

Infección múltiple por genotipos del Virus de Papiloma Humano en pacientes que acuden a consulta privada del Municipio Naguanagua

Osmarys Mena¹, Adrián Herrera², Yoseila Pérez¹, Oscar Colmenares¹, Roan Valera²

RESUMEN

El Virus de Papiloma Humano (VPH) representa una de las enfermedades de transmisión sexual más frecuente, según su riesgo oncológico es clasificado de alto y bajo riesgo, siendo los primeros posibles carcinógenos para el ser humano. La mayoría de las pacientes expuestas expresan un solo genotipo, pero se han encontrado casos donde coexisten dos o más subtipos, lo cual podría traducirse en un riesgo mayor de desarrollar cáncer cervical. Se propuso la revisión de los casos con diagnóstico citológico y anatomopatológico positivo de infección por VPH, con positividad a la PCR (reacción en cadena de la polimerasa). Se evaluaron 950 pacientes a las que se les realizó PCR de cuello uterino por hisopado o tejido cervical. Se concluye que de la totalidad de la muestra estudiada 99% fueron PCR positivas al VPH ($p < 0,01$), 50% tenían genotipo considerado de alto riesgo oncogénico, 15% de ellas expresaron infección múltiple por dos o más cepas (31 y 6, la más frecuente), y sólo una de las pacientes presentó positividad al 31, 45 y 6, con cambios epiteliales compatibles a LIE (Lesión intraepitelial) de alto grado. La tipificación por PCR en combinación con el estudio anatomopatológico, son importantes pruebas complementarias en el diagnóstico de la enfermedad, ya que, permiten determinar la gravedad de la misma al precisar su riesgo oncogénico dependiendo del genotipo de VPH detectado en relación con el tipo de lesión histológica observada.

Palabras clave: Virus de papiloma humano, PCR, genotipos.

ABSTRACT

Multiple genotypes infection Human Papilloma Virus in patients attending private practice of the municipality Naguanagua

The Human Papilloma Virus (HPV) is one of the most common diseases of sexual transmission, according to the cancer risk is classified high and low risk, with the first possibly carcinogenic to humans. Most patients exposed express a single genotype but found cases where there are two or more subtypes, which could lead to an increased risk of developing cervical cancer. The review of cases with positive cytologic diagnosis and pathology of HPV infection, with positivity to PCR (polymerase chain reaction) was proposed. The 950 patients who underwent PCR cervix or swabbing the cervix are evaluated. We conclude that the entire sample studied 99% were positive for HPV ($p < 0.01$), 50% had genotype PCR considered high oncogenic risk, 15% of them expressed multiple infection by two or more strains (31 and 6 the most common), and only one of the patients had positive 31, 45 and 6, epithelial changes compatible to LIE (intraepithelial lesion) high degree. For HPV typing by PCR in combination with pathologic examination, additional tests are important in diagnosing the disease as possible to determine the severity of it to clarify its oncogenic risk depending on the genotype HPV detected in relation to the type of histological lesions observed.

Key words: Virus HPV, PCR, genotypes.

INTRODUCCIÓN

El Virus de Papiloma Humano (VPH) se agrupa en diversos tipos de virus ADN pertenecientes a la familia de los *Papillomaviridae* y representa una de las infecciones de transmisión sexual más comunes y se conocen más de 100 tipos virales que en relación a su patogenia oncológica, y se clasifican en tipos de alto y de bajo riesgo oncogénico. Los tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 66 son carcinógenos para los humanos, clasificándolos como tipos de alto riesgo oncogénico y otros como el 6 y el 11 son posibles carcinógenos para los humanos, siendo considerados tipos de bajo riesgo oncogénico (1).

Afectan solamente el epitelio plano estratificado de piel y mucosas y algunos tipos de VPH como el 6 y 11 pueden causar verrugas o condilomas (2), mientras otros pueden generar infecciones subclínicas, las cuales en una minoría de casos derivarían en cáncer cervical, de vulva, vagina y ano en mujeres, o cáncer de ano y pene en hombres. La

¹ Departamento de Farmacología, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo.

² Cátedra de Obstetricia y Ginecología. Departamento Clínico Integral del Sur. Escuela de Medicina Sede Carabobo. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo.

Autor de Correspondencia: Osmarys Mena.

E-mail: osmarysmena@hotmail

Recibido: 16-03-2015 **Aprobado:** 04-11-2015

mayoría de las personas infectadas por VPH desconoce que lo está. Todos los VPH se transmiten por contacto directo de piel a piel (3). Algunos tipos de VPH transmitidos sexualmente y denominados de alto riesgo son diferentes de los que causan verrugas y pueden evolucionar y producir lesiones precancerosas y cáncer invasivo (4, 5).

En muchos países se utiliza el test cervical Papanicolaou, conocido como citología, para detectar células anormales que podrían evolucionar a carcinoma invasor. Un examen cervical por inspección visual también puede detectar verrugas y otros crecimientos anormales que aparecen como manchas blancas en la piel o mucosas cuando se lavan con ácido acético, pero su sensibilidad es muy baja. La técnica de PCR se utiliza para diagnosticar y tipificar a aquellas pacientes infectadas por VPH, siendo de mayor utilidad en los casos donde la citología o la biopsia no demuestren la infección por VPH, es decir, aquellas pacientes con resultados de Papanicolaou o biopsia que reportan procesos inflamatorios inespecíficos y en las pacientes con lesiones sospechosas de cuello uterino a la colposcopia (6).

La tipificación de VPH está concebida para su utilización como una prueba complementaria y en ningún caso como criterio único de diagnóstico. Sin embargo, en conjunto con los estudios citológicos e histológicos, es muy efectiva para predecir la progresión de las lesiones cervicales, diferenciando aquellos que significan un riesgo elevado o intermedio, de los que implican un riesgo bajo con relación al posible desarrollo de cáncer (7).

La infección por VPH parece ser la "causa fundamental" en la génesis del cáncer de cérvix, sin embargo la contribución de otros factores de riesgos asociados a la etiología de los tumores en esta localización no ha recibido la debida atención, teniendo en cuenta que sólo pocas mujeres infectadas con VPH desarrollan lesiones intraepiteliales de alto grado y carcinoma in situ. Numerosos estudios han abordado la estructura, el mecanismo de acción y el poder oncogénico de los diferentes tipos de VPH, incluso el riesgo puede incrementarse con el uso de hormonas para fines anticonceptivos (7).

Por otra parte, existen limitaciones en la utilidad de la serología para el estudio del VPH con fines clínicos, las cuales están asociadas con la gran variedad de subtipos humanos, con las infecciones múltiples que existen entre diversos genotipos, la diversidad de lesiones precursoras de cáncer y con los sitios blancos de infección. Asimismo, la expresión del VPH en las capas superficiales del epitelio dan origen a una débil presentación de antígenos virales por parte de las células inmunocompetentes, lo cual origina una modificación de la respuesta serológica. Distintos esfuerzos se han realizado en décadas previas para desarrollar ensayos serológicos más específicos y sensibles (8).

La tipificación del virus se realiza mediante la amplificación de regiones E6, E7 y L1 del genoma viral, comparando las diferencias mayores a 10% con otro genoma conocido, de manera que un subtipo o variante se define por una

diferencia génica entre 2-5% (9).

La infección por VPH, considerada como la enfermedad de transmisión sexual más frecuente en el mundo, presenta más de 100 subtipos del virus identificados, siendo aproximadamente 30 los asociados a lesiones anogenitales intraepiteliales e invasoras. De principal interés son los tipos considerados de alto riesgo oncogénico que, aunque son muchos, el 16 y 18 han sido vinculados al cáncer ginecológico y no ginecológico (9).

La determinación de la exposición al VPH a través del método de PCR constituye un estudio que provee información del subtipo o genotipo de virus asociado, cuyo valor predictivo se asocia a un riesgo estadístico de desarrollar o no carcinoma de cuello uterino. Dada esta posible asociación se realizó este estudio para determinar los subtipos de virus en las pacientes estudiadas con citologías positivas a infección por el virus, se hizo la biopsia de cuello uterino con los fines de obtener los datos anatomopatológicos de cada caso.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó una investigación de corte longitudinal, descriptiva y diseño no experimental, en una población conformada por 3.600 pacientes que acudieron durante los últimos 3 años (enero 2012 -marzo 2015) a la consulta ginecológica en un centro privado del municipio Naguanagua, estado Carabobo. Se incluyeron en el estudio, 950 pacientes con citología sugestiva de infección por VPH, quienes se les recolectó una muestra de hisopado y/o tejido cervical para la identificación del VPH mediante la técnica de PCR y biopsia de cuello uterino para el estudio histopatológico. Aquellos casos en donde el hisopado fue negativo pero la biopsia resultó positiva para la infección se les recolectó una segunda muestra para su análisis.

Las muestras citológicas del endo y exocérvix fueron tomadas por hisopado y procesadas por el método de coloración hematoxilina. Las muestras de cuello uterino para biopsia fueron tomadas, fijadas en formol y luego su procesamiento de rutina coloreadas con hematoxilina y eosina. Los hallazgos al microscopio para ambos casos fueron clasificados histológicamente según el sistema de Bethesda (10).

La PCR fue procesada a través de un método simple de amplificación del ADN utilizando el kit PVH-Fast de Laboratorios Pharmagen, con cebadores específicos del fabricante (11). Para el hisopado se realizó un raspado firme con hisopo de algodón estéril, pero sin producir sangrado del exo y endocérvix, colocando este en un tubo de plástico estéril seco y en los casos donde se recolectó tejido en fresco, se colocó en tubo con tampón lisis conservante (Tris 10 mM pH 8, EDTA 5 mM y SDS 1 %) y fueron enviados para su procesamiento.

De las historias elaboradas a lo largo de tres años (2012-2015), se recolectaron los datos de la ficha patronímica tomando en consideración: edad de la paciente, fecha de

última menstruación (FUM), menarquía, sexarquía, número de parejas sexuales, fecha de última citología, paridad, antecedentes oncológicos/patológicos y resultados de laboratorio. Para minimizar el riesgo de errores o dificultades en la evaluación de la muestra a obtener (debido a la presencia de semen, actividad sexual reciente, o restos de menstruación) se orientó a las pacientes del momento ideal para acudir a la toma de muestra, y se establecieron las siguientes condiciones: tener abstinencia sexual (de por lo menos 3-5 días), no haberse aplicado duchas u óvulos vaginales los 5 días previos a la consulta y tener mínimo 4 días sin la menstruación.

Cada participante dio su consentimiento escrito, previo e informado para la realización del estudio, quedando los datos de identificación de cada una como parte del registro de historias médicas de la consulta, para su uso científico y confidencial. Para el análisis estadístico se determinó la frecuencia estadística donde cada variable estadística X (edad, antecedentes ginecológicos, antecedentes obstétricos, hallazgos citológicos, hallazgos anatomopatológicos, positividad del PCR y subtipos de VPH) puede tomar distintos valores y se determina así su frecuencia de aparición dentro de la muestra. Los datos se presentan como distribuciones de frecuencia (absolutas y porcentajes) de las variables cualitativas. Se realizaron tabulaciones cruzadas de las variables cualitativas, utilizando la prueba Chi cuadrado de Pearson para explorar la significación estadística de la posible asociación. El análisis de los datos recogidos se realizó mediante el paquete estadístico SPSS versión 19. Se consideraron significativos valores de $P \leq 0,01$.

RESULTADOS

La muestra estuvo representada por el 26% (950/3600) de la población. El 46,8% de las pacientes objeto de investigación tenían edades comprendidas entre los 27 y 33 años, con un promedio de 30 años. La población adolescente representó 18% de la muestra (la distribución por edad se muestra en la Tabla 1).

Tabla 1. Distribución por edad de las pacientes.

Edad (años)	n: 950	%
13-19	174	18,3
20-26	200	21,2
27-33	445	46,8
34-40	101	10,6
41-47	30	3,1

El 100% de las pacientes evaluadas acudieron a las tomas de muestra cumpliendo con las condiciones preestablecidas. El 75% de las pacientes que menstruaron por primera vez antes de los 15 años, además de que iniciaron actividad sexual de forma muy temprana, resultaron promiscuas en más del 60% de los casos. En el grupo de menarquía tardía no se evidenciaron factores asociados con relevancia clínica. En relación al número de hijos el 76,1% de las

pacientes tenían más de dos. El uso de preservativos durante el acto sexual fue manifestado en el 23,4% de las pacientes que resultaron estar expuestas a la forma de VPH tipo 6 considerado de bajo riesgo desde el punto de vista epidemiológico. En aquellas con antecedente de múltiples parejas sexuales se encontraron los tipos 16 y 31, las multiparas expresaron el tipo 16 en comparación con las nulíparas (12,6% de la muestra) que expresaron el tipo 6 (la distribución por antecedentes ginecoobstétricos se muestra en la Tabla 2).

Tabla 2. Antecedentes ginecoobstétricos y subtipo de VPH.

Antecedente	n: 950	%	Subtipo de VPH
menarquía <15 AÑOS	714	75,1	6,18
menarquía >15 AÑOS	236	24,8	6,16
sexarquía <15 AÑOS	642	67,5	16,11,31
sexarquía >15 AÑOS	308	34,2	6,31
menos de 3 parejas sexuales	354	37,2	6,16
más de 4 parejas sexuales	596	62,7	16,31,45
paridad >2	723	76,1	16,51

Se detectó VPH aplicando la técnica de PCR en 99,7% de las pacientes de las muestras analizadas. Se identificaron los genotipos 6, 11, 16, 18, 31, 45 y 51, de los cuales 6 y 11 se consideran de bajo riesgo y el resto de alto riesgo oncogénico. El más frecuente entre los grupos etarios fue el subtipo 6 seguido del subtipo 16.

Tabla 3. Diagnóstico histológico, resultados de PCR y subtipo de VPH.

Diagnóstico citológico/histológico	n: 950	%	PCR	Subtipo de VPH
Cervicitis	174	18,3	Positivo	6,11,31
LIE de bajo grado	445	46,8	Positivo	6,31
LIE de alto grado	321	33,7	Positivo	31,45,16,51
Negativo para VPH	8	0,84	Positivo	6
Negativo para VPH	2	0,21	Negativo	

En relación a la tipificación del VPH, aproximadamente 50% de las pacientes estudiadas, el genotipo que se ha observado es considerado de alto riesgo desde el punto de vista estadístico, siendo los más frecuentes el 16, 31, 45 y 51. Esto también se asoció a lesiones anatomopatológicas que variaron desde una cervicitis hasta la presencia del carcinoma in situ. La lesión histopatológica más frecuente

fue la lesión intraepitelial de bajo (46,8%) y alto grado (33,7%) (la distribución por diagnóstico histológico, resultado de PCR y subtipo de VPH se muestra en la Tabla 3).

Tabla 4. Presencia o no de infección múltiple.

Tipificación de VPH	n: 950	%
Un tipo viral	804	84,6
Dos tipos virales	143	15
Tres tipos virales	1	0,1
Negativa	2	0,2

En 15% de las pacientes se demostró la infección múltiple, es decir, presencia simultánea de dos o más formas virales, siendo los subtipos 31 y 6, la asociación más frecuente. Sólo una paciente presentó positividad para tres subtipos, que fueron el 31, 45 y 6, observándose cambios epiteliales compatibles a LIE de alto grado (la distribución presencia o no de infección múltiple se muestra en la Tabla 4), con antecedentes de sexarquía temprana y múltiples parejas sexuales. Los antecedentes oncológicos directos estaban ausentes en todos los casos.

DISCUSION

En el presente estudio se evaluaron 950 pacientes a quienes se les realizó biopsia de cuello uterino y toma de muestra de PCR para diagnóstico y tipificación de VPH, encontrando mayor frecuencia de casos positivos entre los 27 y 33 años de edad, en comparación con otro trabajo que mostró mayor frecuencia de casos, en las edades comprendidas entre los 21 y 23 años de edad (12). En la población yanomami se observó mayor probabilidad de infección por VPH en aquellas que superan los 35 años de edad (13).

La determinación de la exposición al VPH por el método de PCR resulta ser un método de elevada sensibilidad para el diagnóstico de la infección, ya que, de las muestras analizadas en una primera oportunidad, sólo 10 pacientes resultaron ser negativas y de ellas en una segunda toma de muestras, sólo 2 realmente expresaron negatividad a pesar de tener un hallazgo citológico compatible con cambios reactivos a la enfermedad y biopsia cervical que reportaba cervicitis crónica no asociada al VPH. Existen evidencias de que pacientes con citologías normales han presentado positividad al PCR, ya que, los cambios anatomopatológicos pueden no expresarse en las capas superficiales del epitelio, mientras que la detección del virus si logra hacerse de forma precoz (14).

En México el VPH fue detectado en 95,5% de los casos de cáncer invasor, en 91,6% de lesiones intraepiteliales de alto grado, en 66,7% de lesiones de bajo grado y en 23,1% de citologías normales (15). En nuestro estudio se detectó la infección en el 98% de las pacientes con resultados citológicos positivos, evidenciándose las formas virales oncogénicas en el 50% de los casos y la lesión

histopatológica más frecuente fue la lesión intraepitelial de bajo (46,8%) y alto grado (33,7%).

La citología presenta la desventaja de no poder identificar la infección del VPH en su fase latente, así como tampoco el subtipo, a diferencia del PCR que si lo detecta y lo tipifica en cualquier estadio (16,17).

En la muestra estudiada el LIE de alto grado se observó en 33,7% de los casos, destacándose la presencia en la mayoría de estos casos de un subtipo de VPH 31, considerado de alto riesgo oncogénico. Estudios reportan que el ADN del VPH en pacientes afectadas por cáncer cérvicouterino, se detecta en el 97% de los casos o más y en mujeres asintomáticas clínicamente normales en el 31% de los casos (18).

La infección múltiple se determinó en 15% de las pacientes, es decir, la presencia simultánea de dos o más formas virales, siendo los subtipos 31 y 6, la asociación más frecuente. Sólo una paciente presentó positividad para tres subtipos (31, 45 y 6) simultáneamente, esta paciente tenía cambios epiteliales compatibles con LIE de alto grado y antecedentes de sexarquía temprana, múltiples parejas sexuales. Se observó en una población de Uganda que estos factores incrementaron significativamente el riesgo de cáncer cervical (19). Es de hacer notar la observación de subtipos de alto riesgo en poblaciones con diagnóstico anatomopatológico de cervicitis, lo que presupone un riesgo potencial a largo plazo para el desarrollo de las formas avanzadas. En un estudio realizado en Chile se detectó VPH en el 40% de los casos histológicamente normales. Los tipos de VPH más frecuentes fueron: 33, 16, 52 y 31 y se observó que el 10,7% de casos con dos tipos virales o coexistentes en las formas premalignas, siendo más frecuente las asociaciones 16-52, 45-52 y 18-52 (20). Otro estudio en Paraguay observó un caso de infección múltiple con los tipos de VPH 33 y 45 (21).

Al 46,8% de las pacientes se les realizó el diagnóstico de la enfermedad en la etapa de lesión intraepitelial de bajo grado (LIE), expresando el subtipo 6, considerado una forma de bajo riesgo oncogénico, en mayor proporción (75%) que 31 (25%). Esto difiere de lo encontrado en un estudio realizado en Lima, donde la prevalencia del VPH de bajo riesgo fue de 8,4% (13) y en otro estudio, al igual que lo observado en este estudio se demostró que las lesiones escamosas intraepiteliales expresaron bajo riesgo (83%) y alto riesgo (16%) de los casos (14). En Venezuela se ha analizado la realidad del VPH como problema de salud pública, encontrándose que el genotipo de mayor circulación es el tipo 16 (considerado de alto riesgo), el cual es sólo uno de los de mayor potencial oncogénico (22). Estudios recientes en la región central encuentran mayor frecuencia del tipo 6 en las formas de bajo riesgo y del tipo 31 entre las de alto riesgo (11). La presencia de un VPH de alto riesgo incrementa 78 veces la posibilidad de presentar un carcinoma invasor de cuello uterino (23) y en estos

casos los hallazgos histológicos son más evidentes para el diagnóstico de la infección por VPH que la citología (24).

En las pacientes con citologías positivas para VPH, la tipificación por PCR en combinación con el estudio anatomopatológico, son importantes pruebas complementarias en el diagnóstico de la enfermedad, ya que permiten determinar la gravedad de la misma al precisar su riesgo oncogénico dependiendo del genotipo de VPH detectado en relación con el tipo de lesión histológica observada. De la totalidad de la muestra estudiada 99% fueron PCR positivas al VPH. En la actualidad nuevos trabajos buscan desarrollar el diagnóstico serológico para la detección temprana del virus (25).

Por otra parte, se evidencia que son frecuentes los genotipos 6 y 11 considerados de bajo riesgo, asociados a los cambios inflamatorios y lesiones intraepiteliales de bajo grado, como formas de presentación benigna de la infección. Sin embargo su coexistencia con un subtipo de VPH de alto riesgo aumenta su potencialidad oncogénica. Asimismo, las lesiones intraepiteliales de alto grado y las formas malignas de la enfermedad se asocian a los subtipos de VPH considerados de alto riesgo oncogénico, el 50% de los casos de este estudio mostró genotipo considerado de alto riesgo oncogénico. La infección múltiple se demostró en el 15% de los casos, por dos o más cepas (31 y 6, la más frecuente), un caso aislado presentó positividad a los subtipos 31, 45 y 6 con cambios epiteliales de LIE de alto grado. El subtipo de VPH más frecuente entre las pacientes con cambios anatomopatológicos de LIE bajo grado fue 6 y entre las pacientes con cambios de LIE de alto grado el 31.

La coexistencia entre dos subtipos de VPH (es decir uno de alto y otro de bajo riesgo) en una persona no incrementó la severidad de la lesión anatomopatológica evidenciada, posiblemente la misma se relaciona con la potencialidad del subtipo de VPH de incrementar o no el riesgo oncogénico.

El incentivo a la pesquisa del cáncer de cuello uterino se fundamenta en el hecho de que es una enfermedad prevenible, que se caracteriza por una larga historia natural; con lenta progresión desde una lesión intraepitelial, hasta una enfermedad invasiva que puede ocurrir en años, o quizá en décadas, lo cual permite que el despistaje sea altamente efectivo para detectar el proceso en etapa preinvasiva (26, 27, 28). La pesquisa del virus representa una estrategia importante para identificar mujeres con alto riesgo de desarrollar una neoplasia cervical. Además, el conocimiento de que el cáncer de cuello uterino está relacionado con subtipos específicos e indica la importancia como valor pronóstico que tiene la tipificación del VPH (29, 30, 31), gracias al laboratorio Genomik (sede valencia) por el procesamiento de las muestras de este estudio. Investigaciones recientes han vinculado la infección por VPH con el desarrollo de cáncer en otras localizaciones, como el cáncer esofágico, en particular con el subtipo 18, en algunos países (32, 33, 34). Otras formas de detección temprana de

la infección consideradas en la actualidad abarca el PCR del hisopado de cavidad oral, el cual ha logrado aislar el VPH en la cavidad oral de 14% de los individuos estudiados y aparentemente sanos (35, 36). El VPH como causa de cáncer de cuello uterino y como factor incidente de la tasa de mortalidad en nuestro país representa un problema de salud pública, que necesita de medidas sociosanitarias que busquen mejorar la pesquisa en la población de alto riesgo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Villa L. Biology of genital human papillomaviruses. *Int J Gynaecol Obstet* 2006; 94: S3-S7.
2. Avila M, Cavazza M, Vasquez W, Ortega J, Lopez Y, Correnti M. Genotipificación del virus de papiloma humano en pacientes con condilomas acuminados. *Rev Soc Venez Microbiol* 2008; 28: 127-133.
3. Bosch F, Qiao Y, Castellsaguè X. The epidemiology of human papillomavirus infection and its association with cervical cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 2006; 94: S8-S21.
4. Schiffman M, Castle PE. Human papillomavirus: epidemiology and public health. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127: 930-934.
5. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J. Pathol* 1999; 189: 12-19.
6. Quintero M, Cruz J, Bastidas M, Márquez L, Puig J. Detección y tipificación de virus del papiloma humano (VPH) mediante PCR- RFLP. *Rev Obstet Ginecol Venez* 2008; 68 (1): 25-31
7. De Guglielmo Z, Avila M, Mora A, Melendez M, Correnti M. Detección del virus de papiloma humano en muestras de pacientes con ectropión cervical. *Rev Obstet Ginecol Venez* 2013; 73 (4): 221-224.
8. Reigosa A, Alvarez M, De Vasconcelo M, Cristina R, Salas W, Rebolledo V, Voldman A. Diagnóstico del virus papiloma humano en cuello uterino de mujeres que acuden a su consulta anual citológica. *Salus* 2004; 8 (1): 33-42
9. Rivera R, Aguilera J, Larraín A. Epidemiología del virus papiloma humano (HPV). *Rev Chil Obstet Ginecol* 2002; 67 (6): 501-506
10. Cuitiño L, Tirapegui F, Torres L, Klaassen R, Naveas R y Martínez J. Correlación Citohistológica de lesiones escamosas intraepiteliales de cuello uterino, en la unidad de patología cervical del hospital naval de Talcahuano. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2005; 70 (3): 152-155
11. Reigosa A, Fernández A, Yang Ch, Graterol I, Fernández Y, Espinal J, Álvarez M. Genotipos del virus papiloma humano en el cuello uterino de mujeres de la región central de Venezuela. *Rev Obstet Ginecol Venez* 2015; 75 (3): 177-186.
12. Valderrama M; Campos F; Cárcamo C; García P. Factores asociados a lesiones cervicales o presencia del virus del papiloma humano en dos poblaciones de estudiantes de Lima. *Rev perú med exp salud publica* 2007; 24: 234-239
13. Fonseca A, Taeko D, Chaves T, Amorim L, Murari R, Miranda A, Chen Z, Burk R, Ferreira L. HPV Infection and Cervical Screening in Socially Isolated Indigenous Women Inhabitants of the Amazonian Rainforest. *PLoS One* 2015; 10 (7): 3-8

14. Graterol I, Finol H, Correnti M. Virus del papiloma humano en lesiones intraepiteliales escamosas (LIE) de cuello uterino: Tipificación y ultraestructura. *Rev Soc Venez Microbiol* 2006; 26 (2): 89-94
15. Carrillo A, Mohar A, Meneses A, Frías M, Solorza G; Lizano M. Utilidad en la combinación de oligonucleótidos universales para la detección del virus del papiloma humano en cáncer cervicouterino y lesiones premalignas. *Salud pública Méx* 2004; 46 (1): 7-15
16. Roman A, Fife KH. Human papillomavirus: Are we ready to type?. *Clin Microbiol Rev.* 1989; 2: 166-190.
17. Miller AB. Failures of cervical cancer screening. *Am J Public Health.* 1995; 85: 761-762.
18. Berumen J, Miranda E, Zafrá G, Casas L, Segura E, Ordeñes R, Aguirre J, Martínez M, Rosas A, Ibarra V, Pedraza L, Saad A, Marroquin A, Gutiérrez M, Martínez A, Gariglio P. Epidemiología molecular de cánceres de alta incidencia en México. *Gac Méd Méx* 1997, 133 (1): 43-48.
19. Mwaka A, Orach C, Were E, Lyratzopoulos G, Wabinga H, Roland M. Awareness of cervical cancer risk factors and symptoms: cross-sectional community survey in post-conflict northern Uganda. *Health Expect* 2015
20. Melo A, Montenegro S, Hooper T, Capurro I, Roa J, Roa I. Tipificación del virus papiloma humano (VPH) en lesiones preneoplásicas y carcinoma del cuello uterino en mujeres de la IX Región-Chile. *Rev Méd Chile* 2003; 131: 1382-1390.
21. Segovia EI, Mendoza LP. Tipificación del virus del papiloma humano en muestras cervicales de 15 mujeres atendidas en el Instituto Nacional del Cáncer Mem Inst Investig Cienc Salud 2009; 7(1): 46-53
22. Correnti M, Cavazza M, Alfonso B, Lozada C. La Infección por el Virus de Papiloma Humano: un problema de salud pública en Venezuela. *Vitae* 2009; 38
23. Tirado L, Mohar A, López M, García A, Franco F, Borges G. Factores de riesgo de cáncer cervicouterino invasor en mujeres mexicanas. *Salud pública Méx* 2005; 47 (5): 342-350
24. Sarduy Miguel. Correlación citohistológica en las neoplasias intraepiteliales cervicales y en la identificación del VPH en esas lesiones. *Rev Cubana Obstet Ginecol* 2009, 35 (1): 1-11
25. Morrinson B, Labo N, Miley W, Whitby D. Serodiagnosis for tumor viruses. *Semin Oncol* 2015; 42 (2): 191-206
26. Posso A, Rangel M, Marchà N, González M. Lesión intraepitelial cervical en adolescentes. *Rev Obstet Ginecol Venez* 2014; 74 (3): 193-202
27. Rivas E, Verlezza S, Flores M. Distribución genotipoespecífico del virus papiloma humano entre hombres y mujeres de Caracas, Venezuela. *Rev Obstet Ginecol Venez* 2012; 72: 171-176.
28. Matah M, Sareen S. Detection of HPV by PCR-A Novel Step in the Prevention of Cancer Cervix. *J Obstet Gynaecol India* 2012; 62: -191.
29. Jin X, Lipold L, Sikon A, Rome E. Human papillomavirus vaccine: Safe, effective, underused. *Cleve Clin J Med* 2013; 80: 49-60.
30. Picconi M. Human papillomavirus detection in cervical cancer prevention. *Medicina (B Aires)* 2013; 73: 585-596.
31. Deluca G, Marin H, Blanco N, Basiletti J, González J, Merino A. Distribution of human papillomavirus genotypes in women with cervical alterations from north Argentina. *Indian J Med Microbiol* 2013; 31: 138-141.
32. Ludmir E, Stephens S, Palta M, Willett C, Czito B. Human papillomavirus tumor infection in esophageal squamous cell carcinoma. *J Gastrointest Oncol* 2015; 6 (3): 287-295
33. Mostafalou N, Yahyapour Y, Sedaqhat S, Shokri S, Hajiahmadi M, Siadati S, Shafaei S. Human papilloma virus infection in non-cancerous versus normal esophageal tissue samples by endoscopy. *Caspian J Intern Med* 2015; 6 (1): 9-14
34. Guo L, Zhang S, Liu S, Chen Q, Zhang M, Quan P, Lu J, Sun X. Human papillomavirus type-18 prevalence in esophageal cancer in the Chinese population: a meta-analysis. *Epidemiol Infect* 2015; 27: 1-9
35. González M, Barrera E, Herrera V, Conde L, Puerto M, Ayora G. Epidemiology of oral HPV in the oral mucosa in women without signs of oral disease from Yucatan, México. *Braz J Microbiol* 2015; 46 (1): 301-306.
36. Martín F, Sánchez J, Cano J, Campo J, del Romero J. Oral cancer, HPV infection and evidence of sexual transmission. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2013; 18: 439-444.