
Detección del virus del papiloma humano utilizando una técnica basada en PCR en pacientes ecuatorianas con alteraciones citológicas.

Detection of the human papiloma virus in ecuadorian patients with cytological alterations using a technique based on PCR.

Héctor Zambrano Manrique *
Qingua Feng **
Ángel Vélez Chinga ***
Stephen Cherne ****
Donna Kenney *****
Harry Fuentes Bayne *****
Carlos Yerovi Moreno *****

RESUMEN

Tipo de estudio: prospectivo. **Objetivo:** confirmar el diagnóstico de virus de papiloma humano (VPH) en muestras de pacientes con un diagnóstico de Papanicolaou (PAP) alterado. **Metodología:** se estudiaron 37 pacientes del hospital "Teodoro Maldonado Carbo" de la ciudad de Guayaquil, del área de Ginecología, con edades que van de 21 hasta 73 años. El ADN del virus de papiloma humano fue amplificado mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando cebadores degenerados del gen MY09/11 seguida de una detección mediante hibridización con una prueba genérica para VPH. **Resultados:** de las 37 muestras, 36 tuvieron suficiente material para realizar el análisis de VPH; se obtuvieron 16 muestras positivas, lo que corresponde al 44.44%. El mayor porcentaje de casos positivos se dio en las muestras de pacientes con lesiones intraepiteliales de alto grado: 7 de las 8 pacientes (87.5% de este subgrupo). **Conclusiones:** a diferencia de lo descrito en otros trabajos publicados previamente, nosotros detectamos la presencia de VPH en menos del 50% de las muestras, las cuales en su totalidad tenían un resultado de citología anormal. Esta discrepancia se podría explicar por la poca reproducibilidad y baja precisión del diagnóstico citológico. También, es posible que existan otros tipos o variantes de HPV entre la población ecuatoriana, que difieran de los que se hayan reportado en otros países y que eventualmente no hayan sido detectados por la prueba que utilizamos. Se necesita aumentar el universo de pacientes en este tipo de población para llegar a conclusiones más precisas.

Palabras clave: Virus de Papiloma Humano. Genotipificación. Papanicolaou. Bethesda.

SUMMARY

Type of study: prospective. **Objective:** to confirm the diagnosis of the Human Papiloma Virus (HPV) in samples patients with a diagnosis of altered PAP test. **Methodology:** 37 patients of the area of Gynecology of the Hospital "Teodoro Maldonado Carbo" of Guayaquil were analyzed. Their ages range from 21 to 73 years old. The DNA of the Human Papiloma Virus was amplified through polymerase chain reaction (PCR) using degenerated primers of the gene MY09/11, followed by detection through hybridization with a generic test for HPV. **Result:** out of 37 samples, 36 of them had enough material to carry out the HPV analysis. 16 positive samples were obtained, which corresponds to 44.44%. The highest percentage of positive cases was in patients with high risk intraepithelial injuries: 7 out of 8 patients (87.5% of this subgroup). **Conclusion:** different from what has been described in previous published works, we detected the HPV in less than 50% of the samples, all of which had an abnormal cytology result. This disparity can be due to low reproducibility and low accuracy in the cytological diagnosis. It is also possible that there are others HPV variants among the Ecuadorian population that differ from the ones reported in other countries, which have not been detected by our test. It is necessary to increase the sample of patients in this category in order to get more precise conclusions.

Keywords: Human Papiloma Virus. PAP Test. Genotypification. Bethesda.

* Doctor en Medicina y Cirugía (MD), Master en Ciencias (MSc). Departamento de Dermatología, Escuela de Medicina, Universidad de Yale. Profesor de Genética Humana, Universidad Espíritu Santo, Guayaquil, Ecuador. 31

** Doctor en Filosofía (PhD), Departamento de Patología, Escuela de Medicina, Universidad de Washington, Seattle, Estados Unidos.

*** Doctor en Medicina y Cirugía (MD). Investigador, Departamento de Biología, Escuela de Medicina, Universidad Espíritu Santo, Guayaquil, Ecuador.

**** Master en Ciencias (MSc) Departamento de Patología, Escuela de Medicina, Universidad de Washington, Seattle, Estados Unidos.

***** Licenciada en Ciencias (BS) Departamento de Patología, Escuela de Medicina, Universidad de Washington, Seattle, Estados Unidos.

***** Estudiante de medicina, Universidad de Guayaquil.

***** Médico especialista en Gineco-obstetricia. Director de Posgrado de Ginecología, Escuela de Medicina, Universidad de Guayaquil; Jefe de la clínica de Patología Cervical, hospital "Dr. Teodoro Maldonado Carbo".

Introducción

El cáncer de cuello de útero es un importante problema de salud pública en los países pobres. A diferencia de lo que sucede en lugares desarrollados, la cifra de mujeres afectas en los países pobres no ha dejado de incrementarse^{1,4,9,11,14,15,18,19}. En el caso particular del Ecuador, en el centro de referencia más importante, el Instituto Oncológico Nacional, el 51% de los casos de cáncer femenino corresponde al cérvico-uterino (Registro Nacional de Tumores. Cáncer en Guayaquil, 1997-2000).

A pesar de la magnitud del problema, los esfuerzos que se han hecho para conocer la realidad social, económica y de salud pública son insuficientes. El cáncer de cérvix es considerado el de la pobreza y el estudio de todos los componentes causales de este mal es mandatorio, si se buscan soluciones.

Entre los factores de riesgo más importantes para el desarrollo del cáncer cervical está la presencia del virus del papiloma humano (VPH), su contagio es reconocido como una infección de transmisión sexual⁶. La relación entre la presencia de las llamadas cepas oncológicas y el desarrollo de la mencionada entidad neoplásica ya ha sido establecida con datos totalmente convincentes^{3,10}. No obstante, la sola presencia del VPH, es un factor importante, e indispensable para su desarrollo, pero no suficiente. Se necesita de otros factores coadyuvantes pues no todas las mujeres que se han infectado con este tipo de virus tendrán una infección que termine en cáncer⁵. Sin embargo, es necesario conocer la situación de las diversas poblaciones en cuanto a la incidencia de infección de virus del papiloma humano y sus distintos genotipos, sobre todo considerando que existe una creciente tendencia a buscar estrategias de prevención en salud pública tales como la vacunación.

En el Ecuador se han realizado esfuerzos importantes pero aislados para conocer la realidad de la población en riesgo^{12,16,17}. Las metodologías utilizadas para detectar la infección en sí misma o la presencia de los signos clínicos o citológicos relacionados con la infección por VPH varían mucho entre estos trabajos por lo que es difícil poder establecer una conclusión global respecto a la situación epidemiológica de la infección en la población ecuatoriana.

En este estudio hemos utilizado un método de detección basado en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en conjunto con un paso de hibridización con "dot blot" para determinar la prevalencia de la infección por VPH en muestras de cérvix de población con signos citológicos de infección, reclutadas en el servicio de colposcopia del hospital "Dr. Teodoro Maldonado Carbo", del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social. También, establecemos una relación entre los resultados citológicos de este grupo de pacientes y los hallazgos moleculares. Este trabajo es parte de un estudio que se está llevando a cabo para la detección de los genotipos más frecuentes del virus en la población de esta casa de salud.

Métodos Población

Todas las pacientes que fueron parte de este estudio tuvieron un diagnóstico citológico que indicaba alteración en la celularidad del cérvix. Así, quienes tenían un resultado de Papanicolaou de lesión intraepitelial escamosa (LIE) de bajo, mediano y alto grado, carcinoma in situ o cáncer en estadios más avanzados, fueron incluidas como parte del universo. Todas las pacientes firmaron una hoja de consentimiento informado y sabían que sus resultados serían analizados como parte de un estudio. Las pacientes recibieron el resultado por escrito, así como sus facultativos, para acorde con este análisis y los datos clínicos vigentes, tomar las decisiones terapéuticas del caso.

Toma de las muestras

La toma de las muestras se la realizó en el hospital "Teodoro Maldonado Carbo" de la ciudad de Guayaquil, en el departamento de colposcopia durante los meses de junio y julio de 2008.

Para el efecto de la toma de muestra se utilizaron torundas de dragón con el fin de obtener células exfoliadas del cérvix y se las colocó en un tubo que tenía 1 mililitro de medio para transportación de especímenes (specimen transportation media, Qiagen-STM-) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Las muestras fueron almacenadas en refrigeración (4 grados Celsius) hasta su traslado al laboratorio donde se realizaron los análisis.

Purificación del de ADN viral

Las muestras se sometieron en primera instancia a una digestión con proteinasa K en una concentración de 20 µg/mL a 37 °C por 2 horas. Luego se tomó 200 µL de esas muestras previamente procesadas para aislar el ADN. Se aisló el ADN utilizando el reactivo QIADNA blood mini column (Quiagen, Inc, Valencia, CA) siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente, El ADN se unió de manera preferencial a la columna de purificación. Después de realizar varios lavados, el ADN que se obtiene se lo diluyó en un buffer con bajo contenido de sales (Buffer de Elusión, EB, 10 mM Tris-Cl, a un pH de 8.5).

Amplificación del ADN

Se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa para amplificar selectivamente una porción de la región L1 del HPV de aproximadamente 450 pares de base, siguiendo el protocolo previamente descrito por el grupo de Manos et al. Se utilizaron los cebadores de consenso MY09/11/HMBO1 y los cebadores para amplificar un segmento de 268 pares de base del gen de la b-globina humana PC04/GH20. Las muestras positivas para el gen de la b-globina se consideraron adecuadas para la subsecuente detección de VPH.

Detección del ADN viral utilizando pruebas de hibridización

Luego de la amplificación se realizó el análisis por hibridización (dot blot) en cada una de las muestras. La tabla 1 muestra los oligonucleótidos para hacer la prueba que se usó para este análisis, acorde con el protocolo. Éste consiste en la pre-hibridización de los filtros a 55 °C por 30 minutos en solución SSC a una concentración 6 X [la Solución SSC 1X es una mezcla de 0,15-mol/L de cloruro de sodio, 0,015 mol/L de citrato de trisodim (PH 7.0), Dehanhart's 0,1% docecil sulfato de sodio y 100mg/L de ADN de esperma de salmón]. Las muestras se añadieron y se incubaron por 60-90 minutos. Se realizaron dos lavados de 10 minutos en 2X SSC y 0,1% de dodecyl sulfato de sodio a 56°C. Se obtuvo una señal colorimétrica para detectar la presencia/ausencia de ADN viral. Todas las determinaciones se hicieron sin que el laboratorio tenga conocimiento de un diagnóstico clínico o citológico previo.

Tabla 1
Oligonucleótidos utilizados en la prueba genérica

Nombre	Secuencia*	Target	Utilidad
MY09	CGTCCMARRG GAWACTGATC	HPV L1	primer de concenso para PCR (-)12
MY11	GCMCAGGGWC ATAAYAATGG	HPV L1	primer de concenso para PCR (+)12
MY101	CGCAACCACA CAGTCTATGT	W13A	Prueba clínica para el HPV
MY102	TTCTACCTTAC TGGAAAGACTGG	W13A	Prueba clínica para el HPV
MY103	GGAGGTCAA TTTGCAAAAC	W13A	Prueba clínica para el HPV
MY83	ATTAATGCAGCT AAAAGCACATT	PAP88	Prueba clínica para el HPV
MY84	GATGCCGTGA AATCAATCAA	PAP88	Prueba clínica para el HPV
MY86	TACTTGCAGT CTCGGCGCCA	PAP155	Prueba clínica para el HPV
MY93	GCACTGAAGTA ACTAAGGAAGG	PAP251	Prueba clínica para el HPV
MY94	AGCACCCCTA AAGAAAAGGA	PAP251	Prueba clínica para el HPV
MY74	CATTTGTTGG GGTAACCAAC	Type 16	Primers internos para PCR (+) fpara prueba genérica (-)
MY75	TAGGTCTGCAG AAAACCTTTC	Type 16	Primers internos para PCR (+) fpara prueba genérica (-)
MY76	TGTTGCTGGC ATAATCAAT	Type 18	Primers internos para PCR (+) fpara prueba genérica (-)
MY77	TAAGTCTAAA GAAAACCTTTC	Type 18	Primers internos para PCR (+) fpara prueba genérica (-)
MY47	CATATGCTGG GGTAATCAGG	PAP88	Primers internos para PCR (+) fpara prueba genérica (-)
MY48	CAGGTCTGCA GAAAAGCTGT	PAP88	Primers internos para PCR (+) fpara prueba genérica (-)
MY49	TATTTGTTGG GGCAATCAG	PAP238 B	Primers internos para PCR (+) fpara prueba genérica (-)
MY50	CTAAATCTGC AGAAAACCTTTT	PAP238 B	Primers internos para PCR (+) fpara prueba genérica (-)
GH20	GAAGAGCCAA GGACAGGTAC	b-globina	primer PCR (+)
PC04	CAACTTCATC CACGTTACC	b-globina	primer PCR (-)
PC03	ACACAACCTGT GTTCACTAGC	b-globina	Prueba interna

* Variante del código genético por degeneración, indica: M= A+C, R= A+G, W=A+T, and Y=C+T (+) simboliza el primer para la cadena positiva de DNA, (-), primer para la cadena negativa de DNA ; HPV, virus del papiloma humano; y PCR, reacción en cadena de la polimerasa.

Fuente: revista Jama, enero 1991, vol. 265 No. 4 Pág. 474.

Resultados

Característica del universo estudiado

La edad promedio del universo de 37 pacientes fue de 44 años, en un rango de entre 21 y 58 años de edad.

Clasificación de muestras cervicales por citología

Se obtuvieron muestras de 37 pacientes que tuvieron un análisis citológico con criterios de alteración relacionada con VPH. De éstas, una muestra fue descartada por tener insuficiente material para estudiar.

Los resultados del examen citológico fueron reordenados siguiendo lo recomendado para aplicar la clasificación de Bethesda⁷, tabla 2. De acuerdo a este criterio, los papanicolaou con células atípicas de significado indeterminado fueron 7, los LIE de bajo grado 21 y los LIE de alto grado fueron 8.

Tabla 2

Clasificación de Bethesda			
	Pacientes	HPV (+)	% HPV +
Total	36	16	44
ASCUS	7	3	43
LIE BG	21	8	38
LIE AG	8	6	75

Fuente: Lacruz C. Nomenclatura de las lesiones cervicales (de Papanicolaou a Bethesda 2001). Revista Española de Patología, vol. 36 n 1: 5-10, 2003.

Prevalencia de infección de HPV en el grupo de pacientes

Todas las muestras procesadas tuvieron una cantidad de ADN que permitía un estudio adecuado de la presencia/ausencia de VPH. De las 36 muestras que se obtuvieron, 16 dieron positivas para HPV (44.4%). Desglosando estos resultados vemos que 3 de las 7 pacientes con ASC US son positivas para HPV (42.9%); de las 21 muestras con diagnóstico de LIE de bajo grado, 6 fueron positivas para HPV de acuerdo a la prueba genérica (28.57 %), mientras que en el grupo de pacientes con LIE de alto grado o cáncer 7 casos de los 8 (87.5%). Los pacientes que dieron positivo fueron posteriormente analizados para establecer el genotipo específico (esta información no se presenta aquí). El grupo de edad más frecuente donde se evidenció la presencia de VPH es entre 51 y 60 años (tabla 3).

Tabla 3

Casos de VPH diagnosticados por edades			
Edad en años	Pacientes	VPH	%
21-30	3	3	8,33%
31-40	10	4	11,11%
41-50	15	3	8,33%
51-60	7	5	13,89%
Mas de 61	1	1	2,78%
Total	36	16	44,44%

Fuente: autores.

Discusión

En el presente trabajo determinamos la prevalencia de infección por VPH en un grupo de pacientes de uno de los centros de referencia más importantes de la ciudad de Guayaquil, el servicio de colposcopia del hospital "Dr. Teodoro Maldonado Carbo". Para determinar este dato se utilizó una prueba cuya sensibilidad ha sido demostrada para detectar un amplio espectro de tipos de HPV².

Aunque se han realizado estudios con técnicas tanto citológicas como moleculares en poblaciones ecuatorianas, en un número distinto de pacientes, los resultados de prevalencia que obtuvimos en nuestro trabajo es muy difícil de comparar con dichos estudios debido a la variación respecto al tipo de población y a los métodos de análisis, tabla 4. Por ejemplo, los dos trabajos que se encontraron disponibles en la literatura internacional utilizando el motor de búsqueda de pubmed, datan de 1991. El primero, de autoría de Paz y Miño y colaboradores, utiliza criterios de genotipificación a nivel molecular como inclusión para estudiar la fragilidad cromosómica en las pacientes portadoras y compararlas con un grupo control¹³. El segundo artículo de ese mismo año, de autoría de Páez y colaboradores busca comparar la prevalencia entre dos grupos étnicos diferentes, el de Ecuador y Japón utilizando técnicas moleculares¹².

Tabla 4

Trabajos realizados en Sudamérica sobre detección de VPH usando métodos moleculares en pacientes con alteraciones citológicas			
	Total	VPH+	Total
Páez (Ecu, 1991)	100	48	48%
Ruiz (Ecu, 2005)	16	16	100%
Álvarez (Ven, 2000)	41	38	79%
Zambrano (Ecu, 2008)	36	16	44%
Vilela (Perú)	60	52	87%

Fuente: autores.

En ese reporte se encuentra una prevalencia mayor entre las pacientes que tienen H-SIL (80% de los casos) y cifras decrecientes en las mujeres ecuatorianas con lesiones más leves. Datos hasta cierto punto concordantes con los que arrojó esta investigación, aunque la metodología molecular utilizada se enfoca en la detección de dos genotipos, por lo que los resultados no son del todo equiparables.

En años más recientes el grupo de Ruiz y colaboradores publicó en revistas locales dos trabajos; el primero con un universo de 16 pacientes y el segundo de 80 pacientes^{16,17}. En el primer estudio se trabajó con una población semejante a la del presente trabajo, es decir pacientes con diagnóstico citológico sospechoso de infección por HPV. La metodología implicaba PCR en tiempo real y genotipificación por dotblot reverso y arrojó un resultado de prevalencia de HPV en un 100% de las muestras. Esta técnica bastante sofisticada no es por ello más sensible que la prueba genérica de VPH, y los resultados serían comparables. La discordancia en la prevalencia puede deberse a la diferencia con el tamaño de las muestras, un mejor diagnóstico citológico que haga mayor la correlación entre ambas variables, o la presencia de falsos positivos.

En el siguiente estudio por el mismo grupo de Ruiz y colaboradores, fue de 80 pacientes, esta vez con un diagnóstico de cervicitis crónica¹⁷. De las 80 muestras procesadas y posteriormente analizadas con el kit comercial innolipa, el 100% fueron positivas para HPV. Estos resultados tampoco son comparables con los de nuestro trabajo, pues el criterio de diagnóstico es la presencia de cervicitis crónica, diferente a nuestro criterio de inclusión.

En América Latina se han desarrollado trabajos semejantes al nuestro que vale la pena analizar. En un estudio realizado en Venezuela por Álvarez y colaboradores arrojó como resultado la presencia de VPH en 38 de 41 pacientes con alteraciones citológicas dando un 79.1%¹². En Trujillo-Perú el Dr. Carlos Vilela en un estudio con 60 mujeres con alteraciones de papanicolaou, obtuvo resultados positivos para VPH en 52 pacientes²⁰.

En nuestra población esperábamos una prevalencia mayor de infección de HPV, puesto que las pacientes tenían un diagnóstico previo de atipia o de LIE de bajo grado o mayor. No obstante, desde hace varios años diversos investigadores han encontrado que las tasas de infección entre las mujeres con atipia cervical serían más o menos cercanas a las de mujeres que tienen un PAP normal^{7,8}. Esta discrepancia podría deberse a una diferente interpretación de los preparados citológicos, que siguen siendo un test subjetivo.

El método basado en PCR con el que estudiamos estas muestras nos permite una alta tasa de sensibilidad, especificidad y amplio espectro de detección². Este trabajo y otros estudios posteriores en diversos tipos de población de Guayaquil y del Ecuador ayudarán a entender mejor la real situación de la infección por HPV en nuestro medio. De manera adicional nos podrá indicar la factibilidad de contar o no con este tipo de análisis molecular para la población que lo necesita.

Financiamiento

Este trabajo fue financiado en su totalidad por el Consejo Interuniversitario Flamenco (VLIR por sus siglas en holandés), Órgano del Gobierno del Reino de Bélgica y es parte del proyecto VLIR-1058 (2007).

Referencias bibliográficas

1. Álvarez M: "Detección y tipificación del Virus de Papiloma Humano (VPH) en un grupo de pacientes con sospecha clínica y anatomo-patológica de infección por VPH". Dirección: <http://servicio.cid.uc.edu.ve/fcs/vol4n2/4detec.pdf>, 2000.
2. Bauer HM, Ting Y, Greer CE, Chambers JC, Tashiro CJ, Chimera J, Reingold A, Mannos MM. "Genital human papillomavirus infection in female university students determined by a PCR-based method". JAMA vol. 265 n 4: 472-477, Enero 1991.
3. Burd E: Human papillomavirus and cervical cancer, Clin Microbiol Rev. vol. 16 n 1: 1-17, junio 2003.
4. García J, Vilaplana E: "ASCUS en citología cervicovaginal de rastreo y captura híbrida II ¿una quimera en nuestro medio?". Revista Española de Patología. Dirección: <http://patologia.es/volumen36/vol36-num1/36-n08.htm>, 2003.
5. Ho G, Bierman R, Beardsley L, Chang C, Burk R: Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women, New England Journal of Medicine, vol.338 n 7: 423-428, febrero 1998.

6. Koutsky L, Galloway D, Holmes K: "Epidemiology of genital human papillomavirus infection" Dirección: [http://www.ncbi.nlm.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Search&Term="](http://www.ncbi.nlm.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Search&Term=)Holmes, 1988.
7. Lacruz C. Nomenclatura de las lesiones cervicales (de Papanicolaou a Bethesda 2001) Revista Española de Patología, vol. 36 n 1: 5-10, 2003.
8. Lorinz At, Reid R. "Human papilloma virus infection of cervix: relative risk association of 15 comon anogenital types. Obstetrics and Gynecology, vol. 70: 328-337, 1990.
9. Melo, A: Estudio comparativo de detección del virus de Papiloma Humano (VPH) en muestras citológicas y biopsias de cuello uterino, Revista Medica de Chile, Santiago-Chile, vol. 133, n 6: 639-644, 2005.
10. Muñoz N, Bosch F, De San Jose S, Herrero S, Castellagué X: Internacional agency for research on cancer multicenter cervical cancer study group, New England Journal of Medicine, vol. 348 n 6: 518-527, febrero 2003.
11. Naucler P, Ryd W: Virus del papiloma humano y pruebas de Papanicolaou para detectar cáncer de cuello uterino, New England Journal, vol. 357 n 16: 1589-1597, octubre 2007.
12. Páez C, Konno R: Prevalence of HPV DNA in cervical Lesions in Patients from Ecuador and Japan, exp. Med., vol. 180: 261-272, 1996.
13. Paz y Miño C, Ocampo L, Narváez R, Narváez L: Chromosome Fragility in Lymphocytes of Women with Cervical Uterine Lesions Prodyced by Human Papillomavirus, Cancer Genet Cytogenet, vol. 59 n 2: 173-176, Abril 1992.
14. Reeves W, Brinton L, Garcia M; Human papillomavirus infection and cervical cancer in Latin America, New England Journal of Medicine, vol. 320 n 22: 1437-1441, Junio 1989.
15. Rivera R, Aguilera J: Epidemiología del virus de papiloma humano (HPV), Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología, Santiago-Chile, vol.67 n6: 501-506, 2002.
16. Ruiz-Cabezas JC, García LK, Burgos RI, Valle JR, Egas DE, Valle EP.; Human Papillomavirus genotyping in the outpatient Gynecology Clinic of the National Oncology Institute NOI-SOLCA of Ecuador, Revista Medicina.; 11 (2): 114-117, 2005.
17. Ruiz J, Burgos R, García L, Sinche S. Almeida F; Detección y Genotipificación del Papiloma Virus Humano. Revista Científica Colposcopia. Vol. 1, n 1: 6-8 2008.
18. Sankaranarayanan R, Budukh A, Rajumar R: Bull World Health Organ, Epub, Vol.79 n 10: 954-962, noviembre 2001.
19. Valderrama M, Campos F, Cárcamo C: Factores asociados a lesiones cervicales o presencia del virus del papiloma humano en dos poblaciones de estudiantes de Lima, Expedientes de salud Pública Perú, vol. 24 n 3: 234-239, 2007.
20. Vilela C, Rodríguez L, Castro A: "Detección del virus del papiloma humano mediante reacción en cadena de la polimerasa y su relación con los resultados del PAP convencional" Dirección: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1817-83912006000200005&Ing=es&nrm=is, 2006.

Dr. Ángel Vélez Chinga

Teléfono: 593-04-2898973; 098911511

Correo electrónico: angelvelezch@hotmail.com

Fecha de presentación: 20 de noviembre de 2009

Fecha de publicación: 15 de diciembre de 2009

Traducido por: Estudiantes de la Carrera de Lengua Inglesa, Mención traducción, Facultad de Artes y Humanidades. Responsable: Srta. Jamilet Loayza Romero.



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL