histológicos (E. M. Burd, 2003). La detección molecular del ADN del VPH puede ser útil para detectar lesiones residuales después de este tratamiento, siendo más sensible que la detección de anomalías citológicas. El valor predictivo negativo de la ausencia de ADN de VPH de alto riesgo y resultados normales de citología es de hasta 99% (Nobbenhuis et al., 2001).

El cáncer invasivo en etapa temprana es tratado con histerectomía radical o con radioterapia, a la que puede sumarse quimioterapia. Los cánceres en etapa avanzada son manejados con radioterapia del tumor primario y de los sitios a los que pudo haber metástasis (E. M. Burd, 2003).

Algunos agentes antivirales e inmunomoduladores han sido evaluados como tratamiento para las lesiones cervicales asociadas al VPH. Uno de estos agentes antivirales es el cidofovir que tiene amplio espectro de acción contra virus de ADN y su uso ha logrado inhibir la proliferación celular cuando ha sido expuesto a líneas celulares de carcinoma humano que tienen VPH16 o 18, así como en queratinocitos cervicales que han sido immortalizados por el VPH33 (Andrei, Snoeck, Piette, Delvenne, & De Clercq, 1998). Además de los hallazgos *in vitro*, el cidofovir ha sido usado en gel con aplicaciones tópicas en días alternos en mujeres con neoplasia cervical intraepitelial, evidenciándose respuesta completa o parcial en al menos el 80% de los casos (Snoeck, Noel, Muller, De Clercq, & Bossens, 2000). Otro medicamento que se ha utilizado es la podofilina, un agente citotóxico que detiene el proceso de mitosis, en combinación con vidarabina, un inhibidor de la ADN

polimerasa, logrando la regresión de las lesiones cervicales y la eliminación del VPH16 o 18 en el 81% de las pacientes tratadas (E. M. Burd, 2003).

Recientemente se ha estado investigando el potencial uso de la interferencia basada en ARN (RNAi) como terapia anticancerígena ya que los oncogenes E6 y E7 son expresados únicamente en las células cancerosas. Este método consiste en silenciamiento génico basado en secuencias específicas usando ARN complementario. Los RNAi anti E7 o anti E6/E7 promueven la acumulación de p53 y/o pRB, induciendo la apoptosis de las líneas celulares con VPH16 o 18, siendo entonces una alternativa terapéutica el método de silenciar a los onocogenes E6 y E7 (Jung, Rajasekaran, Ju, & Shin, 2015).

I. Epidemiología

La transmisión de VPH es por contacto directo. A nivel global, la infección por VPH es la infección de transmisión sexual más frecuente; el 80% de las mujeres a la edad de 50 años habrán estado expuestas al virus (Myers & McCrory, 2000). Se han identificado alrededor de 30 tipos de VPH que son transmitidos sexualmente y que infectan el cérvix, vagina, vulva, pene y ano (E. M. Burd, 2003). A nivel global, la infección por VPH se ha relacionado con el 99.7% de los cáncer de células escamosas de cuello uterino (Walboomers, 1999). Los adenocarcinomas de cérvix también se han relacionado con la infección por VPH, pero con una correlación menor dependiente de la edad; en mujeres menores de 40 años el VPH está presente en el 89% de los casos de adenocarcinoma, mientras que en mujeres de 60 años o más, solamente en el 43% (Andersson, Rylander, & Larsson, 2001).

La presencia de múltiples genotipos de VPH tiende a aumentar la severidad de la enfermedad cervical. Múltiples genotipos, usualmente con al menos uno de alto riesgo, se ha encontrado en el 11.8% de los pacientes con citología normal o células escamosas atípicas de significancia indeterminada-ASCUS- (por sus siglas en inglés: atypical squamous cells of undetermined significance), y en 34.5% de pacientes con

discariosis leve o moderada. Sin embargo, la prevalencia de múltiples genotipos fue menor (4.4%) en muestras de tejido de cáncer cervical (Kleter & Doorn, 1999).

Un factor que se ha empezado a considerar como importante en el desarrollo de neoplasia cervical es el rol de las variantes de los genotipos de VPH (Lizano et al., 2009). Por ejemplo, la variante asiático-americana del VPH-16 tiene una mayor capacidad oncogénica comparada con la variante europea (Berumen & Ordoñez, 2001). Las variantes de VPH difieren en características biológicas y químicas y en su patogenia. Sin embargo, se desconoce el mecanismo por el cual las mutaciones de las variantes de los genotipos de VPH se relacionan con una mayor actividad oncogénica (Giannoudis & Herrington, 2001).

Entre los factores de riesgo asociados a la infección por VPH se encuentran edad temprana de primera relación sexual y lo antecedentes de múltiples parejas sexuales o pareja con historia de múltiples parejas sexuales. El uso de condón no protege adecuadamente contra la infección por VPH, ya que el virus puede ser transmitido por contacto con tejidos no protegidos por el condón (Chelimo et al., 2013; Roset Bahmanyar et al., 2012).

La infección por VPH es más común en mujeres sexualmente activas de 18 a 30 años de edad, sin embargo, el cáncer de cérvix es más común en mujeres mayores de 35 años, lo que sugiere infección a edad temprana y lenta progresión a cáncer. La persistencia de la infección es más común con tipos de VPH de alto riesgo, siendo un determinante importante en el desarrollo de cáncer de cérvix (Adam, Berkova, & Daxnerova, 2000; E. M. Burd, 2003).

La infección con VPH de alto riesgo es necesaria más no suficiente para el desarrollo de cáncer. Factores coadyuvantes han sido reportados. La respuesta inmune celular es la principal defensa contra la infección por VPH; por lo tanto, condiciones que interfieren en la respuesta inmune celular, como la infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) incrementa el riesgo de infección y

persistencia del VPH (Cubie & Seagar, 2000; Torrisi, Mistro, & Onnis, 1999). La exposición prolongada a anticonceptivos orales y fumar han sido reportados también como factores de riesgo (Adam et al., 2000; Zuckerman et al., 2004).

A nivel global, en mujeres el cáncer cervical es la segunda causa más común de muerte por cáncer. En países en desarrollo, el cáncer cervical es el cáncer más común en mujeres (E. M. Burd, 2003). México y Centroamérica tienen unas de las tasas de incidencia de cáncer de cérvix más altas en el mundo; en el año 2000, según la Organización Mundial de la Salud, la tasa de incidencia y mortalidad para Centro América fue de 40.28 y 17.03 por 100,000 habitantes, respectivamente (Lewis, 2004).

En un estudio en Guatemala en el año 2007 determino en mujeres una prevalencia de VPH 38% y 67% en población general y trabajadoras sexuales, respectivamente; fue mayor la prevalencia de VPH de alto riesgo en trabajadoras sexuales que en población general (21.6% [IC95% 17.0-26.7] vrs 49.2% [IC95% 43.3-55.0], $P < 0.001$). En los casos con citología normal, los genotipos de VPH más prevalentes fueron 51, 66 y 16; en los casos de citología anormal, los genotipos 58 y 16 fueron los más prevalentes (Vallès et al., 2009).

En el año 2004, el Instituto Nacional de Cancerología (INCAN) reportó en Guatemala una tasa de incidencia de cáncer invasivo de cérvix de 39.6 y cáncer in situ de cérvix de 7.8 por 100,00 habitantes (Garcés, 2005). En la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt entre los años 2005 y 2009, en pacientes en edad reproductiva, no gestantes, con un diagnóstico de VIH/Sida se reportaron 29% de citologías de cérvix como anormales. El 69% de las citologías anormales correspondieron a lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado – LSIL- (por sus siglas en inglés: low-grade squamous intraepithelial lesions-) y 23% a lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado –HSIL- (por sus siglas en inglés: high-grade squamous intraepithelial lesions). En este periodo se encontró un 2.5 % de pacientes con un diagnóstico de carcinoma escamoso invasivo y 1.2 % con carcinoma

epidermoide invasivo, estas pacientes se encontraron en una fase clínica definitiva de Sida (Lemus, Valiente, Linares, Pérez, & Mejía, 2010).

J. Coinfección VIH y VPH

La principal causa de mortalidad en personas viviendo con VIH/Sida (PVVS) la constituyen las infecciones oportunistas, sin embargo, esta población también presenta un mayor riesgo de padecer enfermedades neoplásicas debido a una elevada susceptibilidad a la infección de virus oncogénicos que dan origen a neoplasias como: sarcoma de Kaposi y linfoma maligno no Hodgkin. Así como a la disminuida capacidad de respuesta del sistema inmune para controlar la proliferación de células cancerígenas (Barré-Sinoussi, Ross, & Delfraissy, 2013).

Mujeres infectadas con VIH tienen mayores tasas de infección por VPH y de displasia cervical que en mujeres sin VIH. Además, en las mujeres infectadas con VIH es más común en ellas la coinfección con múltiples genotipos de VPH y tienen mayores prevalencias de VPH de alto riesgo (Vermund et al., 1991). En mujeres sin VIH, los VPH de alto riesgo más prevalentes son el 16 y 18, sin embargo, en mujeres con VIH otros VPH de alto riesgo pueden ser más prevalentes y estar frecuentemente asociados a resultados de citología anormales, situación de particular interés en el caso del desarrollo de nuevas vacunas (Luque & Jabeen, 2006). Los mecanismos biológicos precisos que están involucrados en la relación entre VIH y VPH son poco claros, pero existen dos teorías (Di Girolamo, Coronato, & Laguens, 2003):

- Teoría de Inmunosupresión: La inmunosupresión producida por VIH facilita los efectos oncogénicos de VPH, al prolongar el tiempo en que la infección permanece instalada en el organismo e incrementar la carga viral, debido a una replicación más rápida. El grado de inmunosupresión está relacionado con la aparición y la intensidad de lesiones escamosas intraepiteliales de cérvix y el cáncer cervical en pacientes infectadas con VIH. De igual forma, los recuentos altos de Linfocitos T CD4+ se relacionan con infecciones latentes

por VPH, mientras que las manifestaciones clínicas aparecen conforme disminuye el número de Linfocitos T CD4+.

- Teoría de Interacción VIH/VPH: Además de la inmunosupresión presente en las mujeres portadoras de VIH, algunos autores postulan la existencia de una interacción molecular recíproca entre ambos virus. Su acción se manifestaría en un incremento de la transmisibilidad mutua, como resultado de la disminución de la inmunidad local y de la alteración de la integridad de las mucosas. También se produciría un cambio en la expresión génica de ambos virus.

En toda mujer diagnosticada con infección por VIH es esencial realizar un control ginecológico periódico, que debe incluir una inspección externa, una toma de muestra para estudio citológico y la biopsia de cualquier lesión sospechosa tanto de vulva, vagina o cérvix. Existen guías que recomiendan realizar una citología cada seis meses durante el primer año tras el diagnóstico de infección por VIH. Si la citología es normal, se debe realizar controles anualmente. Esta recomendación se basa en que una neoplasia intraepitelial de cérvix puede desarrollarse con rapidez en mujeres VIH y que una lesión de alto grado puede no detectarse con una única citología. Si la citología es anormal, se debe realizar una colposcopia y biopsia de las lesiones (GESIDA, 2010).

PARTE III

III.1 RESULTADOS

Durante un año, de abril 2013 a marzo 2014, en la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt, Guatemala, se llevó a cabo el enrolamiento de las pacientes al estudio (Figura No.1). Las principales causas de exclusión del estudio fue tener antecedentes de histerectomía (22.4%, IC 95% 17.2-28.5) y de resequeidad vaginal (7.7%, IC95% 4.6-11.9); otros criterios de exclusión aplicados fueron tener alguna minusvalía o barrera lingüística que dificultara comprender las características del estudio y dar un consentimiento informado, estar menstruando (sin factibilidad de recalendarizar el enrolamiento al estudio) y estar embarazada. En total, 136 mujeres fueron enroladas al estudio (13 de 150 rechazaron participar, 8.7%).

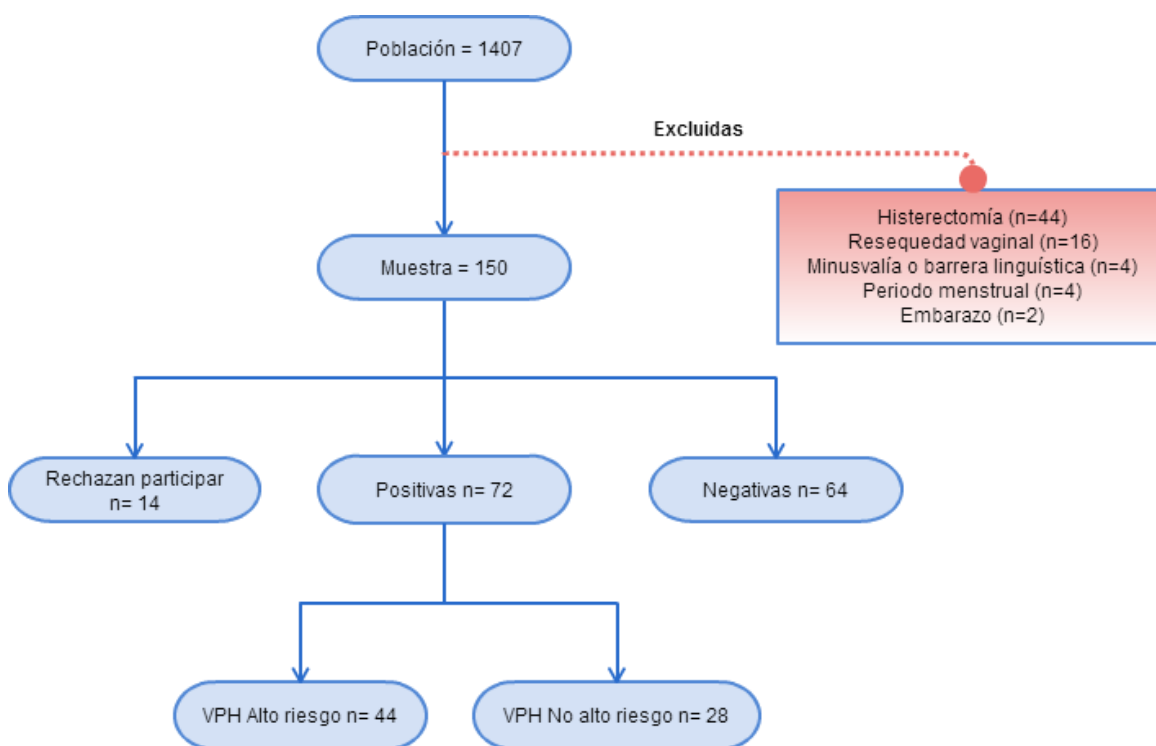
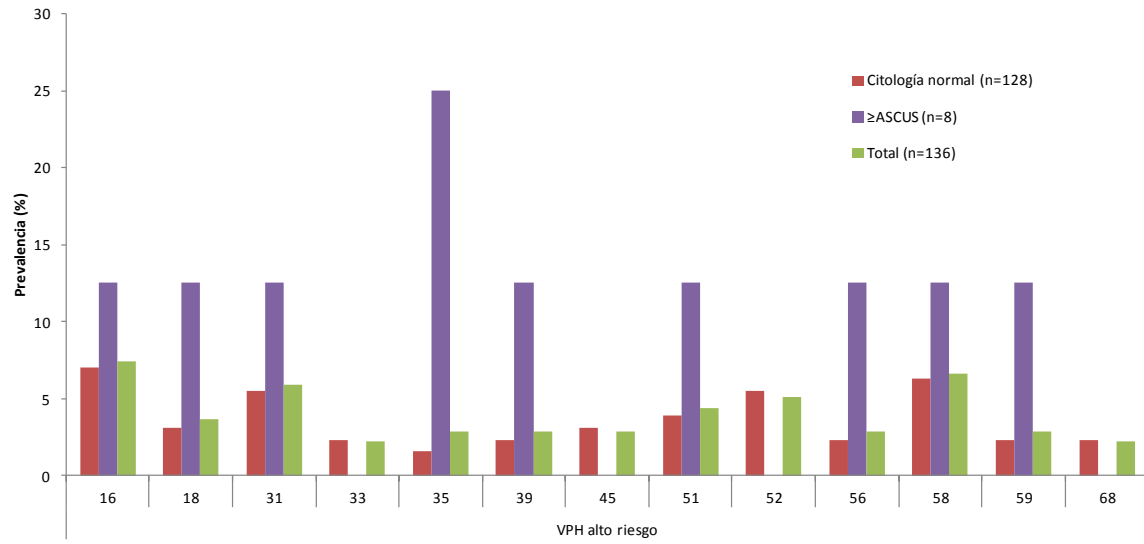


Figura 1: Características del enrolamiento de las pacientes al estudio. Se consideró como población a 1407 pacientes de sexo femenino, con diagnóstico de VIH y que recibían tratamiento antirretroviral regularmente en la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt, Guatemala. Se estimó una muestra de 150 pacientes a enrolar al estudio, 13 rechazaron participar, 64 no presentaron infección por VPH, 72 evidenciaron infección por VPH, de ellas 44 con al menos un tipo de VPH de alto riesgo y 28 con al menos un VPH no de alto riesgo. Fueron excluidas del estudio aquellas pacientes con historia de histerectomía o resequeidad vaginal, embarazadas, con minusvalía o barrera lingüística o que estuvieran menstruando y que no fuera factible reprogramar su cita para ser enroladas al estudio.

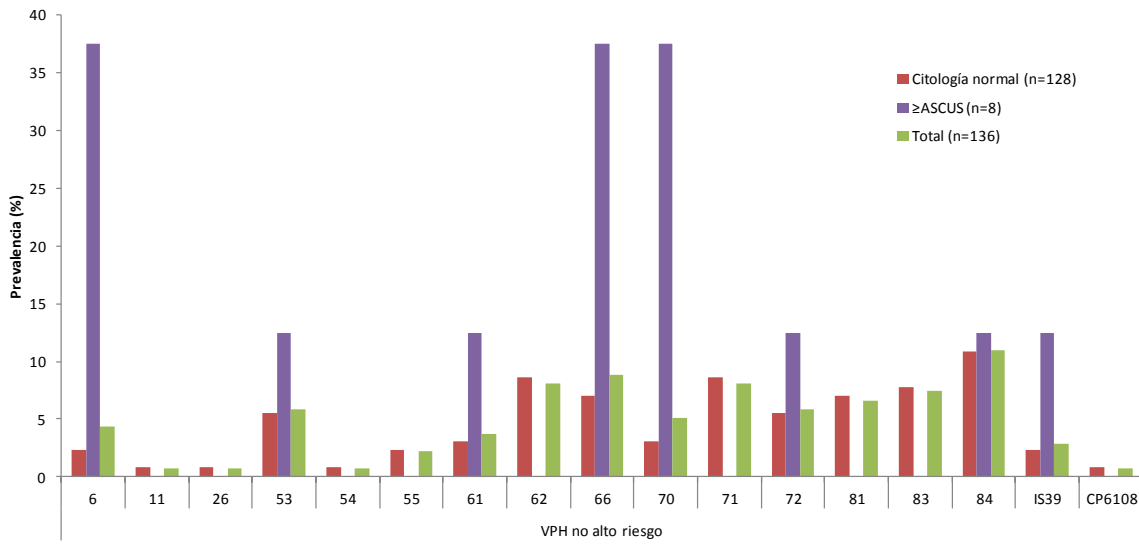
Prevalencia de infección y distribución por tipo de VPH

En esta investigación se estimó que en mujeres con VIH, la prevalencia de infección con al menos un tipo de VPH fue de 52.9% (IC95% 44.6-61.1) y la prevalencia de VPH de alto riesgo fue de 32.4% (IC95% 25.1-40.6). En mujeres con citología cervicovaginal anormal (resultado anormal de Papanicolau: ASCUS, LSIL o HSIL) la prevalencia estimada de VPH fue 87.5% (IC95% 52.9-97.8), siendo mayor que la prevalencia en mujeres con citología normal, 50.8% (IC95% 42.2-59.3). Es más, en mujeres con citología cervicovaginal anormal, también fue mayor la prevalencia de VPH de los tipos de alto (50%, IC95% 21.5-78.5) y bajo riesgo (37.5%, IC95% 13.7-69.4) que en mujeres con citología normal (31.2%, IC95% 23.9-39.7 y 19.5%, IC95% 13.6-27.2, respectivamente).

Con relación a la distribución de los tipos de VPH (Figura No.2), los más prevalentes fueron el VPH84 (11.0%), VPH66 (8.8%), VPH62 (8.1%), VPH71 (8.1%), VPH16 (7.4%) y VPH83 (7.4%). En el caso de las mujeres con resultado anormal de Papanicolau, los tipos de VPH más frecuentemente identificados fueron los VPH66, VPH70, VPH6 (38% cada uno) y VPH35 (25%). Por el contrario, en el caso de las mujeres con citología normal, los VPH más prevalentes fueron VPH84 (11%), VPH62 (9%), VPH71 (9%) y VPH83 (8%). La prevalencia de infecciones múltiples de VPH (≥ 2 tipos de VPH) fue de 36% (IC95% 28.4-44.4); las infecciones múltiples más prevalentes fueron las de 2 tipos de VPH (27.8%, IC95% 17.9-39.6) (Cuadro No.1). En dos casos se encontró coinfección con hasta 8 tipos de VPH.



A



B

Figura 2: Figura No. 2 Prevalencia de infección por VPH según tipos de VPH de alto riesgo (A) y VPH no de alto riesgo (B) en mujeres que presentaron citología cervicovaginal anormal (\geq ASCUS: resultado de Papanicolau de ASCUS, LSIL o HSIL), normal y en el total de las pacientes enroladas en el estudio.

Cuadro 1: Características de coinfección de tipos de VPH en mujeres que presentaron o no anomalías en la citología cervicovaginal

Tipo de VPH	Resultado de Papanicolau				Total	
	Normal (n= 128)		≥ASCUS ^b (n=8)		(n=136)	
	n	%	n	%	N	%
Infección múltiple de VPH ^a	44	34.4	5	62.5	49	36.0
2 VPH	19	14.8	1	12.5	20	14.7
3 VPH	11	8.6	1	12.5	12	8.8
4 VPH	9	7.0	1	12.5	10	7.3
≥ 5 VPH	5	3.9	2	25.0	7	5.1

^a Infección múltiple de VPH: infección con 2 o más tipos de VPH

^b ≥ASCUS: resultado de Papanicolau de ASCUS, LSIL o HSIL.

Características generales de la población y su relación con la infección por VPH

Con respecto a las características generales de la población y la comparación entre las mujeres que tuvieron un resultado positivo para infección con VPH y las que tuvieron resultado negativo (Cuadro No.2), la mayor parte de las mujeres era mayor de 30 años, con una mediana de edad igual para ambos grupos. Con respecto a la etnia, la mayor parte de las mujeres se autoidentificaron como ladinas en ambos grupos; el departamento de residencia más frecuentemente reportado fue Guatemala, seguido por Escuintla. La mediana de edad de inicio de relaciones sexuales fue menor en las mujeres con VPH con 17 años, sin embargo estas diferencias no fueron significativas ($p=0.835$). En el caso de la edad del primer embarazo, se evidenció diferencia significativa de tener infección por VPH ($p=0.004$) en aquellas cuyo embarazo fue a menor edad (18 años). De igual manera, se encontró una asociación entre las mujeres que tuvieron más de 3 parejas sexuales en la vida y el riesgo de tener infección por VPH ($p=0.049$).

Cuadro 2: Características generales de la población y su relación con la infección por VPH

Característica		Sin VPH (n:64)		Con VPH (n:72)		valor-p
		%	n	%	n	
Edad	<30 años	60	9	40	6	0.471 ¹
	30-39 años	43.2	32	56.7	42	
	≥40 años	48.9	23	51.1	24	
	Mediana (RIC)	36 (31-42)		36 (32-43)		
Etnia	Ladino	45.6	52	54.4	62	0.482 ¹
	Maya	52.4	11	47.6	10	
	Garifuna	100	1	0	0	
Residencia	Guatemala	41.7	30	58.3	42	0.345 ¹
	Escuintla	52.6	10	47.4	9	
	Otros	51.1	22	48.8	21	
Edad inicio relaciones sexuales	Mediana (RIC)	18 (16-20)		17 (15-20)		0.835 ¹
	<20 años	46.5	47	53.5	54	
	≥20 años	48.6	17	51.4	18	
Edad primer embarazo	Mediana	20 (18-22)		18 (16-21)		0.004¹
	<18 años	30.4	14	69.5	32	
	≥18 años	55.6	50	44.4	40	
Embarazo	Mediana de embarazos (RIC)	3 (2-4)		3 (2-6)		0.203 ²
	Mediana de hijos (RIC)	3 (2-4)		3 (2-5)		0.168 ²
Relaciones sexuales anales	Si	37.93	11	62.07	18	0.260 ¹
	No	49.53	53	50.47	54	
Uso regular de condón	Si	39.53	17	60.47	26	0.232 ¹
	No	50.54	47	49.46	46	
Número de parejas sexuales en la vida	<3	53.33	48	46.67	42	0.040¹
	≥3	34.78	16	65.22	30	

¹Se realizó prueba de chi-2. ²Se realizó prueba de ANOVA

RIC: rango intercuartílico

Características de la infección por VIH y su relación con la coinfección por VPH

Las características asociadas a la infección por VIH se muestran en el Cuadro No. 3. La mayor parte de las participantes reportaron tener pareja sexual, que en su mayoría fueron seropositivas, aunque no se encontró asociación con respecto a la infección con VPH y el estatus de infección con VIH de la pareja. La mediana de linfocitos T CD4+ basales en las mujeres con VPH fue menor (174 RIC 47–330) a la observada en las mujeres sin VPH (204 RIC 110-334), sin embargo no se observaron diferencias significativas ($p=0.075$). La mayor parte de mujeres se encuentran en su primer esquema de tratamiento antirretroviral, y su recuento de linfocitos T CD4+ actual era mayor al observado a nivel basal, y aunque en las mujeres con VPH la mediana era menor (485 RIC 317-642), no se observaron diferencias significativas ($p=0.204$). Solamente el 6.6% (IC95% 3.5-12.1) de las pacientes tenía recuentos de linfocitos T CD4+ menores a 200 células/ μ l. La mayor parte de las mujeres se encontraban con supresión de la replicación del VIH, con carga viral menor a 1000 copias/ml.

Se comparó las características de la infección por VIH con respecto a tener un subtipo de alto riesgo o no, sin embargo no se evidenció relación.

Características de la infección por VPH y los hallazgos citológicos

La prevalencia de anomalías citológicas (resultado anormal de Papanicolau: ASCUS, LSIL o HSIL) fue de 5.9 % (IC95% 3.0-11.2). No se encontró diferencia significativa entre las mujeres con citología normal y anormal con relación a la infección con VPH, VPH de alto riesgo o no de alto riesgo, ni con relación a infección múltiple; sin embargo, sí se identificó un mayor riesgo de citología anormal en el caso de infección con VPH de los tipos 6, 35, 70 y 66 (Cuadro No.4).

Debido al número bajo de mujeres con alteraciones citológicas, no fue posible evaluar la relación entre las alteraciones citológicas y las características de la infección por VIH.

Cuadro 3: Características de la infección por VIH y su relación con la coinfección por VPH

Característica		Sin VPH (n:64)		Con VPH (n:72)		valor-p
		%	N	%	n	
Estatus de VIH de la pareja	Sin pareja	40.58	28	59.42	41	0.124
	Con pareja	53.73	36	46.27	31	
	<i>Seronegativo</i>	38.9	7	61.1	11	0.140
	<i>Seropositivo</i>	59.18	29	40.82	20	
Linfocitos TCD4+, recuento basal (células/ μ L)	Mediana	204.5	110-324	174.5	47-330.5	0.123
	<200	44	33	56	42	
	200-349	54.84	17	45.16	14	
	350-499	31.58	6	68.42	13	
	\geq 500	72.73	8	27.27	3	
Linfocitos TCD4+, recuento actual (células/ μ L)	Mediana	502	414.5-682.5	485.5	317-642	0.222
	<200	22.22	2	77.78	7	
	200-349	36.36	8	63.64	14	
	350-499	55.26	21	44.74	17	
	\geq 500	49.25	33	50.75	34	
Número de esquemas de ARV	Primer esquema	47.06	56	52.94	63	1.000
	Segundo esquema	47.06	8	52.94	9	
Carga viral de VIH, determinación actual (copias/ml)	Menor a 1000	47.29	61	51.91	68	0.819
	Mayor a 1000	42.86	3	57.14	4	

RIC: rango intercuartílico

ARV: antiretroviral

Cuadro 4: Asociación entre el estatus de infección con VPH y el resultado de la citología cervicovaginal

Estatus de infección con VPH	Resultado de Papanicolau				Total	OR	IC 95%	valor-p
	Normal		≥ASCUS ^d					
	n=128	%	n=8	%				
Sin VPH	63	(98.4)	1	(1.6)	64		Referencia	
Cualquier tipo de VPH	65	(90.3)	7	(9.7)	72	6.71	(0.99-156.30)	0.050
VPH alto riesgo ^a	40	(90.0)	4	(9.1)	44	6.20	(0.75-158.10)	0.097
VPH no alto riesgo ^b	25	(89.3)	3	(10.7)	28	7.37	(0.75-201.80)	0.090
Infección múltiple ^c	44	(89.8)	5	(10.2)	49	7.05	(0.94-172.80)	0.059

^a VPH alto riesgo: tipos de VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68

^b VPH no alto riesgo: 6, 11, 26, 40, 42, 53, 54, 55, 61, 62, 64, 66, 67, 69, 70, 71, 72, 81, 82, 83, 84, IS39 y CP6108

^c Infección múltiple de VPH: infección con 2 o más tipos de VPH

^d ≥ASCUS: resultado de Papanicolau de ASCUS, LSIL o HSIL.

III.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La prevalencia de VPH que se estimó en este estudio en mujeres con VIH (52.9 %, IC95 % 44.6 – 61.1) fue menor a la reportada previamente en Guatemala para mujeres trabajadoras sexuales (67.3 %, IC95 % 61.7 – 72.6); sin embargo, la prevalencia en mujeres con VIH resultó ser mayor a la reportada para población general femenina (38.1%, IC95 % 32.5 – 43.8) en el país (Vallès et al., 2009). Estas prevalencias son congruentes con reportes previos en que la prevalencia en mujeres con VIH es mayor a la reportada en población general (Sun & Kuhn, 1997; Vermund et al., 1991).

La alta prevalencia de tipos de VPH de alto riesgo estimada en esta investigación (32%) fue menor a lo reportado recientemente en Rio de Janeiro (prevalencia mayor al 53%), en una cohorte de mujeres (>18 años) con VIH (Cambou, Levi, & Lake, 2015), y en un grupo de mujeres jóvenes (menores de 23 años) con VIH en Estados Unidos y Puerto Rico (74.7%) (Kahn & Burk, 2012).

En mujeres con citología cervical anormal (resultado anormal de Papanicolau: ASCUS, LSIL o HSIL) fue estimada mayor prevalencia de VPH y mayor prevalencia de los tipos de VPH de alto riesgo, en comparación con aquellas que tenían su citología cervical normal; sin embargo, no se evidenció diferencia significativa en esta diferencia de prevalencias, situación que puede deberse a la baja proporción de pacientes con anomalía citológica que fueron identificadas. Si bien la prevalencia de anomalías citológicas estimada para esta población con VIH (5.9%, IC95% 3.0-11.2) fue similar a la reportada para población general en Guatemala (7.7%, IC 95% 5.2-11.3) (Vallès et al., 2009), era de esperarse una prevalencia más altas de alteraciones citológicas en las mujeres con VIH (Luque & Jabeen, 2006; Torrisi et al., 1999; Vermund et al., 1991).

Una posible explicación a la baja proporción de pacientes con citología cervical anormal es que muchas mujeres que previamente tenían alteraciones citológicas, se les pudo haber practicado histerectomía; es más, la principal causa de exclusión en este estudio fue tener antecedentes de histerectomía. En el proceso de selección de la muestra de 150 mujeres para esta investigación, fueron rechazadas 47 por histerectomía, mientras que en un estudio similar en mujeres con VIH en Río de Janeiro, en el proceso de selección de 590 mujeres, tan solo fue excluida una paciente por antecedente de histerectomía (Cambou et al., 2015). De manera interesante, en un estudio previo realizado durante los años 2005-2009, también en la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt, el 29% de las citologías fueron reportadas como anormales, pudiendo la temporalidad de los estudios explicar las diferencias observadas (Lemus et al., 2010); sin embargo, se requeriría de un estudio de cohorte complementario para evidenciar si las pacientes con anomalías citológicas reportadas en

el período 2005-2009 corresponde a las que fueron identificadas con histerectomía en este estudio.

Otra explicación a la baja proporción de pacientes que tuvieron resultados de citología cervical anormal, podría ser que, a pesar de tener VIH, la mayor proporción de las mujeres se encontraban con supresión de la replicación del VIH, con carga viral menor a 1000 copias/ml; además, no solo no se encontró diferencia significativa en el recuento de linfocitos T CD4+ entre las mujeres con VPH y las que no tenían VPH, sino que solamente el 6.6% (IC95% 3.5-12.1) de las pacientes tenía recuentos de linfocitos T CD4+ congruentes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Con relación a la diversidad de tipos de VPH identificados en la población femenina con VIH de la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt, esta fue amplia y no se evidenció que un grupo o un tipo de VPH en particular predominaran considerablemente. Los tipos de VPH más prevalentes se estimaron entre 7.4-11.0 %, mientras que en la cohorte de mujeres con VIH de Rio de Janeiro se reportaron tipos de VPH con prevalencias mayores al 20 % (Cambou et al., 2015). La alta diversidad y persistencia de los tipos de VPH pueden deberse a factores asociados con el aclaramiento viral, situación descrita en varios estudios como un mecanismo de control virológico del cuerpo (Molano et al., 2003); en mujeres con VIH el aclaramiento viral no es tan rápido y la persistencia de los subtipos virales se comporta de una manera diferente a lo observado en personas con inmunidad completa (Moscicki, Ellenberg, Farhat, & Xu, 2004; Rowhani-Rahbar et al., 2007).

El patrón de los tipos de VPH más frecuentemente identificados en la población femenina con VIH del Hospital Roosevelt, fue más parecido al identificado en Guatemala para la población general que para las mujeres trabajadoras sexuales (Vallès et al., 2009); por ejemplo, en el caso de las mujeres con resultado anormal de Papanicolau, los tipos de VPH más frecuentemente identificados en esta investigación fueron los VPH66 y VPH70 (38% cada uno) y para las mujeres de la población general se han reportados estos dos tipos de VPH como los más prevalentes pero en menor proporción (VPH66 en 17% y VPH 70 en 13%). En el caso de las mujeres con citología normal, también hubo concordancia en los VPH más prevalentes en las mujeres con VIH (VPH84 en 11% y VPH71 en 9%) que en las mujeres de la población general, aunque en estas la proporción también fue menor a las que tienen VIH (VPH84 en 4% y VPH71 en 3%) (Vallès et al., 2009).

Con relación a las características sociodemográficas, se encontró asociación entre tener algún subtipo de VPH con la edad de primer embarazo y el número de parejas sexuales. Estos datos son concordantes con otros estudios, donde se reporta que el riesgo es mayor con un mayor número de parejas sexuales en la vida (Vinodhini, Shanmughapriya, Das, &

Natarajaseenivasan, 2012). En esta investigación se consideró como riesgo tener más de 3 parejas sexuales, pero en otros estudios similares se ha reportado esta misma asociación considerando más de 14 parejas sexuales en la vida como mayor riesgo de infección con VPH (Roset Bahmanyar et al., 2012; Winer et al., 2012). No existen muchos datos en el país respecto a este tema, pero en datos de la encuesta de salud materno infantil de 2008 (ENSMI), en hombres entre 15-59 años el 84.7% reportaron tener solamente 1 pareja sexual en los últimos 12 meses, y el 99% reportaron tener hijos con menos de 3 mujeres (MSPAS, 2011).

Es importante resaltar que las características de la población son muy similares a las reportadas por encuestas poblacionales de población general. Con respecto a la edad de inicio de relaciones sexuales, la ENSMI reportó para 2008 un 55.4% de mujeres que tuvieron su primera relación sexual antes de los 20 años con una mediana de 18.3, similar a lo reportado en este estudio (MSPAS, 2010). El porcentaje de mujeres que tuvieron su primer embarazo antes de los 18 años es menor a lo reportado en la ENSMI en las mujeres con resultado positivo para VPH, ya que se reportó para 2008 un 21.3% y una mediana de 20.5 años, mientras que en este estudio la mediana del primer embarazo fue de 18 años (MSPAS, 2010). En esta investigación se evidenció diferencia significativa entre tener menos de 18 años de edad en el primer embarazo y el riesgo de tener infección por VPH, lo que pudiera indicar un inicio de actividad sexual sin métodos de protección; sin embargo, una limitante de esta investigación es que la entrevista usada en este estudio no fue lo suficientemente exhaustiva como para profundizar en este análisis.

Otra de las limitantes de este estudio fue relacionada con las características de la participación o enrolamiento en la investigación ya que, si bien el porcentaje de rechazo (8.7 %) fue similar al estimado (10 %), fue alta la proporción de mujeres que no cumplían los criterios de inclusión, particularmente el antecedente de histerectomía; este antecedente y otros como la resequedad vaginal, no son aspectos clínicos que se registren en las bases de datos de la institución y que pueden reflejar, en particular los antecedentes de histerectomía, otro momento de la evolución de la infección por HPV que no se pudo evidenciar en esta investigación.

Finalmente, estos resultados representan los primeros datos sobre la prevalencia y diversidad viral de VPH en mujeres con VIH en Guatemala, y vislumbran la necesidad de realizar más investigaciones en esta población, como estudios de cohorte o seguimiento para evaluar las diferencias en aclaramiento viral o progresión a anormalidades citológicas, también se evidencia necesario evaluar el posible impacto que tendría la introducción de la vacuna anti-VPH en esta población; también estimar la carga de enfermedad por infección con VPH, así como estudiar la magnitud y antecedentes de los casos de histerectomía en esta población.

PARTE IV

IV. 1 CONCLUSIONES

La prevalencia de infección por el virus de papiloma humano (VPH) en la población de mujeres con VIH fue de 52.9% (IC95% 44.6-61.1), siendo este reporte superior a lo reportado en estudios previos en población general en Guatemala.

- IV.1.1** La prevalencia de VPH en pacientes del sexo femenino con el VIH en la Clínica de Enfermedades Infecciosas fue de 52.9% (IC95% 44.6-61.1). La prevalencia de VPH de alto riesgo fue de 32.4% (IC95% 25.1-40.6).
- IV.1.2** Se identificaron treinta subtipos diferentes de VPH, siendo los más prevalentes los subtipos VPH84, VPH66, VPH62, VPH71, VPH16 y VPH83. La prevalencia de infecciones múltiples de VPH (≥ 2 tipos de VPH) fue de 36% (IC95% 28.4-44.4); las infecciones múltiples más prevalentes fueron las de 2 tipos de VPH (27.8%, IC95% 17.9-39.6).
- IV.1.3** No se evidenció asociación entre los hallazgos citológicos y las lesiones cervicales con la infección por VPH.
- IV.1.4** La edad temprana (<18 años) del primer embarazo y tener más de 3 parejas sexuales en la vida evidenciaron cierta asociación con presentar infección por VPH.
- IV.1.5** Esta investigación presenta los primeros datos sobre la prevalencia y diversidad viral de VPH en mujeres con VIH en Guatemala.

IV.2 RECOMENDACIONES

- IV.2.1** Se recomienda realizar pruebas moleculares que permitan detectar la infección con VPH de alto riesgo, ya que un tercio de las pacientes tendrá este tipo de infección, lo que permitiría dar un seguimiento más estrecho realizando el Papanicolau más frecuentemente, dando así la oportunidad al ginecólogo de identificar de manera más oportuna el apareamiento de alteraciones citológicas.
- IV.2.2** Considerando que se identificó una alta diversidad viral, sería conveniente conducir estudios que permitan evidenciar el nivel de persistencia viral y progresión a anormalidades citológicas, así como realizar un análisis económico para estimar la carga de enfermedad y la pertinencia de la incorporación de la vacuna contra VPH en esta población.
- IV.2.3** Considerando que no fue posible evidencia asociación entre los hallazgos citológicos y las lesiones cervicales con la infección por VPH, sería conveniente realizar estudios de cohorte que permitan analizar diferentes momentos de la infección, incluyendo aclaramiento viral o progresión a anormalidades citológicas. Las cohortes debieran analizarse históricamente y prospectivamente con los nuevos casos de VIH que se atiendan en la clínica. Además debiera mejorarse las bases de datos de la institución, incorporando datos como histerectomía, lo que mejoraría la selección de muestra en futuros estudios y fortalecería los análisis de cohorte.
- IV.2.4** Al igual que en otras investigaciones, en este estudio se pudo identificar que la edad temprana del primer embarazo y tener múltiples parejas sexuales representan riesgo mayor a presentar infección por VPH. Estos hallazgos refuerzan la evidencia que sugiere la necesidad y las recomendaciones internacionales de que sea implementado un esquema de vacunación anti-VPH de alto riesgo en los adolescentes a nivel nacional, que les proteja de esta infección al iniciar su vida sexual activa.
- IV.1.5** Si bien esta investigación presenta los primeros datos sobre la prevalencia y diversidad viral de VPH en mujeres con VIH en Guatemala, aún hace falta información que permita tomar acciones estratégicamente orientadas. Por lo que es recomendable que se realicen más investigaciones, en particular estudios de cohorte, de impacto de introducción vacunal en relación a carga de enfermedad y aspectos económicos.

IV.3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, A. L. P., Souza, R. P., Gimenes, F., & Consolaro, M. E. L. (2012). A review of methods for detect human Papillomavirus infection. *Virology Journal*, 9, 262. <http://doi.org/10.1186/1743-422X-9-262>
- Adam, E., Berkova, Z., & Daxnerova, Z. (2000). Papillomavirus detection: demographic and behavioral characteristics influencing the identification of cervical disease. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 182(2), 257–264. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002937800702080>
- Andersson, S., Rylander, E., & Larsson, B. (2001). The role of human papillomavirus in cervical adenocarcinoma carcinogenesis. *European Journal of Cancer*, 37, 246–250. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959804900003762>
- Andrei, G., Snoeck, R., Piette, J., Delvenne, P., & De Clercq, E. (1998). Antiproliferative effects of acyclic nucleoside phosphonates on human papillomavirus (HPV)-harboring cell lines compared with HPV-negative cell lines. *Oncology Research*, 10(10), 523–531. Retrieved from <http://europepmc.org/abstract/med/10338155>
- Barré-Sinoussi, F., Ross, A. L., & Delfraissy, J.-F. (2013). Past, present and future: 30 years of HIV research. *Nature Reviews. Microbiology*, 11(12), 877–883. <http://doi.org/10.1038/nrmicro3132>
- Berumen, J., & Ordoñez, R. (2001). Asian-American variants of human papillomavirus 16 and risk for cervical cancer: a case–control study. *Journal of the National Cancer Institute*, 93(17), 1325–1330. Retrieved from <http://jnci.oxfordjournals.org/content/93/17/1325.short>
- Burd, E. (2003). Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*, 16(1), 1–17. <http://doi.org/10.1128/CMR.16.1.1>
- Burd, E. M. (2003). Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(1), 1–17. <http://doi.org/10.1128/CMR.16.1.1-17.2003>
- Cambou, M., Levi, J., & Lake, J. (2015). Time Trend Analysis of Cervical High-Risk HPV in HIV-Infected Women in an Urban Cohort from Rio de Janeiro, Brazil: The Rise of Non-16/18 HPV. *International Journal of Infectious Diseases*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971215002519>
- Chelimo, C., Wouldes, T. a, Cameron, L. D., & Elwood, J. M. (2013). Risk factors for and prevention of human papillomaviruses (HPV), genital warts and cervical cancer. *The Journal of Infection*, 66(3), 207–17. <http://doi.org/10.1016/j.jinf.2012.10.024>
- Clínica de Enfermedades Infecciosas. (2010). *Memoria de labores 2010*. Guatemala.
- Congreso de la República de Guatemala. Ley General para el Combate del Virus de Inmunodeficiencia Humana-VIH- y del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida SIDA y de la promoción, protección y defensa de los Derechos Humanos ante el VIH-SIDA (2000). Guatemala.

- Cubie, H., & Seagar, A. (2000). A longitudinal study of HPV detection and cervical pathology in HIV infected women. *Sexually Transmitted Infections*, 76(4), 257–261. Retrieved from <http://sti.bmj.com/content/76/4/257.short>
- de Villiers, E.-M. (2013). Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology*, 445(1-2), 2–10. <http://doi.org/10.1016/j.virol.2013.04.023>
- Di Girolamo, W., Coronato, S., & Laguens, G. (2003). La infección con HPV en mujeres HIV+. *Revista de La Facultad de Ciencias Médicas de La Universidad Nacional de La Plata*, 1(1), 14–24.
- Dochez, C., Bogers, J. J., Verhelst, R., & Rees, H. (2014). HPV vaccines to prevent cervical cancer and genital warts: an update. *Vaccine*, 32(14), 1595–601. <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.10.081>
- Dyson, N., Guida, P., Münger, K., & Harlow, E. (1992). Homologous sequences in adenovirus E1A and human papillomavirus E7 proteins mediate interaction with the same set of cellular proteins. *Journal of Virology*, 66(12), 6893–902. Retrieved from <http://jvi.asm.org/content/66/12/6893.short>
- Fields, B., Howley, P., Griffin, D., Lamb, R., Martin, M., Roizman, B., ... Knipe, D. (Eds.). (2001). *Fields Virology*. Lippincott Williams & Wilkins Publishers.
- Garcés, M. (2005). *Presencia de Virus del Papiloma Humano en Mujeres Guatemaltecas y su relación con Cáncer de Cérvix*. Guatemala. Retrieved from <http://glifos.concyt.gob.gt/digital/fonisal/fonisal 2002.01.pdf>
- García, A., & Vásquez, C. (2008). *Detección y tipificación de los virus de papiloma humano de alto riesgo en pacientes con lesiones preinvasivas e invasivas de cérvix por medio de PCR*. Guatemala.
- García, J. (2010). *Estimaciones y proyecciones de VIH para Guatemala*. Guatemala.
- García, J. (2011). *Estadísticas de VIH y VIH avanzado, Guatemala enero 1984-diciembre 2010*. Guatemala.
- GESIDA. (2010). *Documento de consenso sobre las infecciones de transmisión sexual en personas con infección por el VIH*. *msps.es*. Retrieved from <http://www.msps.es/ca/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/publicaciones/pr ofSanitarios/recomendacionesITSInfeccionVIH.pdf>
- Giannoudis, A., & Herrington, C. S. (2001). Human papillomavirus variants and squamous neoplasia of the cervix. *The Journal of Pathology*, 193(3), 295–302. Retrieved from [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1096-9896\(2000\)9999:9999<::AID-PATH809>3.0.CO;2-C/full](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1096-9896(2000)9999:9999<::AID-PATH809>3.0.CO;2-C/full)
- Hernández, M. (2007). *Caracterización de la infección por el Virus de Papiloma Humano, diagnosticada por hallazgos citológicos, en mujeres que asisten a la Clínica de Especialidades APROFAM-ONG*. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Holowaty, P., & Miller, A. (1999). Natural history of dysplasia of the uterine cervix. *Journal of the National Cancer Institute*, 91(3), 252–258. Retrieved from <http://jnci.oxfordjournals.org/content/91/3/252.short>

- INCAN. (2006). *Registro Hospitalario año 2006*. Guatemala.
- Jung, H., Rajasekaran, N., Ju, W., & Shin, Y. (2015). Human Papillomavirus: Current and Future RNAi Therapeutic Strategies for Cervical Cancer. *Journal of Clinical Medicine*. Retrieved from <http://www.mdpi.com/2077-0383/4/5/1126/htm>
- Kahn, J., & Burk, R. (2012). Prevalence and risk factors for HPV in HIV-positive young women receiving their first HPV vaccination. *Journal of Acquired ...* Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3480995/>
- Kleter, B., & Doorn, L. Van. (1999). Development and clinical evaluation of a highly sensitive PCR-reverse hybridization line probe assay for detection and identification of anogenital human. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(8), 2508–2517. Retrieved from <http://jcm.asm.org/content/37/8/2508.short>
- Lemus, J., Valiente, O., Linares, K., Pérez, C., & Mejía, C. (2010). Principales causas de anormalidades en citologías de cérvix en pacientes no gestantes en edad reproductiva con diagnóstico de VIH/SIDA que asisten a la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt. *Revista Del Colegio de Médico de Guatemala*, 2, 6–10.
- Lewis, M. (2004). Análisis de la situación del cáncer cervicouterino en América Latina y el Caribe. Retrieved from <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/762>
- Lizano, M., Berumen, J., & García-Carrancá, A. (2009). HPV-related carcinogenesis: basic concepts, viral types and variants. *Archives of Medical Research*, 40(6), 428–34. <http://doi.org/10.1016/j.arcmed.2009.06.001>
- Luque, A., & Jabeen, M. (2006). Prevalence of human papillomavirus genotypes and related abnormalities of cervical cytological results among HIV-1–Infected Women in Rochester, New York. *Journal of Infectious Diseases*, 194(4), 428–434. Retrieved from <http://jid.oxfordjournals.org/content/194/4/428.short>
- Malagón, T., Drolet, M., Boily, M., & Franco, E. (2012). Cross-protective efficacy of two human papillomavirus vaccines: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious ...* Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473309912701871>
- McLaughlin-Drubin, M. E., & Münger, K. (2009). Oncogenic activities of human papillomaviruses. *Virus Research*, 143(2), 195–208. <http://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.06.008>
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Reglamento para el Manejo de Desechos Sólidos Hospitalarios (2001). Guatemala. Retrieved from http://www.disaster-info.net/PED-Sudamerica/leyes/leyes/centroamerica/guatemala/salud/Reglamento_para_el_Manejo_de_desechos_Solidos_Hospitalarios.pdf
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Normativa para la habilitación, autorización, regulación y control de laboratorios clínicos (2006). Guatemala: Departamento de Regulacion Acreditacion y Control de Establecimientos de Salud.
- Molano, M., van den Brule, A., Plummer, M., Weiderpass, E., Posso, H., Arslan, A., ...

- Group, the H. P. V. S. (2003). Determinants of Clearance of Human Papillomavirus Infections in Colombian Women with Normal Cytology: A Population-based, 5-Year Follow-up Study. *American Journal of Epidemiology*, *158* (5), 486–494. <http://doi.org/10.1093/aje/kwg171>
- Moscicki, A.-B., Ellenberg, J. H., Farhat, S., & Xu, J. (2004). Persistence of Human Papillomavirus Infection in HIV-Infected and -Uninfected Adolescent Girls: Risk Factors and Differences, by Phylogenetic Type. *Journal of Infectious Diseases*, *190* (1), 37–45. <http://doi.org/10.1086/421467>
- MSPAS. (2010). *Encuesta Nacional de Salud Materno Infantil 2008 (ENSMI-2008/09), Mujeres*. Guatemala: Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) / Instituto Nacional de Estadística (INE) / Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC).
- MSPAS. (2011). *Encuesta Nacional de Salud Materno Infantil 2008 (ENSMI-2008/09), Hombres*. Guatemala: Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) / Instituto Nacional de Estadística (INE) / Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC).
- Myers, E., & McCrory, D. (2000). Mathematical model for the natural history of human papillomavirus infection and cervical carcinogenesis. *American Journal of Epidemiology*, *151*(12), 1158–1171. Retrieved from <http://aje.oxfordjournals.org/content/151/12/1158.short>
- Nobbenhuis, M., Meijer, C., van den Brule, A., Rozendaal, L., Voorhorst, F. J., Risse, E., ... Helmerhost, T. (2001). Addition of high-risk HPV testing improves the current guidelines on follow-up after treatment for cervical intraepithelial neoplasia. *British Journal of Cancer*, *84*(6), 796–801. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2363818/>
- Ong, C., Chan, S., & Campo, M. (1993). Evolution of human papillomavirus type 18: an ancient phylogenetic root in Africa and intratype diversity reflect coevolution with human ethnic groups. *Journal of Virology*, *67*(11), 6424–6431. Retrieved from <http://jvi.asm.org/content/67/11/6424.short>
- Organización Mundial de la Salud. (2005). Manual de Bioseguridad en el laboratorio. Retrieved from http://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=Z3NV_StRaF8C&oi=fnd&pg=PP8&dq=Manual+de+Bioseguridad+en+el+Laboratorio+&ots=2hQRee-Yg_&sig=9UhuEC3GLbW2bzsCGYHk87wLD0M
- Organización Mundial de la Salud. (2007). *Control integral del cáncer cervicouterino: guía de practicas esenciales*. Suiza.
- Pas, S., Rossen, J. W. a, Schoener, D., Thamke, D., Pettersson, A., Babel, R., & Schutten, M. (2010). Performance evaluation of the new Roche Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-1 test version 2.0 for quantification of human immunodeficiency virus type 1 RNA. *Journal of Clinical Microbiology*, *48*(4), 1195–200. <http://doi.org/10.1128/JCM.01832-09>

- Roset Bahmanyar, E., Paavonen, J., Naud, P., Salmerón, J., Chow, S.-N., Apter, D., ... Dubin, G. (2012). Prevalence and risk factors for cervical HPV infection and abnormalities in young adult women at enrolment in the multinational PATRICIA trial. *Gynecologic Oncology*, *127*(3), 440–50. <http://doi.org/10.1016/j.ygyno.2012.08.033>
- Rowhani-Rahbar, A., Hawes, S. E., Sow, P. S., Toure, P., Feng, Q., Dem, A., ... Kiviat, N. B. (2007). The Impact of HIV Status and Type on the Clearance of Human Papillomavirus Infection among Senegalese Women. *Journal of Infectious Diseases*, *196* (6), 887–894. <http://doi.org/10.1086/520883>
- Sapp, M., & Volpers, C. (1995). Organization of the major and minor capsid proteins in human papillomavirus type 33 virus-like particles. *Journal of General Virology*, *76*(9), 2407–2412. Retrieved from <http://vir.sgmjournals.org/content/76/9/2407.short>
- Scheffner, M., Werness, B., & Huibregtse, J. (1990). The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell*, *63*(6), 1129–1136. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0092867490904098>
- Serrano, B., Alemany, L., & Tous, S. (2012). Potential impact of a nine-valent vaccine in human papillomavirus related cervical disease. *Infect Agent* Retrieved from <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1750-9378-7-38.pdf>
- Snoeck, R., Noel, J.-C., Muller, C., De Clercq, E., & Bossens, M. (2000). Cidofovir, a new approach for the treatment of cervix intraepithelial neoplasia grade III (CIN III). *Journal of Medical Virology*, *60*(2), 205–209. Retrieved from [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1096-9071\(200002\)60:2%3C205::AID-JMV16%3E3.0.CO;2-8/pdf](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1096-9071(200002)60:2%3C205::AID-JMV16%3E3.0.CO;2-8/pdf)
- Sobota, R. S., Ramogola-Masire, D., Williams, S. M., & Zetola, N. M. (2014). Co-infection with HPV types from the same species provides natural cross-protection from progression to cervical cancer. *Infectious Agents and Cancer*, *9*(1), 26. <http://doi.org/10.1186/1750-9378-9-26>
- Solomon, D., Davey, D., & Kurman, R. (2002). The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *Jama*, *287*(16), 2114–2119. Retrieved from <http://archderm.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=194863>
- Sullivan, K., Dean, A., & Mir, R. (2007). OpenEpi -Sample Size for %frequency in a population. Retrieved July 28, 2011, from <http://www.openepi.com/SampleSize/SSPropor.htm>
- Sun, X., & Kuhn, L. (1997). Human papillomavirus infection in women infected with the human immunodeficiency virus. *New England Journal of Medicine*, *337*(19), 1343–1349. Retrieved from <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199711063371903>
- Syrjänen, S., & Syrjänen, K. (1999). New concepts on the role of human papillomavirus in cell cycle regulation. *Annals of Medicine*, *31*(3), 175–87. Retrieved from <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/07853899909115976>
- Torrise, A., Mistro, A. Del, & Onnis, G. (1999). Colposcopy, cytology and HPV-DNA testing in HIV-positive and HIV-negative women. *European Journal of Gynaecological*

- Oncology*, 21(2), 168–172. Retrieved from <http://europepmc.org/abstract/MED/10843478>
- Vallès, X., Murga, G. B., Hernández, G., Sabidó, M., Chuy, A., Lloveras, B., ... Casabona, J. (2009). High prevalence of human papillomavirus infection in the female population of Guatemala. *International Journal of Cancer. Journal International Du Cancer*, 125(5), 1161–7. <http://doi.org/10.1002/ijc.24444>
- Van Doorslaer, K. (2013). Evolution of the papillomaviridae. *Virology*, 445(1-2), 11–20. <http://doi.org/10.1016/j.virol.2013.05.012>
- Vermund, S., Kelley, K., & Klein, R. (1991). High risk of human papillomavirus infection and cervical squamous intraepithelial lesions among women with symptomatic human immunodeficiency virus infection. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 165(2), 392–400. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/000293789190101V>
- Villiers, E. De, Fauquet, C., & Broker, T. (2004). Classification of papillomaviruses. *Virology*, 324(1), 17–27. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004268220400220X>
- Vinodhini, K., Shanmughapriya, S., Das, B., & Natarajaseenivasan, K. (2012). Prevalence and risk factors of HPV infection among women from various provinces of the world. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 285(3), 771–777. <http://doi.org/10.1007/s00404-011-2155-8>
- Walboomers, J. (1999). Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *The Journal of Pathology*, 189(1), 12–19. Retrieved from [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199909\)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F/full](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1096-9896(199909)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F/full)
- Winer, R. L., Hughes, J. P., Feng, Q., Xi, L. F., Lee, S.-K., O'Reilly, S. F., ... Koutsky, L. A. (2012). Prevalence and Risk Factors for Oncogenic Human Papillomavirus Infections in High-Risk Mid-Adult Women. *Sexually Transmitted Diseases*, 39(11).
- World Health Organization. (2007). *INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans VOLUME 90 Human Papillomaviruses*. Lyon. Retrieved from <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol90/>
- Zuckerman, A., Banatvala, J., Pattison, J., Griffiths, P., & Schoub, B. (Eds.). (2004). *Principles and practice of clinical virology. FEBS Letters* (Vol. 392). John Wiley & Sons, Ltd. [http://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)89439-7](http://doi.org/10.1016/0014-5793(96)89439-7)

IV.4 ANEXOS

IV.4.1 Consentimiento informado

Consentimiento informado escrito para participar en el proyecto de investigación titulado: Prevalencia de Virus de Papiloma Humano (VPH) en mujeres viviendo con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH).

Sitio de investigación: Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt, Calzada Roosevelt zona 11 Ciudad de Guatemala, Guatemala.

Investigador responsable: Dr. Carlos Mejía Villatoro, Jefe de Unidad de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Medicina Interna, Hospital Roosevelt. Teléfono: 2497-7300. Correo electrónico: mejia_villatoro@hotmail.com

Estimada paciente:

Se le invita a participar en este proyecto de investigación que pretende estudiar, en personas que viven con VIH, la presencia del virus de papiloma humano. Su participación en este estudio es **completamente voluntaria**.

Es importante conocer qué tipo de virus de papiloma humano afecta principalmente a las pacientes con VIH, ya que dependiendo del tipo viral hay mayor o menor riesgo a padecer de cáncer cervicouterino. En Guatemala no hay datos sobre la infección con estos dos virus. Es muy importante esta información para mejorar el conocimiento de la epidemia de VIH en el país y generar datos sobre la infección por el virus de papiloma humano en personas con VIH. Esta información puede ser útil para implementar políticas de salud que mejoren el tratamiento y seguimiento clínico a nivel nacional y para evaluar si es o no factible biológicamente el uso de la vacuna para el virus de papiloma humano en esta población.

Usted puede participar en este estudio si cumple con todos los criterios siguientes:

- Ser mujer con 18 años de edad o más
- Diagnóstico de VIH confirmado
- Estar recibiendo tratamiento antirretroviral
- Asistir regularmente a consulta programada a la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt
- No padecer enfermedades mentales u otro criterio que comprometa la comprensión del objetivo de estudio y posibles riesgos.
- Haber comprendido y firmado voluntariamente este documento de consentimiento informado

El médico encargado de su consulta médica verá si usted cumple estos criterios y le solicitará información acerca de su historia médica y demográfica (edad, residencia y otros).

Toma de muestra: Un técnico experimentado le tomará una muestra de sangre, insertando una aguja en una vena del brazo; la cantidad de sangre que se le extraerá será de aproximadamente de dos cucharaditas. Adicionalmente, una médico ginecoobstetra, vía vaginal le tomará una muestra raspando levemente el cuello del útero. Estos procedimientos se harán este mismo día en clínicas

adecuadas y privadas, de manera confidencial. Si los investigadores responsables de este estudio lo consideran necesario, se le citará para una toma de muestra adicional.

Riesgos: Los procedimientos para tomar las muestras serán realizados por personal calificado, siguiendo todas las precauciones y medidas de higiene necesarias. Estos procedimientos producen dolor leve y molestias pasajeras; puede haber complicaciones ocasionales como inflamación, que serán atendidas en la Clínica. La cantidad de sangre extraída y el raspado de cuello de útero no representan riesgos para su salud.

Beneficios: Usted no obtendrá beneficios económicos por participar en este estudio. Sin embargo, con sus muestras de sangre se controlará que tanto se está multiplicando el VIH en su cuerpo (carga viral de VIH) y como están sus defensas (conteo de CD4+), siendo esta información útil en el estudio, pero también servirá para su seguimiento clínico regular. Con la muestra de cuello del útero, se investigará si está saludable o no su tejido y si usted está infectada o no con algún tipo de virus de papiloma humano, esta información permitirá mejorar la atención integral que le da esta Clínica. Así mismo, usted contribuirá en mejorar la información que se tiene en Guatemala sobre la infección de VIH y su relación con el virus de papiloma humano.

Confidencialidad: En este estudio se respetará su privacidad y la información que usted dé y los resultados de laboratorio serán manejados confidencialmente. Su participación en este estudio es **completamente voluntaria**. Si usted decide no participar, seguirá recibiendo una atención de salud de la misma calidad que hasta ahora ha recibido en la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt. Si usted acepta participar en el estudio pero le surgen preguntas con posterioridad, puede contactarse con el investigador responsable.

Para participar en el estudio debe escribir su nombre y firmar en el siguiente recuadro.

<p>Consentimiento</p> <p>He sido informada sobre el estudio de investigación titulado “Prevalencia de Virus de Papiloma Humano (VPH) en mujeres viviendo con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH)”. Me han explicado los métodos y procedimientos, así como los riesgos y beneficios de participar.</p> <p>He entendido que no tengo obligación de participar y si me niego a participar, no habrá repercusiones en mi atención como paciente de la Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Roosevelt.</p> <p>Nombre y firma de paciente: _____</p> <p>Nombre y firma de testigo: _____</p> <p>Fecha: _____</p>

<p>Médico que informó sobre el estudio</p> <p>Nombre y firma: _____</p>

IV.4.2 Boleta de recolección de datos

Boleta de Recolección de Datos

<p>Datos Generales del Paciente:</p> <p>Código: _____ Edad: _____ Lugar de Residencia: _____</p> <p>Estado Civil: <input type="checkbox"/> Casada o Unida <input type="checkbox"/> Soltera <input type="checkbox"/> Divorciada <input type="checkbox"/> Viuda</p> <p>Nivel Educativo: <input type="checkbox"/> Analfabeta <input type="checkbox"/> Alfabeto <input type="checkbox"/> Primaria <input type="checkbox"/> Secundaria <input type="checkbox"/> Diversificado <input type="checkbox"/> Universitario</p> <p>Etnia: <input type="checkbox"/> Ladino <input type="checkbox"/> Maya <input type="checkbox"/> Garifuna <input type="checkbox"/> Xinca</p>
<p>Aspectos de conductas sexuales</p> <p>Edad de primera relación sexual: _____ Edad de inicio de vida sexual regular: _____</p> <p>Número de parejas sexuales: _____ Orientación sexual: <input type="checkbox"/> Heterosexual <input type="checkbox"/> Bisexual</p> <p>Uso regular de condón: <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Uso de anticoncepción oral: <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO</p> <p>Relaciones sexuales anales: <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Relaciones sexuales orales: <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO</p> <p>Número de Embarazos: _____ Embarazo actual: <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Edad del primer embarazo: _____</p>
<p>Hábitos de consumo</p> <p>Consumo de alcohol: <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Consumo de cigarrillos: <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO</p> <p>Consumo de drogas: <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Tipo de drogas: _____</p>
<p>Coinfección VIH</p> <p>Fecha de diagnóstico VIH: _____ CD4 basales: _____ Carga viral basal: _____</p> <p>Estatus de la pareja: <input type="checkbox"/> Seropositivo <input type="checkbox"/> Seronegativo</p> <p>CD4 actuales: _____ Carga viral actual: _____</p>
<p>Manifestaciones clínicas</p> <p>Presencia de condilomas o verrugas: <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Realización de PAP previo: <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO</p> <p>Realización periódica de PAP: <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Realización de colposcopia previa: <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO (1 al año)</p>

PARTE V

V.1. INFORME FINANCIERO

FODECYT							
Nombre del Proyecto:		"Determinación y evaluación de la prevalencia de virus de papiloma humano en mujeres viviendo con VIH"					
Numero del Proyecto:		036-2012					
Investigador Principal y/o Responsable del Proye		DR. CARLOS RODOLFO MEJÍA VILLATORO					
Monto Autorizado:		Q374,300.00		Orden de Inicio (y/o Fecha primer pago):		01/08/2012	
Plazo en meses		18 meses					
Fecha de Inicio y Finalización:		01/08/2012 al 28/02/2014		1a. PRÓRROGA AL 30/06/2014			
Grupo	Renglon	Nombre del Gasto	Asignacion Presupuestaria	TRANSFERENCIA		Ejecutado	Pendiente de Ejecutar
				Menos (-)	Mas (+)		
1		SERVICIOS NO PERSONALES					
	121	Divulgación e información	Q 15,000.00				Q 15,000.00
	122	Impresión, encuadernación y reproducción	Q 2,500.00				Q 2,500.00
	181	Estudios, investigaciones y proyectos de factibilidad	Q 111,500.00	Q 5,625.00		Q 98,375.00	Q 7,500.00
	189	Otros estudios y/o servicios: evaluación externa de impacto	Q 8,000.00				Q 8,000.00
2		MATERIALES Y SUMINISTROS					
	261	Elementos y compuestos químicos			Q 115,930.00	Q 115,900.00	Q 30.00
	295	Útiles menores, médico-quirúrgicos y de laboratorio	Q 150,000.00	Q 120,327.76		Q 16,964.25	Q 12,707.99
3		PROPIEDAD, PLANTA, EQUIPO E INTANGIBLES					
	323	Equipo médico-sanitario y de laboratorio	Q 87,300.00	Q 7,437.92	Q 10,022.76	Q 84,259.84	Q 5,625.00
	329	Otras maquinarias y equipos			Q 7,437.92	Q 7,437.92	Q -
		GASTOS DE ADMÓN. (10%)					
			Q 374,300.00	Q 133,390.68	Q 133,390.68	Q 322,937.01	Q 51,362.99
		MONTO AUTORIZADO	Q 374,300.00			Disponibilidad	Q 51,332.99
	(-)	EJECUTADO	Q 322,967.01				
		SUBTOTAL	Q 51,332.99			15,125.00	
	(-)	CAJA CHICA	Q -				
		TOTAL POR EJECUTAR	Q 51,332.99				