

Evaluación, mediante RCP, de la infección por el virus de papiloma humano en muestras de pacientes con diagnóstico clínico o citológico

Drs. Zoraya De Guglielmo C*, Lic. Maira Ávila H*, María Correnti*, Lic. Dayahindara Veitía M*, María Cavazza**

RESUMEN

Objetivo: Detección y tipificación del VPH mediante Reacción en Cadena de la polimerasa con iniciadores genéricos MY09 y MY11 y RCP-Múltiple, en muestras de pacientes con diagnóstico citológico de coilocitosis y lesión intraepitelial escamosa de bajo grado, o diagnóstico clínico de condilomatosis y papilomatosis.

Métodos: Se procesaron 70 muestras citológicas del área genital a las que se realizó extracción de ADN y detección y tipificación viral mediante técnicas moleculares (RCP y RCP múltiple).

Ambiente: Laboratorio de Genética Molecular del Instituto de Oncología y Hematología,

Resultados: De las muestras evaluadas, 31 resultaron positivas en la detección molecular del VPH. De éstas, 29 correspondieron a VPH de bajo riesgo (tipos 11 y/o 6), una a infección mixta con bajo y alto riesgo (tipos 6 y 33) y otra a coinfección con virus de alto riesgo (tipos 18 y 33).

Conclusiones: Los resultados obtenidos resaltan la utilidad de la RCP en el diagnóstico y tipificación del VPH y ponen en evidencia una relación, ya establecida, entre VPH de bajo riesgo y displasias leves, así como la posible sobrestimación de infección por VPH en los diagnósticos de referencia.

Palabras clave: VPH. LIE. RCP. Citología.

SUMMARY

Objectives: The aim of this study was the HPV detection and typification by PCR with MY09 and MY11 primers and a Multiplex-PCR assay, in patients samples with cytological diagnostic of koilocytosis and low grade squamous intraepithelial lesion, or clinical diagnostic of condylomatosis and papillomatosis.

Methods: Seventy cytological samples of the genital area were assessed for DNA extraction and viral detection and typification by molecular techniques (PCR and Multiplex PCR).

Setting: Laboratorio de Genética Molecular-Instituto de Oncología y Hematología,

Results: From 70 evaluated samples, 31 were positive for HPV detection, with 29 samples corresponding to low risk HPV (types 6 and/or 11), one corresponding to high and low risk HPV mixture infection (types 6 and 33) and one corresponding to high risk HPV coinfection (types 18 and 33).

Conclusions: These results reflect the PCR utility to the HPV detection and typification, and evidence a well known relation between low risk HPV and moderated displasias, as well as the possible overestimate of HPV infection in the reference diagnostic.

Key words: HPV. SIL. PCR. Cytology.

INTRODUCCIÓN

La infección por virus de papiloma humano (VPH) está considerada actualmente como la enfermedad de transmisión sexual más frecuente en el mundo

y como el principal factor etiológico de lesiones intraepiteliales y cáncer cervicouterino (1,2). Ningún otro cáncer tiene una relación de causalidad tan bien establecida con virus, representada en un riesgo relativo de 300-400 entre cáncer de cuello uterino y VPH (3). En Venezuela, el cáncer cérvico-uterino es la neoplasia más frecuente y la primera causa de muerte oncológica en la población femenina (4).

* Laboratorio de Genética Molecular - Instituto de Oncología y Hematología, MPPS.

** Laboratorio de Microbiología Molecular - Instituto de Bio-medicina, MPPS – Universidad Central de Venezuela.

En un estudio realizado con muestras cervicales de estudiantes sexualmente activas de la Universidad Central de Venezuela, en edades comprendidas entre 18 y 25 años, que presentaban lesiones o alteraciones citológicas, se encontró una alta prevalencia de infección por VPH (63,7 %) (5). Debido a que el VPH también puede transmitirse en forma vertical (aunque con menor frecuencia), otros estudios se han dirigido a la detección del genoma viral en lesiones benignas y malignas de cavidad bucal; se ha detectado el virus en carcinoma bucal de células escamosas en una proporción del 50 %, así como en lesiones benignas de mucosa bucal, donde se encontró VPH de bajo riesgo y un caso de VPH de alto riesgo oncogénico (6,7).

Basado en hibridación del ADN y, posteriormente, en análisis de secuencia, se han identificado más de 100 tipos de VPH especie-específicos, de los cuales aproximadamente 40 son transmitidos sexualmente en el hombre y pueden infectar la mucosa de los genitales, incluyendo el cérvix (8). De acuerdo a su potencial oncogénico se han dividido en tipos de alto riesgo: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, asociados con cáncer invasivo y lesiones intraepiteliales escamosas de bajo y alto grado (LIEbg y LIEag); y tipos de bajo riesgo: 6, 11, 42, 43, 44, asociados principalmente con verrugas genitales, LIEbg y papilomatosis respiratoria recurrente (9,10). Sin embargo, algunos investigadores han encontrado VPH de bajo riesgo (tipo 6) en carcinomas escamosos invasivos de cérvix, indicando que, dependiendo de otros factores de riesgo asociados, este tipo viral pudiera participar en los cambios que conllevan a la transformación celular (11-13).

Considerando la relación que existe entre tipos específicos de VPH con el estatus y la evolución de la infección, es importante conocer el tipo viral involucrado en una patología dada para llegar a un diagnóstico más preciso y un tratamiento y seguimiento adecuados. Por otra parte, debido a las ventajas, desventajas y/o limitaciones que presentan los distintos procedimientos (citológicos, histológicos, clínicos, moleculares, inmunológicos) para evaluar los cambios morfológicos asociados a displasias o neoplasias cervicales y la posible existencia de infección viral, es importante el uso combinado de métodos basados en principios diferentes, con la capacidad de caracterizar los cambios morfológicos que sugieren la presencia de infección viral, así como métodos de alta sensibilidad y especificidad que permitan detectar y determinar el genotipo del VPH.

Existen trabajos que reflejan una gran variabilidad en cuanto a la sensibilidad y especificidad de los distintos métodos empleados en la evaluación de la infección por VPH. En el caso de la citología, se ha reportado un valor promedio de sensibilidad de 61,3 % con una dispersión considerable (18,6 %-94 %), resaltando la elevada subjetividad de este método que justifica un control estricto de su calidad y la necesidad de su repetición frecuente; esta sensibilidad incrementa con la edad de las pacientes. La reacción en cadena de la polimerasa (RCP), presenta una sensibilidad mayor (aproximadamente 90 %), con un intervalo más compacto (84,9 %-100 %), y no varía con la edad. En contraste, la especificidad es más alta en la citología que en la RCP y, en ambos casos, incrementa con la edad (14-16).

El presente estudio tuvo como objetivos la detección y tipificación del VPH mediante la RCP en muestras de pacientes con diagnóstico clínico o citológico sugestivo de infección por dicho virus, así como la comparación de los resultados obtenidos mediante la evaluación molecular con el diagnóstico previo de referencia.

MÉTODOS

Material biológico. Se evaluaron 70 muestras citológicas (hisopados) tomadas en el área genital, recibidas en el Laboratorio de Genética Molecular del Instituto de Oncología y Hematología- MPPS, con diagnóstico clínico o citológico de referencia. El 34,3 % de las muestras (24/70) presentó diagnóstico citológico de coilocitosis o LIEbg; el 65,7 % (46/70) presentó diagnóstico clínico de condilomatosis o papilomatosis.

Extracción del ADN genómico total. Para la extracción del ADN, se siguió el protocolo descrito por Correnti y col. (4). El sedimento celular de las muestras evaluadas fue digerido en 100 μ L buffer de lisis (0,1 % sarcosina; 10 mM Tris HCl, pH 8) y 100 μ L proteinasa K (1 mg/mL), incubando durante, al menos, 3 horas a 42° C. El ADN fue extraído mediante separación v/v con cloroformo-fenol/isoamílico y precipitación con 2 ½ volúmenes de etanol absoluto frío; se resuspendió en agua libre de nucleasas y se determinó la concentración espectrofotométricamente.

Reacción en cadena de la polimerasa (RCP). La detección viral se llevó a cabo mediante RCP con iniciadores genéricos MY09 y MY11, que reconocen la región consenso L1 del genoma viral para obtener un producto de amplificación de 450 pb (17,18). Se utilizaron los iniciadores PC04/GH20

para amplificar simultáneamente un fragmento del gen humano de β -globina como control interno de la integridad y calidad del ADN y ausencia de inhibidores de la RCP, con los que se obtiene un producto de 268 pb (19). Se incluyó, además, un control negativo (mezcla de reacción + ADN de individuo sano). Aproximadamente 1 μ g del ADN extraído fue añadido a la mezcla de reacción [0,4 μ l dntp's (100 mM); 0,2 μ l de cada primer (100 mM); 6 μ l de buffer Taq 10X; 4 μ l de $MgCl_2$ (50 mM); 0,5 μ l (2,5 U) de Taq DNA polimerasa (Invitrogen); H_2O libre de nucleasas hasta un volumen final de 40 μ l] y amplificado en un termociclador "Mini cycler" MJ Research (Ciclos: 4 min a 94° C, 40 X [15 seg a 94° C, 30 seg a 55° C, 45 seg a 72° C] y una extensión final de 7 min a 72° C).

La tipificación se realizó con el kit comercial MP-70078 "MPCR Kits for Human Papillomaviruses" de Maxim Biotch, Inc., siguiendo las indicaciones de la casa comercial, que permite tipificar los tipos 6 y 11 de bajo riesgo, y los tipos 16, 18 y 33 de alto riesgo, correspondientes a los tipos virales más reportados en la literatura sobre el tema.

Los resultados de ambas amplificaciones fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 %, buffer TBE 1X. Los gels fueron teñidos con bromuro de etidio (0,2 μ L de solución al 1 %) y expuestos a luz UV (transiluminador) para registro fotográfico.

Para evaluar la asociación de los diagnósticos clínico y citológico de referencia de las muestras estudiadas con respecto a los resultados de la detección por RCP, se aplicó una prueba Chi cuadrado (χ^2) con corrección por continuidad y se utilizó el coeficiente Kappa para medir su grado de concordancia, utilizando como criterio para el rechazo de la hipótesis nula un P-valor <0,05. Los datos fueron analizados utilizando el paquete estadístico SPSS versión 13.0.

RESULTADOS

Las 70 muestras citológicas evaluadas fueron recolectadas por médicos especialistas con hisopos de dacron (Fisherbrand) en el área genital de los pacientes. Los resultados de la detección viral mediante RCP con iniciadores MY09 y MY11 se muestran en el Cuadro 1 y la Figura 1, y los de la tipificación mediante RCP-Múltiple en el Cuadro 2 y la Figura 2. Todos los ADN extraídos permitieron la amplificación del fragmento de 268 pb correspondiente al gen de β -globina utilizado como control interno de la prueba, lo que indicó la buena calidad del mismo y la óptima

Cuadro 1

Resultados de la detección del VPH por RCP con iniciadores genéricos

Diagnóstico	Nº de muestras	Nº muestras positivas	Nº muestras negativas
Citológico	(24/70) 34,3 %	(12/24) 50 %	(12/24) 50 %
Clínico	(46/70) 65,7 %	(19/46) 41,3 %	(27/46) 58,7 %
Total	70	(31/70) 44,3 %	(39/70) 55,7 %

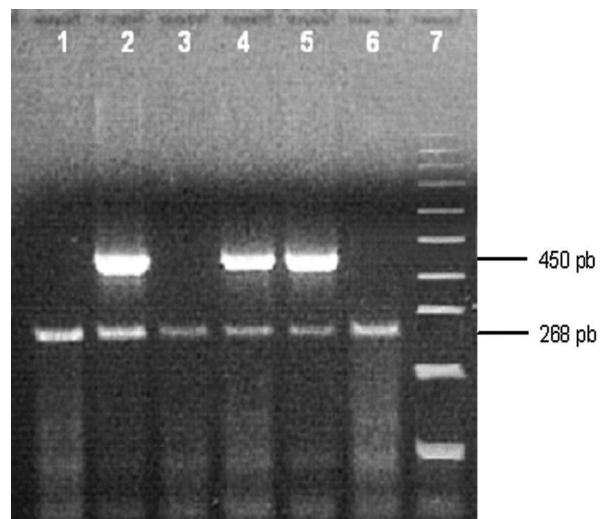


Figura 1. Detección viral mediante RCP con iniciadores MY09 y MY11. 1) Control negativo (ADN de individuo sano); 2) Control positivo; 3-6) Muestras en estudio; 7) Marcador de peso molecular (100 pb). La banda de 268pb corresponde al gen de β -globina, y la de 450 pb corresponde al genoma de VPH. Las muestras 3 y 6 resultaron negativas y las 4 y 5, positivas.

realización de la RCP. En las muestras consideradas positivas se observó la banda correspondiente al control interno y otra de 450 pb correspondiente al genoma viral; en las muestras negativas (incluyendo al control negativo) solo se observó el producto de amplificación del gen de la β -globina. Se obtuvo un porcentaje de positividad para la presencia del ADN viral de 44,3 % (31/70), correspondiente a 12/24 muestras con diagnóstico citológico y 19/46 muestras

con diagnóstico clínico. El 93,5 % de las muestras positivas (29/31) mostró infección con VPH de bajo riesgo oncogénico: 45,2 % (14/31) correspondiente al tipo 6; 38,7 % (12/31) al tipo 11 y 9,7 % (3/31) correspondiente a coinfección con los tipos 6 y 11. Una muestra presentó infección mixta con los tipos 6 y 33, de bajo y alto riesgo oncogénico, respectivamente, y otra presentó coinfección con los tipos 18 y 33, ambos de alto riesgo oncogénico (Cuadro 2, Figura 2).

Al comparar, mediante pruebas estadísticas, los

Cuadro 2
Tipificación del VPH mediante RCP-Múltiple de las muestras positivas en la RCP con iniciadores genéricos

Diagnóstico	Tipo viral				
	6	11	6 y 11	6 y 33	18 y 33
Citológico	(5/12) 41,6 %	(6/12) 50 %	(1/12) 8,3 %	0	0
Clínico	(9/19) 47,3 %	(6/19) 31,6 %	(2/19) 10,5 %	(1/19) 5,3 %	(1/19) 5,3 %
Total	(14/31) 45,2 %	(12/31) 38,7 %	(3/31) 9,7 %	(1/31) 3,2 %	(1/31) 3,2 %

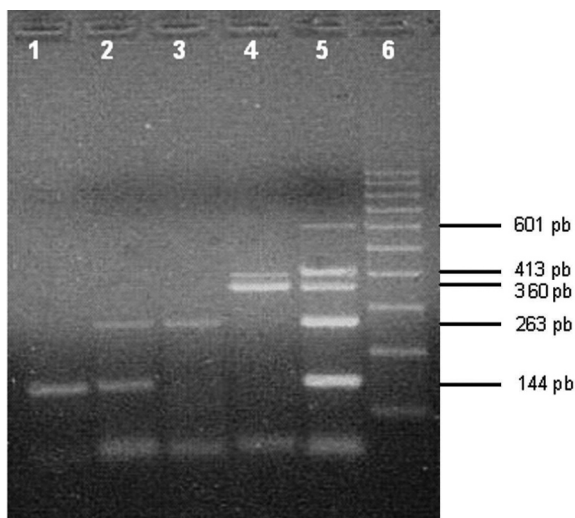


Figura 2. Tipificación viral mediante RCP-Múltiple. 1-4) Muestras en estudio positivas en la detección viral; 5) Control positivo del kit, donde se observan las bandas correspondientes a los tipos 11 (144 pb), 6 (263 pb), 18 (360 pb), 33 (413 pb) y 16 (601 pb); 6) Marcador de peso molecular (100 pb).

resultados obtenidos en la evaluación molecular con los diagnósticos de referencia, se obtuvo un P-valor $> 0,05$ con un coeficiente Kappa de 0,081, lo que no permite rechazar la hipótesis nula en relación a la asociación lineal entre los parámetros contrastados.

DISCUSIÓN

La infección por VPH puede diagnosticarse indirectamente a nivel morfológico por examen citológico o por examen histopatológico, los cuales no permiten detectar el genoma ni determinar el tipo viral involucrado. La tipificación es importante en la categorización de grupos de pacientes desde una perspectiva clínica práctica para el seguimiento de los mismos y proporcionar el diagnóstico y tratamiento más adecuados (20-22). Además, actualmente, el desarrollo y la aplicación de la vacuna de VPH constituyen un nuevo desafío en la evaluación de la eficacia de las mismas para los tipos virales incluidos. Distintos investigadores han usado la RCP con el fin de detectar y tipificar al VPH, señalándola como la técnica más rápida y sensible para la detección del ADN viral (9,23-25). La tipificación se realiza a partir de variaciones entre los genomas de los distintos tipos virales en las regiones E6, E7 y L1, considerando que un tipo dado debe diferir en más del 10 % respecto de otro tipo conocido. Estas diferencias se usan en la elaboración de sondas para procedimientos de hibridación y de iniciadores para reacciones de amplificación del ADN (1).

En este estudio se utilizó la RCP para la detección y tipificación del VPH en muestras con diagnóstico clínico de condilomatosis y papilomatosis, o diagnóstico citológico de LIEbg y coilocitosis, considerados como displasias leves por estar generalmente relacionadas a VPH de bajo riesgo oncogénico y presentar un menor riesgo de evolucionar hacia lesiones malignas (26). Como el kit RCP-Múltiple empleado en la tipificación viral sólo permite detectar dos tipos de bajo riesgo (6 y 11) y tres de alto riesgo oncogénico: 16, 18, 33, es importante la detección previa del ADN viral con los iniciadores genéricos MY09 y MY11, con el fin de evitar los falsos negativos que pudieran obtenerse de usarse el kit directamente, con tipos virales que no están presentes en el mismo, además de evaluar la calidad del ADN extraído de la muestra a partir del control interno incluido en la reacción.

En distintas investigaciones se han resaltado las ventajas de combinar los estudios citológicos con la evaluación molecular para detección del genoma

viral, lo cual ofrece un alto potencial para mejorar el valor predictivo negativo de la prueba citológica convencional, permitiendo el incremento en los intervalos de periodicidad para la realización de la misma y la disminución de los costos de programas de salud con seguridad aceptable (27-30).

En el presente estudio se detectó ADN viral en el 44,3 % de las muestras evaluadas, de las cuales 93,5 % correspondió a VPH de bajo riesgo oncogénico, incluyendo una muestra que presentó infección mixta con VPH de bajo y alto riesgo. En un trabajo realizado en muestras de lesiones benignas de mucosa bucal se reportaron porcentajes similares a los obtenidos en este estudio, detectándose VPH de bajo riesgo oncogénico en un 90,9 % de las muestras, mientras que el 9,1 % restante presentó infección mixta con VPH de bajo y alto riesgo (7).

Estos resultados resaltan la utilidad de la RCP en el diagnóstico y tipificación del VPH y ponen en evidencia una relación, ya establecida, entre VPH de bajo riesgo y displasias leves (3,9,20,25). Cabe mencionar que en base a la tipificación realizada en las muestras evaluadas en el presente estudio, las infecciones con VPH de alto riesgo y aquellas múltiples o mixtas son las que tienen mayor probabilidad de evolucionar hacia displasias severas, especialmente si están asociadas a otros factores de riesgo como edad, tabaquismo y persistencia de la infección (9). Se ha señalado que en las coinfecciones con VPH de bajo y alto riesgo oncogénico, es posible que ambos tipos virales se potencien, ocurriendo la duplicación de las cargas virales, o un efecto sinérgico en la oncogénesis del virus de alto riesgo (31). También se ha sugerido que las infecciones múltiples pudieran reflejar una mayor tolerancia inmunológica a la infección por VPH, con la acumulación subsecuente de infecciones diferentes, pudiendo, a su vez, representar un marcador de persistencia de la infección, lo cual han destacado algunos investigadores como un posible factor de riesgo de progresión de la lesión (32).

En el caso de las infecciones con VPH de bajo riesgo oncogénico, es importante tomar en cuenta otros factores clínicos y biológicos asociados a la historia de la infección (especialmente persistencia y recidivas), pues algunas investigaciones han reportado la participación de VPH de bajo riesgo en la progresión a malignidades (33-35).

Al comparar los resultados obtenidos mediante la evaluación molecular con el diagnóstico de referencia, se observó que 39/70 muestras (55,7 que tenían diagnóstico clínico o citológico sugestivo de infección por VPH, resultaron negativas en la

evaluación molecular por RCP. Al aplicar el contraste de independencia no se encontraron evidencias suficientes que permitan concluir que existe asociación lineal entre el diagnóstico de referencia y la evaluación molecular en el conjunto de datos analizados ($P > 0,05$). Consistentemente, el valor encontrado para el coeficiente Kappa ($k = 0,081$) evidencia una baja concordancia entre los resultados obtenidos por uno y otro procedimiento. Esta discrepancia entre los resultados mencionados pudiera ser consecuencia de una sobrestimación de infección por VPH en los diagnósticos de referencia en la muestra estudiada, lo que da origen a falsos positivos que son verificados al aplicar RCP.

Desde este punto de vista, se ha señalado que la citología cérvico-vaginal como método convencional para la pesquisa de cáncer cérvico-uterino, tiene limitaciones importantes, entre las que cabe resaltar la dificultad y elevado costo de su automatización (que tendería a reducir el error humano) y la sobrevaloración de los hallazgos citológicos; esto, a su vez, conlleva al diagnóstico de cambios atípicos ambiguos que no pueden ser confirmados, tratamientos excesivos por Papanicolaou dudosos y manejo inadecuado de pacientes con lesiones cervicales cuyo Papanicolaou fue negativo para la infección por VPH y que, sin embargo, pudieran presentar una infección latente que sólo se diagnosticaría molecularmente (4). Actualmente se están probando sistemas automatizados que incluyen dispositivos que procesan suspensiones celulares cervicales para preparar láminas estandarizadas y scanners que revisan los frotis con el fin de detectar células anormales y separar cualquier lámina que contenga imágenes sospechosas para la lectura subsecuente por un citotecnólogo (36).

Por otra parte, debido a que las citologías cervicales no detectan directamente al VPH, tampoco pueden ofrecer un diagnóstico preciso de la infección por el virus (37). Actualmente está bien establecido por distintos estudios que existe alrededor de un 10 % de casos de cáncer uterino que no se relacionan con infección por VPH y, en consecuencia, hay que considerar otros factores que pudieran determinar la ocurrencia de este tipo de cáncer, como susceptibilidad genética y tabaquismo (por sus efectos mutagénicos) (38-40). Otro factor señalado es la infección con patógenos distintos al VPH, tal como *Chlamydia trachomatis*, aunque su participación en el desarrollo de lesiones precancerosas y cáncer uterino es controversial (38,39); Ferreira de Paula y col. (41), detectaron la bacteria en un estudio con muestras

citológicas normales y anormales, aunque no hallaron una relación estadísticamente significativa entre la citología anormal y la infección con el patógeno solo o la coinfección VPH/*Chlamydia*. Wallin y col. (42), encontraron que una infección cervical previa con *C. trachomatis* estaba asociada a un incremento en el riesgo de desarrollar cáncer cervical invasivo en mujeres con citologías anormales. Finan y col. (43), hallaron evidencia sobre una posible relación causal entre las infecciones por VPH y *C. trachomatis* en el desarrollo de LIE.

Las diferencias observadas entre los diagnósticos de referencia y los resultados de la RCP obtenidas en el presente estudio también pudieran explicarse al nivel de la detección con la prueba molecular, pues la cantidad de ADN del virus en la muestra pudo haber sido insuficiente, tanto por un bajo número en la carga viral presente como por el lugar de toma de la muestra biológica, lo que no permitiría la detección del genoma viral mediante este método (21,24,44). En este sentido, Puig- Tintoré (16) señala que el límite de sensibilidad de la RCP es de 10 copias del ADN viral entre un millón de células.

Correnti y col. (45) explican que la distribución del ADN viral en las lesiones es focal, por lo que en células adyacentes que presentan los mismos cambios morfológicos, se pueden obtener resultados distintos en la detección de dicho ADN. Entonces, las diferencias entre los resultados de la RCP y la evaluación citológica pueden obedecer a una distribución focal de las partículas virales y/o a que el sitio de toma de la muestra fue diferente para cada una de las pruebas realizadas. Los falsos negativos de la RCP también pudieran ser consecuencia de deleciones, rupturas o cambios en algunas de las regiones del ADN viral que pueden ocurrir durante su integración al genoma del hospedador y que, como consecuencia, impiden el reconocimiento o hibridación de los iniciadores con la secuencia blanco que debe ser amplificada (32). Se ha observado en modelos con virus de alto riesgo oncogénico (tipos 16 y 18), que la región de lectura abierta del gen viral *E2* (regulador de los genes oncogénicos *E6* y *E7*) se altera durante tal integración, produciéndose una proteína *E2* defectuosa que no puede unirse a los promotores P97 (VPH tipo 16) o P105 (VPH tipo 18), perdiéndose el efecto inhibitorio de la expresión de *E6* y *E7*, lo que determina o favorece la progresión a la malignidad (2).

Conclusiones: Los resultados obtenidos en el presente estudio resaltan la utilidad de la RCP en el

diagnóstico y tipificación del VPH, lo que es de interés en la clínica práctica para el seguimiento de pacientes con esta infección. Igualmente, ponen en evidencia la relación ya conocida entre VPH de bajo riesgo oncogénico y displasias leves, así como las ventajas de combinar la evaluación citológica y/o clínica con la evaluación molecular. También pudieran indicar la sobrestimación de infección por VPH en citologías anormales, con la posibilidad de que otros factores distintos al VPH sean responsables de las mismas. En el caso de subestimación en la detección viral por RCP, pudieran señalar la importancia de la calidad de la toma de la muestra biológica a utilizar en pruebas moleculares.

Trabajo financiado por FONACIT, Proyecto G-2005000408.

REFERENCIAS

1. Rivera R, Aguilera J, Larraín A. Epidemiología del virus papiloma humano. Rev Chil Obstet Ginecol. 2002;67:501-506.
2. Rivera R, Delgado J, Painel V, Barrero R, Larraín A. Mecanismo de infección y transformación neoplásica producido por virus papiloma humano en el epitelio cervical. Rev Chil Obstet Ginecol. 2006;71:135-140.
3. Nazzari O, Suárez E, Larraguibel R, Rojas L, Bronde A. Lesiones preinvasoras de cuello uterino: una visión actual. Rev Med Chile. 2006;71:341-348.
4. Correnti M, Uribe M, Cavazza M, Bajares M, Bello J, Cerruti R, et al. Detección de virus papiloma humano (VPH) mediante biología molecular y su asociación con neoplasia cervical uterina. Rev Venez Oncol. 1997;9:76-83.
5. Alfonso B, Lozada E, Correnti M, Cavazza ME, Michelli P, Salma N. Detección del virus papiloma humano en muestras cervicales de una población de estudiantes de la Universidad Central de Venezuela. Rev Fac Med. 2003;26:120-126.
6. Correnti M, Rivera H, Cavazza ME. Detection of human papillomaviruses of high oncogenic potential in oral squamous cell carcinoma in a Venezuelan population. Oral Diseases. 2004;10:163-166.
7. Jimenez C, Correnti M, Salma N, Cavazza M E, Perrone M. Detection of human papillomavirus DNA in benign oral squamous epithelial lesions in Venezuela. J Oral Pathol Med. 2001;30.
8. Herrero R, Castle P, Schiffman M, Bratti M, Hildesheim A, Morales J, et al. Epidemiology profile of type-specific human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Guanacaste, Costa Rica. J Infectious Dis. 2005;191:1796-1807.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Genital HPV Infection. Atlanta, 2004 [consultada septiembre

- 2007]. Disponible en: www.cdc.gov/std/HPV/2004
10. National Cancer Institute. Hojas informativas, 2007 [consultada septiembre 2007]. Disponible en: www.cancer.gov
 11. Wilczynski S, Oft M, Cook N, Liao S, Iftner T. Human Papillomavirus type 6 in Squamous cell carcinoma of the bladder and cervix. *Human Pathol.* 1993;96-102.
 12. Farr A, Pattison S, Youn B, Roman A. Detection of silencer activity in the long control regions of human papillomavirus type 6 isolated from both benign and malignant lesions. *J Gen Virol.* 1995;76:827-835.
 13. Grassmann K, Wilczynski S, Cook N, Rapp B, Ifner T. HPV6 variants from malignant tumors with sequence alterations in the regulatory region do not reveal differences in the activities of the oncogen promoters but do contain amino acid exchanges in the E6 and E7 proteins. *Virology.* 1996;223:185-197.
 14. Cox T, Cuzick J. HPV DNA testing in cervical cancer screening: From evidence to policies. *Gynecol Oncol.* 2006;103:8-11.
 15. Cuzick J, Clavel C, Petry KV, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer.* 2006;119:1095-1101.
 16. Puig- Tintoré L. Utilización del test de VPH en el cribado primario del cáncer de cérvix. XVIII Congreso de la AEPPC. Granada 2006 [consultada enero 2008]. Disponible en: http://www.aepcc.org/download/congresos/xviii/ponencias/GR_S1-5.pdf
 17. Manos M, Ting Y, Wright D, Lewis A, Broker T, Wolinsky S. The use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomaviruses. *Cancer Cells.* 1989;7:209-214.
 18. Bosch F, Manos M, Muñoz N, Sherman M, Jansen A, Peto J, et al. Prevalence of human papilloma virus in cervical cancer: A perspective. International biological study on cervical cancer Study Group. *J Nat Cancer Inst.* 1995;87:796-802.
 19. Cañadas M, Lloveras B, Lorincz A, Ejarque M, Font R, Bosch F, et al. Evaluación de las técnicas de detección del VPH en los programas de cribado para cáncer de cuello uterino. *Salud Pública Méx.* 2006;48:373-378.
 20. National Institute of Health. Human Papillomavirus and Genital Warts. 2004 [consultada septiembre 2007]. Disponible en: www.niaid.nih.gov
 21. Melo A, Roa I, Montenegro S, Capurro I, Roa J. Estudio comparativo de detección del virus papiloma humano (VPH) en muestras citológicas y biopsias de cuello uterino. *Rev Méd Chile.* 2005;133:639-644.
 22. Khan M, Castle P, Lorincz A, Wacholder S, Sherman M, Scott D, et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J Nat Cancer Inst.* 2005;97:1072-1079.
 23. Castle P, Shiffmann M, Gravitt P, Fishman S, et al. Comparisons of HPV DNA detection by MY09/MY11 PCR methods. *J Med Virol.* 2002;68:417-423.
 24. Aedo S, Melo A, García P, Guzmán P, Capurro I, Roa J C. Detección y tipificación de Virus Papiloma Humano en lesiones preneoplásicas del cuello uterino mediante PCR-RFLP. *Rev Med Chile.* 2007;135:167-173.
 25. Meijer C, Snijders P, Castle P. Clinical utility of HPV genotyping. *Gyn Oncol.* 2006;103:12-17.
 26. Pinto A, Crum P. Natural history of cervical neoplasia: Defining progression and its Consequence. *Clin Obstet Gynecol.* 2000;43:352-362.
 27. Franco E, Ferenczy A. Assessing gains in diagnostic utility when human papillomavirus testing is used as a Pap smear adjunct for triaging women with cervical abnormalities. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181:382-386.
 28. Manos M, Kinney W, Hurley L, Sherman M, Shieh-Ngai J, Kurman RJ, et al. Identifying women with cervical neoplasia: Using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results. *JAMA.* 1999;281:1605-1610.
 29. Ratnam S, Franco E, Ferenczy A. Human papillomavirus testing for primary screening of cervical cancer precursors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000;9:945-951.
 30. Franco E, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Prospects for controlling cervical cancer at the turn of the century. *Salud Pública Méx.* 2003;45(3)Suppl:367-375.
 31. Graterol I, Finol H, Correnti M. Virus del papiloma humano en lesiones intraepiteliales escamosas (LIE) de cuello uterino. Tipificación y ultraestructura. *Rev Soc Ven Microbiol.* 2006;26:89-94.
 32. Moscicki A, Hills N, Shiboski S, Powell K, Jay N, Hanson E, et al. Risk for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. *JAMA.* 2001;285:2995-3002.
 33. Alejo M, Sardá M, Verdaguer M, Sanjosé S, Autonell J. Evolución de las lesiones escamosas de bajo grado del cérvix uterino. *Rev Esp Patol.* 2004;37:395-400.
 34. Ho G, Bierman R, Beardsley L, Chang Ch, Burk R. Natural History of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med.* 1998;338:423-428.
 35. Franco E, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Prospects for controlling cervical cancer at the turn of the century. *Salud Pública Méx.* 2003;45(3)Suppl:367-375.
 36. American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. Medical PAQs about diagnosing HPV. 2001-2005. [consultada en enero 2008]. Disponible en: <http://www.ascep.org/>
 37. Castañeda-Iñiguez M, Toledo-Cisneros R, Aguilera-Delgadillo M. Factores de riesgo para cáncer cervicouterino en mujeres de Zacatecas. *Salud Pública Méx.* 1998;40:330-338.
 38. International Agency for Research on Cancer.

- Colposcopy and treatment of cervical intraepithelial neoplasia. A beginner's manual. 2005. [consultada enero 2008]. Disponible en: <http://www.screening.iarc.fr/index.php>
39. Castañeda M. El cáncer cervical como problema de salud pública en mujeres mexicanas y su relación con el virus de papiloma humano. Barcelona, España: Tesis Doctoral de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona; 2005.
 40. Au WW, Sierra-Torres CH, Tying SK. Acquired and genetic susceptibility to cervical cancer. *Mutat Res.* 2003;544:361-364.
 41. Ferreira de Paula F, Fernandes A, Bianco do Carmo B, Duarte D, Santos M, Miranda C, et al. Molecular detection of *Chlamydia trachomatis* and HPV infections in cervical samples with normal and abnormal cytopathological findings. *Diagnostic Cytopathology.* 2006;35:198-202.
 42. Wallin KL, Wiklund F, Luostarinen T, Ångström T, Anttila T, Bergman F *et al.* A population-based prospective study of *Chlamydia trachomatis* infection and cervical carcinoma. *Int J Cancer.* 2002;104:371-374.
 43. Finan R, Tamiz H, Almawi W. Identification of *Chlamydia trachomatis* DNA in Human Papillomavirus (HPV) positive women with normal and abnormal cytology. *Arch Gynecol Obst.* 2002;266:168-171.
 44. Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Central de Apuntes. 2007 [consultada enero 2008]. Disponible en: <http://www.med.uchile.cl/apuntes/archivos/2007/medicina/PATOLOGÍA%20DEL%20TRACTO%20GENITAL%20FEMENINO.pdf>
 45. Correnti M, Uribe M, Cavazza M. Detección del virus de papiloma humano mediante RCP e hibridación molecular en citologías del cuello uterino. En: Rincón Morales F, editor. *Ginecología 96.* Caracas; 1996.p.126-135.

Correspondencia:

Dra. Zoraya De Guglielmo
e-mail: zdegugli@gmail.com

Dirección: Laboratorio de Genética Molecular - Instituto de Oncología y Hematología. Calle Minerva, al lado de la Fac. de Odontología-UCV, Ciudad Universitaria, Los Chaguaramos-Caracas.

Fax: 605 06 53. Teléfono: 605 06 47.

La Biblioteca “Dr. M. A. Sánchez Carvajal”

Es la Biblioteca de la Sociedad de Obstetricia y Ginecología de Venezuela. Atiende a los miembros de esta Sociedad, a los profesionales de la medicina de la Maternidad “Concepción Palacios”, así como a todo tipo de público que posea interés en las siguientes áreas de especialización:

- Obstetricia y Ginecología
- Cáncer ginecológico
- Fertilidad
- Reproducción humana
- Perinatología

Objetivos

- Favorecer las labores de asistencia, investigación y educación médica.
- Proporcionar información actualizada de manera sistemática y completa a los usuarios.
- Orientar al usuario en la búsqueda y localización de información bibliográfica nacional e internacional.
- Difundir información en las áreas de especialización de la biblioteca.

- Mantener lazos de cooperación con bibliotecas y centros de documentación especializados en las ciencias médicas.

Servicios

- Consulta de la colección en sala de forma directa a través de estanterías abiertas, e indirectamente por medio de índices y fotocopias de tablas de contenidos de revistas.
- Servicio de internet.
- Servicio de conmutación bibliográfica.
- Pedido de fotocopias de documentos, a través del Servicio Cooperativo de Acceso a Documentos (SCAD)/Red Médica Bireme/OMS, ubicado en Sao Paulo - Brasil
- Atención de usuarios vía telefónica o correo electrónico.
- Envío de información vía correo tradicional con cobro a destino.
- Servicio de Fotocopias.