



Genotipificación del Virus del Papiloma Humano en mujeres en edad reproductiva del estado Zulia, Venezuela

Alfi Contreras Benítez ¹ .

José R. Urdaneta Machado ² .

Nasser Baabel Zambrano ³ .

Isabel B. Maggiolo ⁴ .

¹Médico Especialista Profesor Cátedra de Anatomía. Facultad de Odontología. Universidad del Zulia. Cursante Doctorado en Ciencias Médicas. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia

²Doctor en Ciencias Médicas Profesor Cátedra de Anatomía. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia

³Doctor en Ciencias Médicas Profesor del Departamento Obstetricia y Ginecología. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia

⁴Doctora en Ciencias Médicas Profesor del Departamento Obstetricia y Ginecología. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 29 de Abril del 2018 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

Objetivo: Determinar los genotipos del Virus del Papiloma Humano (VPH) en mujeres en edad reproductiva del estado Zulia, Venezuela. **Métodos:** Se estudió una muestra por conveniencia de 236 pacientes atendidas en la consulta ginecológica de tres hospitales de III y IV nivel, ubicados en las ciudades de San Francisco (Grupo A; n=141), Maracaibo (Grupo B; n=30) y Ciudad Ojeda (Grupo C; n=65); a las que se les tomaron muestras para citologías cervico-vaginales e hisopados cervicales para la genotipificación del VPH mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). **Resultados:** La mayoría de las pacientes aunque tenían diversos factores de riesgos para adquirir esta infección, no presentaban atipias celulares en sus citologías cervico-vaginales (60,60%); encontrándose principalmente lesiones cervicales intraepiteliales de bajo grado (LIEBG) debido a la presencia del VPH (34,32%). Los ensayos de PCR permitieron la detección del genoma viral en 91,10% de las muestras (n= 215/236); identificándose 382 genotipos del virus, correspondientes principalmente a los VPH-6 (31,15%), VPH-11 (28,53%) y VPH-16 (14,66%). En la mayoría de las pacientes prevaleció la infección por genotipos de alto riesgo oncogénico (63,26%) y la co-infección por diferentes genotipos (57,67%); siendo la distribución de los genomas obtenidos con mayor frecuencia: VPH-6 + VPH-11 (32,56%), VPH-16 (13,95%) y VPH- 33 (9,75%). **Conclusión:** Existe una alta prevalencia de LIEBG debidas a la presencia del VPH en mujeres en edad reproductiva, caracterizadas por la co-infección por diferentes genotipos del VPH y la presencia de genotipos de alto riesgo oncogénico en la mayoría de las pacientes estudiadas.

GENOTYPIFICATION OF HUMAN PAPILOMA VIRUS IN WOMEN IN REPRODUCTIVE AGE OF ZULIA STATE, VENEZUELA

SUMMARY

Objective: To determine Human Papillomavirus (HPV) genotypes in women of reproductive age in Zulia state, Venezuela. **Methods:** A convenience sample of 236 patients attended at the gynecological consultations of three III and IV level hospitals, located in the cities of San Francisco (Group A, n = 141), Maracaibo (Group B, n = 30) and Ciudad Ojeda (Group C, n = 65); which were sampled for cervico-vaginal cytology and cervical swabs for HPV genotyping by polymerase chain reaction (PCR). **Results:** Although the majority of the patients had several risk factors for acquiring this infection, did not present cellular atypias in their cervico-vaginal cytology (60.60%); being mainly low-grade intraepithelial cervical lesions (LSIL) due to the presence of HPV (34.32%). PCR assays allowed detection of the viral genome in 91.10% of the samples (n = 215/236); 382 genotypes were identified, corresponding mainly to HPV-6 (31.15%), HPV-11 (28.53%) and HPV-16 (14.66%). Infection with genotypes with high oncogenic risk (63.26%) and co-infection with different genotypes (57.67%) prevailed in most patients; being the distribution of the most frequently obtained genomes: HPV-6 + HPV-11 (32.56%), HPV-16 (13.95%) and HPV-33 (9.75%). **Conclusion:** There is a high prevalence of LSIL due to the presence of HPV in women of reproductive age, characterized by co-infection by different HPV genotypes and the presence of high oncogenic risk genotypes in the majority of the patients studied.

GENOTIPIFICACIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN MUJERES EN EDAD REPRODUCTIVA DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA

INTRODUCCIÓN

El virus del papiloma humano (VPH) causa la infección de transmisión sexual (ITS) más frecuente en personas con vida sexual activa (1, 2); con una prevalencia mundial de 30 millones de casos anuales y con más de 290 millones de mujeres infectadas por este virus, de las cuales 10%-17% se encuentran asintomáticas (3). Se estima que tres de cada cuatro mujeres estadounidenses con edades entre 15 y 49 años estarían infectados por el VPH en el transcurso de sus vidas (4), mientras que en Latinoamérica y el Caribe la prevalencia en mujeres se encuentra entre 6,9% - 21,8% (5-9) y entre 25-30% en mujeres jóvenes (6).

En cuanto a la población venezolana, los números oficiales son poco fidedignos y no reflejan la verdadera diseminación del VPH en Venezuela, aunque, algunos investigadores han establecido una alta prevalencia de la infección en mujeres (40% en occidente, 67% en el área metropolitana y 85% en oriente); demostrándose de que el genotipo de mayor circulación es el VPH-16 (10). Otros estudios nacionales han reportado prevalencias que varían desde 13,5% hasta 68,7% (11-17); mientras que a nivel regional se ha establecido en 13,5% en Maracaibo (11) y 15,6% en San Francisco (15).

La infección por el VPH representa el paso previo que precede al desarrollo de una lesión intraepitelial escamosa (LIE), cuando la infección se hace persistente, aunado a otras condiciones y factores de riesgo, favorece el desarrollo de lesiones y su progresión de bajo (LIEBG) a un alto grado (LIEAG), y posteriormente carcinoma invasor, cuyo tiempo de evolución es variable y depende de diversos factores (2, 7, 18-20.) Asimismo, se conoce que es más frecuente en mujeres jóvenes, estimándose que 50% de las adolescentes y adultas jóvenes la adquieren en los primeros 4-5 años de tener una vida sexual activa; de las cuales el 25% podrían desarrollar LIEBG (21).

El reconocimiento de este virus como el principal factor etiológico del cáncer de cuello uterino (CCU) convierte esta ITS en un importante problema de salud pública, dado a su alta difusión a nivel mundial tanto en hombres como mujeres (22, 23). Aunque sólo un pequeño número de éstas infecciones puede eventualmente progresar a CCU, según la Organización Mundial de la Salud (24), el VPH está asociado con 530.000 nuevos casos de CCU y 270.000 muertes; siendo los genotipos VPH-16 y VPH-18 responsables de aproximadamente 70% de todos los casos.

La ocurrencia de las LIEAG y de CCU no puede ser posible sin la existencia previa de una infección persistente por subtipos de alto riesgo del virus (25); de allí el auge y la importancia de métodos como la captura de híbridos y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que permiten identificar los diferentes genotipos de este virus; sobre todo los de alto riesgo oncogénico (25-28). Así pues, la genotipificación viral constituye un marcador sensible para mujeres en riesgo tanto de LIEAG como de CCU; estando aprobado como método anexo al tamizaje citológico en mujeres mayores de 30 años, complementar el estudio de citologías atípicas de significado incierto, establecer el pronóstico y en el seguimiento (curación o persistencia) de lesiones pre-invasoras tratadas con métodos ablativos (28-30).

Ante este panorama, se propuso determinar los principales genotipos del VPH presente en el cérvix de las pacientes atendidas en tres centros de salud de III y IV nivel ubicados en tres de

las principales ciudades del Estado Zulia, Venezuela: Hospital Materno Infantil Dr. Rafael Belloso Chacín (San Francisco), Maternidad Dr. Armando Castillo Plaza (Maracaibo) y Hospital Dr. Pedro García Clara (Ciudad Ojeda).

PACIENTES Y MÉTODOS

Investigación descriptiva con diseño no experimental, transeccional transeccional y de campo, en la cual se estudio una muestra intencionada y no aleatoria conformada por 236 mujeres en edad reproductiva atendidas en el Hospital Materno Infantil “Dr. Rafael Belloso Chacín” (Grupo A), Maternidad “Dr. Armando Castillo Plaza” (Grupo B) y Hospital “Dr. Pedro García Clara” (Grupo C). Se incluyeron mujeres sexualmente activas, con edades entre 18-45 años, reclutadas por diferentes estrategias de convocatoria (bola de nieve, grupos comunitarios organizados y citación por el personal de salud); quienes fueron remitidas a la consulta ginecológica para tamizaje del cáncer de cuello uterino; excluyéndose pacientes con diagnóstico o presunción de embarazo, con diagnóstico confirmado de cáncer cervical o con contraindicaciones para la realización de la genotipificación viral y/o la citología cervico-vaginal, o que no aprobasen la realización de tales procedimientos.

Las pacientes seleccionadas fueron valoradas en la consulta ginecológica, donde con la ayuda de una ficha de trabajo diseñada ad hoc, se asentaron datos socio-demográficos y clínicos obtenidos por medio de la entrevista clínica, así como los resultados de las pruebas y procedimientos realizados. Seguidamente, se realizó una valoración por sistemas y un examen ginecológico, realizándose los siguientes procedimientos:

- *Toma de muestra para citología cervico vaginal:* con la paciente en posición de litotomía, se procedió a visualizar los genitales externos e introducir un especulo vaginal de Graves desechable y una vez fijado el cuello uterino, se inspeccionó el mismo y se tomaron muestra de endocérvix con un cepillo (citoblush) y con espátula de Ayre para el exocérvix y fondo de saco vaginal posterior. Las muestras recolectadas se extendieron en una lámina portaobjeto, previamente rotulada, y se fijaron con fijador citológico en espray, a una distancia de un metro aproximadamente; manteniéndose almacenadas a temperatura ambiente en un laminario hasta el momento de su procesamiento. Posteriormente, fueron teñidas con la tinción de Papanicolaou y se procesaron en los laboratorios del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital General del Sur, sede del postgrado en esa especialidad de la Universidad del Zulia. Los resultados se reportaron siguiendo la nomenclatura Bethesda y además en el informe de la citología se incluyeron los grados de inflamación observados, la presencia de microorganismos o cambios que sugieren la presencia del VPH (31).

- *Toma de muestra para genotipificación de VPH:* Se tomó un hisopado del canal endocervical con un hisopo de dacrón esteril, el cual se insertó de 1 a 1,5 cms del orificio cervical externo del cuello uterino (zona de transición escamo-columnar de la región endocervical) y fue rotado 3 veces, retirado del canal e introducido en un tubo que contiene 1 ml de buffer de preservación-lisis estéril como medio de transporte, previamente identificado y rotulado. Las muestras se trasladaron al laboratorio Diagnóstico Molecular (DIAGMOLCA), empresa privada con reconocida trayectoria en la realización de pruebas de biología

molecular, mantenidas a 4° C y procesadas dentro de los primeros 3 días de su recepción.

En primer lugar, se realizó la extracción del ADN de las muestras endocervicales. Para ello, se transfirió 500 µl del buffer de lisis, contenido del hisopo a un tubo de 1,5 ml, se centrifugó a 12.000 rpm por 10 minutos y el sedimento se resuspende en 500 µl de buffer de lisis (50 mM Tris-HCl pH 7,5, 1% Triton X-100, 1 mM EDTA, 150 µg/ml de proteinasa K). La muestra es incubada a 56°C por 2 horas, los lisados se centrifugan a 14.000 rpm y el sedimento se resuspende en 30 µl de buffer TE; se utiliza 10 µl de la muestra para ensayos de amplificación.

Para la detección y genotipificación viral se llevaron a cabo reacciones de amplificación por PCR utilizando un formato de PCR múltiple que incluyó oligonucleótidos iniciadores dirigidos a secuencias específicas del genoma viral de genotipos de bajo riesgo oncogénico VPH 6/11 (Oligonucleótidos VPH6/F y VPH 6/11: R GenBank: KC300186.1) y cinco genotipos de alto riesgo oncogénico: VPH 16 (Oligonucleótidos VPH16F y VPH16R: GenBank: KF181718.1); VPH 18 (Oligonucleótidos VPH18F y VPH18R, GenBank: KC470230.1); VPH 31 (Oligonucleótidos VPH31F y VPH31R, GenBank: KC662562.1); VPH 33 (Oligonucleótidos VPH33F y VPH 33R, GenBank: JQ976784.1); y VPH 35 (Oligonucleótidos VPH35F y VPH 35R, GenBank: JX129488.1). La identidad y especificidad de los oligonucleótidos se verificó en las bases de datos genómicos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI: National Center for Biotechnology Information) de Estados Unidos. Se incluyeron como control positivo ADN aislado de muestras caracterizadas con el kit Seeplex de Digene, USA y como control negativo se utilizará ADN genómico humano (PROMEGA); dichas reacciones se llevarán a cabo en un termociclador MJ Research PTC-100™.

Los productos obtenidos se analizaron en geles de agarosa al 2 %, los cuales fueron teñidos con bromuro de etidio, visualizados en transiluminador ultravioleta y fotografiados con sistema de fotodocumentación DigiDoc, UVP; una muestra se consideró positiva para uno o más genotipos determinados, cuando el patrón de migración de los productos de PCR amplificados a partir de la muestra, coincidiera con el patrón de migración (peso molecular) de los productos de PCR específicos de los genomas virales presentes en el control positivo. Los resultados positivos se calificaron según el riesgo oncogénico de los genotipos detectados y en caso de existir co-infección entre genotipos de alto y bajo riesgo se consideró como de alto riesgo.

Todas las pacientes participaron de manera voluntaria, suministrando su consentimiento informado para su inclusión en la investigación y no se encontraron expuestas a riesgos físicos o psicológicos, ni se vulneraban los principios de la Declaración de Helsinki para estudio en humanos; asimismo, el protocolo de estudio fue previamente revisado y aprobado por los comités de bioética de cada uno de los centros de salud donde se ejecutó la investigación. Posteriormente, fueron citadas para la entrega de resultados y los casos donde se detectó el virus o que presentaron alteraciones citológicas se derivaron a la consulta ginecológica para realización de colposcopia, toma de biopsias y recibir el manejo o tratamiento específico.

Para el procesamiento de los datos obtenidos se utilizó el Paquete Estadístico para Ciencias Sociales (SPSS), versión 21. Se ejecutó un análisis de tipo descriptivo, donde los mismos fueron expresados en frecuencias absolutas, frecuencias relativas (porcentajes), medidas de tendencia central (medias) o medidas de dispersión (desviación estándar) y se presentaron en tablas de

distribución de frecuencias.

RESULTADOS

Respecto a la edad promedio de las pacientes participantes fue de $29 \pm 7,57$ años con rango entre 19 y 39 años, mientras que el promedio en edad para la presentación de la menarquía fue de $12,33 \pm 1,34$ con rango de 11 a 14 años y para el inicio de las relaciones sexuales resultó en $18 \pm 2,59$ años con rango alrededor de los 13 y 21 años. Por su parte, la paridad fue en promedio de $2 \pm 1,51$ con rango entre 0 y 4 hijos; mientras que el número de pareja tuvo una media de $3 \pm 4,76$ con rango entre 1 y 13. Al comparar los grupos por medio del análisis de la varianza, se encontraron niveles de significancia bajos lo cual traduce el comportamiento independiente de los grupos (*Tabla I*).

Tabla I
Caracterización de la muestra de mujeres en edad reproductiva.

CARACTERÍSTICAS	GRUPO A X \pm DE	GRUPO B X \pm DE	GRUPO C X \pm DE	P*
Edad	27 \pm 7,89	30 \pm 8,49	31 \pm 6,36	0,001
Menarquía	12 \pm 1,78	13 \pm 1,09	12 \pm 1,17	0,005
Sexarquía	17 \pm 3,24	19 \pm 2,53	18 \pm 2,01	0,001
Paridad	03 \pm 1,55	02 \pm 1,63	02 \pm 1,37	0,000
Nº de parejas	02 \pm 1,71	05 \pm 7,65	03 \pm 4,92	0,001

X \pm DE: Media \pm Desviación estándar
 * ANOVA de un factor, con significancia de $p < 0,05$
 Grupo A: Hospital Materno Infantil "Dr. Rafael Bellosó Chacín" (San Francisco), n= 141
 Grupo B: Maternidad "Dr. Armando Castillo Plaza" (Maracaibo), n= 30
 Grupo C: Hospital "Dr. Pedro García Clara" (Ciudad Ojeda), n= 65

De igual manera, se encontró una gran cantidad de pacientes con factores de riesgo para la adquisición del VPH y el consecuente riesgo para el desarrollo de CCU (*Tabla II*), entre los cuales destacaron altos porcentajes de mujeres con parejas no estable (75,42%), con relaciones desprotegidas al no utilizar el preservativo (75%), uso de anticonceptivos orales (ACO) por más de cinco años (68,64%), pobre adherencia a la pesquisa oncológica reflejada en un número de citología igual o menor a 3 en los últimos cinco años (69,49%) y 89,41% pertenecían a estratos socioeconómicos bajos (estratos III -V).

Tabla II
Factores de riesgo asociados con la infección por el VPH y lesiones
cervicales premalignas en mujeres en edad reproductiva

Factor de riesgo	GRUPO A		GRUPO B		GRUPO C		X ² &	p
	Fa	%*	Fa	%*	Fa	%*		
• Pareja no estable	103	73,05	22	73,33	53	81,54	1,81	0,405
• No usar preservativo	104	73,76	20	66,67	53	81,40	0,18	0,671
• Tabaquismo	26	18,44	07	23,33	19	29,23	0,05	0,823
• Anticonceptivos orales	101	71,63	20	66,67	41	63,08	0,04	0,842
• Antecedente de Cesárea	39	27,66	06	20,00	26	40,00	0,20	0,655
• No. de Citología <3	102	72,34	19	63,33	43	66,15	0,33	0,566
• Niveles socioeconómicos bajos	125	88,65	26	86,67	60	92,31	0,01	0,920
• Procedencia Rural	25	17,73	01	03,33	15	23,08	1,68	0,195

Grupo A: Hospital Materno Infantil "Dr. Rafael Beloso Chacín" (San Francisco), n= 141
 Grupo B: Maternidad "Dr. Armando Castillo Plaza" (Maracaibo), n= 30
 Grupo C: Hospital "Dr. Pedro García Clara" (Ciudad Ojeda), n= 65
 & Prueba del Chi cuadrado con significancia de p <0,05
 * Porcentajes estimados con base al total de cada grupo.

En cuanto a los hallazgos de las citologías cervico-vaginales (*Tabla III*), se determinó una calidad satisfactoria de la muestra en un 100% y en la mayoría de las pacientes no se evidenciaron atipias celulares (60,60%). En las citologías alteradas, se detectó mayoritariamente LIEBG debido a la presencia de observaciones positivas de células coilocíticas asociadas a la infección por el VPH (34,32%); siendo muy bajo el diagnóstico citológico de LIEAG (5,08%), representando en su totalidad por casos de neoplasias intracervicales grado II (NIC II). No se detectaron casos de NIC grado I o III, células atípicas de origen indeterminado (ASCUS) ni cáncer in situ.

Tabla III
Hallazgos citológicos en mujeres en edad reproductiva

Hallazgos	GRUPO A		GRUPO B		GRUPO C		TOTAL	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
LIE de Bajo Grado:								
• VPH	44	31,21	11	36,67	26	40,00	81	34,32
LIE de Alto Grado:								
• NIC II	02	01,42	01	03,33	09	13,85	12	05,08
Sin atipias celulares	95	67,37	18	60,00	30	46,15	143	60,60
TOTAL	141	100,00	30	100,00	65	100,00	236	100,00

Grupo A: Hospital Materno Infantil "Dr. Rafael Beloso Chacín" (San Francisco)
 Grupo B: Maternidad "Dr. Armando Castillo Plaza" (Maracaibo)
 Grupo C: Hospital "Dr. Pedro García Clara" (Ciudad Ojeda)
 * Porcentajes estimados con base al total de cada grupo.
 X²= 18,087; p= 0,001

Se obtuvieron resultados positivos para la detección del ADN viral en 91,10% de las muestras (n= 215/236), mientras que en el restante de las pacientes (8,90%; n= 21/236) el ensayo no identificó el genoma viral (*Tabla IV*); demostrándose que la mayoría de las pacientes presentaban LIEBG debido a la presencia del VPH (89,36%; 96,67 y 90,77%; Grupos A, B y C, respectivamente).

Tabla IV
Diagnóstico de VPH por ensayos de PCR en hisopados cervicales de mujeres en edad reproductiva

RESULTADO	GRUPO A		GRUPO B		GRUPO C		TOTAL	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
Negativo	14	09,93	01	03,33	06	09,23	21	08,90
Positivo	127	90,07	29	96,67	59	90,77	215	91,10
TOTAL	141	100,00	30	100,00	65	100,00	236	100,00

Grupo A: Hospital Materno Infantil "Dr. Rafael Belloso Chacín" (San Francisco)
 Grupo B: Maternidad "Dr. Armando Castillo Plaza" (Maracaibo)
 Grupo C: Hospital "Dr. Pedro García Clara" (Ciudad Ojeda)
 $\chi^2 = 1,562$; $p = 0,458$

En cuanto a la tipificación de los diferentes genotipos del VPH, en las 215 pacientes con PCR positiva se detectaron 382 genotipos del virus. En la mayor parte de la muestra, se logró la identificación de la presencia de genotipos de bajo riesgo oncogénico: VPH-6 (31,15%) y VPH-11 (28,53%); seguidos de genotipos de alto riesgo como el VPH-16 (14,66%) y VPH-33 (9,96%). Este mismo orden de presentación se mantuvo en los grupos "A" y "C" grupo, en tanto que en el grupo "B" donde luego de los genotipos de bajo riesgo prevalecieron en tercer lugar el VPH-31 (13,21%) y en cuarto lugar el VPH-16 (9,43%). Respecto al genotipo 18, solo fue positivo en 6,28% de las muestras procesadas, sin detectarse ningún caso positivo en el grupo "B"; mientras que el genotipo 35 fue

Tabla V
Genotipos del VPH identificados en ensayos de PCR de hisopados cervicales de mujeres en edad reproductiva

GENOTIPOS	GRUPO A		GRUPO B		GRUPO C		TOTAL	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
6	62	27,56	18	33,96	39	37,50	119	31,15
11	62	27,56	16	30,19	31	29,81	109	28,53
16	34	15,11	05	09,43	17	16,35	56	14,66
18	15	06,67	--	--	09	08,65	24	06,28
31	19	08,44	07	13,21	02	01,92	28	07,33
33	28	12,44	04	07,55	06	05,77	38	09,96
35	05	02,22	03	05,66	--	--	08	02,09
TOTAL	225	100,00	53	100,00	104	100,00	382	100,00

Casos positivos para VPH= 215
 Grupo A: Hospital Materno Infantil "Dr. Rafael Belloso Chacín" (San Francisco), n= 127
 Grupo B: Maternidad "Dr. Armando Castillo Plaza" (Maracaibo), n= 29
 Grupo C: Hospital "Dr. Pedro García Clara" (Ciudad Ojeda), n= 59
 * Porcentajes estimados con base al total de genotipos identificados.

Se evidenció un predominio de los genotipos de alto riesgo oncológico investigados (63,26%), salvo en el grupo "C" que prevalecieron genotipos de bajo riesgo (*Tabla VI*); asimismo, más de la mitad de las pacientes estudiadas (57,67%) presentaban co-infección por diferentes genotipos del VPH, estando infectadas simultáneamente con al menos dos o hasta cuatro

genotipos distintos. (Tabla VII).

Tabla VI
Distribución de pacientes según el riesgo oncogénico de los genotipos del VPH
identificados en ensayos de PCR de hisopados cervicales de mujeres en edad
reproductiva

RIESGO \ GRUPO	GRUPO A		GRUPO B		GRUPO C		TOTAL	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
Bajo riesgo	35	27,56	11	37,93	33	55,93	79	36,74
Alto riesgo	92	72,44	18	62,07	26	44,07	136	63,26
TOTAL	127	100,00	29	100,00	59	100,00	215	100,00

Grupo A: Hospital Materno Infantil "Dr. Rafael Beloso Chacín" (San Francisco)
 Grupo B: Maternidad "Dr. Armando Castillo Plaza" (Maracaibo)
 Grupo C: Hospital "Dr. Pedro García Clara" (Ciudad Ojeda)
 * Porcentajes estimados con base al total de pacientes por grupo.

Finalmente, en la *Tabla VIII* se muestran las frecuencias de los genotipos detectados en las muestras de hisopados cervicales. De manera general, predominaron los hallazgos de co-infección por VPH-6 y VPH-11 (32,56%), seguida de la infección por VPH-16 (13,95%) o VPH-33 (9,75%). Sin embargo, en el grupo "B" el segundo lugar lo ocupó la infección por VPH-31 (17,24%) y en tercer lugar la co-infección por los genotipos de VPH-6, VPH-11 y VPH-16 (13,79%); mientras que en el grupo "C" el tercer puesto con un 6,79% de los casos lo ocuparon tanto la infección por VPH-6 o VPH-33, como la co-infección por genotipos de VPH-16 y VPH-18.

Tabla VIII
Distribución de pacientes según los genotipos de VPH identificados en ensayos de PCR de hisopados cervicales de mujeres en edad reproductiva

GENOTIPOS	GRUPO		GRUPO A		GRUPO B		GRUPO C		TOTAL	
	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%	Fr	%
6	--	--	02	06,90	04	06,79	06	02,79		
11	--	--	--	--	02	03,39	02	00,93		
16	21	16,54	01	03,45	08	13,56	30	13,95		
18	09	07,09	--	--	01	01,69	10	04,65		
31	11	08,66	05	17,24	--	--	16	07,44		
33	16	12,60	01	03,45	04	06,79	21	09,78		
35	02	01,57	03	10,34	--	--	05	02,33		
6, 11	35	27,55	09	31,03	25	42,37	70	32,56		
6, 16	--	--	--	--	02	03,39	02	00,93		
6, 18	--	--	--	--	02	03,39	02	00,93		
6, 31	--	--	--	--	01	01,69	01	00,47		
6, 33	--	--	--	--	01	01,69	01	00,47		
16, 18	03	02,36	--	--	04	06,79	03	01,40		
31, 33	01	00,79	01	03,45	--	--	02	00,93		
6, 11, 16	10	07,87	04	13,79	02	03,39	16	07,44		
6, 11, 18	02	01,58	--	--	01	01,69	03	01,40		
6, 11, 31	05	03,93	01	03,45	--	--	06	02,79		
6, 11, 33	08	06,30	02	06,90	01	01,69	11	05,12		
6, 11, 35	01	00,79	--	--	--	--	01	00,47		
16, 18, 31	--	--	--	--	01	01,69	01	00,47		
31, 33, 35	02	01,58	--	--	--	--	02	00,93		
6, 11, 18, 33	01	00,79	--	--	--	--	01	00,47		
Total	127	100,00	29	100,00	59	100,00	215	100,00		

Casos positivos para VPH= 215
 Grupo A: Hospital Materno Infantil "Dr. Rafael Beloso Chacín" (San Francisco), n= 127
 Grupo B: Maternidad "Dr. Armando Castillo Plaza" (Maracaibo), n= 29
 Grupo C: Hospital "Dr. Pedro García Clara" (Ciudad Ojeda), n= 59
 * Porcentajes estimados con base al total de casos positivos en cada grupo.

DISCUSIÓN

Coincidiendo con el rango etario frecuentemente relacionado con el VPH en otras investigaciones (2, 27), los resultados señalan que se tratan de mujeres jóvenes alrededor de los 30 años. En cuanto a los principales factores de riesgo asociados a la patología cervical, similar a estudios previos (2, 26, 32), se determinó que no tener una pareja estable, el uso de anticonceptivos orales, la no utilización del preservativo, la falta de adherencia a los programas de tamizaje para CCU o pertenecer a estratos socioeconómicos bajos prevalecieron en la investigación.

Se ha reportado que en las mujeres infectadas por VPH de alto riesgo el uso de los ACO constituye un factor de riesgo significativo (26). La pobreza condiciona un riesgo mayor de adquirir la infección por el VPH con altas tasas de persistencia y progresión dado a que se relaciona con deficiencias en el sistema inmune debidas a las carencias nutricionales; además de dificultar el acceso al sistema sanitario y al tamizaje del CCU (2, 33, 34). Desafortunadamente en Latinoamérica, la pesquisa del CCU no ha logrado cumplir con sus

objetivos debido principalmente a la baja cobertura del tamizaje, seguimiento y tratamiento de mujeres con lesiones pre-cancerosas, y al tamizaje oportuno centrado en mujeres jóvenes con menor riesgo de desarrollar la enfermedad (35); circunstancia observada en la muestra estudiada.

En relación con los hallazgos citológicos encontrados, la mayoría no presentó atipias celulares y de los resultados anormales el mayor porcentaje correspondió a cambios colilocíticos sugestivos de VPH (LIEBG), situación similar a la reportada en otros estudios realizados (27, 30, 34, 36, 38). Esta circunstancia aprobaría en estas pacientes el tamizaje del VPH mediante estudios moleculares en mujeres mayores de 30 años o con citologías que reporten LIEBG o ASCUS, siguiendo los lineamientos establecidos en el conceso venezolano de CCU (37); a fin de poder detectar las mujeres con genotipos que condicionen una mayor predisposición al desarrollo del cáncer.

Resulta alarmante la alta prevalencia de positividad al VPH detectada en esta serie (91,10%), mucho más elevada que la reportada tanto en estudios nacionales e internacionales (2, 7, 12-17, 19, 30, 39, 40). De los 386 genotipos amplificados en las 236 pacientes evaluadas, los genotipos de bajo riesgo fueron los mayormente detectados, resultados similares a los encontrados en otros estudios venezolanos (16, 20, 27, 30, 40, 41). Contrariamente, otros estudios reportan que la prevalencia de genotipos de alto riesgo era mayor (15, 42, 43).

En cuanto a la frecuencia de los genotipos de alto riesgo, en 63,26% de las pacientes evaluadas se determinó al menos un genotipo de alto riesgo, siendo el VPH-16 el principalmente detectado (14,66%); coincidiendo con otras investigaciones nacionales (8, 12, 30, 44, 45) y latinoamericanas que destacan que el genotipo oncogénico dominante es el VPH-16 (2, 25, 46), pero contrario al hallazgo de Pacheco y col. (27) quienes reportan al VPH-16 como el genotipo de alto riesgo menos frecuente en una muestra de mujeres del estado Trujillo.

En otros estudios nacionales, en conjunto con el VPH-16, predominaron también el VPH-51 y VPH-52 (17, 44); mientras que en una reciente investigación efectuada en la Ciudad de México (19) los genotipos más prevalentes fueron los VPH-52 y VPH-51, los cuales no fueron investigados en esta serie. Otros genotipos de alto riesgo oncogénico como el VPH-31, no fueron tan prevalentes como se encontró en otras investigaciones desarrolladas en la región central de Venezuela (13), en el estado Mérida (30) o en la ciudad de Caracas (44). El VPH-18 mostró una frecuencia baja entre las mujeres estudiadas, contrario a lo reportado por Michelli y col. (39), quienes reportaron que éste era uno de los genotipos más frecuentes (76,92%); su baja prevalencia se puede deber al daño que ocasiona el VPH-18 en la estructura celular, lo cual ocasiona su muerte y por ende su eliminación, además de la inestabilidad genómica generada por la expresión del genoma del VPH-18 (23).

Llama la atención la alta prevalencia de co-infecciones por diferentes genotipos del VPH (57,67%); resultado similar al encontrado en otros estudios realizados tanto en Venezuela (12), Colombia (32) y México (19) donde estas infecciones mixtas predominaron tanto en las pacientes asintomáticas como en aquellas con lesiones premalignas o con CCU. Se ha sugerido que los genotipos de alto y bajo riesgo oncogénico pudieran actuar sinérgicamente, de tal manera que se promueva fácilmente el desarrollo de cáncer cervical, a diferencia de

aquellas pacientes infectadas con un solo genotipo (47); la co-infección con genotipos de VPH de alto y bajo riesgo sugiere la necesidad de brindar seguimiento a estas mujeres en un futuro a mediano y largo plazo para detectar y prevenir futuras complicaciones (19).

Es evidente que en la mayoría de los estudios existen coincidencias entre los genotipos identificados, sin embargo, también existen diferencias en cuanto al número de genotipos detectados y en cuanto a sus frecuencias, lo que confirma que la zona geográfica, la edad de las pacientes y la metodología empleada son importantes en la distribución reportada del VPH (2). De igual manera, estas variaciones entre diferentes regiones geográficas pueden explicarse por una parte, al comportamiento endémico del virus en poblaciones específicas y por otra, pueden estar relacionadas con los hábitos comportamentales de cada población, su exposición a los factores de riesgo y las condiciones genéticas de los hospederos (8).

Un hecho que debe considerarse es que la mayoría de las pacientes no presentaban alteraciones citológicas a pesar de la alta prevalencia de la infección por el VPH y sobre todo por genotipos de alto riesgo oncogénico; resultado que coincide con otro estudio nacional en donde más del 50% de las pacientes VPH positivas tenían colposcopia y/o citología normal; evidenciando la importancia de incluir las pruebas de detección e identificación de VPH en la evaluación ginecológica de rutina (39). Aunque la sensibilidad de la citología convencional en detectar lesiones premalignas es de 51%, cada año alrededor de 30% de los nuevos casos de CCU ocurren en mujeres con citología cervical previa negativa, bien sea debido a errores en el muestreo, fijación o en su interpretación (48); por lo que en poblaciones sin los recursos necesarios para el análisis y la interpretación óptima de las muestras es necesario desarrollar herramientas sencillas que no necesiten una amplia estructura funcional (33).

La presencia latente del virus, indica que debe haber mayor vigilancia médica para las pacientes positivas, con evaluaciones periódicas más estrictas, lo que favorecerá la prevención y permitirá un control más efectivo del riesgo a desarrollar CCU, especialmente en los casos donde se detectó genotipos de alto riesgo oncogénico (14). Debe recordarse que el éxito no reside en la sensibilidad de la citología, sino en la repetición constante de la misma y en el seguimiento sistematizado de mujeres con anomalías citológicas; lo cual puede explicar porque en los países latinoamericanos no se han observado sus efectos en la disminución de la mortalidad por cáncer cervicouterino (6, 23).

En relación a las metodologías usadas para la detección del VPH, aunque el ensayo de captura de híbridos tiene como ventajas su fácil aplicación y el estar reconocidos por la FDA (49); la utilización de técnicas de biología molecular como la PCR y sus variantes es una de las más utilizadas bien sea en programas de cribado o en estudio realizados, tanto en poblaciones asintomáticas como sintomáticas, por su sensibilidad y especificidad (7). Asimismo, proveen la posibilidad de superar las limitaciones del despistaje por citología, con la finalidad de adoptar oportunas medidas terapéuticas o de seguimiento, especialmente en mujeres con factores de riesgo y mayor susceptibilidad a desarrollar CCU (13).

Sin embargo, algunos investigadores (50) sugieren que la determinación viral es útil sólo en pacientes con citología atípicas, mas no cumple ningún propósito en pacientes que se presentan con citología de neoplasia intraepitelial grado 1, debiéndose considerar tanto las consecuencias psico-sociales de evidenciar la positividad del test virológico como el gasto de

la prueba y cuestiones éticas relacionadas con la solicitud solicitar un examen que no es indispensable para su manejo clínico. Los altos costos de las pruebas moleculares las hacen ciertamente limitadas para la mayor parte de la población, sobre todo en los países en vías de desarrollo (26); por lo que en el caso de Venezuela se ha sugerido realizar esta prueba solamente cuando la citología señale casos de inflamación severa, lo cual impactaría positivamente en la supervivencia de las pacientes y podría ser sostenible por parte del estado y la comunidad (12).

El alto costo de estas pruebas representó una limitación para el desarrollo del estudio, puesto que debido a las restricciones presupuestarias se restringió la investigación a los genotipos más frecuentemente encontrados en la población venezolana según los estudios anteriormente discutidos y trabajar con una muestra intencionada y no con una muestra representativa de cada centro donde fue desarrollada la investigación; con lo cual el margen de error y/o sesgos se hubiese minimizado y se pudiera conocer con mayor precisión la ecología de este virus y la prevalencia real del mismo en la población femenina zuliana. Por otra parte, aunque en el país la vacunación contra el VPH no está incluida en el esquema nacional de vacunación ni se encuentra disponible para su comercialización y aplicación, una fortaleza del estudio realizado es que al conocer el comportamiento y la distribución de los genotipos analizados en la población estudiada, permitiría optimizar los programas de vacunación y lograr un máximo costo-beneficio; así pues, sería recomendada incluir la vacuna tetravalente en el esquema de vacunación nacional, tomando en cuenta la experiencia positiva que han tenido otros países con su uso (6, 51).

CONCLUSIONES

Como pudo observarse, existe una alta prevalencia de LIEBG debidas a la presencia del VPH en mujeres en edad reproductiva, caracterizadas por la co-infección por diferentes genotipos del VPH y la presencia de genotipos de alto riesgo oncogénico en la mayoría de las pacientes estudiadas. Desde el punto de vista de salud pública, estos resultados implican que se trata de un grupo de mujeres potencialmente vulnerable para el desarrollo de lesiones del aparato reproductivo y eventualmente CCU precoz, traduciendo la necesidad de promover una cultura de prevención y auto-cuidado desde las edades más tempranas, de manera de ir sensibilizando a la población femenina al tema de la infección por VPH y las medidas preventivas para evitarlo. Asimismo, es necesario que las instituciones sanitarias faciliten la inclusión de las pruebas moleculares para la genotipificación viral, en concordancia con los protocolos vigentes y particularmente en el estado Zulia, al incluir la vacuna tetravalente contra el VPH como medida preventiva primaria se disminuirían considerablemente las infecciones genitales, puesto que la misma ofrece inmunidad contra tres de los genotipos prevalentes en esta investigación (VPH-6, VPH-11 y VPH-16).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barnack JL, Serpico JR, Ahluwalia M, Ports KA. "I have human papillomavirus": An analysis of illness narratives from the Experience Project. *Appl Nurs Res*. 2016; 30: 137 - 141.
2. Gutiérrez C, Peña C, Zamorano D. Medidas de autocuidado y genotipificación del virus papiloma humano en mujeres de la unidad de patología cervical, Hospital Carlos Van Buren. *Rev Chil Salud Pública*. 2016; 20 (1): 19 - 28.
3. Pose C. Enfermedades de transmisión sexual: de la epidemiología a la ética. *EIDON*. 2015; (45): 102 - 117.
4. Cermak M, Cottrell R, Murnan J. Women's knowledge of HPV and their perceptions of physician educational efforts regarding HPV and cervical cancer. *J Community Health*. 2010; 35 (3): 229 - 234.
5. Arellano MC, Castro MC. El estigma en mujeres diagnosticadas con VPH, displasia y cáncer cervicouterino en Hermosillo, Sonora. *Estudios Sociales*. 2013; 21 (42): 259 - 278.
6. Almonte M, Murillo R, Sánchez GI, Jerónimo J, Salmeron J, Ferreccio C, et al. Nuevos paradigmas y desafíos en la prevención y control del cáncer de cuello uterino en América Latina. *Salud Publica Mex*. 2010; 52 (6): 544 - 559.
7. Melo A, Lagos N, Montenegro S, Orellana JJ, Vásquez AM, Moreno S, et al. Virus papiloma humano y Chlamydia trachomatis según número de parejas sexuales y tiempo de actividad sexual en estudiantes universitarias en la Región de La Araucanía, Chile. *Rev Chilena Infectol*; 2016; 33 (3): 287 - 292.
8. Sánchez C, Suárez K, Yépez MC, Guerrero M. Infección por VPH en mujeres del municipio de Pasto, Colombia con resultados de citología normal. *Rev Univ Salud*. 2013; 15 (1): 7 - 21.
9. De la Fuente D, Guzmán S, Gómez A, Fernández B, Martínez DA, Cortes PT. Epidemiología de la infección y detección de tipos oncogénicos del VPH por captura de híbridos en mujeres sin factores de riesgo aparentes. *RFS*. 2013; 5 (2): 34 - 40.
10. Curcio MT. Virus del Papiloma humano se disemina por falta de información. En: *Vitae*. No. 2001; (6) [Periódico en línea]. Disponible en: <http://caibco.ucv.ve/caibco/vitae/VitaeSeis/VPH/introduc.htm>. Fecha de consulta: 7 de Agosto de 2016.
11. Mindiola R. Determinación de IL-2, IL-10 y receptor de IL-2 en biopsias y suero de pacientes con lesiones preinvasivas del cuello uterino, infectadas o no, con el Virus del Papiloma Humano. Tesis de grado de Maestría. Universidad del Zulia. Facultad Experimental de Ciencias. Maestría en Biología, mención Inmunología Básica. 2005. [Tesis en línea]. Disponible en: http://www.tesis.luz.edu.ve/tde_busca/index.php. Fecha de consulta: 30 de Agosto de 2016.
12. Aguiar H, Goñi N, Pinto L, Carrozza M, Abou-Orm S, Correia H, et al. Asociación entre presencia del virus del papiloma humano y hallazgos anatómo-patológicos. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2015; 75 (3): 164 - 171.
13. Reigosa A, Fernández Á, Hung CY, Graterol I, Fernández Y, Espinal JD, 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.
14. De Guglielmo Z, Ávila M, Mora A, Meléndez 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.
15. Núñez J, Delgado M, González J, Mindiola R, Vellásquez J, Conde B, et al. Prevalence and

- risk factors of human papillomavirus infection in asymptomatic women in a Venezuelan urban area. *Invest Clin*. 2009; 50 (2): 203 - 212.
16. Contreras L, Correnti M, Avila M, Guerrero A, León A. Virus Papiloma Humano (VPH) en contexto ecológico venezolano. (I): diagnóstico citológico y molecular. *Salus*. 2008; 12 (3): 68 - 77.
 17. Rivas E, Verlezza S, Flores M. Distribución genotipo-específico del virus papiloma humano entre hombres y mujeres de Caracas, Venezuela. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2012; 72 (3): 171 - 176.
 18. Carrero YN. Virus de Papiloma Humano (VPH): Protagonista en el proceso de transformación neoplásica. *Kasmera*. 2015; 43 (1): 5 - 6.
 19. Flores S, García CS, Soriano DM, Figueroa R, Márquez G. Genotipificación del virus del papiloma humano en mujeres que asisten a un hospital gineco-obstétrico de tercer nivel de la Ciudad de México. *Rev Chil Obstet Ginecol*. 2016; 81(5): 381 - 387
 20. Araujo E, Barroso S, Cendón A, Muñoz M, Ortunio M, Cardozo R, et al. Infección por virus de papiloma humano en mujeres: hallazgos paraclínicos. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2010; 70 (2): 82 - 89.
 21. Ortunio M, Rodríguez A, Guevara H, Cardozo R. Conocimiento sobre el virus del papiloma humano en estudiantes de citotecnología de una universidad nacional. *Comunidad y Salud*. 2014; 12: 1 - 10.
 22. Concha X, Urrutia MT, Araya AIX. Prevención de cáncer cérvicouterino: ¿qué nos señala la literatura en relación a la educación dirigida a los profesores de educación básica/media? *Rev Chil Obstet Ginecol*. 2013; 78 (3): 187 - 192.
 23. Ochoa FJ, Guarneros DB, Velasco MT. Infección por virus del papiloma humano en mujeres y su prevención. *Gac Mex Oncol*. 2015; 14 (3): 157-163.
 24. World Health Organization. World Health Organization; Human papillomavirus and cervical cancer. 2013 [Documento en línea]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs380/en/>. Fecha de consulta: 11 de Agosto de 2016.
 25. Zaldívar G, Martín F, Sosa CF, Ávila J, Lloret M, Román M, et al. Cáncer cérvicouterino y virus del papiloma humano. *Rev Chile Obstet Ginecol*. 2012; 77 (4): 315 - 321.
 26. Solís MT, Aguayo F, Vargas M, Olcay F, Puschel K, Corvalán A, et al. Factores de riesgo de alteraciones citológicas del cuello uterino en mujeres chilenas: Un estudio de casos y controles. *Rev Med Chile* 2010; 138: 175 - 180.
 27. Pacheco M, Calderas H, Rivero I, Briceño A, Tineo N. Tipificación de virus de papiloma humano en lesiones preneoplásicas y neoplásicas del cérvix. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2016; 76 (1): 23 - 33.
 28. Graterol IJ, Finol HJ, Correnti M. Virus del papiloma humano en lesiones intraepiteliales escamosas (LIE) de cuello uterino. Tipificación y ultraestructura. *Rev Soc Ven Microbiol*. 2011; 26 (2): 89-94.
 29. Vargas VM, Acosta G. Prevención primaria del cáncer cervicouterino. *Cir Cir*. 2012; 80 (3): 291-300.
 30. Quintero M, Cruz JF, 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.
 31. Lacruz C. Nomenclatura de las lesiones cervicales (de Papanicolau a Bethesda 2001). *Rev esp patol*. 2003; 36 (1): 5 - 10

32. García D, Schmitt M, Cid-Arregui A, Castillo M, Briceño I, Aristizábal FA. Genotipificación del Virus del 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. *Rev Colomb Obstet Ginecol*. 2010; 61(4): 310 - 318.
33. Flores JD, Saldívar KG, Sarmiento J, Granados JC, Olaya MA, Carlotta S, et al. Tasa de infección por virus del papiloma humano diagnosticada mediante visualización directa con ácido acético y lugol (en pacientes del área rural). *Ginecol Obstet Mex*. 2015; 83 (7): 429 - 436.
34. Urdaneta JR, Nava ML, García J, Cepeda M, Baabel N, Salazar J, et al. Conocimiento del cáncer de cuello uterino y hallazgos citológicos en mujeres de estratos socioeconómicos bajos. *Rev Venez Oncol* 2013; 25 (4): 211 - 228.
35. Arrossi S, Paolino M, Sankaranarayanan R. Challenges faced by cervical cancer prevention programs in developing countries: A situational analysis of program organization in Argentina. *En: Pan Am J Public Health*. 2010; 28 (4): 249-57.
36. Mendoza L. Virus de Papiloma Humano y lesión intraepitelial cervical. Tesis de grado de Especialización. Universidad del Zulia. Facultad de Medicina. Especialización en Obstetricia y Ginecología. 2010. [Tesis en línea]. Disponible en: http://www.tesis.luz.edu.ve/tde_busca/index.php. Fecha de consulta: 28 de Septiembre de 2016.
37. Medina F, Sánchez J, Calderaro F, Borges A, Rennola A, Bermúdez C, et al. Cáncer de cuello uterino. Consenso nacional para el diagnóstico y tratamiento 2010. *Rev Venez Oncol* 2011; 23 (2): 102-129
38. Ruiz BM, Loango N, Landázuri P. Exactitud de la actividad de la telomerasa para el diagnóstico del virus del papiloma humano en mujeres con patología cervical en Armenia, Colombia, 2007. *Rev Colomb Obstet Ginecol*. 2012; 63 (2): 207 - 214.
39. Michelli E, Téllez L, Mendoza JA, Noguera ME, Milano M, Vera R, Callejas D. Amplification of human papillomavirus early genes for detection of nine genotypes in Venezuelan women. *Invest Clin* 2013; 54 (4): 392 - 405.
40. Posso AG, Rangel MA, Marchán N, González M. Lesión intraepitelial cervical en adolescentes. *Rev Obstet Ginecol Venez* 2014; 74 (3): 193 - 202.
41. Somogyi L, Malpica C, Alvarado B, García M. Virus del papiloma humano (VPH) detección y tipificación en la consulta privada. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2010; 70 (3): 160 - 166.
42. Correnti M, Medina F, Cavazza ME, Rennola A, Ávila M, Fernandes A. Human papillomavirus (HPV) type distribution in cervical carcinoma, low-grade, and high-grade squamous intraepithelial lesions in Venezuelan women. *Gynecol Oncol*. 2011; 121: 527 - 531.
43. Sanchez J, Cortiñas P, Lourero C, Pujol F, Medina F, Capote-Negrin L, et al. Human papillomavirus in invasive cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia 2 and 3 in Venezuela: A crosssectional study. *Cancer Epidemiol*. 2012; 36: 284 - 287.
44. Ávila M, Genatios U, Blanch R, De Guglielmo Z, Fernandes A, Veitía D, et al. Genotipificación de virus de papiloma humano en mujeres con lesiones de cuello uterino. *Rev Venez Oncol* 2013; 25 (3): 157 - 165.
45. Cavazza M, Correnti M. Actualidades sobre el Virus del Papiloma Humano. *Dermatología Iberoamericana Online*. 2011; Capítulo 60.
46. Salcedo M, Pina P, Vallejo V, Monroy A, Aguilar A, Cortes EI, et al. Human papillo-mavirus

- genotypes among females in Mexico: a study from the Mexican Institute for Social Security. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014; 15 (23): 10061- 10066.
47. Soto-De Leon S, Camargo M, Sanchez R, Munoz M, Perez-Prados A, Purroy A, et al. Distribution patterns of infection with multiple types of human papillomaviruses and their association with risk factor. *PLoS One* 2011; 6(2):e14705.
48. Paul P, Winkler JL, Bartolini RM, Penny ME, Huong TT, Nga le T, et al. Screen-and-treat approach to cervical cancer prevention using visual inspection with acetic acid and cryotherapy: experiences, perceptions, and beliefs from demonstration projects in Peru, Uganda, and Vietnam. *Oncologist*. 2013; 18 (12): 1278 - 1284.
49. Cruz JF, Quintero M, Bastidas M, Quintero W, Hernández D, Duque C, et al. Electroforesis horizontal en geles de poliacrilamida en la detección y tipificación del virus de papiloma humano. *Rev Obstet Ginecol Venez* 2015; 75 (3): 172 – 176.
50. Yazigi R, Selman A, Puga O, Contreras L. Utilidad de la detección de virus papiloma de alto riesgo en pacientes con citología atípica y de neoplasia intraepitelial de bajo grado de cuello uterino. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2016; 81(1): 28 – 31.
51. Lexchin J, Arya N, Singh S. Gardasil® – The new HPV vaccine: The right product, the right time: A commentary. *Healthc Policy*. 2010; 5: 26 – 36.