



## PREVALENCIA DE VIRUS DE PAPILOMA HUMANO 16/18 EN MUJERES MEXICANAS USANDO PCR FLUORESCENTE MÚLTIPLE

Maura Sara Castañeda Iñiguez  
E-mail: [maviz\\_castaneda@yahoo.com.mx](mailto:maviz_castaneda@yahoo.com.mx)

### RESUMEN

*Objetivo.* Estimar la prevalencia de Virus del Papiloma Humano (VPH) 16/18, en biopsias de mujeres con lesiones cervicales pre-invasoras e invasoras. *Material y Métodos.* Estudio multicéntrico en mujeres derechohabientes del Instituto Mexicanos del Seguro Social (IMSS), que fue dirigido en nueve estados del país. Se obtuvieron biopsias de quienes fueron diagnosticadas con NIC III, *in situ* y cáncer cervical invasor, en hospitales de las regiones participantes. La detección y cuantificación de VPH se realizó a través de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) fluorescente múltiple; se estableció la comparación de proporciones por área geográfica, utilizando ji cuadrada y prueba exacta de Fisher. *Resultados.* La prevalencia de VPH 16 en cáncer invasor fue más alta en el sector Norte/Occidente (64.3 por ciento) que en el Centro/Sur (39.4 por ciento). La prevalencia de VPH-18 no observó diferencias entre regiones. *Conclusiones.* Los resultados del presente estudio confirman el papel central de VPH 16 y 18 en la etiología del cáncer cervical en México, así como también permiten destacar la utilidad de la prueba de PCR fluorescente múltiple por su alta especificidad.

*Palabras clave:* Virus de papiloma humano, biopsias, cáncer cervical.

### ABSTRAC

*Objective.* To assess the prevalence of Human Papillomavirus (HPV) 16/18 in biopsies of women with pre-invasive and invasive cervical lesions. *Material and Methods.* A multicenter study of female of the Mexican Social Security Institute (IMSS) was conducted in nine states of the country. Biopsies were obtained from that with a diagnostic of CIN III, *in situ* and invasive cervical cancer, in hospitals of the participating regions. HPV was detected and quantified through fluorescent, multiple polymerase chain reaction (PCR); a comparison of proportions was made by geographic area using chi square and Fisher exact test. *Results.* HPV 16 prevalence in invasive cervical cancer was higher in the North/West sector (64.3 percent) than the Center/South zone (39.4 percent). HPV-18 prevalence did

not show any differences between regions. *Conclusions.* This study results confirm the central role played by HPV 16 and 18 in the etiology of cervical cancer in Mexico. They also underline the utility of fluorescent, multiple PCR test, due to his high specificity.

*Key words:* Human papillovirus, biopsy, cervical neoplasm.

## INTRODUCCIÓN

La infección por virus del papiloma humano (VPH) del tracto genital es una de las enfermedades de transmisión sexual más comunes en el mundo.<sup>1</sup> En la actualidad ha sido ampliamente documentado el hecho de que la participación del VPH es determinante en el desarrollo del cáncer cervical (CC)<sup>2</sup> y que en más del 99 por ciento de los tumores cervicales se detecta la presencia de secuencias virales de algún tipo de VPH, principalmente de los tipos 16,18,31,33 y 45.<sup>3</sup>

Si bien el VPH es un agente causal necesario en el CC,<sup>4</sup> existen diferencias en el poder oncogénico entre los distintos tipos virales. De acuerdo con su poder oncogénico, los genotipos del VPH han sido catalogados como de alto riesgo u oncogénicos (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,82) y de bajo riesgo (6,11,40,42,43 44,54,61,72,81).<sup>5</sup> Los tipos 16 y 18 son los más frecuentes y ocasionan alrededor 70 por ciento de los casos de cáncer cervical en el mundo y el 89 por ciento si se considera a los ocho tipos del VPH más frecuentes (16,18,45,31,33,52, 58 y 35).<sup>6, 7, 8</sup>

Se han desarrollado numerosos métodos de reacción en cadena de la polimerasa (RCP) para detectar y cuantificar VPH en especímenes clínicos; sin embargo, algunos de estos métodos requieren de muchas horas de trabajo, son poco sensibles y no apropiados para la detección de VPH a nivel poblacional; además, presentan una baja eficiencia en la detección de infecciones múltiples, especialmente cuando la coinfección con diversos subtipos de VPH está presente en bajas concentraciones.<sup>9</sup> Asimismo, sus resultados pueden ser afectados por factores como: condiciones de fijación, preparación de la muestra, integridad del tejido entre otros.<sup>10</sup>

La utilización de una prueba múltiple de reacción en cadena de la polimerasa (RCP) altamente sensible y específica permite la detección simultánea de productos de la amplificación de los marcos de lectura de las regiones L1, E6 y E7, para tipos específicos de VPH en tiempo real y es capaz de detectar menos de diez copias de su material genómico, con la ventaja de que no existe la posibilidad de un entrecruzamiento con otros tipos de virus y puede realizarse en menos tiempo que los RCP convencionales.<sup>11, 12</sup>

La búsqueda y tipificación del VPH no responde a un mero interés académico, sino que resulta de gran importancia para distinguir los casos con mayor riesgo para desarrollar cáncer cervical, debido a su fuerte asociación con algunos tipos específicos de VPH, especialmente el 16 y 18. El presente estudio se propuso investigar la prevalencia de VPH-16 y 18 en nueve estados del país, en mujeres con lesiones cervicales pre-invasoras e invasoras, diagnosticadas en hospitales del IMSS.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se desarrolló un estudio multicéntrico en mujeres derechohabientes del IMSS de nueve entidades federativas: Guerrero, Morelos, Chiapas, Quintana Roo, Durango, Estado de México, Michoacán, Zacatecas y Colima, agrupadas en dos regiones: Norte/Occidente (Durango, Zacatecas, Michoacán, Colima y Guerrero) y Centro/Sur (Morelos, Estado de México, Chiapas y Quintana Roo), durante un periodo de detección de dos años.

Los casos se obtuvieron de los servicios de ginecología y oncología de los hospitales de las delegaciones participantes en el estudio. Se colectaron dos tipos de casos: a) mujeres con confirmación histológica de neoplasia intraepitelial cervical (NIC III, *in situ*) y b) mujeres con cáncer cervical invasor, histológicamente confirmado, a quienes no se les hubiera realizado ningún tratamiento previo (crioterapia, lasserterapia y/o conización). Se obtuvieron 194 biopsias de mujeres con NIC III, *in situ* y 47 con cáncer invasor. Los criterios de exclusión para participar en el estudio fueron: embarazo en el momento del estudio e incompetencia mental.

Un médico entrenado para tal fin realizó una revisión ginecológica, con la finalidad de examinar el cuello del útero. Se procedió luego a la toma de biopsia guiada por colposcopio, misma que se colocó en tubo de 2 ml (sin formol y sin ningún otro buffer). Las muestras se conservaron a menos 20°C hasta su envío al laboratorio. Todas las participantes firmaron una carta de consentimiento informado, de acuerdo con las recomendaciones de los comités de ética de las instituciones participantes.

La determinación del VPH se realizó en la ciudad de Filadelfia, Pensilvania, Estados Unidos, a donde fueron remitidas oportunamente las muestras histológicas; se utilizó la técnica de PCR fluorescente múltiple, que permitió la detección simultánea de productos de la amplificación de los marcos de lectura de las regiones L1, E6 y E7, para tipos específicos del VPH en tiempo real usando tres fluoroforos y el ABI PRISM 7700 Sequence Detection System Instrument. En el análisis

estadístico se hizo una comparación de proporciones entre las distintas regiones, utilizando Ji cuadrado y prueba exacta de Fisher, mediante el paquete estadístico STATA para Windows Versión 7.0.

## RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 241 casos, 194 NIC III, *in situ* y 47 cánceres invasores. Las características sociodemográficas y reproductivas de las mujeres participantes en el estudio, fueron las siguientes: el promedio de edad de los casos invasores fue de 51.5 años (DE=12.2), la de los casos con NIC III, *in situ* fue de 43.2 años (DE=11.2). Por región de procedencia, 58.8 por ciento de las mujeres con NIC II y III pertenecían a la zona Norte/Occidente y más de 70 por ciento de los casos invasores habitaban en la Centro/Sur. La edad de inicio de vida sexual activa en los casos con NIC III, *in situ* fue entre los diecisiete y diecinueve años de edad (38 por ciento), contrario a lo que sucedió en los casos invasores, en los que alrededor de 50 por ciento de las mujeres iniciaron su vida sexual antes de los dieciséis años.

En estas condiciones, cerca de 50 por ciento de las mujeres con cáncer invasor refirieron haber tenido más de una pareja sexual. El 51.9 por ciento de las participantes con NIC III, *in situ*, reportaron haber tenido cuatro o más embarazos a término, contra el 74.3 por ciento de quienes presentaron cáncer invasor. El uso de anticonceptivos orales fue reportado en el 15.7 por ciento de los casos de NIC III, *in situ*, y en el 8.4 por ciento del cáncer invasor. Más del 80 por ciento de las mujeres participantes con ambas patologías, reportó nunca haberse expuesto al factor de riesgo del tabaquismo (Tabla 1).

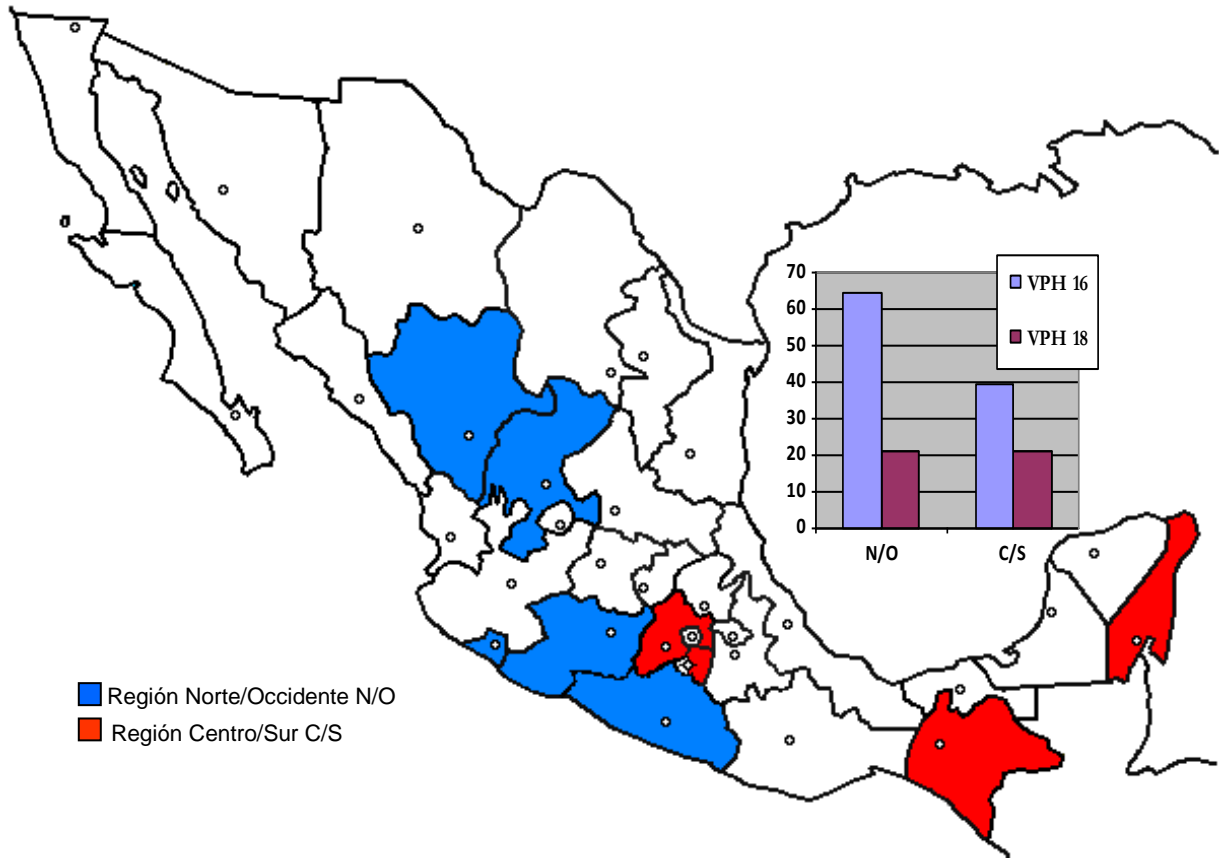
La prevalencia del VPH-16 en casos invasores fue de 64.3 por ciento (9/14) en la región norte-occidente (Durango, Zacatecas, Michoacán, Colima, Guerrero), mientras que alcanzó el 39.4 por ciento (13/33) en la región centro-sur (Morelos, Estado de México, Chiapas, Quintana Roo). La prevalencia de VPH-18 no obtuvo diferencias entre estas áreas geográficas (21.4 por ciento (3/14), en comparación con el 21.2 por ciento (7/13), respectivamente), situación que se refleja en la Figura 1.

Tabla 1.  
Características Sociodemográficas y reproductivas

de las mujeres participantes

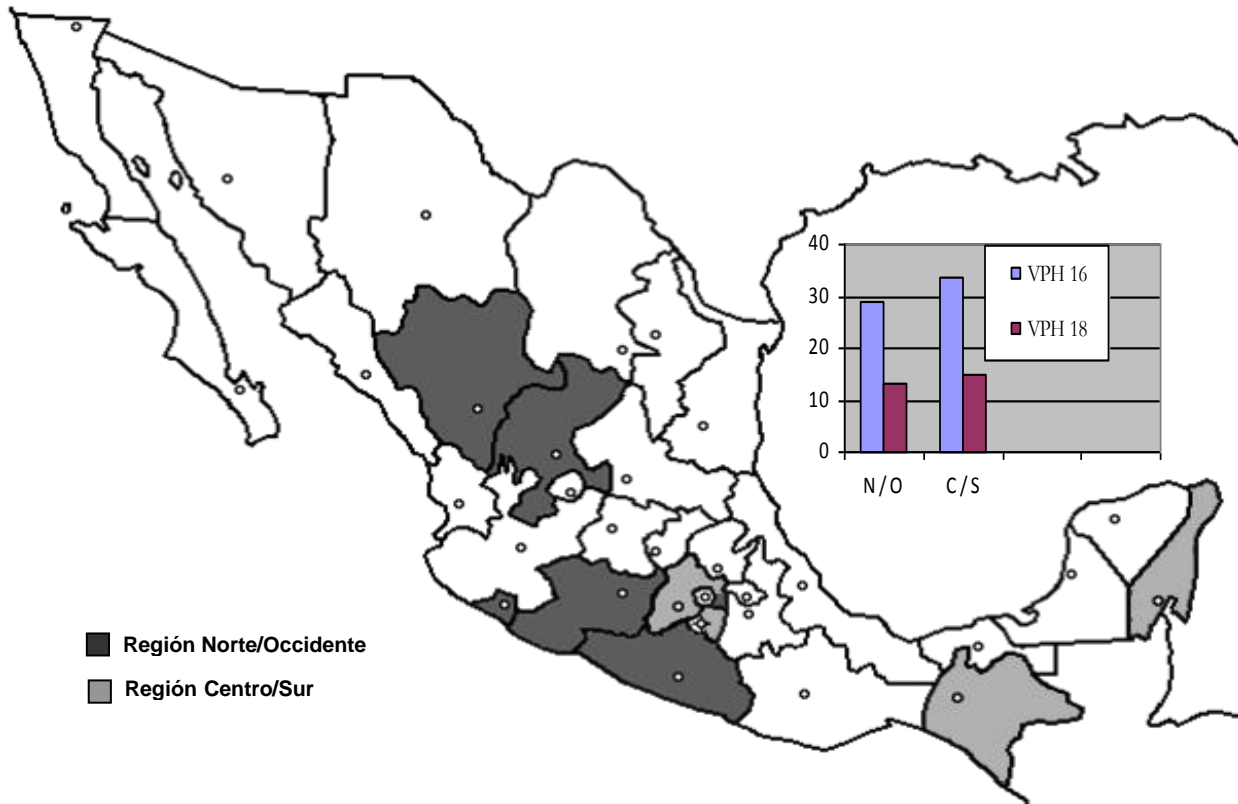
Características	<i>NIC II, III</i> <i>n=194</i>		<i>CANCER</i> <i>n=47</i>	
	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<b>Edad en años</b>				
< 25	5	2.4	0	0
25-34	45	23.1	2	4.8
35-44	66	34.1	14	28.7
45-54	45	23.4	12	26.4
55-64	25	12.8	11	22.7
≥ 65	8	4.2	8	17.4
<b>Región</b>				
Norte/Occidente	114	58.8	14	29.8
Centro/Sur	80	41.2	33	70.2
<b>Edad de inicio de vida sexual activa</b>				
≥ 20	58	30.0	12	25.8
17-19	74	38.0	13	28.1
≤ 16	62	32.0	22	46.1
<b>Número de parejas sexuales</b>				
1	138	71.2	26	55.7
≥ 2	56	28.8	21	44.3
<b>Número de embarazos a término</b>				
0-1	27	13.7	3	5.4
2-3	67	34.4	9	20.4
≥ 4	100	51.9	35	74.3
<b>Uso de anticonceptivos orales</b>				
No	164	84.3	43	91.6
Si	30	15.7	4	8.4
<b>Tabaquismo</b>				
No	169	87.2	41	88.0
Si	25	12.8	6	12.0

Figura 1.  
DISTRIBUCIÓN REGIONAL DE LA FRECUENCIA DEL VIRUS DEL PAPILOMA  
HUMANO 16 Y 18 EN MUJERES MEXICANAS CON CÁNCER INVASOR



La prevalencia de VPH-16 (Figura 2) en casos con NIC III, *in situ*, fue mayor en la región centro-sur, en relación con la norte-occidente (33.7 por ciento vs 29 por ciento, respectivamente). La prevalencia del VPH-18 en este tipo de lesiones no mostró diferencias entre regiones (13.2 por ciento para la norte-occidente y 15 por ciento para la centro-sur). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia de los VPH-16 y 18 entre regiones, debido posiblemente al bajo tamaño de la muestra.

Figura 2.  
Distribución Regional de la Frecuencia del Virus de Papiloma Humano  
16 y 18 en Mujeres Mexicanas con Neoplasia Intraepitelial Cervical III, *in situ*



## DISCUSIÓN

En términos de salud pública, uno de los más importantes descubrimientos de los últimos 20 años ha sido el reconocimiento de que el cáncer cervical es consecuencia de una infección persistente producida por el VPH. Este hallazgo se iguala en importancia con el descubrimiento de la asociación causal entre el fumar cigarrillos y el cáncer de pulmón o entre el virus de la hepatitis C y cáncer de hígado. El importante cuerpo de conocimientos alrededor del tema, que incluye desde estudios de prevalencia, de casos y controles e investigaciones sobre la historia natural del CC, han dejado claro que la infección con el VPH precede el desarrollo del CC y confirman que la transmisión sexual es la vía de adquisición del VPH.<sup>15</sup>

El riesgo de persistencia de la infección y en consecuencia de su progresión hacia lesiones premalignas y cáncer, difiere importantemente entre los diferentes tipos del VPH. El VPH 16 ha sido

considerado ya como carcinógeno humano y el único con méritos suficientes para ubicarlo de manera separada, por sus implicaciones clínicas y epidemiológicas.<sup>14, 15, 16</sup> La prevalencia de VPH 16 en cáncer invasor observada en este trabajo es consistente con lo reportado en investigaciones previas.<sup>17, 18</sup> Estas prevalencias se encuentran dentro del intervalo de variación mundial, que va desde 35.9 por ciento<sup>19, 20</sup> hasta 82.8 por ciento reportado por Sebbelov<sup>21</sup> en mujeres danesas, o lo encontrado por Bosch *et al.*<sup>22</sup> en el estudio mundial de prevalencia de VPH que la documentó, para VPH-16 en mujeres de Centro y Sudamérica, de entre 34.7 a 59.6 por ciento.

En otro estudio se reportó que la prevalencia de VPH-16 fue dos veces más alta en CC (*in situ* e invasor) que en NIC II y III, coincidiendo con lo reportado en el presente estudio.<sup>23</sup> La prevalencia de VPH-16 detectada en NIC II y III, en este trabajo, fue similar a la de diversas investigaciones realizados a través de los años,<sup>24, 25, 26</sup> aunque menor a la informada en otros reportes realizados, tanto en México (48.3 por ciento<sup>27</sup> y 79 por ciento<sup>28</sup>), como en otros países.<sup>29</sup>

La prevalencia de VPH-18 en CC en nuestro estudio coincidió con lo encontrado por Chichareon *et al.* y Ngelangel *et al.*,<sup>30, 31</sup> quienes detectaron prevalencias de 21.3 por ciento y 22.2 por ciento en cáncer cervical; sin embargo, en otros abordajes poblacionales se documentaron prevalencias menores,<sup>32</sup> como la ubicada por Montoya y colaboradores (2.7 por ciento) y Hernández y colaboradores (6.7 por ciento), en México.<sup>33, 34</sup> En NIC III, *in situ* se reportaron prevalencias de VPH-18 inferiores o similares a las referidas en el presente artículo.<sup>35, 36, 37</sup> Asimismo, se observó un aumento proporcional de la prevalencia de VPH-16 y 18, conforme aumentó la gravedad de la lesión, coincidiendo con lo reportado por otros autores<sup>38, 39</sup> y con lo reportado por Torroella *et al.* en México.<sup>40</sup>

En la región norte/occidente de México, al igual que lo reportado por estudios en otros países,<sup>41, 42</sup> los VPH-16 y 18 fueron responsables de alrededor de 80 por ciento de los casos de CC y de alrededor de 60 por ciento de los detectados en la región centro/sur; este hecho tendría importantes implicaciones tanto clínicas como epidemiológicas. Dentro de estas podríamos mencionar a la detección de tipos específicos del VPH, particularmente el 16 y 18 que podría ser de gran utilidad para la identificación y manejo de las mujeres con alto riesgo de desarrollar CC, como sería el caso de aquellas positivas a VPH-16 y 18, así como para permitir un manejo menos agresivo de quienes presenten otros tipos de VPH.<sup>43, 44</sup>

O bien pudieran interpretarse como factores predictores de la evolución de una lesión premaligna, ya que la presencia de ADN del VPH-16 en mujeres jóvenes acelera la progresión de NIC



III, *in situ* a cáncer invasor.<sup>45</sup> Además de la importancia que mantienen en la implantación de estrategias de prevención y control basadas en las vacunas contra VPH, ya que la elaboración de la vacuna que incluye a estos dos tipos de VPH, contribuye a evitar una importante proporción de los casos de CC.<sup>46, 47</sup>

La elevada prevalencia de VPH-16 y 18 en la región Norte/Occidente, en comparación con la Centro/Sur, que es la que presenta las tasas más altas de mortalidad por cáncer cervical en México (11 x 100,000 mujeres), pudiera sugerir la presencia predominante de otros tipos de VPH en esta última zona. Este hallazgo es relevante, si se considera que la prevención primaria de esta patología debe incidir no sólo en los tipos 16 y 18, sino en otros reportados como oncogénicos (31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,82).<sup>48</sup>

Una posible limitación de este estudio es que no tiene representatividad nacional, ya que aunque se trató de un estudio multicéntrico que abarcó distintas regiones de la República Mexicana, no tuvo base poblacional. Los resultados del presente estudio confirman el papel central de VPH-16 y 18 en la etiología del cáncer cervical en México, así como su posible contribución en la alta incidencia de este cáncer en nuestro país, además de destacar la utilidad de la prueba de RPC fluorescente múltiple por ser altamente específica y capaz de detectar menos de 10 copias de material genómico de ADN de VPH en cualquiera de las regiones virales, lo que garantizaría una mayor sensibilidad y especificidad de dicha prueba.

Existen aproximadamente 100 tipos de VPH; al menos 40 de ellos pueden infectar el área genital. Una persona sexualmente activa puede contraer el virus mínimo una vez en su vida. La mayoría de las infecciones pueden cursar de manera asintomática o ser autolimitadas. Sin embargo, los VPH oncogénicos (principalmente el 16 y 18) pueden causar lesiones pre-malignas o cánceres no sólo cervicales, sino de pene, vulvares, vaginales, anales y orofaríngeos. Las otras variedades de menor riesgo pueden ocasionar verrugas y papilomatosis respiratoria recurrente, que constituyen problemas de salud tanto estéticos como funcionales.<sup>49</sup>

En el país y particularmente en Zacatecas, deben fomentarse los aspectos de promoción de la salud, centrados en actividades clave: detección oportuna de lesiones cervicales sugerentes de cáncer a través de la práctica del Papanicolau en mujeres de veinticinco a 34 años y la Prueba del Papiloma Virus para mujeres de 35 a 64 años; aplicación del sexo protegido; evitar el tabaquismo; y vacunación contra el VPH en mujercitas adolescentes de quinto año de primaria y de once años de edad que no asistan a la escuela.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Fundación Mexicana para la Salud, el Instituto Nacional de Salud Pública, el Instituto Mexicano del Seguro Social y apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] BURK RD. «Human papillomavirus and the risk of cervical cancer», *Hosp Pract*, volume 34, number 12, 1999, USA, pp. 103-111.
- [2] BOSCH F X, Lorincz A, Muñoz N, *et al.* «The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer», *J Clin Pathol*, volume 55, number 4, England, 2002, pp. 244-265.
- [3] WALBOOMERS JM, Jacobs M V, Manos M N, *et al.* «Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide», *J Pathol*, volume 189, number 1, England, 1999, pp. 12-19.
- [4] BOSCH F X, Manos M N, Muñoz N, *et al.* «The IBSCC Study Group Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective», *J Natl Cancer Inst*, volume 87, England, 1995, pp. 796-802.
- [5] MUÑOZ N, BOSCH F X, DE SAN JOSÉ S, *et al.* «International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer», *N Engl J Med*, volume 348, number 6, England, 2003, pp. 518-527.
- [6] MUÑOZ N, BOSCH F X, CASTELLSAGUE X, *et al.* «Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective», *Int J Cancer*, volume 111, number 2, USA, 2004, pp. 278-85.
- [7] BOSCH F X, DE SANJOSE S. «Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer--burden and assessment of causality», *J Natl Cancer Inst*, Monogr, volume 3, England, 2003, pp. 13-13.
- [8] CLIFFORD G, Franceschi S, Diaz M, Munoz N, *et al.* «Chapter 3: HPV type-distribution in women with and without cervical neoplastic diseases in: HPV Vaccines and Screening in the prevention of Cervical Cancer», *Vaccine*, Volumen 24, Suppl 3, USA, 2006, pp. S26-34.
- [9] CHAN P, Chang A, Cheung J, *et al.* «Determinants of cervical human papillomavirus Infection: Differences between high- and- low oncogenic risk types», *J Infect Dis*, volume 185, USA, 2002, pp. 28-35.
- [10] HERRINGTON CS, Anderson SM, Bauer HM, *et al.* «Comparative analysis of human papillomavirus detection by PCR and non-isotopic in situ hybridization», *J Clin Path*, volume 48, number 5, England, 1995, pp. 415-419.
- [11] TADDEO F, DiCello A, Li W, *et al.* «Sensitive and specific multiplex PCR assays to detect and quantify human papillomavirus in clinical specimens», 19<sup>th</sup> International Papillomavirus Conference, September 1-7 2001, Florianópolis, Brazil.
- [12] KUSSER W, Nery J, Sparks K, *et al.* «Fluorogenic primers for real-time quantitative PCR», *American Biotechnology Laboratory*, volume 2: USA, 2003, pp. 148-157.
- [13] BOSCH F X, Lorincz A, Muñoz N, *et al.* *Op cit.*
- [14] INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH IN CANCER, Monographs on the evaluation of the Carcinogenic Risk to Humans, Vol. 64: Human Papillomaviruses, IARC, Lyon, France, 1995.
- [15] SCHIFFMAN M, HERRERO R, DESALLE R, *et al.* «The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution», *Virology*, volume 337, number 1, 2005, pp. 76-84.

- [16] CLIFFORD GM, SMITH JS, PLUMMER M, MUNOZ N, FRANCESCHI S, «Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis» *Br J Cancer*, volumen 88, number 1, England, 2003, pp. 63-73
- [17] TONON SA, PICCONI MA, ZINOVICH JB, *et al.* «Human papillomavirus cervical infection and associated risk factors in a region of Argentina with a high incidence of cervical carcinoma», *Infect Dis Obstet Gynecol*, volume 7, number 5, USA, 1999, pp. 237-43.
- [18] TAKAC I, MARIN J, GORISEK B, «Human papillomavirus 16 and 18 infection of the uterine cervix in women with different grades of cervical intraepithelial neoplasia (CIN)», *Int J Gynaecol Obstet*, volume 61, number 3, USA, 1998, pp. 269-273.
- [19] HWANG T, «Detection and typing of human papillomavirus DNA by PCR using consensus primers in various cervical lesions of Korean women», *J Korean Med Sci*, 14(6), Korea, 1999, pp. 593-599.
- [20] ROLON PA, SMITH JS, MUNOZ N, *et al.* «Human papillomavirus infection and invasive cervical cancer in Paraguay», *Int J Cancer*, volume 85, number 4, USA, 2000, pp. 486-491
- [21] SEBBELOV AM, DAVIDSON M, KRUGER Kjaer S, *et al.* «Comparison of human papillomavirus genotypes in archival cervical cancer specimens from Alaska natives, Greenland natives and Danish Caucasians», *Microbes Infect*, volume 2, number 2, France, 2000, pp. 121-126.
- [22] BOSCH F X, Manos M N, Muñoz N, *et al.*, *op cit.*
- [23] CLIFFORD GM, RANA RK, FRANCESCHI S, *et al.* «Human papillomavirus genotype distribution in low-grade cervical lesions: comparison by geographic region and with cervical cancer», *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, volumen 14, number 5, USA, 2005, pp. 1157-64.
- [24] HWANG T, *op cit.*
- [25] ROLON PA, SMITH JS, MUNOZ N, *et al.*
- [26] MONTOYA-FUENTES H, SUAREZ RINCON AE, RAMIREZ-MUNOZ MP, *et al.* «The detection of human papillomavirus 16, 18, 35 and 58 in cervical-uterine cancer and advanced degree of squamous intraepithelial lesions in Western Mexico: clinical-molecular correlation», *Ginecol Obstet Mex*, volumen 69, México, 2001, pp. 137-42.
- [27] HERNÁNDEZ M, LAZCANO E, BERUMEN J, *et al.* «Human papilloma virus 16-18 Infection and cervical cancer in Mexico: A case control study», *Arch Med Res*, volumen 28, número 2, México, 1997, pp. 265-271.
- [28] TORROELLA-KOURI M, MORSBERGER S, CARRILLO A, *et al.*, «HPV prevalence among Mexican women with neoplastic and normal cervixes», *Gynecol Oncol*, volume 70, number 1, Países Bajos, 1998, pp. 115-120.
- [29] ANDERSSON S, MINTS M, SALLSTROM J, WILANDER E, «The relative distribution of oncogenic types of human papillomavirus in benign, pre-malignant and malignant cervical biopsies. A study with human papillomavirus deoxyribonucleic acid sequence analysis», *Cancer Detect Prev*, volumen 29, number 1, USA, 2005, pp. 37-41.
- [30] CHICHAREON S, HERRERO R, MUNOZ N, «Risk factors for cervical cancer in Thailand: a case-control study», *J Natl Cancer Inst*, volume 90, number 1, England, 1998, pp. 50-57.
- [31] NGELANGEL C, MUNOZ N, BOSCH FX, «Causes of cervical cancer in the Philippines: a case-control study», *J Natl Cancer Inst*, volume 90, number 1, England, 1998, pp. 43-49.
- [32] LO KW, WONG YF, CHAN MK, *et al.* «Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a multicenter study in China», *Int J Cancer*, volume 100, number 3, USA, 2002, pp. 327-331.
- [33] MONTOYA-FUENTES H, SUAREZ RINCON AE, RAMIREZ-MUNOZ MP, *et al.*, *op cit.*
- [34] HERNÁNDEZ M, LAZCANO E, BERUMEN J, *et al.*, *op cit.*
- [35] MONTOYA-FUENTES H, SUAREZ RINCON AE, RAMIREZ-MUNOZ MP, *et al.*, *op cit.*
- [36] TORROELLA-KOURI M, MORSBERGER S, CARRILLO A, *et al.*, *op cit.*

- [37] CHICHAREON S, HERRERO R, MUNOZ N, *op cit.*
- [38] FERRARA A, VELEMA JP, FIGUEROA M, *et al.* «Human papillomavirus infection, cervical dysplasia and invasive cervical cancer in Honduras: A case-control study», *Int J Cancer* volume 82, number 6, USA, 1999, pp. 799-803.
- [39] KHAN MJ, CASTLE PE, LORINCZ AT, *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 Natl Cancer Inst*, volume 97, number 14, England, 2005, pp. 1072-9.
- [40] TORROELLA-KOURI M, MORSBERGER S, CARRILLO A, *et al.*, *op cit.*
- [41] CLIFFORD GM, SMITH JS, PLUMMER M, MUNOZ N, FRANCESCHI S, *op cit.*
- [42] ANDERSSON S, MINTS M, SALLSTROM J, WILANDER E, *op cit.*
- [43] RABELO-SANTOS SH, ZEFERINO L, VILLA LL, *et al.* «Human papillomavirus prevalence among women with cervical intraepithelial neoplasia III and invasive cervical cancer from Goiania, Brazil», *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Volume 98, number 2, Brazil, 2003, pp. 181-4.
- [44] KHAN MJ, CASTLE PE, LORINCZ AT, *et al.*, *op cit.*
- [45] MAEHAMA T, «Epidemiological study in Okinawa, Japan, of human papillomavirus infection of the uterine cervix», *Infect Dis Obstet Gynecol*, Volume 13, number 2, USA, 2005, pp. 77-80.
- [46] MUÑOZ N, BOSCH F X, CASTELLSAGUE X, *et al.*, *op cit.*
- [47] FRANCESCHI S, CLIFFORD G, PLUMMER M, «Prospects for primary prevention of cervical cancer in developing countries», *Salud Publica Mex*, 45 Suppl 3, México, 2003, pp. S430-6.
- [48] MUÑOZ N, BOSCH F X, DE SAN JOSÉ S, *et al.*, *op cit.*
- [49] CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, «Sexually transmitted diseases, treatment guidelines 2015», CDC, US Department of Health and Human Services, *Recommendations and Reports*, volume 64, number 3, USA, 2015, PP. 84-85.