



**Universidad Nacional Autónoma de México**  
**Facultad de Estudios Superiores Iztacala**

**Prevalencia del Virus de Papiloma Humano en**  
**Estudiantes Universitarios**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGO**

**PRESENTA:**

Daniel Montes de Oca Samperio

**DIRECTOR DE TESIS:**

Dr. José Glustein Pozo Molina

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, 2022





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **Dedicatoria**

A mi Mamá ya que gracias a su amor, dedicación, paciencia y guía he logrado llegar hasta este punto de mi vida, gracias por jamás rendirte y seguir adelante. Espero algún día ser tan fuerte y valiente como tú. Gracias por siempre creer en mí y darme todas las facilidades para seguir adelante y ser mejor cada día. Todo lo que he logrado y lograre es gracias a ti.

A mi Papá gracias por ser mi guía y siempre apoyarme, sé que no estuviste mucho tiempo con nosotros y estoy seguro que, en donde quiera que te encuentres te sentirías orgulloso de lo que he logrado y del hombre en el que me he convertido.

A mi familia que siempre me apoyo, y procuro a lo largo de mi vida, por estar presente en los momentos más difíciles y alegres, por alentarme a cumplir mis metas, por siempre darme su amor y paciencia.

A Marilú D' Asseo por todo el apoyo brindado a mi mama, a mi familia y a mí, por convertirse en mi amiga, por apoyarme y darme palabras de aliento en los momentos en los que más lo necesitaba, sin su apoyo y amistad no hubiera llegado a este momento tan importante en mi vida.

Al Dr. David Gutiérrez Ortiz y a Angela Diaz Pérez por alentarme y ayudarme a concluir mis estudios, por siempre brindarme su apoyo tanto a familia, a mi mamá y a mí por todo eso y más, gracias.

## Agradecimientos

Al Dr. José Glustein Pozo Molina, por brindarme la oportunidad de ingresar bajo su tutela en este proyecto y permitirme ingresar a su laboratorio, ya que sin su oportunidad nada de esto sería posible, además de brindarme todo el apoyo, conocimientos y confianza a lo largo de mis últimos semestres en la facultad, gracias por todo el apoyo brindado.

A la Dra. Claudia Fabiola Méndez Cátala, por brindarme su paciencia y conocimiento en el trabajo de laboratorio, por preocuparse por que adquiriera nuevos conocimientos en los campos de la Genética y la Biología Molecular, además de recibirme en su laboratorio, y confiarme todo lo necesario para que pudiera realizar este trabajo.

A mi mejor amiga Jazmín, por todas esas pláticas y consejos, por las enseñanzas y las palabras de aliento a lo largo de este tiempo, por hacerme ver la vida de otra manera y enseñarme que hay cosas más valiosas e importantes en esta vida. Gracias por escucharme y alentarme a ser una mejor persona.

A mis amigos Dante, Arturo, Daniel, Alan, y Luis por todos los momentos que vivimos a lo largo de la carrera, por todas las risas, pláticas, comidas y salidas. Gracias a ustedes hicieron de la carrera uno de los mejores y más inolvidables momentos de mi vida.

A Alexis por brindarme su amistad, por darme palabras de aliento, por estar en los momentos de fracaso y éxito tanto académicos como personales, por aconsejarme, por ayudarme y estar ahí siempre que necesitaba ayuda.

A Alan por ser mi compañero en todas las aventuras que vivimos a lo largo de la universidad, por brindarme su apoyo en los momentos difíciles y por siempre creer en mí y ayudarme a cumplir mis metas.

A mis amigos Arath, Rocío y Kevin por todos los momentos que vivimos, por esas inolvidables prácticas de campo, por las incontables anécdotas que vivimos en el salón de clases, siempre estaré agradecido por que en los momentos en los que más los necesite ustedes estuvieron ahí y por todos los consejos me brindaron a lo largo de la carrera.

A mis amigos Susana, Michelle, Eithan y Rubén, por permitirme ser parte de su equipo y de sus vidas, ya que sin ellos mi formación profesional no hubiera sido la misma, gracias por su guía y enseñanzas a lo largo de la carrera.

El presente estudio fue apoyado por el Programa de Apoyo a los Profesores de Carrera (PAPCA) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México a través del Proyecto número FESI-DIP-PAPCA-2016-10.

Daniel answered and said, Blessed be the name of God for ever and ever: for wisdom and might are his: And he changeth the times and the seasons:

He removeth kings, and setteth up kings: he giveth wisdom unto the wise, and knowledge to them that know understanding:

He revealeth the deep and secret things: he knoweth what is in the darkness, and the light dwelleth with him.

I thank thee, and praise thee, O thou God of my fathers, who hast given me wisdom and might, and hast made known unto me now what we desired of thee: for thou hast now made known unto us the king's matter.

**(King James Version, 1900, Daniel. 2: 20-23)**

# Índice

|   |    |
|---|----|
| Resumen.....  | 7  |
| Introducción.....   | 8  |
| Generalidades de los VPH.....   | 8  |
| Clasificación de los diferentes genotipos de VPH y su Importancia Medica..... | 12 |
| Prevalencia de la Infección por VPH.....                                      | 17 |
| Vacunación ANTI-VPH.....  | 20 |
| Antecedentes.....   | 23 |
| Justificación.....  | 28 |
| Planteamiento del Problema.....   | 29 |
| Hipótesis.....  | 29 |
| Objetivos.....  | 30 |
| Objetivo general.....   | 30 |
| Objetivos Particulares.....   | 30 |
| Materiales y Métodos.....   | 31 |
| Población a estudiar.....   | 31 |
| Extracción de ADN a partir de células cervicales.....                         | 31 |
| Genotipificación viral.....   | 32 |
| Amplificación del ADN Viral.....  | 32 |
| Purificación de los Productos de PCR.....                                     | 34 |
| Purificación de los productos de PCR.....                                     | 34 |
| ELISA para detección de anticuerpos anti-VPH.....                             | 35 |
| Análisis de mapa de calor.....  | 36 |
| Análisis Estadístico.....   | 36 |
| Resultados.....   | 37 |
| Estudio de Población.....   | 37 |
| Detección y tipificación del VPH.....   | 39 |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Niveles de anticuerpos séricos en grupos vacunados y no vacunados.....</b> | <b>46</b> |
| <b>Discusión.....</b>   | <b>55</b> |
| <b>Conclusiones.....</b>  | <b>62</b> |
| <b>Perspectivas.....</b>  | <b>63</b> |
| <b>Bibliografía:.....</b>   | <b>64</b> |

## Resumen

El cáncer es un problema de salud mundial, siendo la segunda causa de muertes en todo el mundo. Dentro de las principales neoplasias malignas se encuentra el cáncer cervicouterino, el cual es considerado una de las principales causas de muerte en la mujer a nivel mundial, especialmente en países subdesarrollados. Los factores de riesgo asociados a esta neoplasia guardan una estrecha relación con conductas como el inicio temprano de la actividad sexual, el poco o nulo uso de preservativos, la promiscuidad sexual, la falta de educación sexual y, especialmente, las infecciones de transmisión sexual como la causada por el virus del papiloma humano (VPH) y del Virus del Herpes (VHS). Anteriormente, se han relacionado los genotipos VPH-16 y 18 como los principales agentes etiológicos de lesiones precancerosas. Estudios recientes sobre la prevalencia del VPH en la población mexicana han identificado que la distribución de los diferentes genotipos de VPH es diferente en distintas regiones del país. En cuanto a los subtipos de VPH más prevalentes en mujeres mexicanas, se identificaron a los subtipos de VPH 16,18, 31, 45, 51, 58 y 59. En el presente estudio tiene como objetivo evaluar la prevalencia de los diferentes genotipos de VPH cervical, y su asociación con anticuerpos específicos de VPH en un grupo de 129 estudiantes universitarias que acudieron a la CUI SI, y presentaron una edad promedio de 21.75 años. La tipificación de los diferentes genotipos del VPH se realizó amplificando y secuenciando un fragmento del gen L1 del VPH de las muestras obtenidas del grupo de estudio. Para la identificación de los tipos de VPH de las muestras positivas, se realizó un alineamiento de las secuencias obtenidas contra las bases de datos de las secuencias reportadas de los virus mediante la herramienta de BLAST. Los anticuerpos IgG específicos anti-VPH se cuantificaron mediante una prueba de ELISA en muestras de suero. Encontramos que la prevalencia de infección vaginal por VPH fue del 74,42%. Los genotipos de VPH de alto riesgo predominantes fueron 18 (13,95%), 31 (10,85%) y 16 (9,3%). Se encontró que una edad temprana en el coito y un mayor número de parejas sexuales son factores de riesgo, los cuales se

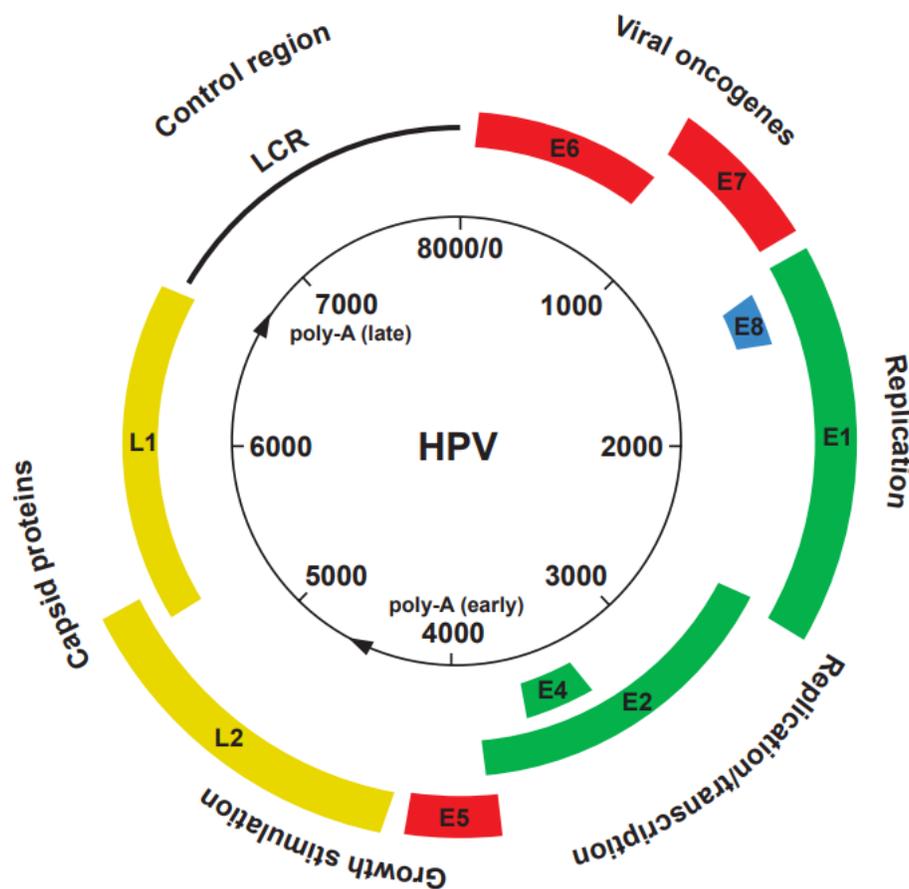
asociaron significativamente con una alta prevalencia de infección por VPH. Además del comportamiento sexual, se observó que la presencia de anticuerpos séricos IgG específicos en contra del VPH, esto puede afectar la prevalencia del virus y esto se encuentra relacionado con la seropositividad adquirida mediante la vacunación contra VPH, lo cual mostró que la prevalencia de VPH 16 y VPH 18 se ve disminuida a partir de la primera y segunda dosis de vacuna contra VPH. La seropositividad a VPH-16 y VPH-18 se asoció con una menor prevalencia de VPH-16, pero no para otros tipos de VPH. Cabe destacar que hubo una menor proporción de seropositividad específica para VPH en estudiantes que tenían la presencia del mismo tipo de VPH en una muestra de cuello uterino, lo que sugiere un mecanismo inmunomoduladores asociado con la infección viral. En conclusión, la prevalencia de VPH en estudiantes universitarias fue superior a la esperada y se asoció con los diferentes factores de riesgo, como lo son una edad temprana de inicio sexual, un número creciente de parejas sexuales y una baja proporción de seropositividad al VPH.

## **Introducción**

### **Generalidades de los VPH**

Los virus de papiloma (PV's) pertenecen a la familia *Papillomaviridae*, son considerados pequeños virus no envueltos, los cuales presentan afinidad por los tejidos epiteliales de su hospedero<sup>1,2</sup>, afecta a varios grupos de animales, desde aves hasta mamíferos y probablemente una gran parte del grupo de los amniotas<sup>3</sup>, además, son altamente específicos para su hospedero, y se encuentran restringidos por los tejidos del mismo, es decir, presentan un tropismo por cierto tipo de células hospederas. El genoma de los virus de papiloma comprende entre 6800 y 8400

pares de bases (pb)<sup>4,5</sup> está compuesto por ADN circular de doble cadena de aproximadamente, que se divide en tres regiones principales: una región reguladora no codificante de aproximadamente 1 kb, la cual se denomina región larga de control (LCR, long control region); una región que incluye genes de expresión temprana, que da origen a proteínas no estructurales y una región que contiene los genes de expresión tardía, que dan origen a dos proteínas estructurales. En total, se encuentran 9 o 10 marcos de lectura abierta (ORF por sus siglas en inglés): L1 y L2, que codifican proteínas de la cápside; E1, E2, E4, E5, E6 y E7 que a su vez codifican a las proteínas implicadas en la replicación, transcripción y transformación del virus de papiloma<sup>6</sup>. En todos los virus de papiloma estas tres regiones se localizan en una sola de las hebras del ADN genómico (**Figura 1**)<sup>1,7</sup>.



**Figura 1:** Organización del genoma de los virus del papiloma humano.

Tomado y Modificado de Prendiville, W., & Davies, P. (2006)<sup>43</sup>. **Organización del genoma de los virus del papiloma humano.**

Muchos de los virus de papiloma se encuentran asociados a infecciones en humanos, a este tipo de virus se les denomina virus de papiloma humano (VPH) (HPV, por sus siglas en inglés), son considerados virus de ADN de doble cadena, altamente conservados, que no poseen envoltura y presentan un diámetro de 52-55 nm<sup>8,9,10</sup>. Estos virus son capaces de producir lesiones en la piel (verrugas) y en mucosa (condilomas), pero también se les asocia con algunos procesos malignos en epitelio, especialmente con cáncer cervicouterino (CaCu) y otros tumores de tracto anogenital, así como de cabeza y cuello<sup>11</sup>.

Estos VPH poseen seis proteínas de expresión temprana, tres proteínas reguladoras (E1, E2 y E4) y tres oncoproteínas (E5, E6 y E7), codificadas en 4000 pares de bases (pb) que participan en la replicación viral y la transformación de la célula infectada. Otra región de 3000 pb del genoma viral, codifica dos proteínas estructurales L1 y L2 que componen la cápside del virus, la cual a su vez está constituida por 72 capsómeros, pentámeros de la proteína más abundante (L1) en un arreglo con número de triangulación (T) de 7<sup>9,10</sup> (modelo que se emplea para clasificar de manera sistemática los virus icosaédricos.). Otra proteína de la cápside denominada (L2) se asocia internamente a un subgrupo de capsómeros formados por L1<sup>11,12,4</sup>. Dentro de la cápside se ubica el genoma viral, que está constituido por ADN de doble cadena covalentemente circularizado **(Tabla I)**<sup>1,13</sup>. Los distintos genotipos de virus de papiloma humano (VPH) se establecen cuando la secuencia de ADN del marco de lectura abierto (ORF) de L1 del genoma viral difiere en al menos un 10% de cualquier otro tipo caracterizado<sup>14</sup>. Cuando estas variantes difieren en al menos 10%, los aislados se denominan variantes o sub-tipos<sup>15,16</sup>.

Se han identificado más de 170 tipos de VPH y aproximadamente 40 de esos tipos afectan el epitelio del tracto genital, la mucosa del tracto respiratorio superior y la piel, que pueden conducir al desarrollo de epidermodisplasia verruciforme<sup>14,17</sup>. Las infecciones por VPH juegan un papel crucial en las enfermedades dermatológicas y de transmisión sexual más comunes, así como en los tipos de cáncer más frecuentes alrededor del mundo<sup>18,19</sup>. Estos VPH son causantes de las enfermedades de transmisión sexual más comunes, lo que da como resultado que

más de catorce millones personas al año y el 80% de las personas con una vida sexualmente activa presenten una infección por VPH<sup>20</sup>.

| Proteína viral/elemento genómico     | Peso Molecular/tamaño | Función   |
|--------------------------------------|-----------------------|---|
| <b>Elementos no Codificantes</b>     |                       |   |
| <b>Región de control larga (LCR)</b> | 500-1000 pb           | Origen de la replicación y regulación de la expresión génica del VPH  |
| <b>Proteínas Tempranas</b>           |                       |   |
| <b>E1</b>                            | 68–85 kD              | Función helicasa; esencial para la replicación viral y el control de la transcripción de genes; similar entre tipos                                 |
| <b>E2</b>                            | 48 kD                 | Factor de transcripción viral; esencial para la replicación viral y el control de la transcripción de genes; segregación y encapsulación del genoma |
| <b>E3</b>                            | Desconocido           | Función desconocida; solo presente en unos pocos VPH  |
| <b>E1*E4</b>                         | 10–44 kD              | Unión a la proteína del citoesqueleto   |
| <b>E5</b>                            | 14 kD                 | Interacción con receptores EGF/PDGF   |
| <b>E6</b>                            | 16–18 kD              | Interacción con varias proteínas celulares; degradación de p53 y activación de la telomerasa  |
| <b>E7</b>                            | ~ 10 kD               | Interacción con varias proteínas celulares; interacción con pRB y transactivación de promotores dependientes de E2F                                 |
| <b>E8*–E2C</b>                       | 20 kD                 | Proteína represora de la transcripción y replicación a larga distancia  |
| <b>Proteínas Tardías</b>             |                       |   |
| <b>L1</b>                            | 57 kD                 | Proteína principal de la cápside  |
| <b>L2</b>                            | 43–53 kD              | Proteína secundaria de la cápside   |

**Tabla I: Tamaño y Función de las proteínas de los Virus de Papiloma Humano.**

Tomado y Modificado de Prendiville, W., & Davies, P. (2006)<sup>43</sup>. **Tamaño y Función de las proteínas de los Virus de Papiloma Humano.**

El VPH es el principal agente de transmisión sexual entre adultos jóvenes alrededor del mundo, esto se asocia a que la infección por VPH es transitoria o asintomática y no necesita de una intervención médica ya que se resuelve de forma espontánea<sup>21</sup>. Debido a esto, se estima que el riesgo de infectarse por (VPH) es de al menos una vez en la vida y se calcula que el riesgo de infección entre hombres y mujeres es de un 50%<sup>22</sup>.

De acuerdo con un metaanálisis que evaluó la prevalencia global de la infección cervical por VPH entre mujeres sin lesiones cervicales, reveló que al menos el 12% de las mujeres en todo el mundo dieron positivo para VPH<sup>23</sup>. De acuerdo con estudios realizados sobre la epidemiología de la infección por VPH y las propiedades oncogénicas debidas a diferentes genotipos de VPH se menciona que el 10,4% de los pacientes con citología normal dieron positivo con tipos de VPH de alto o bajo riesgo<sup>24</sup>. Las mujeres de los países menos desarrollados y las menores de 25 años tienen una prevalencia más alta, que oscila entre el 15 y el 45%<sup>23</sup>. La prevalencia más alta de VPH se presentó en África subsahariana (24%), Europa del Este (21,4%) y América Latina (16,1%) y la prevalencia más baja en América del Norte (4,7%) y Asia Occidental (1,7%)<sup>25</sup>.

## **Clasificación de los diferentes genotipos de VPH y su Importancia Médica**

La familia de VPH cuenta con más de 150 tipos víricos, en función de su patogenia oncogénica, se clasifican en tipos de alto y bajo riesgo oncológico. Los virus que son clasificados como de bajo riesgo, son causantes de verrugas, y los clasificados de alto riesgo cuando son precursores de cáncer<sup>21</sup>. Las infecciones de VPH con tipos considerados de alto riesgo se asocian con lesiones precancerosas y cancerosas<sup>26,27</sup>. Sin embargo, además de la infección causada por el VPH, son

necesarios factores adicionales para desarrollar carcinogénesis relacionada con la infección de VPH<sup>28,29</sup>.

Los VPH considerados de alto riesgo se clasifican como Clase 1 (cancerígenos), en esta clasificación se encuentran los tipos de VPH: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59. Los VPH considerados probablemente cancerígenos para los seres humanos se clasifican como Clase 2 y se encuentra el tipo de VPH 68. Los VPH de Clase 2B se les considera (posiblemente cancerígenos), en esta clase se encuentran los tipos de VPH: 26, 53, 66, 67, 70, 73, 82, 30, 34, 69, 85 y 97<sup>26,30,31</sup>. Los tipos de VPH clasificados de bajo riesgo son 6, 11, 32, 40, 42, 44, 54, 55, 61, 62, 64, 71, 72, 74, 81, 83, 84, 87, 89 y 91<sup>32</sup>. Los tipos de VPH de Clase 1 (cancerígenos) 16, 18, 31, 33 y 35 se les ha asociado como precursores de cáncer de cuello uterino, vulva, vagina, pene, ano, orofaringe y con lesiones precancerosas<sup>26,33</sup>. El cáncer cérvico-uterino es considerado como una enfermedad de transmisión sexual, debido a la estrecha relación entre la incidencia de este tipo de cáncer y el comportamiento sexual de los diferentes grupos humanos. En los últimos años se ha observado un incremento considerable en el conocimiento de los factores de riesgo ligados a la aparición del mismo y donde se sitúa al VPH como el principal agente etiológico de dicha enfermedad<sup>34</sup>. Por lo tanto, el VPH es considerado por varios estudios como el principal agente causal del cáncer cérvico-uterino<sup>35</sup>. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer de cuello uterino es el segundo cáncer más común en mujeres que viven en regiones menos desarrolladas con un estimado de 570,000 casos y 311,000 muertes en 2018, y más del 85% de estas muertes ocurrieron en regiones menos desarrolladas<sup>36</sup>. Actualmente, los distintos estudios sobre el desarrollo de cáncer señalan que el cáncer de cuello uterino (CaCu) es causado por una infección de transmisión sexual ocasionada por el virus del papiloma humano (VPH), y el 84% de las lesiones cancerosas relacionadas con el VPH son cáncer de cuello uterino<sup>37</sup>. Los VPH 16 Y 18 son los tipos de alto riesgo más frecuentes y se les considera responsables de más del 70% de todos los casos de cáncer de cuello uterino en el mundo<sup>38,25</sup>.

Para que los VPH evolucionen en lesiones precancerosas son necesarios varios factores, en donde, las proteínas oncogénicas E6 y E7 juegan un papel importante. Se observó que la transcripción de los genes E6 y E7 siempre ocurría en los carcinomas de cuello uterino, y esta fue la primera indicación de un papel importante para estos genes en la carcinogénesis asociada al VPH<sup>39,40</sup>. El potencial carcinogénico de las proteínas E6 y E7 ha sido demostrado en numerosos experimentos, tanto en cultivo de tejidos como en modelos animales de experimentación<sup>41,42</sup>.

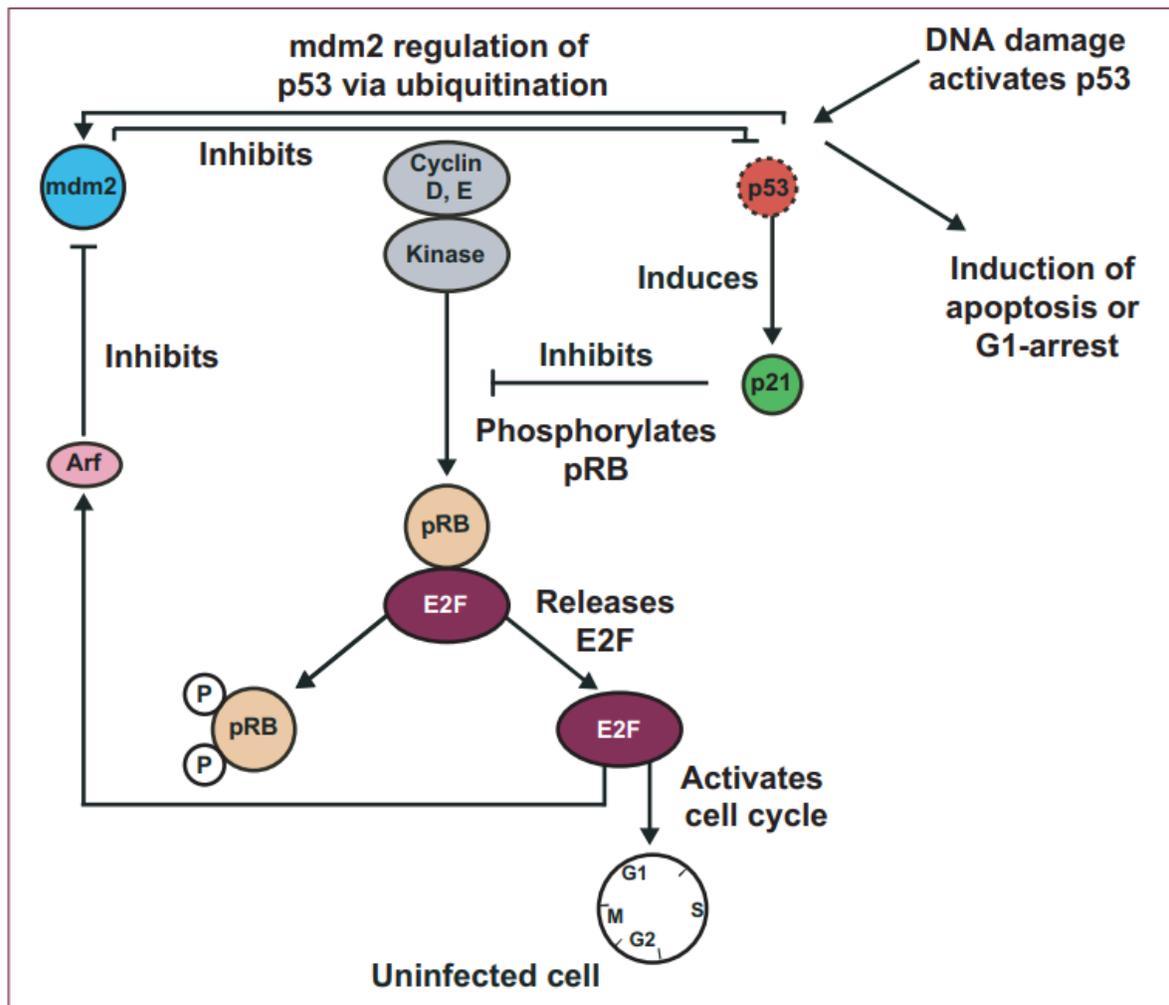
Los marcos abiertos de lectura (ORF, por sus siglas en inglés) de E6 codifican una pequeña proteína de aproximadamente 150 aminoácidos con un peso molecular de 16 a 18 kD. La proteína E6 de los genotipos de VPH de alto riesgo muestra solo un potencial oncogénico débil en la mayoría de las líneas celulares establecidas y se requiere la cooperación con la proteína E7 para una capacidad de transformación e inmortalización completa<sup>43</sup>.

La acción clave de las proteínas de alto riesgo E6 es la inhibición de la función de p53, la cual es una proteína supresora de tumores, aumentando su degradación a través de la vía de la ubiquitina<sup>44,45,46,47,48</sup>. Para inhibir p53, E6 requiere una proteína celular llamada proteína asociada a E6. En las células no infectadas, la proteína mdm-2 desencadena la degradación de p53 mediada por ubiquitina, mientras que, en las células infectadas con un genotipo de VPH de alto riesgo, el complejo E6-E6AP reemplaza a mdm-2 en el control de los niveles celulares de p53 (**Figura 2**)<sup>44</sup>.

Este cambio acorta drásticamente la vida media de p53 de 3 horas a 20 minutos, disminuyendo su función biológica y reduciendo los niveles de la proteína p53 en las células de carcinoma de cuello uterino a menos de la mitad del nivel que se encuentra en las células epiteliales normales<sup>49</sup>. La mayoría de las proteínas E6 de los genotipos de VPH de bajo riesgo no se unen a p53, y ninguno de ellos induce su degradación.

Las proteínas de los genotipos de alto riesgo de VPH en compañía de E6 conducen a una regulación negativa de la transcripción dependiente de p53,

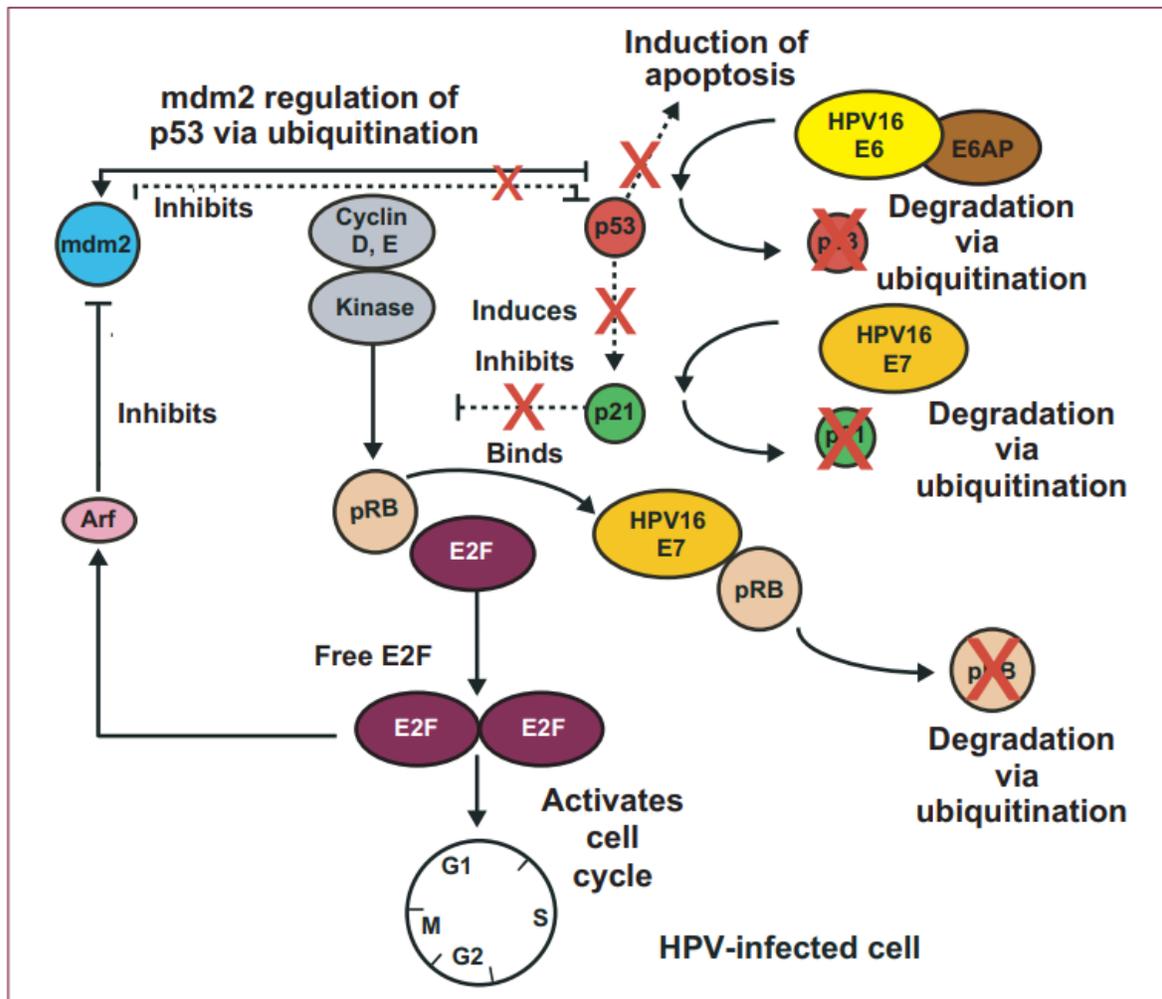
independientemente de la degradación de la proteína p53 dependiente de E6AP. Además, la proteína E6 parece activar la enzima celular telomerasa en células diferenciadas. La telomerasa contrarresta el continuo acortamiento de los telómeros cromosómicos durante la replicación del genoma celular. Este acortamiento se correlaciona con el envejecimiento celular, y la prevención del acortamiento cromosómico da como resultado un aumento de la vida útil de la célula afectada<sup>43</sup>.



**Figura 2:** Efecto de E6/E7 sobre la proliferación celular.

Tomado y Modificado de Prendiville, W., & Davies, P. (2006).<sup>43</sup> **Efecto de E6/E7 sobre la proliferación celular.**

Para la proteína E7 los ORFs codifican para una pequeña proteína de aproximadamente 100 aminoácidos con un peso molecular de 10 kD<sup>43</sup>. E7 es el principal oncogén transformador de los VPH y actúa uniéndose a proteínas celulares de la familia de supresores de tumores pRB que, al interactuar con la familia de factores de transcripción E2F, controlan la replicación celular<sup>50</sup>. Unión de E7 a la forma activa de pRB conduce a la liberación de factores de transcripción E2F, que luego estimulan la entrada en la fase S del ciclo celular y conducen a la replicación celular (**Figura 3**)<sup>51</sup>.



**Figura 3:** Efecto de E6/E7 sobre la proliferación celular.

Tomado y Modificado de Prendiville, W., & Davies, P. (2006).<sup>43</sup> **Efecto de E6/E7 sobre la proliferación celular.**

Esta interacción induce a múltiples respuestas celulares, incluidos los intentos de estabilizar la proteína p53, la cual tiene la función de contrarrestar la replicación celular estimulada propiciando la apoptosis (muerte celular programada) <sup>52</sup>. Sin embargo, como se señaló anteriormente, E6 aumenta la degradación de p53 y, por lo tanto, bloquea la respuesta celular. Actualmente no está claro cómo los papilomavirus de bajo riesgo (cuyas proteínas E6 no pueden interferir con p53, pero cuyas proteínas E7 se unen a pRB) superan la apoptosis mediada por p53. Además, se ha demostrado que las proteínas E6 de algunos genotipos de VPH se unen a un componente del complejo de reparación del ADN dañado de una sola hebra y, por lo tanto, inhiben su eficacia y, en consecuencia, ya no es capaz de reaccionar en respuesta al daño del ADN con detención de G1 o apoptosis. También se impide la reparación del ADN, lo que claramente promueve el camino de la célula hacia la malignidad<sup>43</sup>.

Los genotipos de VPH de bajo riesgo, como el VPH 6, no pueden degradar p53. Por lo tanto, la capacidad de las proteínas anogenitales E6 y E7 para degradar p53 o pRb parecería estar correlacionada con su potencial oncogénico. Tal correlación no ha sido demostrada para los papilomavirus cutáneos; las proteínas E6 de HPV 5 y HPV 8, por ejemplo, no pueden unirse o degradar p53. Dado que los VPH cutáneos y genitales de bajo riesgo tienen proteínas E7 que se unen a pRB pero no afectan a p53 mediante la degradación mediada por E6, parecen seguir otra vía para superar los mecanismos de defensa celular inducidos por E7<sup>43</sup>.

## **Prevalencia de la Infección por VPH**

Dependiendo de la ubicación geográfica, algunos tipos son más frecuentes que otros, por ejemplo, los tipos de VPH 33 y 31 tienen una mayor prevalencia en EE. UU y Europa, en comparación, los tipos de VPH 35 y 45 que son más frecuentes en África, los tipos 52 y 58 son los que se encuentran con más frecuencia en Asia<sup>53,54</sup>.

En México, el cáncer cérvico-uterino (CaCu) ocupa el segundo lugar entre las neoplasias en la mujer y constituye uno de los principales problemas de salud pública, con una incidencia del 15.5% y una mortalidad del 12.8%<sup>55,56</sup>. Esto quiere decir que, en 2008, 10,186 mujeres mexicanas desarrollaron cáncer de cuello uterino y 5,061 fallecieron a causa de esta neoplasia<sup>57</sup>. GLOBOCAN en 2020 reportó que la incidencia de cáncer de cuello uterino en mujeres es de 604 127 casos nuevos y 341 831 muertes en 2020<sup>58</sup>. En todo el mundo, las tasas de mortalidad del cáncer de cuello uterino son sustancialmente más bajas que la incidencia con una relación de mortalidad a incidencia del 57%, considerando esta cifra tan alta como las de otros países en vías de desarrollo<sup>26</sup>. Al interior de la república mexicana se observa una disparidad en las tasas de mortalidad, donde la población de la región norte es la menos afectada, con tasas que van de 5.3 a 7.9%, en tanto que la región central registra tasas de 10.8-12.6% y la región sur es la que destaca, con tasas hasta de 15.4-17.5%<sup>59</sup>. En México, estudios previos han identificado los tipos de VPH 16, 18, 31, 45, 51, 58 y 59, como los más comunes en muestras de cuello uterino<sup>60,61</sup>. En un metaanálisis realizado en 2015 con 8,706 casos positivos por VPH se encontró que la prevalencia mostró particularidades en las regiones norte, centro y sur de México. En el norte del país se identificaron con mayor frecuencia los serotipos 16, 58, 18 y 33 del VPH, mientras que en la región central se registraron los tipos 16, 18, 45 y 58. En la región sur se observó una mayor prevalencia de los tipos 16, 18, 31 y 58 del VPH<sup>62</sup>.

La prevalencia de los diferentes genotipos de VPH se encuentra altamente relacionada con diferentes factores de riesgo, ya que en los últimos años se ha observado un incremento considerable en el conocimiento de estos factores de riesgo ligados a la aparición de los VPH. Uno de los factores de riesgo a los que se encuentran expuestas las jóvenes es un inicio precoz de la actividad sexual, este aspecto es de especial interés ya que puede afectar la salud de las jóvenes, especialmente menores de 25 años<sup>34</sup>. Esto se debe a que el cuello uterino está formado por dos tipos de epitelio, el plano estratificado que reviste el exocérnix, el cual se proyecta en la vagina y el cilíndrico simple, formado de hendiduras que son comúnmente conocidas como glándulas endocervicales. La unión de ambos

epitelios es nombrada unión escamo-columnar o zona de transformación. Esta zona es sumamente sensible a la infección viral, con una alta posibilidad de transformarse en anomalías neoplásicas cervicales. En las adolescentes, el epitelio cervical que forma el cuello uterino no se encuentra en su total madurez y la zona de transformación se localiza en el exocérvix, por lo que presenta un mayor grado de exposición a la acción viral. En las mujeres adultas jóvenes esta unión se encuentra localizada aproximadamente a nivel del orificio externo del cuello, donde se une el endocérvix con el exocérvix. Mientras más temprano es el inicio de la vida sexual en las mujeres, se incrementa el tiempo de contacto del epitelio cervical con el semen de parejas infectadas con VPH<sup>63,64,65</sup>. Otro factor de riesgo serían las múltiples parejas sexuales, esto se debe a que al tener varias parejas sexuales aumenta la probabilidad de contraer una infección de transmisión sexual. Esto condiciona la adquisición de infecciones con diferentes genotipos oncogénicos, muy especialmente con los VPH de alto riesgo 16 y 18, así como otras ITS (Infección de Transmisión Sexual) <sup>65,66</sup>. El siguiente factor de riesgo es la promiscuidad de los compañeros sexuales, ya que comportamiento promiscuo de la parte masculina de la pareja es un elemento importante a tener en cuenta, ya que mientras mayor sea el número de parejas sexuales que haya tenido durante su vida, aumenta probabilidad de que su semen sea portador de disímiles agentes patógenos, aunque el mismo esté asintomático<sup>63,66</sup>. La multiparidad también es considerado un factor de riesgo, ya que varios estudios indican que mujeres con cinco o más embarazos a término, aumenta ligeramente la probabilidad de desarrollar un cáncer de cuello uterino. Una explicación a este hecho pueden ser los cambios hormonales e inmunitarios que se producen durante el embarazo, aunque el verdadero mecanismo no se conoce en detalle<sup>65,66</sup>.

Debido a todos estos factores de riesgo, es que el VPH es el principal agente de transmisión sexual entre los jóvenes alrededor del mundo<sup>21,35</sup>. Por lo tanto, es importante contar con medidas de prevención, más allá de los programas de educación sexual, los métodos de anticonceptivos etc.

## Vacunación ANTI-VPH

La vacunación profiláctica contra VPH fue introducida en 2006 con el desarrollo de dos vacunas: la vacuna bivalente (Cervarix) que contiene los antígenos del VPH 16 y 18, y la vacuna tetravalente (Gardasil) que contiene los antígenos del VPH 6, 11, 16 y 18. Recientemente, se aprobó una vacuna nonavalente (Gardasil 9), que protege contra la infección de los tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58 del VPH. Estas vacunas están elaboradas con proteínas virales L1 que son ensambladas en formas morfológicamente similares a las partículas del virus, pero no contienen su genoma, las denominadas partículas similares a virus o virus-like particles (VLP). Diferentes estudios han demostrado la eficacia de la vacunación contra el VPH para prevenir la infección con los tipos de VPH al que se dirigen cuando se administra antes de la exposición inicial al virus. Los VPH 16 y 18 de alto riesgo son prácticamente prevenibles mediante la vacunación<sup>67,68</sup>. Las mujeres y los hombres deben de vacunarse antes del inicio de la actividad sexual y posterior a la exposición de VPH. La OMS respalda un programa de dos dosis para niños y niñas en una edad de 9 a 14 años, también se recomienda una serie de 3 dosis para mujeres de entre 15 a 26 años y hombres de 15 a 21 años que no recibieron la vacuna antes de los 15 años, con una amplia recomendación para el subconjunto de alto riesgo en hombres de no mayores a los 26 años<sup>69,70</sup>.

En México, la vacunación contra el VPH se introdujo por primera vez en 2008 con una cobertura baja para las niñas de 12 a 16 años con un programa de 0-2-6 meses; un año después, se cambió a un programa de dosificación extendido que se dirige a niñas de 9 a 12 años para las 2 primeras dosis, aplicadas con 6 meses de diferencia, seguidas de una tercera dosis 60 meses después<sup>71</sup>. En 2012 la vacuna se incluyó en el programa nacional de vacunas<sup>25</sup>. La cobertura se ha ido incrementando con el tiempo, según los últimos datos reportados en 2018 en México se aplicaron 1 millón de dosis<sup>72</sup>. Sin embargo, esta cifra es aún muy baja considerando la población total de 125 millones de personas, de las cuales el 5.7% son mujeres entre 9-14 años<sup>73</sup>.

Diferentes estudios han demostrado una gran eficacia por parte de la vacuna contra el VPH, previniendo las complicaciones de las infecciones con los tipos de VPH a los que se dirigen cuando se administran antes de la exposición inicial al virus. Incluso los VPH 16 y 18, catalogados como clase 1 (cancerígenos), son altamente prevenibles mediante la vacunación<sup>67,68</sup>. Se ha estimado que la aplicación generalizada de la vacuna contra el VPH tiene el potencial de reducir la incidencia de cáncer de cuello uterino en todo el mundo en un 90%<sup>67,74</sup>. Esto de acuerdo a estudios realizados en pacientes jóvenes que se encontraban en un rango de edad de entre 10-25 años, en los cuales se analizaron la efectividad de las vacunas, en pacientes a las cuales se les aplicaron una, dos, y tres dosis de la vacuna contra VPH, esto con el objetivo de observar la efectividad asociada a la aplicación de las diferentes dosis de la vacuna contra VPH. Uno de estos estudios, en 2015 realizó una comparación de los datos resumidos del ensayo de vacunas de Costa Rica (CVT; NCT00128661) y el ensayo PATRICIA (NCT001226810), los cuales son dos ensayos clínicos controlados aleatorios, de doble ciego, de fase 3 de la vacuna con adyuvante HPV-16/18 AS04 en mujeres jóvenes, estos ensayos fueron combinados en un análisis post-cohorte (GlaxoSmithKline [GSK] e-track number 202142) para investigar la eficacia de una, dos y tres dosis de la vacuna HPV-16/18, después de 4 años de seguimiento, se comprobó que la vacunación de mujeres de 15 a 25 años, con una y dos dosis de la vacuna VPH-16/18 confiere una protección contra las infecciones cervicales por VPH-16/18, de manera similar a la protección proporcionada por el programa de tres dosis<sup>75</sup>. Además, dos dosis separadas por 6 meses proporcionaron una mayor protección, en comparación a dos dosis separadas por 1 mes, esta observación está respaldado por los resultados de CVT de que las concentraciones de anticuerpos para dos dosis, cuando se administran con al menos 6 meses de diferencia, son muy similares a las de tres dosis<sup>76,77,78</sup>. Un estudio con una vacuna VPH-16/18 en investigación mostró que el programa de 2 meses en niñas de 9 a 14 años no logró la no inferioridad inmunológica en comparación con el programa autorizado de tres dosis en mujeres de 15 a 25 años, lo que indica que el intervalo entre las dosis inicial y de refuerzo es un factor

importante para la inducción de la respuesta inmunitaria necesaria para proporcionar protección cruzada con una formulación de dos dosis<sup>75</sup>.

Otro estudio realizado en 2021 evaluó participantes vacunadas que se reclutaron entre el 2009 y 2010 (fecha de suspensión de la vacunación), las cuales eran jóvenes solteras de entre 10 y 18 años de nueve centros de la India y se les dio seguimiento durante una mediana de 9,0 años. En este estudio, 4,348 participantes recibieron tres dosis, 4,980 recibieron dos dosis (0 y 6 meses) y 4,949 recibieron una dosis única. La eficacia de la vacuna contra la infección por VPH 16 y 18 entre las participantes evaluables para el criterio de valoración fue del 95,4% en la cohorte predeterminada de dosis única (2,135 jóvenes evaluadas), 93,1% en la cohorte de dos dosis (1,452 jóvenes evaluadas), y 93,3% en las cohorte de tres dosis (1460 jóvenes evaluadas), el estudio demostró que una sola dosis de la vacuna contra el VPH brinda una protección similar contra la infección persistente por los VPH 16 y 18, a la que brindan dos o tres dosis<sup>79</sup>. Sin embargo, el beneficio de la aplicación generalizada en la salud pública de la vacuna contra el VPH tiene la capacidad de reducir la incidencia de otros tipos de cáncer no cervicales causados por el VPH como lo son el cáncer de pene, ano, vaginal, vulvar y orofaríngeo<sup>80,67</sup>. A pesar de los beneficios comprobados de la vacuna contra el VPH, existen muchos obstáculos en países de alto y bajo ingreso que impiden implementar un calendario de vacunación adecuado. Estos obstáculos son multifactoriales e incluyen limitaciones en costos, infraestructura e incluso un estigma social<sup>69</sup>. Debido a estos obstáculos en los países menos desarrollados, la prevalencia de infecciones causadas por VPH sigue siendo alto. México se encuentra dentro de las regiones con una alta tasa de infección causada por VPH<sup>26,25</sup>.

Varios estudios en diferentes regiones han demostrado una mayor prevalencia de VPH en mujeres menores a 25 años y en mujeres universitarias, esto se ha asociado a un comportamiento sexual de alto riesgo, baja tasa de vacunación, poco o nulo conocimiento del VPH y diversos factores culturales<sup>81,82</sup>.

Debido a la falta de datos que respalden el estado real de la prevalencia de la infección por VPH en México, así como los niveles de anticuerpos específicos en

personas con alto riesgo de infección por VPH, el estudio actual se desarrolló para identificar la prevalencia, los genotipos y la seropositividad del VPH, con el fin de establecer estrategias preventivas y específicas para una población de alto riesgo.

## **Antecedentes**

La ubicación geográfica juega un papel muy importante en la prevalencia de los VPH, especialmente los de alto riesgo, algunos de estos genotipos son más frecuentes que otros. Esta distribución de los genotipos de VPH se encuentra respaldada por un estudio realizado por (de San Jose *et al.*, 2010), en el cual analizaron muestras incluidas en parafina de casos confirmados histológicamente de cáncer de cuello uterino invasivo de 38 países de Europa, América del Norte, América del Sur central, África, Asia y Oceanía. En ese estudio se incluyeron 10,575 casos de cáncer de cuello uterino invasivo, de los cuales 8,977 (85 %) de estas muestras fueron positivas para el ADN del VPH. Los tipos de VPH más comunes fueron 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52 y 58 con una contribución relativa mundial combinada de 8,196 de 8,977. Los tipos de VPH 16 y 18 se detectaron en 6357 de 8977 muestras (71%) de cáncer de cuello uterino invasivo. Los tipos de VPH 16, 18 y 45 se detectaron en 443 de 470 muestras (94%) de adenocarcinomas de cuello uterino. Este estudio reveló que los VPH de alto riesgo 16, 18, 31, 35, 45, 52 y 58 son los más frecuentes alrededor del mundo, pero los genotipos de VPH 16, 18 y 45 son los que se encuentran con mayor frecuencia en muestras de cáncer de cuello uterino invasivo y en adenocarcinomas de cuello uterino, estos genotipos de VPH son de alta importancia médica, ya que todos los genotipos encontrados con mayor frecuencia en este estudio están clasificados como VPH de alto riesgo Para México, existen reportes en los cuales indican cuales son los genotipos de VPH más frecuentes en ciertas regiones de la república mexicana un ejemplo es el estudio de (Aguilar Lemarroy A *et al.*, 2015) los cuales realizaron un estudio en donde

participaron 902 mujeres con un promedio de edad de 18 a 27 años, las cuales fueron reclutadas en seis clínicas ginecológicas ubicadas en las siguientes ciudades de la república mexicana: Monterrey (en la región nororiental), Guadalajara y Tepic (ambas en la región occidental), y Ciudad de México, Metepec y Tlaxcala (en la región central). Para ser parte del estudio se realizó una entrevista, en la que cada una de las participantes respondió a un cuestionario sobre antecedentes reproductivos y comportamiento sexual. Para el grupo control se obtuvieron muestras de mujeres que asistían a programas de detección temprana de cáncer, las lesiones precancerosas se recolectaron de mujeres que asistían a clínicas de displasia y las muestras de cáncer de cuello uterino se recolectaron en clínicas de displasia y servicios de oncología. Las mujeres sin lesiones cervicales fueron diagnosticadas mediante citología convencional (Papanicolaou o tinción de Papanicolaou) y observaciones colposcópicas; en los casos de lesiones precancerosas o cáncer de cuello uterino, el diagnóstico se confirmó por histopatología. Las muestras fueron clasificadas de la siguiente manera: control (sin alteraciones neoplásicas); lesiones preneoplásicas, incluyendo neoplasia intraepitelial cervical grado 1 y grado 3; y cáncer de cuello uterino. De las 902 muestras de cuello uterino obtenidas, solo 822 se incluyeron en este estudio (aquellas muestras con suficiente cantidad y calidad de ADN). El VPH 16 fue el genotipo más prevalente en todos los grupos de diagnóstico. Los tipos de VPH encontrados con mayor frecuencia en los cánceres de cuello uterino fueron el 16, 18, 45, 52, 58 y 39; los tipos de VPH 16, 62, 51, 84, 18, 53 y CP6108 fueron los más prevalentes en las mujeres de grupo control. Otro estudio por (Gallegos Bolaños *J et al.*, 2017) evaluó la prevalencia de los genotipos de VPH en México, más específico en la CDMX en el cual se realizaron un estudio en el cual se analizaron a 1329 pacientes, de los cuales 1163 eran mujeres en un rango de edad de 16 a 72 años y 166 eran hombres que se encontraban en un rango de edad de 21 a 68 años. Las muestras se obtuvieron de pacientes que realizaron pruebas clínicas para el diagnóstico de infección por VPH en la Ciudad de México; entre 2010 y 2012. La detección de infección por VPH se realizó mediante la captura híbrida y el genotipado fue por PCR (VPH 6, 11, 16, 18, 30, 31, 33, 35, 45, 51 y 52). Los

resultados mostraron que de las 1329 muestras 858 (64,56%) fueron negativos para VPH y 471 (35,44%) pacientes fueron VPH positivos en la prueba de captura híbrida. De 1163 mujeres evaluadas, el 36% eran VPH positivas; mientras que, de los 166 hombres evaluados, el 24% fueron VPH positivos. Se determinó el porcentaje de pacientes con mono y coinfección en cada sexo. Las mujeres tuvieron una mayor prevalencia de coinfección (75,37% de muestras positivas, mientras que los hombres habían sido infectados con 1 a 4 genotipos de VPH diferentes. El 36 % de las mujeres eran VPH positivas y los genotipos más prevalentes fueron los VPH 51, 52, 16 y 33 (42, 38, 37 y 34 %, respectivamente). La prevalencia de coinfección fue superior (75,37%) a la de mono infección en mujeres VPH positivas. Todos los genotipos estaban coinfectados con el VPH 16, pero la coinfección con los genotipos 51-52 fue la combinación más frecuente en todos los casos. La coinfección fue muy común; cada genotipo de VPH mostró diferentes preferencias por la coinfección con otros genotipos, la coinfección por VPH 51 y 52 fue la más frecuente. Los VPH 16, 33, 51 y 52 fueron los más prevalentes en el estudio. Gracias a estos estudios se determinó que los genotipos más frecuentes en la zona centro del país fueron 16, 18, 33, 51, 52, 53, 62 y 84, estos resultados nos permitieron buscar estudios en los cuales se muestra que la vacunación contra VPH es efectiva y ayuda a la disminución de la prevalencia de los genotipos más frecuentes de VPH. En una revisión y metaanálisis realizado por (Drolet M *et al.*, 2019) se analizaron búsquedas en MEDLINE y en bases de datos de estudios publicados entre el 1 de febrero de 2014 y el 11 de octubre de 2018. Los estudios fueron elegidos si comparaban la frecuencia (prevalencia o incidencia) de al menos un punto relacionado con el VPH, tales como (infecciones genitales por VPH, diagnósticos de verrugas anogenitales, o (cervical intraepitelial neoplasia grade 2+) CIN2+ confirmado histológicamente) entre los períodos previo y posterior a la vacunación entre la población general y si utilizaron las mismas fuentes de población y métodos de reclutamiento antes y después de la vacunación. El objetivo principal de los autores fue la de evaluar el riesgo relativo que comparó la frecuencia (prevalencia o incidencia) de los criterios de valoración relacionados con el VPH entre los períodos previo y posterior a la vacunación. Se clasificaron y separaron todos los

análisis por sexo, edad y años desde la introducción de la vacunación contra el VPH. Los resultados de esta revisión mostraron que después de 5 a 8 años de vacunación, la prevalencia del VPH 16 y 18 disminuyó significativamente en un 83%, entre niñas de 13 a 19 años, y disminuyó significativamente a 66% entre mujeres de 20–24 años. La prevalencia del VPH 31, 33 y 45 disminuyó significativamente en un 54% entre niñas de 13 a 19 años. Los diagnósticos de verrugas anogenitales disminuyeron significativamente en un 67% entre niñas de 15 a 19 años, en un 54% entre mujeres de 20 a 24 años, y en un 31% entre mujeres de 25 a 29 años. Entre los niños de 15 a 19 años, los diagnósticos de verrugas anogenitales disminuyeron significativamente en un 48% y entre los hombres de 20 a 24 años en un 32%. Después de 5 a 9 años de vacunación, CIN2+ disminuyó significativamente en un 51% entre las niñas examinadas de 15 a 19 años y disminuyó significativamente en un 31% entre mujeres de 20–24 años.

Diferentes estudios respaldan los resultados obtenidos por Drolet M *et al.*, 2019, los cuales mencionan una gran eficacia y efecto preventivo por parte de la vacuna contra el VPH, previniendo las complicaciones de las infecciones con los genotipos de VPH a los que se dirigen cuando se administran antes de la exposición inicial al virus. A pesar de los beneficios comprobados de la vacuna contra VPH existen complicaciones en países de alto y bajo ingreso que impiden implementar un calendario de vacunación adecuado, esto se debe a la complejidad y cantidad de recursos necesarios para implementar la vacunación generalizada contra VPH, en especial en países de bajos ingresos como México y otros países de América latina. Este factor es determinante para la aplicación de las 3 dosis recomendado por los fabricantes de las diferentes vacunas contra VPH. Un estudio por Aimée R Kreimer *et al.*, 2015, realizó una comparación de los datos resumidos del ensayo de vacunas de Costa Rica (CVT; NCT00128661) y el ensayo PATRICIA (NCT001226810), los cuales son dos ensayos clínicos controlados aleatorios, de doble ciego, de fase 3 de la vacuna con adyuvante HPV-16/18 AS04 en mujeres jóvenes, estos ensayos se combinaron en un análisis post-cohorte (GlaxoSmithKline [GSK] e-track number 202142) que investigo la eficacia de una, dos y tres dosis de la vacuna HPV-16/18. Se calculó la eficacia de la vacuna frente a la detección única de infecciones por

VPH después de tres, dos y una dosis. El criterio principal de valoración del estudio fue la detección única de las primeras infecciones por VPH-16/18 incidentes acumuladas durante la fase de seguimiento se evaluó la eficacia de la vacuna contra la infección incidente por VPH-16/18 en la cohorte vacunada total (22 327 recibieron tres dosis, 1185 dos dosis, 543 una dosis). La eficacia de la vacuna contra las infecciones incidentes por VPH-16/18 para tres dosis fue del 77,0%, dos dosis fue del 76,0% y una dosis fue del 85,7%. La eficacia de la vacuna contra las infecciones incidentes por VPH 31/33/45 para tres dosis fue del 59,7 %, dos dosis fue del 37,7% y una dosis fue 36,6%. La eficacia de la vacuna contra la infección incidente por VPH-16/18 en mujeres que recibieron dos dosis y que recibieron la segunda dosis al mes fue del 75,3% y del 82,6 % para quienes recibieron la segunda dosis a los 6 meses (solo datos CVT). Este estudio comprobó que la vacunación de mujeres de 15 a 25 años, con una y dos dosis de la vacuna VPH-16/18 confiere una protección contra las infecciones cervicales por VPH-16/18, de manera similar a la protección proporcionada por el programa de tres dosis. Además, dos dosis separadas por 6 meses proporcionaron una mayor protección, en comparación a dos dosis separadas por 1 mes, esta observación está respaldado por los resultados de CVT de que las concentraciones de anticuerpos para dos dosis, cuando se administran con al menos 6 meses de diferencia, son muy similares a las de tres dosis. Otro estudio más reciente realizado por Partha Basuet et al., 2021 evaluó participantes vacunadas que se reclutaron entre el 2009 y 2010 (fecha de suspensión de la vacunación), las cuales eran jóvenes solteras de entre 10 y 18 años de nueve centros de la India y se les dio seguimiento durante una mediana de 9,0 años. En este estudio, 4,348 participantes recibieron tres dosis, 4,980 recibieron dos dosis en un periodo de (0 y 6 meses) y 4,949 recibieron una dosis única de la vacuna tetravalente contra el VPH (Gardasil [Merck Sharp & Dohme, Whitehouse Station, NJ, EE. UU.]. La eficacia de la vacuna contra las infecciones persistentes por VPH 16 y 18 (el criterio principal de valoración) se analizó para los receptores de una sola dosis y se comparó con la de los receptores de dos y tres dosis después de ajustar el desequilibrio en la distribución de posibles factores de confusión entre las cohortes no vacunadas y vacunadas. La eficacia de la vacuna contra la infección

por VPH 16 y 18 entre las participantes evaluables para el criterio de valoración fue del 95,4% en la cohorte predeterminada de dosis única (2,135 jóvenes evaluadas), 93,1% en la cohorte de dos dosis (1,452 jóvenes evaluadas), y 93,3% en la cohorte de tres dosis (1460 jóvenes evaluadas), el estudio demostró que una sola dosis de la vacuna contra el VPH brinda una protección similar contra la infección persistente por los VPH 16 y 18, a la que brindan dos o tres dosis.

## **Justificación**

Aunque los programas de detección temprana de cáncer cérvico-uterino se estén aplicando masivamente para reducir su incidencia, morbilidad y mortalidad, sigue constituyendo un problema de salud importante en nuestro país y a nivel mundial. La prevención de comportamientos sexuales de riesgo entre los jóvenes universitarios debe ser una prioridad debido a las consecuencias negativas que representa en su vida, para lo cual es importante conocer los aspectos involucrados por los cuales no llevan a cabo las medidas preventivas a pesar de tener disponibles conocimientos suficientes.

Las estudiantes universitarias son un grupo vulnerable para el desarrollo de depresión y ansiedad por el hecho de estar estudiando una licenciatura y la presión académica propia de cada licenciatura; dentro de las consecuencias de la ansiedad y depresión está el que no llevan a cabo las medidas de autocuidado suficientes para prevenir el contagio de infecciones de transmisión sexual a pesar de contar con los conocimientos adecuados ya que son estudiantes de licenciatura y además del área de la salud.

Finalmente, es de importancia determinar qué porcentaje de estudiantes ha sido vacunada contra infección por VPH, ya que estas pacientes estarían protegidas contra los tipos virales más frecuentes (6, 11, 16 y 18), pero que no contra los demás

serotipos virales. Dadas las características de la población en estudio, se esperaba determinar una menor incidencia de infección que en la población en general, además, de una menor incidencia asociada con un nivel de inmunoglobulinas en circulación indicando una protección contra la infección.

## **Planteamiento del Problema**

¿Cuál será la prevalencia de los diferentes genotipos de VPH en estudiantes universitarias y cuantas de esas universitarias se encuentran vacunadas contra VPH?

## **Hipótesis**

La incidencia de infección por virus del papiloma humano en estudiantes universitarios del área de la salud y biológica de la FES Iztacala será menor, que en la población en general dado el mayor grado de conocimiento sobre métodos de protección y prácticas de alto riesgo, además, coincidiendo con mayores niveles de anticuerpos en circulación ya que al tener mayor conocimiento de la vacunación, presentaran un mayor estado de protección contra la infección por VPH.

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

Determinar la incidencia de infección por virus del papiloma humano entre estudiantes del área de la salud y biológicas de la FES Iztacala y su asociación con niveles de anticuerpos anti-VPH generados por vacunación contra VPH o por la infección con el virus.

### **Objetivos Particulares**

1. Identificar factores de riesgo mediante cuestionarios dirigidos a las pacientes, para la infección por VPH en estudiantes universitarias del FES Iztacala.
2. Determinar la incidencia de infección por VPH mediante técnicas de diagnóstico molecular en estudiantes universitarias del área de la salud y biológicas de la FES Iztacala.
3. Identificar cuáles son los genotipos de VPH más frecuentes es estudiantes universitarias de la FES Iztacala mediante extracción de ADN.
4. Determinar el nivel de anticuerpos IgG anti-VPH 16 y 18 en el suero de las pacientes participantes por medio de la técnica de ELISA.
5. Determinar la correlación entre los distintos grupos de vacunación, una, dos y tres dosis de la vacuna contra VPH.

## **Materiales y Métodos**

### **Población a estudiar**

El estudio estuvo conformado por ciento veintinueve alumnas que acudieron a consulta ginecológica en la Clínica Universitaria de Salud Integral (CUSI) ubicada en la FES Iztacala, la colecta de los datos comenzó en marzo del 2017, y terminó en abril de 2019. Todos los datos recolectados y las muestras biológicas tomadas fueron obtenidos previo a la firma del consentimiento informado. Este estudio se realizó también con la con la aprobación de la comisión de Ética de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (FESI). Los datos clínicos del estudio se extrajeron de la historia clínica de cada paciente.

### **Extracción de ADN a partir de células cervicales**

La recolección de células epiteliales cervicales de las pacientes, que acudieron a consulta ginecológica en la Clínica Universitaria de Salud Integral (CUSI) ubicada en la FES Iztacala, se realizó mediante raspado de la región del cérvix con la utilización de hisopos con punta espuma Catch-All™ (Epicenter Biotechnologies, Madison, WI, EE. UU.). Para la extracción del ADN cervical de cada una de las muestras, se utilizó el kit de extracción de ADN, BuccalAmp™ DNA Extraction Kit (Epicenter Biotechnologies), las muestras obtenidas se procesaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se giró el hisopo 5 veces en 500 µl de la solución de extracción BuccalAmp™ DNA Extraction Kit, y se presionó el hisopo contra la pared del tubo La muestra se incubó a 65°C durante 2 minutos, se agitó y se hirvió durante 1 minuto.

## Genotipificación viral

### Amplificación del ADN Viral

A partir del ADN extraído de las muestras de las pacientes, mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se amplificó la región L1 del genoma del VPH con la utilización de *primers* específicos y que han sido utilizados para la genotipificación viral, además, se amplificó una región del gen de la beta actina humana como gen de referencia y control de amplificación de las muestras analizadas. Los *primers* que se utilizaron fueron:

#### L1C1/L1C2:

**Fw:** (5' CGT-AAA-CGT-TTT-CCC-TAT-TTT-TTT 3'),

**Rev:** (5' TAC-CCT-AAA-TACT-CTG-TAT-TG 3')

#### GP5+/ GP56+:

**Fw:** (5' TTT-GTT-ACT-GTG-GTA-GAT-ACT-AC3'),

**Rev:** (5' GAA-AAA-TAA-ACT-GTA-AAT-CAT-ATT-C 3')

#### Actina:

**Fw:** (5' GCA-CAG-GGA-CAT-AAT-AAT-GG 3'),

**Rev:** (5' CGT-CCA-AAA-GGA-AAC-TGA-TC 3')

La amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa se realizó con una mezcla de reacción de 50 µl.

**Tabla II. Concentración individual por muestra de la Reacción PCR.**

| <b>Reacción PCR</b>             |                      |                         |
|---------------------------------|----------------------|-------------------------|
| <b>Componente</b>               | <b>Concentración</b> | <b>Volumen por tubo</b> |
| Buffer Taq Polimerasa           | 5X                   | 3.0 µl                  |
| MgCl <sub>2</sub>               | [25 mM]              | 1.5 µl                  |
| dNTPs                           | [10 mM]              | 1 µl                    |
| Primer Fw                       | [10 mM]              | 2 µl                    |
| Primer Rv                       | [10 mM]              | 0.2 µl                  |
| Taq Polimerasa (Go Taq Promega) | 5 u/µl               | 0.2 µl                  |
| H <sub>2</sub> O                |                      | 7.9 µl                  |
| Templado (DNA de las pacientes) | 100 ng/µl            | 1 µl                    |

El programa de amplificación que se utilizó fue el siguiente:

**Tabla III. Programa de Amplificación Térmico.**

| <b>Programa PCR</b>       |               |                    |               |
|---------------------------|---------------|--------------------|---------------|
| <b>Proceso</b>            | <b>Ciclos</b> | <b>Temperatura</b> | <b>Tiempo</b> |
| Desnaturalización Inicial | 1             | 95°C               | 10:00 min     |
| Desnaturalización         | 40            | 95°C               | 00:45 seg     |
| Alineamiento              |               | 50°C               | 00:55 seg     |
| Extensión                 |               | 72°C               | 01:00 min     |
| Extensión final           | 1             | 72°C               | 10:00 min     |
| -                         | 1             | 4°C                | ∞             |

## **Purificación de los Productos de PCR**

Los productos obtenidos de la PCR fueron separados electroforéticamente en geles de agarosa al 1.5%: Las bandas correspondientes a los amplicones esperados fueron cortadas, y posteriormente fue purificado el ADN utilizando el kit gel Wizard PCR Clean-up System (Promega) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

## **Purificación de los productos de PCR**

Para separar los productos de la PCR del gel de agarosa, posterior a la electroforesis, se colocaron las rebanadas del gel en un tubo de microcentrífuga de 1.5ml, se agregaron 10 µl de solución de unión a membrana por cada 10 mg de porción de gel. La mezcla se llevó al vórtex y se mantuvo en incubación a 50–65 °C hasta que el gel se disolvió por completo. Una vez disuelto, se agregó un volumen igual de solución de unión a membrana. Posterior a eso, se colocó una mini columna SV en el tubo de recolección, por el cual se transfirió la mezcla del gel disuelto, se dejó Incubar a temperatura ambiente durante 1 minuto. Pasado el minuto de incubación, la muestra se llevó a centrifugar a 12500 rpm durante 1 minuto, se decantó el líquido del tubo se volvió a insertar la mini columna en el tubo de recolección. Se agregaron 700 µl de solución de lavado de membrana (contiene etanol), y se llevó a centrifugar a 12500 rpm durante 1 minuto, se deshecho el líquido y se volvió a insertar la mini columna en el tubo de recolección, se volvió a repetir el paso anterior pero ahora agregando 500 µl de solución de lavado de membrana, y centrifugando a 12500 rpm durante 5 minutos, al término de la centrifugación, se vació el tubo de recolección, se volvió a centrifugar la columna durante 1 minuto con la tapa de la microcentrífuga abierta para permitir la evaporación del etanol residual, luego se transfirió la columna a un tubo de microcentrífuga limpio de 1.5 ml, se agregaron 50 µl de agua libre de nucleasas y se dejó en incubación a temperatura ambiente durante 1 minuto, al término del minuto se centrifugo a 12500

rpm durante 1 minuto. Al término de la centrifugación, se desechó la mini columna y se amaceno el ADN a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Cada producto se utilizó como templado para realizar una reacción de secuenciación con el kit de secuenciación BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems, Austin, TX, EE. UU.), de acuerdo con los procedimientos del fabricante. Las secuencias se analizaron utilizando el sistema ABI PRISM 310 (Applied Biosystems) en Macrogen Inc (Corea).

Los datos de la secuencia obtenidos mediante secuenciación automática de ADN fueron analizados usando la herramienta BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>, consultado en 2019-2020) para la determinación de los genotipos de VPH.

### **ELISA para detección de anticuerpos anti-VPH**

Los anticuerpos de las pacientes contra el VPH fueron medidos utilizando un ensayo inmuno-absorbente ligado a enzima (ELISA) basado en VLP's según las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS).<sup>83</sup> Las placas Maxisorp Nunc-Immuno (Thermo Fisher Scientific, MA, EE.UU.) se recubrieron con  $1\ \mu\text{g/ml}$  de proteína recombinante L1 de la cápside viral de HPV-16 (Abcam, Cat. Ab119880) o HPV-18 (Abcam, Cat. Ab119881) en solución salina *buffer* con fosfato (PBS), pH 7,2 a  $4^{\circ}\text{C}$  durante la noche. Las placas fueron bloqueadas con un diluyente de ensayo comercial para ELISA (Biolegend, Cat. 421203) a  $4^{\circ}\text{C}$  durante la noche. Las placas se incubaron con muestras de suero diluidas 1: 1000 en diluyente de ensayo ELISA durante 2 horas a  $4^{\circ}\text{C}$ . Después de lavar los pocillos 5 veces con PBS que contenía Tween 20 al 0,1% (Sigma-Aldrich), se agregó un anticuerpo de cabra anti IgG conjugado con HRP (Abcam, Cat. Ab6858) diluido 1: 7500 y se incubó a temperatura ambiente durante 1 h. Después de un ciclo de lavado adicional, se añadió el sustrato de ELISA TMB (Abcam, Cat. Ab171527) y se

incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos, seguido de la adición de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1M para detener la reacción.

La absorbancia fue medida a 490 nm en un lector de placas de ELISA. Para controlar la variación Inter-ensayo e intra ensayo se incluyó un mismo suero positivo como control de referencia, diluido de la misma forma que las muestras en cada placa ELISA. Dicho suero fue identificado durante el proceso de optimización del inmunoensayo.

Para el análisis de datos, primero se calculó el valor absoluto de absorbancia restando la densidad óptica del blanco promedio de la densidad óptica de cada muestra. Luego se obtuvo una razón de absorbancia normalizada (NAR) dividiendo el valor de Densidad Óptica absoluto de cada muestra por la Densidad Óptica media absoluta del suero de control positivo incluido en la misma placa, de forma similar a lo reportado por Ramanakumar et al,<sup>84</sup> destinado a reducir el efecto de las variaciones Inter-ensayo e intra-ensayo. Los puntos de corte de la seropositividad se determinaron con el valor medio más tres desviaciones estándar de los valores medios obtenidos de dos individuos negativos para anticuerpos anti-VPH.

### **Análisis de mapa de calor**

Para el análisis de seropositividad para VPH16 y VPH18 frente al estado de vacunación e infecciones se analizaron los resultados generando un mapa de calor con el software Heatmapper (<http://www.heatmapper.ca>)<sup>85</sup>.

### **Análisis Estadístico**

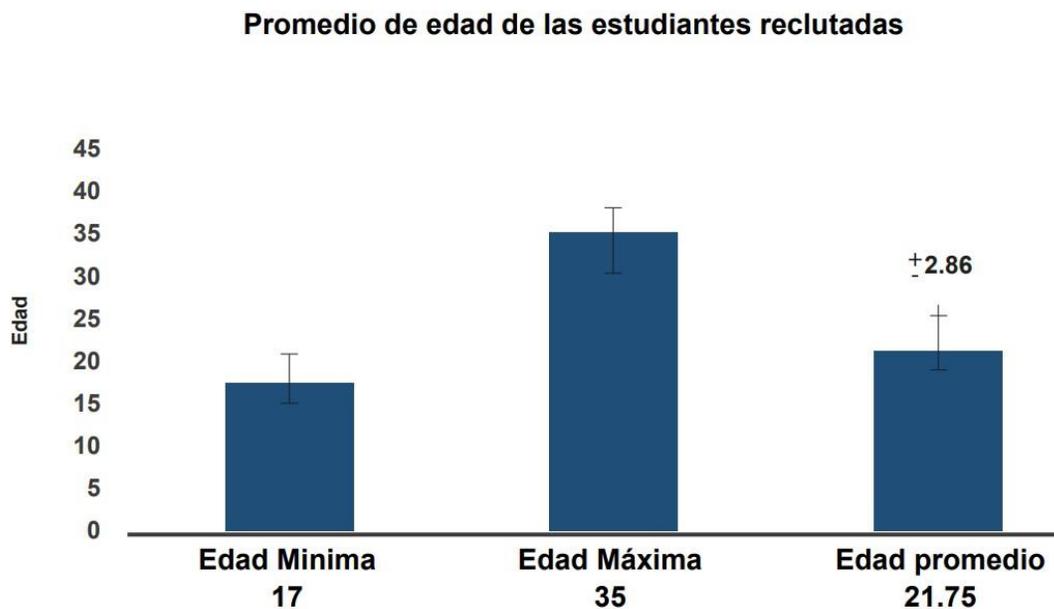
El análisis estadístico se realizó con el software del paquete estadístico GraphPad Prism 7.0. Los datos del estudio se expresaron en términos de media aritmética, desviación estándar, número y porcentaje. Las diferencias entre la prevalencia se

analizaron mediante la prueba exacta de Fisher. Los valores de p inferiores a 0,05 se consideraron estadísticamente significativos (\* P <0,05; \*\* P <0,01; \*\*\* P <0,001).

## Resultados

### Estudio de Población

Se reclutaron un total de 129 estudiantes de forma voluntaria, de las diferentes carreras de la FES Iztacala, las cuales se encontraban en un rango de edad de entre 17 a 35 años, con una edad promedio de  $21,75 \pm 2,86$  (Figura 4).



**Figura 4: Promedio de edades de las estudiantes reclutadas.** Promedio de edad de las 129 estudiantes que participaron en el estudio, con un rango de edad entre 17 y 35 años, siendo la edad promedio de  $21,75 \pm 2,86$  años.

Las 129 estudiantes que participaron en el estudio pertenecían a las siguientes carreras: Psicología (30,2%) Biología (25%), Medicina (18,4%), Odontología (14,4%) y Optometría (12%). Las características clínicas de las pacientes se agrupan en la **Tabla IV**.

**Tabla IV: Características Clínicas de las Estudiantes.**

| Muestra | Genotipo de VPH | Riesgo Asociado al Genotipo de VPH | Edad | Edad Inicial de la Actividad Sexual | Numero de Parejas Sexuales | Dosis de la Vacuna | Metodo anticonceptivo              | Motivo de la Consulta médica               |
|---------|-----------------|------------------------------------|------|-------------------------------------|----------------------------|--------------------|------------------------------------|--|
| M 1     | 18              | Alto                               | 18   | 15                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica                    |
| M 2     | 18              | Alto                               | 19   | 17                                  | 8                          | 0                  | Condon                             | DIU  |
| M 3     | 51              | Alto                               | 21   | 17                                  | 10                         | 0                  | Anticonceptivo Oral                | Infección vaginal y condilomatosis         |
| M 4     | Negativo        | Negativo                           | 22   | 15                                  | 3                          | 0                  | Anticonceptivo Oral                | Anticonceptivo subdérmico                  |
| M 5     | 31              | Alto                               | 22   | 14                                  | 5                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica                    |
| M 6     | Negativo        | Negativo                           | 20   | 17                                  | 4                          | 2                  | Condon                             | Evaluación ginecológica                    |
| M 7     | 6               | Bajo                               | 22   | 15                                  | 3                          | 0                  | DIU                                | Tamizaje cervical                          |
| M 8     | 6               | Bajo                               | 24   | 16                                  | 4                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical                          |
| M 9     | 16              | Alto                               | 19   | 16                                  | Desconocido                | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical                          |
| M 10    | 18              | Alto                               | 19   | 17                                  | 4                          | 2                  | Ninguno                            | Infeccion vaginal                          |
| M 11    | 51              | Alto                               | 25   | 17                                  | 10                         | 0                  | DIU y Condon                       | Tamizaje cervical                          |
| M 12    | 53              | Bajo                               | 19   | 16                                  | 6                          | 0                  | Ninguno                            | Infeccion vaginal                          |
| M 13    | 6               | Bajo                               | 19   | 14                                  | 3                          | 1                  | Condon e Inyeccion Anticonceptiva  | Tamizaje cervical                          |
| M 14    | 6               | Bajo                               | 22   | 20                                  | 12                         | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical                          |
| M 15    | 68              | Alto                               | 21   | 18                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica                    |
| M 16    | 18              | Alto                               | 19   | 16                                  | Desconocido                | 0                  | Anticonceptivo subdérmico y Condon | Infeccion vaginal                          |
| M 17    | Negativo        | Negativo                           | 24   | 20                                  | 2                          | 1                  | Condon                             | Tamizaje cervical                          |
| M 18    | Negativo        | Negativo                           | 21   | 14                                  | 4                          | 2                  | Condon                             | Tamizaje cervical                          |
| M 19    | 18              | Alto                               | 22   | 18                                  | 7                          | 1                  | Condon                             | Condilomatosis                             |
| M 20    | 51              | Alto                               | 20   | 19                                  | Desconocido                | 0                  | Ninguno                            | Infeccion vaginal                          |
| M 21    | 31              | Alto                               | 20   | 17                                  | 1                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica                    |
| M 22    | Negativo        | Negativo                           | 24   | 17                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | Infeccion vaginal                          |
| M 23    | Negativo        | Negativo                           | 23   | 16                                  | 4                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical                          |
| M 24    | 16              | Alto                               | 23   | 18                                  | 6                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical                          |
| M 25    | 31              | Alto                               | 24   | 19                                  | 3                          | 2                  | Condon                             | Infeccion Vaginal                          |
| M 26    | Negativo        | Negativo                           | 19   | 17                                  | 2                          | 1                  | Condon                             | DIU  |
| M 27    | 59              | Alto                               | 19   | 17                                  | 6                          | 2                  | Condon                             | Infeccion Vaginal                          |
| M 28    | 16              | Alto                               | 21   | 16                                  | 6                          | 0                  | DIU y Condon                       | Tamizaje cervical                          |
| M 29    | 59              | Alto                               | 19   | 15                                  | 1                          | 2                  | Condon                             | Evaluación ginecológica                    |
| M 30    | Negativo        | Negativo                           | 19   | 17                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | Infeccion vaginal                          |
| M 31    | 51              | Alto                               | 22   | 20                                  | 4                          | 0                  | Ninguno                            | Tamizaje cervical                          |
| M 32    | 51              | Alto                               | 18   | 17                                  | 6                          | 3                  | Condon                             | Infeccion vaginal                          |
| M 33    | 66              | ?                                  | 19   | 17                                  | 1                          | 1                  | Anticonceptivo subdérmico          | Tamizaje cervical                          |
| M 34    | 51              | Alto                               | 19   | 16                                  | 5                          | 0                  | Ninguno                            | Estudio de papanicolaou                    |
| M 35    | Negativo        | Negativo                           | 18   | 18                                  | 1                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica                    |
| M 36    | 16              | Alto                               | 21   | 20                                  | 2                          | 1                  | Condon                             | Infeccion vaginal                          |
| M 37    | 18              | Alto                               | 19   | 17                                  | 1                          | 3                  | Condon                             | Evaluación ginecológica                    |
| M 38    | 31              | Alto                               | 24   | 19                                  | 4                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical                          |
| M 39    | 31              | Alto                               | 20   | 18                                  | 1                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica                    |
| M 40    | 6               | Bajo                               | 20   | 18                                  | 1                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica                    |
| M 41    | 16              | Alto                               | 23   | 21                                  | 1                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica por lesión en mama |
| M 42    | 31              | Alto                               | 20   | 16                                  | 4                          | 0                  | Anticonceptivo Oral y Condon       | Condilomatosis                             |
| M 43    | 51              | Alto                               | 20   | 16                                  | 5                          | 2                  | Condon                             | Condilomatosis                             |
| M 44    | 18              | Alto                               | 20   | 16                                  | 5                          | 0                  | Condon                             | Infeccion vaginal                          |
| M 45    | 6               | Bajo                               | 21   | 19                                  | 4                          | 2                  | Condon                             | Evaluación ginecológica                    |
| M 46    | Negativo        | Negativo                           | 22   | 17                                  | 6                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical                          |
| M 47    | 18              | Alto                               | 19   | 16                                  | 6                          | 1                  | Anticonceptivo subdérmico          | Condilomatosis                             |
| M 48    | 16              | Alto                               | 19   | 18                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | Infeccion vaginal                          |
| M 49    | 31              | Alto                               | 24   | 19                                  | 2                          | 0                  | DIU                                | Evaluación ginecológica                    |
| M 50    | Negativo        | Negativo                           | 23   | 16                                  | 3                          | 2                  | Ninguno                            | Tamizaje cervical                          |
| M 51    | Negativo        | Negativo                           | 23   | 21                                  | 1                          | 0                  | Condon                             | Condilomatosis                             |
| M 52    | 6               | Bajo                               | 22   | 18                                  | 3                          | 0                  | Ninguno                            | DIU  |
| M 53    | 16              | Alto                               | 21   | 18                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | Condilomatosis                             |
| M 54    | Negativo        | Negativo                           | 19   | 18                                  | 1                          | 1                  | Ninguno                            | Infeccion vaginal                          |
| M 55    | 31              | Alto                               | 17   | 16                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical                          |
| M 56    | 31              | Alto                               | 21   | 20                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | DIU  |
| M 57    | Negativo        | Negativo                           | 21   | 15                                  | 3                          | 1                  | Condon                             | Tamizaje cervical                          |
| M 58    | 51              | Alto                               | 18   | 16                                  | 2                          | 2                  | Condon                             | Tamizaje cervical                          |
| M 59    | 51              | Alto                               | 22   | 17                                  | 4                          | 0                  | Condon                             | Condilomatosis                             |
| M 60    | Negativo        | Negativo                           | 24   | 20                                  | 2                          | 0                  | Ninguno                            | Tamizaje cervical                          |
| M 61    | Negativo        | Negativo                           | 35   | 18                                  | 8                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica                    |
| M 62    | 18              | Alto                               | 25   | 15                                  | 15                         | 0                  | DIU                                | Tamizaje cervical                          |
| M 63    | Negativo        | Negativo                           | 24   | 20                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | DIU  |
| M 64    | 59              | Alto                               | 23   | 15                                  | 7                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical                          |
| M 65    | 31              | Alto                               | 19   | 14                                  | 29                         | 0                  | DIU                                | Tamizaje cervical                          |
| M 66    | 18              | Alto                               | 22   | 17                                  | 3                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica                    |
| M 67    | 11              | Bajo                               | 23   | 15                                  | 5                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica                    |
| M 68    | 6               | Bajo                               | 22   | 16                                  | 5                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical                          |
| M 69    | Negativo        | Negativo                           | 19   | 18                                  | 3                          | 0                  | Condon                             | Anticonceptivo subdérmico                  |

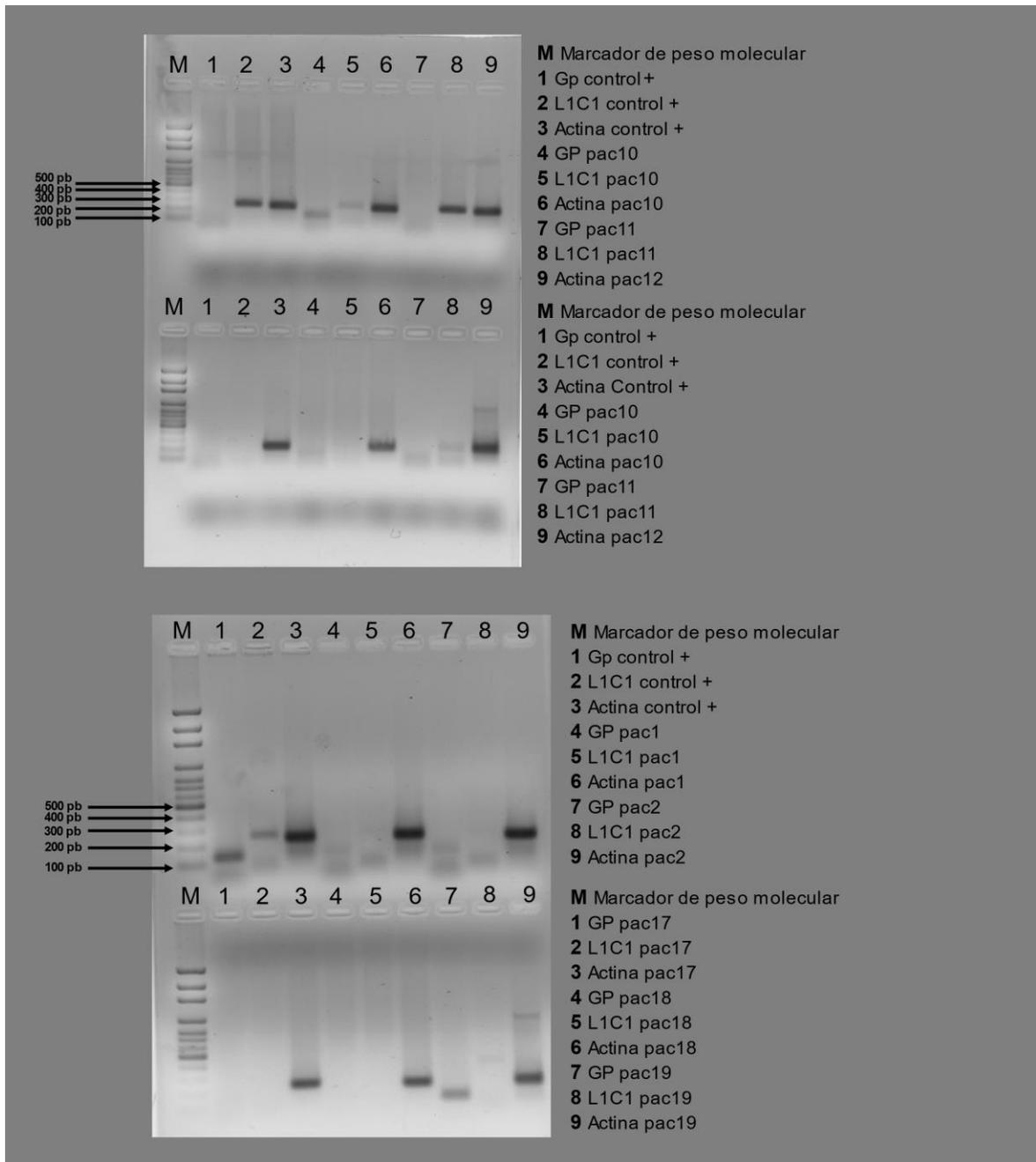
**Tabla IV: Continuación Características Clínicas de las Estudiantes.**

| Muestra | Genotipo de VPH | Riesgo Asociado al Genotipo de VPH | Edad | Edad Inicial de la Actividad Sexual | Numero de Parejas Sexuales | Dosis de la Vacuna | Metodo anticonceptivo              | Motivo de la Consulta médica |
|---------|-----------------|------------------------------------|------|-------------------------------------|----------------------------|--------------------|------------------------------------|------------------------------|
| M 70    | Negativo        | Negativo                           | 20   | 21                                  | 1                          | 0                  | Condon                             | Infeccion vaginal            |
| M 71    | 59              | Alto                               | 18   | 17                                  | 2                          | 2                  | Condon                             | Condilomatosis               |
| M 72    | 31              | Alto                               | 25   | 16                                  | 10                         | 1                  | Anticonceptivo subdérnico y Condon | Tamizaje cervical            |
| M 73    | 39              | Alto                               | 22   | 17                                  | 1                          | 0                  | Condon                             | Infeccion Vaginal            |
| M 74    | 16              | Alto                               | 24   | 15                                  | 3                          | 0                  | Anticonceptivo Oral                | Evaluación ginecológica      |
| M 75    | Negativo        | Negativo                           | 21   | 20                                  | 1                          | 2                  | Condon                             | Prueba de embarazo           |
| M 76    | 18              | Alto                               | 25   | 18                                  | 4                          | 0                  | Condon                             | Infeccion Vaginal            |
| M 77    | 45              | Alto                               | 23   | 22                                  | 1                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical            |
| M 78    | 18              | Alto                               | 22   | 17                                  | 9                          | 0                  | DIU                                | Infeccion vaginal            |
| M 79    | 18              | Alto                               | 26   | 15                                  | 5                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica      |
| M 80    | 6               | Bajo                               | 20   | 14                                  | 8                          | 0                  | Condon                             | DIU                          |
| M 81    | 6               | Bajo                               | 21   | 16                                  | 5                          | 1                  | Condon                             | Evaluación ginecológica      |
| M 82    | 11              | Bajo                               | 22   | 16                                  | 10                         | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical            |
| M 83    | Negativo        | Negativo                           | 26   | 18                                  | 10                         | 0                  | DIU                                | Tamizaje cervical            |
| M 84    | 16              | Alto                               | 19   | 17                                  | 1                          | 1                  | Condon                             | Infeccion vaginal            |
| M 85    | 16              | Alto                               | 20   | 15                                  | 3                          | 2                  | Condon                             | Infeccion vaginal            |
| M 86    | 18              | Alto                               | 28   | 17                                  | 1                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica      |
| M 87    | 31              | Alto                               | 28   | 24                                  | 5                          | 0                  | Condon                             | Infeccion vaginal            |
| M 88    | 6               | Bajo                               | 25   | 17                                  | 2                          | 0                  | Inyección anticonceptiva           | Anticonceptivo subdérnico    |
| M 89    | 6               | Bajo                               | 19   | 16                                  | 1                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical            |
| M 90    | 16              | Alto                               | 23   | 15                                  | 7                          | 1                  | DIU                                | Tamizaje cervical            |
| M 91    | 18              | Alto                               | 21   | 14                                  | 5                          | 0                  | DIU                                | Tamizaje cervical            |
| M 92    | 6               | Bajo                               | 18   | 15                                  | 7                          | 0                  | Ninguno                            | Condilomatosis               |
| M 93    | Negativo        | Negativo                           | 23   | 16                                  | 3                          | 0                  | Condon                             | DIU                          |
| M 94    | 6               | Bajo                               | 24   | 19                                  | 2                          | 0                  | Anticonceptivo oral y Condon       | Evaluación ginecológica      |
| M 95    | Negativo        | Negativo                           | 25   | 21                                  | 2                          | 0                  | Anticonceptivo Oral                | Estudio de papanicolaou      |
| M 96    | Negativo        | Negativo                           | 28   | 21                                  | 6                          | 0                  | Anticonceptivo Oral y Condon       | Tamizaje cervical            |
| M 97    | 11              | Bajo                               | 19   | 15                                  | 2                          | 1                  | Condon                             | Evaluación ginecológica      |
| M 98    | 59              | Alto                               | 24   | 18                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical            |
| M 99    | 59              | Alto                               | 24   | 17                                  | 1                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical            |
| M 100   | 51              | Alto                               | 23   | 17                                  | 4                          | 0                  | Condon                             | Condilomatosis               |
| M 101   | Negativo        | Negativo                           | 29   | 19                                  | 20                         | 3                  | Condon                             | Tamizaje cervical            |
| M 102   | 51              | Alto                               | 20   | 18                                  | 2                          | 2                  | Condon                             | Tamizaje cervical            |
| M 103   | 11              | Bajo                               | 18   | 15                                  | 1                          | 0                  | Condon                             | Condilomatosis               |
| M 104   | Negativo        | Negativo                           | 21   | 20                                  | 3                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica      |
| M 105   | Negativo        | Negativo                           | 22   | 16                                  | 3                          | 0                  | DIU                                | Evaluación ginecológica      |
| M 106   | Negativo        | Negativo                           | 27   | 16                                  | 1                          | 0                  | Anticonceptivo Oral                | Tamizaje cervical            |
| M 107   | 11              | Bajo                               | 17   | 16                                  | 1                          | 2                  | Condon                             | Evaluación ginecológica      |
| M 108   | 6               | Bajo                               | 27   | 17                                  | 4                          | 0                  | Anticonceptivo Oral                | Evaluación ginecológica      |
| M 109   | 18              | Alto                               | 24   | 22                                  | 3                          | 1                  | Condon                             | Tamizaje cervical            |
| M 110   | 6               | Bajo                               | 20   | 15                                  | 10                         | 2                  | Condon                             | Condilomatosis               |
| M 111   | 31              | Alto                               | 20   | 17                                  | 2                          | 1                  | Anticonceptivo Oral y Condon       | Anticonceptivo subdérnico    |
| M 112   | 6               | Bajo                               | 23   | 21                                  | 6                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica      |
| M 113   | 59              | Alto                               | 25   | 17                                  | 5                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica      |
| M 114   | Negativo        | Negativo                           |      |                                     |                            |                    | Ninguno                            | Evaluación ginecológica      |
| M 115   | 45              | Alto                               | 20   | 16                                  | 3                          | 2                  | DIU                                | Evaluación ginecológica      |
| M 116   | 90              | ?                                  | 26   | 17                                  | 5                          | 0                  | Ninguno                            | Infeccion vaginal            |
| M 117   | 16              | Alto                               | 25   | 15                                  | 11                         | 1                  | Anticonceptivo subdérnico          | Tamizaje cervical            |
| M 118   | 6               | Bajo                               | 25   | 17                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical            |
| M 119   | 6               | Bajo                               | 24   | 17                                  | 5                          | 0                  | Anticonceptivo subdérnico y Condon | Tamizaje cervical            |
| M 120   | 51              | Alto                               | 24   | 16                                  | 1                          | 0                  | Condon                             | Infeccion vaginal            |
| M 121   | 18              | Alto                               | 20   | 19                                  | 1                          | 2                  | Condon                             | Anticonceptivo subdérnico    |
| M 123   | Negativo        | Negativo                           | 21   | 17                                  | 3                          | 0                  | Anticonceptivo Oral                | Tamizaje cervical            |
| M 125   | Negativo        | Negativo                           | 20   | 18                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica      |
| M 126   | Negativo        | Negativo                           | 20   | 14                                  | 4                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical            |
| M 127   | Negativo        | Negativo                           | 21   | 18                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical            |
| M 128   | 31              | Alto                               | 19   | 16                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | Evaluación ginecológica      |
| M 129   | 18              | Alto                               | 19   | 17                                  | 3                          | 3                  | Anticonceptivo subdérnico          | Evaluación ginecológica      |
| M 124   | 6               | ND                                 | 19   | 16                                  | 2                          | 0                  | Condon                             | Tamizaje cervical            |
| M 122   | 6               |                                    |      |                                     |                            | 0                  | Ninguno                            | Evaluación ginecológica      |

## Detección y tipificación del VPH

Se realizó una PCR de las muestras de DNA extraído a partir de las células cervicales de las 129 estudiantes (**Figura 4**), se observa la amplificación del fragmento esperado (300 pares de bases) en todos los casos positivos. Esto se puede observar cómo L1C1 pac en el pozo número 3, 6, 9 en la (**Figura 4**), se observa las muestras L1C1 en los pozos 5, 6, 8, 9. Todas las muestras analizadas

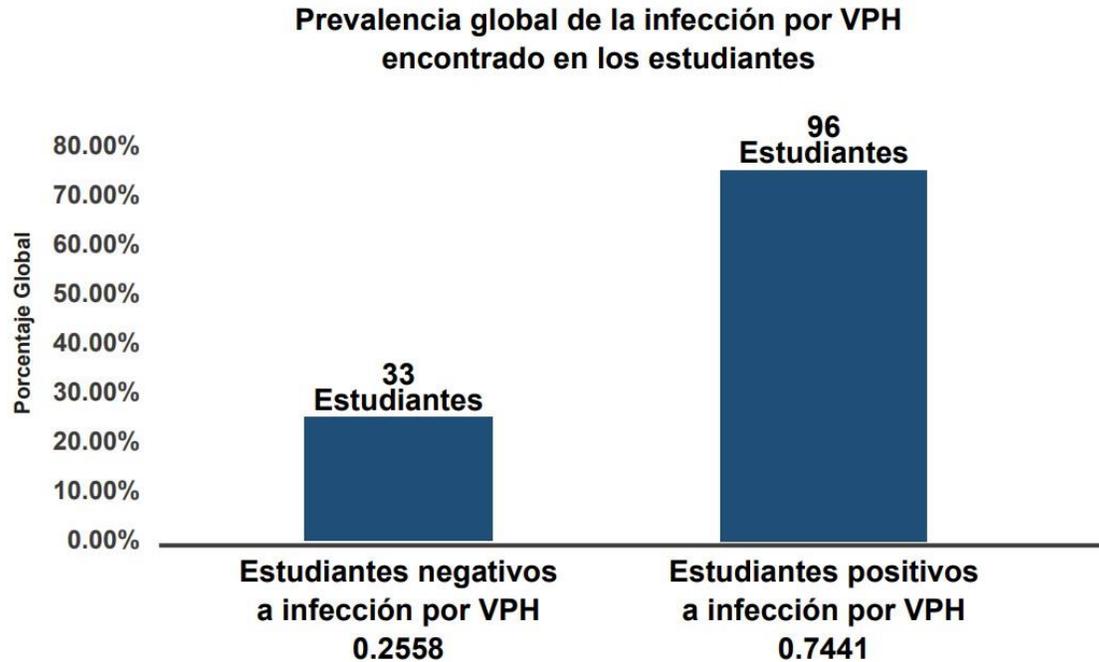
amplificaron con los *primers* para actina, por lo que se consideraron con la calidad suficiente para realizar la PCR con los *primers* específicos para la región del gen L1 de VPH. Las muestras positivas para la amplificación con los *primers* **L1C1/L1C2** y **GP5+/6+** se utilizaron como templado para realizar secuenciación Sanger. Las secuencias se analizaron utilizando el sistema ABI PRISM 310 (Applied Biosystems) en Macrogen Inc (Corea).



**Figura 4:** Productos obtenidos de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), separados electroforéticamente en gels de agarosa al 1.5%.

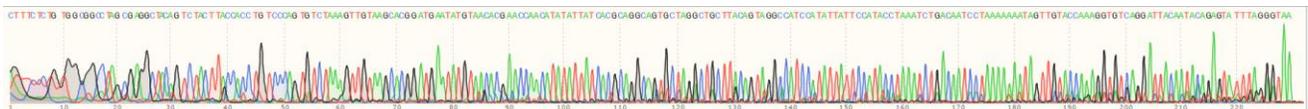
Posterior al corrimiento electroforético de las 129 muestras, se observó que el 25,58% (33 estudiantes) de las pacientes eran negativas para algún genotipo de

VPH, el otro 74,42% (96 estudiantes) resulto ser positivo para algún genotipo de VPH (**Figura 5**).



**Figura 5: Prevalencia global para la Infección por VPH.** La prevalencia de la infección se expresa como frecuencia de todos los casos. De 129 muestras, el 25,58% (33 estudiantes) dieron negativo a VPH y 74,41% (96 estudiantes) dieron positivo a VPH.

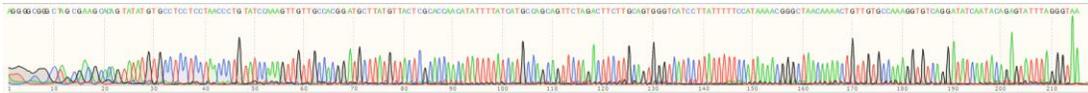
Como se mencionó anteriormente, las muestras positivas fueron secuenciadas para determinar el genotipo viral. Para determinar a qué genotipo viral pertenecía cada muestra, los resultados de la secuenciación Sanger de cada paciente, fueron analizados utilizando la herramienta BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>, consultado en 2019-2020). electroferograma (Imagen 3A,3B,3C, 3D). En las **Imagen 3** se muestran los electroferogramas de las pacientes X, Y, Z y el resultado de la búsqueda de genotipo viral mediante Blast.



**Imagen 3A:** Electroferograma obtenido de la muestra del paciente 5, con datos de la secuencia

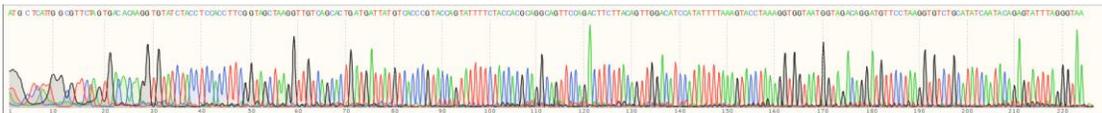
| Organism                                | Blast Name              | Score | Number of Hits | Description                                  |
|---|-------------------------|-------|----------------|--|
| <a href="#">human papillomavirus 31</a> | <a href="#">viruses</a> | 409   | 102            | <a href="#">human papillomavirus 31 hits</a> |

obtenido mediante secuenciación automática de ADN, analizado usando el buscador BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>, consultado en 2019-2020) para los genotipos de VPH tipo 13.



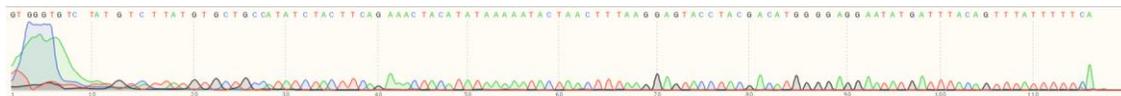
| Organism                       | Blast Name                      | Score | Number of Hits | Description                                       |
|--------------------------------|---------------------------------|-------|----------------|---|
| root                           |                                 |       | 104            |   |
| . synthetic construct          | <a href="#">other sequences</a> | 372   | 1              | <a href="#">synthetic construct hits</a>          |
| . Human papillomavirus type 6  | <a href="#">viruses</a>         | 372   | 101            | <a href="#">Human papillomavirus type 6 hits</a>  |
| . Human papillomavirus type 6a | <a href="#">viruses</a>         | 372   | 1              | <a href="#">Human papillomavirus type 6a hits</a> |
| . Human papillomavirus type 6b | <a href="#">viruses</a>         | 366   | 1              | <a href="#">Human papillomavirus type 6b hits</a> |

**Imagen 3B:** Electroferograma obtenido de la muestra del paciente 13, con datos de la secuencia obtenido mediante secuenciación automática de ADN, analizado usando el buscador BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>, consultado en 2019-2020) para los genotipos de VPH tipo 6.



| Organism                        | Blast Name              | Score | Number of Hits | Description  |
|---------------------------------|-------------------------|-------|----------------|--|
| Papillomaviridae                | <a href="#">viruses</a> |       | 271            |  |
| . Alpha papillomavirus 7        | <a href="#">viruses</a> |       | 270            |  |
| . human papillomavirus 59       | <a href="#">viruses</a> | 390   | 260            | <a href="#">human papillomavirus 59 hits</a>       |
| . human papillomavirus 68       | <a href="#">viruses</a> | 97.1  | 8              | <a href="#">human papillomavirus 68 hits</a>       |
| . Human papillomavirus type 68a | <a href="#">viruses</a> | 91.6  | 2              | <a href="#">Human papillomavirus type 68a hits</a> |
| . Human papillomavirus          | <a href="#">viruses</a> | 348   | 1              | <a href="#">Human papillomavirus hits</a>          |

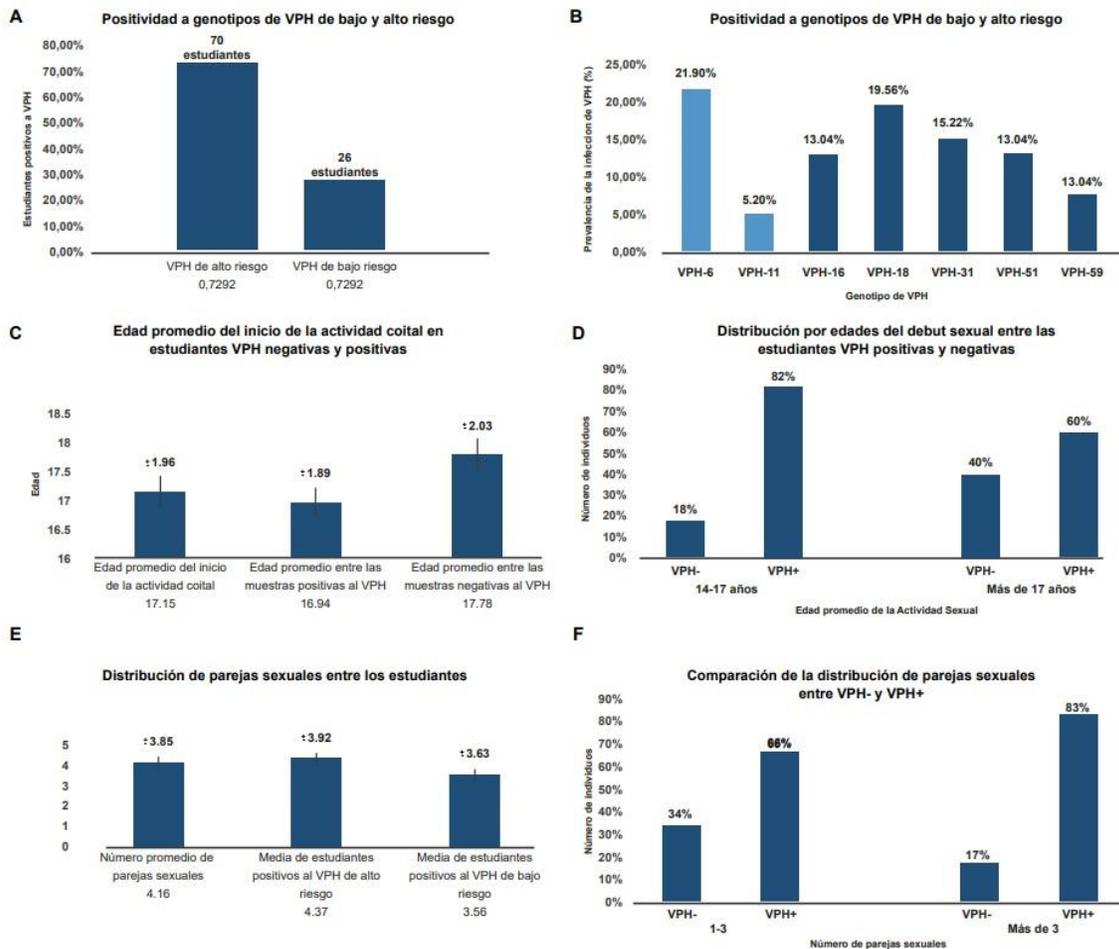
**Imagen 3C:** Electroferograma obtenido de la muestra del paciente 29, con datos de la secuencia obtenido mediante secuenciación automática de ADN, analizado usando el buscador BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>, consultado en 2019-2020) para los genotipos de VPH tipo 68.



| Organism                       | Blast Name              | Score | Number of Hits | Description                                       |
|--------------------------------|-------------------------|-------|----------------|---|
| Papillomaviridae               | <a href="#">viruses</a> |       | 101            |   |
| . Human papillomavirus type 16 | <a href="#">viruses</a> | 193   | 99             | <a href="#">Human papillomavirus type 16 hits</a> |
| . Human papillomavirus         | <a href="#">viruses</a> | 193   | 2              | <a href="#">Human papillomavirus hits</a>         |

**Imagen 3D:** Electroferograma obtenido de la muestra del paciente 28, con datos de la secuencia obtenida mediante secuenciación automática de ADN, analizado usando el buscador BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>, consultado en 2019-2020) para los genotipos de VPH tipo 16.

Se encontró que, entre las estudiantes positivas para VPH, 70 presentaron un genotipo de VPH de alto riesgo, lo que representa el 72,92% de las infecciones, y 26 estudiantes fueron positivas para los genotipos de VPH de bajo riesgo lo que representa el 27.04% (**Figura 6A**).



**Figura 6**

**A: Genotipos Virales más frecuentes, son los de alto riesgo.** De 96 muestras positivas para VPH, el 72,92% (70 pacientes) fueron positivas para VPH de alto riesgo y el 27,08% (26 muestras) positivas para VPH de bajo riesgo. **B: Comparación de los genotipos de VPH más frecuentes detectados en las muestras positivas para VPH.** Comparación de los genotipos de VPH más comunes detectados en todas las muestras positivas a VPH VPH-6 21,9%, VPH-11 5,2%, VPH-16 13,04%, VPH-18 19,56%, VPH-31 15,22%, VPH-51 13,04% y VPH-59 7,6%. **C: Distribución de edades, en el debut sexual de las estudiantes, considerando muestras positivas y negativas para infección por VPH.** La edad promedio de inicio de la actividad coital 17,15 ± 1,96 años. La edad promedio del coito entre las muestras positivas al VPH fue de 16,94 ± 1,89 y de 17,78 ± 2,03 para las muestras negativas al VPH. El estudio mostró asociaciones estadísticamente significativas

entre la presencia de infección genital por VPH y la edad temprana en el acto coital ( $P = 0,03$ ). **D: Distribución por edades del debut sexual entre las estudiantes VPH positivas y negativas.** La media de edad del inicio de la actividad sexual para VPH- fue de 17,5 años y para las estudiantes con VPH positivo fue de 17 años, que se utilizaron como valor de corte para los grupos de las estudiantes por edad. La prueba exacta de Fisher mostró que las estudiantes mayores de 17 años tienen un mayor riesgo de infección por VPH ( $p = 0,016$ ). **E: Distribución de parejas sexuales en estudiantes positivas a VPH.** El número promedio de parejas sexuales fue de  $4,16 \pm 3,85$ . La media de parejas sexuales entre las estudiantes positivas al VPH de alto riesgo fueron de  $4,37 \pm 3,92$  y de  $3,56 \pm 3,63$  en las muestras positivas al VPH de bajo riesgo. El estudio mostró asociaciones estadísticamente significativas con el mayor número de parejas sexuales de por vida. **F: Comparación de la distribución de parejas sexuales entre estudiantes positivas y negativas para VPH.** Comparación de la distribución de parejas sexuales entre las estudiantes con VPH- y VPH+ mostró una asociación estadísticamente significativa entre la infección por VPH y un mayor número de parejas sexuales de por vida (prueba exacta de Fisher,  $p = 0,038$ ). El valor de corte fue el número medio de parejas sexuales de por vida que fue de 3 para las estudiantes con VPH- y de 3,5 para las niñas con VPH+.

Los resultados indicaron que las frecuencias de infección con los genotipos 6 y 11 de VPH de bajo riesgo fueron 21,9% (21 estudiantes) y 5,2% (5 estudiantes), respectivamente. Además, se observó que una alta proporción de las muestras positivas para VPH estaban infectadas con genotipos de alto riesgo. Con respecto a la distribución de genotipos, el primer lugar en frecuencia fue el VPH-18 (19,56%), el VPH-31 fue el segundo genotipo más frecuente (15,22%), seguido por VPH-51 (13,04%), VPH-16 (13,04%) y VPH-59 (7,6%) (**Figura 6B**). Para tratar de explicar las posibles causas de la infección en estas pacientes, se estableció una correlación con la edad de inicio de la vida sexual. La edad promedio de inicio de la actividad coital fue de  $17,15 \pm 1,96$  años. Entre los casos positivos y negativos para el VPH, la edad promedio del acto coital fue de  $17,78 \pm 2,03$  y  $16,94 \pm 1,89$ , respectivamente (**Figura 6C**). Para analizar si existía una asociación entre la edad de inicio de la actividad coital y la infección genital por VPH, separamos la población de estudiantes en dos grupos de edad, el valor de corte para la distribución por edades fue la media de edad de 17,5 años para el grupo de VPH- y 17 para las estudiantes con VPH+. Encontramos una asociación estadísticamente significativa ( $p = 0,016$ ) entre la edad temprana en la actividad sexual y la presencia de infección por VPH (**Figura 6D**). El estudio mostró asociaciones estadísticamente significativas entre la edad temprana del acto sexual ( $p = 0,03$ ), y un número creciente de parejas sexuales de a lo largo de su vida ( $P = 0,01$ ) con la infección genital de alto riesgo por VPH. En cuanto al número de parejas sexuales a lo largo de su vida por vida, la

media fue de  $4,16 \pm 3,85$  para todo el grupo. Para las estudiantes con VPH negativo, el número promedio de parejas sexuales fue de  $3,56 \pm 3,63$  y para el grupo de VPH Positivo fue de  $4,37 \pm 3,92$  (**Figura 6E**). Hubo una asociación significativa entre la infección por VPH y el número de parejas sexuales de por vida ( $p=0.038$ ). El valor de corte para la distribución fue el número medio de parejas sexuales que fue de 3 para las estudiantes con VPH- y de 3,5 para las estudiantes con VPH + (**Figura 6F**).

### **Niveles de anticuerpos séricos en grupos vacunados y no vacunados**

De las 129 estudiantes inscritas, 38 informaron haber recibido al menos una vacuna contra el VPH y se clasificaron como vacunadas. Mientras que 86 no fueron vacunadas y 5 no tienen registro. El porcentaje de vacunación fue del 30,6%. Entre las estudiantes vacunadas, 17 (13.7%) habían recibido una dosis; 17 (13.7%) habían recibido dos dosis y sólo 4 (3.2%) habían recibido la tercera dosis (**Tabla V**).

La media de edad en las estudiantes no vacunadas fue dos años mayor que en el grupo vacunado. El análisis de la conducta sexual indica que la edad media de inicio de la actividad coital y el número medio de parejas sexuales de por vida no fueron significativamente diferentes entre las estudiantes vacunadas y no vacunadas (prueba T  $P = 0,245$  y  $P = 0,822$ , respectivamente). Las muestras vaginales tenían una prevalencia para cualquier genotipo de VPH del 74 %, con una prevalencia comparable entre los grupos de no vacunadas y vacunadas (72 % frente a 79 %,  $P= 0,322$  prueba exacta de Fisher). Es importante destacar que no se observó una prevalencia diferente para cualquier genotipo de VPH detectado en las muestras vaginales entre ambos grupos (**Tabla V**).

A continuación, comparamos la prevalencia de los principales tipos de VPH encontrados en nuestra cohorte de estudiantes no vacunadas y aquellas con una, dos o tres dosis de vacuna contra el VPH. Encontramos una tendencia a la baja en la prevalencia de la infección a medida que aumentaba el número de dosis de la vacuna para HPV 6, HPV 16 y HPV 31 (**Figura 7A**). En cambio, para el VPH 18 no

se observaron diferencias para una y dos dosis, pero sí un aumento de la prevalencia en estudiantes con tres dosis de la vacuna. Para HPV 51 hubo una disminución de la prevalencia en estudiantes con una dosis de la vacuna, pero no se observaron diferencias en el grupo con dos dosis, y al igual que HPV 18 en estudiantes con tres dosis hubo un aumento en la prevalencia. El aumento de la tasa de infección por HPV 18 después de la vacunación fue inesperado, pero podría estar relacionado con una disminución en los niveles de anticuerpos específicos a lo largo del tiempo, según algunos informes. Se realizó un análisis del impacto de la vacunación en los niveles de anticuerpos IgG séricos anti-VPH 16 y 18. La seropositividad observada entre estudiantes no vacunadas y vacunadas mostró un impacto evidente de la vacunación contra el VPH a partir de dos dosis de la vacuna, y aumentó con la tercera dosis (**Figura 7B,7C**).

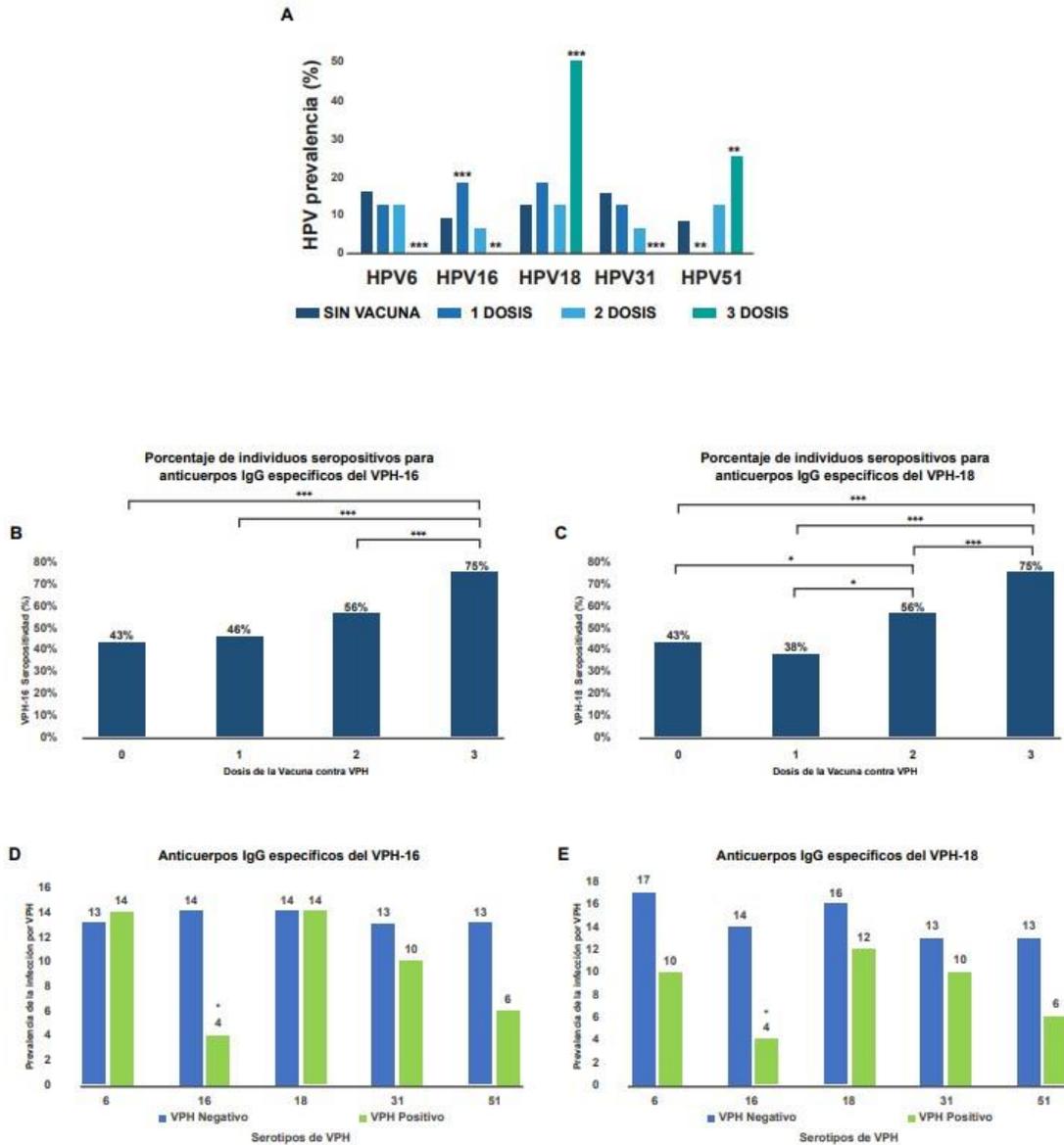
**Tabla V. Características de las Estudiantes de acuerdo con su estado de vacunación.**

| <b>Características</b>                                      | <b>No Vacunadas</b> | <b>Vacunadas</b> | <b>Valor de P</b> |
|---|---------------------|------------------|-------------------|
| Edad*   | 20                  | 22               | 0.002             |
| Edad promedio del inicio de la actividad sexual *           | 17                  | 17               | 0.245             |
| Número promedio de parejas sexuales a lo largo de su vida * | 3                   | 3                | 0.822             |
| Vacuna  | 69.4 %              | 30.6 %           | NA                |
| 1 dosis   | 0                   | 13.7 %           | NA                |
| 2 dosis   | 0                   | 13.7 %           | NA                |
| 3 dosis   | 0                   | 3.2 %            | NA                |
| VPH-**  | 28 %                | 21 %             | 0.323             |
| Cualquier tipo de VPH + **                                  | 72 %                | 79 %             | 0.323             |
| VPH 6 **  | 18 %                | 10 %             | 0.152             |
| VPH 16 **   | 8 %                 | 12 %             | 0.480             |
| VPH 18 **   | 13 %                | 17 %             | 0.553             |

|           |      |      |       |
|-----------|------|------|-------|
| VPH 31 ** | 13 % | 7 %  | 0.238 |
| VPH 51 ** | 8 %  | 12 % | 0.480 |

\* Prueba T, \*\* prueba exacta de Fisher y NA no se aplican.

La prevalencia de la infección por VPH se vio afectada por la presencia de anticuerpos específicos contra el virus; El análisis con serotipos específicos de VPH mostró que hubo una disminución significativa en la prevalencia de la infección por VPH-16 en estudiantes que eran seropositivos para anticuerpos anti-VPH 16 (P = 0.023), pero no se observó ningún efecto para otros genotipos de VPH (**Figura 7D,7E**).



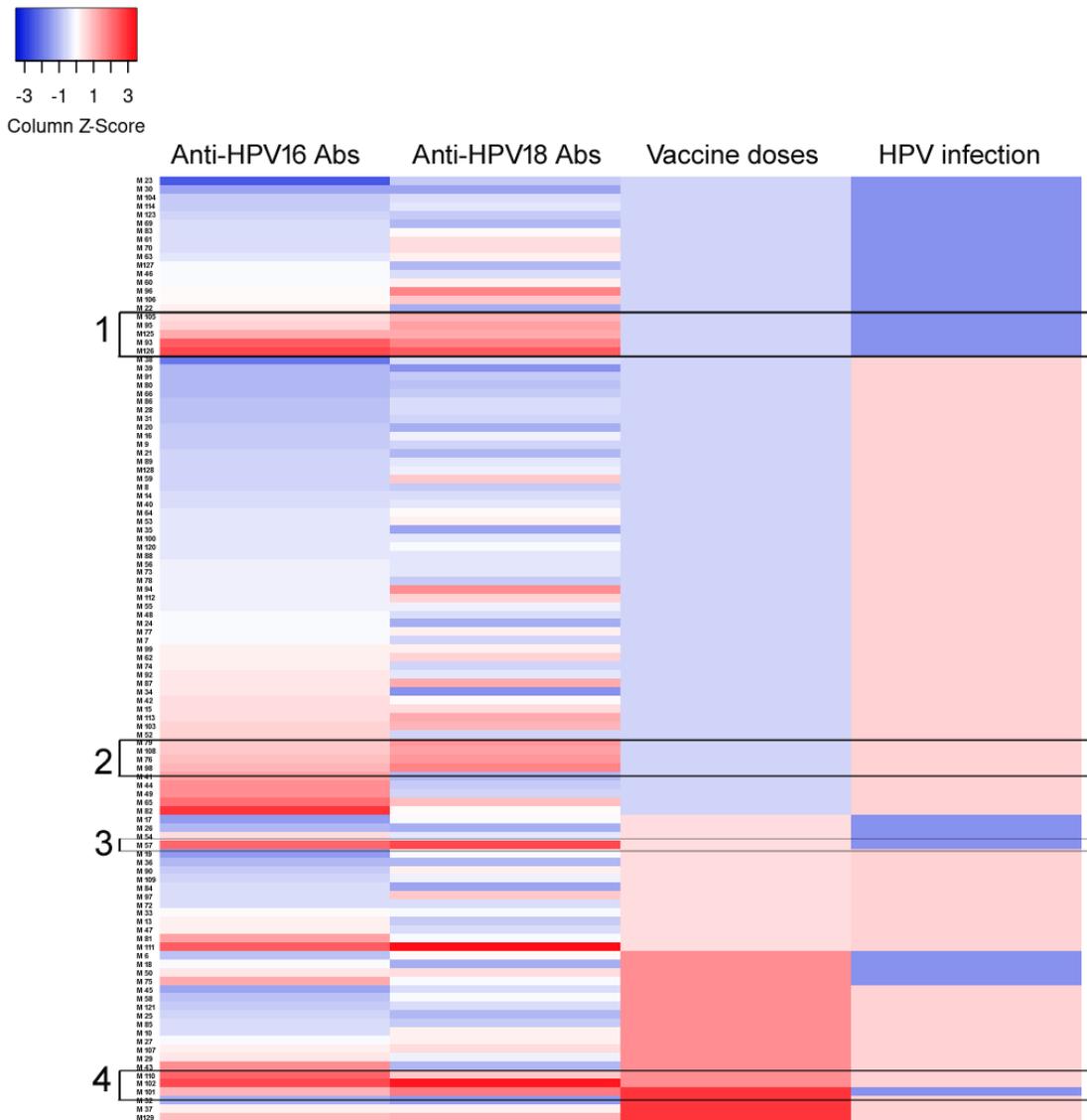
**Figura 7**

**A: Comparación de la vacunación con una, dos y tres dosis de la vacuna contra VPH en los genotipos más frecuentes observados en el estudio.** Se evaluó el efecto de la vacunación contra el VPH en estudiantes que recibieron una, dos o tres dosis de la vacuna en comparación con estudiantes no vacunadas. Los porcentajes de contagios fueron para HPV 6 16% (12/75 estudiantes), 12% (2/17), 12% (2/17) y 0% para no vacunadas, una dosis, dos dosis y tres dosis de la vacuna, respectivamente. Para HPV 16 fueron 9 % (7/75), 18 % (3/17), 6 % (1/17) y 0 %; para HPV 18 fueron 12 % (9/75), 18 % (3/17), 12 % (2/17) y 50 % (2/4); para HPV 31 fueron 15 % (11/75), 12 % (2/17), 6 % (1/17) y 0 %; y para HPV 51 fueron 8 % (6/75), 0 %, 12 % (2/17) y 25 % (1/4). Los datos fueron analizados por la prueba exacta de Fisher. Los valores de P inferiores a 0,05 se consideraron estadísticamente significativos (\*P < 0,05; \*\*P < 0,01; \*\*\*P < 0,001). **B: Porcentaje de seropositividad para anticuerpos IgG específicos de VPH 16 con 0, una, dos y tres dosis reportadas de vacunas.** Porcentaje de individuos seropositivos para anticuerpos IgG

específicos del VPH-16 en estudiantes universitarias según su estado de vacunación. 43% (32 de 75) de las estudiantes no vacunadas fueron seropositivas para HPV16 y 41% (31/75) para HPV18. El 44% (7/16) de las estudiantes vacunadas fueron seropositivas para el VPH16 después de una dosis de la vacuna contra el VPH, el 56 % (9/16) para dos dosis y el 75 % (3/4) para tres dosis. **C: Porcentaje de seropositividad para anticuerpos IgG específicos de VPH 18 con 0, una, dos y tres dosis reportadas de vacunas.** Porcentaje de individuos seropositivos para anticuerpos IgG específicos del VPH-18 en estudiantes universitarias según su estado de vacunación. Para HPV18, el 38% (6/16) de las estudiantes vacunadas fueron seropositivas para una dosis de la vacuna, mientras que el 56% (9/16) y el 75% (3/4) fueron seropositivas después de dos y tres dosis, respectivamente. **D: Prevalencia de la infección específica por VPH en las estudiantes seropositivas para VPH-16.** Las barras azules representan estudiantes no vacunadas y las barras verdes estudiantes vacunadas. Los datos fueron analizados por la prueba exacta de Fisher. Los valores de P inferiores a 0,05 se consideraron estadísticamente significativos (\*P < 0,05; \*\*P < 0,01; \*\*\*P < 0,001). **E: Prevalencia de la infección específica por VPH en las estudiantes seropositivas para VPH-18.** Las barras azules representan estudiantes no vacunadas y las barras verdes estudiantes vacunadas. Los datos se analizaron mediante la prueba exacta de Fisher. Los valores de p inferiores a 0,05 se consideraron estadísticamente significativos (\* P <0,05; \*\* P <0,01; \*\*\* P <0,001).

Para el VPH-18, aunque no hubo cambios significativos en la prevalencia entre las estudiantes seropositivas o seronegativas al VPH-18 para la infección por VPH-18, se observó una ligera disminución.

Es oportuno mencionar que en las estudiantes seropositivas al VPH-18 demostraron una disminución significativa en la prevalencia de la infección por VPH-16 (**Figura 7D, 7E**), lo que probablemente podría deberse a la presencia de anticuerpos específicos para el VPH-16 en las mismas personas. Por ello, realizamos un mapa de calor que muestra la seroprevalencia para ambos tipos de anticuerpos en todos los individuos analizados junto con el estado de infección y vacunación (**Figura 8**). Hubo 34 estudiantes que mostraron seropositividad tanto para HPV-16 como para HPV-18, mientras que 17 estudiantes fueron seropositivas solo para HPV-16 y 15 estudiantes seropositivas solo para HPV-18. Curiosamente, la doble seropositividad puede adquirirse tanto por infección natural según los datos que se muestran en los rectángulos 1 y 2, como por vacunación como se observa en los rectángulos 3 y 4 (**Figura 8**).



**Figura 8: Análisis de mapa de calor de seroprevalencia, infección y vacunación.** Se representa mediante mapa de calor el análisis de los niveles de anticuerpos específicos frente a VPH 16 y 18, y su asociación con la presencia de infección por VPH y el estado de vacunación. Para los niveles de anticuerpos, la estrella de puntuación con color azul para niveles negativos o bajos y cambia a color rojo para cantidades más altas de anticuerpos detectados por ELISA. Para el estado de vacunación, el color azul representa estudiantes no vacunadas y la intensidad creciente en rojo representa 1, 2 o 3 dosis de la vacuna contra el VPH. Finalmente, para la infección por VPH, el color azul representa a las estudiantes con VPH y el color rojo claro representa a las estudiantes con infección por VPH (cualquier VPH). Cada línea horizontal representa a una estudiante y el número de muestra se indica en el lado izquierdo del gráfico. Los rectángulos 1 y 2 muestran estudiantes seropositivas dobles no vacunadas, mientras que los rectángulos 3 y 4 muestran estudiantes seropositivas dobles vacunadas.

Estos resultados indican un impacto no tan claro de la vacunación en la prevalencia de la infección por VPH ni en los niveles de anticuerpos específicos contra el VPH. Estas observaciones podrían verse afectadas en parte por la inmunidad inducida por la infección natural por VPH, por esta razón se realizó un nuevo análisis utilizando únicamente individuos que resultaron negativos para la infección por VPH. Se compararon los porcentajes de seropositividad entre las estudiantes no vacunadas y las vacunadas que resultaron negativas para el VPH vaginal. Se encontró una mayor proporción de muestras de suero seropositivas para VPH-16 y VPH-18 en estudiantes vacunadas en comparación con el grupo no vacunado (55% vs 40% para VPH 16 y 18,  $P = 0.04$ , prueba exacta de Fisher). Además de la inmunidad inducida por la infección natural, los resultados podrían verse influidos por el hecho de que los datos del estado de vacunación se recopilaban a través de un cuestionario. El estado de auto informado de vacunación puede tener un sesgo de recuerdo que afecta la clasificación correcta de los individuos. Por estas razones, decidimos realizar análisis futuros basados en el estado de seropositividad en lugar del estado de vacunación.

Cuando se analizó la prevalencia de los diferentes genotipos de VPH en muestras vaginales, observaron prevalencias similares en individuos seropositivos y seronegativos, 77% vs 69% para VPH-16 y 77% vs 67% para VPH-18 (**Tabla VI**).

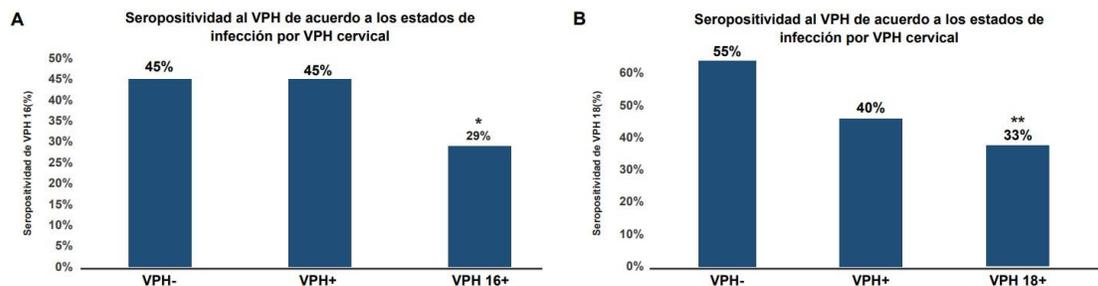
**Tabla VI. Prevalencia específica del tipo (%) de VPH vaginal por seropositividad de VPH**

| Virus                   | Estado de seropositividad |                 | Valor P de la prueba exacta de Fisher |
|-------------------------|---------------------------|-----------------|---------------------------------------|
|                         | Seronegatividad           | Seropositividad |                                       |
| <b>VPH 16</b>           |                           |                 |                                       |
| Cualquier tipo de VPH + | 77                        | 69              | 0.199                                 |
| VPH 6+                  | 15                        | 13              | 0.838                                 |
| VPH 16+                 | 13                        | 4               | 0.039                                 |
| VPH 18+                 | 13                        | 16              | 0.688                                 |
| VPH 31+                 | 12                        | 11              | 1.000                                 |
| VPH 51+                 | 12                        | 7               | 0.335                                 |
| <b>VPH 18</b>           |                           |                 |                                       |
| Cualquier tipo de VPH + | 77                        | 67              | 0.201                                 |
| VPH 6+                  | 16                        | 11              | 0.408                                 |
| VPH 16+                 | 12                        | 6               | 0.215                                 |
| VPH 18+                 | 13                        | 17              | 0.553                                 |
| VPH 31+                 | 16                        | 3               | 0.002                                 |
| VPH 51+                 | 13                        | 3               | 0.016                                 |

Sin embargo, el análisis con genotipos específicos de VPH mostró que hubo una disminución en la prevalencia del VPH-16 en las estudiantes seropositivas a VPH-16 ( $P = 0.039$ ), pero no con otros genotipos de VPH. Curiosamente para el VPH-18, se detectaron ligeros cambios en la prevalencia entre las estudiantes seropositivas o seronegativas al VPH-18, así mismo se observó una prevalencia más baja para los VPH-31 y 51 (**Tabla VI**). Para analizar si los niveles de anticuerpos pueden reflejar el estado de protección para HPV-18, los datos seropositivos se dividieron en cuartiles (Q) y se consideraron Q4 (1.36 NAR) como un nivel alto de anticuerpos. Para Q1-3, la prevalencia de HPV-18 fue del 11% y para el Q4 fue del 5%, lo que demuestra que los niveles relativamente bajos de anticuerpos tienen una

prevalencia similar a la del grupo seronegativo (13% frente a 11%). A pesar de que no hubo diferencia estadísticamente en la prevalencia de infección entre el grupo de niveles altos de anticuerpos anti-VPH-18 y el grupo seronegativo (5 vs 13%  $P = 0.08$ , prueba exacta de Fisher), hubo una tendencia a ser menor en el primer grupo. Para finalizar, se evaluó el impacto de la infección activa en la seropositividad. En particular, hubo una menor proporción de seropositividad específica al VPH en estudiantes que tienen una infección activa por VPH-16 (**Figura 8**). Este fenómeno no se observó para los anticuerpos específicos contra el VPH-18.

Finalmente, para valorar si la presencia de infección por VPH podría afectar la respuesta inmune frente al virus comparamos en el grupo de estudiantes no vacunadas, la tasa de seroconversión entre VPH-, VPH + o VPH específico para los anticuerpos medidos de VPH 16 y VPH 18 (**Figura 9A, 9B**).



**Figura 9**

**A: Seropositividad al VPH de acuerdo con los estados de infección por VPH 16 cervical.** Porcentajes de estudiantes seropositivas para HPV16, que se agruparon en aquellas que fueron negativas para VPH (VPH-), positivas para cualquier VPH (VPH +) y positivas solo para VPH-16 (VPH-16 +). Los datos se analizaron mediante la prueba exacta de Fisher. Los valores de p inferiores a 0,05 se consideraron estadísticamente significativos (\*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ). **B: Seropositividad al VPH de acuerdo con los estados de infección por VPH 18 cervical.** Porcentajes de estudiantes seropositivas para VPH 18, que se agruparon en aquellas que fueron negativas para VPH (VPH -), positivas para cualquier VPH (VPH +) y positivas solo para VPH -18 (VPH -18 +). Los datos se analizaron mediante la prueba exacta de Fisher. Los valores de P inferiores a 0,05 se consideraron estadísticamente significativos (\*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ).

Encontramos que la seroconversión se redujo para los anticuerpos anti-VPH-16 cuando las estudiantes dieron positivo para el ADN del mismo virus, pero no para otros genotipos (prueba exacta de Fisher,  $P = 0,027$ ). De manera similar, este efecto también se observó para la seroconversión de HPV-18 en presencia de infección por HPV-18 ( $p = 0,002$ ).

## Discusión

El virus de papiloma humano (VPH) es un agente infeccioso que presenta tropismo por el tejido epitelial, considerado de alta relevancia clínica debido a su asociación con la generación del carcinoma de cuello uterino. Se considera que el VPH se encuentra entre las infecciones de transmisión sexual más frecuentes alrededor del mundo<sup>86</sup>. Se estima que el 80% de las personas que mantienen una vida sexualmente activa se infecten por el VPH<sup>20</sup>. De acuerdo con diferentes estudios epidemiológicos, se muestra que cerca del 70% de las mujeres sexualmente activas se infectan una vez a lo largo de su vida<sup>27</sup>. En este estudio poblacional se evaluó a un grupo de mujeres jóvenes universitarias que asistieron a una clínica ambulatoria para exámenes ginecológicos, las cuales fueron evaluadas para la detección molecular del VPH en muestras cérvico-vaginales, los resultados mostraron que la tasa general de infección por VPH en el grupo de universitarias que fueron analizadas fue de 74,42%. En comparación con otros estudios, la frecuencia informada en esta investigación fue más alta que la prevalencia de la tasa mundial de infección por VPH del 10,4%. La tasa observada en este estudio mostró un incremento en comparación con los datos estimados de la región asiática reportados por de Sanjose S et al<sup>25,53</sup>, 6 del 8%, África (22,1%), Centroamérica y México (20,4%) y Norteamérica (11,3%)<sup>87,88</sup>. Sin embargo, la población de este estudio se considera de alto riesgo para el VPH, según lo reportado por varios estudios en los que las mujeres jóvenes presentan una alta prevalencia de infección por VPH, esto

se debe a los factores de riesgo asociados a la enfermedad del VPH, como el inicio precoz de las relaciones sexuales y tener múltiples parejas sexuales<sup>34</sup>. Otra razón a la que atribuimos la alta incidencia de infección por VPH se debe a que porcentaje de pacientes que acudieron a evaluación ginecológica tanto por presencia de condilomatosis como de otra infección como se observa en la Tabla VI. Se ha informado que esta población tiene una prevalencia del 30-50%<sup>81,82</sup>. Además, es importante tener en cuenta el hecho de que las mujeres jóvenes que acuden a las clínicas a menudo lo hacen debido a los signos o síntomas de una infección del tracto genital, lo que aumenta la posibilidad de tener una enfermedad de transmisión sexual.

La comprensión de la incidencia y la distribución del genotipo del VPH es importante para la planificación de estrategias de diagnóstico y prevención de las enfermedades relacionadas con el VPH. Los tipos de VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59 son los tipos más comunes en la población femenina general en todo el mundo, y representan el 70% de las infecciones por VPH en presencia de hallazgos citológicos<sup>33</sup>, siendo los dos más frecuentes los tipos 16 Y 18, los cuales son considerados de los de más alto riesgo y se les considera responsables de más del 70% de todos los casos de cáncer de cuello uterino en el mundo<sup>38,25</sup>. Sin embargo, algunos informes han demostrado que la prevalencia y la distribución de genotipos del VPH varían mucho en todo el mundo<sup>53</sup>. A lo largo de las regiones geográficas, podemos encontrar una distribución de los diferentes tipos víricos de VPH. Por ejemplo, en Europa y Estados Unidos prevalecen más los tipos víricos de VPH 33 y 31 los cuales de acuerdo con a la clasificación de su patogenia oncológica son clasificados como de Clase 1 (cancerígenos). En África podemos encontrar con mayor frecuencia los tipos de VPH 35 y 45 clasificados como de Clase 1 (cancerígenos). En Asia podemos encontrar con mayor frecuencia los tipos 52 y 58 clasificados como de Clase 1 (cancerígenos)<sup>53,54,89</sup>. En México, se ha informado de una distribución regional significativa de los genotipos del VPH<sup>90</sup>. En este estudio, la incidencia global de VPH mostró un incremento significativo en las muestras con VPH de alto riesgo en comparación con el virus de bajo riesgo (72,91% y 27,09%, respectivamente). Este estudio mostró que los pacientes con VPH tenían una mayor

tasa de infección y eran principalmente compatibles con un alto riesgo de infección por genotipos de VPH clasificado como cancerígenos, Sin embargo, algunos estudios han informado que el VPH-58 es el genotipo más frecuente en las regiones del sur de México, con una prevalencia del 55.9%<sup>91</sup>. Además, Gallegos-Bolaños et al. en 2017 reportaron que los VPH-16, 33, 51 y 52 fueron los más prevalentes<sup>92</sup>, al igual que otro estudio realizado por Ochoa-Carrillo et al. en 2015 con 8,706 casos positivos, menciona que los VPH-16, 58, 18 y 33 son los que se identificaron con mayor frecuencia en el norte del país, mientras que en la región central se identificaron los tipos 16, 18, 45 y 58, y en la región sur se identificaron los tipos 16, 18, 31 y 58<sup>62</sup>, estos distintos genotipos de VPH son un problema de salud pública para la población mexicana ya que como se ha mencionado, la infección por VPH y sus distintos genotipos, son precursores a distintas comorbilidades relacionadas con el cáncer.

El VPH-18 es el segundo genotipo detectado con mayor prevalencia en muestras de cuello uterino. En este estudio, se encontró que el genotipo HPV-18 mostró la mayor incidencia (19,56%) seguido de los genotipos 31 con un (15,22%), 51 con un (13,04%), 16 con un (13,04%) y 59 con un (7,6%). La discrepancia en la prevalencia con el estudio de Gallegos-Bolaños *et al.* podría deberse a diferencias poblacionales porque en este estudio incluyó estudiantes universitarias de la Ciudad de México y el Estado de México. Siguiendo esta hipótesis, se ha observado que, dependiendo de la región geográfica, algunos tipos virales se encuentran con mayor frecuencia que otros. En cuanto al comportamiento sexual, encontramos una asociación de la prevalencia del VPH con la temprana edad del inicio de la actividad sexual y con un mayor número de parejas sexuales a lo largo de su vida, estos comportamientos sexuales han sido reportados previamente como factor de riesgo para la infección por VPH en diferentes poblaciones<sup>93,94</sup>. Teniendo en cuenta la proporción de estudiantes que tuvieron un debut sexual precoz (65,9%) y la proporción de las que han tenido más de tres parejas sexuales (46,6%), la población aquí analizada puede considerarse como una población de alto riesgo para Infección por VPH, que se confirma por la alta prevalencia del virus observada. Domínguez *et al.* mencionan que los principales factores de riesgo para la infección por VPH en mujeres menores

de 25 años son tanto el inicio precoz de las relaciones sexuales como el tener múltiples parejas sexuales, la promiscuidad de las parejas sexuales y la multiparidad<sup>34</sup>. Además del comportamiento sexual, la inmunización contra el VPH es fundamental para prevenir la diseminación de la infección viral, especialmente en poblaciones jóvenes.

La prevalencia y la distribución del genotipo del VPH proporciona la base para diseñar programas de prevención. En este estudio, el estado de vacunación se obtuvo mediante un método de autoinforme, lamentablemente, en nuestro país no existe un registro nacional de vacunación que pueda utilizarse para extraer esta información de las historias clínicas. Esta es una limitación de este estudio debido a que podría afectar los datos del estado de vacunación por sesgo de recuerdo<sup>95</sup>, y alterar la clasificación de mujeres en vacunadas y no vacunadas. La baja tasa de vacunación (30%) informada en este estudio podría ser en parte responsable de la alta prevalencia observada de la infección por VPH. La baja cobertura de vacunación contra el VPH en nuestro grupo de estudio refleja el hecho de que la vacuna contra el VPH se introdujo en México entre 2006-2008 con una baja cobertura, y fue incluida en el programa nacional de vacunación hasta 2012 con solo 52 mil dosis aplicadas<sup>26,72</sup>. Entre 2013-2018 se administraron en promedio 1,4 millones de dosis cada año,<sup>72</sup> esta cantidad cubrió menos de un tercio de la población femenina entre 9 y 14 años, que se evaluó en 6,5 millones en el año 2020<sup>73</sup>.

El impacto de la vacunación contra el VPH en nuestro grupo de estudio fue evidente a partir de la segunda dosis de la vacuna, en contraste con otros estudios que informaron que una dosis puede inducir la seroconversión en la mayoría de las personas, especialmente con el VPH-16<sup>96,97</sup>. Una posible explicación es un decaimiento en los niveles de anticuerpos específicos contra HPV-16 y HPV-18 a lo largo del tiempo como se ha descrito en otros reportes, donde la seropositividad decae a los 18 y 36 meses<sup>98,99</sup>. Otro factor que incide en la seropositividad es el hecho de que en estudios previos se han excluido niñas con infección positiva al momento del reclutamiento, esta condición en nuestro grupo de estudio se

desconoce y podría afectar el desarrollo de la respuesta inmune según algunos reportes que evidenciaron que la infección por VPH retrasa la seroconversión e incluso la previene<sup>100,101</sup>. De hecho, en un informe, la eficacia de la vacuna entre las personas con ADN cervical de VPH-16 o VPH-18 detectado en el momento de la inscripción fue solo del 25% en comparación con el 85% de las mujeres con VPH<sup>102</sup>. Para evaluar esta posibilidad, comparamos la tasa de seroconversión entre VPH-, VPH+, HPV16+ o HPV18+. Solo realizamos este análisis con estudiantes no vacunadas para evitar la seroconversión por vacunación. De acuerdo con los informes anteriormente mencionados, encontramos una tasa de disminución en la seroconversión cuando las estudiantes estaban infectadas por el mismo genotipo de VPH de los anticuerpos analizados, pero no con otros tipos de VPH. Este retraso o disminución de la seroconversión podría deberse a algunos mecanismos inmunorreguladores asociados al virus como la inducción de citocinas antiinflamatorias como IL-10 en queratinocitos, macrófagos y células de Langerhans<sup>103</sup>. Además, también se ha informado de un aumento de la frecuencia de linfocitos T reguladores en lesiones cervicales que tenían infección persistente por HPV-16<sup>104</sup>. Es de destacar que la prevalencia de la infección por VPH-16 se redujo significativamente en las universitarias que eran seropositivas al VPH-16 en comparación con las que fueron negativas para los anticuerpos específicos contra el VPH-16, pero la prevalencia de otros tipos de VPH no se vio afectada. Esto muestra claramente que la inducción de anticuerpos específicos contra la proteína L1 de HPV-16 protege contra la infección por HPV-16, pero no protege contra otros tipos de HPV, esto está relacionado con otros estudios clínicos<sup>105,106,107,108</sup>. Otro hallazgo interesante fue el impacto negativo de la infección activa por VPH observado en la seropositividad. Para el VPH-16, la presencia de infección activa se asoció con porcentajes más bajos de seropositividad. Estas observaciones podrían deberse al largo tiempo de seroconversión informado para el VPH-16, podría llevar entre 12 y 18 meses y no todos los individuos infectados se volverán seropositivos<sup>100,101</sup>.

Por el contrario, la prevalencia de la infección por VPH-18 en las estudiantes universitarias seronegativas y seropositivas para anticuerpos específicos contra el

VPH-18 fue similar entre ambos grupos. Esto podría reflejar una inmunización menos eficaz para los antígenos del VPH-18 o niveles protectores más cortos de anticuerpos neutralizantes; en apoyo de esta teoría en otros informes, los niveles de anticuerpos contra el VPH18 son más bajos que los observados para el VPH16 después de la vacunación y tienen un efecto de descomposición más rápido a lo largo del período de tiempo y <sup>109, 97, 98, 99</sup>, por lo tanto, la seropositividad no se refleja necesariamente en el estado de protección. Curiosamente, observamos que las universitarias seropositivas al VPH-18 tuvieron una reducción en el número de infecciones por VPH-16, lo que sugiere la presencia de seropositividad para este virus que podría estar asociada con la vacunación, que incluye ambos virus. En un análisis de mapa de calor, corroboramos que el 70% de las universitarias tienen tanto anticuerpos específicos contra VPH-16 como contra VPH-18, sin embargo, esta doble seroconversión no solo se asocia a la vacunación, sino también a la infección natural. Esto sugiere que las universitarias no vacunadas, que fueron seropositivas para los virus HPV-16 y HPV-18 fueron infectadas por ambos virus o existe una respuesta inmune cruzada, esta última posibilidad también podría explicar por qué las niñas seropositivas al HPV-18 no tuvieron una reducción significativa en la tasa de infección porque la respuesta inmune cruzada es menos efectiva que la respuesta inmune directa contra el VPH<sup>110,111,112</sup>. Con base en la efectividad de la vacuna contra el VPH en nuestro estudio, encontramos que la eficacia de la vacunación es más baja que en otros informes. Kreimer *et al* en 2015 realizaron un estudio en el cual analizaron dos grupos de vacunación los cuales son dos ensayos clínicos controlados aleatorios, de doble ciego, de fase 3 de la vacuna con adyuvante HPV-16/18 AS04 en mujeres jóvenes, esos ensayos fueron combinados en un análisis post cohorte (GlaxoSmithKline [GSK] e-track number 202142) para investigar la eficacia de una, dos y tres dosis de la vacuna HPV-16/18, después de 4 años de seguimiento, se comprobó que la vacunación de mujeres de 15 a 25 años, con una y dos dosis de la vacuna VPH-16/18 confiere una protección contra las infecciones cervicales por VPH-16/18, de manera similar a la protección proporcionada por el programa de tres dosis<sup>75</sup>. Basu *et al* en 2021 demostraron que una sola dosis de la vacuna contra el VPH brinda una protección similar contra la

infección persistente por los VPH 16 y 18 a la que brindan dos o tres dosis. Los autores mencionan que la eficacia ajustada de la vacuna frente a la infección incidente por VPH 16/18 fue del 63,5% con una dosis única con una variación muy baja con dos o tres dosis<sup>79</sup>.

El estudio tiene algunas limitaciones que deben tenerse en cuenta, aunque hubo correlaciones estadísticamente significativas entre las variables, el número de pacientes incluidos fue bajo. Solo se registraron algunos factores de riesgo relacionados con el comportamiento sexual durante la inscripción, como el número de parejas sexuales y la edad de inicio sexual.

En conclusión, este estudio muestra que la incidencia de infección por VPH de alto riesgo fue mayor a la reportada previamente en algunas regiones de México, siendo los genotipos VPH-18, VPH-31 y VPH-51 más comunes para las estudiantes universitarias. La prevalencia y la distribución del genotipo del VPH proporciona la base para diseñar programas de prevención del VPH, incluida la vacunación. La observación de que los anticuerpos específicos contra el VPH son principalmente protectores para el virus utilizado en la inmunización es muy importante para la aplicación de las vacunas contra el VPH en cada región geográfica donde los tipos virales pueden cambiar, y sugiere que la nueva vacuna nonavalente sería más beneficiosa en nuestro país, ya que tienen una prevalencia de diversos tipos de VPH. Además, la cobertura de la vacunación temprana en las jóvenes que no han padecido la infección por VPH es de vital importancia para reducir la prevalencia del VPH. Este estudio se centró en una población de alto riesgo de infección por VPH; por tanto, los datos obtenidos pueden ser utilizados para el diseño de estrategias dirigidas a esta población.

## Conclusiones

Con los resultados obtenidos en el presente estudio se concluyó:

- La incidencia de infección por VPH en nuestro grupo de estudio fue mayor que en la población en general. Además, se reportó una mayor prevalencia de genotipos de VPH de alto riesgo. Se detectó una mayor frecuencia los genotipos de VPH de alto riesgo VPH-18, VPH-31 y VPH-51. Estos resultados muestran que la incidencia de infección por VPH de alto riesgo es mayor a la reportada previamente en algunas regiones de México.
- Se determinó una correlación entre los factores de riesgo asociados a la infección por VPH, tales como una edad temprana de inicio de la actividad sexual y la frecuencia de los casos negativos y positivos para el VPH. La edad promedio del inicio de la actividad sexual fue de  $17,78 \pm 2,03$  y  $16,94 \pm 1,89$  respectivamente, demostrando que un inicio precoz de la actividad sexual aumenta las probabilidades de contraer una infección por VPH.
- Otro factor de riesgo observado fue el tener múltiples parejas sexuales, esto se encuentra relacionado con la alta prevalencia de los diferentes genotipos de VPH. La media de número de parejas sexuales a lo largo de la vida fue de mayor en el grupo de estudiantes positivas a infección por VPH. Estos resultados demostraron que un número elevado de parejas sexuales, incrementa la probabilidad de contraer uno de los genotipos de alto riesgo para VPH.
- Se observó que los anticuerpos específicos contra el VPH son principalmente protectores para el virus utilizado en la inmunización, esto demuestra que la vacunación es de vital importancia para prevenir infecciones contra los diferentes genotipos de VPH en especial los clasificados como clase 1 considerados de alto riesgo o cancerígenos. Es importante recalcar que la aplicación de las vacunas contra el VPH depende de cada región geográfica donde los tipos virales pueden cambiar. Se demostró que una y dos dosis de vacuna contra VPH confiere una protección similar al esquema de vacunación de tres dosis recomendadas para la vacuna de VPH.

## **Perspectivas**

Este estudio contó con limitaciones las cuales deben de ser tomadas en cuenta, tales limitaciones se encuentran relacionadas con un bajo número de pacientes, solo fueron registrados algunos factores de riesgo relacionados con el comportamiento sexual, el hecho de que los pacientes no recordaran su esquema de vacunación, entre otros. Por lo anterior, para realizar un estudio más completo sería conveniente contar con un mayor número de pacientes, a los cuales se les sea solicitado sus registros de vacunación a la hora de ingresar al estudio, esto con la finalidad de conocer si cuentan con alguna vacuna que les confiera protección contra el VPH, a su vez sería cuando menos interesante ver la diferencia en la eficacia de la vacuna dependiendo de la marca de la misma, también sería conveniente realizar cuestionarios más completos y complejos en donde se incluyan factores de riesgo y practicas riesgosas relacionadas con el comportamiento sexual, así mismo incluir preguntas más específicas sobre los métodos de protección que usan los pacientes.

## Bibliografía:

1. Howley PM, Lowy DR. Papillomaviruses. In: Knipe DM, Howly PM, editors. *Fields Virology*. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 2299-354.
2. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14(2):467-75.
3. Bravo, I. G., de Sanjosé, S. & Gottschling, M. The clinical importance of understanding the evolution of papillomaviruses. *Trends Microbiol*. 18, 432–438 (2010).
4. Bernard HU, Burk RD, de Villiers EM, zur Hausen H. Family - Papillomaviridae. *Virus Taxonomy*. San Diego: Elsevier; 2011.p. 235-48.
5. Hiller T, Iftner T. The human papillomavirus. In: Prendiville W, Davies P, editors. *HPV Handbook*. London, U.K.: Taylor & Francis Group; 2004. p. 11-26.
6. Bravo, I. G. & Felez-Sanchez, M. Papillomaviruses: Viral evolution, cancer and evolutionary medicine. *Evol. Med. Public Heal*. 2015, 32–51 (2015).
7. Conway MJ, Meyers C. Replication and assembly of human papillomaviruses. *J Dent Res*. 2009;88(4):307-17.
8. Castellsagué X. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2008 Sep;110(3 Suppl 2): S4-7.
9. Chan CK, Aimagambetova G, Ukybassova T, Kongrtay K, Azizan A. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cancer: Epidemiology, Screening, and Vaccination-Review of Current Perspectives. *J Oncol*. 2019 Oct 10; 2019:3257939. doi: 10.1155/2019/3257939. PMID: 31687023; PMCID: PMC6811952.
10. Y. Jing, T. Wang, Z. Chen et al., “Phylogeny and polymorphism in the long control regions E6, E7, and L1 of HPV Type 56 in women from southwest China,” *Molecular Medicine Reports*, vol. 17, no. 5, pp. 7131–7141, 2018.

11. Santos-López G, Márquez-Domínguez L, Reyes-Leyva J, Vallejo-Ruiz V. Aspectos generales de la estructura, la clasificación y la replicación del virus del papiloma humano [General aspects of structure, classification and replication of human papillomavirus]. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2015;53 Suppl 2: S166-71. Spanish. PMID: 26462512.
12. Belnap DM, Olson NH, Cladel NM, Newcomb WW, Brown JC, Kreider JW, et al. Conserved features in papillomavirus and polyomavirus capsids. *J Mol Biol.* 1996;259(2):249-63.
13. Garcea RL, Chen XS. Papillomavirus Structure and Assembly. In: Garcea RL, Di Maio D, editors. *The Papillomaviruses*. New York, USA: Springer; 2007.
14. Aguilar-Lemarroy, A. et al. Human Papillomavirus Infections in Mexican Women With Normal Cytology, Precancerous Lesions, and Cervical Cancer: Type-Specific Prevalence and HPV Coinfections. *J. Med. Virol.* 87, 871–884 (2015).
15. Bernard, H. U. et al. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology* 401, 70–79 (2010).
16. De Villiers, E. M., Fauquet, C., Broker, T. R., Bernard, H. U. & Zur Hausen, H. Classification of papillomaviruses. *Virology* vol. 324 17–27 (2004).
17. Boda, D. et al. Human papilloma virus: Apprehending the link with carcinogenesis and unveiling new research avenues (Review). *International Journal of Oncology* vol. 52 637–655 (2018).
18. Bray, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J. Clin.* 68, 394–424 (2018).
19. Walboomers, J. M. M. et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J. Pathol.* 189, 12–19 (1999).
20. D.M. Harper, L.R. DeMars, HPV vaccines - a review of the first decade, *Gynecol. Oncol.* 146 (2017) 196–204.
21. International Association for Research on Cancer. Monograph on human papillomaviruses. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks to Humans - WHO 90, 46–179 (2007).

22. Handler, N. S., Handler, M. Z., Majewski, S. & Schwartz, R. A. Human papillomavirus vaccine trials and tribulations Vaccine efficacy. *Journal of the American Academy of Dermatology* vol. 73 759–767 (2015).
23. L. Bruni, M. Diaz, X. Castellsague, E. Ferrer, F. X. Bosch, and ´ S. de Sanjos´e, “Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings,” *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 202, no. 12, pp. 1789–1799, 2010.
24. R. Reid, C. R. Stanhope, B. R. Herschman, E. Booth, G. D. Phibbs, and J. P. Smith, “Genital warts and cervical cancer. I. Evidence of an association between subclinical papillomavirus infection and cervical malignancy,” *Cancer*, vol. 50, no. 2, pp. 377–387, 1982.
25. de Sanjos´e, S. et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.* 7, 453–459 (2007).
26. Bruni, L. et al. Human Papillomavirus and Related Diseases Report. *ICO/IARC Inf. Cent. HPV Cancer (HPV Inf. Centre)* 307 (2019).
27. Bosch, F. X. et al. Epidemiology and Natural History of Human Papillomavirus Infections and Type-Specific Implications in Cervical Neoplasia. *Vaccine* 26, (2008).
28. De Marco, F. Oxidative stress and HPV carcinogenesis. *Viruses* vol. 5 708–731 (2013).
29. Fang, C. Y. et al. Perceived stress is associated with impaired t-cell response to HPV16 in women with cervical dysplasia. *Ann. Behav. Med.* 35, 87–96 (2008).
30. Bouvard, V. et al. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *The lancet oncology* vol. 10 321–322 (2009).
31. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Biological agents. Volume 100 B. A review of human carcinogens. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans / World Health Organization, International Agency for Research on Cancer vol. 100 1–441 (2012).

32. Doorbar, J. et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine* vol. 30 (2012).
33. Clifford, G. M. et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: A pooled analysis. *Lancet* 366, 991–998 (2005).
34. Dominguez Bauta SR, Trujillo Perdomo T, Aguilar Fabr e K, Hernandez Menendez M. Infección por el virus del papiloma humano en adolescentes y adultas jvenes. *Rev Cub Obst Y Ginecol.* 2018; 44:1–13.
35. Lizano Soberón M, Carrillo García A, Contreras Paredes A. Infección por virus del papiloma humano: Epidemiolog a, historia natural y carcinogénesis. *Cancerolog a.* 2009; 4:205-16.
36. Human Papillomavirus (HPV) and Cervical Cancer, [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/human-papillomavirus-\(hpv\)-and-cervical-cancer](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/human-papillomavirus-(hpv)-and-cervical-cancer).
37. Human papillomavirus vaccines: WHO position paper, May 2017-Recommendations, *Vaccine* 35 (2017) 5753–5755.
38. Clifford, G. M., Smith, J. S., Plummer, M., Muñoz, N. & Franceschi, S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: A meta-analysis. *Br. J. Cancer* 88, 63–69 (2003).
39. Sedman SA, Barbosa MS, Vass WC et al. The full-length E6 protein of human papillomavirus type 16 has transforming and trans-activating activities and cooperates with E7 to immortalize keratinocytes in culture. *J Virol* 1991; 65:4860–6.
40. von Knebel Doeberitz M, Oltersdorf T, Schwarz E, Gissmann L. Correlation of modified human papilloma virus early gene expression with altered growth properties in C4-1 cervical carcinoma cells. *Cancer Res* 1988; 48:3780–6.
41. Halbert CL, Demers GW, Galloway DA. The E6 and E7 genes of human papillomavirus type 6 have weak immortalizing activity in human epithelial cells. *J Virol* 1992; 66:2125–34.
42. Munger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res* 2002; 89:213–28.

43. Prendiville, W., & Davies, P. (2006). The health professional's HPV handbook: Human Papillomavirus and cervical cancer. CRC Press.
44. Hengstermann A, Linares LK, Ciechanover A et al. Complete switch from Mdm2 to human papillomavirus E6-mediated degradation of p53 in cervical cancer cells. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98:1218–23.
45. Huibregtse JM, Scheffner M, Howley PM. A cellular protein mediates association of p53 with the E6 oncoprotein of human papillomavirus types 16 or 18. EMBO J 1991;10:4129–35.
46. Mantovani F, Banks L. The human papillomavirus E6 protein and its contribution to malignant progression. Oncogene 2001; 20:7874–87.
47. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM et al. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. Cell 1990; 63:1129–36.
48. Quint WG, Scholte G, van Doorn LJ et al. Comparative analysis of human papillomavirus infections in cervical scrapes and biopsy specimens by general SPF (10) PCR and HPV genotyping. J Pathol 2001; 194:51–8.
49. Werness BA, Levine AJ, Howley PM. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. Science 1990; 248:76–9.
50. Boyer SN, Wazer DE, Band V. E7 protein of human papilloma virus-16 induces degradation of retinoblastoma protein through the ubiquitinproteasome pathway. Cancer Res 1996; 56:4620–4.
51. Munger K, Basile JR, Duensing S *et al.* Biological activities and molecular targets of the human papillomavirus E7 oncoprotein. Oncogene 2001; 20:7888–98.
52. Funk JO, Waga S, Harry JB et al. Inhibition of CDK activity and PCNAdependent DNA replication by p21 is blocked by interaction with the HPV16 E7 oncoprotein. Genes Dev 1997; 11:2090–100.
53. de Sanjose, S. et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. Lancet Oncol. 11, 1048–1056 (2010).

54. Tjalma, W. A. et al. Differences in human papillomavirus type distribution in high-grade cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer in Europe. *Int. J. Cancer* 132, 854–867 (2012).
55. Salcedo M, Pina-Sanchez, Vallejo Ruiz V, et al. Human papillomavirus genotypes among females in Mexico: a study from the Mexican Institute for Social Security. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(23):10061-6.
56. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011 Mar-Apr;61(2):69-90. doi: 10.3322/caac.20107. Epub 2011 Feb 4. Erratum in: *CA Cancer J Clin.* 2011 Mar-Apr;61(2):134. PMID: 21296855.
57. Peralta-Rodríguez R, Romero-Morelos P, Villegas-Ruíz V, et al. Prevalence of human papillomavirus in the cervical epithelium of Mexican woman: meta-analysis. *Infections Agents and Cancer* 2012; 7:34.
58. Aguilar-Lemarroy A, Vallejo-Ruíz V, Cortés-Gutiérrez E, et al. Women with normal cytology, precancerous lesions, and cervical cancer: type-specific prevalence and HPV coinfections. *J Med Virol.* 2015; 87:871-84.
59. Almonte M, Murillo R, Sánchez GI, et al. *Salud Pública de México.* 2010; 52:544-59.
60. Giuliano, A. R. et al. Human papillomavirus infection at the United States-Mexico border: implications for cervical cancer prevention and control. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 10, 1129–36 (2001).
61. Velázquez-Márquez, N. et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes in women from a rural region of Puebla, Mexico. *Int. J. Infect. Dis.* 13, 690–695 (2009).
62. Ochoa Carrillo, F. J., Guarneros de Regil, D. B., & Velasco Jiménez, M. T. (2015). Infección por virus del papiloma humano en mujeres y su prevención. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 14(3), 157–163.
63. Colectivo de autores. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Cervical carcinoma and sexual behavior: collaborative reanalysis of individual data on 15,461 women with cervical carcinoma and

- 29,164 women without cervical carcinoma from 21 epidemiological studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18:1060-9.
64. Bosch FX, Burchell AN, Schiffman M, Giuliano AR, de Sanjose S, Bruni L, et al. Epidemiology and Natural History of Human Papillomavirus Infections and Type-Specific Implications in Cervical Neoplasia. *Vaccine.* 2008; 26S:K1-K16.
65. Colectivo de autores. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Cervical carcinoma and reproductive factors: Collaborative reanalysis of individual data on 16,563 women with cervical carcinoma and 33,542 women without cervical carcinoma from 25 epidemiological studies. *International Journal of Cancer.* 2006; 119(5):1108-1124.
66. IARC, Human papillomaviruses. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 2007; 90:1-636.
67. Drolet, M. *et al.* Population-level impact and herd effects following the introduction of human papillomavirus vaccination programmes: updated systematic review and meta-analysis. *Lancet* 394, 497–509 (2019).
68. Kjaer, S. K. *et al.* A 12-Year Follow-up on the Long-Term Effectiveness of the Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine in 4 Nordic Countries. *Clin. Infect. Dis.* 66, 339–345 (2018).
69. Dilley, S., Miller, K. M. & Huh, W. K. Human papillomavirus vaccination: Ongoing challenges and future directions. *Gynecologic Oncology* (2019) doi: 10.1016/j.ygyno.2019.10.018.
70. Human papillomavirus vaccines: WHO position paper, May 2017–Recommendations. *Vaccine* vol. 35 5753–5755 (2017).
71. Bruni L, Diaz M, Barrionuevo-Rosas L, Herrero R, Bray F, Bosch FX, et al. Global estimates of human papillomavirus vaccination coverage by region and income level: a pooled analysis. *Lancet Glob Health* 2016; 4: e453-63.
72. World Health Organization estimates of human papillomavirus immunization coverage, 2019 update. [https://www.who.int/immunization/monitoring\\_surveillance/data/HPV\\_estimates.xls](https://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/data/HPV_estimates.xls).

73. Censo de población y vivienda 2020. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI).
74. Huh, W. K. et al. Final efficacy, immunogenicity, and safety analyses of a nine-valent human papillomavirus vaccine in women aged 16–26 years: a randomised, double-blind trial. *Lancet* 390, 2143–2159 (2017).
75. Kreimer AR, Struyf F, Del Rosario-Raymundo MR, Hildesheim A, Skinner SR, Wacholder S, Garland SM, Herrero R, David MP, Wheeler CM; Costa Rica Vaccine Trial Study Group Authors, González P, Jiménez S, Lowy DR, Pinto LA, Porras C, Rodríguez AC, Safaeian M, Schiffman M, Schiller JT, Schussler J, Sherman ME; PATRICIA Study Group Authors, Bosch FX, Castellsague X, Chatterjee A, Chow SN, Descamps D, Diaz-Mitoma F, Dubin G, Germar MJ, Harper DM, Lewis DJ, Limson G, Naud P, Peters K, Poppe WA, Ramjattan B, Romanowski B, Salmeron J, Schwarz TF, Teixeira JC, Tjalma WA; HPV PATRICIA Principal Investigators/Co-Principal Investigator Collaborators; GSK Vaccines Clinical Study Support Group. Efficacy of fewer than three doses of an HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine: combined analysis of data from the Costa Rica Vaccine and PATRICIA Trials. *Lancet Oncol.* 2015 Jul;16(7):775-86. doi: 10.1016/S1470-2045(15)00047-9. Epub 2015 Jun 9. PMID: 26071347; PMCID: PMC4498478.
76. Kemp TJ, Hildesheim A, Safaeian M, et al. HPV16/18 L1 VLP vaccine induces cross-neutralizing antibodies that may mediate cross-protection. *Vaccine* 2011; 29: 2011–14.
77. Safaeian M, Porras C, Pan Y, et al. Durable antibody responses following one dose of the bivalent human papillomavirus L1 virus-like particle vaccine in the Costa Rica Vaccine Trial. *Cancer Prev Res (Phila)* 2013; 6: 1242–50.
78. Romanowski B, Schwarz TF, Ferguson LM, et al. Immunogenicity and safety of the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine administered as a 2-dose schedule compared with the licensed 3-dose schedule: results from a randomized study. *Hum Vaccin* 2011; 7: 1374–86.
79. Basu P, Malvi SG, Joshi S, Bhatla N, Muwonge R, Sankaranarayanan R, Verma Y, Esmay PO, Poli URR, Shah A, et al. Vaccine efficacy against persistent human papillomavirus (HPV) 16/18 infection at 10 years after one, two, and three doses of

- quadrivalent HPV vaccine in girls in India: a multicentre, prospective, cohort study. *Lancet Oncol.* 2021;22(11):1518–29. doi:10.1016/S1470-2045(21)00453-8.
80. Dunne E.F., Park I.U. (2013). HPV and HPV-associated diseases. *Infect Dis Clin North Am.* 27, 765-778.
81. Kotloff, K. L. et al. Detection of genital human papillomavirus and associated cytological abnormalities among college women. *Sex. Transm. Dis.* 25, 243–250 (1998).
82. Herrera-Ortiz, A. et al. College women, HPV genotyping and sexual behavior before HPV vaccination: Results from samples stored for a long time. *J. Infect. Public Health* 11, 286–289 (2018).
83. World Health Organization. Human papillomavirus laboratory manual Human papillomavirus laboratory manual First edition, 2009. WHO Press 1, 1–124 (2009).
84. Ramanakumar, A. V. et al. Use of the normalized absorbance ratio as an internal standardization approach to minimize measurement error in enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of human papillomavirus infection. *J. Clin. Microbiol.* 48, 791–796 (2010).
85. Babicki S, Arndt D, Marcu A, Liang Y, Grant JR, Maciejewski A, et al. Heatmapper: web-enabled heat mapping for all. *Nucleic Acids Res* 2016; 44: W147-53.
86. Kenyon, C., Buyze, J. & Colebunders, R. Classification of incidence and prevalence of certain sexually transmitted infections by world regions. *Int. J. Infect. Dis.* 18, 73–80 (2014).
87. Yang, J. et al. Prevalence, genotype distribution and risk factors of cervical HPV infection in Yangqu, China: a population-based survey of 10086 women. *Hum. Vaccin. Immunother.* 00, 1–8 (2019).
88. Pierce Campbell CM, MP, C., SD, H. & AS, S. Variation of cervical cancer incidence in Latin America and the Caribbean. *Rev Panam Salud Publica* 31, 492–496 (2012).
89. Guan, P. et al. Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: A meta-analysis from cervical infection to cancer. *Int. J. Cancer* 131, 2349–2359 (2012).
90. Peralta-Rodríguez, R. et al. Prevalence of human papillomavirus in the cervical epithelium of Mexican women: Meta-analysis. *Infect. Agent. Cancer* 7, 1–8 (2012).

91. González-Losa, M. D. R., Rosado-Lopez, I., Valdez-González, N. & Puerto-Solís, M. High prevalence of human papillomavirus type 58 in Mexican colposcopy patients. *J. Clin. Virol.* 29, 203–206 (2004).
92. Gallegos-Bolaños, J., Rivera-Domínguez, J. A., Presno-Bernal, J. M. & Cervantes-Villagrana, R. D. High prevalence of co-infection between human papillomavirus (HPV) 51 and 52 in Mexican population. *BMC Cancer* 17, 1–8 (2017).
93. Burk RD, Ho GY, Beardsley L, Lempa M, Peters M, Bierman R. Sexual behavior and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. *J Infect Dis* 1996; 174:679-89.
94. Itarat Y, Kietpeerakool C, Jampathong N, Chumworathayi B, Kleebkaow P, Aue-Aungkul A, et al. Sexual behavior and infection with cervical human papillomavirus types 16 and 18. *Int J Womens Health* 2019; 11:489-94.
95. Althubaiti, A. Information bias in health research: Definition, pitfalls, and adjustment methods. *J. Multidiscip. Healthc.* 9, 211–217 (2016).
96. Whitworth HS, Gallagher KE, Howard N, Mounier-Jack S, Mbwanji G, Kreimer AR, et al. Efficacy and immunogenicity of a single dose of human papillomavirus vaccine compared to no vaccination or standard three and two-dose vaccination regimens: A systematic review of evidence from clinical trials. *Vaccine* 2020; 38:1302-14.
97. Kreimer AR, Herrero R, Sampson JN, Porras C, Lowy DR, Schiller JT, et al. Evidence for single-dose protection by the bivalent HPV vaccine-Review of the Costa Rica HPV vaccine trial and future research studies. *Vaccine* 2018; 36:4774-82.
98. Schwarz TF, Galaj A, Spaczynski M, Wysocki J, Kaufmann AM, Poncelet S, et al. Ten-year immune persistence and safety of the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine in females vaccinated at 15-55 years of age. *Cancer Med* 2017; 6:2723-31.
99. Sankaranarayanan R, Prabhu PR, Pawlita M, Gheit T, Bhatla N, Muwonge R, et al. Immunogenicity and HPV infection after one, two, and three doses of quadrivalent HPV vaccine in girls in India: a multicentre prospective cohort study. *Lancet Oncol* 2016; 17:67-77.
100. Carter, J. J. et al. The Natural History of Human Papillomavirus Type 16 Capsid Antibodies among a Cohort of University Women Kuang Lee, Jane Kuypers,

Nancy Kiviat and Denise A. Galloway Published by: Oxford University Press Stable URL: <http://www.jstor.org/stable/301296>. *J. Infect. Dis.* 174, 927–936 (1996).

101. Carter, J. J. et al. Comparison of Human Papillomavirus Types 16, 18, and 6 Capsid Antibody Responses Following Incident Infection. *J. Infect. Dis.* 181, 1911–1919 (2000).
102. Beachler DC, Kreimer AR, Schiffman M, Herrero R, Wacholder S, Rodriguez AC, et al. Multisite HPV16/18 Vaccine Efficacy Against Cervical, Anal, and Oral HPV Infection. *J Natl Cancer Inst* 2016; 108.
103. Prata TT, Bonin CM, Ferreira AM, Padovani CT, Fernandes CE, Machado AP, et al. Local immunosuppression induced by high viral load of human papillomavirus: characterization of cellular phenotypes producing interleukin-10 in cervical neoplastic lesions. *Immunology* 2015; 146:113-21.
104. Molling JW, de Gruijl TD, Glim J, Moreno M, Rozendaal L, Meijer CJ, et al. CD4(+) CD25hi regulatory T-cell frequency correlates with persistence of human papillomavirus type 16 and T helper cell responses in patients with cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 2007; 121:1749-55.
105. Enerly, E. et al. An observational study comparing HPV prevalence and type distribution between HPV-vaccinated and -unvaccinated girls after introduction of school-based HPV vaccination in Norway. *PLoS One* 14, 1–13 (2019).
106. Feiring, B. et al. Substantial decline in prevalence of vaccine-type and nonvaccine-type human papillomavirus (HPV) in vaccinated and unvaccinated girls 5 years after implementing HPV vaccine in Norway. *J. Infect. Dis.* 218, 1900–1910 (2018).
107. Guo, F., Hirth, J. M. & Berenson, A. B. Comparison of HPV prevalence between HPV-vaccinated and non-vaccinated young adult women (20-26 years). *Hum. Vaccines Immunother.* 11, 2337–2344 (2015).
108. Lin, S. W. et al. HPV16 Seropositivity and Subsequent HPV16 Infection Risk in a Naturally Infected Population: Comparison of Serological Assays. *PLoS One* 8, (2013).
109. Safaeian, M. et al. Risk of HPV-16/18 Infections and Associated Cervical Abnormalities in Women Seropositive for Naturally Acquired Antibodies: Pooled

Analysis Based on Control Arms of Two Large Clinical Trials. *J. Infect. Dis.* 218, 84–94 (2018).

110. Mariz FC, Bender N, Anantharaman D, Basu P, Bhatla N, Pillai MR, et al. Peak neutralizing and cross-neutralizing antibody levels to human papillomavirus types 6/16/18/31/33/45/52/58 induced by bivalent and quadrivalent HPV vaccines. *NPJ Vaccines* 2020; 5:14.
111. Bonanni P, Boccalini S, Bechini A. Efficacy, duration of immunity and cross protection after HPV vaccination: a review of the evidence. *Vaccine* 2009; 27 Suppl 1: A46-53.
112. Scherpenisse M, Schepp RM, Mollers M, Meijer CJ, Berbers GA, van der Klis FR. Characteristics of HPV-specific antibody responses induced by infection and vaccination: cross-reactivity, neutralizing activity, avidity and IgG subclasses. *PLoS One* 2013; 8: e74797.