



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Programa de Posgrado Integral en Biotecnología
Maestría en Ciencias con Orientación en Biotecnología de la
Salud

**“Identificación De Los Genotipos VPH-33 Y -61 Del Virus Del
Papiloma Humano (VPH) En Muestras De Cepillado De Endo-Exo
Cérvix De Mujeres Sinaloenses”**

TESIS

que presenta

Ing. Mariana Talavera Altamirano

como requisito para obtener el grado de

Maestro en Ciencias con orientación en Biotecnología en Salud

Directores

Dr. Sergio Alonso Durán Pérez
Dr. José Guadalupe Rendón Maldonado

Culiacán de Rosales, Sinaloa, México, julio de 2024



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma de Sinaloa, y a la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas por permitir mi desarrollo como estudiante de posgrado, también a los docentes que con sus conocimientos aportaron tanto a mi formación como profesional del área de biotecnología de la salud, así como también a mi crecimiento personal. También agradezco al programa de posgrado por haberme dado la oportunidad de crecer académica y profesionalmente.

Agradezco de forma muy especial a mi hermano por su presencia y las risas que hicieron más amenos mis días de estrés. A su vez, también quiero agradecer profundamente a mi pareja cuyo amor y aliento han sido fundamentales para superar los desafíos y tribulaciones. Gracias, amor mío por siempre estar.

A mis queridas amigas Katia y Melissa, infinitas gracias por su amistad, por su compañía y por su apoyo que me motivó a salir adelante a pesar de las adversidades. Gracias por creer en mí aun cuando a mí me costaba hacerlo.

Finalmente quiero agradecer a mis directores de tesis, el doctor José Guadalupe Rendón Maldonado y el doctor Sergio Alonso Durán Pérez por confiar en mí para llevar a cabo este proyecto, así como a mis compañeros de laboratorio por compartir conmigo sus conocimientos.

ÍNDICE GENERAL

I	RESUMEN	1
	ABSTRACT	2
II	INTRODUCCIÓN	3
III	REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	5
3.1	Cáncer Cervicouterino	5
3.1.1	Neoplasia Intraepitelial cervical.....	5
3.2	Epidemiología del cáncer cervical.....	6
3.3	Factores de riesgo asociados al desarrollo de CaCu.....	11
3.4	Características generales del Virus del Papiloma Humano	13
3.5	Estructura genómica del virus.....	14
3.5.1	Genes de expresión temprana.....	14
3.5.2	Genes de expresión tardía.....	17
3.5.3	Región larga de control.....	17
3.6	Ciclo replicativo del VPH y su progresión a cáncer.....	18
3.7	Clasificación de los genotipos de VPH.....	20
3.8	Genotipos VPH-33 y -61	25
3.9	Métodos para el diagnóstico de CaCu y VPH	26
3.9.1	Métodos basados en el diagnóstico citológico	26
3.9.2	Métodos moleculares de detección de ADN	30

3.10	Antecedentes	34
IV	JUSTIFICACIÓN	37
V	OBJETIVOS	38
5.1	Objetivo general	39
5.2	Objetivos específicos	39
VI	MATERIALES Y MÉTODOS	40
6.1	Diseño de estudio	40
6.1.1	Criterios de inclusión.....	40
6.1.2	Criterios de exclusión.....	40
6.1.3	Criterios de eliminación.....	41
6.2	Obtención de la muestra	41
6.3	Extracción de ADN.....	41
6.4	Amplificación de un fragmento de 248 pb del gen β -globina humana.....	42
6.5	Identificación del genoma viral por PCR	43
6.6	Genotipificación por NM-PCR	44
6.6.1	Amplificación utilizando oligonucleótidos consenso.....	44
6.6.2	Amplificación de 15 genotipos mediante cocteles.....	45
6.7	Separación de los productos amplificados por electroforesis en geles de agarosa al 2%.....	45
6.8	Análisis estadístico.....	45

VII	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
7.1	Descripción de la población	49
7.2	Detección del genoma viral mediante PCR.....	52
7.3	Genotipificación.....	58
7.3.1	Genotipos presentes en población general.....	58
7.3.2	Asociación de presencia de genotipos y edad de las pacientes en población general.....	59
7.3.3	Asociación de infecciones múltiples y edad de las pacientes en población genera.....	62
7.4	Análisis de la infección por VPH y la relación con la citología vaginal	64
7.4.1	Asociación de presencia de genotipos y lesiones cervicales.....	65
7.4.2	Asociación de infecciones múltiples y lesiones cervicales.....	66
7.5	Identificación de los genotipos -33 y -61	69
VIII	CONCLUSIONES	75
IX	PERSPECTIVAS.....	76
X	BIBLIOGRAFÍA	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Tasas de incidencia mundial de cáncer cervicouterino	8
2	Tasas de mortalidad mundial del cáncer cervicouterino	9
3	Número de nuevos casos de cáncer en México	10
4	Representación lineal del genoma del VPH	15
5	Progresión de infección de VPH a CaCu	22
6	Clasificación filogenética del VPH	23
7	Ejemplo de Neoplasia intraepitelial Cervical	27
8	Diagrama de flujo para el cribado de cáncer cervicouterino	31
9	Tasa de infección por grupo etario	51
10	Positividad general a la infección por VPH	54
11	Gel de agarosa donde se muestra ADN molde	55
12	Amplificación de un fragmento de 248pb del gen β -globina humana	56
13	Amplificación de un fragmento de 214pb del gen E6	57
14	Frecuencia de los genotipos analizados en la población en general	60
15	Frecuencia y tasa de infección de grupo de pacientes con citología	67
16	Amplificación del VPH-33 obteniendo una banda de 405 pb	73
	73	
17	Amplificación del VPH-61 obteniendo una banda de 239pb	74

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Clasificación de Alpha-papilomavirus según su riesgo	24
2	Clasificación del Sistema Bethesda (2001)	29
3	Kits comerciales de detección de VPH y genotipos que identifica	33
4	Coctel 1 para la identificación de genotipos de VPH	46
5	Coctel 2 para la identificación de genotipos de VPH	47
6	Coctel 3 para la identificación de genotipos de VPH	48
7	Características demográficas de las 109 pacientes	50
8	Genotipos de VPH según el grupo etario	61
9	Número de genotipos detectado en las pacientes por grupo de edad	63
10	Comparación entre el resultado citológico y los genotipos de VPH	68
11	Cuadro comparativo de infecciones múltiples con resultado citológico	70

I RESUMEN

El cáncer cervicouterino (CaCu), una de las causas principales de mortalidad en mujeres en el mundo, tiene como principal factor etiológico la infección persistente por virus del papiloma humano de alto riesgo (VPH-AR), principalmente VPH-16 y VPH-18; sin embargo, la infección por genotipos VPH-33 y VPH-61, y la posible relación con lesiones intraepiteliales escamosas del cérvix ha sido poco analizada. El objetivo del estudio fue evaluar la prevalencia de dichos genotipos en mujeres sinaloenses. El diagnóstico viral se realizó por PCR anidada múltiple utilizando tres cócteles de oligos para la identificación de 15 genotipos virales. Se analizaron 109 pacientes con un promedio de edad de 33.38 años. 46 de las 109 pacientes contaron con citología vaginal, las cuales muestran que 54.35% de las pacientes presentaron citología vaginal normal, 2.17% presentaron condilomatosis, 17.39% con citología vaginal con células escamosas anormales de significancia indeterminada (ASC-US), 15.22% presentaron lesión intraepitelial de bajo grado (LEIBG), y 10.87% lesión intraepitelial cervical de alto grado (LEIAG). La prevalencia general de infección fue del 65.13%. El genotipo viral VPH-52 fue el de mayor prevalencia con 36.62%, seguido del VPH-56 con 14.08% y VPH-58 con 12.68%. El genotipo VPH-33 se presentó en el 9.86% de las pacientes, sin asociación estadística con grupo etario ($p=0.468$) ni con citología vaginal positiva en las pacientes ($p=0.130$). El genotipo VPH-61 fue encontrado en un único caso en infección múltiple con otros 3 genotipos.

Palabras clave: *Cáncer Cervicouterino, Genotipificación, Sinaloa, NM-PCR, VPH-33, VPH-61*

ABSTRACT

Cervical cancer (CC), one of the main causes of mortality in women in the world, has as its main etiological factor persistent infection by high-risk human papillomavirus (HR-HPV), mainly HPV-16 and -18; however, infection by genotypes -33 and -61, and the possible relationship with squamous intraepithelial lesions of the cervix has been little analyzed. The objective of this study was to evaluate the prevalence of these genotypes in Sinaloa women. Viral diagnosis was performed by multiplex nested PCR using three oligos cocktails for the identification of 15 viral genotypes. A total of 109 patients with an average age of 33.38 years were analyzed. 46 of the 109 patients had vaginal cytology, which showed that 54.35% of the participating women had normal vaginal cytology, 2.17% of the patients had condylomatosis, 17.39% had vaginal cytology with abnormal squamous cells of undetermined significance (ASC-US), 15.22% had low-grade intraepithelial lesion (LSIL), and 10.87% had high-grade cervical intraepithelial lesion (HSIL). The overall prevalence of HPV infection was 65.13%. The HPV-52 viral genotype was the most prevalent with 36.62%, followed by HPV-56 with 14.08% and HPV-58 with 12.68%. The HPV-33 genotype was present in 9.86% of the patients, with no statistical association with age group ($p=0.468$) or with positive vaginal cytology in the patients ($p=0.130$). The HPV-61 genotype was found in a single case in multiple infection with 3 other genotypes. These results complement efforts to understand the demographic distribution of circulating HPV genotypes, which may be useful to develop better screening methods and thus decrease the incidence and mortality of cervical cancer.

Key words: *Cervical Cancer, Genotypification, Sinaloa, NM-PCR, VPH-33, VPH-61*

II INTRODUCCIÓN

El Cáncer Cervicouterino (CaCu) es el cuarto tipo de cáncer más común en mujeres en el mundo y afecta a más de 500,000 mujeres cada año principalmente aquellas que viven en países en vías de desarrollo (Camacho-Ureta y col., 2018). En México el CaCu es la segunda causa de muerte en mujeres (Muñoz-Bello y col., 2022). El factor primordial para el desarrollo de CC es una infección persistente de un papilomavirus de alto riesgo (VPH-AR), la cual produce lesiones precancerosas y eventualmente progresa a CaCu (Padilla-Mendoza y col., 2020).

El virus del papiloma humano (VPH) es reconocido como una de las infecciones de transmisión sexual (ITS) más comunes en el mundo, con una prevalencia significativa entre la población femenina. En México, las tasas de infección por VPH son alarmantes (Pedroza-González y col., 2022), destacando la importancia de la detección temprana y la identificación de genotipos específicos para el desarrollo de estrategias preventivas y terapéuticas efectivas.

La identificación de genotipos específicos del VPH, particularmente los genotipos VPH-33 y -61, ha ganado interés debido a su asociación con un mayor riesgo de desarrollo de lesiones cervicales precursoras de cáncer cervical (Long y col., 2018). Estos genotipos, clasificados dentro del grupo de alto riesgo (VPH-AR) oncogénico, representan un desafío clínico significativo y requieren una vigilancia y caracterización adecuadas para comprender su prevalencia y su impacto en la salud pública, especialmente en regiones como Sinaloa, donde la carga de enfermedad relacionada con el VPH es notable.

El presente estudio tiene como objetivo principal la identificación y caracterización de los genotipos VPH-33 y -61 en muestras de cepillado cervical obtenidas de mujeres sinaloenses. Esta investigación se fundamenta en la necesidad de generar datos epidemiológicos que contribuyan a la comprensión de la distribución de estos genotipos en la población local, así como para la evaluación de su asociación con lesiones cervicales y el riesgo de desarrollo de cáncer cervical.

Para lograr este objetivo, se emplearán técnicas de biología molecular, específicamente la reacción en cadena de la polimerasa anidada múltiple (NM.PCR), para la detección y tipificación de los genotipos VPH-33 y -61 en las muestras de cepillado cervical. Los resultados obtenidos no solo proporcionarán información relevante sobre la epidemiología del VPH en Sinaloa, sino que también servirán como base para la implementación de medidas preventivas y de control dirigidas a reducir la carga de enfermedad asociada con estos genotipos virales.

III REVISIÓN DE LA LITERATURA

3.1 Cáncer Cervicouterino

El cáncer cervicouterino (CaCu) es una condición en la que las células del epitelio cervical experimentan cambios anómalos, manifestándose inicialmente en lesiones precursoras de gradual y progresiva evolución. Estas lesiones pueden presentarse en forma de displasia leve, moderada o severa según la Clasificación de Richart, y tienen el potencial de progresar a cáncer *in situ*, donde la afectación se limita a la superficie epitelial, o bien, convertirse en cáncer invasivo (González-López y col., 2011).

El cáncer de cuello uterino se nombra según el tipo de células donde se origina. Los principales tipos son los siguientes:

- Carcinoma de células escamosas. Este tipo de cáncer comprende hasta el 90 % de los casos de CaCu y se originan en las células del ectocérvix.

- Adenocarcinoma. Estos se originan en las células glandulares del endocérvix y comprende alrededor del 10% de los casos de CaCu. (*National Cancer Institute, 2023*)

3.1.1 Neoplasia Intraepitelial cervical

Según la clasificación de Richart, la neoplasia intraepitelial cervical (NIC) constituye la lesión precursora más frecuente que afecta al cuello uterino. Se observan alteraciones escamosas atípicas en la región de transformación del cuello uterino, categorizadas en cambios leves, moderados o severos según su profundidad (NIC1, NIC2, o NIC3).

- **Neoplasia intraepitelial cervical 1 (NIC 1).** Indica la presencia de células poco anormales en la superficie del epitelio. Por lo general ocupan menos de una tercera parte de la superficie del cérvix (*National Cancer Institute, 2023*).

- **Neoplasia intraepitelial cervical 2 (NIC2).** Se caracteriza por cambios celulares displásicos restringidos sobre todo a la mitad o a los dos tercios inferiores del epitelio. Presenta anomalías nucleares más evidentes que en la NIC 1 (Medina-Villaseñor y col., 2014).

- **Neoplasia intraepitelial cervical 3 (NIC3).** La diferenciación y estratificación celular pueden estar ausentes por completo o limitarse al cuarto superficial del epitelio con abundantes figuras mitóticas. Se presentan anomalías nucleares en todo el espesor del epitelio (Medina-Villaseñor y col., 2014).

3.2 Epidemiología del cáncer cervical

El CaCu es el cuarto tipo de cáncer más común diagnosticado en mujeres de todas las edades a nivel mundial. Es el segundo tipo de cáncer que más afecta a mujeres en edad reproductiva (Kim y Kim, 2021). En 2020 se estimaron alrededor de 604,000 casos nuevos globalmente con una incidencia estandarizada por edad de 13.3 casos por 100,000 mujeres al año y una tasa de mortalidad de 7.2 muertes por 100mil mujeres al año (Singh y col., 2023). De acuerdo con las estimaciones, de las 342,000 defunciones atribuidas al CaCu en el año 2020, más del 90% ocurrieron en naciones con ingresos bajos o medianos (OMS, 2020). Entre las regiones con mayor tasa de incidencia estandarizada por edad se encuentra África oriental (40 casos por 100 mil mujeres-año), seguido por África del sur (36.4), África media (31.6) y Melanesia (28.3). En América latina los países con mayor incidencia son Bolivia (36.6) y Paraguay (34.1);

mientras que las tasas de mortalidad oscilaron de 1.0 en Suiza a 55.7 en Eswatini (Singh y col., 2023). La **Figura 1** muestra las tasas de incidencia y mortalidad de CaCu por país en 2020.

En México el CaCu también representa un problema de salud pública significativo siendo el segundo más diagnosticado y la segunda causa de muerte en mujeres, con un estimado de 9,400 casos y más de 4,000 muertes. Presenta una tasa de incidencia de 12.6 y mortalidad de 5.6 por 100 mil (GLOBOCAN, 2020). En 2015 la Secretaría de Salud estimó que los estados con mayor mortalidad por CaCu fueron Morelos (18.6), Chiapas (17.2) y Veracruz (16.4) por cada 100 mil mujeres.

En el estado de Sinaloa, según el 1er informe de gobierno, durante el año 2021 fallecieron 113 por CaCu; mientras que en 2022 (hasta septiembre) fallecieron 78 mujeres registrando una tasa de mortalidad de 9.4 por cada 100mil mujeres. Hasta noviembre de 2023 se reportan 319 casos de infección por VPH y 237 casos nuevos de CaCu, el cual presenta un aumento de 42% con respecto al año 2022 (Boletín Epidemiológico, 2023).

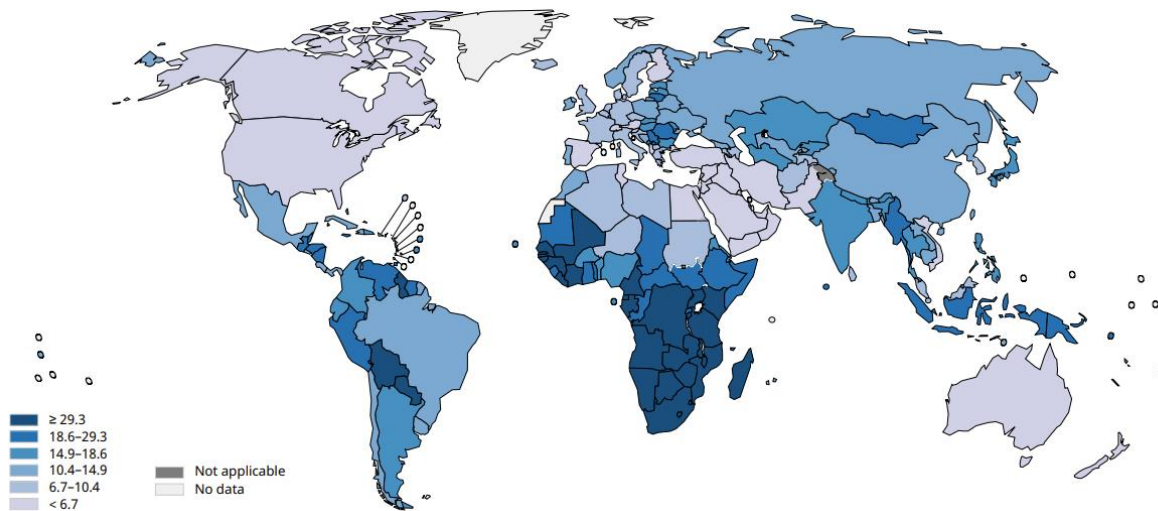


Figura 1 Tasas de incidencia mundial de cáncer cervicouterino. La figura muestra las tasas de incidencia mundial de cáncer cervicouterino por cada 100,000 mujeres. El color azul intenso indica la tasa de incidencia más alta. La tasa de incidencia de CaCu en México en 2020 fue de 12.2 por cada 100,000 mujeres.

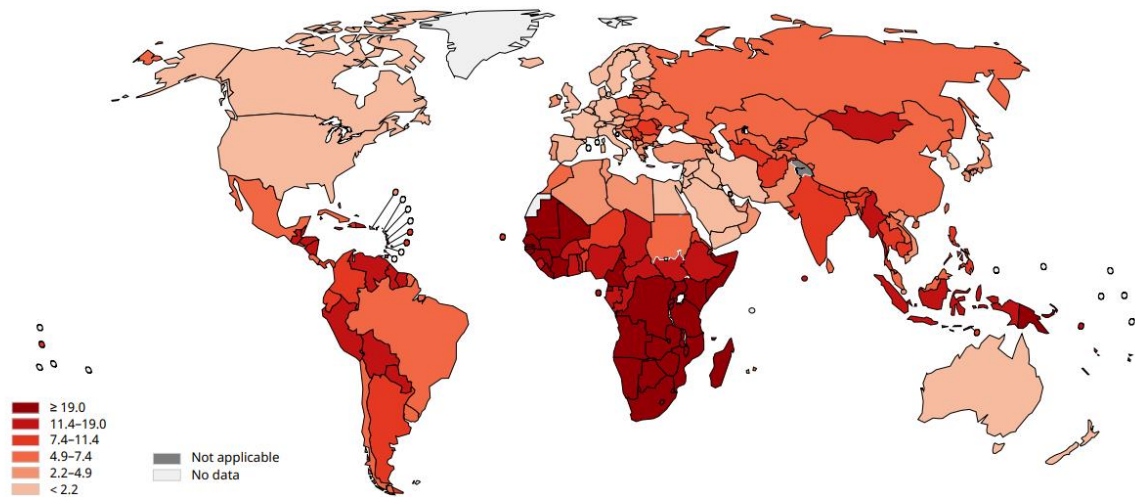


Figura 2 Tasas de mortalidad mundial del cáncer cervicouterino. En la figura pueden apreciarse las tasas de mortalidad del cáncer cervicouterino por cada 100,000 mujeres en el mundo. La tasa de mortalidad en México en 2020 fue de 5.6 por cada 100,000 mujeres.

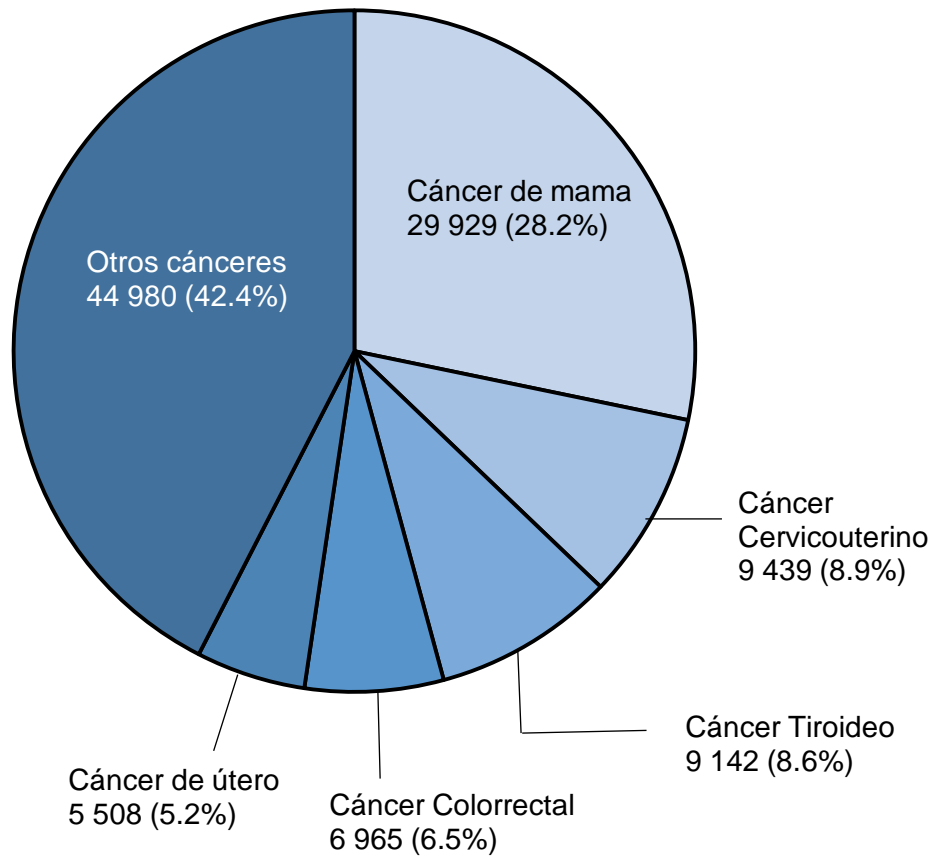


Figura 3 Número de nuevos casos de cáncer en México. El gráfico muestra el número de nuevos casos de cáncer en México durante el año 2020 en mujeres de todas las edades. Se muestra que el CaCu ocupa el segundo lugar de después del cáncer de mama.

3.3 Factores de riesgo asociados al desarrollo de CaCu

- Infección por virus del papiloma humano

El factor principal para el desarrollo de CC es presentar una infección por Alrededor del 99.7% de los tumores malignos en el cuello del útero están asociados a una infección persistente de un tipo de VPH-AR (Cohen y col., 2019). Sin, embargo, existen múltiples factores de riesgo que pueden favorecer el desarrollo de CaCu (como factores sexuales y reproductivos, ambientales o de comportamiento).

- Comportamiento sexual.

Se ha documentado que las mujeres que inician su vida sexual antes de los 18 años tienen una mayor probabilidad de padecer CaCu que aquellas quienes la inician posterior a esta edad. En efecto, la actividad sexual antes de la mayoría de edad ha sido ligada a un mayor riesgo de adquirir una infección por VPH, que puede llevar a displasia cervical y anormalidades a una edad más temprana (Mekonnen y Mittiku, 2023). El número de parejas sexuales es otro factor de riesgo fuertemente asociado al CaCu (Medina-Villaseñor y col., 2014).

- Uso de anticonceptivos orales (AO).

El uso de AO, especialmente un uso prolongado, es un conocido factor de riesgo para el CC. Múltiples estudios reportan una fuerte asociación al uso de AO con el riesgo de cáncer, especialmente adenocarcinoma (Asthana y col., 2020).

- **Multiparidad**

Un metaanálisis realizado en 2020 reveló que las mujeres con múltiple paridad tenían 2.65 veces más probabilidades de desarrollar CaCu y que sus homólogas (Tekalegn y col., 2022). Esta asociación puede deberse a los cambios hormonales durante el embarazo. Se sabe que la concentración de estrógeno y progesterona en sangre aumentan y alcanzan los niveles más altos en las últimas semanas de gestación lo cual puede ser responsable de las alteraciones en la unión entre el epitelio escamoso y columnar (zona de transformación) que se producen durante el embarazo (Ostergard, 1979). Otra posibilidad puede ser que, debido al uso del anticonceptivo, se evita el uso de una barrera protectora como el uso del condón, que facilita la infección viral y consecuente CaCu.

- **Inmunodeficiencia**

El virus de inmunodeficiencia humana (VIH), agente etiológico del SIDA debilita el sistema inmunitario y ocasiona un mayor riesgo de que ocurra una infección por VPH (*American Cancer Society*, 2020). El resultado de múltiples estudios de la relación entre VIH y CaCu sugieren una mayor tasa de infecciones persistentes de VPH, mayor cantidad de citologías anormales y una incidencia más alta de NIC y cáncer invasivo entre la población que vive con VIH (G. Liu y col., 2018). Un sistema inmunitario debilitado disminuye la capacidad del cuerpo para combatir una infección por VPH o para revertir neoplasia cervical (*National Cancer Institute*, 2023).

- **Tabaquismo**

La exposición al tabaco de forma activa o pasiva ha sido identificada como un factor de riesgo independiente para el desarrollo de CaCu. El humo del tabaco contiene numerosas sustancias carcinogénicas que pueden afectar negativamente la salud cervical (Sugawara y col., 2019). Diversos estudios señalan al tabaquismo como un factor ambiental que favorece el riesgo de sufrir lesiones pre cancerígenas y CaCu. El uso del tabaco es el elemento de mayor importancia para la progresión, mujeres con infección por VPH pueden duplicar la probabilidad de presentar lesiones que evolucionen a cáncer en comparación con aquellas que no son fumadoras.

3.4 Características generales del Virus del Papiloma Humano

Los papilomavirus son un grupo de virus ubicuo que infecta los epitelios de mamíferos y otras especies vertebradas. Pertenecen a la familia *Papillomaviridae*, específicamente a 5 géneros: alfa, beta gamma, mu y nu. Alrededor de 200 genotipos de VPH que infectan humanos han sido identificados (Tong y col., 2019). Los virus del VPH miden aprox 50 nm de diámetro sin envoltura, y el genoma viral está constituido dentro de una cápside icosaédrica compuesta por 72 capsómeros. El genoma viral es circular de ADN bicatenario de aproximadamente 8 Kpb (Munger, 2019).

El VPH representa una de las ITS's más comunes en la población, aunque también puede adquirirse por medio de fómites o contacto piel con piel en una zona infectada. Se han identificado más de 150 tipos de VPH que pueden clasificarse según su tropismo cutáneo o mucoso. Los genotipos de tropismo cutáneo se aíslan de forma frecuente en verrugas cutáneas y plantares, en pacientes inmunodeprimidos y en

algunos tumores epiteliales. Los genotipos mucosotrópicos se identifican en lesiones neoplásicas no solo de cuello uterino sino también de otras zonas (ano, pene, vagina y vulva). Ocasionalmente, estos tipos virales se encuentran en tejidos y lesiones malignas de la cavidad oral, orofaringe y laringe. (Sanabria-Negrín, 2009).

3.5 Estructura genómica del virus

El genoma del VPH está conformado por alrededor de 8 Kpb y es una molécula de ADN circular de doble cadena. La disposición de los marcos abiertos de lectura (ORF) es igual en todos los tipos de papilomavirus (Prendiville y Davies, 2004). El genoma se divide en tres regiones: la larga de control (LCR) que carece de potencial codificante; la región de expresión temprana (E1-E8) y región de expresión tardía (L1 y L2).

3.5.1 Genes de expresión temprana

La región de genes tempranos alberga 8 ORF (E1 a E8) que controlan la replicación viral, y algunos de estos genes, como E6 y E7, pueden tener capacidad transformadora.

- **E1**: Tiene un tamaño de 68-85 kD, se une al origen de replicación y presenta actividad ATPasa y helicasa (Wilson y col., 2005). Forma un complejo de iniciación con la proteína E2, ciclinas, quinasas dependientes de ciclinas, ADN polimerasa y proteínas de la célula huésped (Hong y Laimins, 2013).

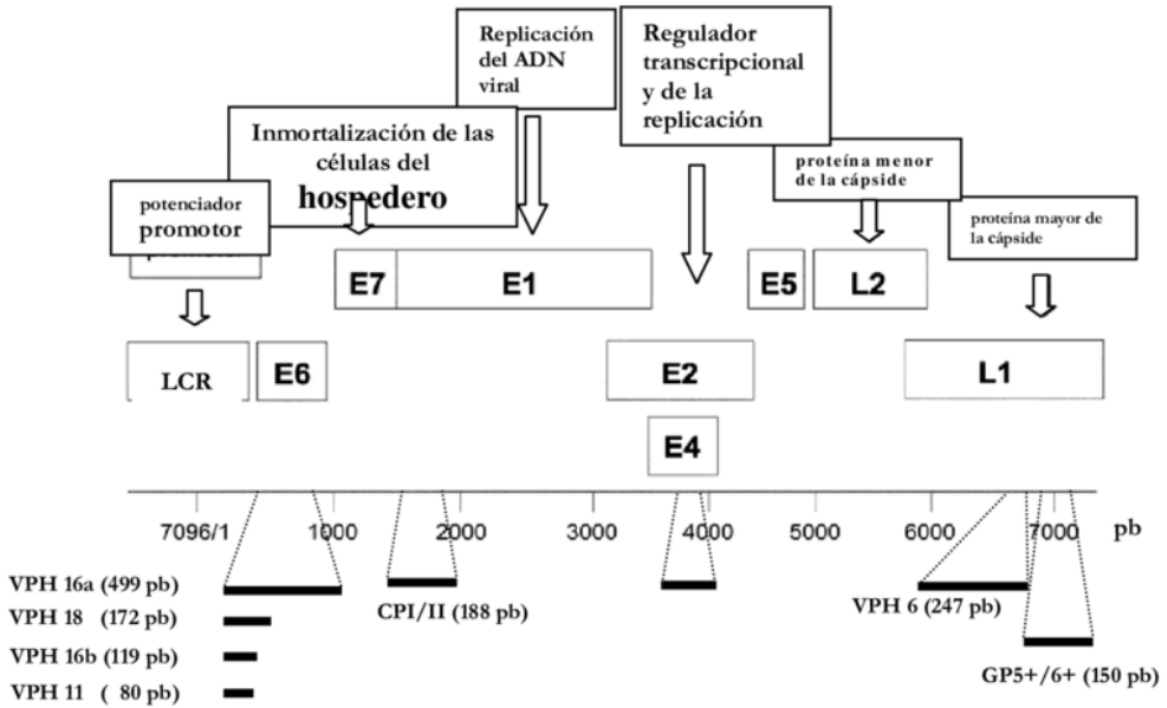


Figura 4 Representación lineal del genoma del VPH. Se aprecian las proteínas de expresión temprana y tardía, así como su lugar y función en el genoma. (Modificado de Morán (2005).

- **E2**: de 48kD aproximadamente, es el principal regulador transcripcional y funciona como como represor del promotor temprano uniéndose a los sitios de unión de E2 proximales al sitio de inicio de la transcripción temprana (Hong y Laimins, 2013).

- **E3**: su función y tamaño son poco estudiadas, solamente se encuentra en algunos tipos de VPH (Prendiville y Davies, 2004).

- **E4**: de 10-44kD. Los productos del gen E4 tienen una estructura modular y se expresan a partir del ARNm empalmado E1^{E4}. Sus proteínas E4 contribuyen a la eficacia de amplificación del genoma y a la síntesis del virus, facilitan la liberación y transmisión eficiente del virus (Doorbar, 2013).

- **E5**: 14 kD aproximadamente. Puede activar el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) mediante su unión a la proteína bomba ATPasa, lo que conduce a una reducción de la regulación de los receptores EGFR. La activación del EGFR puede conducir a la sobreexpresión de protooncogenes y estimular el rápido crecimiento celular (Tsai y Chen, 2003).

- **E6**: Con un tamaño de 16-18 kD, en combinación con la ubiquitina ligasa humana E6AP (proteína asociada a E6) forma un complejo que se dirige específicamente a p53 (importante supresor tumoral) para su degradación mediada por ubiquitinación. Además, la E6 desempeña otras funciones para promover la replicación viral, interrumpe los puntos de control del ciclo celular para promover la proliferación incrementando la actividad telomerasa (Y. Liu y Baleja, 2008).

- **E7**: Posee un tamaño de 10kD aproximadamente. E7 es la tercera proteína codificada por el VPH. Al dirigirse a las vías reguladoras del ciclo celular controladas por la proteína supresora de tumores pRB y las proteínas relacionadas p107 y p130,

proporciona un entorno favorable para la replicación del ADN viral al mantener un estado similar a la fase S en los queratinocitos en diferenciación (IARC, 2005).

- **E8:** recientemente se ha descrito una nueva proteína de la fusión de un pequeño ORF E8 con parte de la proteína E2. Tiene un tamaño de unos 20kD y es capaz de reprimir la replicación del ADN viral, así como su transcripción, por ello se cree que juega el papel más importante en el mantenimiento de la latencia viral observada en las células del epitelio infectado (Hiller y col., 2004)

3.5.2 Genes de expresión tardía

La región de los genes tardíos cuenta con 2 ORF, cuyas proteínas cuentan con una función estructural

- **L1:** Su tamaño ronda los 57 kD y constituye la proteína mayor de la cápside viral. Cuando existe la sobreexpresión esta puede auto ensamblarse para formar “*virus-like-particles*” (VLP's) (IARC, 2005).

- **L2:** Sus dimensiones varían entre 43-53 kD y es la proteína menor de la cápside viral (Prendiville y Davies, 2004).

3.5.3 Región larga de control

LCR es un segmento genómico que no posee ORF, es una región reguladora no codificante de aproximadamente 1Kpb. Contiene elementos reguladores que están involucrados en la replicación viral y también en la transcripción de genes virales incluyendo los oncogenes E6 y E7. (Gyöngyösi y col., 2023). LCR se involucra con numerosos factores de transcripción celulares y virales, tales como AP1 y SP1, así como para las proteínas virales E1 y E2, que controlan la replicación y expresión del genoma viral (Bernard, 2013).

3.6 Ciclo replicativo del VPH y su progresión a cáncer

El ciclo viral del VPH tiene inicio con la infección de la capa basal del epitelio, generalmente a través de micro abrasiones ocasionadas durante las relaciones sexuales que alteran la barrera epitelial (Tong y col., 2019). La naturaleza de los receptores del VPH aún no está clara, aunque se ha implicado a la integrina $\alpha 4\beta 6$ (Munger y col., 2004). El genoma del VPH utiliza la maquinaria de la célula hospedera para replicar su ADN manteniéndose en un número bajo de copias. Tras la diferenciación de las células epiteliales, el virus se replica hasta alcanzar un elevado número de copias y expresa los genes de la cápside (L1 y L2), lo que da lugar a la producción de nuevos viriones progenie que se liberan de la superficie epitelial y continúan infectando células vecinas. Para persistir, el VPH necesita infectar células basales que presenten características similares a las de las células madre y que aún sean capaces de proliferarse, por lo que la zona de transformación posicionada entre el endo-exocérvix es un lugar ideal para la infección y posterior propagación (de Sanjosé y col., 2018).

Durante el período de infección persistente no existe respuesta inmunológica aparente, Esto se debe en parte al propio ciclo viral, que garantiza que se produzcan altos niveles de replicación viral sólo en las capas superiores de células diferenciadas que no están expuestas a las defensas inmunitarias. Los VPH también están equipados para interferir con las respuestas inmunes innatas y retrasar las respuestas inmunes adaptativas (Stanley, 2012). Sin embargo, en algún punto de la mayoría de las infecciones por VPH, el sistema inmunológico es capaz de inducir la regresión de

las células y lesiones infectadas. La mayoría de las infecciones por VPH desaparecen por sí solas en los primeros dos años (McBride, 2017).

La oncogénesis tiene lugar cuando ocurre la integración del genoma viral al ADN de la célula hospedera. La integración viral ocurre a través de los genes tempranos (E1 y E2), estos genes codifican proteínas que regulan la expresión genética viral y su replicación. Este proceso produce una alteración en la expresión de proteínas virales E6 y E7 las cuales se encuentran presentes en el cáncer de cuello uterino asociado al VPH (Castellsagué, 2008). La función biológica más importante de la proteína E6 es la inactivación de la proteína supresora p53. El gen p53 se considera el “guardián del genoma”, es el responsable de reparar las células mutadas antes de entrar en la mitosis, si no se pueden reparar, es capaz de activar los genes que inducen la apoptosis y dirigir las células mutadas a este proceso; por lo tanto, la interacción entre la proteína E6 del VPH y la proteína supresora p53 se considera crucial en el proceso de transformación maligna porque permite la proliferación de las células epiteliales con inestabilidad cromosómica y alto nivel de mutaciones provocadas por el VPH. La proteína E6 es capaz de lograr la degradación de la proteína p53 uniéndola a una enzima, la ubiquitina ligasa, y de esta manera ser metabolizada en el proteosoma. (McBride, 2017).

La proteína E7 es capaz de inhibir otra proteína supresora, la proteína de retinoblastoma (pRB) y de esta manera se liberan factores de transcripción, como el E2F, los cuales promueven la actividad de proteínas relacionadas con el crecimiento celular. Además, la proteína E7 es capaz de aumentar la actividad de las ciclinas A y E, el activador de kinasas cdk-2, y de esta manera pueden favorecer el paso de la

célula de la fase G1 a la S. Otra función de la proteína E7 es la inhibición de las proteínas supresoras p21 y p27. Finalmente, vemos como las proteínas E6 y E7 actúan como oncoproteínas eliminando las funciones supresoras de las proteínas p53, p21, p27 y pRB; además, aumentando la actividad de las ciclinas dependientes de kinasas eliminando sus mecanismos inhibitorios. Esto conlleva a un crecimiento sin control de células alteradas ya que se han perdido los puntos de chequeo del ciclo celular inducidos por estas oncoproteínas (Hernández, 2017). La **Figura 5** muestra el progreso de una infección por VPH a CaCu.

3.7 Clasificación de los genotipos de VPH

La familia Papillomaviridae contiene 49 géneros y más de 300 tipos de papilomavirus humanos y animales. Alrededor de 200 son papilomavirus humanos y están organizados en cinco géneros filogenéticos denominados alfa, beta, gamma, mu y un. Es el género Alpha-Papillomavirus el grupo que alberga a los VPH de tropismo muco-cutáneo y por lo tanto los que se involucran en las lesiones cervicales en seres humanos.

La clasificación de los VPH está basada en la secuencia nucleotídica de los ORF que codifican la proteína L1 (Bernard y col., 2006). Los VPH pertenecen a un género distinto cuando la similitud en la secuencia nucleotídica de la proteína L1 es menor al 60%. Un genotipo de VPH se define como un genoma cuya secuencia del gen L1 es al menos un 10% diferente de cualquier otro tipo. Se le conoce como una variante cuando la secuencia nucleotídica varía entre un 2 y 10%. Cada tipo de VPH se identifica mediante un número. Por ejemplo, VPH- 11 y -6 se han encontrado en

verrugas genitales y los VPH-16 y -18 están mayormente asociados a cáncer anogenital (Bzhalava y col., 2015).

Los VPH también pueden clasificarse según su capacidad de producir cáncer y se denominan de alto y bajo riesgo, la siguiente tabla describe los tipos de VPH, su clasificación y sus manifestaciones clínicas más comunes.

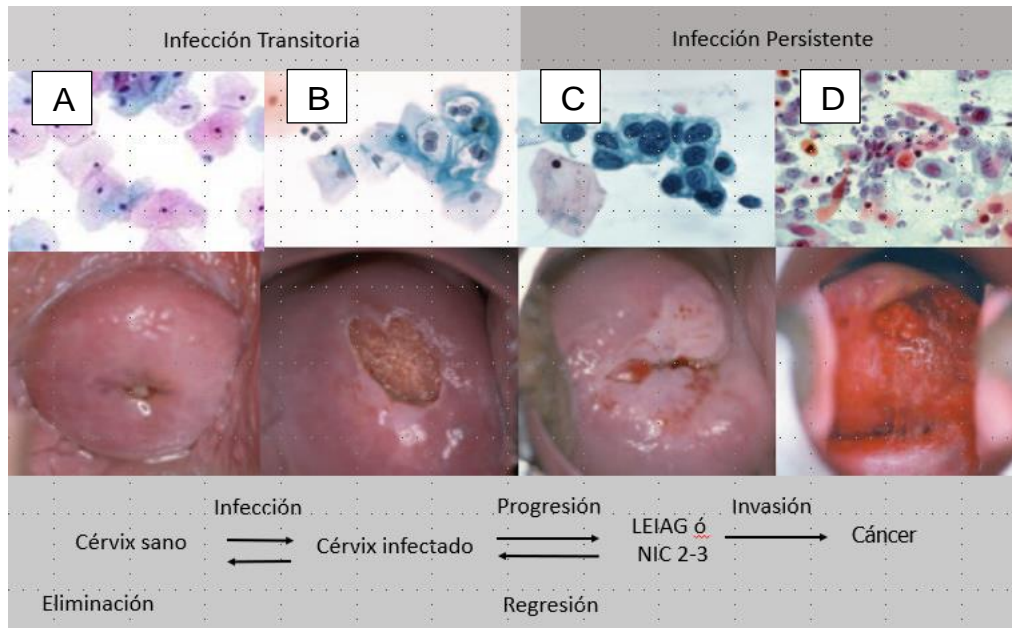


Figura 5. Progresión de infección de VPH a CaCu. La infección persistente por VPH de alto riesgo implica el desarrollo de lesiones premalignas que a través del tiempo pueden convertirse en cáncer, mientras que una infección transitoria presentará una regresión de la lesión. A) Cérvix sano. B) NIC 1 o lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LEIBG), presenta células anormales el 1/3 inferior del epitelio. C) NIC 2-3 o lesión escamosa intraepitelial de alto grado (LEIAG) afecta más de 2/3 del epitelio cervical, presenta mayor actividad mitótica y contenido de células inmaduras en la parte central y superior de la lesión. D) Carcinoma *in situ*. (Modificado de Schiffman, 2007).

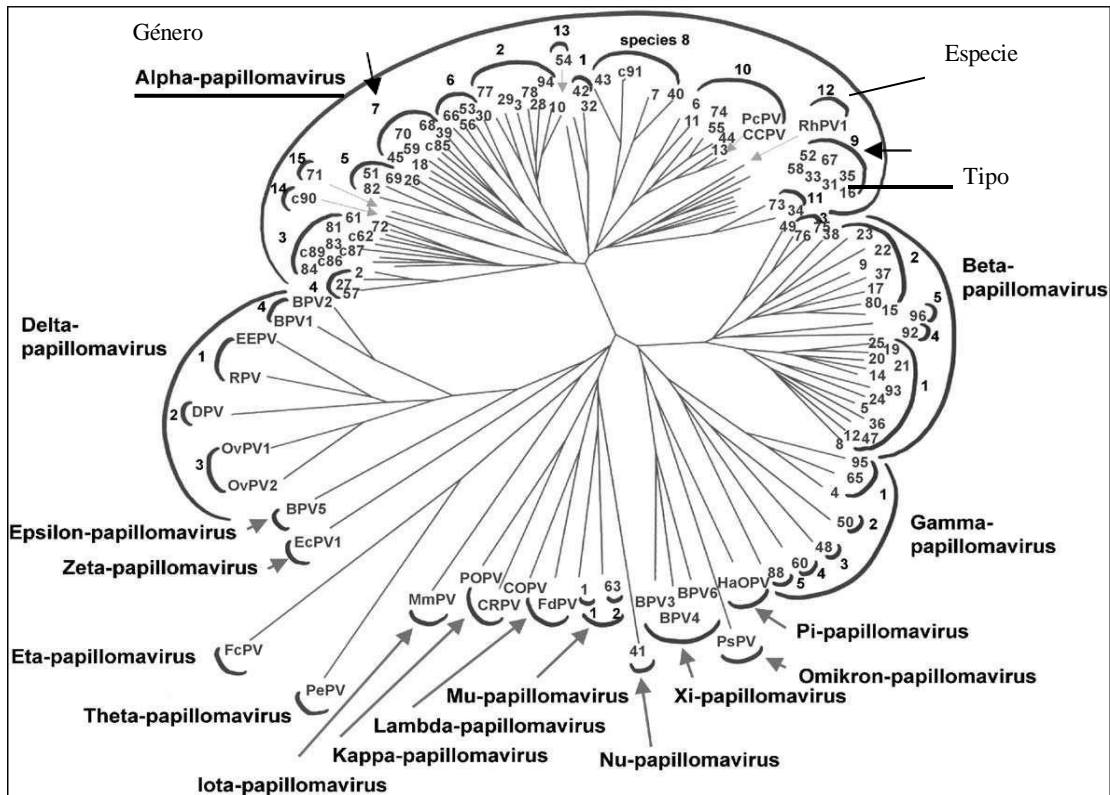


Figura 6. Clasificación filogenética del VPH. Se muestran los diferentes grupos en los que se dividen los VPH. De los cuales los géneros Alpha y Beta son los más importantes clínicamente. (Modificado de Villers y col., 2004)

Cuadro 1. Clasificación de Alpha-papilomavirus según su riesgo

Género	Tipo	Clasificación	Manifestación Clínica
Alpha 1	VPH -32	Bajo riesgo	Hiperplasia epitelial oral
Alpha 8	VPH-7	Bajo riesgo	Neoplasia Intraepitelial Cervical 1
Alpha 10	VPH-6	Bajo riesgo	Condylomata acuminata
	VPH-11	Bajo riesgo	Papilomatosis respiratoria recurrente
Alpha 13	VPH 54	Bajo riesgo	Verrugas de Butcher
Alpha 9	VPH-16	Alto riesgo	Cada tipo está asociado a una carcinogenicidad distinta (Cáncer de cuello uterino, pene, vulva, ano, cuello, etc.)
	VPH-33	Alto riesgo	
Alpha 7	VPH-18	Alto riesgo	
	VPH-45	Alto riesgo	
Alpha 5	VPH-51	Alto riesgo	
Alpha 6	VPH-56	Alto riesgo	
Alpha 11	VPH-34	Alto riesgo	
Alpha 3	VPH-61	Bajo riesgo	Lesiones de bajo riesgo en mucosa
Alpha 2	VPH-10	Bajo riesgo	
Alpha 4	VPH-57	Bajo riesgo	

Modificado de Egawa y Doorbar (2017)

3.8 Genotipos VPH-33 y -61

Pese a que múltiples estudios sitúan a los VPH -16 y -18 como aquellos con mayor asociación a tumores malignos en áreas anogenitales (Camacho-Ureta y col., 2018), actualmente se conocen alrededor de 14 genotipos de VPH-AR que incluyen al tipo -33 y otros tipos cuyo riesgo no ha sido determinado como el VPH-61.

El VPH-33 pertenece al género Alpha-papillomavirus lo que significa que su tropismo es mucoso y cutáneo, está clasificado como VPH-AR y es encontrado principalmente en lesiones precancerosas como NIC 3 o en situaciones de CaCu. Un estudio realizado al sureste de China cataloga el VPH-33 como uno de los más carcinogénicos de la región (Long y col., 2018). Así mismo, estudios en Sinaloa demuestran una alta prevalencia de este genotipo en mujeres con condilomatosis vulvar o con citología normal (Acosta-Escalante y col., 2022; Aranda-Rivera, 2014).

EL VPH-61 pertenece al género Alpha-papillomavirus 3, igual que el VPH-33, su tropismo es mucho-cutáneo y generalmente se clasifica como VPH-BR; sin embargo, no es un objeto de estudio común y por lo tanto se desconoce mucha información de su impacto real. Un estudio realizado en Jalisco sitúa al VPH-61 como el genotipo de bajo riesgo más frecuente con un 6.25% (Flores-Miramontes y col., 2015). Otros estudios señalan que el genotipo VPH-61 se encuentra principalmente en infección múltiple con otros genotipos y encuentra en lesiones cervicales leves (Padilla-Mendoza y col., 2020).

3.9 Métodos para el diagnóstico de CaCu y VPH

3.9.1 Métodos basados en el diagnóstico citológico

La citología es un método primario de cribado usado para identificar lesiones preclínicas y prevenir el desarrollo de CaCu. Este método ha sufrido numerosos cambios a través de los años. La citología ginecológica comienza, en sentido estricto, en 1943 con el método desarrollado por George N. Papanicolaou y constaba de la tinción de frotis vaginales para la identificación de células tumorales (Varela-Martínez, 2005).

Los estudios iniciales de Papanicolau no manejaban criterios anatomopatológicos en su clasificación, se utilizaban una clasificación numérica basada en cinco categorías o grado. Esta clasificación se ha modificado debido al conocimiento sobre la patogénesis de la neoplasia cervical y al papel del VPH como agente etiológico.

El concepto de Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) fue acuñado por Richart en 1967 donde se reconocen tres estados anómalos en las células cervicales según su progresión, maduración y diferenciación. De acuerdo con la alteración presentada, si afecta al tercio basal se considera NIC 1, entre uno y dos tercios NIC 2 y más de dos tercios o más NIC 3 (**Figura 7**).

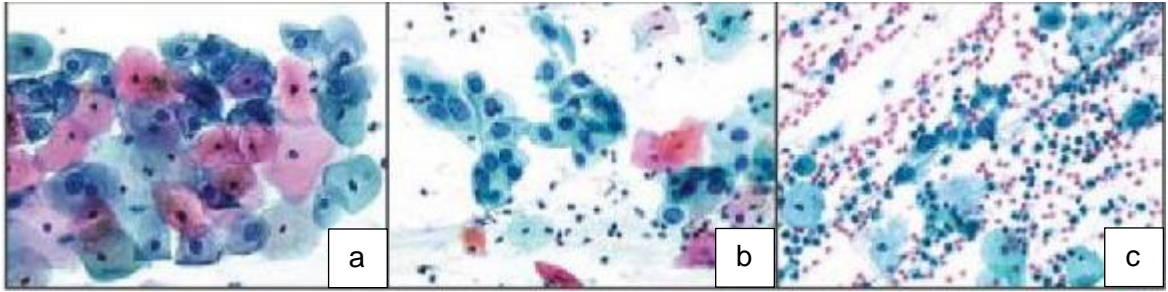


Figura 7. Ejemplo de Neoplasia intraepitelial Cervical. a) NIC. Las células displásicas están confinadas en el tercio inferior del epitelio. b) NIC2. Las células atípicas aparecen sobre todo en los dos tercios inferiores del epitelio. y c) NIC3. Las células displásicas se distribuyen por el tercio superior de los epitelios más allá de los dos tercios inferiores.

En el año de 1988, nace el Sistema Bethesda, el cual se creó con la idea de elaborar un formato de reporte claro para la citología ginecológica, así la terminología utilizada podría ser uniforme, reproducible entre los laboratorios de citología cervical y que, al mismo tiempo, reflejara los conocimientos más actualizados sobre las neoplasias cervicales (Moreno-Barrios, 2014). En esta clasificación, las células atípicas se dividen en ASC-US (células escamosas atípicas de significado indeterminado) y ASC-H (células escamosas atípicas, no puede excluirse una lesión intraepitelial escamosa de alto grado). Además, se establecen las Lesiones Intraepiteliales de bajo grado (LIEBG) (incluyen infección por VPH y NIC 1) y las Lesiones Intraepiteliales de alto grado (LIEAG) (incluye NIC 1 y NIC 2). Esta es la clasificación recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Cuba-Reyes M. y col, 2019). La clasificación del sistema Bethesda es mostrada en el **Cuadro 2**.

La citología cervical para el tamizaje de CaCu puede ser de dos tipos; citología convencional y la citología en base líquida. En la citología convencional la muestra se obtiene por raspado o cepillado del endo-exocérvix y la cavidad vaginal, éste se coloca en un portaobjetos formando una monocapa y es fijado, posteriormente será teñido para su interpretación histopatológica. Esta citología puede presentar algunas desventajas pues el proceso manual de extensión de las células en el portaobjetos puede conducir a una distribución desigual y dificultar el proceso de interpretación.

Por otro lado, la citología en base líquida evita el extendido de células en la fase inicial y coloca directamente la muestra en el líquido preservante, lo que incrementa la sensibilidad del estudio (Contreras, 2015).

Cuadro 2. Clasificación del Sistema Bethesda (2001).

Tipo de muestra	<ul style="list-style-type: none"> • Extendido convencional • Muestra de citología líquida
Idoneidad de la muestra	<ul style="list-style-type: none"> • Satisfactoria • Insatisfactoria (especificar motivo) <ul style="list-style-type: none"> - Muestra rechazada no procesa - Muestra procesada y examinada
Categorización general (opcional)	<ul style="list-style-type: none"> • Negativo para Lesión Intraepitelial o malignidad • Células epiteliales normales • Otras normales en mujeres
Interpretación/resultados	<ul style="list-style-type: none"> • Negativo para lesión intraepitelial o malignidad • Células epiteliales anormales <p>Células escamosas atípicas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ASC-US (de significado incierto) • ASC-H (no puede excluir LEIAG) • Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LEIBG) • Lesión escamosa intraepitelial de alto grado (LEIAG) • Carcinoma escamoso (CEC) <p>Células glandulares:</p> <ul style="list-style-type: none"> • AGC (atípicas] especificar endocervical endometrial • AGC-N (atípicas, posible neoplasia) • AIS (Adenocarcinoma in situ endocervical) • Otros • Células endometriales en mujer de 40 años
Notas (Opcional)	

El Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) recomienda la citología cervical convencional como prueba de tamizaje para mujeres con vida sexual activa, mujeres dentro de los tres años después de la primera relación sexual o hasta los 21 años y a mujeres que lo solicite y sugiere el siguiente diagrama de flujo para el cribado de cáncer cervical en México (González-López y col., 2011).

3.9.2 Métodos moleculares de detección de ADN

El cribado mediante citología y test molecular de VPH permiten un diagnóstico y tratamiento precoz de lesiones premalignas impidiendo la progresión a carcinoma invasor (Vidal y col, 2021).

Debido a que el VPH no puede ser replicado en cultivos de tejidos estándar, el desarrollo de métodos moleculares ha sido fundamental para la detección de VPH y el control primario del CaCu. Existen tres métodos moleculares básicos utilizados para este propósito, estos son los métodos de hibridación de ácidos nucleicos, métodos de amplificación de señal y métodos de amplificación de objetivos (Çali y col., 2023).

La hibridación de ácidos nucleicos es un método utilizado para detectar secuencias de nucleótidos basado en la unión complementaria a una sonda de oligos (ADNc, ARNc, entre otros) a una secuencia diana específica de ARN o ADN en células. Los híbridos formados se pueden visualizar y detectar por medio de fluorescencia (Williams y col., 2022). Entre los métodos de hibridación se encuentra el método de *Southern blotting* el cual es considerado como el estándar de oro para el análisis genómico del VPH (Çali, 2023).

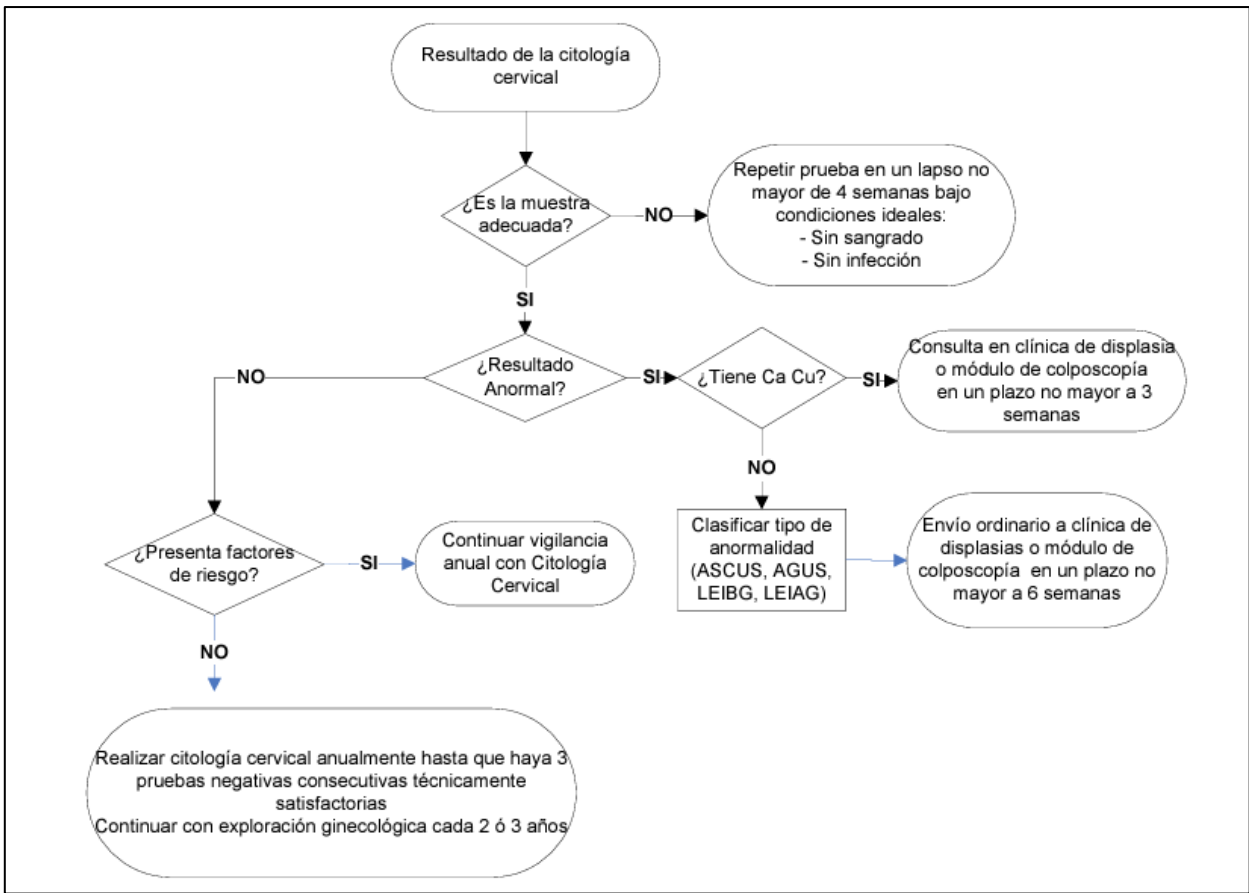


Figura 8. Diagrama de flujo sugerido por el IMSS para el cribado de cáncer cervicouterino. Describe el proceso a seguir para la prevención del CaCu a través del cribado. Si la muestra fue adecuada se evaluarán los resultados según el siguiente criterio: si el resultado es normal y la paciente no presenta factores de riesgo deberán realizarse exploraciones ginecológicas cada dos o tres años. Por otro lado, si el resultado no es normal deberá clasificarse el tipo de anomalía, posteriormente deberá enviarse a clínica de displasia o módulo de colposcopia en un plazo no mayor a 3 o 6 semanas dependiendo del hallazgo de anomalía.

Los métodos de amplificación de señal son una extensión de las técnicas de sondas con una sensibilidad mayor. En este sistema, los ácidos nucleicos se hibridan primero con sondas específicas. Luego, la cantidad de señales generadas los complejos híbridos aumentan. *Hybrid Capture 2* es el método de amplificación de señal aprobado por la FDA (*Food and Drugs Administration* de EU) para el diagnóstico de VPH (Çali, 2023).

Por último, en los métodos de amplificación de objetivos tenemos a la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), esta técnica permite copiar exponencialmente un fragmento específico de ADN en poco tiempo (Williams, 2022). Esto la convierte en una opción muy flexible y sensible para la detección de VPH. La PCR anidada múltiple (NM-PCR) es una herramienta sensible y útil para la detección del ADN del VPH, especialmente cuando se requiere un genotipado exacto del VPH y la identificación de múltiples infecciones por VPH (Sotlar, 2004).

A pesar de la existencia de múltiples kits comerciales para la detección de VPH, estos se centran en identificar a los genotipos más comunes de alto y bajo riesgo. Como puede observarse en la tabla x, donde se enlistan los kits comerciales más comunes aprobados por la FDA, los genotipos que identifica son prácticamente los mismos, restando importancia a genotipos menos estudiados como el VPH-61 el cual no se encuentra en ninguno. Esto puede representar un sesgo en la información de la diversidad de genotipos de VPH estudiada.

Cuadro 3. Kits comerciales de detección de VPH y genotipos que identifica.

Kit Comercial	Principio de Detección	Genotipos que Identifica
Captura de Híbridos (Qiagen)	Detección de genoma	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68
Cervista HPV HR test (Hologic)	Amplificación de señal	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, y 68
Cobas 4800 HPV (Roche)	Amplificación y genotipado de VHP 16 y 18	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, y 68
Aptima HPV Assay (Gen Probe)	Amplificación de proteínas E6 y E7	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68

3.10 Antecedentes de la prevalencia de los genotipos VPH-33 y VPH-61 en el mundo

Actualmente existen diversos estudios dedicados a la identificación de genotipos de VPH en distintas regiones del país y del mundo, como el estudio realizado en Sichuan, China por Li Bei y col. en 2018, en él analizaron la prevalencia y distribución de los genotipos de VPH en un total de 10,953 mujeres con diferentes resultados citológicos. La tasa general de infección por VPH fue de 24.1%. La prevalencia de VPH-AR fue 19.9%. EN pacientes con NIC1, el VPH-33 ocupó el 3er con mayor prevalencia, precedido por el VPH-18 y VPH-16 respectivamente. Por otro lado, en Noruega, Sjoeborg y col. en 2010 realizaron un estudio de distribución de genotipos de acuerdo con la severidad de la neoplasia intraepitelial. Se analizaron 643 pacientes con histología confirmada de NIC2+ de las cuales el 98.4% resultó positiva VPH, siendo el VPH-16 el más frecuente, detectado en el 51.2% de las pacientes, seguido de los VPH -31 y VPH-33. Infección múltiple de dos o más genotipos fueron detectadas en el 52.5% de las mujeres. Los genotipos VPH-16 y VPH-33, en infección múltiple o única, fueron detectados con mayor frecuencia en mujeres con NIC3+. En otro estudio realizado por Md-Yimin y col. en 2019 en California, Estados Unidos, se analizaron para infección por VPH en 21 biopsias con diagnóstico de LIEAG+ cuya prueba previa resultó negativa. Sin embargo, se detectó VPH en el 95% de las muestras. En 14 muestras se detectó una infección por un VPH-AR; mientras que 6 fueron infectadas por un VPH-BR, habiendo un caso de infección única por el VPH-61. Este resultado difiere de la clasificación regular del VPH-61 generalmente colocado en la categoría de bajo riesgo según la clasificación de la IARC, debido a la insuficiencia de datos sobre su potencial oncogénico. El autor de este estudio concluye que algunos de estos

genotipos podrían no ser tan benignos como comúnmente se percibe y podrían causar displasia cervical o incluso cáncer, especialmente en mujeres con un resultado "negativo" en la prueba del VPH-AR.

Un estudio realizado en el norte de Perú por Ponce-Benavente y col. en 2018 con 397 raspados cervicovaginales detectó presencia de VPH en 121 muestras. Al menos un VPH-AR fue encontrado en el 63.3% de las pacientes y un VPH-BR en el 7.4%. Dentro de los VPH-AR, VPH-31 fue el más común, presente en el 20% de los casos, seguido del VPH-16 presente en 11.4%. Infección múltiple entre dos o más tipos fueron observadas en 12 casos.

En México también se han realizado numerosos estudios acerca de la frecuencia de genotipos de VPH-AR y BR. Algunos de ellos evidencian la alta incidencia del VPH-33 y la presencia del VPH-61 a pesar de la poca información con la que se cuenta hoy en día. El estudio realizado por Hernández-Rosas en 2021 en el estado de Sonora incluyendo citología y test de VPH de 1000 mujeres, se obtuvo una prevalencia de VPH de 27.2% y los VPH-33 y VPH-16 se encontraron con la misma frecuencia principalmente en pacientes con NIC2+. Otro estudio realizado por Flores-Miramontes y col. en 2015 en el oeste de México a 233 mujeres arrojó una prevalencia de 66.1%. Entre los genotipos más frecuentes se encontraron el VPH-15, VPH-51 y VPH-84. Por otro lado, en el grupo de pacientes con NIC1 se encontraron 5 casos del genotipo 61 (7.5%) siendo un caso como infección única. Los estudios de genotipificación en Sinaloa son más bien escasos; sin embargo, el grupo de investigación de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas ha realizado esfuerzos para reunir información acerca de la distribución y diversidad de los genotipos de VPH en el estado como el estudio

de Aranda-Rivera en 2016, donde se determinó la frecuencia de genotipos de VPH de 96 mujeres con citología normal, obteniendo una positividad de 52.1% y siendo el VPH-33 el de mayor frecuencia (52.1%).

El estudio de las infecciones múltiples por genotipos de VPH ha tomado mayor relevancia clínica pues se desconoce su implicación en el desarrollo aseverado de lesiones o CaCu. En México durante el año 2020 Oyervides-Muñoz y col. estudiaron la asociación entre infecciones múltiples de VPH, carga viral y lesiones cervicales persistentes. Utilizaron 294 muestras de citología cervical, de las cuales el 59% estaban infectadas con más de un genotipo. Los genotipos asociados a infección múltiple fueron los genotipos VPH-16, VPH-18 y VPH-39. Además, en las muestras de seguimiento, el 54.8% de las pacientes con infección múltiple continuaron positivas a VPH. Los estudios de seguimiento proporcionaron más evidencia de que las infecciones múltiples por VPH y las cargas virales altas pueden ser marcadores importantes para identificar pacientes con alto riesgo de tener infecciones persistentes y desarrollar CaCu.

IV JUSTIFICACIÓN

El CaCu representa un gran problema de salud pública en el mundo y afecta principalmente a países de bajos y medianos ingresos, y frecuentemente se diagnostica en estadios avanzados donde el tratamiento es menos efectivo. La detección temprana es una pieza fundamental para disminuir la alta incidencia y mortalidad del CaCu en México y Sinaloa. Es crucial estudiar genotipos que representen un potencial impacto en la salud pública como lo es el genotipo VPH-33, su prevalencia en Sinaloa ha sido reportada en estudios previos y a diferencia de los genotipos VPH-16 y -18, este no se encuentra en la vacuna disponible en México, Además, es un genotipo fuertemente asociado a lesiones de alto grado y al CaCu. Por otro lado, el genotipo VPH-61 es un genotipo poco estudiado, la mayoría de los estudios de tipificación se centran en aquellos genotipos de AR; sin embargo, existe evidencia de la alta prevalencia del VPH-61 en otros países, por lo que recabar información de la prevalencia de este genotipo en Sinaloa es relevante para determinar cuál es su verdadero impacto en la salud pública. Entender la prevalencia y comportamiento de los genotipos VPH-33 y VPH-61 puede ayudar a identificar su rol en el desarrollo de lesiones precancerosas y su interacción con otros genotipos, lo que es crucial para mejorar las estrategias de prevención y tratamiento.

V HIPÓTESIS

Se identificará por lo menos uno de los genotipos de interés en el 33% de las muestras analizadas.

VI OBJETIVOS

A. Objetivo general

Identificar los genotipos VPH-33 y VPH-61 en muestras de cepillado de endo-exocérvix de mujeres sinaloenses

B. Objetivos Específicos

- 1 Identificar el genoma viral en las muestras de cepillado de endo-exocérvix
- 2 Genotipificar los VPH presentes en las muestras utilizando NM-PCR
- 3 Analizar presencia de infecciones múltiples de los 15 genotipos de VPH
- 4 Estudiar la posible relación entre los genotipos virales y el resultado de la citología vaginal

VII MATERIALES Y MÉTODOS

El análisis de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Microscopía, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas (FCQB), Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS), ubicada en Avenida de las Américas y Josefa Ortiz de Domínguez S/N, Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México, C.P. 80010, bajo la supervisión y dirección de los Dres José Guadalupe Rendón Maldonado y Sergio Alonso Durán Pérez.

7.1 Diseño de estudio

El estudio es de carácter retrospectivo, descriptivo, observacional y transversal donde se tomarán en cuenta variables cualitativas y cuantitativas. Se tomó un tamaño muestral a conveniencia de 109 muestras de raspado de endo-exocérvix de pacientes estado de Sinaloa que acudieron a los laboratorios Delia Barraza, con los que la institución tiene convenio, a realizarse el estudio de detección de VPH por sospecha o por revisión rutinaria durante el periodo de 2021 a 2022. El proyecto fue aprobado por el comité de Ética e Investigación institucional y todas las participantes firmaron una carta de consentimiento informado.

7.1.1 Criterios de inclusión

Pacientes de todas las edades del sexo femenino que acudieron a los Laboratorios Delia Barraza a realizarse el estudio de detección de VPH durante los años 2021 a 2022.

7.1.2 Criterios de exclusión

Muestras de pacientes que no firmaron el consentimiento informado.

7.1.3 Criterios de eliminación

Muestra insuficiente o que no amplificó el control interno de reacción de β -globina humana.

7.2 Obtención de la muestra

Las muestras fueron tomadas por el personal capacitado, quienes les indicaron a las pacientes las pautas necesarias para la auscultación y toma de muestra. Las pacientes con la indumentaria adecuada debían recostarse en posición ginecológica para que posteriormente el médico introdujera un espéculo en la cavidad vaginal hasta lograr visualizar el cérvix, con ayuda de un cepillo vaginal o *citobrush* se tomaron células de la parte interna y externa del cervix.

7.3 Extracción de ADN

Las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Microscopía donde se procesaron para la extracción de ADN, que se llevó a cabo utilizando el *Kit Wizard Genomic DNA* (Promega), siguiendo las instrucciones del fabricante. En breve, el tubo de ensayo donde se transportó el *citobrush* en PBS 1x se agitó por vórtex y se transfirió a un tubo de 1.5 mL, el cual se centrifugó a 14,000 rpm/1m para formar la pastilla de células de cérvix, se removió el sobrenadante y se agregaron 600 uL de *Nuclei Lysis solution* más 7 uL de proteinasa K (10mg/mL) a la pastilla. Posteriormente se incubó la muestra a 55°C por 24 horas. Después de la incubación se agregaron 3uL de *RNasa solution* y se incubó nuevamente a 37°C por 30 min. Seguido, se añadieron 200 uL de *Protein Precipitation solution* y se agitó la muestra por 20 s con vortex. La muestra se colocó en hielo 5 min para luego ser centrifugada a 14,000 rpm por 4 min. Se transfirió el sobrenadante (que contiene el ADN) a un nuevo tubo de 1.5 mL y se añadieron 600

uL de isopropanol frío. Se mezcló por inversión suave y se centrifugó nuevamente por un minuto a la misma velocidad. Se descartó el sobrenadante y se añadieron 600 uL de etanol al 70%. Se repitió la centrifugación a 14,000 rpm/1m dos veces más. A continuación, la pastilla de ADN obtenida fue secada en la campana de extracción por 20 min. Finalmente se añadieron 50uL de *DNA Rehydration solution* y se incubó por última vez a 65°C por una hora. La concentración de ADN extraída fue cuantificada por espectrofotometría a 260 nm. Se utilizaron 150 nm de ADN para realizar las amplificaciones del genoma viral mediante PCR.

Para visualizar el ADN obtenido se preparó un gel de agarosa al 1% en amortiguador TAE 1X y una vez solidificado, se colocó dentro de la cámara de electroforesis agregando el amortiguador TAE 1X hasta cubrir el gel. En papel Parafilm se colocaron 2uL de azul de bromofenol según el número de muestras junto con 2uL de un agente intercalante como el gel Red a una concentración de 1000X. Posteriormente se añadieron 5uL del ADN purificado y la mezcla se cargó en el pozo correspondiente de gel de agarosa en la cámara de electroforesis con un voltaje de 100 V y 50 mA por 20 min. El material genético fue visualizado con ayuda del agente intercalante (GelRed) en un Transiluminador ultravioleta (EspectroLine).

7.4 Amplificación de un fragmento de 248 pb del gen β -globina humana

Con el fin de verificar la calidad del ADN todas las muestras se evaluaron por medio de la técnica de PCR punto final para la amplificación de un fragmento de 280 pb del gen beta globina humana utilizando los iniciadores GH20 (5'-GAAGAGCCAAGGACGGTAC-3') y PC04 (5'-CAATTCATCCACGTTCCACC-3').

La mezcla de reacción contenía los siguientes reactivos: 2.5µL de buffer 10X, 0.5 µL de dNTPs 2mM, 2µL de MgCl₂ 1.4mM, 0.5µl de PC04, 0.5µlGH20, 1µl de Taq y 18µl de H₂O. El procedimiento de la PCR se ejecutó de la siguiente manera: la activación de Taq se realizó mediante incubación a 94°C durante 10 min, seguido de 40 ciclos de desnaturalización de 1 min a 94°C, alineamiento de 1 min a 55 °C y extensión de 1 min a 72°C. El último ciclo fue seguido por un paso de extensión final de 7 min a 72°C (Sotlar y col., 2004).

7.5 Identificación del genoma viral por PCR

La identificación del genoma viral se llevó a cabo por PCR utilizando los *oligonucleótidos* degenerados de la región E6; DAM-E6F (5'GAGGTATATGANTTTGCATT3') y DAM-E6R (5-'GGACACAANGGTTTTTGACA3'), que permiten la amplificación de un fragmento de 214pb del gen E6 de 25 genotipos de VPH (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 61, 62, 66, 67, 70, 80, 83).

Los componentes de la mezcla de PCR incluyen: Tris-HCl pH 8.4 20 mM, KCl 50 mM, MgCl₂ 3 mM, dNTPs 25 mM, Platinum® Taq ADN polimerasa (Invitrogen) 0.5U, (DAM-E6F/ DAM-E6R) 25pmol, 0.5-1 µl de ADN molde (entre 50-100 ng) para un volumen final de 25 µL.

Se utilizó un termociclador Thermal Cycler T100 (Bio-Rad) con el programa: Temperatura inicial de desnaturalización 94 °C por 3 min, 35 ciclos (desnaturalización 94 °C por 1 min, alineamiento 56 °C por 1 min, extensión 72 °C por 1 min), Temperatura de extensión final 72.°C por 1 min. Los productos amplificados fueron visualizados en geles de agarosa al 2% en Buffer TAE 1X.

7.6 Genotipificación por NM-PCR

La genotipificación por PCR anidada múltiple (NM-PCR) consiste en cuatro reacciones, una general o consenso y tres que emplean cocteles de oligonucleótidos, para ello se utilizan alrededor de 200ng de ADN para realizar la amplificación. Las mezclas de reacción se llevaron a cabo en un volumen final de 25 μ L: 100mM Tris-HCL pH= 8.3 (a 20°C), 500mM KCl, 200 mM dNTPs, 2.5 mM MgCl₂, 0.3 pM de cada primer, 1U de Taq H₂O

7.6.1 Amplificación utilizando oligonucleótidos consenso

Durante la PCR consenso se amplificó un fragmento de 630 pb que corresponde a la región E6/E7 conservada para los nucleótidos 28 a 46 hasta los nucleótidos 636 a 658 de acuerdo con la secuencia de VPH-16 descrita por Sotlar y col. (2004). Para la amplificación de la región consenso se utilizaron los siguientes oligonucleótidos:

GP-E6-3F (GGG WGK KAC TGA AAT CGG)

GP-E6-5B (CTG AGC TGT CAR NTA ATT GCT CA)

GP-E6-6B (TCC TCT GAG TYG YCT AAT TGC TC)

Las condiciones de amplificación utilizadas consistieron en una incubación a 94°C por 10 min seguida de 38 ciclos con una desnaturalización a 94°C durante 1 minuto, una temperatura de alineación de 40°C por 1 minuto y una elongación a 72°C por 2 min seguida de una última extensión a a 72°C por 4 min.

7.6.2 Amplificación de 15 genotipos mediante cocteles

Las siguientes tres reacciones tienen como fin amplificar 15 tipos de VPH en tres cocteles múltiples diferenciándose entre sí según el tamaño del amplicón. Los **Cuadros 4, 5 y 6** describen la secuencia de los oligonucleótidos para cada genotipo, la posición de flanqueo y el tamaño de amplicón respectivamente. Para todas las reacciones se tomaron 2µL de la primera reacción de PCR como templado y las condiciones de amplificación fueron las mismas: desnaturalización inicial a 95°C por 3 min, seguida de 40 ciclos a 95°C por 30 s, 56°C por 90 s y 72°C por 45 s y una extensión final a 72°C por 10 min.

7.7 Separación de los productos amplificados por electroforesis en geles de agarosa al 2%

Los productos de PCR se corrieron en geles de agarosa al 2% y fueron visualizados con *Gel Red* en un transiluminador (*Spectroline Select Series*). El control negativo fue agua inyectable estéril en lugar de ADN en la mezcla de 25µL.

7.8 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el software IBM SPSS 26 Statistics. Para determinar diferencias significativas entre las variables del estudio se utilizó la prueba de Chi cuadrada y la prueba F de Fisher según fuera el caso, considerando un valor significativo de $p < 0.05$. Se buscó evaluar la existencia de diferencia significativa entre las siguientes variables: Presencia de VPH y edad de las pacientes, edad y genotipos de VPH, infección múltiple y edad, infección múltiple y genotipos de VPH, citología vaginal y genotipos de VPH, y citología vaginal e infección múltiple.

Cuadro 4. Coctel 1 para la identificación de genotipos de VPH

Tipo de VPH	Tipo de primer	Secuencia de oligonucléotidos (5'-3')	5'	3'	Tamaño de amplicón
16	<i>Forward</i>	ATGTTTCAGGACCCACAGGA	104	123	452
	<i>Reverse</i>	AGCTGGGTTTCTCTACGTGTTC	555	534	
42	<i>Forward</i>	AATTTGGGCTGACATTGCGG	169	188	350
	<i>Reverse</i>	ACCCGTCCACTGACACAATA	518	499	
45	<i>Forward</i>	CAAAGCAACATTGGAACGCA	206	225	231
	<i>Reverse</i>	AATGGTTTCTGGCACCGCA	436	418	
56	<i>Forward</i>	GGGATGATTTTCCTTATGCAGTGT	274	297	164
	<i>Reverse</i>	CGGACTTTGACATCTGTAGCAC	437	416	

Modificado de Mudhigeti y col., (2022)

Cuadro 5. Coctel 2 para la identificación de genotipos de VPH

Tipo de VPH	Tipo de primer	Secuencia de oligonucleótidos (5'-3')	5'	3'	Tamaño de amplicón
31	<i>Forward</i>	ACCTACAGACGCCATGTTCA	95	114	491
	<i>Reverse</i>	TGCAACGTAGGTGTTTCTCCA	585	565	
52	<i>Forward</i>	AGGTGCTGGAAGAATCGGTG	151	170	420
	<i>Reverse</i>	TGCTTTGTCTCCACGCATGA	570	551	
53	<i>Forward</i>	AGCACTGTGTACAACACCCA	74	93	298
	<i>Reverse</i>	AGCCCCGTACTGAACAAT	371	352	
58	<i>Forward</i>	TGCATGATTTGTGTCAGGCG	144	163	241
	<i>Reverse</i>	AGTGTTTGTCTAATGTGTCTCCA	384	361	
59	<i>Forward</i>	CCGTATGCAGCGTGTCTGAA	235	254	125
	<i>Reverse</i>	AGCAGCTCATGTAACGGTGT	359	340	

Modificado de Mudhigeti y col., (2022).

Cuadro 6. Coctel 3 para la identificación de genotipos de VPH

Tipo de VPH	Tipo de primer	Secuencia de oligonucléotidos (5'-3')	5'	3'	Tamaño de amplicón
18	<i>Forward</i>	CACAATACTATGGCGCGCTT	96	115	481
	<i>Reverse</i>	CTTGTGTTTCTCTGCGTCGT	576	557	
33	<i>Forward</i>	ACATTGAACTACAGTGCGTGG	182	202	405
	<i>Reverse</i>	TTGTGTCCTCTCATGGCGTTT	586	566	
6/11	<i>Forward</i>	TGC AAG AAT GCA CTG ACCAC	201	220	334
	<i>Reverse</i>	TGC ATG TTG TCCAGC AGT GT	534	515	
39	<i>Forward</i>	GACGACCACTACAGCAAACC	213	232	161
	<i>Reverse</i>	TGTAGTTGCATACACGAGTCC	373	352	
61	<i>Forward</i>	CTGCAAGGACTACGAGGTGG	137	156	239
	<i>Reverse</i>	ACCGTCCTGTTGTCTGTTCC	375	356	

Modificado de Mudhigeti y col., (2022).

VIII RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Descripción de la población

Se colectaron 109 muestras citológicas de pacientes que acudieron a realizarse el estudio de tipificación de VPH de los años 2021 al 2022, en 6 municipios del estado de Sinaloa como se muestra en el **Cuadro 7**. Todas las muestras cumplieron con los criterios de inclusión por lo que se analizaron en este estudio. Del total de muestras, 46 tienen resultado citológico conocido por lo que el análisis de este grupo se realizó a parte. El rango de edad de las pacientes osciló entre los 18-63 años con una edad promedio de 33.38 años, el rango de edad con mayor frecuencia fue de 25-34 años con un 42.20% y la mayoría de las muestras procedieron del municipio de Culiacán con un 79.20%. La información de las características demográficas de la población de estudio se encuentra resumida en el **Cuadro 7**. La edad promedio de la población muestral y el rango de edad obtenido es consistente con los datos reportados por otros investigadores, entre ellos Camacho y col., (2018) y Vergara y col., (2018) con una edad promedio de 36.2 y 35.4 años respectivamente. El diagnóstico de VPH en mujeres tan jóvenes, siendo el rango mínimo de 18 años, podría explicarse por un inicio temprano de la vida sexual, según cifras del Consejo Nacional de Población, la edad promedio de inicio de vida sexual en México es de 15.5 años. La mayor tasa de infección viral se registró principalmente en mujeres de 25 a 34 años. Nuestro resultado es diferente de aquel reportado por Navarro y col., (2018), pues la mayor tasa de infección se observó en mujeres de 44 a 49 años.

Cuadro 7. Características demográficas de las 109 pacientes incluidas en este estudio.

Características	Frecuencia	%	Tasa de infección (%)	Valor p *
Edad				
<24	19	17.43	13.8	0.127
25-34	46	42.20	28.4	
35-44	28	25.69	15.6	
45-54	13	11.93	4.6	
55<	3	2.75	2.8	
Procedencia				
Culiacán	86	78.90	47.7	0.110
Guamúchil	1	0.92	0	
El Dorado	6	5.50	4.6	
Ahome	6	5.50	5.5	
Guasave	6	5.50	3.7	
Mazatlán	4	3.67	3.7	
Total	109			

* La prueba exacta de Fisher fue utilizada para comparar. Valor $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo

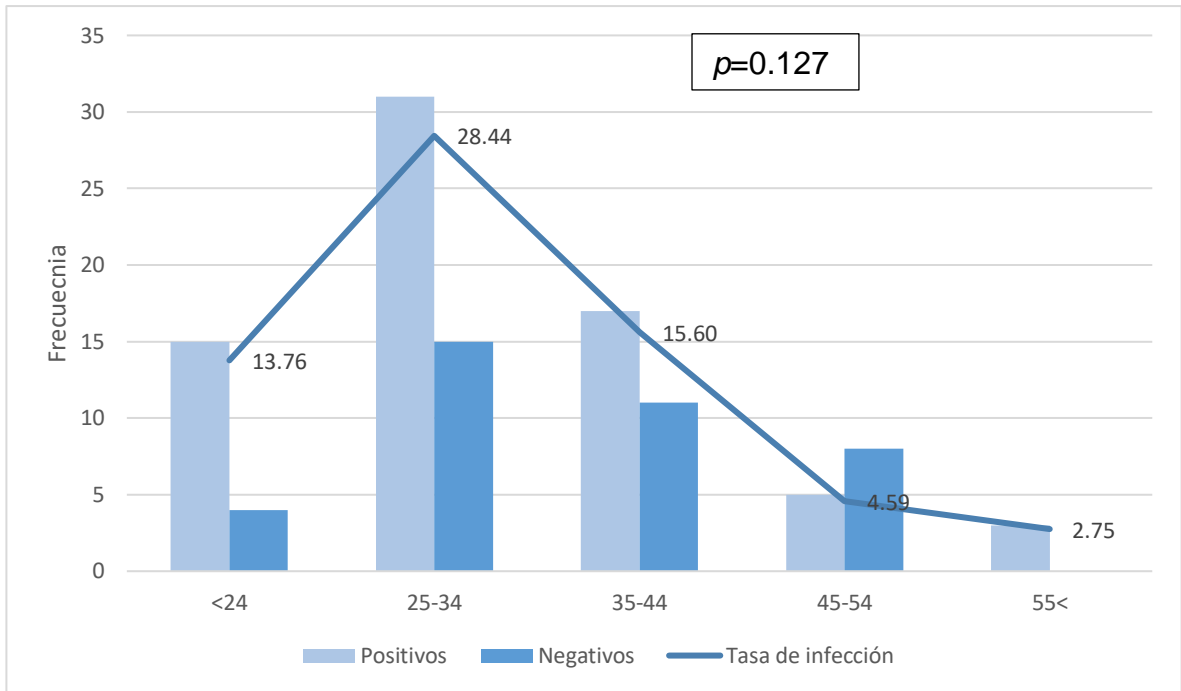


Figura 9. Tasa de infección por grupo etario. El grupo etario con mayor prevalencia de VPH fue de 25-34 años, seguido por el de 35-44 años.

8.2 Detección del genoma viral mediante PCR

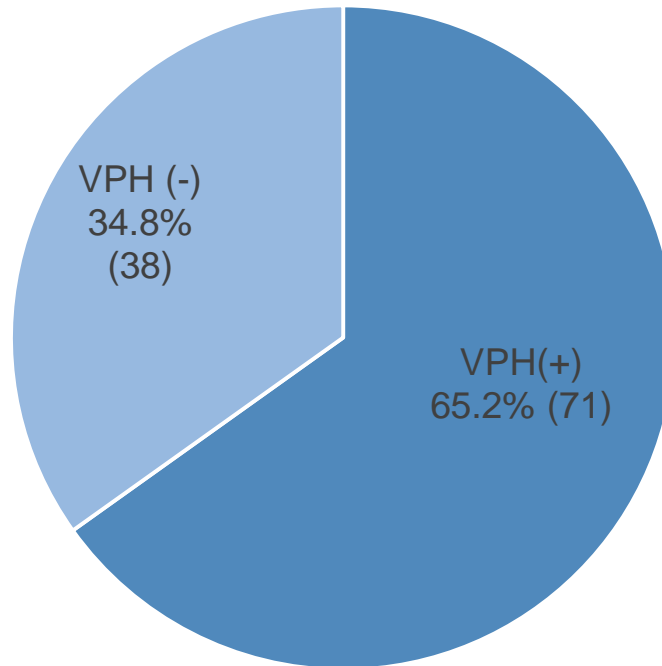
Se extrajo el ADN de las 109 muestras contempladas para el estudio, el cual fue visualizado en geles de agarosa (**Figura 8**). Se amplificó por PCR un fragmento de 280 pb del gen β - globina humana como control interno de reacción. El 100% de las muestras resultaron adecuadas para la genotipificación. Se llevó a cabo la detección del genoma viral utilizando oligonucleótidos degenerados de un fragmento del gen E6. Se encontró un total de 71 (65.13%) muestras positivas a la presencia de VPH. Se encontró diferencia significativa en la presencia de VPH y las mujeres menores a 30 años ($p = 0.045$). La positividad encontrada en nuestro estudio es mayor a la reportada Camacho-Ureta y col. (2018) de 52.38%. Sin embargo, es considerablemente menor a la positividad obtenida por Padilla-Mendoza y col. en 2020 de 87.27%. Tal diferencia entre la prevalencia de VPH puede originarse por la población de estudio. También, distintas tasas de infección han sido registradas en otros países. Estudios en otras naciones han reportado prevalencias generales de VPH de 86% en Ecuador (Mejía y col., 2016), 76.1% en Cuba (Soto y col., 2014), 12.2% en Canadá (Ogilvie y col., 2013) y 25% en Japón (Imai y col., 2015).

Investigadores en Guwahati, India analizaron las características demográficas de mujeres con infección por VPH, encontrando una asociación significativa de la infección por VPH y un matrimonio precoz (antes de los 16 años) ($p < 0.01$). Se concluye que este factor puede desempeñar un papel importante en el aumento de riesgo de adquisición y/o duración de la infección, incrementando así el riesgo de progresión de la infección por VPH a cáncer cervicouterino (Sarma et al., 2013).

Un estudio realizado en Estados Unidos estudió la diferencia en la prevalencia de los VPH cubiertos por la vacuna bi y tetravalente en pacientes caucásicas, afroamericanas, hispanas y asiáticas. Sus resultados mostraron una mayor prevalencia de los VPH cubiertos en las vacunas en mujeres caucásicas (38%) y asiáticas (38%), mientras que la prevalencia de los VPH no incluidos en ninguna vacuna fue significativamente mayor en mujeres afroamericanas (36%) e hispanas (42%), comparada a las mujeres caucásicas (24%) y asiáticas (16%) ($p < 0.001$). Sus datos sugirieron la existencia de diferencias raciales/étnicas en la prevalencia de genotipos de VPH relacionados con la vacuna (Montealegre y col., 2019).

Por otro lado, otro estudio realizado en Yunnan, China, analizó la prevalencia de VPH y la distribución de genotipos en mujeres pertenecientes a tres grupos étnicos diferentes. Sus resultados mostraron una prevalencia de VPH-AR significativamente mayor ($p < 0.001$) en mujeres tibetanas que en mujeres Naxi y Han (Baloch y col., 2016).

Estos datos nos señalan evidentes diferencias en la prevalencia de los distintos genotipos de VPH según condiciones étnicas y sociodemográficas. Estas disparidades revelan la necesidad de adaptar las estrategias de prevención y cribado a las características locales de cada población. Al comprender y abordar las diferencias en la prevalencia de VPH según factores étnicos y demográficos, se pueden diseñar y aplicar estrategia de prevención y tratamiento más efectivas y equitativas, mejorando así la salud y bienestar de las mujeres y reduciendo la incidencia y mortalidad del CaCu.



n= 109

Figura 10. Positividad general a la infección por VPH. EL 65.2% de las mujeres participantes resultaron positivas a la infección por VPH.

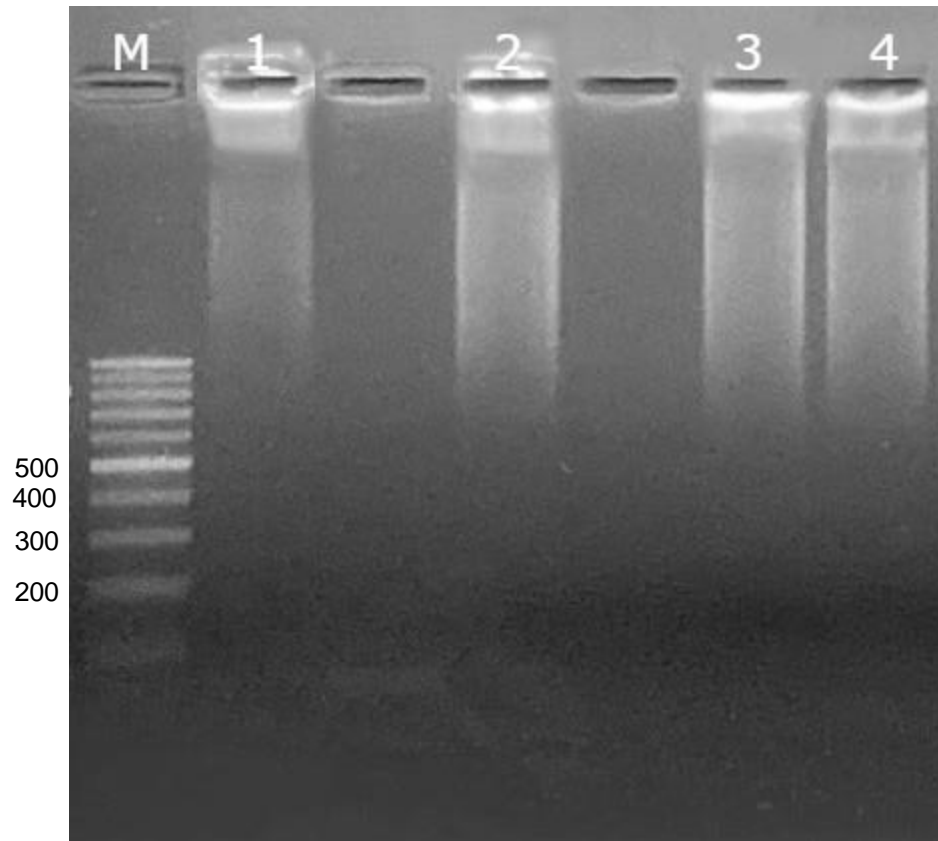


Figura 11. Gel de agarosa donde se muestra ADN molde. Se observan 4 carriles con 4 muestras representativas de ADN teñidas con *GelRed*. M=marcador de 1000pb

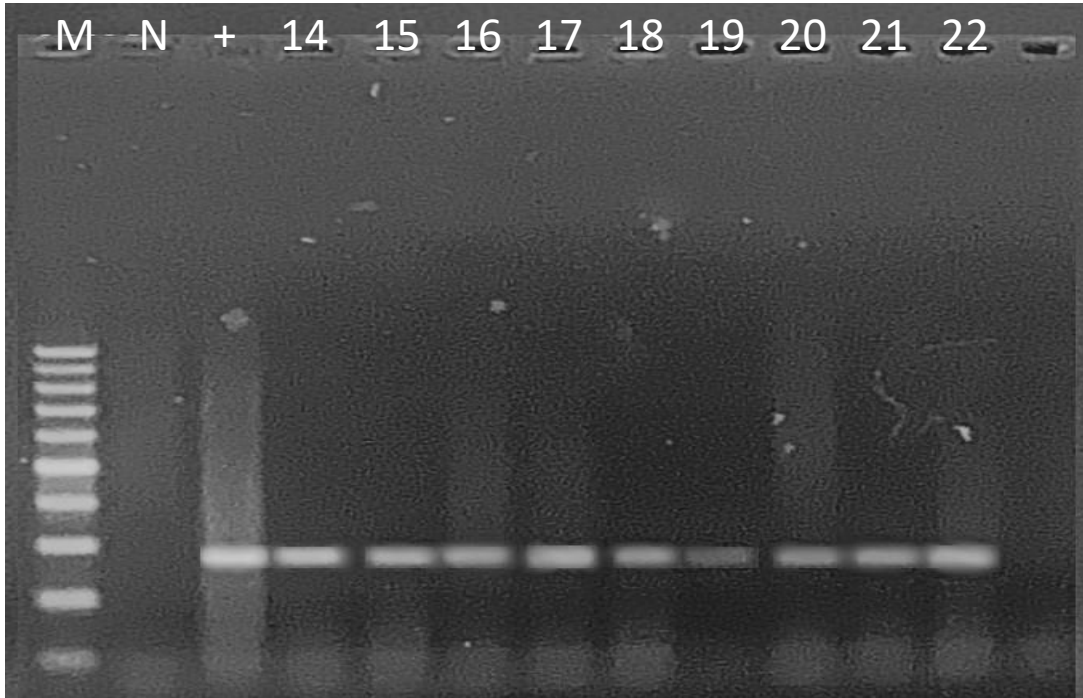


Figura 12 Separación del producto de amplificación de un fragmento de 248pb del gen β -globina humana como reacción de control interno. Se muestra la amplificación esperada de 248 pb correspondiente al gen. Los carriles marcados del 14 al 22 son muestras de ADN extraído del cepillado de endo-exocérnix. M= marcador 100 pb. N = Control negativo, + = control positivo.

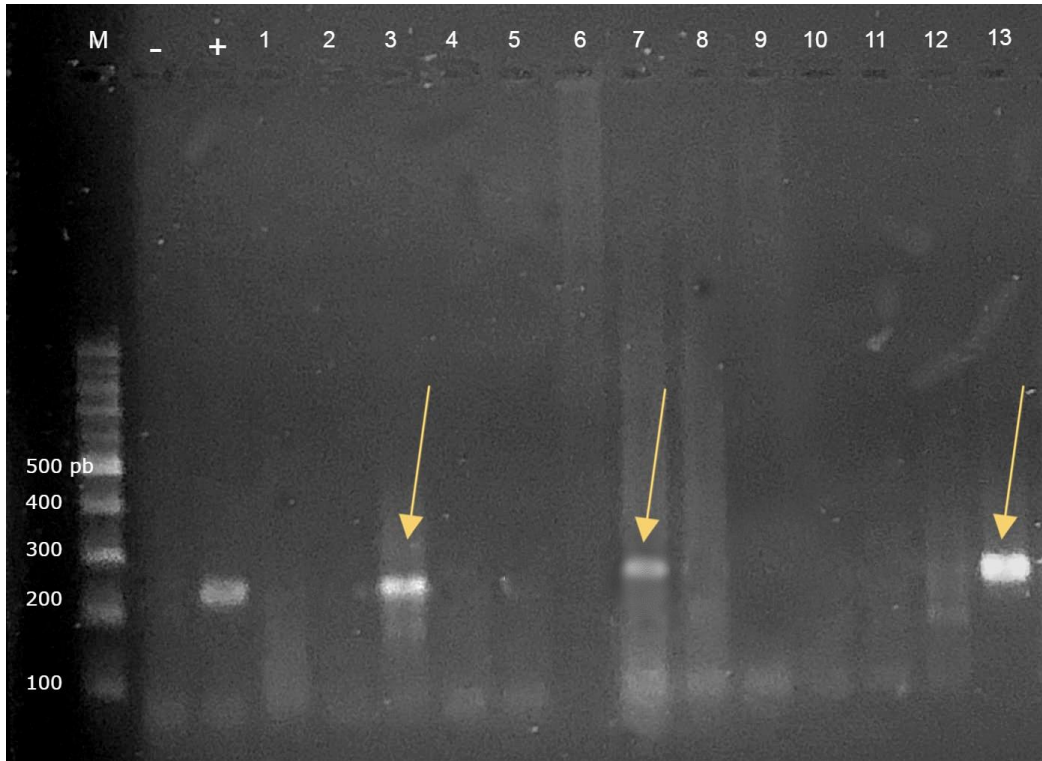


Figura 13. Separación del producto de amplificación de un fragmento del gen E6 para identificación del genoma viral. Se muestra la amplificación esperada de 214 pb correspondiente al gen. Los carriles marcados del 1 al 13 son muestras de ADN extraído del cepillado de endo-exocervix. M= marcador 100 pb. N = Control negativo, + = control positivo. Las flechas muestran las bandas correspondientes al producto de PCR del fragmento esperado.

8.3 Genotipificación

Se realizó la NM-PCR para la detección de 15 genotipos de VPH, de los cuales 11 corresponden a VPH-AR: 16, 45, 56, 31, 52, 58, 59, 18, 33 y 39 y 4 VPH-BR: 42, 6/11, 61 y 53. El resultado mostró un 65.2%(n=71) de positividad, siendo la misma que la obtenida en la detección del genoma viral.

8.3.1 Genotipos presentes en población general.

La **Figura 14** muestra la distribución de los genotipos encontrados en la población general. Los genotipos de VPH-AR tuvieron una prevalencia de 77.8% mientras que la prevalencia de VPH-BR fue de 22.2%. Los VPH-AR más frecuentes identificados en la población de estudio fue el genotipo VPH-52, seguido del 56, 58 y 39, los VPH-BR fueron los 6/11 y el 53. Datos de la OMS (2023) sugieren que el VPH-16 es el de mayor prevalencia a nivel mundial, sin embargo, solamente 3 casos (2.8%) resultaron positivos a este genotipo en nuestro estudio. Por otro lado, el genotipo más frecuente fue el VPH-52 (26.6%, n=26), un caso similar ocurre en el estudio de Molina-Pineda y col. (2015), donde el VPH-52 fue el tercer genotipo mayormente identificado. Así mismo, el estudio de Imai-Hirohisa y col. (2015) registra a este genotipo como el de mayor prevalencia en mujeres jóvenes con citología normal, mientras que Gutiérrez-Campos y col (2019) lo reporta como el segundo de mayor frecuencia en mujeres con LIEAG. El hallazgo del VPH-56 como segundo más frecuente puede considerarse inusual, estudios como el realizado por Eklund y col. (2010) en 54 laboratorios de todo el mundo registraron a este genotipo como el segundo menos común, en esa misma línea, Colín-Ferreyra y col. (2020) reporta una prevalencia de 1.6% (n=2) del genotipo VPH-56, hallado en pacientes con LIEBG. Ahora bien, el resultado obtenido en nuestro

estudio es consecuente con los hallazgos de Martins y col. (2016) donde el tipo VPH-56 ocupó el segundo lugar de frecuencia, encontrado principalmente en pacientes con citología negativa. Los genotipos -58 y -39 también fueron encontrados frecuentemente, lo cual corresponde con Oyervides-Muñoz y col. (2020) donde ambos genotipos se encontraron en la lista de los de mayor prevalencia.

8.3.2 Asociación de presencia de genotipos y edad de las pacientes en población general

La determinación de asociación entre la presencia de genotipos y la edad de las pacientes de la población general se realizó utilizando la prueba exacta de Fisher por medio del software SPSS V. 21, donde un valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo. El **Cuadro 8** resume los datos de los genotipos identificados según el grupo etario y el valor p resultante de la prueba estadística.

A pesar de que el VPH-52 fue más común en el grupo de 25 a 34 años, no se encontró diferencia significativa entre los genotipos y la edad de las pacientes, estos datos contrastan con los hallazgos de Lin, X. y col., (2022) donde se encontró una fuerte asociación entre mujeres menores de 25 años y la presencia de los genotipos VPH-6 y VPH-11; mientras que, en mujeres mayores de 65 años, los genotipos más comunes fueron el VPH-18 y VPH-66. Así mismo, nuestros datos son distintos de los reportados por Campos y col., (2019) donde se demostró que la prevalencia aumentaba significativamente según la edad de las pacientes.

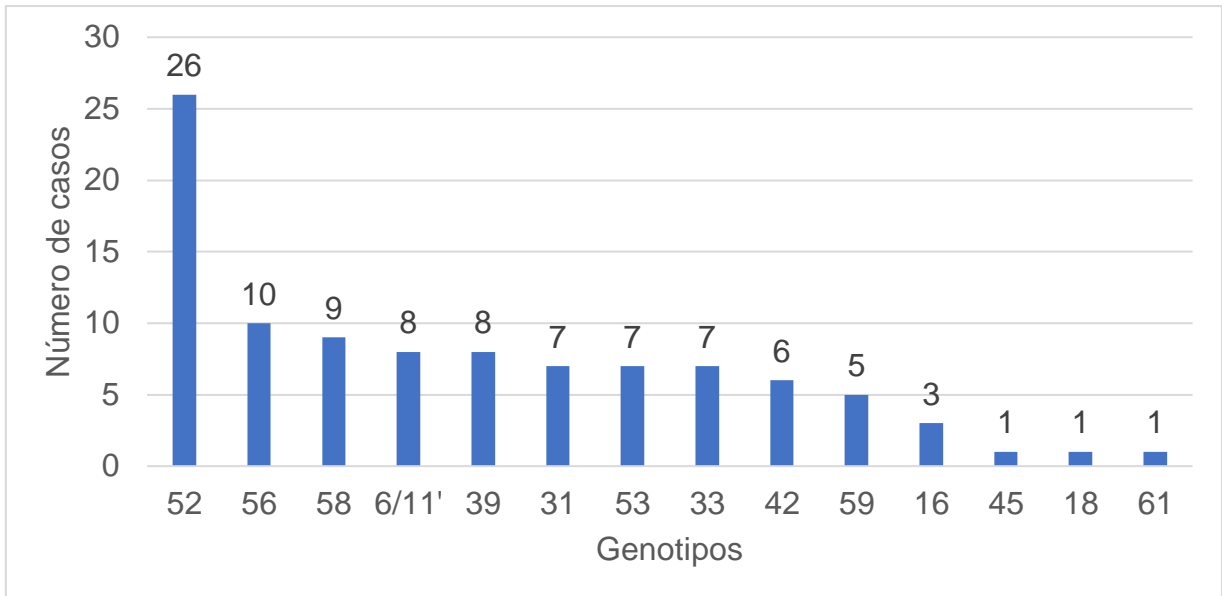


Figura 14. Frecuencia de los genotipos analizados en la población en general. Se observa que el VPH-52 fue el genotipo más frecuente (26%) seguido del 56 (10%) y el 58 (9%).

Cuadro 8. Genotipos de VPH según el grupo etario. El valor $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo

Genotipos de VPH	Edad					Total	Valor p
	<24	25-34	35-44	45-54	55+		
6/11	1	5	1	1	0	8	0.787
16	0	2	1	0	0	3	1
18	0	1	0	0	0	1	1
31	0	2	3	0	2	7	0.01
33	2	2	1	2	0	7	0.468
39	1	1	4	2	0	8	0.169
42	2	2	1	1	0	6	0.698
45	0	0	1	0	0	1	0.578
52	8	11	5	1	1	26	0.183
53	1	3	2	1	0	7	1
56	0	8	2	0	0	10	0.175
58	1	5	2	1	0	9	0.937
59	2	1	2	0	0	5	0.46
61	0	1	0	0	0	1	1

n=71 pacientes

8.3.3 Asociación de infecciones múltiples y edad de las pacientes en población genera.

Se identificaron infecciones múltiples con dos o más genotipos de VPH en el 30.9% de las muestras positivas. Nuestro resultado difiere de aquel registrado por Oyerdives-Muñoz y col. (2020), donde un 59% de la población presentó una infección múltiple, por otro lado, el resultado de Campos-Rosas (2019) tiene más similitud con nuestros hallazgos pues el 26.3% de las pacientes fueron positivas a más de un tipo de VPH. El **Cuadro 9** sintetiza los datos obtenidos de infecciones múltiples por grupo de edad. Del total de pacientes que presentaron infección múltiple, el 77.72% (n=17) fue una infección por dos genotipos, el 18.18% (n=4) por 3 genotipos y solo el 4.55% (n=1) presentó una infección por 4 genotipos.

Las infecciones únicas se presentaron con mayor frecuencia en el grupo de mujeres de 24-35 años (43.8%, n=21), así mismo, fue el grupo donde se presentaron más infecciones dobles (41.1%, n=7) e infecciones triples (50%, n=2). A su vez, este grupo de edad presentó la única infección por cuatro genotipos encontrada en este estudio, esto puede deberse a que es el grupo donde hay mayor cantidad de pacientes. Nuestros resultados son distintos a los encontrados por Lin X y col. (2022) cuyo grupo etario con más presencia de infecciones múltiples fue el de mujeres menores de 20 años con un 8.94%.

El genotipo con mayor frecuencia en pacientes con infección única fue el VPH-52 con un 32.6% (n=16). Para las infecciones por dos genotipos, la combinación más frecuente fue de los VPH- 52-56 con 23.5% (n=4) seguido por VPH- 52-39 con 17.64% (n=3).

Cuadro 9. Número de genotipos detectado en las pacientes estudiadas por grupo de edad. Para cada frecuencia también se obtuvo el porcentaje de todos los pacientes del mismo grupo de edad, el cual se indica entre paréntesis.

	Número de genotipos detectado					Total
	0	1	2	3	4	
Edad						
<24	4(10.5)	13 (26.5)	1 (5.9)	1 (25)	0 (0.0)	19 (17.4)
25-34	15 (39.47)	21 (42.9)	7 (41.1)	2 (50)	1 (100)	46 (42.3)
35-44	11 (28.95)	11 (22.4)	5 (29.4)	1 (25)	0 (0.0)	28 (25.7)
45-54	8 (21.05)	1 (2)	4 (23.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	13 (11.9)
55+	0 (0.0)	3 (6.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (2.7)

8.4 Análisis de la infección por VPH y la relación con la citología vaginal

46 de las 109 muestras para este estudio contaban con resultados citológicos previos, 54.3% (n=25) no presentaron lesión o anormalidad celular (Normal), 2.2% (n=1) presentó condilomatosis vaginal, 17.4% (n=8) obtuvo resultados células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS), el 15.2% (n=7) mostró lesiones intraepiteliales de bajo grado (LIEBG) y el 10.9% (n=5) presentó lesiones intraepiteliales de alto grado (LIEAG).

Se encontró una prevalencia general de 58.7% (n=27). Se realizó una prueba Exacta de Fisher para determinar relación entre la presencia de VPH y la citología de las pacientes, según los resultados de la prueba, no hay diferencia significativa (P=0.119). Nuestros resultados difieren del estudio de Ribeiro y col., (2015) donde se encontró una asociación significativa entre la presencia de lesiones cervicales e infección por VPH.

No se encontró asociación estadísticamente significativa entre la presencia de lesiones y el grupo de edad (P=0.212). Las pacientes sin lesiones citológicas aparentes fueron la mayoría, siendo más frecuentes en el grupo etario de 34-44 años con 10 pacientes. El 60% de los casos de LIEAG fue encontrada en el grupo de mujeres menores a 24 años, esto contrasta con el estudio de Wu-Anyue y col. (2021) cuyo grupo de pacientes con LIEAG superaba los 28 años.

A su vez, los resultados de Vale-Diama y col. (2013) muestran un aumento en la prevalencia de LIEAG en mujeres mayores a 29 años, lo que coincide con los hallazgos de Wu-Anyue y col., (2021). Ambos estudios concuerdan con lo estipulado por la OMS, donde sugieren que el desarrollo de lesiones cervicales antes de los 30 años es poco

común. Por otro lado, investigaciones como las de Wudtisan-Jongpeeti y col. (2019) muestran que diversos factores de riesgo como múltiples parejas sexuales y el tabaquismo son significativos para el desarrollo de LIEAG en mujeres menores de 30 años.

8.4.1 Asociación de presencia de genotipos y lesiones cervicales

El genotipo más prevalente en este grupo fue de nuevo el VPH-52 con un 55.6% (n=15), seguido del VPH-31 (18.52%, n=5) y el VPH-39 (14.81%, n=4). Se realizó una prueba Exacta de Fisher para verificar la existencia de asociaciones estadísticas considerando un valor $P < 0.05$ como significativo. El **Cuadro 10** sintetiza los datos obtenidos.

No se encontró asociación estadística entre los genotipos de VPH y la presencia de lesiones cervicales. Nuestros resultados contrastaron con múltiples artículos encontrados, entre ellos, un estudio realizado en el sureste de China, cuyo hallazgo sugiere que la presencia y carga viral de los genotipos VPH-58, VPH-16 y VPH-33 se correlacionaron de forma positiva a la severidad de las lesiones cervicales ($p < 0.0001$, $P p 0.016$ y $p < 0.026$ respectivamente) (Wenbo-Long y col., 2022)

A su vez, los resultados de Serrano y col., (2015) atribuyen el 89.5% de las lesiones anogenitales de su población de estudio a nueve genotipos de VPH (6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58). Otros estudios como el de Van Der Marel, (2015), Colín-Fereyra (2020) y Padilla-Mendoza, (2020) encontraron asociación significativa entre VPH-AR y lesiones cervicales avanzadas. La diferencia entre la literatura consultada y los resultados de este proyecto pueden radicar en la diferencia de la población de estudio y del tamaño de la muestra.

8.4.2 Asociación de infecciones múltiples y lesiones cervicales

Similar al apartado anterior, tras el análisis estadístico realizado no se encontró asociación entre las infecciones múltiples y la citología perteneciente a las pacientes, sin embargo, numerosos estudios han relacionado la presencia de lesiones precancerosas con la identificación de más de un tipo de VPH (Cuschieri, 2004; Gupta, 1992).

37% (10/27) de las muestras presentaron infección por dos o más genotipos del VPH, semejando el resultado de Aranda-Rivera en 2014, donde se encontró infección múltiple en el 34% de las pacientes. Al mismo tiempo, nuestro resultado difiere de aquel obtenido en 2020 por Oyervides-Muñoz, donde la presencia de infecciones múltiples fue de 59%. En el grupo de citología Normal, el 24% (n=6) de las pacientes presentó infección por un solo genotipo de VPH. La única paciente en el grupo de condilomatosis presentó infección a un solo genotipo de VPH, por otro lado, el 28.6% de las pacientes con LEIBG y el 40% de las pacientes en el grupo de LEIAG también presentaron una infección por dos genotipos de VPH. Los genotipos detectados en la infección múltiple del grupo LEIAG fueron VPH51-52 y VPH6/11-33. Según Kim, M. y col., en 2021, la asociación entre infecciones múltiples de VPH y lesiones de alto grado fue significativamente mayor comparada con la de infecciones únicas y LEIAG ($p = 0.002$).

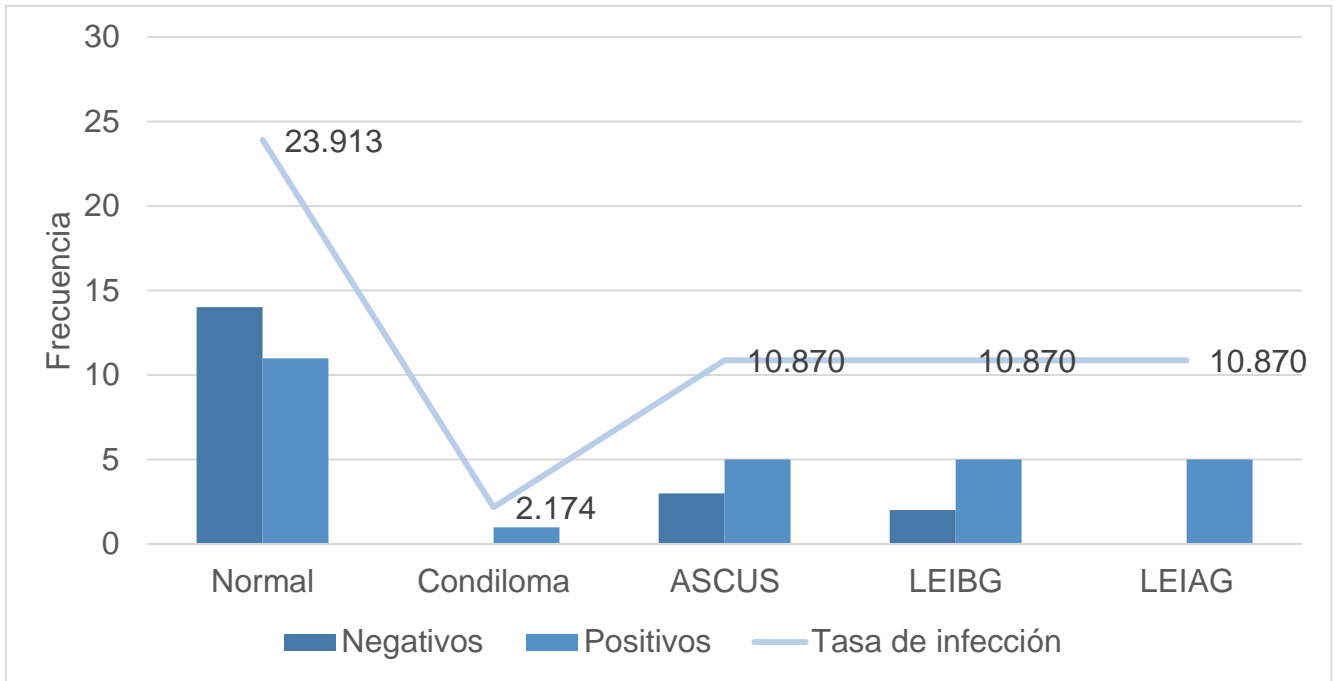


Figura 15. Frecuencia y tasa de infección de grupo de pacientes con resultados citológicos. La mayor prevalencia de VPH fue encontrada en el grupo de citología normal, por otro lado, todas las pacientes con LEIAG presentaron infección por VPH.

Cuadro 10. Comparación entre el resultado citológico y los genotipos de VPH identificados. Se realizó una prueba Exacta de Fisher para determinar asociación considerando como significativo un valor $p < 0.05$.

Genotipo	Resultado Citológico					Total	Prevalencia (%)	Valor p
	NORMAL	CONDILOMA	AS-CUS	LIEBG	LIEAG			
6/11	1	0	0	0	1	2	7.41	0.348
16	1	0	2	0	0	3	11.11	0.237
31	4	0	0	1	0	5	18.52	0.765
33	0	0	0	0	1	1	3.70	0.13
39	2	0	1	1	0	4	14.81	0.887
42	1	0	1	0	0	2	7.41	0.71
45	1	0	0	0	0	1	3.70	1
52	5	1	2	4	3	15	55.56	0.076
53	1	0	0	0	1	2	7.41	0.348
56	0	0	0	1	0	1	3.70	0.283
58	1	0	0	0	0	1	3.70	1
59	1	0	0	0	0	1	3.70	1

De acuerdo con sus resultados, las pacientes con infección múltiple por VPH mostraron una duración más persistente y prolongada de la infección por VPH en comparación con los pacientes con infección única. Por otro lado, Li, M. y col., (2018) descubrieron que pacientes con infección única por VPH-16 tuvieron mayor incidencia de NIC2+ que aquellas con infección múltiple con VPH-16 ($p = 0.021$) y a su vez, pacientes con infección múltiple que incluía al VPH-16 presentaban mayor incidencia de NIC2+ que aquellas con infección única de otros VPH-AR ($p = 0.001$).

A su vez, De Brot y col., (2016), describe como las pacientes que presentaba infección múltiple con VPH-AR persistían más en lesiones de alto grado mientras que pacientes con infección única presentaban una citología normal en las revisiones subsecuentes. Similar a los resultados mostrados en este estudio, podemos observar que las infecciones múltiples con VPH-AR pueden relacionarse a la presencia de lesiones precancerosas graves.

8.5 Identificación de los genotipos -33 y -61

Los genotipos de interés fueron identificados en el 7.34% de la población. (VPH-61 $n=1$ y VPH-33 $n=7$). Las siguientes imágenes ilustran muestras positivas a estos genotipos. El genotipo -61 fue encontrado en infección múltiple con los VPH-18, -52 y VPH-6/11, en una paciente de 30 años sin resultados citológicos conocidos. El VPH-33 fue en tres infecciones únicas (con pacientes sin citología conocida) y cuatro infecciones múltiples, principalmente en infección doble. Se encontró también en una paciente de 19 años con LEIAG en infección múltiple con el genotipo 6/11.

Cuadro 11. Cuadro comparativo de infecciones múltiples con resultado citológico.

Número de Genotipos Identificados	Citología vaginal					Total	Valor <i>p</i>
	Normal	Codiloma	AS-CUS	LEIBG	LEIAG		
0	14 (56)	0 (0.0)	3 (37.5)	2 (28.6)	0 (0.0)	19	0.255
1	6 (24)	1 (100)	4 (50)	3 (42.9)	3 (60)	17	0.726
2	4 (16)	0 (0.0)	1 (12.5)	2 (28.6)	2 (40)	9	0.915
3	1 (4)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1	1

Entre paréntesis se muestra la proporción del número genotipos detectados según el grupo citológico. Se realizó una prueba Exacta de Fisher para determinar asociación considerando significativo un valor $p < 0.05$.

Según De Brot y col., (2016), las infecciones múltiples con VPH-AR (similar a esta situación) son más propensas a desarrollar lesiones de alto grado que cuando se tiene una infección única, lo que puede explicar esta situación.

La identificación del VPH-33 en nuestro estudio difiere de los hallazgos de De la Rosa-Martínez (2016), donde se realizaron exámenes colposcópicos a 700 pacientes de San Luis Potosí y mencionado genotipo fue el VPH-AR de mayor prevalencia con un 33.1%, a su vez, la prevalencia del VPH-33 también fue la más alta en pacientes con LEIAG. En la misma línea, el estudio de Aranda-Rivera, (2014), donde determinaron los genotipos de VPH en mujeres con citología normal en Sinaloa, obtuvieron la mayor prevalencia del VPH-33 con un 52.1%. Por último, la prevalencia del VPH-33 también fue la tercera más alta en el estudio de Da Silva, (2009). Los hallazgos de estos estudios nos permiten llegar a la conclusión de que el VPH-33 tiene relevancia clínica y es importante monitorear su prevalencia en la población para permitir mejores medidas preventivas y disminuir la incidencia de cáncer cervicouterino.

Por otro lado, el genotipo VPH-61 fue encontrado en un único caso en infección múltiple con otros 3 tipos de VPH (-6/11, -18 y -52). De acuerdo con Flores-Miramontes, (2015) el VPH-61 es mayormente encontrado en infección múltiple con otros genotipos lo cual coincide con los hallazgos de nuestro estudio, no obstante, en contraste con nuestros resultados, el VPH-61 fue el VPH-BR más frecuente en el estudio mencionado. Por su parte, Padilla-Mendoza, (2020) quien realizó un estudio para establecer la tasa de infección por VPH en pacientes con lesiones cervicales, determinó que, en todos los casos, el VPH-61 se encontró en infección múltiple.

A diferencia de nuestros resultados, el VPH-61 se reportó como un genotipo de bajo riesgo predominante en mujeres chilenas según el estudio de Ferreccio y col., (2008), así como en mujeres indio-americanas conforme a lo registrado por Wong y col., (2012). Pese a algunas excepciones, el VPH-61 es un genotipo muchas veces obviado por las pruebas comerciales de VPH, lo que favorece a la falta de conocimiento general de este genotipo, que si bien, es considerado de bajo riesgo; aún debe sumarse más información para conocer su verdadero impacto en la salud pública. Nuestro estudio sugiere que la presencia del VPH-61 es de poca relevancia clínica en el estado de Sinaloa, sin embargo, el continuo estudio del comportamiento de los distintos genotipos del VPH es primordial para disminuir la tasa de mortalidad asociada al cáncer cervicouterino.

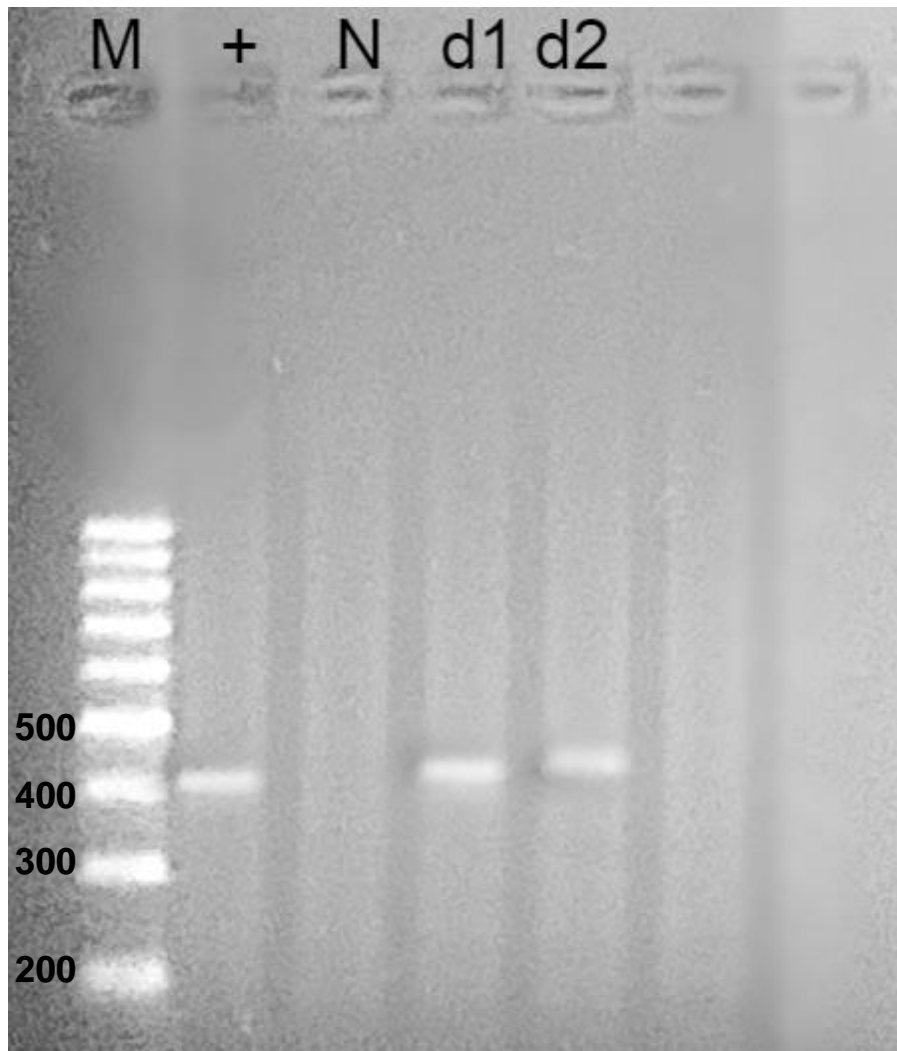


Figura 16. Amplificación del VPH-33 obteniendo una banda de 405 pb. La figura ilustra tres bandas de 405pb, una perteneciente al control positivo y dos pertenecientes a dos muestras. M=marcador, += control positivo, N=control negativo, d1= muestra 1 y d2=muestra 2.

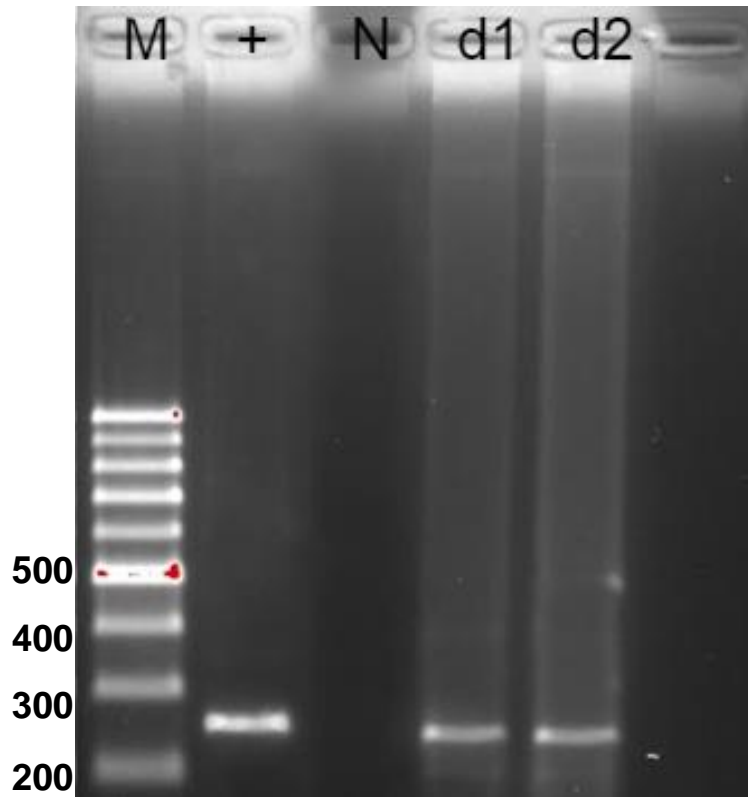


Figura 17. Amplificación del VPH-61 obteniendo una banda de 239pb. La figura ilustra tres bandas de 239pb, una perteneciente al control positivo y dos pertenecientes a dos muestras. M=marcador, += control positivo, N=control negativo, d1= muestra 1 y d2= duplicado.

IX CONCLUSIONES

Se estimó una prevalencia general de infección por VPH de 65.13% en las muestras de mujeres sinaloenses en un rango de edad entre 18 a 60 años. La mayor prevalencia de VPH se encontró en mujeres menores de 30 años ($p = 0.045$). El genotipo más frecuente fue el VPH-52 seguido del VPH-56 y el VPH-58. El 30.9% de las pacientes presentaron una infección múltiple de VPH, existe evidencia de que las infecciones múltiples pueden aumentar el riesgo de complicaciones por lo que el monitoreo riguroso es esencial para manejar y reducir estos riesgos. Otro hallazgo relevante fue que la mayor frecuencia de casos de Lesión Escamosa Intraepitelial de Alto Grado se encontró en pacientes menores a 24 años, generalmente las lesiones precancerosas más avanzadas suelen presentarse en mujeres mayores de 30 años, por lo que encontrarlas en mujeres jóvenes es alarmante.

El genotipo VPH-61 se identificó en una paciente en infección múltiple con otros 3 genotipos de VPH, lo que demuestra su existencia en Sinaloa y se sugiere que sea incluido en estudios posteriores de prevalencia y distribución de genotipos de VPH. Por otro lado, el VPH-33 fue encontrado en 7 casos, cabe destacar que, en uno de los casos, el VPH-33 se encontró en infección múltiple con otro VPH-BR en una paciente con LEIAG, lo que suma a la evidencia de que este genotipo implica un riesgo importante a la salud y a su presencia en infección múltiple puede acelerar el desarrollo de lesiones y cáncer. Según estos resultados, el VPH afecta a mujeres cada vez más jóvenes, por lo que, es primordial promover la participación de mujeres jóvenes en los cribados de cáncer cervicouterino. A su vez, la investigación del impacto de los genotipos VPH-61 y VPH-33 es crucial para comprender su epidemiología y riesgo oncogénico, lo que ayuda a mejorar las pruebas de detección y las estrategias de seguimiento.

X PERSPECTIVAS

- Continuar con la identificación de VPH no incluidos en las vacunas actuales.
- Realizar estudios a largo plazo para monitorear la evolución de la prevalencia de distintos genotipos de VPH y su relación con el desarrollo de lesiones y cáncer.
- Focalizar investigación de genotipos menos comunes, pero potencialmente peligrosos como el VPH -61.
- Aumentar la educación sobre la importancia de la vacunación contra el VPH y el cribado regular para prevenir el CaCu.
- Actualizar la investigación para el desarrollo de vacunas específicas para la región.
- Implementar de programas de cribado y detección temprana mejorados.
- Incluir mujeres menores de 30 años en estudios de VPH.

XI BIBLIOGRAFÍA

Acosta-Escalante, J. B., Monarrez-Manriquez, D., Morgan-Ortiz, F., Guicho-Samaniego, M. G., Quevedo-Castro, E., y López-Manjarrez, G. (2022). Prevalencia del virus del papiloma humano de alto riesgo en pacientes sanas con condilomatosis vulvar. *REVMEDUAS* [serie en línea]. 12:5-11. Disponible de [<https://doi.org/10.28960/revmeduas.2007-8013.v12.n1.002>] Publicado en enero de 2022.

Aranda-Rivera, A. K. (2014). *Frecuencia de Papilomavirus humanos (VPH) en mujeres sinaloenses con citología normal*. [Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Sinaloa]. Repositorio Institucional Buelna.

Asthana, S., Busa, V., y Labani, S. (2020). Oral contraceptives use and risk of cervical cancer—A systematic review & meta-analysis. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* [serie en línea]. 247:163–175). Disponible de Elsevier Ireland Ltd. [<https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.02.014>] Publicado el 13 de febrero de 2020.

Baloch, Z., Yuan, T., Wang, B., Tai, W., Feng, Y., Liu, Y., Li, X., Feng, Y., Liu, L., Zhang, A., Wu, X., y Xia, X. (2016). Ethnic and geographic variations in HPV prevalence and genotype distribution in north-western Yunnan, China. *Journal of Medical Virology* [serie en línea]. 88(3), 532–540. Disponible de [<https://doi.org/10.1002/jmv.24352>] Publicado el 12 de Agosto de 2016.

Bernard, H., Calleja-Macias, I. E., y Dunn, S. T. (2006). Genome variation of human papillomavirus types: Phylogenetic and medical implications. *International Journal of Cancer* [serie en línea]. 118(5):1071–1076. Disponible de [<https://doi.org/10.1002/ijc.21655>]. Publicado el 20 de diciembre de 2005.

Bernard, H. U. (2013). Regulatory elements in the viral genome. *Virology*, [serie en línea]. 445(1–2):197–204. Disponible de [<https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.04.035>] Publicado el 28 de mayo de 2013.

Bzhalava, D., Eklund, C., y Dillner, J. (2015). International standardization and classification of human papillomavirus types. *Virology [serie en línea]*, 476:341–344. Disponible de [<https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.12.028>] Publicado en febrero 2015.

Çali, A., Aslan, R., Çelik, C., y Alim, A. (2023). Fda-Approved Molecular Tests Used to Define Human Papillomavirus (HPV) Infections Which Cause Cervix Cancer. *Cumhuriyet Medical Journal* [serie en línea] 45(1):1-11. Disponible de [<https://doi.org/10.7197/cmj.1187503>] Publicado el 26 de marzo del 2023.

Camacho-Ureta, E. A., Mendez-Martínez, R. S., Vázquez-Vega, S., Osuna Martínez, U., Sánchez Arenas, R., Castillo-Ureta, H., Osuna Ramírez, I., Torres Montoya, E. H., López Moreno, H. S., García-Carranca, A., y Rendón-Maldonado, J. G. (2018). High frequency of HPV16 european variant E350G among Mexican women from Sinaloa. *Indian Journal of Medical Research* [serie en línea]. 148(3):323–328. Disponible de [https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_61_17]. Publicado en septiembre de 2018.

Campos, R. G., Malacara Rosas, A., Gutiérrez Santillán, E., Delgado Gutiérrez, M., Torres Orozco, R. E., García Martínez, E. D., y Rosas Cabral, A. (2019). Unusual prevalence of high-risk genotypes of human papillomavirus in a group of women with neoplastic lesions and cervical cancer from Central Mexico. *PLoS One* [serie en línea] 14(4):e0215222. Disponible de [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215222>] Publicado el 18 de abril de 2019.

Castellsagué, X. (2008). Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecologic Oncology* [serie online]. 110(3):S4-S7. Disponible de [<https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2008.07.045>]. Publicado en septiembre de 2008.

Cohen, P. A., Jhingran, A., Oaknin, A., y Denny, L. (2019). Cervical cancer. In *The Lancet* [serie en línea]. 393:169–182. Disponible de Lancet Publishing Group. [[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32470-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32470-X)]. Publicado el 12 de enero de 2019.

Colín-Ferreyra, M., Domínguez-García, M. V., Mendieta-Zerón, H., del Socorro Camarillo-Romero, M., Pérez-Rogel, M., Martínez-Madrigal, M., y del Socorro Romero-Figueroa, M. (2020). Genotyping of human papillomavirus in cervical squamous intraepithelial lesions in Mexican women. *Japanese Journal of Infectious Diseases* [serie en línea]. 73(2):157-160. Disponible de [<https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2019.289>]. Publicado el 24 de abril de 2020.

Contreras, R. (2015). Papanicolau y citología líquida en diagnóstico de cáncer de cérvix: Hospital Civil de Maracay 2012. *Comunidad y Salud* [serie en línea]. 13(1):12-22. Disponible de [<https://acortar.link/YcFYvy>]. Publicado en junio de 2015.

Cuschieri, K. S. (2004). Multiple high risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population. *Journal of Clinical Pathology* [serie en línea]. 57(1):68–72. Disponible de [<https://doi.org/10.1136/jcp.57.1.68>]. Publicado el 6 de abril de 2015.

Da Silva, M. B., Chagas, B. S., Guimarães, V., Katz, L. M., Felix, P. M., Miranda, P. M., y Beçak, W. (2009). HPV31 and HPV33 incidence in cervical samples from women in Recife, Brazil. *Genetics and Molecular Research* [serie en línea]. 8(4):1437-1443. Disponible de [<http://dx.doi.org/10.4238/vol8-4gmr677>]. Publicado en enero 2009.

De Brot, L., Pellegrini, B., Moretti, S. T., Carraro, D. M., Soares, F. A., Rocha, R. M., y de Andrade, V. P. (2017). Infections with multiple high-risk HPV types are associated with high-grade and persistent low-grade intraepithelial lesions of the cervix. *Cancer Cytopathology* [serie en línea], 125(2):138-143. Disponible de [<https://doi.org/10.1002/cncy.21789>]. Publicado el 21 de noviembre de 2016.

De la Rosa-Martínez, R., Sánchez-Garza, M., y López-Revilla, R. (2016). HPV genotype distribution and anomalous association of HPV33 to cervical neoplastic lesions in San Luis Potosí, Mexico. *Infectious Agents and Cancer* [serie en línea]. 11: 1-10. Disponible de [<https://doi.org/10.1186/s13027-016-0063-z>]. Publicado el 30 de marzo de 2016.

De Sanjosé, S., Brotons, M., y Pavón, M. A. (2018). The natural history of human papillomavirus infection. In *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and*

Gynaecology [serie en línea] 47:2–13. Disponible de Bailliere Tindall Ltd. [<https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2017.08.015>]. Publicado en julio 2007.

Doorbar, J., (2013). The E4 protein; structure, function, and patterns of expression. *Virology* [serie en línea]. 445(1–2):80–98. Disponible de [<https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.07.008>]. Publicado el 7 de septiembre de 2013.

Egawa, N., y Doorbar, J. (2017). The low-risk papillomaviruses. *Virus Research*, [serie en línea]. 231:119–127. Disponible de [<https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.12.017>]. Publicado el 2 de marzo de 2017.

Eklund, C., Zhou, T., y Dillner, J. (2010). Global proficiency study of human papillomavirus genotyping. *Journal of Clinical Microbiology* [serie en línea]. 48(11):4147-4155. Disponible de [<https://doi.org/10.1128/jcm.00918-10>]. Publicado el 1 de noviembre de 2010.

Ferreccio, C., Corvalán, A., Margozzini, P. (2008). Baseline assessment of prevalence and geographical distribution of HPV types in Chile using self-collected vaginal samples. *BMC Public Health* [serie en línea]. 8:1-12. Disponible de [<https://doi.org/10.1186/1471-2458-8-78>]. Publicado el 28 de febrero de 2008

Flores-Miramontes, M. G., Torres-Reyes, L. A., Alvarado-Ruíz, L., Romero-Martínez, S. A., Ramírez-Rodríguez, V., Balderas-Peña, L. M. A., Vallejo-Ruíz, V., Piña-Sánchez, P., Cortés-Gutiérrez, E. I., Jave-Suárez, L. F., y Aguilar-Lemarroy, A. (2015). Human papillomavirus genotyping by Linear Array and Next-Generation Sequencing in cervical samples from Western Mexico. *Virology Journal* [serie en línea]

12(1):1-11. Disponible de [<https://doi.org/10.1186/s12985-015-0391-4>]. Publicado el 6 de octubre de 2015.

Gupta., R., Mungala, R., Dona., M., (2009). Significance of multiple HPV infection in cervical cancer patients and its impact on treatment response. *International Journal of Oncology* [serie en línea]. 34:263-271. Disponible de [https://doi.org/10.3892/ijo_00000148]. Publicado en enero de 2009.

Gyöngyösi, E., László, B., Szalmás, A., Kónya, J., y Veress, G. (2023). Transcriptional activity of the long control region in human papillomavirus type 33 intratype variants. *Virology Journal* [serie en línea], 20(1). Disponible en [<https://doi.org/10.1186/s12985-023-02114-y>]. Publicado el 17 de julio de 2023.

Hernández, D. E. (2017). Biología del Virus del Papiloma Humano y su relación con el cáncer. *Revista Venezolana de Oncología* [serie en línea]. 29(4). Disponible de [<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=375652706012>]. Publicado en octubre de 2017.

Hong, S., y Laimins, L. A. (2013). Regulation of the life cycle of HPVs by differentiation and the DNA damage response. *Future Microbiology* [serie en línea] 8:1547–1557. Disponible de [<https://doi.org/10.2217/fmb.13.127>]. Publicado el 22 de noviembre de 2013.

Imai, H., Nakao, H., Shinohara, H., Watarai, M., Matsumoto, N., Yamagishi, T., Saito, M., y Kitamura, T. (2015). Prevalence, Potential Predictors, and Genotype-Specific Prevalence of Human Papillomavirus Infection among Sexually Active

Students in Japan. *PLOS ONE* [serie en línea]. 10(7): e0132462. Disponible de [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132462>]. Publicado el 15 de julio de 2015.

Kim M, Park NJ-Y, Jeong JY, Park JY., (2021). Multiple Human Papilloma Virus (HPV) Infections Are Associated with HSIL and Persistent HPV Infection Status in Korean Patients. *Viruses* [serie en línea]; 13(7):1342. Disponible de [<https://doi.org/10.3390/v13071342>]. Publicado el 12 de junio de 2021.

Kim, S. I., y Kim, J.-W. (2021). Book Review: IARC handbooks of cancer prevention, volume 18: Cervical cancer screening. *Journal of Gynecologic Oncology*, 33.

Li, M., Du, X., Lu, M., Zhang, W., Sun, Z., Li, L., Ye, M., Fan, W., Jiang, S., Liu, A., Wang, M., Meng, Y., y Li, Y. (2019). Prevalence characteristics of single and multiple HPV infections in women with cervical cancer and precancerous lesions in Beijing, China. *Journal of Medical Virology* [serie en línea]. 91(3):473–481. Disponible de [<https://doi.org/10.1002/jmv.25331>]. Publicado el 8 de octubre de 2018.

Lin, X., Chen, L., Zheng, Y., Yan, F., Li, J., Zhang, J., y Yang, H. (2022). Age-specific prevalence and genotype distribution of human papillomavirus in women from Northwest China. *Cancer Medicine* [serie en línea]. 11(22):4366-4373. Disponible de [<https://doi.org/10.1002/cam4.4732>]. Publicado el 1 de abril de 2022.

Liu, G., Sharma, M., Tan, N., y Barnabas, R. V. (2018). HIV-positive women have higher risk of human papilloma virus infection, precancerous lesions, and cervical cancer. *AIDS* [serie en línea]. 32(6):795–808. Disponible de [<https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001765>]. Publicado el 27 de marzo de 2018.

Liu, Y., y Baleja, J. D. (2008). Structure and function of the papillomavirus E6 protein and its interacting proteins. *Frontiers in Bioscience* [serie en línea]. 13:121-134. Publicado el 1 de enero de 2008.

Long, W., Yang, Z., Li, X., Chen, M., Liu, J., Zhang, Y., y Sun, X. (2018). HPV-16, HPV-58, and HPV-33 are the most carcinogenic HPV genotypes in Southwestern China and their viral loads are associated with severity of premalignant lesions in the cervix. *Virology Journal* [serie en línea]. 15(1). Disponible de [<https://doi.org/10.1186/s12985-018-1003-x>] Publicado el 25 de mayo de 2018.

Ma, X., y Yang, M. (2021). The correlation between high-risk HPV infection and precancerous lesions and cervical cancer. *American Journal of Translational Research* [serie en línea]. 13(9):10830–10836. Disponible de [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8507010/>]. Publicado el 15 de septiembre de 2021.

Martins, T.R., Mendes de Oliveira, C., Rosa, L.R., (2016). HPV genotype distribution in Brazilian women with and without cervical lesions: correlation to cytological data. *Virology Journal* [serie en línea]. 13:138. Disponible de [<https://doi.org/10.1186/s12985-016-0594-3>]. Publicado el 12 de agosto de 2016.

McBride, A. A. (2017). Oncogenic human papillomaviruses. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* [serie en línea]. 372(1732):20160273. Disponible de [<https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0273>]. Publicado el 11 de septiembre de 2017.

McClung, N. M., Gargano, J. W., Park, I. U., Whitney, E., Abdullah, N., Ehlers, S., Bennett, N. M., Scahill, M., Niccolai, L. M., Brackney, M., Griffin, M. R., Pemmaraju, M., Querec, T. D., Cleveland, A. A., Unger, E. R., Markowitz, L. E., Blankenship, S., Allen, S., Meek, J., Dahl, R. M. (2019). Estimated Number of Cases of High-Grade Cervical Lesions Diagnosed Among Women — United States, 2008 and 2016. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* [serie en línea]. 68(15):337–343. Disponible de [<https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6815a1>]. Publicado el 19 de abril de 2019.

Medina-Villaseñor, E. A., Oliver-Parra, P. A., Neyra-Ortiz, E., Armando Pérez-Castro, J., Raúl Sánchez-Orozco, J., y Contreras-González, N. (2014). Neoplasia intraepitelial cervical, análisis de las características clínico-patológicas. *Gaceta Mexicana de Oncología* [serie en línea]. 13(1):12-25.

Mejía, L., Muñoz, D., Trueba, G., Tinoco, L., y Zapata, S. (2016). Prevalence of human papillomavirus types in cervical cancerous and precancerous lesions of Ecuadorian women. *Journal of Medical Virology* [serie en línea]. 88(1):144–152. Disponible de [<https://doi.org/10.1002/jmv.24310>]. Publicado el 15 de julio de 2015.

Mekonnen, A. G., y Mittiku, Y. M. (2023). Early-onset of sexual activity as a potential risk of cervical cancer in Africa: A review of literature. *PLOS Global Public Health* [serie en línea]. 3(3):e0000941. Disponible de [<https://doi.org/10.1371/journal.pgph.0000941>]. Publicado el 22 de marzo de 2023.

Montealegre, J. R., Varier, I., Bracamontes, C. G., Dillon, L. M., Guillaud, M., Sikora, A. G., Follen, M., Adler-Storthz, K., y Scheurer, M. E. (2019). Racial/ethnic variation in the prevalence of vaccine-related human papillomavirus genotypes.

Ethnicity & Health [serie en línea]. 24(7):804–815. Disponible de [<https://doi.org/10.1080/13557858.2017.1373073>]. Publicado el 4 de septiembre de 2017.

Moreno-Barrios, (2017). Actualización en el reporte de citología cervicovaginal basado en el Sistema Bethesda 2014. *Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela*. [serie en línea]. 77(1):58-67. Disponible de [<https://n9.cl/g7rnj>].

Munger, K. (2019). Papillomaviruses. *Encyclopedia of Cancer* [serie en línea]. 5:212–218. Disponible de [<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.98745-2>]. Publicado el 5 de noviembre de 2018.

Münger, K., Baldwin, A., Edwards, K. M., Hayakawa, H., Nguyen, C. L., Owens, M., Grace, M., y Huh, K. (2004). Mechanisms of Human Papillomavirus-Induced Oncogenesis. *Journal of Virology* [serie en línea]. 78(21):11451–11460. Disponible de [<https://doi.org/10.1128/JVI.78.21.11451-11460.2004>]. 1 de noviembre de 2004.

Muñoz-Bello, J. O., Carrillo-García, A., y Lizano, M. (2022). Epidemiology and Molecular Biology of HPV Variants in Cervical Cancer: The State of the Art in Mexico. *International Journal of Molecular Sciences* [serie en línea]. 23(15):8566. Disponible de [<https://doi.org/10.3390/ijms23158566>].

Navarro-Vidal, E., Hernandez-Rosas, F., Rey, M., y Flores-Peredo, L. (2018). Prevalence of Human Papillomavirus Genotypes in Women from Cozumel, Mexico. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP* [serie en línea]. 19(9):2417–2422. [<https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.9.2417>].

Ogilvie, G. S., Cook, D. A., Taylor, D. L., Rank, C., Kan, L., Yu, A., Mei, W., van Niekerk, D. J., Coldman, A. J., y Kraiden, M. (2013). Population-based evaluation of type-specific HPV prevalence among women in British Columbia, Canada. *Vaccine*, [serie en línea]. 31(7):1129–1133. Disponible de [<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.09.085>]. Publicado el 4 de febrero de 2013.

Ostergard, D. R. (1979). The effect of pregnancy on the cervical squamocolumnar junction in patients with abnormal cervical cytology. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 134(7):759–760. Disponible de [[https://doi.org/10.1016/0002-9378\(79\)90943-8](https://doi.org/10.1016/0002-9378(79)90943-8)].

Oyervides-Muñoz MA, Pérez-Maya AA, Sánchez-Domínguez CN, Berlanga-Garza A, Antonio-Macedo M, Valdéz-Chapa LD, Cerda-Flores RM, Trevino V, Barrera-Saldaña HA, Garza-Rodríguez ML., (2020). Multiple HPV Infections and Viral Load Association in Persistent Cervical Lesions in Mexican Women. *Viruses* [serie en línea]. 12(4):380. Disponible de [<https://doi.org/10.3390/v12040380>]. Publicado el 31 de marzo de 2020.

Padilla-Mendoza, J. R., Gómez-López, L. A., López-Casamichana, M., Azuara-Liceaga, E. I., Cortés-Malagón, E. M., López-Cánovas, L., Reyes-Hernández, O. D., Rodríguez, M. A., Bonilla-Delgado, J., y López-Reyes, I. (2020). Human Papillomavirus Coinfection in the Cervical Intraepithelial Lesions and Cancer of Mexican Patients. *BioMed Research International* [serie en línea]. 1:4542320. Disponible de [<https://doi.org/10.1155/2020/4542320>]. Publicado el 16 de noviembre de 2020.

Pedroza-Gonzalez, A., Reyes-Realí, J., Campos-Solorzano, M., Blancas-Díaz, E. M., Tomas-Morales, J. A., Hernandez-Aparicio, A. A., Montes de Oca-Samperio, D., Garrido, E., Garcia-Romo, G. S., Mendez-Catala, C. F., Alvarez Ortiz, P., Sánchez Ramos, J., Mendoza-Ramos, M. I., Saucedo-Campos, A. D., y Pozo-Molina, G. (2022). Human papillomavirus infection and seroprevalence among female university students in Mexico. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* [serie en línea]. 18(1). Disponible de [<https://doi.org/10.1080/21645515.2022.2028514>]. Publicado el 1 de febrero de 2022.

Prendiville, W., y Davies, P. (2004). HPV handbook. *Human Papillomavirus and Cervical Cancer, (1era Edición) 96p.* Taylor and Francis. [ISBN 9781842143360]. Publicado el 13 de enero de 2004.

Prevención, G. P. C. (2011). detección oportuna del cáncer cérvico uterino en el primer nivel de atención. *México: Secretaría de Salud, diciembre de 2011.*

Reyes, C., González Pérez, M., L., Midiala Scull Martínez, L., Yuleyka, L., Hechavarría, P., Germán, M., y Cabrera, C. (2019). The importance of Bethesda system in the cytological diagnosis of the cervix pre-cancerous lesions. *Revista Médica Electrónica* [serie en línea]. 41(1):203-210. Disponible de [<https://acortar.link/ELElVF>]. Publicado en febrero de 2019.

Ribeiro, A. A., Costa, M. C., Alves, R. R. F., Villa, L. L., Saddi, V. A., Carneiro, M. A. dos S., Zeferino, L. C., y Rabelo-Santos, S. H. (2015). HPV infection and cervical neoplasia: associated risk factors. *Infectious Agents and Cancer* [serie en línea].

10(1):16. Disponible de [<https://doi.org/10.1186/s13027-015-0011-3>]. Publicado 26 de mayo de 2015.

Sanabria Negrín, J. G., (2009). Virus del Papiloma Humano. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río* [serie en línea]. 13(4). [ISSN 1561-3194]. Publicado en octubre de 2009.

Sarma, U., Mahanta, J., Borkakoty, B. J., Talukdar, K. L., Gogoi, R., y Yadav, K. (2013). Demographic Characteristic of HPV infection in women- A hospital based study from Guwahati, India. *National Journal of Medical Research* [serie en línea]. 3(1):1-4. Disponible de [<https://njmr.in/index.php/file/article/view/560>]. Publicado el 31 de marzo de 2013.

Singh, D., Vignat, J., Lorenzoni, V., Eslahi, M., Ginsburg, O., Lauby-Secretan, B., Arbyn, M., Basu, P., Bray, F., y Vaccarella, S. (2023). Global estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2020: a baseline analysis of the WHO Global Cervical Cancer Elimination Initiative. *The Lancet Global Health* [serie en línea]. 11(2):e197–e206. Disponible de [[https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(22\)00501-0](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(22)00501-0)]. Publicado el 14 de diciembre de 2022.

Sotlar, K., Diemer, D., Dethleffs, A., Hack, Y., Stubner, A., Vollmer, N., Menton, S., Menton, M., Dietz, K., Wallwiener, D., Kandolf, R., y Bültmann, B. (2004). Detection and typing of human papillomavirus by E6 nested multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 42(7):3176–3184. Disponible de [<https://doi.org/10.1128/JCM.42.7.3176-3184.2004>]. primero de julio de 2004.

Soto, Y., Torres, G., Kourí, V., Limia, C. M., Goicolea, A., Capó, V., Pérez, L., de la Torre, A. I., López, L. X., Govín, A., Correa, C. B., Alemán, Y., Álvarez, A. A., y Manzano, B. R. (2014). Molecular Epidemiology of Human Papillomavirus Infections in Cervical Samples from Cuban Women Older Than 30 Years. *Journal of Lower Genital Tract Disease* [serie en línea]. 18(3):210–217. Disponible de [<https://doi.org/10.1097/LGT.0b013e3182a7bb89>]. Publicado en julio de 2014.

Stanley, M. A. (2012). Epithelial Cell Responses to Infection with Human Papillomavirus. *Clinical Microbiology Reviews* [serie en línea]. 25(2):215–222. Disponible de [<https://doi.org/10.1128/CMR.05028-11>]. Publicado el 1 de abril de 2012.

Sugawara, Y., Tsuji, I., Mizoue, T., Inoue, M., Sawada, N., Matsuo, K., Ito, H., Naito, M., Nagata, C., Kitamura, Y., Sadakane, A., Tanaka, K., Tamakoshi, A., Tsugane, S., y Shimazu, T. (2019). Cigarette smoking and cervical cancer risk: An evaluation based on a systematic review and meta-analysis among Japanese women. *Japanese Journal of Clinical Oncology* [serie en línea]. 49(1):77–86. Disponible de [<https://doi.org/10.1093/jjco/hyy158>]. Publicado el 18 de noviembre de 2018.

Tekalegn, Y., Sahiledengle, B., Woldeyohannes, D., Atlaw, D., Degno, S., Desta, F., Bekele, K., Aseffa, T., Gezahegn, H., y Kene, C. (2022). High parity is associated with increased risk of cervical cancer: Systematic review and meta-analysis of case–control studies. *Women’s Health* [serie en línea]. 18. Disponible de SAGE Publications Ltd. [<https://doi.org/10.1177/17455065221075904>]. Publicado el 4 de febrero de 2022.

Tong, Y., Tying, S. K., y Szalai, Z. Z. (2019). Human Papillomavirus Infection. *Harper's Textbook of Pediatric Dermatology* (4ta Edición). John Wiley & Sons Ltd. 49:588–597.

Tsai, T. C., y Chen, S. L. (2003). The biochemical and biological functions of human papillomavirus type 16 E5 protein. *Archives of Virology* [serie en línea]. 148(8):1445-143. Disponible de [<https://doi.org/10.1007/s00705-003-0111-z>]. Publicado en agosto de 2003.

Vale, D. B., Westin, M. C., y Zeferino, L. C. (2013). High-grade squamous intraepithelial lesion in women aged < 30 years has a prevalence pattern resembling low-grade squamous intraepithelial lesion. *Cancer Cytopathology* [serie en línea]. 121(10):576-581. Disponible de [<https://doi.org/10.1002/cncy.21312>]. Publicado el 13 de junio 2003.

van der Marel, J., Berkhof, J., Ordi, J., Torné, A., Del Pino, M., van Baars, R., ... & Quint, W. G. (2015). Attributing oncogenic human papillomavirus genotypes to high-grade cervical neoplasia: which type causes the lesion? *The American Journal of Surgical Pathology* [serie en línea]. 39(4):496-504. Disponible de [<https://n9.cl/3h0bw>]. Publicado en abril de 2015.

Varela Martínez, S. (2005). Citología Cervical. *Revista Médica de Honduras* [serie en línea] 73(3):131-140. Disponible de [<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-444202>]. Publicado en julio de 2005.

Vergara, N., Espinoza, G., Balanda, M., Quiero, A., Hidalgo, W., San Martín, H., y Ramírez, E. (2017). Prevalence of Human Papillomavirus infection among Chilean

women from 2012 to 2016. *Journal of Medical Virology*, 89(9):1646-1653. Disponible de [<https://doi.org/10.1002/jmv.24805>]. Publicado el 11 de marzo de 2017.

Vidal Alexandre, B., Tovar Sugrañes, E., López Poza, R., Andrés, M., y Martínez-Vidal, M. P. (2021). Cribado del virus de papiloma humano: evaluación de grado de vigilancia en artritis reumatoide, artritis psoriásica y lupus eritematoso sistémico. *Reumatología Clínica* [serie en línea]. 17(9):494–498. Disponible de [<https://doi.org/10.1016/j.reuma.2020.05.007>]. Publicado en noviembre de 2021.

Williams, J., Kostiuk, M., y Biron, V. L. (2022). Molecular Detection Methods in HPV-Related Cancers. *Frontiers in Oncology*, 12. Disponible de [<https://doi.org/10.3389/fonc.2022.864820>]. Publicado el 26 de abril de 2022.

Wilson, R., Fehrmann, F., y Laimins, L. A. (2005). Role of the E1 \wedge E4 Protein in the Differentiation-Dependent Life Cycle of Human Papillomavirus Type 31. *Journal of Virology* [serie en línea]. 79(11):6732–6740. Disponible de [<https://doi.org/10.1128/jvi.79.11.6732-6740.2005>]. Publicado el 1 de junio de 2005.

Wong, O. G., Lo, C. K., Chow, J. N., Tsun, O. K., Szeto, E., Liu, S. S., Ngan, H. Y., y Cheung, A. N. (2012). Comparison of the GenoFlow human papillomavirus (HPV) test and the Linear Array assay for HPV screening in an Asian population. *Journal of clinical microbiology* [serie en línea]. 50(5):1691–1697. Disponible de [<https://doi.org/10.1128/JCM.05933-11>]. Publicado en mayo 2012.

Wu, A., Li, Q., Ling, J., Gu, L., Hong, Z., Di, W., y Qiu, L. (2021). Effectiveness of photodynamic therapy in women of reproductive age with cervical high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL/CIN2). *Photodiagnosis and Photodynamic*

Therapy [serie en línea]. 36:102517. Disponible de [https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2021.102517]. Publicado en diciembre de 2021.

Wudtisan, J., Tantipalakorn, C., Charoenkwan, K., Sreshthaputra, R. A., y Srisomboon, J. (2019). Factors Associated with Development of High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions of the Uterine Cervix in Women Younger than 30 Years. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* [serie en línea]. (4):1031–1036. Disponible de [https://doi.org/10.31557/APJCP.2019.20.4.1031].



XIII CONGRESO NACIONAL DE VIROLOGÍA

OTORGA EL PRESENTE RECONOCIMIENTO A

Mariana Talavera Altamirano, Sergio Alonso Durán Pérez, Karen Virginia Pineda Hidalgo, Claudia del Rosario León Sicaíro, Edith Oliva Cuevas Rodríguez, José Guadalupe Rendón Maldonado

Por su ponencia: **Identification of human papillomavirus genotypes 33 and -61 in endo-exocervix of women from Sinaloa**

En el XIII Congreso Nacional de Virología llevado a cabo del 4 de octubre al 7 de octubre del 2023.


Dra. Montserrat Elena
García Hernández
Comité organizador


Dra. Ma. Isabel Salazar
Sánchez
Comité organizador


Dra. Rosa Elena
Sarríentoro Silva
Comité organizador


Dr. José Vázquez
Pérez
Comité organizador


Dra. Rosa María Del
Angel N.
Presidenta de la Sociedad
Mexicana de Virología