



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE MEDICINA

) @@@V' ) - '-ouy) @ o' ) - 'h\ o8k° ) \ '- '@† - ou@° #@V

HOSPITAL ÁNGELES MEXICO

Prevalencia de genotipos de Virus de Papiloma Humano (VPH) en población de medio privado (Hospital Ángeles México) y comparación con Prevalencia mundial. Descripción de características de la población estudiada. Reporte de 9 años.

## TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

### PRESENTA:

DR. JORGE LUIS VEGA CUEVAS

### ASESOR METODOLÓGICO:

DR RICARDO CAREAGA BENÍTEZ



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## TESIS DE POSTGRADO:

Prevalencia de genotipos de virus de papiloma humano (VPH) en población de medio privado (Hospital Ángeles México) y comparación con Prevalencia mundial. Descripción de características de la población estudiada. Reporte de 9 años.

---

Dra. María del Pilar Velázquez Sánchez  
Jefa de División de Educación Médica

---

Dr. Claudio Francisco Serviere Zaragoza  
Profesor Titular del curso Ginecología y Obstetricia

---

Dr. Francisco Javier Borrajo Carbajal  
Profesor Adjunto del curso Ginecología y Obstetricia

---

Dr. Ricardo Careaga Benítez  
Asesor de Tesis

## **Dedicatoria.**

A mis padres, Estela y José, por todas las enseñanzas, por su apoyo, paciencia, estímulo, comprensión y cariño a lo largo de todo este camino,

A mi hermana y sobrinos, por siempre tener un consejo acertado, una sonrisa invaluable y una admiración inmensurable.

A Yessica, por el soporte brindado durante todo este proceso, por creer en mí y por ser guía en todo momento.

A mis asesores de tesis por su invaluable tiempo.

A mis maestros: Dr. Borrajo, Dr. Alfán, Dr. Sauer, Dr. Mario Martínez, Dr. Ambas Argüelles, Dr. Manuel Gómez, Dr. Juan Hurtado: por todas las enseñanzas y lecciones.

A mis compañeros de residencia de todos los grados, por enseñarme que nunca se deja de aprender.

A todas y cada una de las personas que hicieron esto posible conmigo.

**GRACIAS!!!**

**TITULO: Prevalencia de genotipos de virus de papiloma humano (VPH) en población de medio privado (Hospital Ángeles México) y comparación con Prevalencia mundial. Descripción de características de la población estudiada. Reporte de 9 años.**

**INVESTIGADOR RESPONSABLE: Dr. Jorge Luis Vega Cuevas**

**COORDINADOR: Dr. Ricardo Careaga Benítez/Dr. Conrado Grados García**

**PRESENTA:**

**Dr. Jorge Luis Vega Cuevas**

**Residente Ginecología y Obstetricia.**

**HOSPITAL ANGELES MÉXICO**

**Coordinación de Investigación**

**Dr. Conrado Grados García**

**Anatomopatólogo**

**Posgraduado del Instituto Nacional de Pediatría e Instituto Nacional de  
Cancerología**

**Dr. Ricardo Careaga Benítez**

**Ginecología y Obstetricia**

**Hospital Ángeles México**

## ÍNDICE

Página

1. RESUMEN.....	7
2. ANTECEDENTES TEÓRICOS.....	8
3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	24
4. JUSTIFICACIÓN.....	24
5. OBJETIVO GENERAL.....	25
6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
7. HIPÓTESIS.....	25
8. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	26
9. METODOLOGÍA	
9.1. Tipo y diseño general del estudio.....	27
9.2. Grupo de Estudio.....	27
9.3. Variables.....	27
9.4. Recolección de datos.....	28
9.5. Criterios de inclusión y exclusión.....	28
9.6. Recolección de información, instrumentos y métodos para el control de calidad de los datos.....	28
9.7. Aspectos éticos.....	28
9.8. Plan de análisis de los resultados.....	29
9.9. Programas a utilizar para análisis de datos.....	29
10. PRESUPUESTO .....	29
11. RESULTADOS.....	30
12. DISCUSIÓN.....	38
13. CONCLUSIONES.....	40
14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	41
15. APÉNDICE.....	42

## 1.- RESÚMEN

El Cáncer cervicouterino es la segunda causa de muerte en la mujer mexicana. La infección por Virus de Papiloma Humano que persiste y es de alto riesgo oncogénico será el principal factor causante en el desarrollo de esta enfermedad. Se sabe que una pequeña proporción de pacientes infectadas con Virus de alto riesgo, progresarán hacia la enfermedad oncológica.

La importancia de conocer qué genotipo viral está afectando a nuestra población, es con el afán de realizar seguimiento más estrecho a aquellas pacientes que son portadoras de un virus de alto riesgo, así como brindarles las mejores posibilidades en limitar la progresión de la enfermedad. Además, conocer si aquellos genotipos de bajo riesgo continúan con este comportamiento, o el manejo deberá modificarse.

Por otro lado, en últimas fechas se ha reportado una incidencia de genotipos virales distinta a la reportada mundialmente en series anteriores; probablemente secundario a esto se puede estudiar la aplicación de la vacuna nonavalente en nuestra población dependiendo de los resultados arrojados.

Esta investigación pretende describir cada uno de los serotipos virales que se encontraron en tomas de una población determinada, especificando que grupo etario es el más afectado con cada uno de los tipos virales.

## 2.- ANTECEDENTES TEÓRICOS

El cáncer cervicouterino es la segunda causa de mortalidad por neoplasias malignas en la mujer al producir hasta 11 muertes por día, afectando en mayor proporción al grupo de edad de 25 – 69 años y solamente es superado por el cáncer de mama. En México es considerado un problema de salud pública que se presenta en la población de nivel socioeconómico bajo; y frecuentemente se encuentra en estadios avanzados al momento del diagnóstico. <sup>1</sup>

Se reportan hasta 500,000 casos nuevos por año en el mundo con 190,000 muertes por año. Los países subdesarrollados muestran actualmente tasas más elevadas de cáncer comparado con los desarrollados y la tendencia no ha disminuido en los últimos años.<sup>2</sup>

Se ha señalado la elevada incidencia, prevalencia y mortalidad por cáncer cervicouterino en México con una tasa de prevalencia de 44.4/100,000 y se reporta una muerte a causa de esta patología cada 2 horas. Se describe a nivel mundial que las enfermas cuentan con antecedente de infección por virus de Papiloma Humano de alto riesgo en casi 100% y corresponden a los genotipos 16 y 18 en su mayoría.<sup>2</sup>

### CICLO DE VIDA DEL VPH.

El genoma bicatenario y circular del virus constituye solo 9 marcos de lectura abierta (ORF por sus siglas en inglés *Open Reading Frame*) identificados. Además de la región reguladora, los genes tempranos (son 6 - E) regulan algunas funciones en las etapas iniciales del ciclo vital del virus, entre las que se encuentran la conservación, replicación y transcripción de ADN. En las capas epiteliales profundas se expresan los genes tempranos, mientras que los tardíos codifican proteínas de la cápside mayor (L1) y menor (L2) que son expresadas en las capas más superficiales. Las proteínas recién mencionadas son necesarias en etapas posteriores del ciclo viral para que se complete el ensamblado en partícula infectante.<sup>5</sup>

La expresión del gen del virus se hace sincrónicamente con la diferenciación del epitelio escamoso y depende de ella. Es por esto que completar el ciclo viral se produce únicamente dentro del epitelio escamoso intacto y totalmente diferenciado. Las partículas del virus que se ensamblan totalmente, se liberan por completo dentro del epitelio escamoso superficial. El VPH no es virus lítico y es por esto que su capacidad para infectar va a depender de la descamación normal de las células epiteliales infectadas. Al unirse las proteínas L1 y L2 de la cápside a la membrana basal y al epitelio, a las células basales o a ambas se inicia una nueva infección y se permite la entrada de partículas de VPH en nuevas células del hospedador.<sup>5</sup>

### BIOLOGÍA MOLECULAR

El virus de papiloma humano es el virus con mayor tasa de transmisión en los Estados Unidos. La biología de estos virus se ha estudiado extensamente y su vínculo con patología maligna está bien establecido, específicamente con carcinomas que involucran el área anogenital (cervical, vaginal, vulvar, peneana y anal) así como los que afectan región de cabeza y cuello. <sup>3</sup>

## VIROLOGIA

El virus de papiloma humano es un virus DNA pequeño de aproximadamente 7900 pares de bases. La secuenciación ha facilitado la caracterización y tipificación del virus describiendo cada uno como independiente. Existen 40 tipos de VPH que afectan el área anogenital<sup>3</sup>

### Genotipos de VPH y riesgo de cáncer

Existen numerosos genotipos de VPH, y su asociación con riesgo de cáncer varía.<sup>3</sup>

Cáncer cervical: existe una separación categórica de genotipos de VPH basado es su riesgo asociado de cáncer cervical<sup>3</sup>

Alto riesgo: genotipos (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, y 68).

Bajo riesgo: genotipos (6, 11, 40, 42, 43, 44, 53, 54, 61, 72, 73, y 81).

Los tipos 16 y 18 son los genotipos más comúnmente aislados en cáncer cérvico uterino, con hallazgos de genotipo 16 en aproximadamente 50% de los pacientes; se comenta que es el más carcinógeno probablemente por su mayor tendencia a persistir en comparación con otros.<sup>5</sup> Aun así, no todas las infecciones con VPH 16 o 18 progresan a cáncer. Además, dentro de los genotipos oncogénicos de VPH existen variantes que están asociados con potencial neoplásico.<sup>3</sup>

Los tipos 6 y 11 de VPH de bajo riesgo ocasionan la mayoría de los casos de verrugas genitales y pocos casos que cursan de manera subclínica. Las infecciones de VPH de bajo riesgo son oncógenas en contadas ocasiones.<sup>5</sup>

En los casos de infecciones persistentes por VPH de alto riesgo se considera éste suceso (la infección) como condición para que aparezca el cáncer cervicouterino. Los genotipos anteriormente mencionados como de alto riesgo, serán los responsables del 95% de los cánceres cervicouterinos a nivel mundial.<sup>5</sup>

El genotipo 18 de VPH se relaciona en 13% con los carcinomas de células escamosas y también en una proporción mayor de adenocarcinomas cervicales y carcinomas adenoescamosos. Al conjuntar la frecuencia del VPH 16 y 18 se habla que originan aproximadamente 70% de casos de cáncer cervicouterino. Los genotipos de VPH detectados más a menudo en cáncer cervicouterino también son los más prevalentes en la población general (en específico los tipos 16,18, 45 y 31). El genotipo 16 suele ser el más común en lesiones de baja malignidad y en mujeres sin neoplasias. El hecho de portar infección por virus de papiloma humano de alto riesgo no indica obligadamente que se desarrollará neoplasia y esto es debido a que algunos factores del hospedador y ambientales que se agregan, son los que rigen si dicho virus causará neoplasia.<sup>5</sup>

## PATOGÉNESIS MOLECULAR

El rol de la infección por virus de papiloma humano en la etiología de los cánceres epiteliales se apoya por las siguientes observaciones<sup>3</sup>

El DNA de VPH se presenta comúnmente como precáncer anogenital y cáncer invasivo así como cánceres orales.<sup>3</sup>

La expresión de los oncogenes E6 y E7 se demuestra consistentemente en tejidos afectados por VPH<sup>3</sup>

Los productos de los genes E6 y E7 tienen propiedades transformadoras por su interacción con proteínas reguladoras del crecimiento de las células y tejidos del hospedero.<sup>3</sup>

En aquellas líneas celulares del carcinoma cervicouterino la expresión continua de E6 y E7 es necesaria para continuar expresando el fenotipo de malignidad.<sup>3</sup>

Los estudios epidemiológicos señalan las infecciones por Virus de Papiloma humano como el principal factor para desarrollo de cáncer cervicouterino<sup>3</sup>

### Proteínas VPH.

El genoma del VPH codifica secuencias de DNA para 6 proteínas “tempranas” (E), asociadas con regulación viral y transformación celular, dos proteínas tardías (L) que forman la cápsula del virus y una región regulatoria de secuencias de DNA conocida como la región de control o reguladora.<sup>3</sup>

Las dos proteínas más importantes en la patogénesis de la enfermedad maligna son E6 y E7. Ambas se expresan en tumoraciones malignas y actúan de manera cooperativa para extender la vida de las células epiteliales. A nivel molecular la capacidad de E6 y E7 de transformar células se relaciona con la interacción entre dos proteínas celulares p53 y proteína Rb (Retinoblastoma)<sup>3</sup>

### El rol de la proteína p53.

En la célula normal esta proteína es un regulador negativo del crecimiento celular que controla el paso en el ciclo celular desde G0/G1 hasta la fase S, además funciona como proteína supresora de tumor permitiendo la reparación de ADN mediante enzimas especializadas. Se une E6 a p53 y posteriormente, p53 se degrada en la presencia de la proteína asociada a E6; esto permite que el ciclo celular no se verifica y tiene un efecto anti apoptótico, permitiendo la acumulación de mutaciones cromosómicas sin reparación de DNA, esto nos conduce a inestabilidad cromosómica en aquellas células que albergan VPH de alto riesgo. La interacción de E6 con p53 también puede afectar la regulación o degradación de la familia Src de tirocin cinasas, potencialmente juega un rol de estimulación de la actividad mitótica en células infectadas.<sup>3</sup>

En contraste a la proteína E6, la proteína E7 sensibiliza las células que portan p53 para que se induzca apoptosis, pero ejerce un efecto antiapoptótico en las células con p53 mutado.<sup>3</sup>

### Rol de la proteína Rb

La proteína Rb inhibe el efecto de la regulación positiva de crecimiento y altera el crecimiento celular o induce apoptosis celular en respuesta al daño de DNA. Una de las funciones de esta

proteína es unirse y volver inactiva la transcripción del factor E2F. El factor E2F controla la síntesis de DNA y la función de ciclina, además promueve la fase S del ciclo celular. E7 interactúa con la proteína Rb mediante el complejo proteico E2F/Rb. Cuando E7 se une a la proteína Rb se libera E2F y permite que la ciclina A induzca o promueva el ciclo celular. La interacción de E7 con Rb puede permitir que las células con DNA dañado pasen normalmente la fase G1 en el crecimiento celular. Estos procesos permiten que el crecimiento celular no se verifique por la presencia de inestabilidad genómica, la cual puede inducir cambios de malignidad.<sup>3</sup>

En apoyo a la importancia de E7 en la transformación celular. La inhibición de la unión de E7 a Rb elimina su capacidad de transformación, Sin embargo, otros mecanismos de transformación de E7 mediada por células también juegan un rol distinto, como ejemplo, existen varias interacciones de E7 con los factores de transcripción, las proteínas E7 inactivan los inhibidores p21 y p27 de cinasa ciclinodependiente; lo cual puede favorecer el crecimiento o estimulación de VPH en las células infectadas.<sup>3</sup>

### Otras proteínas

Existen otras proteínas que pueden estar involucradas en la transformación maligna de una célula como E1 (regula la replicación de DNA y el mantenimiento del virus en forma episomal. E2 (cooperación con E1, replicación de DNA viral, regulación de la expresión E6 y E7) y E5 (regulación del crecimiento celular) El genoma del VPH existe en dos formas. <sup>3</sup>

Se encuentra de manera más frecuente con una forma circular episomal que se replica de manera autónoma por fuera de los cromosomas de la célula del hospedero, pero dentro del núcleo de la célula hospedera. Bajo ciertas condiciones asociadas con el desarrollo y la presencia de una lesión intraepitelial escamosa de alto grado y cáncer, el episoma se ordena y se integra al genoma de la célula del hospedero. El sitio de orden en el episoma usualmente es en el gen viral E2 y conduce a una alteración de los productos génicos de E2 que alteran o disminuyen las funciones de E2 ocasionando una expresión incrementada de E6 o E7. En un estudio E2 produce arresto del crecimiento en las células HeLa por represión del promotor E6 y E7. La expresión de E6 y E7 por promotores distintos ocasionan una inversión en la detención del crecimiento.<sup>3</sup>

### INFECCIÓN POR VIH

En adición a los efectos de inmunosupresión los cuales promueven la persistencia de VPH, la coinfección con VIH puede promover directamente la oncogénesis del VPH a un nivel molecular. Como ejemplo algunos estudios in vitro sugieren que el VIH puede exacerbar y promover la expresión de las proteínas E6 y E7 del VPH.<sup>3</sup>

La transmisión genital de VPH es consecuencia del contacto directo con la piel, las mucosas o líquidos corporales de un compañero con verrugas o infección subclínica por VPH. Se dice que el virus penetra en la capa de células basales y membrana basal por microabrasiones del epitelio genital durante el contacto sexual. Las células basales, una vez infectadas se convierten en depósito del virus, La infección de genitales es multifocal y abarca más de un

sitio en la porción inferior del aparato genital en la mayoría de los casos. Por lo tanto, la neoplasia en un sitio genital incrementa el riesgo de neoplasia en otra localización dentro de la porción inferior del aparato genital femenino, aunque al parecer el más vulnerable es el cérvix. También es frecuente que la infección sea simultánea o seriada con múltiples tipos de VPH.<sup>5</sup>

## FORMAS DE TRANSMISIÓN

Casi todas las infecciones de VPH genitales son consecuencia de relaciones sexuales. La infección cervicouterina por VPH de alto riesgo por lo común se centra en mujeres que han tenido contacto sexual por vía vaginal. Las mujeres sin actividad sexual a veces muestran tipos no oncógenos en la vulva o vagina tal vez por el uso de tampón vaginal o penetración digital. En fechas recientes se señala que las mujeres antes de tener relaciones sexuales pueden infectarse por tipos de alto riesgo, la transmisión por objetos inanimados que supuestamente se produce en el caso de verrugas no genitales no ha sido corroborada pero tal vez explique algunos de tales casos. No hay certidumbre de la importancia de transmisión extrasexual de VPH y se necesitan más estudios en esta situación.<sup>5</sup>

## RESULTADOS DE LA INFECCIÓN POR VPH

La infección por VPH en genitales origina diversos desenlaces. La infección puede ser latente o expresa, Aún más la expresión puede ser productiva y originar la formación de nuevos virus, o de tipo neoplásico que ocasione enfermedad preinvasora o cancerosa. La mayoría de las infecciones productivas y neoplásicas son subclínicas. Finalmente, la infección por VPH puede ser persistente con aparición de neoplasia o sin ésta (displasia o cáncer) o puede ser transitoria. Los casos de neoplasia suelen ser el último resultado en frecuencia de la infección por VPH de genitales.<sup>5</sup>

Infección latente: es aquella en la que hay infección de la célula, pero el virus permanece en estado inactivo. El genoma vírico sigue siendo episómico, es decir intacto y no está integrado al genoma de las células del hospedador. No hay efectos detectables en tejidos porque el virus no se reproduce. Son pocos los conocimientos respecto a la incidencia, evolución natural e importancia de la evolución latente por VPH, por que el virus no alcanza niveles detectables. Se desconoce si desde el punto de vista clínico la eliminación de VPH o el uso de métodos actuales de identificación señalan la erradicación verdadera de VPH en tejidos infectados o si refleja un estado de latencia.<sup>5</sup>

Infección productiva: las infecciones de éste tipo se caracterizan porque el ciclo vital queda completo y la población de partículas infectantes aumenta; la producción vírica se completa en sincronía con la diferenciación escamosa terminal que concluye con la muerte celular programada de células escamosas y la descamación desde la superficie epitelial. De este modo, las infecciones de este tipo tienen escaso o nulo potencial canceroso. Como ocurre en la infección latente, el genoma sigue siendo episómico y sus oncogenes se expresan poco. La producción abundante de partículas víricas se produce en un lapso de 2 a 3 semanas. En el aparato genital masculino y femenino las infecciones productivas por VPH generan verrugas genitales visibles llamadas condilomas acuminados o como una situación más frecuente ocasionan infección subclínica, misma que se identifica en citología como lesión intraepitelial

escamosa de baja malignidad (LSIL), reflejada también en colposcopia anormal y en el estudio histológico por condilomas planos o NIC 1.<sup>5</sup>

Infección neoplásica: En los casos de NIC 3 y lesiones cancerosas el genoma de VPH se abre en segmentos y se integra en forma lineal en sitios aleatorios dentro del cromosoma del hospedador. El siguiente paso es la transcripción irrestricta de los oncogenes E6 y E7. Los productos que son las oncoproteínas E6 y E7 interfieren en la función y aceleran la degradación de p53 y pRB, que son las proteínas oncosupresoras decisivas para el hospedador y ello deja a la célula infectada vulnerable para experimentar transformación cancerosa por la pérdida de control del ciclo celular, la proliferación de células y la acumulación de mutaciones de ADN con el transcurso del tiempo.<sup>5</sup>

## EVOLUCIÓN NATURAL

La infección por VPH y predominantemente por los tipos de alto riesgo es muy frecuente poco después que la persona comienza vida sexual. Collins *et al* realizaron un estudio longitudinal de 242 mujeres reclutadas en un plazo de 6 meses de haber tenido su primera relación sexual y que permanecían monógamas, Durante 3 años de vigilancia, 46% de ellas tuvieron una infección cervicouterina por VPH. La mediana de lapso hasta la infección fue menos de 3 meses; de este modo la infección por VPH es marcador de inicio de actividad sexual y no necesariamente signo de promiscuidad. Casi todas las lesiones por VPH, clínicas o subclínicas muestran regresión espontánea, en particular en adolescentes y mujeres jóvenes. Algunos estudios indican que las infecciones por VPH de bajo riesgo muestran una resolución más rápida que aquellas en que interviene el VPH de alto riesgo. Las mujeres más jóvenes suelen mostrar cambios en los tipos de VPH y ello refleja el carácter transitorio de la infección y la reinfección seriada con nuevos compañeros sexuales y no persistencia.<sup>5</sup>

Las estimaciones de riesgo a corto plazo de evolución desde la infección casual de VPH hasta la neoplasia de gradación alta en mujeres jóvenes varía desde 3 a 31%. El riesgo para que la lesión evolucione y llegue a ser una neoplasia de alta malignidad se intensifica con la edad y por ello la infección por VPH en mujeres de mayor edad y en ancianas muy probablemente sea una infección persistente.<sup>5</sup>

## PREVALENCIA, REGRESIÓN Y PERSISTENCIA.

El VPH genital es la infección de transmisión sexual observada con mayor frecuencia. En estados unidos los *Centers for disease control and prevention* (CDC) estiman que el riesgo de que una mujer se contagie de VPH a los 50 años, excede de 80%. Casi todas las infecciones incidentales por VPH aparecen en mujeres menores de 25 años. La prevalencia puntual en las estadounidenses de 15 a 59 años, según datos de una sola prueba de cribado de VPH en genitales es de 27%, Alcanza su máximo entre los 20 y 24 años de edad (45%) y muestra mayor prevalencia conforme la mujer tiene más años. En comparación la prevalencia de verrugas en genitales es de aproximadamente 1% y la de anormalidades citológicas menos de 10%. Los datos anteriores indican que la infección subclínica es mucho más frecuente que la clínica.<sup>5</sup>

La prevalencia de infección por VPH alrededor del mundo en mujeres va de un 2% a un 44%, más alta entre mujeres jóvenes, decayendo conforme la edad aumenta. Además, la incidencia de infección con tipos virales oncogénicos parece ser más alta que aquella con tipos virales no oncogénicos. La mayoría de las lesiones leves o moderadas revierten espontáneamente en individuos inmunocompetentes. Se sabe que más del 70% de las adolescentes sexualmente activas y mujeres jóvenes adquieren una infección por VPH. Sin embargo, la mayoría son transitorias y solo cerca del 25% desarrollan una lesión intraepitelial de bajo grado (LSIL por las siglas en inglés bajo el sistema Bethesda de clasificación de células cervicales displásicas). Después, solo del 20 a 40% de estas LSIL progresarán a lesiones intraepiteliales de alto grado (HSIL). Esto significa que de aquellas mujeres que en alguna ocasión adquieren infección por VPH, solo el 5 o 10% de ellas desarrollarán una HSIL, mientras que cerca del 90% de las mujeres infectadas no mostrarán evidencia alguna del tipo viral adquirido después de 12 a 36 meses. Sin embargo, en aquellos con una deficiencia inmune, heredada o inducida fármacológicamente, hay una fuerte tendencia para que la infección persista y malignice en caso de infección con VPH de alto riesgo oncogénico. Si el virus permanece en forma latente, una mujer que parece haber tenido una regresión de su infección entre sus visitas de seguimiento estaría aún en riesgo de desarrollar alguna lesión asociada al VPH. Se ha encontrado que la infección con múltiples tipos virales de VPH está asociada con persistencia. Los estudios de Bachtiry y van der Graaf sugieren que la infección múltiple está asociada con un mayor riesgo de progresión de la enfermedad. No está claro si esto es debido a la susceptibilidad del hospedero, la interacción entre los virus o la probabilidad de progresión independiente en cada tipo viral.<sup>6</sup>

## FACTORES DE RIESGO.

Para adquirir la infección por VPH los factores de riesgo más importantes son el número de compañeros sexuales de toda la vida y recientes y la edad en que ocurre la primera relación sexual (mayor riesgo cuando la edad es más temprana). El riesgo para desarrollar neoplasia cervicouterina guarda una relación importante con la infección genital persistente de VPH de alto riesgo, y edad mayor de la mujer. Se ha planteado que existen otros factores de riesgo tales como demográficos, conductual, y médico de menor relevancia para la aparición de neoplasias cervicouterinas.<sup>5</sup> A continuación se describen los de mayor identificación y relevancia.

**Edad:** la mediana de edad en que se diagnostica cáncer cervicouterino en los Estados Unidos es a los 48 años, aproximadamente 10 años después de diagnosticarse una Neoplasia Intraepitelial Cervical. Existen más posibilidades que una infección por VPH en mujer anciana sea persistente y no transitoria, La tercera edad también predispondrá a la acumulación de mutaciones que pueden culminar en transformación celular maligna.<sup>5</sup>

**Factores conductuales:** Los factores que se identifican con mayor consistencia para la neoplasia cervicouterina son el comienzo temprano de relaciones sexuales, múltiples compañeros sexuales, cónyuge o compañero que ha tenido múltiples parejas sexuales, tabaquismo, y deficiencias alimentarias. Los comportamientos agravan el riesgo de contagio de una infección por VPH oncógeno.<sup>5</sup>

Tabaquismo: Se relaciona con neoplasia cervical, sin embargo no es tanta la certeza de la relación que priva con el adenocarcinoma y el adenoescamoso. El tabaco también agrava los riesgos de enfermedad preinvasora y dicha relación persiste incluso después de hacer ajustes en cuanto a la positividad de VPH y el estado socioeconómico bajo. El tabaquismo actual, el número de cajetillas/años de uso y el tabaquismo para la fecha de la menarca se ha asociado con neoplasias cervicouterinas. La posibilidad biológica de un vínculo entre el tabaquismo y las neoplasias cervicouterinas queda reforzada por algunos puntos como: 1) el moco cervicouterino de las fumadoras contiene carcinógenos y es mutágeno; 2) las alteraciones genéticas del tejido cervicouterino de las fumadoras son similares a las identificadas en las neoplasias de otros sitios vinculadas con el tabaquismo; 3) el riesgo depende de la dosis y aumenta con la duración y cantidad de tabaco usado y 4) el riesgo reduce al interrumpir el tabaquismo.<sup>5</sup>

Deficiencias alimentarias: Se presume que la deficiencia de algunas vitaminas como la A, C y E, beta caroteno y ácido fólico pueden alterar la resistencia celular a la infección por VPH y con ello inducir la persistencia de la infección vírica y de la neoplasia cervicouterina. Sin embargo, al día de hoy sigue siendo un tema muy debatido ya que no se logra establecer una relación con estudios que sean estadísticamente significativos.<sup>5</sup>

Hormonas exógenas: Los datos de estudios que vinculan a la neoplasia cervicouterina con las hormonas exógenas son antagónicos y llenos de puntos de confusión como sería el incremento de la actividad sexual y el número de pruebas de Papanicolaou de detección sistemática en las usuarias. Aún más en términos generales los cánceres de células epiteliales no reciben influencia de factores hormonales. El mayor análisis de estudios epidemiológicos realizados hasta la fecha por el *International Collaboration of Epidemiological studies of Cervical Cancer* permitieron concluir que existe un mayor riesgo de cáncer en mujeres que utilizaban habitualmente los anticonceptivos orales combinados, que depende de la duración de uso. Aún más, el riesgo relativo casi se duplicó a los 5 años de uso de tales productos. El riesgo aumentado disminuyó al dejar a la usuaria de emplear estos medicamentos y el riesgo volvió al de las mujeres no usuarias 10 años después de interrumpir su uso. La *International Agency for Research on Cancer (2007)* clasifica a los anticonceptivos orales combinados como carcinógenos para los humanos. Entre los mecanismos posibles en la influencia de riesgo para Cáncer cervicouterino estaría la persistencia de la infección y la expresión del oncógeno de VPH. Sin embargo, el análisis de mujeres jóvenes participantes en el *Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance – Low Grade Intraepithelial Lesion Triage Study (ALTS)* detectó que las hormonas anticonceptivas no inyectables, el embarazo y la paridad ejercieron escaso efecto en el contagio de la infección de VPH de alto riesgo o el desarrollo de NIC 3. Finalmente, no se observó incremento de riesgo en posmenopáusicas que usaron estrógenos/progestágenos en el *Women's Health Initiative Study*.<sup>5</sup>

Paridad: se ha correlacionado la mayor paridad con riesgo de patología cervicouterina, pero no se sabe si ello depende del comienzo más temprano de actividad sexual, del efecto de la exposición a un progestágeno o de otros factores. Se han sugerido como factores etiológicos asociados con la génesis de las neoplasias cervicouterinas la supresión inmunitaria durante el

embarazo, las influencias hormonales en el epitelio cervicouterino y el traumatismo físico producto de los partos vaginales.<sup>5</sup>

Inmunosupresión: algunos estudios sugieren que las mujeres que tienen VIH, tienen índices mayores de NIC en comparación con aquellas pacientes VIH negativo. En aquellas infectadas incluso el 60% de las pruebas de Papanicolaou mostraron anormalidades citológicas e incluso el 40% tuvo signos colposcópicos de displasia. Gómez lobo *et al* han hablado que aquellas mujeres que reciben algún trasplante están expuestas a riesgo mayor de presentar cáncer después de tal método incluidas neoplasias de la porción inferior del aparato genital femenino y conducto anal. También se habla que aquellas mujeres que reciben fármacos inmunodepresores tienen índices mayores de neoplasia en la porción inferior del aparato mencionado y aquellas con inmunodepresión en términos generales tuvieron mayor intensidad, mayor perfil de lesiones multifocales, de ineficacias terapéuticas, de persistencia y recidiva de enfermedad de la porción inferior del aparato genital en comparación con aquellas que tienen función inmunitaria adecuada.<sup>5</sup>

## DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR VPH

Es posible entrever la presencia de infección por VPH por el aspecto de las lesiones clínicas y los resultados de estudios citológicos, histológicos y colposcópicos, todos los cuales generan datos subjetivos y a menudo inexactos. Además, tampoco es fiable el método serológico y con ello es imposible diferenciar una infección pasada de otra actual. Por esa razón, el diagnóstico seguro se podrá hacer únicamente por la detección directa del DNA del VPH, situación que se realiza por técnicas histológicas como la hibridación in situ, por estudios de amplificación de ácido nucleico, por la reacción de cadena de polimerasa (PCR) o por otras técnicas. En Estados Unidos en la actualidad la *Food and Drug Administration* (FDA) ha aprobado dos productos para uso en humanos. La prueba de DNA de VPH de alto riesgo llamada Digene HC2 utiliza una mezcla de sondas de RNA para detectar los trece tipos de VPH oncógeno. El nuevo método Cervista para identificar VPH de alto riesgo usa la amplificación de DNA para identificar los mismos trece tipos oncógenos de VPH tal como hace Digene HC2 y además un tipo más de VPH de alto riesgo (VPH 66). Los dos métodos detectan la infección por VPH de alto riesgo causado por uno o más de los tipos de virus incluidos en el conjunto de prueba, pero no identifican de manera específica cuál de los tipos de VPH de alto riesgo está presente. Sin embargo, cabe utilizar otra prueba llamada Cervista VPH 16/18, después de que una prueba Cervista VPH de alto riesgo resultó positiva para identificar de manera específica la presencia de los tipos 16 y 18 de VPH. Para realizar todos los estudios mencionados se reúnen células en un medio líquido para estudios citológicos que es la Solución PreservCyt (Prueba in Pap Test). Con Digene HC2 también es posible reunir material en un tubo de reunión específico.

Si se detectan las típicas verrugas genitales en una mujer joven o si se identifica una neoplasia cervicouterina de alta malignidad o un cáncer invasor, por estudios citológicos o histológicos, se supondrá que existe infección por VPH y no se necesitan métodos confirmatorios respecto al virus. No está indicada la práctica sistemática de métodos para identificar VPH fuera de algunas situaciones como: método de cribado inicial de cáncer cervicouterino en mujeres de 30 años o más; selección o vigilancia de algunos resultados citológicos anormales y también

vigilancia después de tratamiento. Tampoco están indicados los métodos de detección primaria de VPH en mujeres menores de 30 años o para cualquier indicación de las que tienen menos de 21 años ante los altos índices de prevalencia y las cifras de eliminación vírica en dichos grupos. En Estados Unidos, la FDA no ha aprobado la práctica de métodos para detectar VPH en mujeres después de histerectomía total. No existe ya indicación clínica alguna para practicar métodos en caso de VPH de bajo riesgo pues si se realizan pueden surgir gastos inapropiados, necesidad de más valoraciones y tratamiento innecesario

Detección de VPH: la detección se facilita mediante avances en biología molecular. Las pruebas para detección de VPH están siendo usadas en mayor proporción y se dividen en tres categorías<sup>3</sup>

DNA de VPH: fue la primera medida desarrollada como prueba clínica de rutina. Algunos estudios han demostrado que la adición de la prueba de DNA de VPH a la citología cervical ha mejorado la sensibilidad para la detección de precursores de cáncer cervicouterino como neoplasia cervical intraepitelial grado 2 y 3. Sin embargo la especificidad también se redujo, y resulta en disminución de referencia de mujeres para colposcopia.<sup>3</sup>

Pruebas de RNA de VPH: Específicamente busca la expresión de RNA de las proteínas E6 y E7, puede realizarse con la expectativa que la expresión de oncogenes de VPH debería darnos mejor información respecto a sensibilidad y especificidad comparada con las pruebas de DNA de VPH. Esta prueba se aprobó recientemente por la *Food and Drug Administration* (FDA) como prueba de detección para virus de papiloma humano, ya que mejora significativamente la detección de NIC 2 o superiores. Así como disminuye el número de pruebas falsas positivas en la detección de VPH comparado con la detección de DNA de VPH.<sup>3</sup>

Detección de marcadores celulares: este tipo de prueba usa un abordaje diferente para las enfermedades asociadas a VPH. La proteína E7 de VPH altera el ciclo celular llevando a la célula a un incremento de la expresión celular de p16. Las lesiones de alto grado contienen altos niveles de p16 y los patólogos frecuentemente se ayudan de técnicas inmunológicas en biopsias cervicales para distinguir entre lesiones de alto grado y metaplasia escamosa inmadura la cual no estaría asociada con VPH y no es precancerosa. Aunque ninguno de las pruebas basadas para p16 se ha aprobado aún por la FDA, un estudio que investiga la combinación de p16/ki67 ha demostrado sensibilidad superior para detectar displasia cervical de tipo lesión intraepitelial escamosa de alto grado (comparado con Papanicolaou)<sup>3</sup>

#### Algoritmos metodológicos en el diagnóstico de VPH

Existen diversos algoritmos para el diagnóstico de VPH, sin embargo, aquellos que tienen la mayor sensibilidad/especificidad son los que están basados en técnicas moleculares; dentro de toda la gama de algoritmos/técnicas se encuentran aquellos basados en morfología celular, tales como la citología exfoliativa (Papanicolaou), colposcopia e inspección visual. Otra variedad de técnica es la basada en técnicas inmunológicas como es la detección de anticuerpos anti – Virus de papiloma humano (ELISA, VLP (partículas recombinantes parecidas a virus), búsqueda de proteínas E6 y E7). A continuación se detallan las técnicas moleculares.<sup>4</sup>

## Detección de proteínas VPH.

### Inmunohistoquímica

Es una técnica inmunológica con gran espectro de uso. Duncan y colaboradores demostraron que la inmunohistoquímica se usa para detectar VPH en carcinoma escamoso celular en cavidad oral. En este estudio las muestras de la cohorte retrospectiva se analizaron para p16 y VPH, y se compararon con los resultados obtenidos por PCR. Los estudios demostraron que p16 (+) por inmunohistoquímica (3+) correlaciona con la positividad para VPH en la PCR. La sensibilidad en detección de VPH por inmunohistoquímica es baja con alta especificidad; en casos de condilomatosis y displasia moderada los antígenos de la cápside de VPH se demostraron por inmunohistoquímica en aproximadamente 60% de las lesiones, pero en varias lesiones la tasa de detección declino hasta 22%<sup>4</sup>

### Microscopía electrónica

Es una técnica de alto costo que permite la detección de VPH. Borichand y colaboradores realizaron un análisis en 5 pacientes con fibropapilomatosis. Los autores detectaron partículas virales esféricas de 40-55nm en células epiteliales no queratinizadas. La desventaja de esta técnica es la falta de disponibilidad para la población y el alto costo de estudio, así como de mantenimiento para equipos.<sup>4</sup>

### Western Blot

Es otra herramienta para detección de proteínas de VPH, existen múltiples estudios que usan este método para la detección de proteínas de VPH. Suchankova y colaboradores compararon resultados de ELISA y Western Blot para la determinación de anticuerpos contra E7 de VPH 16. En este caso se encontró alto grado de concordancia entre las pruebas realizadas. Existe un formato alternativo de Western Blot que incluye el análisis de extractos de la línea Celular CaSki de cáncer cervicouterino, ya que estas expresan VPH16, usando anticuerpos monoclonales de ratones WB16E7.<sup>4</sup>

## Detección de Genoma de VPH

### Métodos Directos

**Southern Blot:** Esta técnica por sí misma esta propensa a errores de interpretación y desarrollo. La precisión y acuciosidad de los ensayos son variadas para establecer los estándares de referencia en esta área de diagnóstico molecular. El Southern Blot puede tener una utilidad clínica para los test de VPH pero no será de primera elección por las cuestiones comentadas.<sup>4</sup>

**Hibridación *In Situ*:** el principio básico de esta prueba está basada en la hibridación de ácidos nucleicos de cadena sencilla. En este caso la técnica emplea moléculas de sonda etiquetadas para detectar las moléculas complementarias. Esta técnica es un método altamente sensible en el diagnóstico y genotipificación de VPH. Todos los carcinomas cervicouterinos tienen al menos un tipo viral de VPH de alto riesgo<sup>4</sup>

## Amplificación de señales.

Captura de Híbridos: es uno de los métodos más estrechamente utilizados en el tamizaje de VPH (EEUU). Esta técnica está basada en una combinación de información de RNA de VPH con información acerca del virus. Esta técnica permite identificar los 13 tipos de alto riesgo: 16,18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68, un ejemplo de esta técnica es el *Hybrid Capture II (HC2)*, esta técnica se basa en el uso de células cervicales, se libera su DNA, se desnaturaliza y se incuba con sondas de RNA que permiten que la hibridación sea detectada por adhesión de sustrato el cual reacciona con fosfatasa alcalina.<sup>4</sup>

## Amplificación “diana”

PCR: se ha usado como la base de las técnicas de tipificación y detección de DNA de VPH. Es una de los métodos más comunes y usados. El método más frecuentemente usado es aquel que amplifica el gen L1 y codifica proteínas estructurales de la cápside viral, los primers usados son MY09/MY11, GP5+ y GP6+. Debido a algunas desventajas de estos primers y la presencia de ORF (marco de lectura abierto) que puede perderse cuando los virus se integran al genoma se puede perder la amplificación y darnos un resultado falso negativo. Por eso se han creado sistemas específicos para tipificar con PCR, utilizando oligonucleótidos para los genes E6 y E7 los que se mantienen intactos durante la integración viral de la misma manera, estos genes están permitidos para el uso de otras variantes de PCR como es PCR en tiempo real, la cual permite determinar carga viral.<sup>4</sup>

## Indicaciones para pruebas de detección. El rol de las pruebas de VPH en evolución

Cáncer cervical: las pruebas de VPH como parte de un programa de tamizaje para mujeres está indicado en poblaciones específicas de preferencia aunado a una prueba como lo es la citología exfoliativa, aunque el tamizaje primario puede ser efectivo en áreas de bajo nivel socio económico. No existe un papel de pruebas para VPH en aquellas mujeres que ya han recibido el diagnóstico de cáncer cervical y no se usa de manera rutinaria para normar conducta.

Otras indicaciones son en casos de cáncer de cabeza y cuello asociado clínicamente con infección por virus de papiloma humano; cáncer anal por la relación con las lesiones escamosas intraepiteliales anales y en aquella(o)s pacientes que se encuentren con diagnóstico de VIH. En los casos de cáncer de pene no se recomienda el tamizaje para infección por VPH para detección de cáncer de pene o lesiones precancerosas. Además, estas pruebas no tienen impacto en la decisión de medidas terapéuticas.<sup>4</sup>

## Tratamiento de infección por VPH.

Las indicaciones para tratar este tipo de trastornos, son verrugas sintomáticas que originan molestias físicas o psicológicas, neoplasias de alta malignidad o cáncer invasor. Se cuenta con distintas modalidades terapéuticas contra las verrugas y se seleccionan con arreglo al tamaño,

sitio y número de ellas. Cabe utilizar la eliminación o destrucción mecánica, inmunomoduladores tópicos o coagulación química o térmica. No existe un tratamiento eficaz contra la infección subclínica por VPH. En los intentos imprácticos de erradicar infecciones por VPH se puede producir daño físico innecesario a la poción inferior del aparato genital de la mujer porque tales cuadros ceden por sí solos en determinadas poblaciones.<sup>5</sup>

## REPORTE MUNDIAL DE GENOTIPOS VIRALES

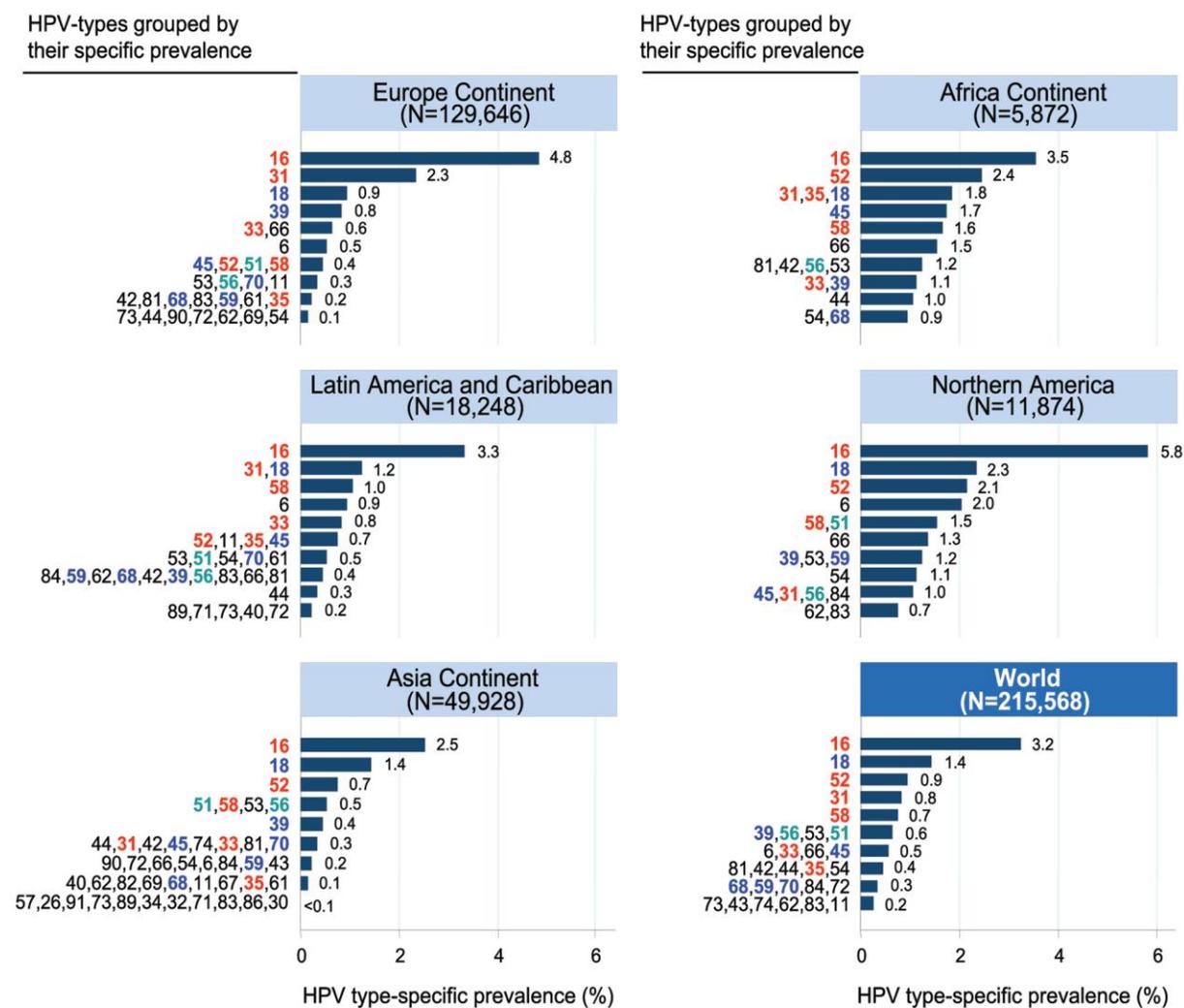
Cada día es mayor la información que poseemos acerca de la infección por VPH, existen distintas series que hablan acerca de la prevalencia de acuerdo a ubicación geográfica, mismas que citaremos.

En un estudio realizado por la agencia internacional para la investigación en cáncer (IARC), de carácter multicéntrico que recogió datos de 15 áreas en 4 continentes con pacientes femeninos de entre 15 y 74 años. La prevalencia estandarizada por edad iba desde el 5% en algunos países mediterráneos y del sureste asiático hasta del 15% en algunos países de América y poblaciones de África. De acuerdo al grupo etario más afectado se encontró que era el de mujeres jóvenes (menores de 25 años), en América existió un segundo grupo etario afectado que incluía a las mujeres en la postmenopausia. La prevalencia de genotipos virales en lesiones cancerosas y precancerosas en este estudio se reporta en mayor proporción para el genotipo 16 con un 50 – 60% de las pacientes estudiadas, el segundo lugar en frecuencia es para el genotipo 18 con un 20% aproximadamente, seguido por el genotipo 45 (4-8%) y el 31 (1-5%), estos genotipos aunados al genotipo 33, representan el 80% de los carcinomas escamosos y hasta en el 94% de los adenocarcinomas. En este estudio al igual que en otros estudios de revisión se hace mención que el genotipo viral VPH – 18 es más frecuentemente encontrado en adenocarcinomas.<sup>8</sup>

En el artículo *Cervical Human Papillomavirus Prevalence in 5 Continents: Meta Analysis of 1 Million Women with normal Cytological Findings*. (Prevalencia de VPH cervical en 5 continentes: Metaanálisis de 1 millón de mujeres con hallazgos de normalidad en citología), se recabaron 194 estudios de Enero de 1995 a Mayo de 2009 que incluyeron 1,016,719 mujeres; la prevalencia global estimada fue del 11,7%, y de ese total se distribuyó el 24% en el África Subsahariana, el 21,4 % en Europa, y el 16.1% en Latinoamérica, cabe destacar que estos 3 grupos fueron los de mayor prevalencia en el estudio; de acuerdo a distribución etaria existieron dos grupos más afectados, el primero se dio en aquellas menores de 25 años y un segundo grupo de mayores de 45 años en los estudios que abarcaban África y América. Respecto a los genotipos virales más frecuentemente encontrados mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR) y captura de híbridos (HC2) (n= 215,568), se reportó de la siguiente manera<sup>7</sup>:

Genotipo	Porcentaje
VPH – 16	3,2%
VPH – 18	1,4%
VPH – 52	0,9%
VPH – 31	0,8%
VPH – 58	0,7%

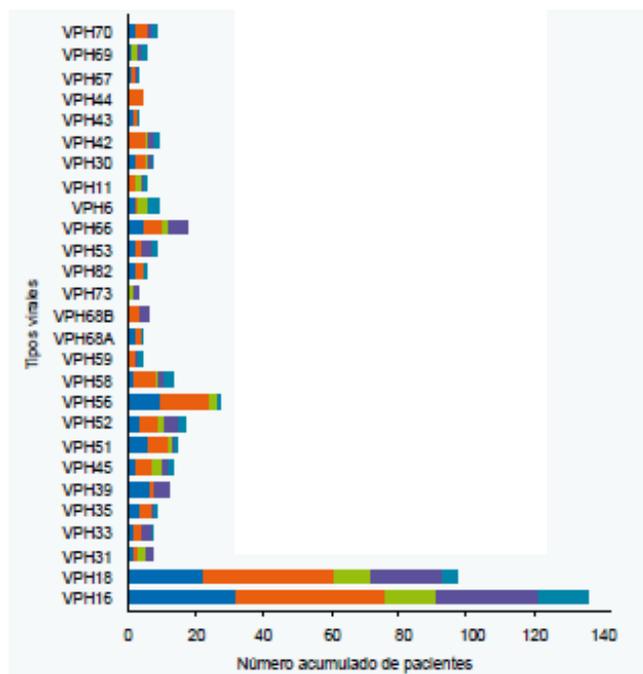
La distribución de los genotipos virales más frecuentes por continente se expresa en las siguientes gráficas.



Tomado de: Cervical Human Papillomavirus Prevalence in 5 Continents: Meta-Analysis of 1 Million Women with Normal Cytological Findings. Bruni L, Díaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch X, Sanjosé S. The Journal of Infectious Diseases 2010; 202(12):1789–1799

García *et al* realizaron un reporte de hospitales en Bogotá, de los cuales se determinó que los genotipos virales 16 y 18 fueron los más frecuentes en las pacientes estudiadas; los siguientes tipos virales más frecuentes fueron VPH 56, 52 y 66. También como hallazgo se reportó que las infecciones múltiples fueron más frecuentes que las infecciones simples. Cabe mencionar que la genotipificación de VPH se dio mediante técnicas de PCR.<sup>9</sup>

En la siguiente imagen se muestra la distribución de acuerdo a tipos virales reportados en el estudio de García *et al*.



Tomado de; Genotipificación del Virus de Papiloma Humano (VPH) en muestras de cepillados cervicales de pacientes de diferentes hospitales de Bogotá y evaluación de la concordancia de dos métodos basados en PCR. García *et al*. Rev Colomb Obstet Ginecol vol 61, No. 4, Bogotá Oct/Dec 2010.

Banura *et al*. realizaron una revisión de 20 estudios desarrollados en Uganda, la genotipificación resultó con un mayor reporte de VPH 16 y 18 como infección concomitante con un ~50%; en segundo lugar, se encontró VPH 16 en la mayoría de los estudios, sin embargo, pocos reportaron VPH 18 o 33 en el segundo lugar de prevalencia. Podemos encontrar que el estudio concuerda con la mayoría de las series mundiales.<sup>10</sup>

En 2015, se realizó una revisión bibliohemerográfica acerca de la prevalencia mundial de genotipos virales de VPH, se incluyeron estudios que genotipificaban mediante el método Linear Array el cual se basa en: la extracción de ADN de células provenientes de cérvix; La amplificación del ADN mediante PCR con oligonucleótidos universales para VPH, los cuales están biotinilados, La hibridación de los productos amplificados con sondas de oligonucleótidos específicos para cada tipo de VPH y; La detección de las sondas mediante determinación colorimétrica.<sup>11</sup>

Este estudio reportó la prevalencia de acuerdo a pacientes sin lesión aparente, en aquellas con LIEBG y con LIEAG. Se demostró que el VPH – 16, fue el tipo viral más frecuente en todos los grupos donde se contaba con antecedente de lesión cervical (Específicamente LIEAG), seguido por VPH – 18 y 31. Con respecto a los genotipos de VPH más comúnmente encontrados en LIEBG, se encontró además de VPH – 16, alta prevalencia de infección con el VPH - 84 en México y Suecia. Otros estudios también han reportado alta frecuencia de este genotipo viral en Chile y Egipto; y en contraste, el VPH – 35 es el más frecuente en Sudáfrica. Finalmente las pacientes que no tenían lesión cervical asociada presentaban cierta discrepancia ya que se reporta VPH 16 como principal genotipo en México, Estados Unidos, Suecia, Sudáfrica y Australia, concomitantes con otras infecciones por VPH 52, 56, 59, 53 (Suecia), 35 (Sudáfrica), 62 (México); mientras que Tanzania muestra como principal patógeno el genotipo 58, mismo que es encontrado de forma relativamente frecuente en el sureste de México (Yucatán).<sup>11</sup>

El estudio realizado mediante detección con Linear Array demostró que además del VPH 16 y 18, los genotipos 31, 33, 35, 45, 52 y 58 son muy prevalentes, especialmente en casos de malignidad en la mayoría de las regiones geográficas por lo que es necesario implementar estrategias de detección y prevención.<sup>11</sup>

El New England Journal of Medicine (NEJM), publicó una revisión a cargo de Nubia Muñoz y colaboradores en 2003, quienes forma parte de la IARC, dicho estudio recabó información de 11 estudios de casos y controles que se habían realizado en 9 países con aproximadamente 1918 pacientes en el grupo de casos y 1928 en controles, se realizó tipificación viral mediante técnica de PCR.<sup>12</sup>

Se detectó ADN de VPH en 1739 de las pacientes que estaban diagnosticadas con cáncer cervical, así como en 259 del grupo control (13.4%). Los genotipos virales más frecuentemente reportados fueron el 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58 y 35, resultado que permitió reportar alta concordancia entre los reportes mundiales previamente hechos, así como con las clasificaciones epidemiológicas<sup>12</sup>.

Finalmente, se ha hablado de como algunas poblaciones específicas tienen reportes distintos de prevalencia respecto al genotipo, tal es el caso de la población afroamericana, quienes se han estudiado ya que ninguna de las vacunas Gardasil o Cervarix son capaces de proveer adecuada inmunidad. El estudio realizado por la Dra. Catherine Hoyo en La universidad de Duke menciona que las mujeres de población afroamericana también están afectadas por el genotipo 16 y 18, pero de manera más infrecuente (aproximadamente el 50% de la afección a americanas nativas). El estudio que se ha realizado reporta una prevalencia en orden de frecuencia para mujeres afroamericanas de VPH 33, 35, 58, y 68. También se reporta que por el momento no existen datos de población hispano – americana que permitan realizar conclusiones inmediatas.<sup>13</sup>

### **3.- PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es el tipo viral más frecuente en ésta población en el período de 9 años?

¿Los tipos virales más frecuentemente descritos en la literatura mundial corresponden con el de esta investigación?

¿Cuál es el tipo viral de alto riesgo más encontrado?

Si se encontraron tipos virales de bajo riesgo ¿Cuál(es) es (son) el (los) más frecuentemente encontrado(s)?

¿Cuál es la edad con más afección en este estudio?

### **4.- JUSTIFICACIÓN**

Dado que el Virus de Papiloma Humano es reconocido como el principal factor etiológico en el desarrollo de Cáncer Cervicouterino, es importante conocer la prevalencia de todos y cada uno de los genotipos en nuestra población

## **5.- OBJETIVO GENERAL**

Reportar cuál es el genotipo viral más frecuente en la población estudiada, así como la frecuencia de los otros genotipos.

## **6.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1.- Describir los genotipos virales descritos en la literatura mundial, así como los de la población estudiada

2.- Distinguir los factores de riesgo que estén presentes en pacientes portadoras del Virus de papiloma humano

3.-Nombrar qué grupo etario se ve más afectado por la infección por Virus de Papiloma Humano y en qué grupo es más frecuente la infección por Virus de alto riesgo en la población estudiada.

## **7.- HIPÓTESIS**

“Los tipos virales de alto riesgo y bajo riesgo descritos mundialmente como más frecuentes corresponden con los de nuestra investigación”

## **8.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La infección por Virus de Papiloma humano de alto riesgo, es la responsable de la mayoría de los casos de cáncer cervicouterino, se necesita conocer cuáles son los tipos virales que están afectando a la población en estudio, así como saber o conocer el estado clínico de la paciente, su progresión y correlación con estudios previos como son citología y/o colposcopia.

Actualmente existen distintas técnicas de biología molecular para conocer los distintos genotipos causales de una infección por Virus de Papiloma Humano; ésta investigación se basa en 2 técnicas: Reacción en cadena de polimerasa anidada utilizando oligos degenerados y mediante digestión enzimática de DNA viral mediante RFLP.

## 9.- METODOLOGÍA

### 9.1.- Tipo y diseño general del estudio

Estudio Observacional, Descriptivo, Transversal y Comparativo que hará mención de los genotipos virales detectados en pacientes en población de medio privado en un lapso de 9 años y 3 meses (enero de 2007 a marzo de 2016).

Se estudiará la población mencionada para conocer los diferentes tipos virales de VPH que afectan a las mujeres de este subgrupo de población mexicana, la tipificación viral se realizó mediante Reacción en cadena de polimerasa anidada utilizando oligos degenerados que amplifican una secuencia específica de la región E1 de 13 genotipos de VPH reportados y un segundo grupo lo hizo mediante digestión enzimática de DNA viral mediante RFLP (restriction fragment length polymorphism).

### 9.2.- Grupo de Estudio

-

Pacientes femeninos de todas las edades que sean captadas en la práctica ginecológica privada del Hospital Ángeles México en un grupo médico ginecológico, separándolas en 2 grupos: 1) aquellas que cuenten con el diagnóstico previo de infección por virus de papiloma humano ya sea mediante citología, estudio histopatológico o colposcopia.; 2) aquellas que soliciten el estudio.

“Muestreo por conveniencia”

### 9.3 Variables

Dependiente	Independiente
Genotipo viral	Edad Sexo Grado de Escolaridad Parejas Sexuales Antecedente ETS Tabaquismo Inicio de Vida Sexual

#### **9.4.- Recolección de Información**

Se realizó revisión de base de datos de Tipificación viral y reporte citológico (Papanicolaou) del Dr. Conrado Grados García mediante búsqueda de Adobe Reader, además de revisión de expedientes para recaudación de datos y antecedentes respecto de cada paciente en el grupo ginecológico mencionado en el Hospital Ángeles México.

#### **9.5.- Criterios de inclusión y exclusión**

##### Inclusión

Pacientes en las que se haya realizado citología y ésta resultase como positiva.  
Pacientes en la que se haya realizado colposcopia y resultase alterada.  
Pacientes que solicitaran el estudio de tipificación viral.  
Pacientes con factores de riesgo para infección por Virus de Papiloma Humano.  
Pacientes con antecedentes de alguna patología oncológica.

##### Exclusión

Pacientes con colposcopia con reporte de normalidad.  
Pacientes que no acepten estudio de tipificación Viral.  
Pacientes sin aplicación para estudio de tipificación Viral.  
Pacientes embarazadas.

#### **9.6.- Procedimientos para la recolección de información, instrumentos a utilizar y métodos para el control de calidad de los datos**

Revisión de base de datos del Médico Patólogo Dr. Conrado Grados García, mediante recurso multimedia (computadora), así como revisión de historia clínica de pacientes en estudio; se recolectan en hoja de Excel para mejor organización y filtración

#### **9.7.- Aspectos éticos**

Investigación sin riesgo.

Ya que esta investigación solamente abarca el uso de base de datos de la consulta de Ginecología de un grupo médico del Hospital Ángeles México y no existe intervención en individuos de estudio; no fue necesaria la firma de consentimiento informado por las pacientes del estudio. Los nombres de las pacientes no son revelados.

El protocolo de estudio es presentado por el investigador como trabajo de Tesis para obtención de grado de especialista en ginecología y obstetricia.

### **9.8.- Plan de análisis de los resultados:**

Se plasman los resultados mediante gráficas de pastel, barras y lineales en las que se expresan los resultados obtenidos y posteriormente el análisis y comparativa.

### **9.9.- Programas a utilizar para análisis de datos**

Microsoft Excel.

### **10.- PRESUPUESTO**

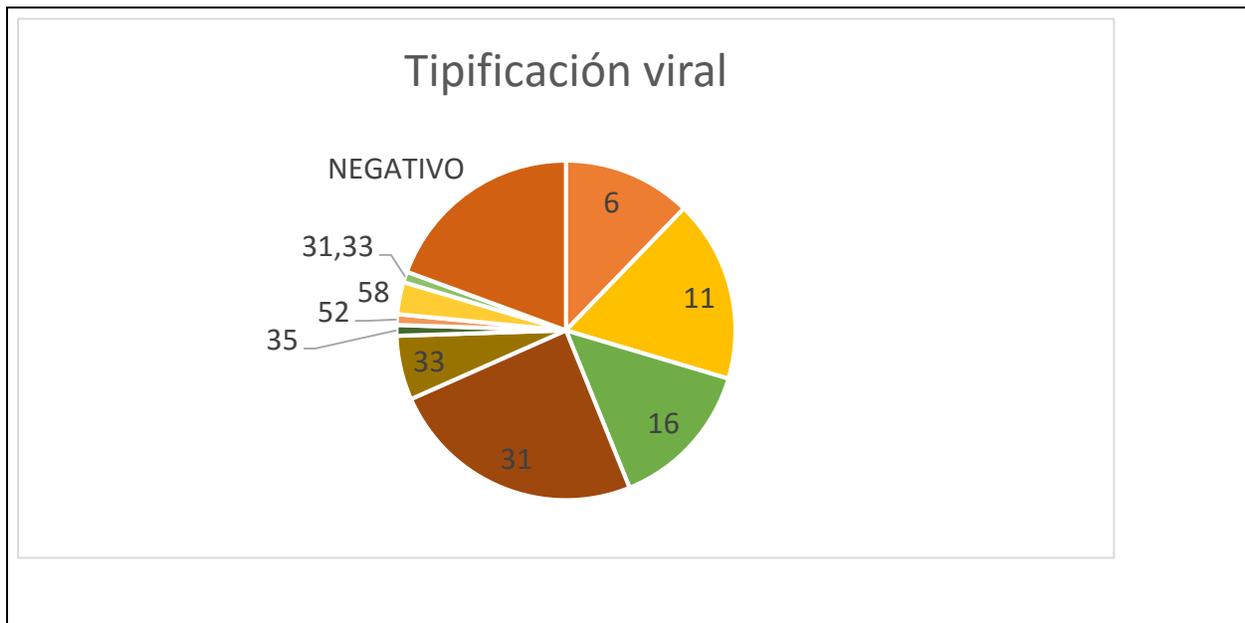
Al tratarse de estudio observacional y comparativo no es necesario un presupuesto, se realizó investigación, captura de información, análisis y desarrollo mediante equipo de cómputo.

## 11.- RESULTADOS

Se recolectaron 100 resultados de tipificación viral, de los cuales 2 fueron excluidos por tratarse de pacientes masculinos (uno con VPH - 6 y otro con resultado negativo)

De los casos de tipificación positivos hubo discrepancia respecto a lo reportado en la literatura mundial ya que el genotipo 16 es el más frecuente en la literatura, y en nuestra población estudiada el más frecuente fue el genotipo 31 alcanzando los 24 casos. (Ver tabla 1, Ver gráfica 1).

Hablando de resultados, el segundo desenlace más frecuente al buscar esta información fue el de tipificación viral negativa que alcanzó los 19 casos.



Gráfica 1: Proporción de genotipos virales encontrados, se observa la predominancia del genotipo 31, 6, 11, 16 y las genotipificaciones negativas.

Un aspecto que llama la atención en esta población es la ausencia de pacientes portadoras de VPH 18, descrito mundialmente como uno de los dos principales de alto riesgo.

Los casos reportados con virus de bajo riesgo que son los de pacientes afectadas por genotipo 6 y 11 suman en conjunto 29 casos (12 y 17 casos, respectivamente) que representa casi una tercera parte de las pacientes estudiadas mediante tipificación viral.

Genotipo	Casos	Porcentaje
6	12	12.3%
11	17	17.3%
16	14	14.3%
31	24	24.5%
33	6	6.2%
35	1	1%
52	1	1%
58	3	3%
31, 33	1	1%
Negativo	19	19.4%

Tabla 1. Se demuestra la mayor proporción del genotipo viral 31, llama la atención que solo se reportó un caso con coinfección. (genotipos 31 y 33).

El año en el que se realizaron más estudios de tipificación fue en 2015, mientras que los que tuvieron menos pacientes fueron de 2007 a 2009.



Gráfica 2. Número de pacientes sometidas a tipificación viral desde 2007 a 2016.

Dentro de las características de la población estudiada, se encuentran: Reporte de citología exfoliativa previo a tipificación, tabaquismo, número de parejas sexuales, inicio de vida sexual, escolaridad, y antecedente de enfermedades de transmisión sexual. Dichas características se describen en la tabla 2.

Respecto a los resultados de citología exfoliativa se recabaron de acuerdo a resultado: Positivo o Negativo para Lesión o malignidad compatible con Virus de Papiloma Humano, se encontró que 72/98 pacientes tuvieron una citología exfoliativa positiva (74%), mientras que solamente 26 tenían citología exfoliativa negativa (ver gráfica 3), estas pacientes tuvieron una

discordancia cito – colposcópica por lo que se decidió la realización de tipificación; de éstas pacientes, 11 tuvieron resultado de genotipificación positivo con predominancia del genotipo VPH – 6 con 3 casos, seguido por dos casos de VPH 16 y 31, cada uno (alto riesgo), y reporte de un caso por cada genotipo de VPH - 11, 31 Y 33(concomitante), 52, y 58.



Gráfica 3. Pacientes con antecedente de citología exfoliativa positiva y negativa

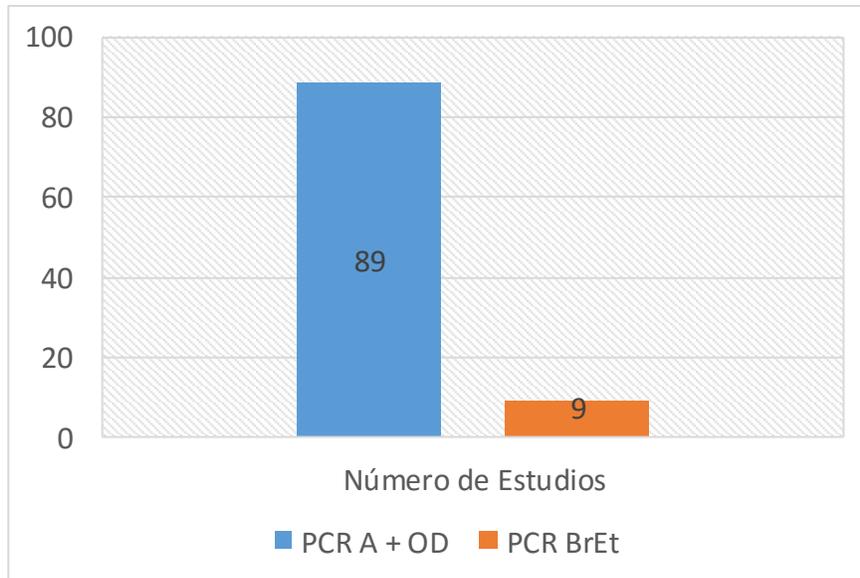
En el estudio de las 98 pacientes de esta población, la edad reportada iba desde los 16 hasta los 62 años; el grupo etario que más se realizó pruebas de genotipificación fue el de 25 a 34 años que sumó 56 casos (~57%), y dentro de este grupo existieron 45 pruebas positivas y 11 negativas. Las pruebas positivas correspondieron a 6 casos de VPH – 6, 11 casos de VPH – 11, 4 casos de VPH – 16, 16 casos de VPH – 31 (el más frecuente de esta población), 3 casos de VPH – 33, 1 caso de infección concomitante de VPH 31 y 33, 1 caso de VPH – 35, 1 caso de VPH 52, y 2 casos de VPH – 58. Dentro de este mismo grupo etario se vio reflejado que 26 pacientes tenían antecedente de tabaquismo (46% de este grupo etario), y que de las pacientes afectadas con algún virus de alto riesgo (16, 31, 33, 35, 52 o 58) casi la mitad refiere tabaquismo positivo, mismo que se encuentra relacionado como factor de riesgo para la infección por virus de papiloma humano. Se decidió hacer énfasis en este grupo etario para conocer los genotipos ya que es bien sabido que en pacientes jóvenes se puede dar regresión por una respuesta inmune adecuada.

<b>Características de Población en estudio</b>		
<b>Característica</b>	<b>Total</b>	
	<b>Número</b>	<b>(%)</b>
<b>Edad(años)</b>		
<25 años	15	15.3
25-34	56	57.2
35-44	23	23.5
45-54	2	2
55-64	2	2
>65	0	0
<b>Inicio de Vida Sexual</b>		
<18 años	22	22
18 – 24 años	71	73
25- 34 años	5	5
<b>Parejas sexuales</b>		
1-2	45	46
3-4	33	34
5-6	12	12
7 o >	8	8
<b>Enf. Transmisión Sexual</b>		
Sí	0	0
No	98	100
<b>Tabaquismo</b>		
Positivo	59	60
Negativo	39	40
<b>Citología Exfoliativa</b>		
Positiva	72	73
Negativa	26	27
<b>Escolaridad</b>		
Licenciatura o Ingeniería	66	67
Bachillerato	22	23
Secundaria o menor	10	10

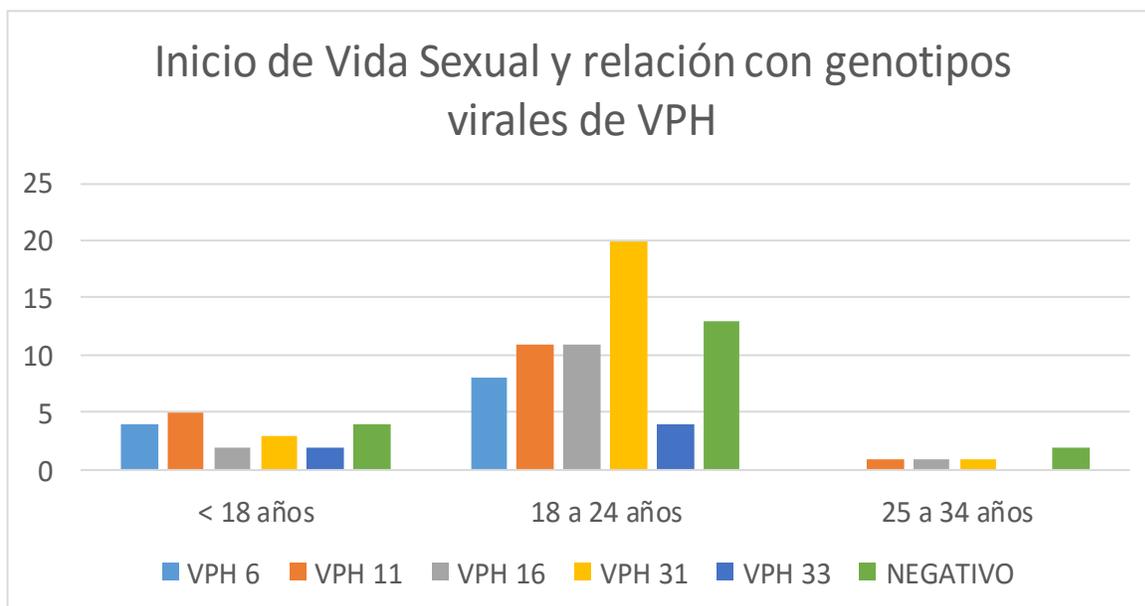
Tabla 2. Características demográficas de población estudiada.

Dentro de los estudios que se realizaron, existieron dos métodos para la genotipificación, el primero fue mediante Reacción en cadena de polimerasa anidada utilizando oligos degenerados que amplifican una secuencia específica de la región E1 de 13 genotipos de VPH reportados y un segundo grupo lo hizo mediante PCR BrEt - digestión

enzimática de DNA viral mediante RFLP (restriction fragment length polymorphism). Solamente se realizaron 9 estudios mediante PCR BrEt, mientras que 89 estudios fueron mediante el primer método. (Gráfica 4)



Gráfica 4. Muestra de estudios mediante PCR + OD (Reacción en cadena de polimerasa + Oligos degenerados) y mediante PCR BrEt mediante RFLP (Restriction fragment length polymorphism)



Gráfica 5. Correlación de Inicio de Vida Sexual (en años de edad) con genotipos virales más frecuentes en cada grupo.

La frecuencia de infección por VPH en relación al inicio de vida sexual activa se ve de manera más marcada en aquellas pacientes que tuvieron su primera relación sexual en edades tempranas; existen antecedentes en literatura en los que se comenta que la infección

(aparición) por virus de papiloma humano se puede ver relacionado directamente con la primera relación sexual, ya que el riesgo de haber contraído infección por virus de papiloma humano en una mujer de 50 años, excede el 80%. En la población estudiada el grupo más afectado con infección por VPH fue aquel que tuvo inicio de vida sexual entre los 18 y 24 años, con un hallazgo de VPH 31 en primer lugar (como sucedió en la población general estudiada), seguido por genotipificación negativa y en tercer lugar se encontraron los genotipos 11 y 16.

En aquellas pacientes que tuvieron inicio de vida sexual aún más temprana (<18 años) los genotipos más frecuentemente encontrados fueron VPH 11 (5 casos) y VPH 6 (4 casos), con lo que podríamos definir que este grupo se ve afectado por genotipos de bajo riesgo. (Ver gráfica 5).

Dentro de las características demográficas del grupo estudiado se halló que ninguna de las pacientes contaba con el diagnóstico previo de alguna enfermedad de transmisión sexual, o no se conocía como portadora de alguna; dicho elemento no fue comprobado mediante examen en fresco, cultivos o tinciones; solamente se interrogó dentro de los antecedentes de la paciente.

El tabaquismo que ha sido descrito como un factor de riesgo para el desarrollo de displasias y/o neoplasias se encontró positivo en el 60% del universo estudiado, sin embargo, de las pacientes que tuvieron una tipificación positiva (n=79), el 46% tenía antecedente de tabaquismo positivo mientras que el 54% tuvo antecedente de tabaquismo negativo. Es importante poder conocer posteriormente la evolución de las pacientes que tenían tabaquismo positivo y que dieron resultado de genotipificación negativa.

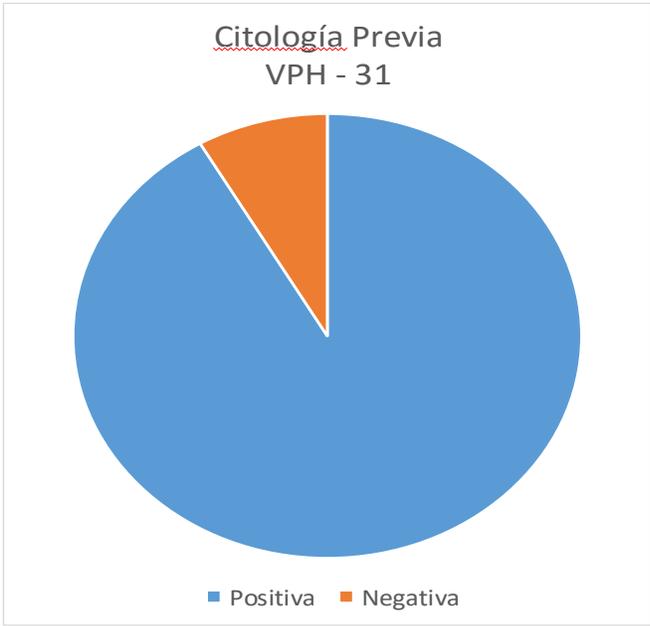
A continuación, se abordará el caso especial de las pacientes con genotipificación positiva para VPH – 31, esto para conocer las características del grupo que fue portador del genotipo viral más frecuente de esta investigación.

Casi una cuarta parte del universo estudiado fue diagnosticado con infección por VPH – 31, esto representa el 24.5% (24 de 98 pacientes sometidas a genotipificación), además se presentó una coinfección de VPH 31 con 33. Las características de las pacientes con este genotipo viral son:

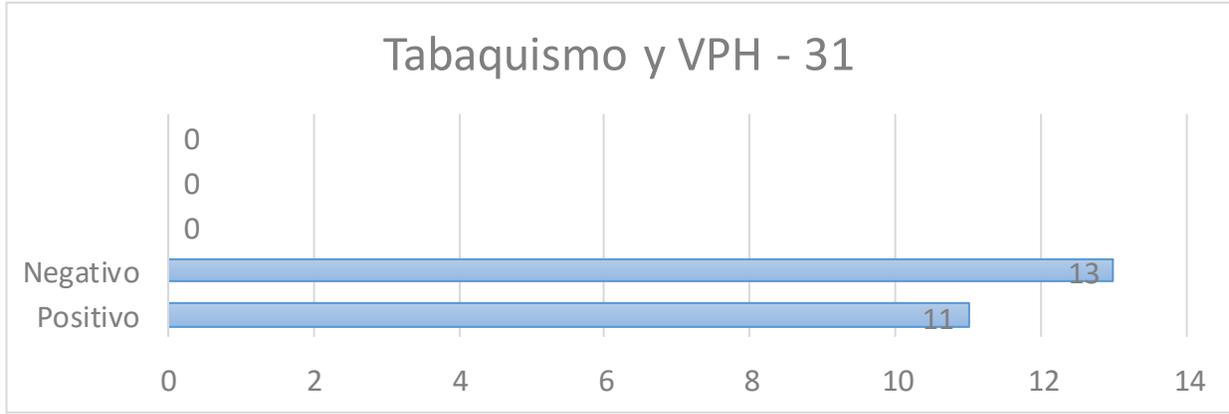
23 diagnósticos se realizaron mediante PCR anidada + Oligos degenerados y 1 mediante PCR BrEt.

22 pacientes contaban con antecedente de citología exfoliativa positiva para infección por VPH, mientras que 2 tenían antecedente de citología negativa. (Gráfica 6).

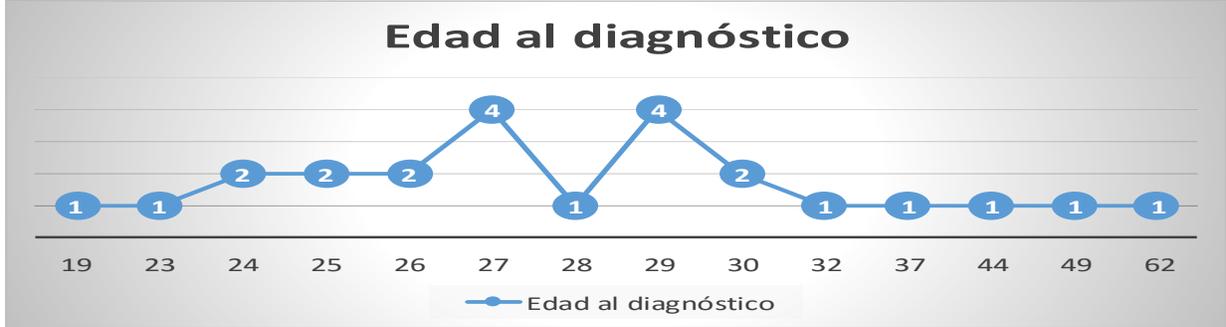
La relación de tabaquismo positivo: negativo, fue de 11:13, sigue predominando el antecedente de tabaquismo negado en pacientes con genotipificación positiva. (Gráfica 7)



Gráfica 6. Relación de pacientes con Citología previa, Positiva y negativa en pacientes con hallazgo de VPH-31.



Gráfica 7. Tabaquismo en las pacientes genotipificadas con VPH - 31



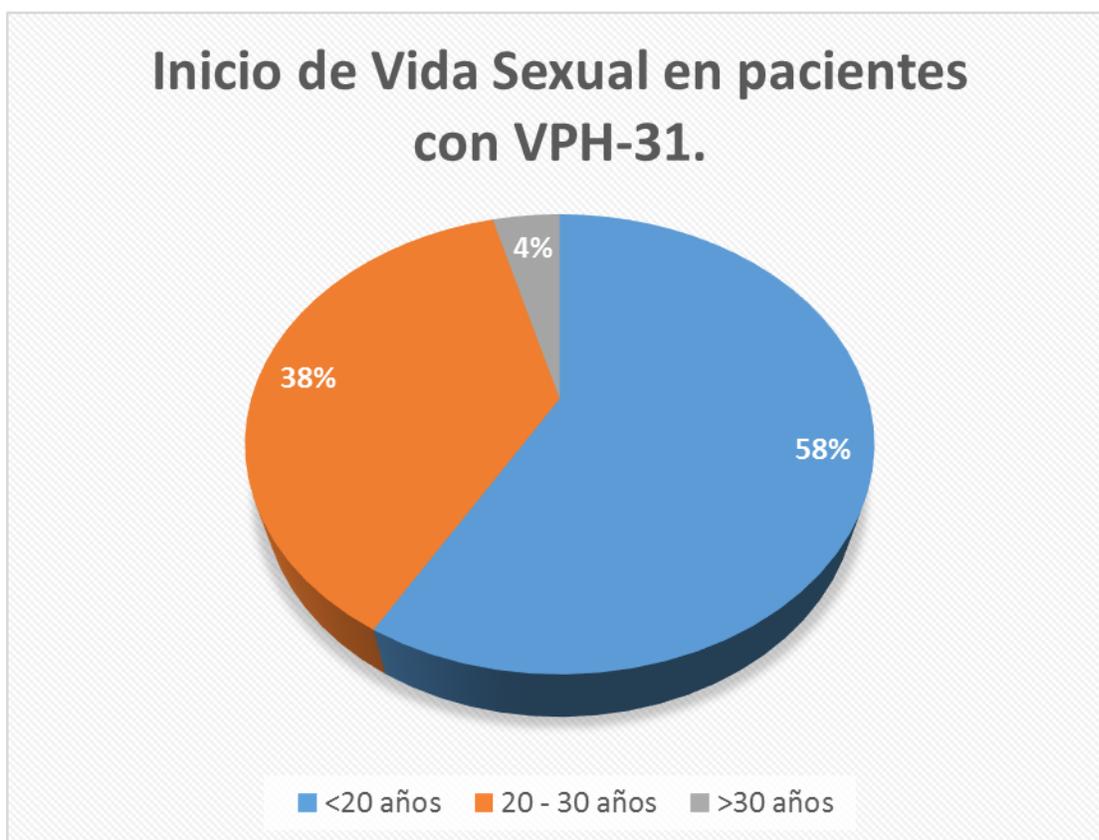
Gráfica 8. Número de pacientes por edad, en quienes se encontró VPH -31.

El promedio de edad en este grupo fue de 30.3 años, con una máxima de 62 y una mínima de 19 años.

La mayor proporción de pacientes se encontró en la 3ª década (20 a 30 años). (Gráfica 8).

Las tipificaciones positivas para VPH – 31 se realizaron de 2011 a 2016, previamente no existió reporte de dicho genotipo viral, probablemente debido a la poca difusión médica o aceptación de pacientes. El año con más resultados positivos para este genotipo fue 2015 con 6 casos reportados.

El inicio de vida sexual de éstas pacientes ocurrió entre los 15 y 34 años, sin embargo, el grupo etario que más predominó en este grupo fue antes de los 20 años (14 casos), seguida con la 3ª década de la vida (9 casos) y solamente un caso de inicio de vida sexual posterior a los 30 años. (Gráfica 9).



Gráfica 9. Inicio de Vida sexual en pacientes con VPH – 31.

El promedio de inicio de vida sexual fue a los 19.8 años de edad.

## 12.- DISCUSIÓN.

Esta investigación tuvo como propósito estudiar la prevalencia de los genotipos virales de VPH en una población determinada, así como su comparación con la literatura; además de conocer cuáles fueron las características demográficas durante un período de 9 años.

Del extraído de nuestro estudio se pudo observar que a pesar de la importancia que tiene en la actualidad la infección por virus de papiloma humano, así como su relación con el cáncer cervicouterino, el tipo de estudios como la genotipificación viral no han cobrado la relevancia que debería, ya que se realizan desde hace muchos años, un aspecto, es el costo que representa para el paciente, su aceptación y entendimiento, esto último dependerá de la relación y comunicación entre el médico y su paciente. Pudimos observar como la oferta y la demanda de la genotipificación cada vez es mayor ya que se realizaron más estudios en los últimos años, es más, el último año completo estudiado (2015) es el que se genotipificó mayor número de pacientes.

La recolección de datos fue de cierta manera la piedra angular de esta investigación ya que, al buscarlos, se encontró una base de datos ordenada y protocolizada tanto en el laboratorio como en el expediente clínico de cada paciente, propiedad importante que no debe perderse en el ejercicio de la medicina.

Existieron limitaciones en el estudio presentado, tales como el tipo de población estudiada ya que dista de representar a la generalidad de la población mexicana; otro dato relevante fue el número de pacientes que se incluyeron, ya que, a pesar de tener una duración de 9 años y 3 meses, solo se estudiaron 98 pacientes. A la hora de recolectar datos en el rubro de antecedentes, no existió un instrumento calificado para descartar que las pacientes realmente no fueran portadoras en algún momento de enfermedades de transmisión sexual.

Realizando la comparación en el reporte de genotipificación podemos observar que en la literatura mundial los genotipos virales más frecuentemente reportados son 16, 18, 31, 52, 33 y 58, los primeros dos representando hasta el 80% de los casos de cáncer cervicouterino y el 18 con predominio de adenocarcinoma. En nuestra población el genotipo más encontrado fue el VPH – 31 con casi una cuarta parte de la población, seguido de VPH – 11; en tercer lugar, VPH 16 (10% menos que VPH - 31); y cuarto lugar para VPH - 6. Podemos observar que de la población general estudiada se encontraron genotipos de bajo riesgo en los primeros lugares representados por VPH – 11 y 6 (2° y 4° respectivamente). Ya han existido reportes donde a

nivel Latinoamérica el VPH 31 figura dentro de los principales genotipos encontrados, tanto en pacientes con lesión intraepitelial como en aquellas que tienen reporte de citología normal.

Actualmente existe una revolución en cuanto a las pruebas de tipificación viral de VPH, y es un área de las más exploradas ya que representa un problema de salud pública, que se encuentra constante a nivel mundial. A últimas fechas se está realizando un consenso respecto a cambios en la norma oficial mexicana y se está buscando implementar la tipificación como método de tamizaje, de ésta manera se pueden identificar pacientes desde etapas tempranas, en estadios subclínicos, se da el seguimiento y tratamiento adecuado y con esto, disminuyen las tasas de cáncer cervicouterino, así como mortalidad de etiología oncológica.

Finalmente es trascendental el tema de vacunación a la población, ya que sabemos que se puede iniciar desde los 9 años de edad y de manera idónea realizarse antes de la primera actividad sexual: es debatida la aplicación de esta vacuna posterior al primer coito, sin embargo, cada vez es más la evidencia acerca del beneficio que conlleva su administración.

### **13.- CONCLUSIONES.**

Estamos en un área donde aún hay mucho que explorar, y con las tecnologías y nuevos proyectos para detección oportuna, el diagnóstico pertinente y eficaz podrá llevarnos a una disminución en los casos de infección por Virus de Papiloma Humano.

A manera de respuesta a nuestras preguntas de investigación, podemos concluir que el genotipo viral más frecuente en nuestra población fue el VPH – 31; que los genotipos virales más frecuentemente reportados en nuestra investigación corresponden con los más frecuentemente reportados a nivel mundial, sin encontrarse en el mismo orden de continuidad y descartando el genotipo 18 ya que no reportamos ningún caso; que el tipo viral de alto riesgo más encontrado fue el VPH – 31, así como lo fue dentro de la población general estudiada; que los genotipos de bajo riesgo más frecuentes fueron el 11 y el 6, y que la edad promedio de las pacientes que se encontraron con una genotipificación positiva fue de 30.6 años.

Con esto podemos concluir:

1. Que la realización de genotipificación viral para VPH supera por mucho las pruebas de tamizaje que hoy día se realizan de manera protocolaria en las instituciones públicas y privadas de nuestro país.
2. Que se sugiere una concientización de la sociedad para que el inicio de este tamizaje sea desde que la paciente inicia su vida sexual.
3. Que la detección oportuna de lesiones ocasionadas por VPH se debería realizar mediante éste método ya que tiene la capacidad de diagnosticar desde etapas subclínicas y de ésta forma el pronóstico es mejor.
4. Que la aplicación rutinaria de las vacunas contra VPH debe ofrecerse a todas las pacientes, desde los 9 años de edad y en aquellas que ya han tenido actividad sexual, aunque se haya documentado infección por algún genotipo viral, con esto se produce una inmunidad cruzada y se evitan nuevas o futuras infecciones.
5. Se deberá promover la realización de tipificación viral para la población en general, con el fin de mejorar su pronóstico y evitar desenlaces fatales.
6. Se sugiere el estudio de la pareja para dar tratamiento conjunto y también evitar patología neoplásica del tracto genitourinario.
7. Se puede realizar un seguimiento de estas pacientes con genotipificación futura, así como previa vacunación para conocer la evolución de la enfermedad.

## 14.- REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

- 1.- Diagnóstico y Tratamiento del Cáncer Cervicouterino. México: Secretaria de Salud 2010.
- 2.- El cáncer Cervicouterino, su impacto en México y el por qué no funciona el programa nacional de detección oportuna. Hidalgo Martínez AC, Rev Biomed 2006; 17:81-84.
- 3.- Virology of Human Papillomavirus infections and the link to cancer. Palefsky *et al.* Mayo 2015. UpToDate.
- 4.- Molecular diagnosis of human papillomavirus in the development of cervical cancer. Gutierrez-Xicoténcatl L *et al.* Salud Pública de México 2009; 51, suplemento 3.
5. Williams Ginecología. Hoffman, Schorge, Schaffer, Halvorson, Bradshaw, Cunningham. 2012. Mc Graw Hill. Pp 733-745.
- 6.- Cáncer Cervicouterino y el Virus de Papiloma Humano: La historia que no termina. López Saavedra A, Lizano Soberón M. Cancerología 1(2006): 31-55
- 7.- Cervical Human Papillomavirus Prevalence in 5 Continents: Meta-Analysis of 1 Million Women with Normal Cytological Findings. Bruni L, Díaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch X, Sanjosé S. The Journal of Infectious Diseases 2010; 202(12):1789–1799
- 8.- The epidemiology of human papillomavirus infection and its association with cervical cancer. Bosch X *et al.* International Journal of Gynecology and Obstetrics (2006), 94, (supplement 1), S8 – S21.
- 9.- Genotipificación del Virus de Papiloma Humano (VPH) en muestras de cepillados cervicales de pacientes de diferentes hospitales de Bogotá y evaluación de la concordancia de dos métodos basados en PCR. García *et al.* Rev Colomb Obstet Ginecol vol 61, No. 4, Bogotá Oct/Dec 2010.
- 10.- Epidemiology of HPV genotypes in Uganda and the role of the current preventive vaccines: A systematic review. Banura *et al.* Infectious agents and cancer 2011, 6:11.
- 11.- Prevalencia de genotipos de VPH en México y en el Mundo detectados mediante Linear Array. Flores-Miramontes M. *et al* Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2015;53 Supl 2:S122-30
- 12.- Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. Muñoz N. *et al.* N Engl J Med 2003;348:518-27.
- 13.- 12th annual International Conference on Frontiers in Cancer Prevention Research. Catherine Hoyo, MD, Conferencia: Vaccines Do Not Cover Most Common HPV Types in Black Women. 28/Octubre/2013.

