

# Detección y tipificación de virus del papiloma humano (VPH) mediante PCR- RFLP

Mg Scs. Militza Quintero Vega, Jhon Fredy Cruz Gómez, Marco Bastidas, Lic. Lusmary Márquez, Dr. Juan Puig Pons

Laboratorio de Biología y Medicina Experimental (LABIOMEX), Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Universidad de Los Andes. Mérida, Estado Mérida, Venezuela.

## RESUMEN

**Objetivo:** Estandarizar una técnica de PCR-RFLP para la detección y tipificación de VPH en mujeres con diagnóstico clínico previo de infección por VPH.

**Método:** Estudio descriptivo de corte transversal donde se procesaron 189 muestras del área genital de mujeres que acudieron para extracción de ADN, diagnóstico y tipificación por técnicas moleculares: PCR-RFLP.

**Ambiente:** Facultad de Ciencias, Laboratorio de Biología y Medicina Experimental LABIOMEX, Universidad de Los Andes. Mérida, Estado Mérida, Venezuela.

**Resultados:** La PCR-RFLP permitió detectar el virus y su identificación. El 16,8 % de las muestras presentó VPH de alto riesgo tipos 16, 31, 33, 35, 56, 59 y 68; el 6,8 % presentó VPH de riesgo intermedio tipos 51, 53, 58, 61 y 83; y el 18 % los tipos de bajo riesgo 6, 32, 53, 54, y 81.

**Conclusiones:** La técnica PCR-RFLP estandarizada fue adecuada para el diagnóstico y la tipificación de VPH en muestras del área genital. El 51,9 % del total de las muestras resultaron positivas para VPH, siendo VPH 16 el subtipo de alto riesgo más común (20,0 %), y VPH 6 el de bajo riesgo más frecuente (23,8 %).

**Palabras clave:** Virus del papiloma humano. Infección cervical. PCR-RFLP. Cáncer cervical

## SUMMARY

**Objective:** To standardize a PCR-RFLP technique for detection and typification of HPV in women with clinical diagnostic of HPV infection.

**Method:** Descriptive and transversal study with the assessment of 189 samples of the genital area of women that required DNA extraction, diagnostic and typification for PCR-RFLP molecular technique.

**Setting:** Facultad de Ciencias, Laboratorio de Biología y Medicina Experimental LABIOMEX, Universidad de Los Andes. Merida, Estado Merida, Venezuela.

**Results:** The PCR-RFLP was able to detect and identify the virus. The 16.8 % of the samples presented HPV of high types 16, 31, 33, 35, 56, 59 and 68; the 6.8 % presented HPV of intermediate risk types 51, 53, 58, 61 and 83; and 18 % the low risk types 6, 32, 53, 54, and 81.

**Conclusions:** The standardized PCR-RFLP technique was appropriate for the diagnostic and typification of HPV in samples from the genital area. The 51.9 % of samples were positive to HPV, been the more common (20 %) the HPV high risk subtype 16, and the low risk HPV 6 the more frequent (23.8%).

**Key words:** Human Papillomavirus. Cervical infection. PCR-RFLP. Cervical cancer

## INTRODUCCIÓN

El virus del papiloma humano (VPH) es el único virus asociado directamente con el desarrollo de cáncer en el tracto anogenital, señalándosele como el agente etiológico del mismo (1). El VPH es de tamaño pequeño, pertenece a la familia *Papovaviridae* la cual también incluye los poliomavirus y el virus vacuolante del simio. Posee una molécula de ADN a doble banda circular y cerrada de 7,9 kb y  $5,2 \times 10^6$

Da (2). El VPH infecta las mucosas y las superficies cutáneas, y provoca la aparición de verrugas o tumores epiteliales. Hasta el momento se han logrado identificar más de doscientos tipos virales clasificados según la homología de sus genomas, y de acuerdo al riesgo de transformación maligna de la siguiente forma: bajo riesgo: 6, 11, 32, 42, 43, 44, 54 y 81; riesgo intermedio: 50, 51, 52, 53, 58 y 83, y alto riesgo: 16,

18, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 56, 59, 66, 68 y 70 (1-4). Estos tipos virales son los más comunes en lesiones cervicales y han sido utilizados como sondas para el diagnóstico molecular.

En la actualidad no existe un ensayo serológico confiable que permita diagnosticar la infección por VPH y el desarrollo de este ensayo tiene que enfrentar graves obstáculos. En primer lugar, el poco conocimiento que se tiene sobre los mecanismos de respuesta inmune del huésped a la infección y la evasión de esta respuesta por parte del virus. En segundo lugar, el hecho de no poder disponer de una proteína viral suficientemente antigénica en cantidades abundantes para desarrollar el ensayo; y por último la incapacidad de poder cultivar el virus *in vitro*, debido a que éste sólo prolifera en células diferenciadas permisivas y éstas no pueden mantenerse en cultivo (5). Puesto que el VPH se considera el agente etiológico del cáncer cervical, y se ha establecido como el principal factor de riesgo en el desarrollo de esta enfermedad, surge la necesidad de disponer de ensayos que permitan el diagnóstico temprano de la infección por VPH (6).

Las técnicas moleculares son sumamente sensibles y específicas, sin embargo, en los programas de despistaje, estas técnicas no se aplican debido a los altos costos de las mismas y a la carencia de un tratamiento eficaz para eliminar la infección o incluso prevenirla; la única opción es la vigilancia intensificada para la portadora de VPH de alto riesgo (6).

Un ensayo clínico tradicional para el diagnóstico de la infección por VPH es la técnica de tinción Papanicolaou (PAP). Para los programas de despistaje y tamizaje, esta técnica es una herramienta muy útil, por su bajo costo, fácil realización y amplia difusión, no obstante tiene poca reproducibilidad y una sensibilidad y especificidad variable dependiente de la experiencia del personal que la realiza. Como consecuencia, se estima que aproximadamente el 50 % de las infecciones VPH positivas pasan desapercibidas por PAP (6).

En la actualidad, dos ensayos moleculares son utilizados para el diagnóstico y la tipificación de VPH: el test de captura de híbridos (*Hybrid Capture, Digene Diagnostics*, INC. Silver Spring, Maryland, EE.UU) aprobado por la FDA (*Food and Drug Administration*), y la reacción en cadena de polimerasa (PCR). Esta última se ha desarrollado utilizando varios oligos iniciadores consenso con sensibilidades variables, y debe acompañarse de otra técnica de análisis que permita la tipificación del virus, como por ejemplo,

la hibridación con sondas tipo-específicas, análisis de secuencia o análisis de restricción (8). La PCR es una técnica molecular poderosa, muy específica y sensible, capaz de detectar entre 10 y 200 copias de genoma viral por muestra, aunque es muy laboriosa y relativamente costosa, comparada con la tinción PAP. La técnica PCR-RFLP fue desarrollada para el diagnóstico y la tipificación de más de treinta tipos de VPH en muestras tomadas del área genital.

El objetivo de este trabajo fue su estandarización a las condiciones de nuestro laboratorio y su utilización para el diagnóstico y la tipificación de VPH en muestras de pacientes de nuestra comunidad con antecedentes clínicos y patológicos de infección por VPH.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo preliminar de corte transversal donde se analizaron 189 muestras del área genital de mujeres con edades comprendidas entre 16 y 51 años, que iniciaron su actividad sexual, y fueron atendidas en consulta pública o privada por médicos especialistas, y presentaban diagnóstico clínico previo de infección por VPH por citología, colposcopia o biopsia. Se les informó de la posibilidad de demostrar la presencia del virus e identificar el tipo viral causante de la infección, se les invitó a participar en el estudio y se obtuvo el consentimiento informado.

### Procesamiento de las muestras

Las muestras obtenidas como hisopados, raspados y biopsias se procesaron para extraer el ADN mediante el método clásico de precipitación con fenol-cloroformo (9) con algunas modificaciones. Brevemente, a los hisopados/cepillados, se les añadió solución salina al 0,8 % y se incubó por 2 horas a 37° C y luego se retiró el hisopo o cepillo cervical. Después de centrifugar a alta velocidad, al paquete celular se le añadió 400  $\mu$ L de tampón de extracción (Tris-HCl 0,2 M pH 8; EDTA 0,025 M; NaCl 0,1 M; y SDS 0,2 %), proteinasa K 0,2 mg (20 mg/mL) y 20  $\mu$ L de SDS 10 %. Se incubó toda la noche a 55° C. Posteriormente se añadió 100  $\mu$ L de Chelex-100 al 5 % y se calentó por 10 minutos a 95° C (10). A continuación se añadió un volumen de fenol-cloroformo-isoamilalcohol (24:23:1) y se agitó en vórtex, a la fase acuosa separada se le añadieron dos volúmenes de etanol absoluto y 0,2 volúmenes de acetato de amonio 10 M. Se dejó precipitar el ADN por 48 horas a -20° C, y se procedió a centrifugar para bajar el precipitado. El ADN se resuspendió en 50  $\mu$ L de tampón TE 10 mM pH 8. Las muestras de

## DETECCIÓN Y TIPIFICACIÓN DE VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

ADN fueron sometidas a una PCR que amplifica un fragmento del gen de la beta-globina, para determinar la calidad del ADN (11,17). Para la PCR de detección de VPH, se utilizó el protocolo propuesto por Manos y col. (12) con algunas modificaciones. Se utilizaron 3 a 5  $\mu\text{L}$  de la preparación de ADN. La mezcla de reacción consistió de tampón de PCR 1X, 5,5 mM de  $\text{MgCl}_2$ , 200  $\mu\text{M}$  de dNTP's, 50 picomoles de cada uno de los iniciadores MY09/MY11 y 2,5 U de Taq Polimerasa (Invitrogen). La reacción se sometió a amplificación utilizando un termociclador PTC-100 MJ Researchs con el siguiente programa: 1 min a 94° C, 30 s a 55° C y 1 min a 72° C. Los amplificados fueron sometidos a análisis de restricción con las enzimas endonucleasas DdeI, RsaI, PstI, y HindfI. La mezcla consistió de: 10  $\mu\text{L}$  del amplificado, 2 unidades de enzima, tampón de reacción 1X y agua estéril para un volumen final de 20  $\mu\text{L}$ . La mezcla se incubó por 1 hora a 37° C y se inactivó la enzima por calentamiento a 65° C por un minuto. Para visualizar el patrón de bandas digeridas, 5  $\mu\text{L}$  del digerido se sometió a electroforesis en gel de agarosa 2,5 % en tampón TBE 1X. El patrón fue comparado contra patrones de digestión conocidos para su identificación (13). El análisis cito-histopatológico fue realizado en diferentes laboratorios y los resultados del mismo fueron suministrados por el médico especialista mediante una minihistoria que se le completó a cada paciente.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico SPSS, v. 11.0 Windows para crear una base de datos que permitiera la elaboración de tablas de frecuencias y porcentajes de subtipos de VPH, grupos etarios y cálculo de Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ).

### RESULTADOS

Se analizaron 189 muestras obtenidas del área genital de pacientes femeninas, con una edad promedio de 27 años. El examen citológico dio los siguientes resultados: 12,7 % de los casos con citología normal (componente celular normal), y 87,4 % con algún tipo de alteración citológica (cambios sugestivos de infección por VPH o epitelio anormal, lesión intraepitelial de bajo grado LIEBG, y lesión intraepitelial de alto grado LIEAG), siendo LIEBG la alteración más común (Cuadro 1).

Todos los ADN purificados, permitieron la amplificación de un fragmento del gen de la beta-globina, y se demostró que eran aptos para la PCR (11). Estos ADN fueron sometidos a PCR-RFLP para determinar la presencia de VPH e identificar el subtipo

viral (13); los más comunes fueron los siguientes: 6, 16, 31, 53, 59, 61 y 68. El subtipo VPH 18 no se encontró en ninguna de las muestras examinadas. El 51,9 % del total de las muestras resultaron positivas para VPH por PCR-RFLP, siendo VPH 16 el subtipo de alto riesgo más común (20,0 %), y VPH 6 el de bajo riesgo más frecuente (23,8 %).

Cuadro 1  
Resultado por citología

Diagnóstico	N	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Normal	24	12,7	12,7
LIE BG	95	50,3	63,0
LIE AG	23	12,2	75,1
Epitelio anormal*	47	24,9	100,0
<b>Total</b>	<b>189</b>	<b>100,0</b>	

\*Cambios sugestivos de infección por VPH reportados como "Epitelio anormal".

En los casos reportados con citología normal el 45,8 % resultó positivo por PCR, de estos 12,5 % presentó infección por un subtipo de alto riesgo. Los casos con cambios sugestivos de infección por VPH, en los cuales se diagnosticó presencia de ADN viral por PCR constituyen el 42,5 %, de los cuales el 25,5% presentó infección con subtipo de bajo riesgo y 6,4% de alto riesgo. En los casos con LIEBG, 53,1% resultaron positivos por PCR, de los cuales sólo el 18,1 % presentan subtipo de alto riesgo. En los casos de LIEAG el 69,5 % resultaron positivos por PCR, con 43,5 % de los casos presentando infección por un subtipo de alto riesgo, se observa que un 30,4% de estos casos fueron negativos por PCR (Cuadro 2). La sensibilidad de la citología para determinar la infección por VPH comparada con el diagnóstico por PCR como prueba de oro, fue de 68 % y su especificidad fue de 43,9 % con un valor predictivo positivo de 57 %.

Las muestras para análisis por PCR-RFLP fueron recolectadas por hisopado, cepillado o raspado del canal endocervical y de la exocerviz, de la vagina o de la región vulvar, dependiendo del lugar donde el

Cuadro 2  
Resultado de citología y tipo de VPH por PCR

Resultado Citología		Riesgo del VPH									
		Alto riesgo		Riesgo Intermedio		Bajo riesgo		No determinado		Negativo	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Resultado Citología	Normal	3	12,5	3	12,5	3	12,5	2	8,3	13	54,2
	Epitelio anormal	3	6,4	1	2,1	12	25,5	4	8,5	27	57,4
	LIE BG	17	18,1	7	7,4	16	17,0	10	10,6	44	46,8
	LIE AG	10	43,5	1	4,3	5	21,7			7	30,4

médico especialista pudiera apreciar una lesión clínica o subclínica. Se observó una relación de dependencia ligeramente significativa entre el tipo de muestra tomada y el diagnóstico por PCR (Chi-cuadrado = 21,71 y  $P < 0,05$ ).

En el Cuadro 3 se presenta la distribución de las pacientes por grupos de edad de acuerdo con el diagnóstico citológico y por PCR; la edad mínima observada fue de 16 y la máxima de 51 años.

El grupo 2 (20 a 26 años) presenta el porcentaje mayor de casos positivos para ambos tipos de

diagnóstico (47,5 % y 50,0 % respectivamente), no obstante, no se observó una relación estadísticamente significativa entre la edad y la infección por VPH (Chi-cuadrado = 22,321 y  $P > 0,05$ ).

En la Figura 1, puede apreciarse de forma gráfica la sensibilidad de la citología frente a la prueba por PCR-RFLP, destacándose que la mitad de los casos con citología normal resultaron positivos para infección por VPH de cualquier tipo mediante la prueba molecular.

Cuadro 3  
Grupo de edad y diagnóstico de VPH

Grupo por edades	VPH según citología				VPH según PCR			
	Positivo		Negativo		Positivo		Negativo	
	N	%	N	%	N	%	N	%
1 menos de 19	17	14,4	5	7,0	15	15,3	7	7,7
2 20 a 26	56	47,5	33	46,5	49	50,0	40	44,0
3 27 a 35	19	16,1	21	29,6	15	15,3	25	27,5
4 36 a 40	10	8,5	4	,6	7	7,1	7	7,7
5 41 a 50	15	12,7	8	11,3	12	12,2	11	12,1
6 > 51	1	,8					1	1,1

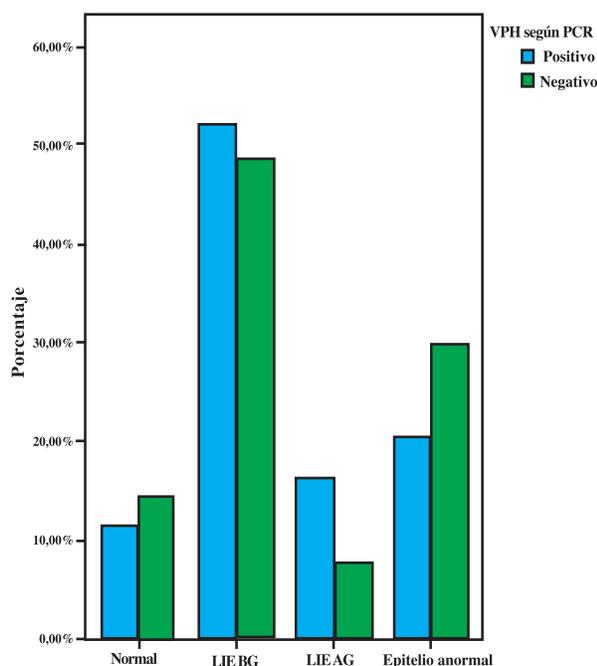


Figura 1. Sensibilidad de la citología (PAP) frente a la prueba molecular PCR

## DISCUSIÓN

El método primario para la detección de VPH es la citología Pap, y desde su inclusión, esta metodología ha ayudado a reducir la incidencia del cáncer cervical en las naciones desarrolladas (14). A pesar de esto, la citología Pap tiene sus limitaciones; algunos estudios tipo meta-análisis indican que tiene una sensibilidad promedio del 51 % y una especificidad del 98 %, frente a la colposcopia o el análisis histológico de biopsias; es entonces, su alta tasa de falsos negativos su limitación más importante (15). Según Franco y col. (16) un tercio de los diagnósticos falsos-negativos se pueden atribuir a errores en la interpretación de la lámina y los otros dos tercios a la calidad de la preparación de la misma.

Las técnicas moleculares más utilizadas para la detección de VPH son el test de captura de híbridos y la PCR. La PCR se ha utilizado en el campo del diagnóstico desde sus inicios. Esta técnica es capaz de detectar el ADN diana mediante la utilización de oligonucleótidos iniciadores que complementan de forma específica con las regiones flanqueantes del ADN a amplificar (17). Mediante ciclos sucesivos de desnaturalización, anclaje y extensión, el ADN es amplificado muchas veces hasta obtener una señal

fácilmente visible en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio. Puesto que el anclaje de los oligos es específica, la señal se obtiene si el ADN diana está presente en la muestra.

Las técnicas moleculares poseen típicamente una alta sensibilidad y especificidad (7,8). En este trabajo, la sensibilidad de la citología frente a la prueba molecular PCR fue de 68 % y su especificidad de 43,9 %, se observa que estos valores son diferentes a los obtenidos cuando la citología se compara con el análisis histopatológico, la especificidad es baja, sin embargo, su sensibilidad se ve incrementada en comparación con la obtenida frente al análisis histopatológico; esto se explica cuando queda establecido que la PCR es una prueba para detectar presencia de VPH, mientras que el análisis histopatológico busca determinar la presencia de lesiones más allá de si éstas se encuentran asociadas o no al VPH.

La alteración citológica más común en las muestras analizadas fue LIEBG, un alto porcentaje de este tipo de lesiones tiende a desaparecer de forma espontánea y esta regresión está relacionada con la capacidad de respuesta del sistema inmune y la carga viral. Es importante entonces determinar si en este tipo de lesiones hay infección viral productiva y si ésta es ocasionada por virus de alto riesgo oncogénico, pues estas lesiones tendrían una alta probabilidad de progresar a un estadio neoplásico mayor (18). Del total de muestras con LIEBG sólo el 18,1 % presentaron infección con virus de alto riesgo, de los cuales el VPH 16 fue uno de los más frecuentes.

Según los resultados, se observa que a medida que aumenta el grado de la lesión o de la alteración citológica observada, el porcentaje de VPH positivas por PCR también aumenta, así como el porcentaje de positivas para VPH de alto riesgo. La sensibilidad de la citología frente a la PCR como prueba de oro se encuentra dentro del rango de variabilidad bastante amplio reportado en la literatura (10 % a 70 %), pero es diferente de la obtenida en otro estudio realizado en nuestra comunidad donde se analizaron 101 muestras utilizando el ensayo de captura de híbridos (Digene Diagnostics, INC. Silver Spring, Maryland, EE.UU) como prueba molecular; este ensayo tiene entre sus ventajas la sencillez de su ejecución, pero no puede reconocer todos los tipos de VPH y tampoco puede determinar cuál es el tipo viral infectante. En este estudio, el 84,2 % de los casos presentó algún tipo de alteración en células cervicales, y sólo el 9,9 % de las muestras resultaron positivas para presencia de ADN viral (19). Según estos resultados, la PCR tendría una mayor sensibilidad comparada con la

captura de híbridos y aun cuando su realización y ejecución requiera de un personal especializado y un tiempo de procesamiento más largo, es capaz de identificar el tipo viral infectante, distinguiendo entre más de 30 subtipos diferentes.

La infección productiva genera numerosas partículas virales fácilmente detectables por la PCR, generalmente ocurre en lesiones de bajo grado, mientras que en estado de latencia el virus no se replica activamente permaneciendo en las células infectadas en una copia en estado episomal o integrada a un cromosoma del genoma celular, en ambos casos no hay replicación del genoma viral, esto puede ocurrir en lesiones de alto grado. El estado de latencia afecta la sensibilidad de la PCR, sobre todo si la muestra fue tomada de una zona donde las células portadoras son escasas o están ausentes. Esto puede explicar el alto porcentaje (30 %) de muestras con LIEAG que resultaron negativas por PCR. No obstante, de los 23 casos de LIEAG detectados, el 70 % resultó positivo para VPH de cualquier riesgo, este resultado puede compararse con los obtenidos por Suárez y col. (20) en un estudio realizado con 53 pacientes diagnosticadas con cáncer de cuello uterino en una comunidad venezolana, donde solamente el 52,83 % de las muestras resultó positiva para la presencia de VPH detectada mediante PCR.

Los subtipos virales más comunes son 6, 11, 16 y 18. En este estudio se detectó la presencia de los subtipos 6 y 16 con mayor frecuencia, los cuales han sido incluidos en el diseño de una nueva vacuna tetravalente contra VPH (Gardasil®, Glaxo) (21). En las muestras analizadas también se detectó la presencia de los subtipos 31, 53, 59, 61 y 68, los cuales se consideran de alto riesgo por su relación con el desarrollo de lesiones intraepiteliales de alto grado, y contra los cuales ninguna vacuna profiláctica brinda protección. Aunque su presencia es en bajo porcentaje, se deben considerar como subtipos virales importantes debido a que han sido detectados en la población. La ampliación del estudio a un número más grande de participantes permitirá poner en evidencia la existencia en la población de otros tipos virales comunes, tales como VPH 11 y VPH 18.

**AGRADECIMIENTOS:** A todos los médicos que contribuyeron con la recolección de las muestras en sus respectivas consultas, en especial a los médicos especialistas Manuel Paiva, Ana Carrocci y Yolimar Osorio. A los anatomopatólogos y citólogos que evaluaron las citologías, y al personal de LABIOMEX por su valiosísima colaboración y apoyo para la

realización de este trabajo.

Este trabajo fue financiado parcialmente por el Consejo de Estudios de Posgrado de la Universidad de Los Andes (CEP-ULA), Proyecto PC-02, en el marco del Posgrado de Biología Molecular, bajo la coordinación del Dr. Juan Puig Pons.

## REFERENCIAS

1. Zür Hausen H. Papillomaviruses in human cancers. *Proc Assoc Am Physicians*. 1996;111:581-587.
2. de Villiers EM. Human Pathogenic Papillomavirus types: An update. En: Zür Hausen H, editor. *Currents topics in microbiology and immunology*. Human Pathogenic Papillomavirus. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1994.p.1-11.
3. Lörincz A, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RI. Human Papillomavirus infection of the cervix: Relative Risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol*. 1992;79:328-337.
4. Baker T, Newcomb W, Olson N, Cowser L, Olson C, Brown J. Structure of bovine and human papillomaviruses. Analysis by cryoelectron microscopy and three-dimensional image reconstruction. *Biophys J*. 1991;60:1445-1446.
5. Rowen L. Toward a human papillomavirus vaccine. *Dermatol Clinics*. 1998;16:835-838.
6. Ferenczy A, Franco E. Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *Lancet Oncol*. 2002;3:11-16.
7. Bosch F, Manos M, Nuno N, Sherman M, Jansen A, Peto J, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: A worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst*. 1996;87:796-802.
8. Burd EM. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16:1.p.1-17.
9. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning. A laboratory manual*. 2ª edición. Nueva York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1989.
10. García L, Rodrigo J, Sánchez P, Ramos S, Suárez C. Extracción de ADN con resina Chelex en el análisis de la amplificación oncogénica en carcinoma de cabeza y cuello. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2004;55:139-144.
11. Bauer Hm, Greer CE, Manos MM. Detection of genital human papillomavirus infection using PCR. En: Herrington CS, McGee J. O. D, editores. *Diagnostic molecular pathology: A practical approach*. Oxford: Oxford University Press; 1992.p.131-152.
12. Manos M, Ting Y, Wright D, Lewis A, Broker T, Wolinsky S. Use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomaviruses. *Cancer Cells*. 1989;7:209-214.
13. Bernard HU, Chan S, Manos M, Ong CH, Villa L, Delius H, et al. Identification and assessment

## DETECCIÓN Y TIPIFICACIÓN DE VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

- of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms. *J Infect Dis.* 1994;170:1077-1085.
14. Kurman R, Henson D, Herbst A, Noeller K, Schiffman M. Interim guidelines for management of abnormal cervical cytology. The 1992 National cancer Workshop. *JAMA.* 1994;271:1866-1869.
  15. Nanda K, McCrory C, Myers E, Bastian L, Hasselblad V, Hickey J, et al. Accuracy of the Papanicolaou Test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: A systematic review. *Ann Intern Med.* 2000;132: 810-819.
  16. Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Prospects for controlling cervical cancer at the turn of the century. *Salud Publica Mex* 2003;45(Suppl 3):367-375.
  17. Saiki R, Scharf S, Faloona F, Mullis K, Horn G, Erlich H, et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science.* 1985;230:1350-1354.
  18. Lörincz AT, Schiffman MH, Jaffurs WJ, Marlowe J, Quinn AP, Temple GF. Temporal associations of human papillomavirus infection with cervical cytology abnormalities. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;162:645-651.
  19. Mendoza JA, Muñoz M, Vielma S, Noguera ME, López M, Toro M. Infección cervical por el virus papiloma humano: diagnóstico por citología y captura de híbridos del ADN viral. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 2000;60:103-107.
  20. Suárez CM, Mijares A, Marrero L, Briceño J. Tipificación del VPH en cáncer de cuello uterino. *Rev Venez Oncol.* 2006;18:221-225.
  21. Villa L, Costa R, Petta A, Andrade R, Ault K. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: A randomised double-blind placebo-controlled multicentre phase II e. cacy trial. *Lancet Oncol.* 2005;6:271-278.

Correspondencia: Militza Quintero Vega, Avenida Tulio Febres Cordero, Facultad de Medicina, Edificio de Fisiopatología, Laboratorio de Biología y Medicina Experimental (LABIOMEX). Mérida, Estado Mérida, Venezuela.  
milyq@hotmail.com  
militza@ula.ve



## FUNDASOG DE VENEZUELA

### Brazo educativo e informativo de la Sociedad de Obstetricia y Ginecología de Venezuela

Informa a los Miembros Afiliados de la Sociedad de Obstetricia y Ginecología de Venezuela, que las próximas pruebas de conocimiento de la especialidad para optar a la categoría de Miembro Titular, se realizarán en el marco de los eventos de la Sociedad:

- **XXIV Congreso Nacional de Obstetricia y Ginecología**, que se llevará a cabo del 11 al 14 de marzo de 2008, en el Centro de Convenciones Maruma, Maracaibo, Estado Zulia.

Características del examen:

1. Prueba escrita.
2. Un total de 100 preguntas de selección simple, 50 de Obstetricia y 50 de Ginecología.
3. Puntuación mínima para aprobación: 15/20 puntos.

#### Información:

Sede de la SOGV y FUNDASOG de Venezuela, Maternidad Concepción Palacios, Avenida San Martín, Caracas.  
Teléfono: +58-212-461.64.42 Fax: +58-212-451.08.95