



Detección molecular de agentes infecciosos de transmisión sexual en un grupo de hombres sintomáticos y su relación con la conducta sexual

Daniela León, Javier Retamal, Ramón Silva, Carmen Ili, Stephanie Mieville, Pablo Guzmán, Gastón Briceño y Priscilla Brebi

Molecular detection of sexually transmitted agents in a symptomatic group of men and its relationship with sexual behavior

Background: Sexually transmitted infections (STIs) affect sexual and reproductive health of millions of men. Pathogens such as human papillomavirus (HPV), herpes simplex virus type 1 and 2 (HSV-1 y HSV-2), *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* are associated with STIs. **Aim:** To detect pathogens associated with STIs in symptomatic men and its relationship with sexual behavior. **Methodology:** DNA was obtained from exfoliated cells of penis from 20 symptomatic men. Pathogens were detected using qPCR or PCR followed by *reverse line blot*. Sexual behavior was evaluated through a survey. **Results:** Two or more infectious agents were detected in 50% of samples. *U. urealyticum* was found in 25%, meanwhile *C. trachomatis* and *M. hominis* were detected in 15%. VHS-1, VHS-2 and *M. genitalium* were detected only in 5%. HPV was found in all samples. The most frequent HPV genotypes were VPH 16, 11, 70. There were no statistical link found between sexual behavior and the studied microorganisms **Conclusion:** Infectious agents associated with STIs were detected in symptomatic men. HPV was the most frequent pathogen and it was detected in multiple genotypes. It is necessary to increase the sample size to associate significantly the sexual behavior with the results.

Key words: qPCR, reverse line blot, sexually transmitted infections (STIs).

Palabras clave: RPC en tiempo real cuantitativa (qPCR), *reverse line blot*, infecciones de transmisión sexual (ITS).

Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Facultad de Medicina, Departamento Anatomía Patológica, Laboratorio de Patología Molecular (DL, JR, RS, CI, SM, PG, PB). Departamento Especialidades Médicas.

Hospital Hernán Henríquez

Aravena, Temuco, Chile.

Servicio Dermatología (GB).

Centro de Medicina Traslacional, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Los autores no poseen conflictos de intereses para la publicación de este artículo.

Esta investigación fue financiada por el Proyecto CORFO N° 12IDL2-18157, Proyecto DIUFRO D113-0039, Proyecto CORFO N° 09CN14-5960, Proyecto FONDECYT 11150622 y Proyecto FONDECYT N° 11150802.

Recibido: 4 de marzo de 2016

Aceptado: 23 de julio de 2016

Correspondencia a:

Priscilla Brebi Mieville
brebimieville@gmail.com

Introducción

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) representan un grupo de enfermedades que afectan la salud sexual y reproductiva de millones de personas, siendo un problema público de interés¹. Agentes etiológicos responsables de las ITS incluyen hongos, bacterias, parásitos y virus. Algunos de estos microorganismos son eliminados al cabo de un período de tiempo, mientras que otros son recurrentes y algunos se mantienen en el organismo en forma asintomática, permitiendo el progreso de la enfermedad y generando consecuencias como inflamaciones del tracto genito-urinario, infertilidad e incluso el desarrollo de cáncer². Dentro de los agentes que pueden cursar en forma asintomática destacan: virus papiloma humano (VPH), virus herpes simplex tipo 1 y 2 (VHS-1 y VHS-2), *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*^{2,3}.

El VPH es responsable de la ITS más frecuente, afectando tanto a hombres como a mujeres⁴. Según la capacidad oncogénica del virus, éste ha sido agrupado

en aquellos con genotipos de alto riesgo (AR) y de bajo riesgo (BR). Los VPH de AR son: 16, 18, 26, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73 y 82. Por otro lado, los VPH de BR incluyen los genotipos: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 57, 61, 70, 71, 72, 81, 83 y 84⁵. Los VPH 16 y 18 son los genotipos más frecuentes y están asociados a la patogénesis del cáncer cervical, de vulva, de pene y anal. Mientras que los genotipos de VPH de BR 6 y 11 están involucrados en el desarrollo de lesiones benignas como verrugas y condiloma acuminado⁶. Generalmente, el hombre es portador asintomático de este microorganismo, transmitiendo el virus a sus parejas femeninas y/o masculinas, quienes podrían desarrollar cáncer al infectarse con VPH de AR⁷.

Los virus VHS-1 y VHS-2, son causantes de úlceras genitales recurrentes, pero muchas veces son asintomáticos³. Además, su infección facilita la adquisición y transmisión del virus de inmunodeficiencia adquirida (VIH)⁸.

Por otro lado, *C. trachomatis* es responsable de la ITS bacteriana más común en el mundo¹. En el hombre se asocia a uretritis, epididimitis y prostatitis³. En cambio, en la mujer participa en el desarrollo de uretritis, cervicitis,



enfermedad inflamatoria pélvica (EIP), embarazo ectópico e infertilidad⁹.

Mycoplasma genitalium es una bacteria asociada con uretritis, cervicitis, endometritis, EIP y un alto riesgo de transmisión de VIH¹⁰. En el hombre es causante de uretritis, prostatitis y su relación con infertilidad aún no es clara¹¹. En el caso de *M. hominis*, en hombres se asocia a uretritis y en mujeres a cervicitis, EIP y vaginosis bacteriana principalmente¹².

Otro microorganismo asociado a uretritis y a otras inflamaciones del tracto urogenital es *U. urealyticum*; sin embargo, aún no está definida su relación con infertilidad¹².

Dentro de los factores de riesgo para contraer estas infecciones se encuentran: el número de parejas sexuales, el número de parejas sexuales de la pareja, uso de preservativos, consumo de alcohol y otras drogas, nivel educacional y nivel socioeconómico, entre otros³.

Muchas veces puede existir co-infección entre estos patógenos, lo que potencia el desarrollo de la enfermedad relacionada con uno o más agentes etiológicos¹³. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue detectar agentes infecciosos asociados a ITS en un grupo de hombres sintomáticos mediante biología molecular y relacionarlos con su comportamiento sexual.

Metodología

Pacientes

En el presente estudio participaron 20 hombres, con un rango de edad de 18 a 66 años, siendo el promedio de 33,8 años. Estas personas asistieron al Policlínico de Dermatología del Hospital Hernán Henríquez Aravena, Temuco, Chile, entre los años 2005 y 2006. Clínicamente, los individuos consultaron por presentar sintomatología

presuntiva de una ITS, como adenopatía inguinal, condiloma y/o erosión genital, flujo uretral purulento, test VDRL alterado o uretritis. Los participantes firmaron un consentimiento informado antes de la toma de muestra, aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de La Frontera, quién revisó y autorizó la ejecución de esta investigación. Además, a los participantes se les solicitó que contestaran una encuesta a fin de conocer sus hábitos sexuales.

Muestras clínicas

La toma de muestra fue realizada por el médico tratante (Dermatólogo). Este procedimiento consistió en recolectar células exfoliadas del pene en tres zonas distintas: el cuerpo del pene, el surco coronal y, en el caso de que presentaran una lesión visible, también se recolectó una muestra de esa área, utilizando una tórula de algodón estéril para todas las zonas. Cada tórula fue depositada en 1 mL de tampón de lisis pH 7,4 (Tris 0,01 M pH 7,8; EDTA 0,05 M pH 8,0; SDS 0,5%).

Extracción de ADN

A las muestras se les extrajo ADN, mediante un método manual descrito previamente¹⁴. Brevemente, las proteínas fueron precipitadas con acetato de amonio 5 M pH 7,5 y el ADN con isopropanol. Posteriormente, el ADN obtenido se lavó con etanol 70% y se resuspendió en agua destilada estéril. El ADN fue almacenado a -80 °C para evitar su degradación. La calidad del ADN extraído fue verificada mediante cuantificación en espectrofotómetro NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, U.S.A) donde se obtuvieron coeficientes de pureza A280/260 superiores a 1,8. Además, para evaluar la integridad del ADN se realizó una RPC dirigida al gen constitutivo β-globina (268 pb).

RPC en tiempo real cuantitativa (qPCR)

La detección del ADN de VHS 1 y 2, *M. hominis*, *M. genitalium*, *U. urealyticum* y *C. trachomatis* se realizó mediante RPC cuantitativa en tiempo real, la que fue ejecutada en forma independiente y específica para cada microorganismo. Para ello se utilizó el kit Brilliant II SYBR® Green QPCR Master Mix with ROX (Agilent Technologies, CA, USA). Los partidores se usaron en una concentración final de 0,2 μM (Tabla 1). A la mezcla de RPC se le agregó 1 μL de ADN por muestra, para obtener un volumen final de 20 μL. Como controles positivos se emplearon controles comerciales de cada microorganismo estudiado (Amplirun®. Vircell, Granada, España). Como control negativo se utilizó ADN genómico humano comercial en una dilución 1:50 (Novagen®, Madison, WI, USA) y para el control blanco se adicionó agua en lugar de ADN.

La RPC cuantitativa en tiempo real se realizó en el

Tabla 1. Partidores específicos utilizados en el estudio

Micro-organismo	Blanco	Fragmento (pb)	Secuencia (5'→3')
Herpesvirus humano 1	Gen ADN polimerasa	181	For TGCCAAGCTGACGGACATTT Rev GAGAGCTTGATCTTGTCGGTT
Herpesvirus humano 2	Gen glicoproteína I y glicoproteína E	195	For TGTTTCTGGGCAGCTGTATC Rev CTATCGACGTTAGGGAAGGCAT
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Gen proteína principal de la membrana externa	203	For TCAAGGAGTGGAGTGTCTGCGTA Rev TGTCGCTCCGATGCAGATGTTT
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Gen 16S ARN ribosomal	182	For GCAGGCGGGTTTGTAAAGTTTGGA Rev AGCCTAAGCGTCAGTGATAGTCCA
<i>Mycoplasma hominis</i>	Gen 16S ARN ribosomal	159	For TGGAAGAATCACTGACGCAGCTAAC Rev TGCGAAGGATGTCAAGAGTGGGTA
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Proteína ribosomal S3 30S	189	For TAGGCCATTACTGACGCTTACGCT Rev GTCCCGTCAATCCGTTTGAGTT



termociclador de tiempo real Mx3000P (Stratagene, CA, USA). El programa utilizado fue el siguiente: un ciclo 95 °C por 10 min, 40 ciclos de 95 °C por 30 seg, 56 °C por 30 seg y 72 °C por 30 seg. Finalmente, se realizó un ciclo para la curva de disociación con tres pasos de 95 °C por 1 min, 55 °C por 30 seg y 95 °C por 30 seg.

Detección y tipificación de VPH

Se llevó a cabo mediante la técnica *reverse line blot* (RLB), según la metodología descrita por Guzmán y cols., 2008¹⁴. Brevemente, se realizó la amplificación de un fragmento de 150 pb del gen L1 de VPH, utilizando los partidores GP5+ y GP6+ previamente descritos. Adicionalmente, el fragmento GP6+ se marcó con biotina para así obtener productos de RPC que, al ser hibridados con oligosondas complementarias a cada genotipo viral en una membrana de Biodin C, pudiesen ser detectados mediante quimioluminiscencia¹⁵. Como controles positivos se utilizaron plásmidos correspondientes a cada tipo viral obtenidos desde la ATCC® (American Type Culture Collection) o donados por el Dr. Peter. Snijders.

Análisis estadísticos

Las tablas de contingencia de los agentes infecciosos y los datos obtenidos en la encuesta fueron analizados mediante un test estadístico de χ^2 de Pearson, con un intervalo de confianza de 95%. Fue considerado como significativo un $p < 0,05$. Para estos análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 20 (SPSS Inc., Chicago, IL).

Resultados

Un total de veinte hombres sintomáticos de ITS participaron en este estudio y su promedio de edad fue de 33,8 años. Respecto a la detección de los agentes infecciosos, en 50% de las muestras se detectó sólo un agente, mientras que en 35% se logró detectar dos patógenos, como se observa en la Tabla 2. En una menor proporción, se identificó la presencia de 3 y 4 microorganismos, representando 10 y 5% de las muestras, respectivamente.

El patógeno más frecuente fue VPH, siendo detec-

Tabla 2. Parámetros clínico-patológicos de los individuos analizados y agentes detectados en muestras genitales

n de muestra	Edad	Condición clínica	VPH	Tipo de VPH		Agentes Infecciosos						
				BR	AR	VHS-1	VHS-2	CT	MG	MH	UU	
1	26	Adenopatía	+	70,81	16,18	-	-	-	-	-	-	-
2	33	Condiloma	+	11,83	16	-	-	+	-	-	-	-
3	19	Condiloma	+	6,11,70	16	-	-	-	-	-	-	-
4	23	Condiloma	+	6	16,18,31	-	-	-	-	-	-	-
5	51	Condiloma	+	6,70	16, 58	-	-	-	-	-	-	-
6	33	Condiloma	+	11,70,81	16,45,66	-	-	-	+	-	-	-
7	26	Condiloma	+	6	-	-	-	-	-	-	-	+
8	33	Condiloma	+	11,70,72	16,45	-	-	-	-	-	-	-
9	29	Condiloma	+	6,11,43, 81	16,51,66	-	-	-	-	-	-	-
10	33	Condiloma	+	11	16,51	-	-	+	-	-	-	-
11	45	Condiloma	+	6	16,66	-	-	-	-	-	-	-
12	53	Condiloma	+	11	-	-	-	-	-	+	+	+
13	66	Erosión genital	+	-	16,18,52, 59	-	+	-	-	-	-	-
14	20	Gonorrea	+	70,81	16	-	-	-	-	-	-	+
15	41	Gonorrea	+	11,70,81	16	+	-	-	-	+	+	+
16	59	Gonorrea	+	-	16,18,35, 39	-	-	+	-	-	-	-
17	18	Test VDRL alterado	+	11,70,81	16,18,39	-	-	-	-	-	-	-
18	18	Uretritis	+	70,81	16,18	-	-	-	-	-	-	-
19	25	Uretritis	+	-	16,18,35	-	-	-	-	+	+	+
20	24	Uretritis	+	11,70,81	16,18,39	-	-	-	-	-	-	-

VPH: Virus papiloma humano, BR: bajo riesgo, AR: alto riesgo. VHS-1: Virus herpes simplex tipo 1. VHS-2: Virus herpes simplex tipo 2. Test VDRL: Venereal disease research laboratory test. CT: *Chlamydia trachomatis*. MG: *Mycoplasma genitalium*. MH: *Mycoplasma hominis*. UU: *Ureaplasma urealyticum*.



tado en 100% (20/20) de las muestras analizadas. Es importante señalar que en 90% (18/20) de los casos, se encontró infección por dos o más genotipos de VPH en forma simultánea, en los que siempre se identificó la presencia de un genotipo de alto riesgo oncogénico. Por otra parte, en dos muestras se encontró ADN de un sólo genotipo de VPH, y en ambos casos se trató de un genotipo de bajo riesgo oncogénico (6 o 11), lo que estaba asociado con el diagnóstico de condiloma que poseían estos dos participantes. El genotipo de alto riesgo oncogénico más frecuente fue VPH 16 (90%), seguido por VPH 18 (40%). En cuanto a los genotipos de bajo riesgo oncogénico, los más frecuentemente detectados fueron VPH 11 y VPH 70, ambos presentes en 50% de los casos.

Por otro lado, *U. urealyticum* se encontró en 25% de los casos, mientras que *C. trachomatis* y *M. hominis* fue detectado en 15% de las muestras. En el caso de VHS-1, VHS-2 y *M. genitalium*, fueron detectados en una baja proporción (5% de los casos para cada uno) (Tabla 2).

En relación a la encuesta, ésta fue contestada por 19 de los 20 individuos en estudio. Estos resultados se reflejan detalladamente en la Tabla 3, donde se describe los microorganismos asociados con cada parámetro de la encuesta realizada a los participantes. Brevemente, en este grupo, 58% de los hombres había cursado enseñanza media, 63% eran solteros, 79% ingería alcohol y 89% de ellos tenía hábito tabáquico. Respecto a algunos datos sobre la conducta sexual, destaca que 89% de los hombres eran heterosexuales, 53% tuvo su primera relación sexual entre los 15-20 años, 73% nunca usa preservativo con su pareja habitual, 89% no ha tenido relaciones con prostitutas, 89% siempre realiza aseo genital después de tener relaciones sexuales y 53% no ha presentado verrugas genitales previamente. Si bien, se realizó una prueba estadística para asociar los antecedentes encuestados con la presencia o ausencia de agentes de ITS, debido al número de casos analizados (n: 19) el poder estadístico de la χ^2 de Pearson no fue suficiente para encontrar asociaciones significativas fiables entre las variables analizadas.

Discusión

En este trabajo se utilizó RPC cuantitativa en tiempo real (VHS-1, VHS-2, *C. trachomatis*, *M. genitalium*, *M. hominis* y *U. urealyticum*) y RPC seguida de *reverse line blot* (VPH) para la detección de agentes asociados a ITS. Éstas son técnicas de alta sensibilidad y especificidad, lo que facilita la detección en muestras con poca cantidad de ADN¹⁶. Además, *reverse line blot* es una técnica que ha sido muy aplicada para tipificar, ya que se pueden detectar los distintos tipos del virus en una sola reacción²⁷. Por otra

parte, se utilizaron muestras de exfoliado celular del pene, las cuales se pueden obtener fácilmente con tómulas y por medio de un protocolo simple de extracción es posible obtener ADN. Este tipo de muestra ha sido recomendada para la detección de agentes infecciosos como el VPH¹⁷. Otros tipos de muestra desde donde es posible la detección de patógenos asociados a ITS en el hombre, incluyen muestras de orina, de semen y secreción uretral¹⁷.

En el presente trabajo, se pudo determinar que la mitad de los hombres estudiados presentaba dos o más agentes infecciosos, siendo más frecuente VPH, el que se encontró en todos los casos, seguido de *U. urealyticum*, *C. trachomatis* y *M. hominis*. Un estudio de población mixta, donde 51% de los participantes eran varones (n: 870), realizó RPC cuantitativa en tiempo real en muestras uretrales para detectar seis microorganismos causantes de ITS: *C. trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *M. genitalium*, *U. urealyticum* y *Ureaplasma parvum*. Se determinó que 33% de los hombres (n: 333) fueron positivos para la detección de alguno de los patógenos. De estos casos positivos, 91% se trató de una infección por un solo agente, 8% tuvo una doble infección y sólo 1% tuvo triple infección. *Ureaplasma parvum* fue el microorganismo prevalente con 18% de los casos¹⁸. En otro estudio mixto, se realizó RPC cuantitativa en tiempo real múltiple de siete microorganismos asociados a ITS, *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis*, *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum* y *U. parvum*. Se utilizaron muestras de orina de 510 hombres, tanto sintomáticos como asintomáticos. Del total de estas muestras, 61,2% fue negativo, 26,5% presentó sólo un patógeno y sólo en 12,4% se detectaron dos o más. El microorganismo más frecuente fue *U. parvum* (17,1%), seguido de *U. urealyticum* (13,9%) y *C. trachomatis* (11%)¹⁹. Otra investigación de población mixta, evaluó la presencia de *C. trachomatis*, *M. genitalium* y *N. gonorrhoeae* con RPC cuantitativa en tiempo real múltiple. Se utilizaron muestras uretrales de un grupo de 260 hombres (236 asintomáticos y 24 sintomáticos). Sólo 1,92% (5/260) de los casos presentó infección múltiple. En hombres asintomáticos el agente infeccioso más común fue *C. trachomatis* (8,1%), mientras que en sintomáticos fue *N. gonorrhoeae*²⁰. En general, los microorganismos más frecuentemente encontrados en otras investigaciones concuerdan con los detectados en el presente estudio. De hecho, los microorganismos del género *Ureaplasma* son los que presentan el mayor número de casos de infección seguido por *C. trachomatis* y el género *Mycoplasma*.

En relación a VPH, en este grupo de hombres sintomáticos, fue identificado en 100% de las muestras genitales, de las que 11 provenían de pacientes con condiloma, lesión característica. En un estudio realizado en Chile, en hombres estudiantes sanos (n: 62), se identificó a 84% de casos positivos para VPH, utilizando la misma



Tabla 3. Características socioeconómicas y de comportamiento sexual según los distintos agentes infecciosos asociados a ITS

	Total n (%)**	Bajo riesgo (%)	VPH Alto riesgo (%)	Mixto (%)	VHS 1 y 2 (%)	<i>C. trachomatis</i> (%)	<i>Mollicutes</i> (%)
Escolaridad*							
Básica	3 (16%)	0 (0%)	1 (5%)	2 (11%)	1 (5%)	0 (0%)	1 (5%)
Media	11 (58%)	1 (5%)	2 (11%)	8 (42%)	1 (5%)	1 (5%)	2 (11%)
Superior	3 (16%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (16%)	0 (0%)	1 (5%)	2 (11%)
Estado civil							
Soltero	12 (63%)	1 (5%)	1 (5%)	10 (53%)	1 (5%)	1 (5%)	4 (21%)
Casado	7 (37%)	1 (5%)	2 (11%)	4 (21%)	1 (5%)	1 (5%)	2 (11%)
Ingesta de alcohol							
No	4 (21%)	0 (0%)	2 (11%)	2 (11%)	1 (5%)	1 (5%)	6 (32%)
Sí	15 (79%)	2 (11%)	1 (5%)	12 (63%)	1 (5%)	1 (5%)	0 (0%)
Hábito tabáquico							
No	8 (42%)	1 (5%)	2 (11%)	5 (26%)	1 (5%)	2 (11%)	5 (26%)
Sí	11 (58%)	1 (5%)	1 (5%)	9 (47%)	1 (5%)	0 (0%)	1 (5%)
Antecedentes de ITS							
No	17 (89%)	2 (11%)	3 (16%)	12 (63%)	1 (5%)	2 (11%)	4 (21%)
Sí	2 (11%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (11%)	1 (5%)	0 (0%)	2 (11%)
Orientación sexual							
Heterosexual	17 (89%)	2 (11%)	3 (16%)	12 (63%)	2 (11%)	2 (11%)	5 (26%)
Homosexual	2 (11%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (11%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)
Bisexual	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Edad de la primera relación sexual							
< 15 años	2 (11%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (11%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)
15-20 años	16 (84%)	2 (11%)	3 (16%)	11 (58%)	2 (11%)	2 (11%)	5 (26%)
> 20 años	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Desconocido	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
n de parejas sexuales durante su vida							
1-5 parejas	7 (37%)	1 (5%)	0 (0%)	6 (32%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (11%)
6-20 parejas	10 (53%)	1 (5%)	3 (16%)	6 (32%)	2 (11%)	2 (11%)	3 (16%)
> 20 parejas	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)
Desconocido	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
n de parejas sexuales durante el último año							
0 parejas	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
1 pareja	9 (47%)	1 (5%)	2 (11%)	6 (32%)	2 (11%)	0 (0%)	2 (11%)
2 o más parejas	9 (47%)	1 (5%)	1 (5%)	7 (37%)	0 (0%)	2 (11%)	4 (21%)
n de parejas sexuales en un mismo mes							
0 parejas	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
1 pareja	15 (79%)	2 (11%)	2 (11%)	11 (58%)	2 (11%)	1 (5%)	5 (26%)
2 o más parejas	3 (16%)	0 (0%)	1 (5%)	2 (11%)	0 (0%)	1 (5%)	1 (5%)
n de parejas sexuales de su pareja habitual							
1 pareja	10 (53%)	2 (11%)	1 (5%)	7 (37%)	1 (5%)	1 (5%)	5 (26%)
2-3 parejas	4 (21%)	0 (0%)	1 (5%)	3 (21%)	1 (5%)	1 (5%)	0 (0%)
4 parejas	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Desconocido	5 (26%)	0 (0%)	1 (11%)	4 (21%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)
Uso de preservativo con la pareja habitual							
Nunca	14 (73%)	1 (5%)	3 (16%)	10 (53%)	2 (11%)	2 (11%)	4 (21%)
Ocasionalmente	3 (16%)	1 (5%)	0 (0%)	2 (11%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (11%)
Siempre	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Desconocido	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Relaciones sexuales con prostitutas							
No	17 (89%)	2 (11%)	3 (21%)	12 (63%)	2 (11%)	2 (11%)	6 (32%)
Sí	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Desconocido	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Uso de preservativos con prostitutas							
No	1 (5%)	N. A.	N. A.	1 (5%)	N. A.	N. A.	N. A.
Sí	0 (0%)	N. A.	N. A.	0 (0%)	N. A.	N. A.	N. A.
Desconocido	0 (0%)	N. A.	N. A.	0 (0%)	N. A.	N. A.	N. A.
Aseo genital después de la relación sexual							
Nunca	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Ocasionalmente	2 (11%)	0 (0%)	1 (5%)	1 (5%)	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)
Siempre	16 (84%)	2 (11%)	2 (11%)	12 (63%)	1 (5%)	2 (11%)	6 (32%)
Circuncidado*							
No	7 (37%)	2 (11%)	3 (16%)	2 (11%)	2 (11%)	1 (5%)	5 (5%)
Sí	11 (58%)	0 (0%)	0 (0%)	11 (58%)	0 (0%)	1 (5%)	0 (0%)
Higiene genital*							
Nula	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Escasa	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Buena	17 (89%)	1 (5%)	3 (16%)	13 (68%)	2 (11%)	2 (11%)	5 (26%)
Lesiones genitales verrugas*							
No	10 (53%)	0 (0%)	3 (16%)	7 (37%)	2 (11%)	1 (5%)	3 (16%)
Sí	7 (37%)	1 (5%)	0 (0%)	6 (32%)	0 (0%)	1 (5%)	2 (11%)

Mollicutes: *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*. *Ítem sin contestar por uno o más encuestados. N.A.: no aplica. **Un individuo puede tener uno o más microorganismos infectantes.



metodología y el mismo tipo de muestra¹⁴. En otro estudio con jóvenes universitarios de 18 a 20 años, la incidencia de VPH fue de 62,4%, determinada en muestras genitales por RPC⁷. Por otro lado, utilizando captura híbrida en 204 hombres jóvenes asintomáticos con un promedio de edad de 22,5 años, se obtuvo una tasa de incidencia de 5,9% en muestra de exfoliado genital²². También, en muestras genitales colectadas por personal clínico y por los mismos individuos, se observó una prevalencia de 69,8 y 55,3% de VPH, respectivamente, utilizando el test basado en RPC, Roche Amplicor® HPV²³. El VPH es el patógeno prevalente en el mundo²¹, por lo tanto, es esperable que sea el agente infeccioso más frecuente en este estudio, ya que fue detectado en individuos con sintomatología de ITS.

En cuanto a la tipificación de VPH, se identificó 46,8% de genotipos de BR (VPH 11, 79 y 81) y 56,2% de AR (VPH 16 y 18). En estudiantes universitarios, analizados de manera similar, se reportó 30% de VPH de BR (VPH 6 y 11) y 70% de AR (VPH 16 y 18)¹⁴. En otro grupo de 2.621 hombres, a partir de muestras genitales analizadas por RPC y por *linear array assay* (LAA) para tipificar VPH, la prevalencia de los genotipos de BR de VPH 6 y 11 fue de 6,6% y 1,3%, mientras que para los de VPH de AR 16 y 18 fue de 8,4 y 2,3%, respectivamente²⁸. Además, en los 20 individuos analizados en la presente investigación se encontró que en 80% de ellos, estaba presente una infección de VPH con múltiples genotipos. Otros estudios han reportado infecciones múltiples en 32,3%²⁸.

El segundo patógeno más frecuente fue *U. urealyticum* estando presente en cinco muestras (25%). Dos de cinco muestras positivas provenían de individuos consultando por diagnóstico presuntivo de gonorrea, mientras que uno consultó por uretritis. Esto se asocia a la sintomatología de uretritis no gonocócica, que es característica de estos microorganismos. En otro estudio, usando muestras uretrales, analizadas con RPC cuantitativa, este microorganismo fue detectado en 18%¹⁸. En muestras de semen de hombres infértiles esta bacteria ha sido identificada en 9% de los casos, utilizando RPC convencional²⁴.

En relación a los otros agentes infecciosos como *C. trachomatis*, ésta fue detectada en 15% de los hombres sintomáticos, quienes consultaron por condiloma y gonorrea; en este caso, esta bacteria se encontraba presente sin presentar síntomas de infección. En otro estudio realizado en hombres con uretritis, este microorganismo fue encontrado en 15,6% de ellos²⁵. En contraste, en hombres asintomáticos, la tasa de incidencia reportada ha sido de 3,4%, en muestras similares²². Además, en muestras uretrales se ha reportado 5,9% de casos positivos¹⁸.

En cuanto a *M. hominis*, esta bacteria fue identificada en 15% de las muestras de individuos con diagnóstico presuntivo de condiloma, gonorrea y uretritis no gonocócica. Dentro de los síntomas causados por *M. hominis* se encuentra uretritis lo cual se asociaría al diagnóstico de

dicho microorganismo. En otros estudios se ha reportado una prevalencia de 6% de *M. hominis* en hombres infértiles y en 4,9% en hombres fértiles, a partir de muestras de semen²⁶, y de 3,1% a partir de muestras de orina de hombres sintomáticos y asintomáticos¹⁹. *Mycoplasma genitalium* en este estudio, sólo fue detectado en una muestra de un paciente con diagnóstico de condiloma. Sin embargo, se ha determinado en hombres sintomáticos una prevalencia de 15,5%²⁵. Mientras que en un grupo de hombres y mujeres, la prevalencia detectada ha sido de 0,8%¹⁸. También, se ha reportado en un rango de 0 a 47,5% de casos positivos. Esto depende de distintos factores tales como el tipo de muestra y metodología de la detección, entre otros¹¹. De la misma manera, en el presente trabajo, VHS-1 se encontró presente en un solo caso (5%) proveniente de un paciente que consultó por gonorrea. El VHS-2 estaba presente en una muestra (5%) de un paciente con erosión genital, tipo de lesión asociada a este virus.

Los resultados del presente estudio y de los estudios detallados anteriormente, muestran diferencias, que se justifican por las distintas metodologías empleadas para la detección de agentes infecciosos, tales como las características de la población estudiada, el número de participantes, el tipo de muestra recolectada, la técnica utilizada y los partidores usados.

Por otro lado, en este estudio el número de participantes fue exiguu, lo que limitó el análisis de significancia estadística y la relación del comportamiento sexual de los individuos con la presencia de uno más agentes infecciosos. Así mismo, los resultados obtenidos se verían enriquecidos con un grupo control de hombres asintomáticos que complementa el mismo tipo de estudio. Por otro lado, la metodología empleada estuvo acorde con los objetivos del estudio y al tipo de muestra utilizada; sin embargo, llevar a cabo una detección simultánea de todos los agentes infecciosos sería beneficioso al reducir el tiempo de ejecución de la detección, sobre todo si se considera aumentar el número de participantes.

En conclusión, mediante técnicas de biología molecular sensibles y específicas, como RPC cuantitativa en tiempo real y RPC seguida de *reverse line blot*, se detectaron agentes infecciosos asociados a ITS en hombres sintomáticos, siendo VPH el patógeno más frecuente y encontrándose en múltiples genotipos en muestras de exfoliado celular del pene. Si bien, el grupo evaluado en este estudio fue reducido y sólo incluyó hombres con sintomatología de ITS, la información obtenida es útil, debido a la alta frecuencia de microorganismos que en forma rutinaria no se detectan. Se plantea así la necesidad de investigaciones que abarquen un grupo de estudio de mayor tamaño y diverso, con el objetivo de determinar la presencia de estos y otros agentes de ITS en la población masculina chilena y relacionarlos con su



comportamiento sexual, identificando grupos de riesgos que justifiquen metodologías de tamizaje y seguimiento de la infección.

Resumen

Introducción: Las infecciones de transmisión sexual (ITS) afectan la salud sexual y reproductiva de millones de hombres. Patógenos como virus papiloma humano (VPH), virus herpes simplex (VHS-1 y VHS-2), *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* están asociados a ITS. **Objetivo:** Detectar patógenos asociados a ITS en hombres sintomáticos y relacionarlos con su conducta sexual. **Metodología:** Se obtuvo ADN de exfoliado

celular del pene de 20 hombres sintomáticos de ITS. Los patógenos fueron detectados por RPC cuantitativa o RPC seguida de *reverse line blot*. La conducta sexual se evaluó mediante una encuesta. **Resultados:** En 50% de las muestras se detectaron dos o más agentes infecciosos; *U. urealyticum* fue detectado en 25% de los casos, mientras que *C. trachomatis* y *M. hominis* en 15%. VHS-1, VHS-2 y *M. genitalium* sólo en 5%. VPH se encontró en todas las muestras y los genotipos más frecuentes fueron VPH 16, 11, 70. No se encontró relación estadística entre los microorganismos estudiados y la conducta sexual de los encuestados. **Conclusión:** Se detectaron agentes infecciosos asociados a ITS en hombres sintomáticos, siendo VPH el más frecuente y encontrándose en múltiples genotipos. Es necesario aumentar el tamaño de muestra para asociar significativamente la conducta sexual a los resultados.

Referencias bibliográficas

- World Health Organization. Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections-2008: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. 2012.
- Gibson E J, Bell D L, Powerful S A. Common sexually transmitted infections in adolescents. *Prim Care*. Elsevier Inc; 2014 Sep [citado el 29 de agosto de 2014]; 41 (3): 631-50. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25124210>
- Markle W, Conti T, Kad M. Sexually transmitted diseases. *Prim Care* 2013; 40: 557-87.
- Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2012: Department of Health and Human Services. 2012.
- Muñoz N, Bosch F X, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah K V, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003 Feb 6; 348 (6): 518-27. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18248389>.
- Tota J E, Chevarie-Davis M, Richardson L A, Devries M, Franco E L. Epidemiology and burden of HPV infection and related diseases: implications for prevention strategies. *Prev Med (Baltim)*. Elsevier B.V.; 2011 Oct [citado el 12 de octubre de 2012]; 53 Suppl 1: S12-21. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21962466>.
- Partridge J M, Hughes J P, Feng Q, Winer R L, Weaver B A, Xi L-F, et al. Genital human papillomavirus infection in men: incidence and risk factors in a cohort of university students. *J Infect Dis* 2007 Oct 15 [citado el 30 de octubre de 2012]; 196 (8): 1128-36. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17955430>
- Van de Perre P, Segondy M, Foulongne V, Ouedraogo A, Konate I, Huraux J, et al. Herpes simplex virus and HIV-1: deciphering viral synergy. *Lancet Infect Dis* 2008; 8: 490-7.
- Peipert J. Clinical practice. Genital chlamydial infections. *N Engl J Med* 2003; 349: 2424-30.
- Walker J, Fairley C K, Bradshaw C S, Tabrizi S N, Chen M Y, Twin J, et al. "The difference in determinants of *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma genitalium* in a sample of young Australian women". *BMC Infect Dis BioMed Central Ltd*; 2011 Jan [citado el 26 de mayo de 2013]; 11 (1): 35. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3038161&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Daley G, Russell D, Tabrizi S, McBride J. *Mycoplasma genitalium*: a review. *Int J STD AIDS*. 2014; 25 (7): 475-87.
- Hartmann M. Genital mycoplasmas. *J Dtsch Dermatol Ges* 2009 Apr [citado el 28 de agosto de 2014]; 7 (4): 371-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19500195>
- Choudhry S, Ramachandran V, Das S, Bhattacharya S, NS M. Characterization of patients with multiple sexually transmitted infections: A hospital-based survey. *Indian J Sex Transm Dis* 2010; 31 (2): 87-91.
- Guzmán P, Ili C, Rifo P, Briceño G, Araya J, Villaseca M, et al. Prevalence of human papillomavirus genital infection among male university students. *Rev Med Chile* 2008 Nov; 136 (11): 1381-9. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872008001100003&Ing=en&nrm=iso&tlng=en
- van den Brule A J C, Pol R, Franssen-daalmeijer N, Schouls L M, Meijer C J L M, Snijders P J F. GP5+/6+ PCR followed by reverse line blot analysis enables rapid and high-throughput identification of human papillomavirus genotypes. *J Clin Microbiol* 2002; 40 (3): 779-87.
- Espy M J, Uhl J R, Sloan L M, Buckwalter S P, Jones M F, Vetter E A, et al. Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19 (1): 165-256.
- Silva R, León D, Brebi P, Ili C, Roa J C, Sánchez R. Diagnóstico de la infección por virus papiloma humano en el hombre. *Rev Chilena Infectol* 2013; 30 (2): 186-92.
- Jalal H, Delaney A, Bentley N, Sonnex C, Carne C A. Molecular epidemiology of selected sexually transmitted infections. *Int J Mol Epidemiol Genet* 2013 Jan; 4 (3): 167-74. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3773568&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Choe H-S, Lee D S, Lee S-J, Hong S-H, Park D C, Lee M-K, et al. Performance of AnyplexTM II multiplex real-time PCR for the diagnosis of seven sexually transmitted infections: comparison with currently available methods. *Int J Infect Dis* 2013 Dec [citado el 14 de agosto de 2014]; 17 (12): e1134-40. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24095619>
- Le Roy C, Le Hen I, Clerc M, Arfel V, Normandin F, Bébéar C, et al. The first performance report for the Bio-Rad Dx CT/NG/MG assay for simultaneous detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Mycoplasma genitalium* in urogenital samples. *J Microbiol Methods*. Elsevier B.V.; 2012 Jun [citado el 29 de agosto de 2014]; 89 (3): 193-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22446590>
- Dunne E F, Nielson C M, Stone K M, Markowitz L E, Giuliano A R. Prevalence of HPV infection among men: A systematic review of the literature. *J Infect Dis* 2006 Oct 15; 194 (8): 1044-57. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16991079>
- Takahashi S, Takeyama K, Miyamoto S,



- Ichihara K, Maeda T, Kunishima Y, et al. Incidence of sexually transmitted infections in asymptomatic healthy young Japanese men. *J Infect Chemother* 2005 Dec [Citado 2012 Oct 9]; 11 (6): 270-3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16369732>
- 23.- Ogilvie G S, Taylor D L, Achen M, Cook D, Kraiden M. Self-collection of genital human papillomavirus specimens in heterosexual men. *Sex Transm Infect* 2009 Jun [citado el 29 de agosto de 2014]; 85 (3): 221-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19066196>.
- 24.- Zeighami H, Peerayeh S N, Yazdi R S, Sorouri R. Prevalence of *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* in semen of infertile and healthy men. *Int J STD AIDS* 2009 Jun; 20 (6): 387-90. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19451322>.
- 25.- Pond M J, Nori A V, Witney A A, Lopeman R C, Butcher P D, Sadiq S T. High prevalence of antibiotic-resistant *Mycoplasma genitalium* in nongonococcal urethritis: the need for routine testing and the inadequacy of current treatment options. *Clin Infect Dis* 2014 Mar [citado el 27 de mayo de 2014]; 58 (5): 631-7. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3922211&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- 26.- Liu J, Wang Q, Ji X, Guo S, Dai Y, Zhang Z, et al. Prevalence of *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* infections, and semen quality in & nbsp; infertile and fertile men in China. *Urology*. Elsevier Inc.; 2014; 83 (4): 795-9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.urology.2013.11.009>.
- 27.- Gravitt P E, Peyton C L, Apple R J, Wheeler C M. Genotyping of 27 human papillomavirus types by using L1 consensus PCR products by a single-hybridization, reverse line blot detection method. *J Clin Microbiol* 1998 Oct; 36 (10): 3020-7. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=105104&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- 28.- Repp K K, Nielson C M, Fu R, Schafer S, Lazcano-Ponce E, Salmerón J, et al. Male human papillomavirus prevalence and association with condom use in Brazil, Mexico, and the United States. *J Infect Dis* 2012 Apr 15 [citado el 9 de octubre de 2012]; 205 (8): 1287-93. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22396601>.