

# Prevalencia de tipos de virus del papiloma humano en hombres que tienen sexo con hombres, en Chihuahua, México

Human papilloma virus types prevalence in men who have sex with men, in Chihuahua, Mexico

Denisse A. Hinojos Armendáriz\*, Luz E. Palma-Cano\*, Verónica Moreno-Brito\*, Ángel Licón-Trillo\*, Norma A. Lora-Orduo\*\*, Nancy N. Carrera-Chávez\*\*, Víctor M. Santana-Rodríguez\*\*\*, Jorge Duque-Rodríguez\*\*, Irene Leal-Berumen\*<sup>◊</sup>

## RESUMEN

El objetivo fue determinar la prevalencia de genotipos de alto y bajo riesgo (AR y BR) del virus de papiloma humano (VPH) y otros factores asociados con la infección en hombres que tienen sexo con hombres (HSH). Se realizó un estudio transversal. Para ello, 104 individuos respondieron un cuestionario sociodemográfico y de comportamiento sexual, consintiendo una toma de muestra de epitelio anal para análisis molecular por reacción en cadena de polimerasa (PCR), utilizando oligonucleótidos para  $\beta$ -globina (control interno) y región L1 del VPH. Tipificación mediante secuenciación. La prevalencia de VPH encontrada fue del 34%: 10% AR y 24% BR. Los genotipos oncogénicos más frecuentes fueron VPH 16 (20%), 73 (20%) y 45 (20%), los no oncogénicos fueron el 11 (36%), 62 (28%) y 6 (12%). Se concluye que los HSH menores de 30 años presentaron una mayor prevalencia de VPH. Ser positivo para el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) no mostró asociación con VPH en la población estudiada.

## ABSTRACT

The aim of this work was to determine human papilloma virus (HPV) high and low risk (HR and LR) genotypes prevalence, and other HPV infection associated risk factors, in men who have sex with men (MSM). A cross-sectional study was conducted, to this end, 104 MSM responded a social demographic and sexual behavior questionnaire and consented sampling of anal epithelium for molecular analysis by polymerase chain reaction (PCR), with  $\beta$ -globin primers as internal control, and HPV L1 region primers. Subsequently, typing was performed by sequencing. Prevalence of HPV in MSM was 34%: 10% HR and 24% LR. The most frequent oncogenic HPV types were 16 (20%), 73 (20%) and 45 (20%), and non-oncogenic VPH 11 (36%), 62 (28%) and 6 (12%). MSM less than 30 years old had greater HPV prevalence. Presence of human immunodeficiency virus (HIV) was not significantly associated to HPV infection in the studied population.

Recibido: 12 de enero de 2016  
Aceptado: 19 de septiembre de 2016

### Palabras clave:

Reacción en cadena de la polimerasa; secuenciación; oncogénico; alto riesgo (AR).

### Keywords:

Polymerase chain reaction; sequencing; oncogenic; high risk (HR).

### Cómo citar:

Hinojos Armendáriz, D. A., Palma-Cano, L. E., Moreno-Brito, V., Licón-Trillo, A., Lora-Orduo, N. A., Carrera-Chávez, N. N., Santana-Rodríguez, V. M., Duque-Rodríguez, J., & Leal-Berumen, I. (2016). Prevalencia de tipos de virus del papiloma humano en hombres que tienen sexo con hombres, en Chihuahua, México. *Acta Universitaria*, 26(5), 62-69. doi: 10.15174/au.2016.1156

## INTRODUCCIÓN

La infección por virus del papiloma humano (VPH) es la enfermedad de transmisión sexual más común en el mundo (Nielson *et al.*, 2007; Smith, Gilbert, Melendy, Rana & Pimenta, 2011). Se han reportado más de 100 genotipos de VPH, de los cuales alrededor de 40 muestran tropismo por epitelios escamosos estratificados, infectando piel, mucosa oral y/o del tracto ano-genital (Dunne, Nielson, Stone, Markowitz & Giuliano, 2006).

Los tipos virales de papiloma humano se clasifican en tres grupos, de acuerdo con su riesgo oncológico: los de alto riesgo (VPH-AR) 16, 18, 26, 31, 30, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 82, 85, 92, 96, 97; bajo riesgo (VPH-BR) 2, 3, 6, 7, 11, 13, 27, 28, 29, 32, 40, 42, 43, 44, 48, 49, 50, 51, 54, 57, 60, 61, 62, 65, 71, 72, 74, 75, 76, 78, 81, 83, 84, 86, 87, 89, 90, 91, 94, 95; y los de riesgo indeterminado (VPH- RI)

\* Facultad de Medicina y Ciencias Biomédicas, Departamento de Biología Molecular, Circuito Universitario, Campus Universidad Autónoma de Chihuahua II. Chihuahua, Chih., México, C.P. 31109. Tel.: 01 614 238 6030, ext. 3571. Correos electrónicos: ileal@uach.mx; ilealb62@yahoo.com.mx

\*\* Centro Ambulatorio para la Prevención y Atención en SIDA e Infecciones de Transmisión Sexual (CAPASITS), Chihuahua.

\*\*\* Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua.

<sup>◊</sup> Autor de correspondencia.

5, 9, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 36, 37, 38, 47, 80, 93 (De Villiers, Fauquet, Broker, Bernard & Zur Hausen, 2004; *International Agency for Research on Cancer [IARC]-Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans [WGECRH]*, 2012).

Se calcula que en Estados Unidos de América (EUA) 6.2 millones de personas se infectan cada año con VPH, y aproximadamente aparecen 550 000 casos anuales de cáncer relacionado con este virus, los cuales representan el 6.1% de los cánceres a nivel mundial (IARC-WGECRH, 2012; Nielson *et al.*, 2007). Por ejemplo, las infecciones con VPH-AR se han asociado a neoplasias intraepiteliales, y se consideran responsables de más del 80% de los casos de cáncer anal (Machalek, Grulich, Jin, Templeton & Poynten, 2012).

Las enfermedades producidas por VPH no son exclusivas de la población femenina, también afectan al género masculino. En hombres, el VPH se ha asociado al cáncer de pene y cáncer anal, entre otros (Colón-López, Ortiz & Palefsky, 2010; Moscicki & Palefsky, 2011). La incidencia de estas patologías se ha incrementado en las últimas décadas, particularmente en hombres homosexuales e individuos infectados con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (Goldstone *et al.*, 2011; Palefsky, 2010). Los hombres que tienen sexo con hombres (HSH) VIH positivos son más susceptibles a infectarse con VPH (Parisi *et al.*, 2011).

Un estudio reciente, realizado en una población de HSH en tres ciudades de China, muestra diferencias significativas en la prevalencia de VPH en muestras anales, siendo mayor en individuos infectados con VIH (82.69%) comparado con individuos VIH negativos (62.81%) (Li *et al.*, 2016).

Silva *et al.* (2013) realizaron una revisión minuciosa sobre el diagnóstico de VPH en hombres, y reportan que los estudios de prevalencia difieren dependiendo de las técnicas de detección, de la zona anatómica del muestreo y de la población analizada. La mayoría de los estudios en mexicanos se han realizado en población heterosexual y en muestras diferentes a la región anal (Aguilar-Lemarroy *et al.*, 2015; Lajous *et al.*, 2005; Morales *et al.*, 2012; Vaccarella *et al.*, 2006). Recientemente, Torres-Ibarra *et al.* (2014) estudiaron muestras anales de una población mexicana de HSH VIH positivos, reportando que en 72.2% de los casos se detectó por lo menos un VPH oncogénico, mientras que el VPH 16 y/o 18 se presentaron en 30.7% de los individuos. Van der Snoek *et al.* (2003) encontraron una

prevalencia de VPH de 32.8% en muestras perianales y anales en HSH, casi el doble que lo encontrado en hombres heterosexuales.

Los tipos de cáncer relacionados con VPH son relevantes para los sistemas de salud, aunque hay lesiones que se revierten espontáneamente, otras se desarrollan después de largos periodos. La detección de VPH en el varón es necesaria por su papel como vector y reservorio del virus (Silva *et al.*, 2013). Continúa siendo necesario implementar métodos de detección temprana distintos a los citológicos e histológicos, y que se realicen de forma rutinaria. Las metodologías moleculares para detectar VPH pueden ayudar a determinar cuáles lesiones estarían en mayor riesgo de progresar a malignidad (Abreu, Souza, Gimenes & Consolaro, 2012; Silva *et al.*, 2013).

El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de genotipos de VPH (AR y BR) y otros factores de riesgo asociados con la infección de VPH en HSH que asistieron al Centro Ambulatorio para la Prevención y Atención en SIDA e Infecciones de Transmisión Sexual (CAPASITS) de Chihuahua, México, durante 2012-2014. La finalidad del estudio es aportar información epidemiológica que permita implementar servicios de salud preventivos a poblaciones en riesgo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital General Salvador Zubirán Anchondo, como parte de un programa epidemiológico de CAPASITS de Chihuahua. El estudio consistió en detectar, por métodos moleculares, el VPH en muestras anales de HSH, y determinar su asociación con otros factores de riesgo. Se define HSH como individuos que pueden ser homosexuales o bisexuales, pero que tienen relaciones sexuales anales con otro hombre de forma receptiva o insertiva. El estudio se realizó de julio a octubre del 2014, y formó parte de una colaboración entre la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH) y CAPASITS de Chihuahua. Se incluyeron solamente participantes mayores de 18 años, sin administración anterior de la vacuna de VPH, sin diagnóstico previo de cáncer anal y que aceptaron participar por medio de un consentimiento informado. Durante el procedimiento, el personal sanitario de CAPASITS aplicó un cuestionario creado por el mismo centro, para recabar datos, como edad, estado civil, escolaridad, ocupación, edad de inicio de vida sexual, orientación sexual, número de parejas sexuales

en los últimos seis meses, diagnóstico de VIH, síntomas (úlceras, flujo anal, verrugas, dolor anal o fisuras anales), uso de alcohol y drogas (no se tomaron en cuenta estos últimos por la ambigüedad de su planTEAMIENTO). Para la toma de muestra de células anales, una enfermera capacitada utilizó un cepillo (DIGENE, Gaithersburg, MD, EUA) que incluye vial con 1 mL de hidróxido de sodio. El cepillo humedecido con solución fisiológica se introdujo 5 cm dentro del canal anal, girando cinco veces al sentido de las manecillas del reloj, cinco veces al sentido contrario, aplicando una ligera presión en las paredes del canal anal. Inmediatamente después de la toma de muestra, el cepillo se almacenó en el vial a 4 °C hasta la extracción del material genético ácido desoxirribonucleico (ADN). La extracción de ADN de las muestras se realizó en el laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Medicina-UACH. Se utilizaron dos kits (MasterPure ADN purification Kit EPICENTRE, Madison, WI, EUA y PureLink Genomic ADN kit (INVITROGEN, Carlsbad, CA, EUA) siguiendo especificaciones del proveedor. El ADN obtenido fue cuantificado en espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA).

Se realizó una reacción en cadena con polimerasa (PCR) en búsqueda del gen  $\beta$ -globina (control interno) a partir de 50 ng – 100 ng de ADN de cada muestra, utilizando los oligonucleótidos HG20/PCO4 (5'-GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC-3'/5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3') que amplificaron un fragmento de 268 pb. Las muestras positivas para  $\beta$ -globina fueron analizadas por PCR para detectar un fragmento de 150 pb del gen L1 de VPH, utilizando 200 ng – 300 ng de ADN y los oligonucleótidos GP5+/GP6+ (5'-TTT GTT ACT GTG GTA GAT AC-3'/5'-GAA AAA TAA ACT GTA AAT CA-3'; 5'-TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC-3'/5'-GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C-3'). El ADN de células Caski y SiHa, infectadas con VPH, fueron los controles positivos y un mix sin ADN como control negativo. Los productos positivos se re-amplificaron a partir de 150 ng de ADN con los mismos oligonucleótidos y se purificaron a partir de la banda de 150 pb en gel de agarosa utilizando el KIT Wizard® “SV Gel and PCR Clean-Up System” (PROMEGA, Madison, WI, EUA). Dichos productos fueron enviados para su secuenciación a la empresa MACROGEN, Seúl, Corea del Sur. Las secuencias se analizaron en el *National Center for Biotechnology Information, Basic Local Alignment Search Tool* (NCBI-BLAST), para determinar el tipo de VPH. La secuenciación fue utilizada como el diagnóstico definitivo para la presencia de VPH. Los tipos virales obtenidos por el NCBI-BLAST se clasificaron en: VPH-AR, BR y RI de acuerdo con lo reportado en la

literatura (De Villiers *et al.*, 2004; IARC-WGECRH, 2012). Las muestras con más de un tipo viral se clasificaron con el tipo viral de mayor riesgo. Del total de 123 muestras recolectadas, 15 muestras (12.2%) no amplificaron para  $\beta$ -globina y de 4 (3.23%) no se obtuvo muestra suficiente, por lo que el total de muestras analizadas fue de 104.

## Análisis estadístico

La información recabada de los cuestionarios y los resultados de secuenciación fueron codificados en una base de datos en *Microsoft Excel* (versión 2010, Redmond, WA, EUA), y analizados con el programa *Stata* (versión 11 para *Windows*, College Station, TX, EUA). Para determinar la asociación entre la presencia de VPH y factores de riesgo, se realizaron pruebas de Chi cuadrada o la exacta de Fisher y la razón de momios (OR) con intervalo de confianza (IC) al 95%. Además, se realizó un modelo de regresión logística binaria utilizando el programa SPSS (versión 20 para *Windows*, Chicago, IL, EUA).

## RESULTADOS

La edad media y desviación estándar de los 104 participantes fue de  $35 \pm 11.72$ , en un rango de 18 – 69 años.

Dentro de las variables analizadas, las que mostraron asociación significativa con la infección por VPH fueron: ser desempleado (OR = 3.5, IC = 1.25 – 9.7,  $p = 0.017$ ) y el número mayor de cinco parejas en los últimos 6 – 12 meses (OR = 0.24, IC = 0.10 – 0.058,  $p < 0.01$ ) contrario a lo esperado. Sólo 36% de la población que manifestó tener más de cinco parejas utilizó siempre condón y ninguno contaba con la vacuna contra VPH. En este estudio, la presencia de VPH no mostró diferencia significativa en individuos que no usaron condón (OR = 2.4, IC = 0.96 – 6.4,  $p = 0.07$ ), ni en individuos VIH positivos (OR = 0.58, IC = 0.25 – 1.38,  $p = 0.22$ ). Por otro lado, no se observó asociación alguna con la presencia o ausencia de sintomatología (OR = 0.93, IC = 0.40 – 2.13,  $p = 0.861$ ). Sin embargo, es importante mencionar que de las 20 muestras VIH positivas, 12 presentaron VPH-BR y ocho de AR (tabla 1).

Del total de 104 muestras, 34% fueron positivas para VPH por PCR y secuenciación. En la tabla 2 se resumen los resultados de la distribución de tipos de VPH de las muestras positivas, de acuerdo con su riesgo oncogénico, de las cuales el 28.6% fueron VPH-AR (oncogénicas) y 71.4% de VPH-BR.

**Tabla 1.**  
 Factores de riesgo relacionados con el VPH en HSH que asistieron a CAPASITS, Chihuahua, México.

Variables clínico/ demográficas	Total	VPH positivo (n = 35)		VPH negativo (n = 69)		OR (IC 95%)	p
	n	n	%	n	%		
<b>Edad (años)</b>							
≥30	66	19	29	47	71		
< 30	37	16	43	21	57	1.88 (0.81 – 4.37)	0.153
<b>Estado civil</b>							
Unido	10	4	40	6	60		
No unido	94	31	33	63	67	0.74(0.19 – 2.80)	0.660
<b>Orientación sexual</b>							
HSH bisexual	11	5	45	6	55		
HSH homosexual	93	30	32	63	68	0.57 (0.16 – 2.0)	0.386
<b>Escolaridad</b>							
< Preparatoria	36	12	33	24	67		
≥ Preparatoria	68	23	34	45	66	1 (0.43 – 2.41)	0.960
<b>Ocupación</b>							
Desempleado	19	11	58	8	42	3.5 (1.25 – 9.7)	0.017 <sup>b</sup>
Empleado y estudiante	65	24	28	61	72		
<b>IVSA<sup>a</sup></b>							
≥ 16 años	52	18	35	34	65	0.92 (0.41 – 2.07)	0.836
< 16 años	52	17	33	35	67		
<b>Número de parejas sexuales (6 a 12 meses)</b>							
< 5	44	23	52	21	48		
≥ 5	57	12	21	45	75	0.24 (0.10 – 0.58)	< 0.010 <sup>b</sup>
<b>Uso de condón</b>							
Siempre	32	7	22	25	78		
No siempre	69	28	41	41	59	2.4(0.93 – 6.4)	0.070
<b>VIH</b>							
Negativo	34	14	41	20	59		
Positivo	69	20	29	49	71	0.58 (0.25 – 1.38)	0.220
<b>Síntomas</b>							
Negativo	60	21	35	39	65	0.93(0.40 – 2.13)	0.861
Positivo	42	14	33	28	67		

<sup>a</sup> Inicio de vida sexual activa; <sup>b</sup> significativo a IC de 95%.

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 2.**  
 Distribución de tipos de VPH por riesgo oncogénico.

Bajo riesgo n = 25		Alto riesgo n = 10	
Tipo	%	Tipo	%
11	36	16	20
62	29	45	20
6	11	73	20
91	7	59	10
55	3	35	10
67	3	33	10
72	3	18	10
81	4		
90	4		

Fuente: Elaboración propia.

En general, se encontró infección con un único tipo viral, solo el 8.6% de las muestras positivas presentó infección múltiple con dos tipos de VPH, clasificándose de acuerdo con el de mayor oncogenicidad. Se identificaron 16 tipos virales de VPH: dentro de los de BR más frecuentes fueron el 11 (36%), 62 (28%) y 6 (12%), mientras que de los oncogénicos el 16 (20%), 73 (20%) y 45 (20%). La infección con los tipos 16 y 18, que son los que mayormente se asocian a cáncer cervical y anal, conformaron el 30% de los casos positivos de AR.

Se observó que la prevalencia de VPH fue disminuyendo conforme aumentó la edad. El grupo de edad que presentó mayor prevalencia de VPH fue el de 18 a 29 años (25% de AR y 75% BR) a diferencia del grupo de ≥ 50 años que solo presentó un caso de AR (tabla 3).

**Tabla 3.**  
Frecuencia de VPH de bajo y alto riesgo por rango de edades.

Edad	VPH-BR (n = 25)	VPH-AR (n = 10)
18 – 29	12	4
30 – 39	10	3
40 – 49	3	2
≥ 50		1

Fuente: Elaboración propia.

Se realizó un modelo de regresión logística binario (tabla 4) donde los únicos factores de riesgo que mostraron significancia fueron ser desempleado ( $OR = 4.7$ ,  $IC = 1.204 - 18.329$ ) y el número de parejas > 5 en los últimos 6 – 12 meses ( $OR = 0.145$ ,  $IC = 0.048 - 0.436$ ). El modelo permite explicar el comportamiento de los da-

tos en un 73.5% y obtener las probabilidades (datos no mostrados) que tiene cada individuo de estar infectado por VPH, según sus factores de riesgo. Se observó que los individuos con edades menores de 30 años, estado civil “no unido”, HSH homosexuales, desempleados, que iniciaron su vida sexual antes de los 16 años, con número de parejas > 5 y el no uso de condón presentaron probabilidades más altas de riesgo (0.66 – 0.92) a tener VPH, de acuerdo con el modelo.

En este estudio, el 14.4% de las muestras positivas para VPH por PCR no mostraron similitud con la secuencia de VPH, considerándose negativas (falsos positivos). Este trabajo es uno de los primeros estudios realizados en la zona norte de México para la detección molecular de VPH en una población vulnerable (HSH) a la infección.

**Tabla 4.**  
Regresión logística binaria entre los factores de riesgo de HSH y VPH.

Factores de riesgo	$\beta$	ET	gl	$p^b$	OR	IC 95% para OR	
						Inferior	Superior
<b>Edad</b>							
< 30	-0.11	0.61	1	0.857	0.868	0.271	2.961
<b>Estado civil</b>							
No unido	-0.141	0.804	1	0.861	0.868	0.18	4.201
<b>Orientación sexual</b>							
HSH homosexual	0.379	0.974	1	0.698	1.46	0.216	9.861
<b>Escolaridad</b>							
≥ Preparatoria	0.792	0.609	1	0.193	2.212	0.67	7.301
<b>Ocupación</b>							
Desempleado	1.547	0.695	1	0.026	4.698	1.204	18.329
<b>IVSA<sup>a</sup></b>							
< 16 años	0.389	0.526	1	0.459	1.476	0.527	4.133
<b>Parejas (6 a 12 meses)</b>							
≥ 5	-1.934	0.563	1	0.001	0.145	0.048	0.436
<b>Uso de condón</b>							
No siempre	0.912	0.578	1	0.115	2.49	0.801	7.735
<b>VIH</b>							
Positivo	-0.365	0.615	1	0.552	0.694	0.208	2.315
<b>Síntomas</b>							
Positivo	-0.613	0.562	1	0.275	0.542	0.18	1.629
<b>Constante</b>	-1.013	1.374	1	0.461	0.363		

$\beta$ : coeficientes del modelo; ET: error estándar; gl: grados de libertad; OR: razón de momios. La contraparte de los factores de riesgo fue la referencia. <sup>a</sup>Parsimonia del modelo:  $\chi^2(10)$ , 25,  $p = 0.005$ ;  $R^2$  de Cox y Snell 0.225;  $R^2$  de Nagelkerke 0.311; Bondad y ajuste de Hosmer y Lemeshow  $\chi^2(8)$ , 2.662,  $p = 0.954$ ; porcentaje global explicado por este modelo: 73.5; <sup>b</sup> $p \leq 0.05$  se considera significativa.

Fuente: Elaboración propia.

## DISCUSIÓN

Los HSH son una población vulnerable con mayor riesgo de contraer infecciones de transmisión sexual como VIH y VPH que en hombres heterosexuales. Brown *et al.* (2012) reportan prevalencias de VIH en HSH entre 1.17% a 85%, mientras que las de VPH anal (por métodos moleculares) fueron del 13.7% al 98%. La prevalencia que se determinó en el presente estudio de VIH y VPH en HSH fue de 67% y 34%, respectivamente. Para HSH sin VIH, la prevalencia de VPH fue de 41%, similar a lo reportado por otros autores (32.8% – 40%) (Goldstone *et al.*, 2011; Van der Snoek *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2014). Menor a lo reportado por Li *et al.* (2016), y a diferencia de ellos, la presencia de VPH no mostró diferencia significativa entre individuos VIH positivos o negativos en la población estudiada, sin embargo, los resultados fueron similares a los que describe Colón-López *et al.* (2014).

También se observó que individuos menores de 30 años presentaron una mayor prevalencia de VPH, lo que concuerda con otros estudios (Parisi *et al.*, 2011; Svare *et al.*, 2002; Torres-Ibarra *et al.*, 2014; Vaccarella *et al.*, 2006).

En México son pocos los reportes moleculares en muestras anales de HSH, y los que existen incluyen poblaciones de la zona centro del país, como Torres-Ibarra *et al.* (2014), quienes reportaron una prevalencia de 93.1% de VPH en HSH VIH positivos, de la cual el 72.2% incluía VPH-AR, siendo los más frecuentes el tipo 16 y/o 18. Los HSH VIH positivos infectados con VPH-AR en nuestra población mostraron una prevalencia del 40%, y los tipos más frecuentes fueron el 45 y 73. Las diferencias pueden deberse al tamaño de muestra, a los métodos de detección molecular, a cuestiones culturales y de comportamiento entre las poblaciones estudiadas. Otros estudios reportan que los HSH tienen mayor frecuencia de infección de VPH con múltiples tipos virales (Nielson *et al.*, 2009; Torres-Ibarra *et al.*, 2014). En este estudio solo se observaron infecciones con dos tipos virales en el 8.6% de los casos, frecuencia similar a lo publicado por Gao *et al.* (2010). Estas diferencias se deben a las distintas metodologías moleculares utilizadas, siendo más efectiva para detectar infecciones múltiples de VPH la línea de hibridación de transferencia inversa que el método de secuenciación que utilizamos.

A pesar de que la presencia de VPH-AR es un factor de riesgo necesario para desarrollar cáncer anal, no es el único. Los factores de riesgo de comportamiento, que mostraron una asociación significativa con la presencia

de VPH, y que fueron significativos en el modelo de regresión logística binaria, en este estudio fueron: el no tener empleo y el tener más de cinco parejas en los últimos 6 – 12 meses. Resultados no esperados y contrarios a lo que reporta la literatura. Sin embargo, se podría asumir que una persona desempleada, con vulnerabilidad por su orientación sexual, pudiera estar expuesta a un mayor número de relaciones sexuales y a un número mayor de parejas (Baldwin *et al.*, 2004; Nielson *et al.*, 2007; Nyitray *et al.*, 2008; Pelullo, Di Giuseppe & Angelillo, 2012; Svare *et al.*, 2002). Se analizaron las posibilidades de que los participantes con más de cinco parejas hubieran utilizado siempre condón durante las relaciones sexuales, sin embargo, no fue así. El uso de condón también está reportado como factor protector, aunque no previene totalmente la infección por localizarse en otros sitios anatómicos distintos al pene (Baldwin *et al.*, 2004; Nielson *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2013). Otro aspecto de protección que se podría haber considerado es que se hubieran aplicado alguna de las vacunas contra VPH, lo cual fue negado en el cuestionario y considerado como un criterio de exclusión.

En relación con los falsos positivos, el grupo de estudio de VPH en hombres de Brasil, México y EUA, también encontraron resultados de secuenciación sin similitud para VPH en 17.5% de sus muestras, en nuestro caso fue del 14.4%. Para resolver este problema, ellos realizaron una PCR-anidada, logrando obtener una secuencia para solo el 5.1% de las muestras. El 12.4% restante que no se logró secuenciar fue atribuido a un probable resultado espurio de PCR. Este problema puede ser causado por amplificación de otra secuencia que no es de VPH, por degeneración del ADN de la muestra o de los oligonucleótidos (Lee, Vigliotti, Vigliotti & Pappu, 2009).

Este estudio es el primero en realizarse en la zona norte de México, y aporta las frecuencias de VPH de BR y AR, así como factores de riesgo asociados, en una población vulnerable de HSH. En México es necesario continuar realizando estudios que permitan conocer la incidencia de cáncer anal y de otros sitios anatómicos, tanto en hombres heterosexuales como HSH, así como la prevalencia de VPH-AR, utilizando métodos moleculares similares, incluyendo carga viral, en distintas entidades del país. Por otro lado, son imprescindibles estudios prospectivos de casos-controles y de cohorte que permitan a los sistemas de salud detectar otros factores de riesgo para la correcta planeación de estrategias preventivas, tales como programas de vacunación contra VPH en la población masculina, que desafortunadamente no se han implementado en México.

Finalmente, es importante señalar que el presente estudio tiene diversas limitaciones. Los participantes fueron reclutados de un centro que atiende a personas con VIH y otras infecciones de transmisión sexual, por lo que los HSH incluidos pueden no ser representativos de la población general de HSH. Las muestras anales se tomaron solo una vez, por lo que no se puede definir la duración o persistencia de la infección de VPH en los casos positivos. Sería interesante realizar un estudio longitudinal que permitiera determinar la carga viral como valor predictivo, de persistencia y de transformación tisular. Los datos de conducta sexual y de historia clínica se obtuvieron a partir de un cuestionario dirigido por enfermeras capacitadas, sin embargo, pudiera interferir con la sinceridad de las respuestas. Dentro de las limitaciones metodológicas, la genotipificación por secuenciación, a pesar de que tiene potencial para identificar los tipos de VPH aislados y amplificadas por PCR, su habilidad para identificar múltiples tipos en una misma muestra es limitado comparado con otras metodologías (captura de híbridos, línea de hibridación de transferencia reversa, entre otras).

## ARADECIMIENTOS

Este proyecto fue financiado por la Facultad de Medicina y Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua y por el Centro Ambulatorio para la Prevención y Atención en SIDA e Infecciones de Transmisión Sexual (CAPASITS), Chihuahua; recibimos de ellos algunos reactivos de biología molecular. Se agradece al Dr. Efraín Garrido Guerrero del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav-IPN) por la donación de los controles positivos para este estudio.

## REFERENCIAS

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, 262-270.

Aguilar-Lemarroy, A., Vallejo-Ruiz, V., Cortés-Gutiérrez, E. I., Salgado-Bernabé, M. E., Ramos-González, N. P., Ortega-Cervantes, L., Arias-Flores, R., Medina-Díaz, I. M., Hernández-Garza, F., Santos-López, G., Piña-Sánchez, P., & IMSS Research Network on HPV (2015). Human papillomavirus infections in Mexican women with normal cytology, precancerous lesions, and cervical cancer: type-specific prevalence and HPV coinfections. *Journal of Medical Virology*, 87(5), 871-884.

Baldwin, S. B., Wallace, D. R., Papenfuss, M. R., Abrahamsen, M., Vaught, L. C., & Giuliano, A. R. (2004). Condom use and other factors affecting penile human papillomavirus detection in men attending a sexually transmitted disease clinic. *Sexually Transmitted Diseases*, 31(10), 601-607.

Brown, B., Davtyan, M., Galea, J., Chow, E., Leon, S., & Klausner, J. D. (2012). The role of human papillomavirus in human immunodeficiency virus acquisition in men who have sex with men: a review of the literature. *Viruses*, 4(12), 3851-3858.

Colón-López, V., Ortiz, A. P., & Palefsky, J. (2010). Burden of human papillomavirus infection and related comorbidities in men: implications for research, disease prevention and health promotion among Hispanic men. *Puerto Rico Health Sciences Journal*, 29(3), 232-240.

De Villiers, E. M., Fauquet, C., Broker, T. R., Bernard, H. U., & Zur Hausen, H. (2004). Classification of papillomaviruses. *Virology*, 324(1), 17-27.

Dunne, E. F., Nielson, C. M., Stone, K. M., Markowitz, L. E., & Giuliano, A. R. (2006). Prevalence of HPV infection among men: A systematic review of the literature. *The Journal of Infectious Diseases*, 194(8), 1044-1057.

Gao, L., Zhou, F., Li, X., Yang, Y., Ruan, Y., & Jin, Q. (2010). Anal HPV infection in HIV-positive men who have sex with men from China. *PLoS One*, 5(12), e15256.

Goldstone, S., Palefsky, J. M., Giuliano, A. R., Moreira, E. D., Aranda, C., Jessen, H., Hillman, R. J., Ferris, D. G., Coutlee, F., Liaw, K. L., Marshall, J. B., Zhang, X., Vuocolo, S., Barr, E., Haupt, R. M., Guris, D., & Garner, E. I. O. (2011). Prevalence of and risk factors for human papillomavirus (HPV) infection among HIV-seronegative men who have sex with men. *The Journal of Infectious Diseases*, 203(1), 66-74.

International Agency for Research on Cancer (IARC)-Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (WGECHR) (2012). Biological agents. Volume 100 B. A review of human carcinogens. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans / World Health Organization, International Agency for Research on Cancer*, 100(Pt B), 1-441.

Lajous, M., Mueller, N., Cruz-Valdez, A., Aguilar, L. V., Franceschi, S., Hernández-Avila, M., & Lazcano-Ponce, E. (2005). Determinants of prevalence, acquisition, and persistence of human papillomavirus in healthy Mexican military men. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research. Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 14(7), 1710-1716.

Lee, S. H., Vigliotti, V. S., Vigliotti, J. S., & Pappu, S. (2009). Validation of human papillomavirus genotyping by signature DNA sequence analysis. *BMC Clinical Pathology*, 9, 3.

Li, X., Li, M., Yang, Y., Zhong, X., Feng, B., Xin, H., Li, Z., Jin, Q., & Gao, L. (2016). Anal HPV/HIV co-infection among Men Who Have Sex with Men: a cross-sectional survey from three cities in China. *Scientific Reports*, 6, 21368.

Machalek, D. A., Grulich, A. E., Jin, F., Templeton, D. J., & Poynten, I. M. (2012). The epidemiology and natural history of anal human papillomavirus infection in men who have sex with men. *Sexual Health*, 9(6), 527-537.

Morales, R., Parada, R., Giuliano, A. R., Cruz, A., Castellsagué, X., Salmerón, J., & Lazcano-Ponce, E. (2012). HPV in female partners increases risk of incident HPV infection acquisition in heterosexual men in rural central Mexico. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research. Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 21(11), 1956-1965.

- Moscicki, A. B., & Palefsky, J. M. (2011). Human papillomavirus in men: an update. *Journal of Lower Genital Tract Disease*, 15(3), 231-234.
- Nielson, C. M., Harris, R. B., Dunne, E. F., Abrahamsen, M., Papenfuss, M. R., Flores, R., Markowitz, L. E., & Giuliano, A. R. (2007). Risk Factors for Anogenital Human Papillomavirus Infection in Men. *The Journal of Infectious Diseases*, 196(8), 1137-1145.
- Nielson, C. M., Harris, R. B., Flores, R., Abrahamsen, M., Papenfuss, M. R., Dunne, E. F., Markowitz, L. E., & Giuliano, A. R. (2009). Multiple-type human papillomavirus infection in male anogenital sites: prevalence and associated factors. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research. Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 18(4), 1077-1083.
- Nyitray, A., Nielson, C. M., Harris, R. B., Flores, R., Abrahamsen, M., Dunne, E. F., & Giuliano, A. R. (2008). Prevalence of and risk factors for anal human papillomavirus infection in heterosexual men. *The Journal of Infectious Diseases*, 197(12), 1676-1684.
- Palefsky, J. M. (2010). Human papillomavirus-related disease in men: not just a women's issue. *The Journal of Adolescent Health: Official Publication of the Society for Adolescent Medicine*, 46(4 Suppl.), S12-S19.
- Parisi, S. G., Cruciani, M., Scaggianti, R., Boldrin, C., Andreis, S., Dal Bello, F., Pagni, S., Barrelli, A., Sattin, A., Mengoli, C., & Palù, G. (2011). Anal and oral human papillomavirus (HPV) infection in HIV-infected subjects in northern Italy: a longitudinal cohort study among men who have sex with men. *BMC Infectious Diseases*, 11, 150.
- Pelullo, C. P., Di Giuseppe, G., & Angelillo, I. F. (2012). Human papillomavirus infection: knowledge, attitudes, and behaviors among lesbian, gay men, and bisexual in Italy. *PloS One*, 7(8), e42856.
- Silva, R., León, D., Brebi, P., Ili, C., Roa, J. C., & Sánchez, R. (2013). Detection of human papilloma virus infection in men. *Revista Chilena De Infectología: Órgano Oficial De La Sociedad Chilena De Infectología*, 30(2), 186-192.
- Smith, J. S., Gilbert, P. A., Melendy, A., Rana, R. K., & Pimenta, J. M. (2011). Age-specific prevalence of human papillomavirus infection in males: a global review. *The Journal of Adolescent Health: Official Publication of the Society for Adolescent Medicine*, 48(6), 540-552.
- Svare, E. I., Kjaer, S. K., Worm, A. M., Osterlind, A., Meijer, C. J. L. M., & Van den Brule, A. J. C. (2002). Risk factors for genital HPV DNA in men resemble those found in women: a study of male attendees at a Danish STD clinic. *Sexually Transmitted Infections*, 78(3), 215-218.
- Torres-Ibarra, L., Conde-Glez, C. J., Salmerón, J., Palefsky, J., Hernández-Nevarés, P., Sánchez-Alemán, M. A., Magis-Rodríguez, C., & Lazcano-Ponce, E. (2014). Risk factors for anal HPV-16/18 infection in Mexican HIV-infected men who have sex with men. *Preventive Medicine*, 69, 157-164.
- Vaccarella, S., Lazcano-Ponce, E., Castro-Garduño, J. A., Cruz-Valdez, A., Díaz, V., Schiavon, R., & Franceschi, S. (2006). Prevalence and determinants of human papillomavirus infection in men attending vasectomy clinics in Mexico. *International Journal of Cancer. Journal International Du Cancer*, 119(8), 1934-1939.
- Van der Snook, E. M., Niesters, H. G. M., Mulder, P. G. H., Van Doornum, G. J. J., Osterhaus, A. D. M. E., & Van der Meijden, W. I. (2003). Human papillomavirus infection in men who have sex with men participating in a Dutch gay-cohort study. *Sexually Transmitted Diseases*, 30(8), 639-644.
- Zhang, D. Y., Yin, Y.-P., Feng, T. J., Hong, F. C., Jiang, N., Wang, B. X., & Chen, X. S. (2014). HPV infections among MSM in Shenzhen, China. *PloS One*, 9(5), e96364.