

Detección y tipado de *Papillomavirus* humano en raspados de pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana

Carlos Zarco Olivo, Concepción Postigo Llorente, Rafael Llamas Martín, Avelina Suárez Moya^a, Juan J. Picazo de la Garza^a, Esther Castaño Suárez, Aurora Guerra Tapia y Luis Iglesias Díez

Servicio de Dermatología. Hospital 12 de Octubre. ^aServicio de Microbiología. Hospital Clínico. Madrid.

Resumen.—La infección por *Papillomavirus* humano (VPH) es más frecuente en pacientes inmunodeprimidos, incluyendo la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), donde se ha estudiado particularmente la infección cervical por cepas genitales oncogénicas de VPH.

Hemos estudiado las características de la infección por VPH en una consulta dermatológica de pacientes infectados por el VIH, con una muestra predominante de hombres jóvenes adictos a drogas por vía parenteral (ADVP), con lesiones verrucosas anogenitales.

Las 120 tomas de 61 pacientes correspondían a 98 muestras mucosas y 22 no mucosas. La detección en raspados con torunda, principalmente de semimucosas anal y/ o genital (también en casos sin lesión), se realizó tras extracción de ADN y amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La tipificación posterior se llevó a cabo mediante digestión por enzimas de restricción e hibridación con sondas específicas. Se detectaron uno o varios tipos de VPH en un 74% de las tomas mucosas de lesiones y en un 31% de las tomas mucosas sin lesión. Los tipos de VPH más encontrados han sido VPH 6 y 11 (33 muestras), frente al VPH 16 (11 muestras) o el VPH 18 (ningún caso). Encontramos tipos de alto riesgo oncogénico asociados a cifras de CD4 inferiores a 150 / mm³. Destacamos, en conclusión, la rentabilidad de la técnica del raspado de mucosas para el clínico como cribaje de infección por VPH, la elevada incidencia de VPH incluso oncogénico en localizaciones sin lesión clínica, la frecuencia de coinfecciones por varios tipos de VPH y el predominio del VPH 6 en nuestro medio.

Palabras clave: diagnóstico, reacción en cadena de la polimerasa, virus de la inmunodeficiencia humana, *Papillomavirus* humano.

Zarco Olivo C, Postigo Llorente C, Llamas Martín R, Suárez Moya A, Picazo de la Garza JJ, Castaño Suárez E, Guerra Tapia A, Iglesias Díez L. Detección y tipado de *Papillomavirus* humano en raspados de pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Actas Dermosifiliogr* 2003;94(1):17-23.

HPV DETECTION AND TYPING IN SCRAPES FROM HIV-INFECTED PATIENTS

Abstract.—Human *Papillomavirus* (HPV) infections are more prevalent among immunodeficient individuals, including patients infected with the human immunodeficiency virus (HIV). We studied the characteristics of HPV infection among those HIV patients visiting our dermatologic clinic, most of them young males addicted to drugs and suffering from genital warts.

We collected 120 samples from 61 patients, 98 from mucosal and 22 from non-mucosal sites. HPV-DNA was isolated from swab-scraping of ano-genital mucosa (even on free-lesion sites), amplified by PCR and laterly typed by analysis of restriction-fragment-length polymorphism and hybridization with type-specific probes.

At least one HPV-type was found in 74% of lesional mucosal specimens, and in 31% of non-lesional mucosal specimens. The most frequently detected specific types in our study population were HPV 6/ 11 (in 33 samples), versus HPV 16 (11 samples) or HPV 18 (in no sample). We also found oncogenic types associated with CD 4 levels < 150/ mm³.

Our findings support the effectiveness of mucosal HPV screening for clinicians, with frequent detection of virus (even oncogenic types) in lesion-free specimens, of multiple types in single samples, and of HPV 6 as the most common type in our study population.

Key words: diagnosis, polymerase chain reaction, human immunodeficiency virus, human *Papillomavirus*.

INTRODUCCIÓN

La especial incidencia y problemática de la infección por el *Papillomavirus* humano (VPH) en inmunodeprimidos ya era señalada en pacientes tras quimioterapia o radioterapia y en series de trasplantados en

los años ochenta¹. Con el desarrollo de la pandemia de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en los noventa, este hecho adquirió su actual importancia epidemiológica, incluso con situaciones inmunológicas relativamente preservadas (CD4 >500/ mm³), lo que indujo la sospecha de que, además del déficit inmunitario y de compartir la vía de transmisión sexual, otros factores de riesgo influirían en la alta prevalencia de coinfección por ambos virus². El curso clínico de las lesiones por VPH, de mayor desarrollo, agresividad³ y dificultad terapéutica en

Correspondencia:

C. Zarco. Servicio de Dermatología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Carretera de Andalucía, km. 5,400. 28041 Madrid.

Aceptado el 30 de septiembre de 2002.

estos enfermos, parece estar mediado por otros determinantes. Entre ellos se ha estudiado, por una parte, la interrelación entre el gen *tat-1* (proteína reguladora del VIH) y la proteína E2 del VPH, que favorece la expresión de otros genes tempranos del VPH⁴. Por otra parte, los cambios en la inmunidad regional de mucosas, con descenso local de linfocitos CD4, células de Langerhans y alteración en el patrón de citocinas, también favorecen la transcripción de determinados VPH⁵.

En el campo de la enfermedad por VIH el estudio de la infección por VPH se ha centrado mayoritariamente en la localización genital en mujeres. En ellas se detectó, primero por citología, un aumento de «lesiones escamosas intraepiteliales» (SIL o CIN según criterios histológicos) precursoras de carcinoma cervical invasivo. Con los métodos de genética molecular actuales pronto se relacionó este hecho con el hallazgo de una elevada frecuencia de infecciones persistentes por VPH en lavados cervicovaginales de estas enfermas^{6,7}. Secundariamente también se ha demostrado una mayor prevalencia de infección por VPH y lesiones precursoras de carcinoma escamoso a nivel anal (AIN, neoplasia intraepitelial anal) en pacientes homo/ bisexuales, particularmente en infectados por el VIH⁸.

Fuera de estos dos terrenos hemos querido valorar la utilidad de estas técnicas moleculares para la detección de infección por VPH y su tipado en una consulta puramente dermatológica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudiamos 61 pacientes consecutivos que acudieron con lesiones sugestivas de infección por VPH a nuestra Unidad VIH de la consulta de Dermatología del Hospital 12 de Octubre de Madrid. Recogimos en el momento de la toma de muestras datos generales (sexo, edad, etc.) de los pacientes, datos sobre su situación VIH (conducta de riesgo, antigüedad del diagnóstico, estadio actual, cifra de CD4 en los últimos dos meses) y datos sobre sus lesiones por VPH (diagnóstico clínico/ histológico, localización, evolución y tratamientos previos). No utilizamos como variable en el estudio la carga vírica de VIH por no disponer de ella de rutina en nuestro hospital en el momento de inclusión de los primeros pacientes (1995).

De esta población tomamos una muestra de 120 tomas (de una a tres por paciente), en un único momento evolutivo (salvo en dos pacientes), que clasificamos en función de dos criterios: a) localización: definida como «mucosa» (semimucosas y piel adyacente) o «no mucosa» (si afectaba a otras localizaciones cutáneas), y b) diagnóstico dermatológico clínico/ histológico⁹. En muchos casos realizamos además toma de la zona anogenital clínicamente libre de lesiones.

Para detección de VPH elegimos, por su sensibilidad^{10,11}, una técnica de amplificación, mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR)^{12,13}, seguida de un método de tipado con enzimas de restricción, que fueron realizadas en el servicio de Microbiología del Hospital Clínico de Madrid.

La toma de muestras elegida por sencillez y rentabilidad diagnóstica fue el raspado con torunda de algodón estéril humedecida con suero^{8,11,14} que, como ya se ha mencionado, también realizamos en zonas de semimucosa anal o genital (surco balano-prepucial, vestíbulo vulvar) «sin lesión». Las muestras se conservaron a -20° C hasta su procesamiento. Para la extracción del ADN digerimos con una solución de proteinasa K y Tween 20 durante tres horas a 55° C y después se realizó la amplificación mediante PCR. Utilizamos unos iniciadores generales (My09 y My11), que amplifican una región común de los VPH (región L1 *open reading frame* [ORF]), que es una zona conservada de aproximadamente 450 pares de bases (pb). En todas las muestras se utilizó un control interno de amplificación para poder distinguir los negativos de las reacciones inhibidas. También se utilizaron controles externos tanto positivos como negativos por cada ronda de amplificación¹⁴. Los productos de la amplificación se detectaron mediante electroforesis en gel de agarosa teñida con bromuro de etidio¹⁵. Como marcadores de peso molecular se utilizaron M VIII y OX 174 digerido con HaeIII.

El tipado se llevó a cabo mediante digestión con enzimas de restricción RsaI y 2 (PVHfast Pharma-Gen[®]), que producen cortes en la secuencia del ADN y posteriormente se interpretó el patrón de bandas por electroforesis. Cada tipo de virus presenta un patrón de restricción distinto. En la mayoría de casos dispusimos de un segundo método de tipado mediante hibridación con sondas tipo específicas para los VPH mucosos *a priori* más relevantes, los VPH tipos 6, 11, 16, 18 y 33¹⁴.

Consideramos muestra negativa a aquélla en la que sólo aparecía la banda del control interno de amplificación, y una muestra positiva cuando además aparecía la banda de 450 pb correspondiente a los VPH. En las muestras positivas se procedió al tipado de las mismas informando del tipo concreto, de tipados mixtos o múltiples y se consideraron como «no tipables» cuando no existía un patrón de bandas específico de tipo. Una muestra es considerada inhibida cuando no aparece la banda de 450 pb propia de los VPH ni la banda del control interno de amplificación; en estos casos realizamos diluciones de la muestra y/ o purificación del ADN extraído antes de considerar este resultado como definitivo.

Dentro de los VPH detectables definimos para el análisis como de «alto riesgo» oncogénico a los VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68^{10,16}.

El estudio estadístico se realizó con una prueba de asociación para variables cualitativas por medio del criterio del Chi cuadrado, distribución χ^2 de Pearson y prueba exacta de Fisher, mediante el programa informático *epi.info*.

RESULTADOS

Las características de los 61 pacientes de la muestra se corresponden con bastante fidelidad con la población general que atendemos en nuestra unidad: 52 de ellos (85%) son hombres, con una edad media de 30,5 años (rango: 22 a 47 años); conductas de riesgo para VIH: 38 casos (62%) son adictos a drogas por vía parenteral (ADVP), 16 pacientes (26%) son hombres homo/ bisexuales y en 14 casos (23%) se plantea la transmisión heterosexual como la vía de contagio, sobre todo en mujeres (en 5 de ellas 9 como única vía); estadio VIH: todos los posibles, predominando el C3 (45% de pacientes), con cifra media de CD4 en el momento de la toma de 278/mm³ (rango: 1 a 1.235/mm³). Los tratamientos previos para el VPH son variados (desde cidofovir tópico hasta cirugía amplia), únicos en 25 y combinados en 10 pacientes, predominando la crioterapia y el podofilino.

Las 120 muestras correspondían:

1. Por su localización: a 98 muestras «mucosas» (de las cuales 49 eran de zona genital externa, 47 de zona anal y 2 de mucosa oral), y a 22 muestras «no mucosas».
2. Por diagnósticos: 54 a condilomas acuminados (CA), 32 a tomas «sin lesión» (SL), 16 a papulosis bowenoides (PB), 9 a verrugas planas, 5 a verrugas vulgares, 3 a carcinomas verrucosos y 1 a papiloma.

Los resultados de detección por pacientes demostraban alguna muestra positiva en 46 (76%) de los mismos, todas negativas en 13 (21%) e inhibidas en 2 (3%). Los resultados de detección en las 120 muestras según localización, presencia y/o diagnósticos de las lesiones están recogidos en las tablas 1 y 2.

Los distintos tipos obtenidos en nuestras muestras son los siguientes: VPH 6 (en 21 tomas), no tipable

TABLA 1. RESULTADOS DE DETECCIÓN DE PAPILOMAVIRUS HUMANO EN 120 MUESTRAS SEGÚN PRESENCIA DE LESIONES

	Positivas	Inhibidas	Negativas
Sin lesión (32) todas mucosas	10 (31,2%) 3 múltiples	4 (12,5%)	18 (56,2%)
Con lesión (22) no mucosas	11 (50%) 1 múltiple	1 (4,5%)	10 (45,5%)
Con lesión (66) mucosas	49 (74,2%) 9 múltiples	1 (1,5%)	16 (24,2%)

TABLA 2. RESULTADOS DE DETECCIÓN EN 88 MUESTRAS CON LESIONES SEGÚN DIAGNÓSTICOS DE LAS MISMAS

	Positivas	Inhibidas	Negativas
Condilomas acuminados (54)	41 (76%) 6 múltiples	2 (3,7%)	11 (20,3%)
Papulosis bowenoides (16)	9 (56,3%) 3 múltiples	—	7 (43,7%)
Carcinomas verrucosos (3)	2	—	1
Verrugas planas (9)	4	—	5
Verrugas vulgares (5)	3	—	2
Papiloma (1)	1	—	—

(18 tomas), VPH 11 (12 tomas), VPH 16 (11 tomas), VPH 31 (6 tomas), VPH 33 (5 tomas), VPH 42 (2 tomas) y luego, con una toma por cada tipo, los VPH 30, 44, 56, 61, 34, 52, 8/ 9, 4 y 27. Los resultados más destacados del tipado según localización y/o diagnósticos principales están recogidos en las tablas 3 y 4.

DISCUSIÓN

Aunque el rastreo de VPH ya se ha realizado en consultas de enfermedades de transmisión sexual (ETS)¹⁷, no existe una base bibliográfica dermatológica referida a pacientes infectados por el VIH, y la mayoría de trabajos sobre estos pacientes provienen de otras especialidades (como ginecología, gastroenterología o laboratorios de medicina interna); se refieren por ello a poblaciones y localizaciones de tomas de muestras muy distintas a las de nuestro medio o parcelares, con términos citológicos (como SIL) e histológicos (como CIN, AIN o PIN, referidos a neoplasias intraepiteliales a nivel cervical, anal o de pene), poco familiares para los dermatólogos^{8, 18-21}. En otras mucosas, cuestiones como el posible significado de detecciones persistentes de VPH a lo largo del tiempo o tras tratamientos previos se infieren siempre de lo observado a nivel cervical^{22, 23}.

TABLA 3. RESULTADOS DEL TIPADO DE PAPILOMAVIRUS HUMANO SEGÚN LOCALIZACIONES DE LAS MUESTRAS

	Anales	Genitales	No mucosas
Alto riesgo	VPH16:5; VPH31:3; VPH33:3; VPH56:1 (12)	VPH16:6; VPH31:3; VPH33:2 (11)	Otros: 5 (2 casos: VPH 34 y 52)
Bajo riesgo	VPH6:10; VPH11:6; otros: 2 (18)	VPH6:10; VPH11:6; otros: 3 (19)	
No tipables	9	2	7

No incluidas dos muestras orales.

TABLA 4. RESULTADOS DEL TIPADO DE PAPILOMA-VIRUS HUMANO SEGÚN DIAGNÓSTICOS DE LAS MUESTRAS EN MUCOSAS

	<i>Condilomas acuminados</i>	<i>Papulosis bowenoides</i>	<i>Sin lesiones</i>
Alto riesgo	VPH16:6; VPH31:1; VPH33:1 (8)	VPH16:2; VPH31:3; VPH33:2 (7)	VPH16:3; VPH31:2; VPH33:2; VPH56:1 (8)
Bajo riesgo	VPH6:16; VPH11:10; otros:4 (30)	VPH6:4; VPH11:0; otros:1 (5)	VPH6:1
No tipables	6	0	5

No incluidas dos muestras de carcinoma verrucoso.

La característica fundamental de nuestra población infectada por VIH es el predominio de hombres ADVP, en los que también vemos una elevada incidencia de lesiones por VPH genitales (condilomas y papulosis bowenoides) e incluso anales, negando en muchos casos contactos homosexuales previos. Estas muestras mucosas son el centro de nuestro estudio, repartidas casi por igual entre ambas localizaciones (49 genitales y 47 anales). De hecho, no encontramos diferencias de resultados apreciables en relación con conductas de riesgo, como tampoco las observamos para las otras variables que no mencionamos en esta discusión. Voltz et al en Cedex estudiaron también la tipificación virológica en una consulta dermatológica, reuniendo 19 enfermos infectados por VIH con histología de lesiones por VPH, que estudiaron mediante hibridación *in situ*²⁴. Su muestra de pacientes infectados por VIH era más semejante a la norteamericana, con solamente un 16% de pacientes ADVP. Su método de detección genómica (hibridación *in situ*) es bastante menos sensible que la amplificación^{12,13}, preferible para estudios de cribaje^{10,11}; estos autores encontraron un predominio de tipos de alto riesgo en el 71% de las lesiones.

Los resultados de nuestro estudio demuestran ya una rentabilidad de esta técnica incruenta si los referimos a los pacientes, con positividad en alguna de sus muestras en 46 pacientes (76%), mientras que se encuentran todas negativas en 13 (21%) e inhibidas en 2 (3%) de los mismos, si bien 9 de estos 15 últimos pacientes (con muestras negativas e inhibidas) disponían de tomas únicas.

Más datos se obtienen refiriendo los resultados a las 120 tomas obtenidas de ellos. Y así, según la localización y presencia de lesiones (tabla 1), vemos que:

1. De las 22 muestras «no mucosas», todas ellas con lesiones aparentes, hay 11 (50%) positivas, 10 (45,5%) negativas y 1 inhibida. Encontramos, pues, un alto porcentaje de «falsos negativos» cuando esta técnica se utiliza sobre lesiones

puramente cutáneas. Destacamos que de las 10 tomas negativas, 6 proceden de verrugas (planas o vulgares) localizadas en dorso de manos o dedos.

2. Sin embargo, de las 66 muestras «mucosas» con lesión, 49 (74%) son positivas (significación estadística frente a las muestras sin lesión, $p < 0,0005$), 16 son negativas y 1 resulta inhibida. El porcentaje de positividad si consideramos sólo las lesiones genitales corresponde a un 69%, pero referido a lesiones anales alcanza un 81%, por lo que esta localización parece especialmente apropiada para esta técnica de detección²⁵.
3. En las 32 muestras (SL), todas ellas de mucosa anogenital, también encontramos un porcentaje no despreciable de positividad: del 31% (10 tomas frente a 18 negativas y 4 inhibidas). Este porcentaje es bastante más elevado que el 9%-10% que se baraja como cifra media de positividad en población sana de referencia, al menos a nivel cervical²⁶, y plantea la cuestión de una posible tasa especialmente significativa de portadores en inmunodeprimidos. Con respecto a las muestras inhibidas hay que destacar que, de las 5 muestras mucosas inhibidas (con/ sin lesión), 4 de ellas corresponden a tomas anales, localización en la que modificamos la técnica tras iniciar el estudio porque se precisaban purificaciones repetidas del ADN.

En cuanto a los resultados de las muestras referidos al diagnóstico de las lesiones, cuando éstas estaban presentes (tabla 2) vemos cómo el principal responsable del alto número de positividades en lesiones mucosas es el CA, con 41 positivas de 54 CA (76%) frente a 9 positivas de 16 PB (56%) (CA > PB > SL). Este orden de positividades concuerda con los hallazgos en pacientes no infectados por VIH¹⁷.

Refiriéndonos ya a los resultados de tipificación, se detectaron 84 tipos de VPH en las 120 muestras. En las muestras no mucosas (tabla 3) hay 7 «no tipables» y otros 5 tipos con poca correspondencia clínica: Detectamos un VPH 8/ 9 (propio de la epidermodisplasia verruciforme) en una verruga vulgar y un VPH 27 (propio de verrugas intermedias de Jablonska) en un papiloma plantar; además encontramos tipos mucosos (VPH 34 y 52) asociados con lesiones cutáneas, hallazgo que algunos autores quieren relacionar con situaciones de inmunosupresión^{27,28}.

Centrándonos en las 72 tipificaciones en muestras mucosas, encontramos un predominio de los de bajo grado de riesgo oncogénico sobre los de alto grado, aunque en 19 de 52 pacientes (36,5%) con alguna muestra mucosa se detecta al menos un tipo de alto riesgo. Así, el VPH 6 (bajo grado) es el más prevalente (29%), seguido del VPH 11 (17%, también de bajo

grado), los «no tipables» (15%), el VPH 16 (15%) y los VPH 31 y 33 (que juntos suponen otro 15%). El resto de VPH justifican sólo un 8% restante. No hemos encontrado ningún VPH 18. En nuestro medio y con las mismas técnicas, la rareza del VPH 18 parece habitual en nuestra población, mientras que el predominio del VPH 6 lo hemos encontrado en poblaciones de riesgo (clínica de ETS), pero no así en muestras cervicales de una población control de mujeres embarazadas (en principio sanas)¹⁴. Sin embargo, los datos de nuestra serie están en desacuerdo con los 19 casos de Voltz²⁴ y con otras casuísticas norteamericanas que utilizan también PCR en distintas poblaciones infectadas por VIH, donde los de alto grado, sobre todo el VPH 16 y 18, predominan sobre el VPH 6 en localizaciones cervicales y anales^{11, 25, 29, 30}.

La detección de genotipos múltiples sólo aparece en una de las muestras no mucosas, mientras que 12 (20%) de las 59 muestras mucosas positivas presentan genotipos múltiples (tabla 1). En 11 de esas 12 muestras mucosas con genotipos múltiples está implicado, además, al menos un tipo de alto riesgo, y 3 de ellas son tomas de mucosas SL. La bibliografía muestra que las infecciones múltiples son en pacientes negativos para el VIH, menos frecuentes a nivel genital¹⁷ y anal^{29, 31}, y que en la población infectada por VIH parecen asociarse a lesiones displásicas y a peores situaciones inmunológicas¹¹. En nuestra serie los genotipos múltiples aparecen proporcionalmente algo más en PB que en CA (tabla 2), y todos en sujetos con cifras de CD 4 < 220/ mm³.

Agrupar tipados de alto y bajo riesgo nos ha permitido observar algunas tendencias con respecto a otras variables:

1. Así, con respecto a la localización (tabla 3), vemos que ambos grupos están bastante regularmente repartidos entre las localizaciones mucosas principales (anal y genital), pero los positivos «no tipables» son más raros en zona genital que en anal o en no mucosa.
2. Con respecto a los diagnósticos mayoritarios en mucosas (tabla 4), vemos cómo los de bajo grado se asocian significativamente con un diagnóstico de condiloma ($p < 0,05$) frente al de PB, donde, por ejemplo, no encontramos ningún VPH 11; también observamos cómo nuestros «no tipables» son raros en lesiones de PB, además de en localización genital. En dos muestras correspondientes a carcinoma verrucoso encontramos VPH 11 de bajo riesgo. El mecanismo oncogénico de estas neoplasias, según describen Majewski y Jablonska²⁷, no está ligado a las oncoproteínas E6/E7 de los VPH de alto riesgo, y así parece que gran parte de las neoplasias anogenitales que vemos los dermatólogos en pacientes de riesgo sean de este tipo his-

tológico, con gran capacidad destructiva local, y esto a pesar de que predominen los tipos VPH de bajo riesgo oncogénico en dichos tumores³².

Otro punto importante ha sido relacionar los tipados de muestras mucosas con la situación inmunológica del paciente en el momento de la toma. En las principales series de muestras cervicales y anales de pacientes infectados por VIH se aprecia una tendencia con mayor inmunodepresión hacia detecciones de supuesta mayor agresividad, expresada como mayor número de positividad, de carga VPH infectante y de genotipos múltiples y/o de alto grado oncogénico^{10, 11, 25, 29, 30, 33}. Nosotros, incluyendo un número significativo de muestras genitales masculinas (a diferencia de estas series), no observamos en la nuestra un mayor número de detecciones positivas con inmunodeficiencias más marcadas, pero sí la asociación con genotipos múltiples y sobre todo con tipados de alto riesgo, hallazgos similares a los que refiere Arany en condilomas de pene, que los relaciona con una activación transcripcional³⁴. Poniendo un punto de corte en los 150 linfocitos CD4/ mm³, hemos observado 14 (61%) de 23 tipados de alto riesgo en mucosas por debajo de esta cifra, mientras que 29 (76%) de los 38 tipados de bajo riesgo se encuentran por encima de la misma ($p < 0,005$). Este dato parece especialmente relevante cuando consideramos algunos tipos concretos de alto riesgo como son los VPH 31 ó 33: de 11 tipados globales con uno de estos dos tipos, 8 (73%) los encontramos en pacientes con CD4 < 120/ mm³. Desconocemos el significado de estos hallazgos, que habrá que confirmar con series más amplias. La influencia de la terapia antirretroviral de gran eficacia (TARGA) en las cifras de linfocitos CD4 con la que algunos autores de prestigio vaticinaban un aumento de neoplasias por VPH oncogénicos (en el seno de una inmunodeficiencia prolongada)³⁵ en realidad ya ha demostrado también aquí su utilidad, alterando el curso de la enfermedad por VPH en pacientes infectados por el VIH, reduciendo la progresión y aumentando la regresión (al menos en base a criterios citológicos cervicales), según se ha publicado recientemente en un estudio prospectivo con 2.059 mujeres infectadas por el VIH pertenecientes al WIHS norteamericano (Integragencia de la mujer para estudio del VIH)¹⁰.

El hallazgo más significativo de nuestro estudio es la altísima prevalencia de tipados de alto riesgo en muestras anogenitales de zonas sin lesión (tabla 4). De las 10 muestras sin lesión que fueron positivas, en 7 (70%) hay al menos un tipo de alto riesgo. Además sólo dos de estas muestras presentan concordancia de tipos con la otra localización anogenital del mismo paciente donde sí hay presencia de lesión. Así, por ejemplo, mientras en la toma correspondiente a un CA anal de un paciente homosexual detectamos un VPH 6, la toma de pene SL del mismo paciente resulta inicialmente inhibida y, tras diluciones posteriores,

muestra un VPH 16; o la toma correspondiente a vulva SL de una paciente sometida un año antes a una conización cervical por un CIN es negativa, pero la toma anal SL de la misma paciente muestra un VPH 56 y un «no tipable». Esta discrepancia de tipos en distintas mucosas junto a un mayor número de detecciones a nivel anal (sin llegar a ser significativo en nuestra serie) son hallazgos señalados recientemente por Palefsky en mujeres con afectación cervical por VPH¹¹. Aunque no se conozca la trascendencia clínico-evolutiva de estos hechos en mucosas sin lesiones clínicas²⁵, los datos aportados en estudios junto a rastreos citológicos no parecen tranquilizadores³⁶.

Como previamente se valoró en cérvix, actualmente se ha estudiado la relación coste-eficacia a otro nivel, y distintos autores proponen las modernas técnicas de amplificación genómica, junto a métodos de valoración citológica, como parte de un cribaje de detección de la infección anal por VPH en poblaciones de riesgo oncológico especial, como es la población infectada por el VIH^{20, 24, 37}. Frente a instrumentos más especializados, como anoscopios de alta resolución^{20,37}, y basándonos en el rendimiento obtenido de sencillos raspados mucosos³⁸, los dermatólogos clínicos gozamos de una accesibilidad única para el cribaje de lesiones anogenitales por VPH, si disponemos de procedimientos sensibles de detección genómica de rutina. Los dermatólogos que trabajamos con pacientes infectados por VIH nos enfrentamos a diario al problema de «la verruga anogenital y la displasia», con pocas referencias evolutivas y, desde hace 6 años, al menos con posibilidades de controlar esta lesión por VPH fuera de un marco inmunológico tan caótico como era invariablemente el previo. El despistaje y tipado de lesiones, e incluso de mucosas sanas, nos aportaría datos al problema clínico individual y una base inestimable para valorar cursos evolutivos o definir situaciones de más riesgo en nuestra población seropositiva para el VIH, como ya ha sucedido en otras especialidades^{19, 39}.

CONCLUSIÓN

Queremos destacar de este trabajo:

1. La alta rentabilidad de la técnica empleada en mucosas, sobre todo en lesiones anales, y su sencillez para el clínico.
2. Los siguientes hallazgos en nuestra población de estudio, referidos a muestras mucosas: a) elevada presencia de VPH en localizaciones SL, con frecuencia de alto grado de riesgo oncogénico; b) coinfecciones frecuentes por varios tipos de VPH concurrentes; c) predominio de VPH tipo 6 y ausencia de VPH tipo 18, y d) tipos de alto riesgo oncogénico más frecuentes en peores situaciones inmunológicas.
3. Proponemos el despistaje y tipado de VPH en tomas por raspado anogenital, factibles para el dermatólogo, como parte de un cribaje de posibles poblaciones de riesgo para la infección por VPH, entre ellos los pacientes seropositivos para VIH.

BIBLIOGRAFÍA

1. Boyle J, Briggs JD, Mackie RM, Junor BJR, Aitchison TC. Cancer, warts and sunshine in renal transplant patients: a case control study. *Lancet* 1984;1:702-5.
2. Chopra KF, Tyring SK. The impact of the human immunodeficiency virus on the human papillomavirus epidemic. *Arch Dermatol* 1997;133:629-33.
3. Frisch M, Biggar RJ, Goedert JJ. HPV-associated cancers in patients with HIV infection and acquired immunodeficiency syndrome. *J Natl Cancer Inst* 2000;20:1500-10.
4. Vernon SD, Hart CE, Reeves WC, Icenogle JP. The HIV-1 tat protein enhances E2-dependent human papillomavirus 16 transcription. *Virus Res* 1993;27:133-45.
5. Arany I, Tyring SK. Status of local cellular immunity in interferon-responsive and non-responsive human papillomavirus-associated lesions. *Sex Trans Dis* 1996;23:475-80.
6. Vernon SD, Reeves WC, Clancy KA. A longitudinal study of HPV-DNA detection in human immunodeficiency virus type 1-seropositive and -seronegative women. *J Infect Dis* 1994; 169:1108-12.
7. Sun XW, Kuhn L, Ellerbrock TV, Chiasson MA, Bush TJ, Wright TC. HPV infection in women infected with the HIV. *N Engl J Med* 1997;337:1343-9.
8. Critchlow CW, Surawicz CM, Holmes KK, Kuipers J, Daling JR, Hawes SE, et al. Prospective study of high-grade anal squamous intraepithelial neoplasia in a cohort of homosexual men: influence of HIV infection, immunosuppression and human papillomavirus infection. *AIDS* 1995;9:1255-62.
9. Weedon D, Strutton G. *Skin pathology*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1997.
10. Minkoff H, Ahdieh L, Massad LS, Anastos K, Watts DH, Melnick S, et al. The effect of highly active antiretroviral therapy on cervical cytologic changes associated with oncogenic HPV among HIV-infected women. *AIDS* 2001;15: 2157-64.
11. Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML, Da Costa M, Greenblatt RM. Prevalence and risk factors for anal human papillomavirus infection in HIV-positive and high-risk HIV-negative women. *J Infect Dis* 2001;183:383-91.
12. Coutlee F, Mayrand MH, Provencher D, Franco E. The future of HPV testing in clinical laboratories and applied virology research. *Clin Diagn Virol* 1997;8:123-41.
13. Velasco J, de Oña M. Diagnóstico de la infección por VPH. En: Palacio V, editor. *Infección VPH en el área genital: clínica, diagnóstico y tratamiento*. Madrid: 3M España, SA; 2000. p. 223-43.
14. Pérez MC. Detección y tipificación de papillomavirus humano genital por amplificación genómica. Tesis doctoral. Universidad Complutense, Madrid; 2001.
15. Manos MM, Ting Y, Wright DK, Lewis AJ, Broker TR, Wolinsky SM. The use of PCR amplification for the detection of genital HPV types. *Cancer Cells* 1989;7:209-14.

16. Aznar J. Patogenia y papel oncogénico de los papilomavirus humanos. En: Palacio V, editor. Infección VPH en el área genital: clínica, diagnóstico y tratamiento. Madrid: 3M España, SA; 2000. p. 49-57.
17. Strand A, Rylander E, Evandeer M, Wadell G. Genital HPV infection among patients attending an STD clinic. *Genitourin Med* 1993;69:446-9.
18. Sobhani I, Vuagnat A, Walker F, Vissuzaine C, Mirin B, Hervatin F. Prevalence of high-grade dysplasia and cancer in the anal canal in human papillomavirus-infected individuals. *Gastroenterology* 2001;120:857-66.
19. Conley LJ, Ellerbrock TV, Bush TJ, Chiasson MA, Sawo D, Wright TC. HIV-1 infection and risk of vulvovaginal and perianal condylomata acuminata and intraepithelial neoplasia: a prospective cohort study. *Lancet* 2002;359:108-13.
20. Palefsky JM. Anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive men and women. *Semin Oncol* 2000;27:471-9.
21. Gomousa MM, Gialama E, Gomousas N, Gialama G. Genital HPV infection and associated penile intraepithelial neoplasia in males infected with the HIV. *Acta Cytol* 2000;44:305-9.
22. Mayrand MH, Coutlee F, Hanins C, Lapointe N, Forest P, De Ladurantaye M, et al. Detection of HPV type 16 DNA in consecutive genital samples does not always represent persistent infection as determined by molecular variant analysis. *J Clin Microbiol* 2000;38:3388-93.
23. Bollen LJ, Tjong a Hung SP, Van der Velden J, Mol BW, Boer K, Ten Kate FJ, et al. Clearance of cervical HPV infection by treatment for cervical dysplasia. *Sex Trans Dis* 1997; 24:456-60.
24. Voltz JM, Drobacheff C, Derancourt C, Coumes-Marquet S, Mougín C, Laurent R. Lésions anogénitales à papillomavirus chez 121 hommes séropositifs pour le VIH. *Ann Dermatol Venerol* 1999;126:424-9.
25. Breese PL, Judson FN, Penley KA, Douglas JM. Anal HPV infection among homosexual and bisexual men: prevalence of type-specific infection and association with HIV. *Sex Trans Dis* 1995;22:7-14.
26. De Roda AM, Walboomers JMM, Hopman E, Bleker OP, Helmerhorst TM, Rozendoal L, et al. HPV prevalence in cytologically normal cervical scrapes of pregnant women as determined by PCR: the age-related pattern. *J Med Virol* 1995;46:97-102.
27. Majewski S, Jablonska S. Human papillomavirus-associated tumors of the skin and mucosa. *J Am Acad Dermatol* 1997; 36:659-85.
28. Mansat E, Dantal J, Hourmant M, Litoux P, Soullillou JP, Dreno B. Frequency of mucosal HPV DNA detection in skin lesions of renal transplant patients. *Transpl Int* 1997; 10:137-40.
29. Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML, Jay N. Prevalence and risk factors for HPV infection of the anal canal in HIV-positive and HIV-negative homosexual men. *J Infect Dis* 1998; 177:361-7.
30. Ahdieh L, Klein RS, Burk R, Cu-Uvin S, Schuman P, Duerr A, et al. Prevalence, incidence, and type-specific persistence of HPV in HIV-positive and HIV-negative women. *J Infect Dis* 2001;184:682-90.
31. Unger ER, Vernon SD, Lee DR, Miller DL, Sharma S, Clancy KA et al. Human papillomavirus type in anal epithelial lesions is influenced by HIV. *Arch Pathol Lab Med* 1997; 121:820-4.
32. Cuesta KH, Palazzo JP, Mittal KR. Detection of HPV in verrucous carcinoma from HIV-seropositive patients. *J Cutan Pathol* 1998;25:165-70.
33. Friedman HB, Saah AJ, Sherman ME, Busseniers AE, Blackwelder WC, Kaslow RA, et al. HPV, anal squamous intraepithelial lesions, and HIV in a cohort of gay men. *J Infect Dis* 1998;178:45-52.
34. Arany I, Tyring SK. Systemic immunosuppression by HIV infection influences HPV transcription and thus local immune responses in condyloma acuminatum. *Int J STD AIDS* 1998;9:268-71.
35. Palefsky JM. HPV infection and anogenital neoplasia in HIV-positive men and women. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1998;23:15-20.
36. Surawicz CM, Critchlow C, Sayer J, Hurt C, Hawes S, Kirby P, et al. High grade anal dysplasia in visually normal mucosa in homosexual men: seven cases. *Am J Gastroenterol* 1995; 90:1776-8.
37. Matczak E. Human papillomavirus infection: an emerging problem in anal and other squamous cell cancers. *Gastroenterology* 2001;120:1046-8.
38. De Sanjose S, Bosch XF, Muñoz N, Chichareon S, Nge-langel C, Balaguero L, et al. Screening for genital HPV: results from an international validation study on HPV sampling techniques. *Diagn Mol Pathol* 1999;8:26-31.
39. Kuhler C, Milde K, Helling G, Salfeler A, Peimann C, Loning T. PCR-associated papillomavirus detection in cervicovaginal smears: stratification by clinical risk and cytology reports. *Virchows Arch* 1994;425:157-63.