

***Virus del Papiloma Humano y Chlamydia trachomatis en trabajadoras sexuales en Guayaquil,
Ecuador.***

Alvarado Luis¹, Quevedo Colón¹.

¹ Estudiante de Medicina, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Ciclo de Internado

RESUMEN

Se ha reportado que tanto en la población general como en pacientes de alto riesgo la tasa de infección por *C. trachomatis* es mayor en pacientes con virus del papiloma humano (VPH). El objetivo fue determinar la infección por ambos patógenos simultáneamente en pacientes de alto riesgo. Se reclutaron 100 trabajadoras sexuales de las cuales se extrajo una muestra de cérvix. Se emplearon técnicas de amplificación de ADN para el reconocimiento de los patógenos. 91 fueron las muestras válidas para el análisis. No se registró ningún caso de infección simultánea por ambos patógenos. El 4% de las muestras fue positiva para *C. trachomatis* y 30% para VPH. La tasa de infección por VPH según edad y tiempo de profesión fue similar en todos los grupos mientras que refirieron uso irregular del preservativo fue 40% versus 18.75% en pacientes con uso estricto (OR 2.97; $p < 0.05$). **Palabras clave:** virus del papiloma humano, *Chlamydia trachomatis*, trabajadoras sexuales

SUMMARY

In general population and high risk patients it has been reported that *Chlamydia trachomatis* infection rate is higher in patients with human papillomavirus (HPV) infection. The objective was to determine the co-infection rate of HPV and *C. trachomatis*. 100 sex workers were recruited and a cervical sample was taken. DNA amplification methods were used for the identification of the pathogens. 91 samples were valid for its analysis. There were no cases reported with co-infection. 4% of the samples were positive for *C. trachomatis* and 30% for HPV. HPV infection rates according to age and time in the profession were similar in all groups whereas it was 40% in patients referring irregular use of condom versus 18.75% in patients who referred a regular use (OR 2.97; $p < 0.05$). **Key words:** Human papillomavirus; *Chlamydia trachomatis*; sex workers.

INTRODUCCIÓN:

Chlamydia trachomatis representa la infección bacteriana de transmisión sexual más frecuente en el mundo y las personas jóvenes sexualmente activas representan un grupo de alto riesgo de contagio¹. Cerca del 70% de las infecciones por *C. trachomatis* son asintomáticas y pueden causar complicaciones severas, como enfermedad inflamatoria pélvica (EIP), infertilidad, y embarazo ectópico²⁻⁴. Por otra parte, la infección por el virus del papiloma humano (VPH) es muy prevalente en la población general, con un rango que fluctúa entre el 20% y el 46% de mujeres infectadas en diferentes países¹.

Algunos estudios como los de Giuliano y Laga, han demostrado que *C. trachomatis* incrementa el riesgo de infección con el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) y el virus papiloma humano (HPV) ^{5,6}. Se ha reportado que las trabajadoras sexuales son un punto de contagio importante de enfermedades de transmisión sexual, lo cual implica una alta posibilidad de contagio de estos patógenos a familias ordinarias^{5,6}.

Por ahora, no se dispone de suficiente información a nivel nacional referente a la coinfección por *C. trachomatis* y HPV en trabajadoras sexuales, lo cual supone una desventaja a la hora de adoptar medidas preventivas. El conocimiento de la magnitud de este problema podría exaltar la necesidad de implementar estrategias de prevención en la comunidad. El presente fue un estudio pionero en su área, tanto por el problema abordado, como por las herramientas de análisis y diagnóstico molecular que serán empleados. El objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de coinfección por *C. trachomatis* y VPH en trabajadoras sexuales en Guayaquil, Ecuador y describir la conducta de estas infecciones según la edad, los años ejercidos de profesión y su mayor o menor riesgo según el uso del preservativo.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Diseño del estudio:

Se trató de un estudio observacional, descriptivo, transversal y unicéntrico. Se llevó a cabo en 2 etapas: 1) Recolección de las muestras. 2) Extracción del ADN e Identificación de los patógenos.

La primera etapa se ejecutó en la Unidad Operativa Enfermedades de Transmisión Sexual N°1 del Ministerio de Salud Pública, en el cual se recolectaron muestras de cérvix de trabajadoras sexuales, empleando el medio "ThinPrep PreservCyt Solution".

La segunda etapa, la extracción y amplificación de ADN, fue ejecutada en el Instituto de Biomedicina de la UCSG bajo la supervisión del Biólogo Saúl Escobar y se llevó a cabo empleando los equipos de este centro para la reacción en cadena de la polimerasa con el kit amplicor. Se realizó técnica de PCR para la amplificación de DNA del VPH y nested PCR para la detección de *C. trachomatis*. Una vez amplificado el DNA se procedió a la electroforesis en gel de agarosa al 1.5% para *C. trachomatis* y al 3% para VPH.

Pacientes incluidas:

Las pacientes elegibles fueron aquellas sin diagnóstico previo de infección por HPV y/o *C. trachomatis* mayores de 18 años de edad, trabajadoras sexuales y que consintieron la obtención de la muestra. No fueron elegibles aquellas pacientes que no cumplieron los criterios de inclusión o aquellas que negaron la obtención de la muestra.

Recolección de la información:

Previo a la obtención de la muestra de espécimen cervical se realizó un cuestionario en el cual se recabó edad, años ejerciendo la profesión y uso del preservativo. Se consideró que el uso del

preservativo fue estricto cuanto las pacientes refirieron usarlo en todas las relaciones sexuales, sin excepción. El uso fue considerado irregular cuando manifestaron mantener regular o esporádicamente contacto sexual sin uso del preservativo.

Definición de resultados:

Una vez tomadas las muestras se procedió a determinar su validez. Fueron consideradas como válidas aquellas en las cuales se encontró presente el gen de la β -globina una vez realizada la electroforesis, representada como una banda de 268 pares de bases. Las muestras en las que no se encontró dicha banda, fueron descartadas.

Los resultados positivos para VPH fueron aquellos en los cuales se pudo apreciar una banda de 450 pares de bases y en el caso de *C. trachomatis*, 241 pares de bandas.

Análisis estadístico

Se procedió a la tabulación de los datos y posterior análisis utilizando el software Microsoft Excel 2007. Se categorizaron a las pacientes por cuartiles de edad y años ejercidos de profesión y en grupos de uso estricto y uso incorrecto del preservativo. Posteriormente se determinó la tasa de infección en cada uno de los subgrupos y los resultados se expresaron en porcentajes. Se realizó el cálculo del odds ratio comparando a los cuartiles segundo, tercero y cuarto versus el primer cuartil en el caso de las variables de edad y tiempo de profesión; también se compararon los grupos según el uso del preservativo. Se determinó la significancia estadística de los datos empleando la prueba de chi cuadrado.

RESULTADOS

Características de la población estudiada

Un total de 100 pacientes que cumplieron los criterios de selectividad. De cada una de ellas se extrajo una muestra (cepillado) de cérvix para su posterior análisis. De los 100 cepillados obtenidos, 91 fueron adecuados para el estudio molecular realizado, y constituyeron la muestra de este estudio (n=91). La edad promedio de las pacientes que conformaron la muestra fue 27.7 años, fluctuando las edades entre los 19 y 51 años. El tiempo de profesión ejercida fluctuó desde 2 meses hasta 20 años según el caso; el 75% de la población había ejercido la profesión, al momento de la toma de muestra, durante 5 años y medio o menos. El promedio de años en el rubro fue de 5.8 años. Del total de pacientes incluidas para el análisis final, solamente el 35.2% manifestó usar de manera estricta el preservativo en las relaciones sexuales.

Coinfección de VPH y C. trachomatis

El 4% de las pacientes en las cuales la toma de muestra fue satisfactoria tuvo infección por C. trachomatis. El 33% fue positivo para VPH. El 63% restante no presentó ninguna de las dos infecciones. No se registraron casos de pacientes en cuya muestra se encontraran ambos patógenos simultáneamente.

Infección por C. trachomatis

De las 4 pacientes infectadas, 2 fueron menores de 25 años, y las otras 2 mayores de 30 años. El tiempo de profesión ejercida fluctuó entre 5 meses y 2 años. No se encontraron hallazgos estadísticamente significativos en este grupo poblacional.

Infección por VPH

De las 91 muestras obtenidas, 30 fueron positivas para VPH lo cual representa el 33% de la población del estudio.

VPH según grupo etario

Al dividirse la población por grupos etarios según el cuartil, se obtuvieron cuatro grupos: primer cuartil (Q1, pacientes de hasta 23 años); segundo cuartil (Q2, pacientes mayores de 23 años hasta 26 años); tercer cuartil (Q3, pacientes mayores de 26 años hasta 30 años); cuarto cuartil (Q4, pacientes mayores de 30 años).

En el primer cuartil (n=24) se registraron 9 casos (37.5%) de infección por VPH. Esta categoría constituyó el grupo control con el cual se compararon los datos obtenidos en las demás clases según la edad. En el segundo cuartil, constituido por 26 pacientes, 11 (42.3%) fue el número de resultados positivos para VPH (OR 1.22; $p > 0.05$; IC95% 0.39-3.8). En el tercer cuartil, 5 de 19 muestras fueron positivas para VPH (OR 0.59; $p > 0.05$; IC 0.16-2.21), cifra que representa el 26.3% de las pacientes en esta categoría. En el grupo de pacientes mayores de 30 (cuarto cuartil), el 22.7% de 22 pacientes tuvieron resultados positivos para VPH (OR 0.49; $p > 0.05$; IC 95% 0.13-1.78). Ninguno de los resultados en esta parte del análisis tuvo valores de p estadísticamente significativos.

VPH según tiempo ejercido de profesión

El tiempo de profesión ejercida fluctuó desde 2 meses hasta 20 años. Se estratificó a la población estudiada en cuatro cuartiles: primer cuartil (menos de 2 años); segundo cuartil (2 a 3 años); tercer

cuartil (4 a 5 años); cuarto cuartil (más de 5 años). El primer cuartil estuvo conformado por 23 pacientes de las cuales el 34.8% fue positiva para VPH. Esta categoría constituyó el grupo control con el cual se compararon los datos obtenidos en las demás clases según el tiempo ejercido de profesión. La segunda categoría, conformada por 31 pacientes tuvo 9 casos positivos (OR 0.76; $p > 0.05$), IC95% 0.24-2.43). En la categoría de pacientes con 4 a 5 años en el rubro, el 28.6% de las 14 muestras obtenidas fue positivo para VPH (OR 0.75; $p > 0.05$; IC 0.17-3.17). Las pacientes con más de 5 años de trabajo ($n=23$) en la profesión tuvieron 9 casos positivos de VPH (OR 1.2, $p > 0.05$; IC 95% 0.36-3.99). No hubo resultados estadísticamente significativos.

VPH según uso de preservativo

Según los datos obtenidos en el cuestionario realizado, 59 pacientes refirieron usar de manera irregular el preservativo, mientras que las 32 restantes afirmaron usarlo de manera estricta. Se encontró que más del 40% de las pacientes en la categoría de uso irregular del preservativo tuvo muestras positivas para VPH versus un 18.75% en la categoría de uso estricto. Esto representó un OR de 2.97 ($p < 0.05$; IC 95% 1.06-8.31).

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Infección por VPH en trabajadoras sexuales según edad, años ejercidos de profesión y uso del preservativo.

CATEGORÍA	N	Pacientes Infectadas (n(%))	OR	P	IC 95%
SEGÚN EDAD					
Primer cuartil (≤23 años)	24	9 (37.5)	1	-	-
Segundo cuartil (>23 años; ≤26 años)	26	11 (42.3)	1,22	>0,05	0,39-3,8
Tercer cuartil (>26 años; ≤30 años)	19	5 (26.3)	0,59	>0,05	0,16-2,21
Cuarto cuartil (>30 años)	22	5 (22.7)	0,49	>0,05	0,13-1,78
SEGÚN AÑOS DE PROFESIÓN					
Primer cuartil (menos de 2 años)	23	8 (34.8)	1	-	-
Segundo cuartil (2 a 3 años)	31	9 (29)	0,76	>0,05	0,24-2,43
Tercer cuartil (4 a 5 años)	14	4 (28.6)	0,75	>0,05	0,17-3,17
Cuarto cuartil (más de 5 años)	23	9 (39.1)	1,2	>0,05	0,36-3,99
SEGÚN USO DEL PRESERVATIVO					
Uso estricto	32	6 (18.75)	1	-	-
Uso irregular	59	24 (40.6)	2,97	<0,05	1,06-8,31

Figura 1. Tasas de infección por VPH y C. trachomatis en trabajadoras sexuales en Guayaquil, Ecuador.

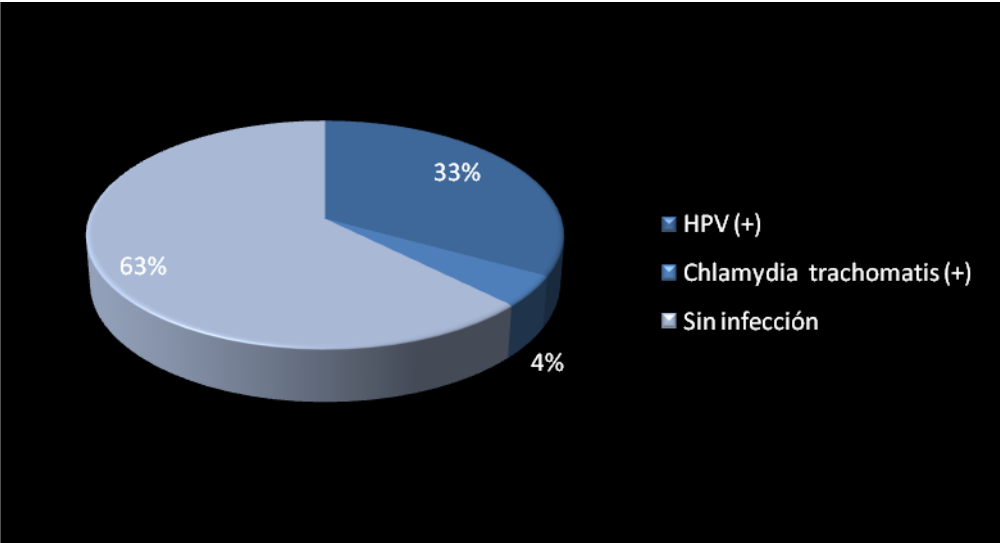


Figura 2. Infección por VPH según grupo etario en trabajadoras sexuales en Guayaquil, Ecuador.

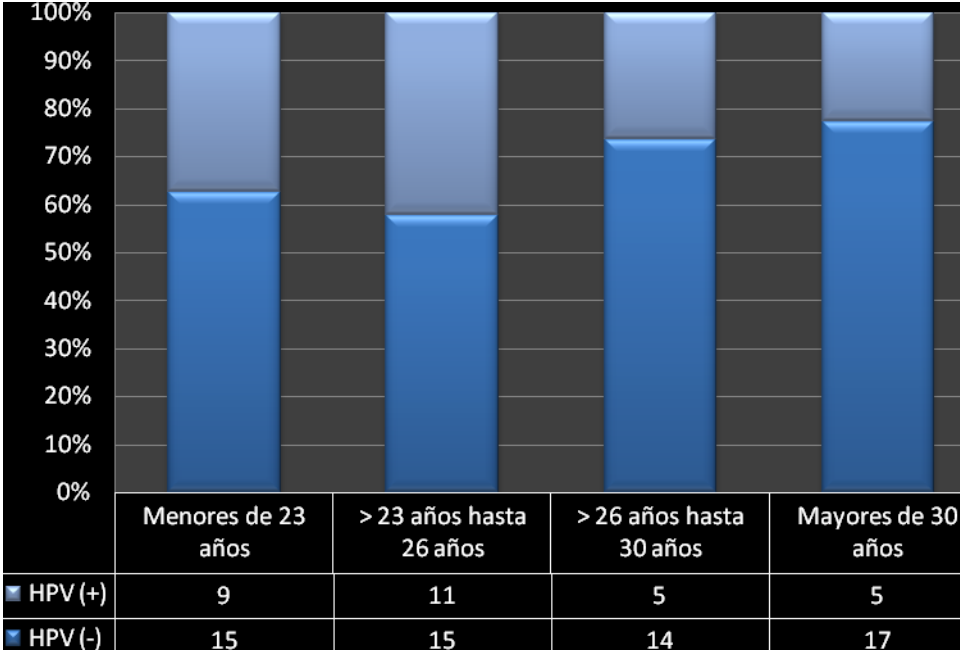


Figura 3. Infección por VPH según tiempo ejercido de profesión en trabajadoras sexuales en Guayaquil, Ecuador.

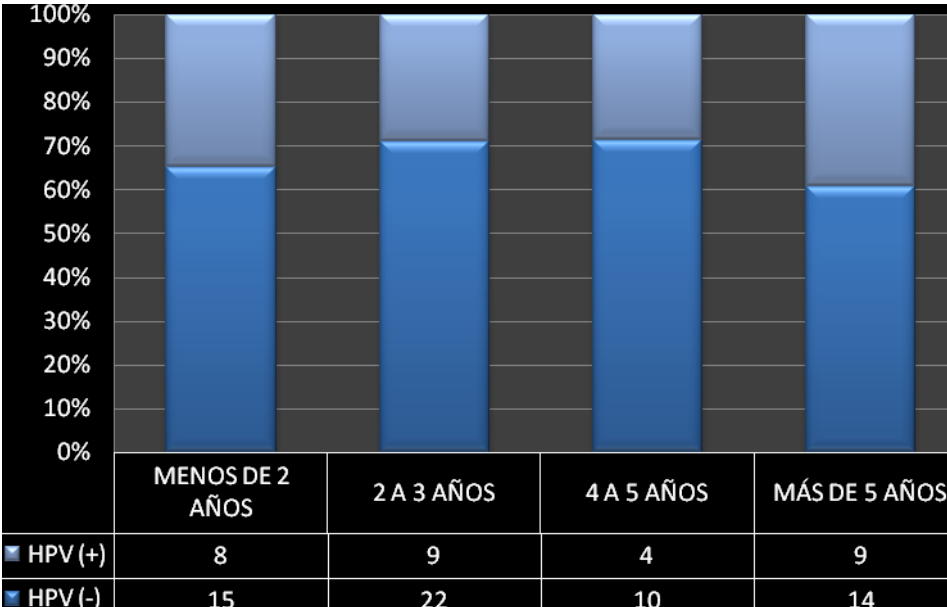
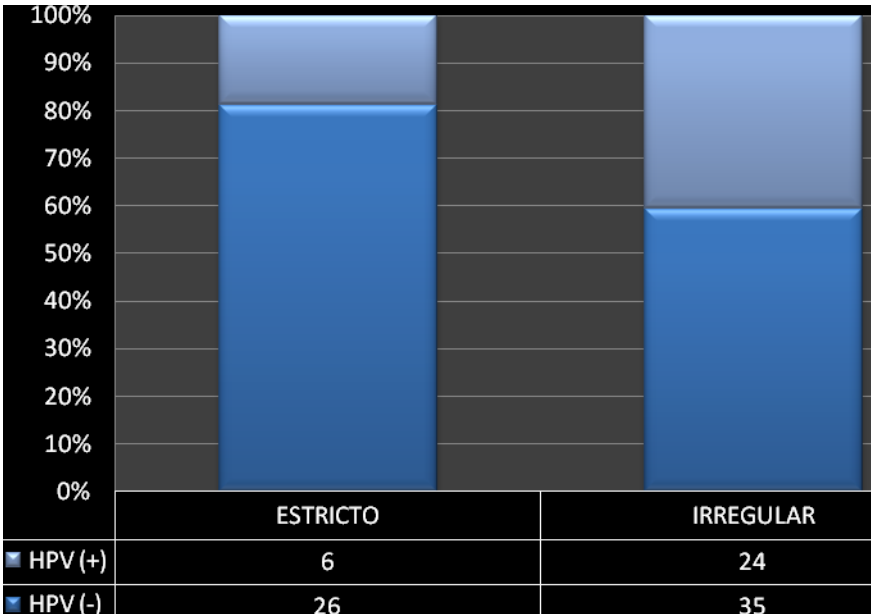


Figura 4. Infección por VPH según uso del preservativo en trabajadoras sexuales en Guayaquil, Ecuador.



DISCUSIÓN

Este estudio reportó la prevalencia de *C. trachomatis* y VPH en trabajadoras sexuales de la ciudad de Guayaquil, Ecuador. *Chlamydia trachomatis* se detectó en el 4% de la población analizada y VPH en el 33%. Algunos reportes han sugerido que la infección concomitante de *C. trachomatis* puede reducir la capacidad del huésped para resolver la infección por HPV. *C. trachomatis* induce un cambio en la respuesta inmune y las infecciones no resueltas se han asociado con una respuesta inmune humoral (células T colaboradoras tipo 2), mientras que la inmunidad celular (células T colaboradoras tipo 1) es el principal factor involucrado en la resolución de las lesiones por VPH. Por lo tanto, la modulación de la respuesta inmune a nivel cervical causada por *C. trachomatis* podría influenciar la resolución de las lesiones causadas por VPH ⁷⁻¹⁰.

Varios estudios⁷⁻¹³ han reportado que en pacientes con resultados para VPH la tasa de infección por *C. trachomatis* es alta debido a que ambos patógenos se relacionan a la conducta sexual. Si se considera que las trabajadoras sexuales son un grupo poblacional de alto riesgo debido al gran número de parejas sexuales se hubiera esperado que la coinfección fuera un hallazgo igual o superior al reportado en la población general. Sin embargo, en el presente estudio no se registró ningún caso de pacientes con resultados positivos para ambos agentes. Esto pudo deberse al escaso número de pacientes incluidos, por lo que no se pudieron pesquisar los casos de coinfección de manera adecuada. Otra posible explicación radicaría en el hecho de que la gran mayoría de las pacientes son usuarias regulares de antibióticos locales y sistémicos, lo cual pudo disminuir el número de casos de infección por *C. trachomatis*.

Solamente 4 pacientes tuvieron resultados positivos para *C. trachomatis* (de las cuales ninguna fue positiva para VPH), lo cual representó el 4% de la población total estudiada. Esta cifra es baja, incluso

menor que aquella reportada para la población general. La explicación de esto resulta difícil pues son muchos los factores que pudieron haber influido en este dato. El 80% de las pacientes refirió usar antibióticos de manera empírica, sin prescripción médica, al menos una vez durante los 2 meses previo a la recolección de la muestra. Este hecho podría explicar el por qué la baja incidencia de esta infección, considerando que *C. trachomatis* es un patógeno susceptible a la antibioticoterapia. De las 4 pacientes analizadas, solo una presentó leucorrea en el momento de la recolección, lo cual es un hallazgo que debe ser considerado al momento de documentar la presencia de infecciones asintomáticas por *C. trachomatis*. Este dato concuerda con los del estudio de Tabora et al¹, en el cual solamente el 2% de la población positiva para *C. trachomatis* presentó leucorrea. Se debe mencionar que el estudio citado se realizó en una población de estudiantes universitarias. La relevancia de esto radica en que infecciones silentes pueden acarrear complicaciones severas y también representan una potencial fuente de infección para las parejas sexuales. ^{1, 12}

En discrepancia con estudios previos realizados en la población general, la prevalencia de VPH en mujeres menores de 26 años no fue mayor que en pacientes de mayor edad.¹² En la población general esto podría ser explicado a una posible vida sexual con pareja estable después de los 26 años, lo cual disminuiría la exposición al virus. En la población analizada esto no ocurre debido a la naturaleza del oficio, lo cual podría explicar el por qué no se observaron diferencias entre los diferentes grupos etarios. Al compararse las tasas de infección según los años ejercidos de profesión tampoco se encontraron diferencias significativas entre los grupos.

El uso del preservativo fue también analizado para comparar las tasas de infección por HPV. Se registró una significativa diferencia entre el grupo que refirió uso irregular del preservativo versus aquellas pacientes que refirieron uso estricto de éste (40% de infección versus 18.75%; OR 2.97; $p < 0.05$; IC 95% 1.06-8.31). Esto refleja la utilidad del preservativo para disminuir el riesgo de contagio de

HPV, por lo cual se hace necesario fomentar su uso no sólo en este grupo de alto riesgo sino en la población general.

Las pruebas de amplificación tales como la PCR resultan muy útiles cuando se emplean especímenes recolectados a través mínimamente invasivos o no invasivos.¹³⁻¹⁹ La tasa de infección por HPV en otros estudios fue menor: Horn et al¹⁴ (12%), Figueroa et al¹⁵ (28.7%) y Borg¹⁶ et al (12%). Estos estudios se basaron en el empleo de técnicas de Southern blot (Horn et al y Figueroa et al) y de hibridación por dot blot. Las tasas de infección reportadas en el presente estudio fueron superiores a las de Horn et al y Borg et al, lo cual podría explicarse en parte por la mayor especificidad y sensibilidad de la técnica empleada en este proyecto¹⁴⁻¹⁶. El método empleado en este estudio fue mínimamente invasivo. Este tipo de métodos tienen ventajas en cuanto a la estabilidad del ácido nucleico en comparación a métodos convencionales los cuales con frecuencia experimentan deterioro debido a las condiciones de transporte y almacenamiento, por el cual este tipo de técnicas resulta también útiles para el screening de infecciones de transmisión sexual en pacientes de áreas geográficas remotas. Además, la especificidad y sensibilidad del método son muy altas, lo cual constituye una excelente herramienta para el diagnóstico precoz y eficaz de este tipo de patologías, lo cual resulta útil especialmente en el caso del VPH el cual se ha demostrado tiene un rol protagónico en el cáncer de cérvix. Un diagnóstico oportuno permitiría adoptar las intervenciones pertinentes para modificar el curso del cuadro.^{13, 17-22}

La principal limitación de este estudio estuvo dada por el escaso número de pacientes, por lo cual se sugiere la realización de otros que incluyan un mayor número de pacientes para mayor poder estadístico. Además, se sugiere la realización de estudios de seguimiento para valorar la conducta del VPH a lo largo del tiempo así como genotipificación para establecer cuáles son las cepas más prevalentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tabora N, Zelaya A, Bakkers J et al. Chlamydia trachomatis and genital human papillomavirus infections in female university students in honduras. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 73(1), 2005, pp. 50–53
2. Molano M., Meijer Ch., Posso H., Arslan A., Muñoz N. Infecciones por Chlamydia trachomatis y su asociación con el virus del papiloma humano: un estudio de seguimiento. *Revista colombiana de cancerología* 2004;8(3):5-12
3. Westrom L, Joessoff R, Reynolds G. Pelvic inflammatory disease and fertility: A cohort study of 1844 women with laparoscopically verified disease and 657 control women with normal laparoscopic results. *Sex Transm Dis* 1992;19:185-191.
4. Lan J, Van den Brule AJC, Hemrika DJ, Risse EK, Walboomers JM, Schipper ME, Meijer CJ. Chlamydia trachomatis and ectopic pregnancy: Retrospective analysis of salpingectomy specimens, endometrial biopsies and cervical smears. *J Clin Pathol* 1995;48:815-819.
5. Giuliano A, Denman C, Guernsey de Zapien J, et al. Design and results of the USA-Mexico border human papillomavirus (HPV), cervical dysplasia, and *Chlamydia trachomatis* study. *Rev Panam Salud Pública* 2001; 9: 172-181.
6. Laga M, Manoka A, Kivuvu M, et al. Non-ulcerative sexually transmitted diseases as risk factors for HIV-1 transmission in women: results from a cohort study. *AIDS* 1993; 7: 95-102.
7. Verteramo R, Pierangeli A, Calzolari E et al. Human Papillomaviruses and genital co-infections in gynaecological outpatients. *BMC Infectious Diseases* 2009, 9:16 doi:10.1186/1471-2334-9-16
8. Scheurer ME, Tortolero-Luna G, Adler-Storthz K: Human papillomavirus infection: biology, epidemiology, and prevention. *Int J Gynecol Cancer* 2005, 15:727-46.

9. Samoff E, Koumans EH, Markowitz LE et al: Association of Chlamydia trachomatis with persistence of high-risk types of human papillomavirus in a cohort of female adolescents. *Am J Epidemiol* 2005, 162(7):668-75.
10. Castle PE, Giuliano AR: Genital tract infections, cervical inflammation, and antioxidant nutrients—assessing their roles as human papillomavirus cofactors. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003, 31:29-34.
11. Smith JS, Bosetti C, Muñoz N, Herrero R et al. IARC multicentric case-control study: Chlamydia trachomatis and invasive cervical cancer: a pooled analysis of the IARC multicentric case-control study. *Int J Cancer* 2004, 111(3):431-9.
12. Jacobs MV, Walboomers JM, Snijders PJ et al. Distribution of 37 mucosotropic HPV types in women with cytologically normal cervical smears: the age-related patterns for highrisk and low-risk types. *Int J Cancer* 87: 2000, 221–227.
13. Garland S, Tabrizi S, Chen S et al. Prevalence of sexually transmitted infections (Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Trichomonas vaginalis and human papillomavirus) in female attendees of a sexually transmitted diseases clinic in Ulaanbaatar, Mongolia *Infect Dis Obstet Gynecol* 2001;9:143–146
14. Horn JE, McOuillan GM, Shan KV, et al. Genital human papillomavirus infections in patients attending an inner-city STD clinic. *Sex Transm Dis* 1991;18:183-187.
15. Figueroa JP, Ward E, Luthi TE, et al. Prevalence of human papillomavirus among STD clinic attenders in Jamaica: association of younger age and increased sexual activity. *Sex Transm Dis* 1995;22:114-118.

16. Borg AJ, Medley G, Garland SM. Prevalence of HPV in a Melbourne female STD population: comparison of RNA and DNA probes in detecting HPV by dot blot hybridization. *Int J STD AIDS* 1993;4:159-164.
17. Tabrizi SN, Paterson B, Fairley CK, et al. A self-administered technique for the detection of sexually transmitted diseases in remote communities. *J Infect Dis* 1997;176:289–92
18. Grosskurth H, Mosha F, Todd J, et al. Impact of improved treatment of sexually transmitted diseases on HIV infection in rural Tanzania: randomized controlled trial. *Lancet* 1995;346:530–16.
19. Tabrizi SN, Paterson BA, Fairley CK, et al. Comparison of tampon and urine as self-administered methods of specimen collection in detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Trichomonas vaginalis* in women. *Int J STD AIDS* 1998;9:347–9
20. Moscicki AB. Comparison between methods for human papillomavirus DNA testing: a model for self-testing in young women. *J Infect Dis* 1993; 167:723–5
21. Kubota T, Ishi K, Suzuki M, Utsuno S, Igari J. Usefulness of hybrid capture HPV DNA assay as a diagnostic tool for human papillomavirus infection. *J Jpn Acad Infect Dis* 1998;72:1219-1224.
22. Girdner JL, Cullen AP, Salama TG et al. Evaluation of the digene hybrid capture II CT-ID test for detection of *Chlamydia tracomatis* in endocervical specimens. *J Clin Microbiol* 1999;37:1S79-1581.