



**PREVALENCIA DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO DE ALTO RIESGO EN
UN GRUPO DE MUJERES INDÍGENAS DE LAS REGIONES DEL AMAZONAS Y
LOS ANDES COLOMBIANOS**

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C.
2019



**PREVALENCIA DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO DE ALTO RIESGO EN
UN GRUPO DE MUJERES INDÍGENAS DE LAS REGIONES DEL AMAZONAS Y
LOS ANDES COLOMBIANOS**

**PAULA TATIANA ANGARITA MELO
YURI PAOLA FORERO LÓPEZ**

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar por el título de:
Bacteriólogo y laboratorista clínico

Asesor Externo

Sara Cecilia Soto de León. BSc., Dr.Sc.
Coordinadora del proyecto de Virus del Papiloma Humano- FIDIC

Asesor Interno

Alejandro Castaño Vásquez., M.Sc
Docente epidemiología- UCMC

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C.**

2019

DEDICATORIA

A Dios por acompañarme, guiarme y ser mi fortaleza en cada paso de mi vida, a mis padres por permitirme llegar hasta esta parte del camino y ser mi ejemplo de responsabilidad y perseverancia, a mi hermana por ser mi mejor amiga, cómplice y distracción de este mundo efímero, a mis abuelos por ser lo mejor que Dios me ha dado en la vida, al profesor Alejandro Castaño por su tiempo, dedicación y consejo, a Milena Camargo por su paciencia y apoyo incondicional brindado.

Paula T. Angarita M.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	10
1 INTRODUCCIÓN	13
2 ANTECEDENTES	16
3 MARCO TEÓRICO	21
3.1 Cuello uterino	21
3.1.1 Anatomía del cuello uterino	21
3.1.2 CCU	22
3.1.3 Factores de riesgo en el desarrollo de cáncer de cuello uterino	24
3.1.4 Algoritmo diagnostico.....	24
3.1.5 Sistema de clasificación de citología vaginal - Bethesda.....	26
3.2 Epidemiología del cáncer en el mundo, en Latinoamérica y en Colombia	30
3.3 Generalidades del Virus del Papiloma Humano.....	31
3.3.1 Genoma del VPH	33
3.3.2 Proteínas del VPH y sus funciones asociadas	34
Proteínas estructurales	35
Proteínas no estructurales	35
Proteínas oncogénicas: E6 y E7	36
3.3.3 Taxonomía del Virus del Papiloma Humano	36
3.3.4 Ciclo de replicación del VPH.....	39
3.4 Población indígena de Colombia.....	42
3.4.1 Características demográficas de la población indígena colombiana.....	43
4 OBJETIVOS	44
4.1 General	44
4.2 Específicos.....	44
5 DISEÑO METODOLÓGICO	45
5.1 Tipo de investigación	45
5.2 Universo	45
5.3 Población	45
5.4 Muestra.....	46

5.4.1	Criterios de inclusión	46
5.4.2	Criterios de exclusión.....	47
5.5	Verificación étnica.....	47
5.6	Consideraciones éticas y cuestionario sociodemográfico	50
6	PROCEDIMIENTOS	51
6.1	Toma y conservación de las muestras	51
6.2	Extracción de ADN	52
6.3	PCR para determinar la calidad del ADN y detección del VPH	53
6.4	Tipificación del VPH por PCR.....	57
6.5	Electroforesis	60
6.6	Análisis estadísticos	62
7	RESULTADOS	64
7.1	Características de la población	64
7.2	Hallazgos citológicos de la población	69
7.3	Prevalencia general del VPH-AR discriminada por región de procedencia.....	71
7.4	Prevalencia tipo- específica del VPH-AR	72
7.5	Prevalencia tipo- específica del VPH discriminada por región de procedencia....	74
7.6	Asociación entre el VPH-AR y la región de procedencia	75
7.7	Asociación entre el VPH-AR y las características sociodemográficas- factores de riesgo	77
7.8	Prevalencia de la infección y coinfección con VPH AR.....	78
7.9	Asociación entre el VPH-AR y las características sociodemográficas- factores de riesgo y la infección simultánea con más de un tipo viral de VPH-AR.	80
7.10	Asociaciones entre parejas de VPH-AR.....	82
8	DISCUSIÓN	84
9	CONCLUSIONES	90
	ANEXOS	91
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía del cuello uterino	22
Figura 2. Historia natural de las anomalías del cuello uterino, en donde se evidencian las diferentes etapas de progresión y regresión	23
Figura 3. Fotografía de microscopia crioelectrónica de un virión de VPH.	32
Figura 4. Genoma del Virus del Papiloma Humano..	33
Figura 5. Taxonomía de los Papillomavirus	36
Figura 6 Ciclo de replicación del Virus de Papiloma Humano	40
Figura 7. Tipificación por sexo y por edad de la población indígena de Colombia.	44
Figura 8. Mapa de Colombia, delimitado con los lugares de procedencia de las mujeres indígenas participante del estudio.	49
Figura 9. Algoritmo de la toma y conservación de las muestras	52
Figura 10. Edad de las mujeres de la región del Amazonas y los Andes.....	64
Figura 11. Edad de inicio de relaciones sexuales de las mujeres de la región del Amazonas y los Andes	65
Figura 12. Distribución de los hallazgos citológicos de acuerdo a la región de origen de las mujeres.	70
Figura 13. Proporción de prevalencia del VPH- AR en mujeres indígenas de la región del Amazonas y Andes colombianos.	72
Figura 14. Proporción de prevalencia tipo específica, de once tipos del VPH-AR de las mujeres evaluadas	73
Figura 14. Comparación de la proporción de prevalencia tipo específica, entre once tipos de VPH-AR, respecto lugar de procedencia de las mujeres evaluadas.....	74
Figura 16. Comparación de la proporción de prevalencia tipo específica, entre la infección y coinfección por VPH-AR en las mujeres evaluadas.	79
Figura 17. Número de pares de infecciones y ORs.....	83

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Exámenes para la detección de cáncer de cuello uterino	26
Tabla 2. Clasificación Bethesda	29
Tabla 3. Características de las proteínas estructurales y no estructurales del VPH	34
Tabla 4 Porcentaje de similitud de la clasificación de los Papillomavirus	37
Tabla 5 Clasificación de los Papillomavirus, con tropismo por la especie humana	38
Tabla 6. Secuencia de los cebadores de B-globina, GP5+/GP6+, MY09/MY01 y PU 1M/2R	54
Tabla 7. Condiciones de amplificación de los reactivos de la técnica PCR para la identificación del gen β -Globina.....	55
Tabla 8. Condiciones de amplificación referentes a la temperatura y tiempo de la PCR para la identificación del gen β -Globina.....	55
Tabla 9. Condiciones de amplificación de los reactivos de la PCR para la identificación del ADN del Virus de Papiloma Humano.....	56
Tabla 10. Condiciones de amplificación referentes a la temperatura y tiempo de la PCR para la identificación del ADN del VPH.....	57
Tabla 11. Secuencia de 11 cebadores para la tipificación del VPH-AR.....	58
Tabla 12. Condiciones de amplificación de los reactivos de la PCR para la tipificación de 11 tipos de VPH	59
Tabla 13. Condiciones de amplificación referentes a la temperatura y tiempo de la PCR para la tipificación de 11 tipos de VPH	59
Tabla 14. Características de la electroforesis	61
Tabla 15. Características sociodemográficas-factores de riesgo según la región de procedencia de las mujeres evaluadas.....	66
Tabla 16. Asociación entre los hallazgos citológicos y la región de procedencia de las mujeres evaluadas.	71
Tabla 17. Asociación entre los once tipos virales de VPH- AR y la región de procedencia de las mujeres evaluadas.	76
Tabla 18. Asociación entre las características sociodemográficas- factores de riesgo y el lugar de procedencia de las mujeres evaluadas.....	77
Tabla 19. Asociación entre las características sociodemográficas-factores de riesgo y la infección simultánea con más de un tipo viral de VPH-AR.	81

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Fotografías geles de agarosa	91
Anexo 2 Consentimiento informado.....	95
Anexo 3. Cuestionario preguntas sociodemográficas.....	97

ÌNDICE DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
ARN_m	Ácido ribonucleico mensajero
ASC-US	Células escamosas atípicas de significado indeterminado
CCU	Cáncer de cuello uterino
E	Temprano (Del inglés Early)
L	Tardío (Del inglés Late)
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidérmico (Del inglés Epidermal growth factor receptor)
FIDIC	Fundación Instituto de Inmunología de Colombia
HSIL	Lesión intraepitelial escamosa de alto grado (Del inglés high-grade dysplasia)
LSIL	Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado. (Del inglés low-grade dysplasia)
HSPG	Heparin sulfato (Del inglés Heparan Sulfate Proteoglycan)
KGFR	Receptor el factor de crecimiento de queratinocitos (Del inglés Receptor of keratinocyte growth factor)
LCR	Región de control largo. (Del inglés long control region)
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa. (Del inglés Polymerase chain reaction)
VPH	Virus del Papiloma Humano
VPH-AR	Virus del Papiloma Humano de Alto Riesgo
VPH-BR	Virus del Papiloma Humano de Bajo Riesgo
WHO	Organización mundial de la salud(Del inglés World Health Organization)
ASCUS	Atipia de Células escamosas de significado indeterminado
LEIBG	Lesión Escamosa Intraepitelial de Bajo Grado
LEIAG	Lesión Escamosa Intraepitelial de Alto Grado



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

TRABAJO DE GRADO

PREVALENCIA DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO DE ALTO RIESGO EN UN GRUPO DE MUJERES INDÍGENAS DE LAS REGIONES DEL AMAZONAS Y LOS ANDES COLOMBIANOS

RESUMEN

El CCU (cáncer de cuello uterino) es una enfermedad de amplia distribución a nivel mundial, con elevados índices de morbilidad y mortalidad, su origen se relaciona principalmente con la infección activa por VPH-AR (Virus del Papiloma Humano de alto riesgo), junto con la intervención de múltiples factores sociodemográficos. Por lo que es trascendental identificar la presencia de este virus y sus factores de riesgo, los cuales son importantes para la etiología de la patología.

Diferentes estudios realizados en los últimos años, en países suramericanos, corroboran la existencia de altas tasas de prevalencia de infección por VPH dentro de su población indígena. Respecto a Colombia, pocos estudios han sido desarrollados sobre la circulación y comportamiento del VPH dentro de este grupo poblacional (indígena), en departamentos como Tolima, Cundinamarca y Nariño, los que han sugerido, la presencia de una mayor susceptibilidad de infección y coinfección con este tipo de virus.

Por lo anterior, en este trabajo se realizó la tipificación de 11 tipos de VPH-AR (-16,-18,-31,-33,-35,-39,-45,-51,-52,-56,-58), en 644 muestras cervicales de mujeres indígenas provenientes de la región del Amazonas (Leticia y Puerto nariño) y los Andes (Bucaramanga, Chaparral, Girardot, Guaduas e Ipiales) colombianos. A través de la técnica molecular de PCR convencional normalizada por la Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (FIDIC), con la finalidad de verificar la calidad del ADN de las muestras (β -globina), clasificarlas a nivel de género (Papillomavirus), por medio de pares de cebadores (GP5+ y GP6+;MY09 y MY011; PU 1M/2R) dirigidos hacia la región de los genes virales *L1* y *E6-E7*, para la posterior detección tipo-específica de los 11 tipos virales mencionados previamente.

De los resultados obtenidos, nivel general se encontró que la prevalencia de infección con VPH fue de 47,7 por cada 100 mujeres participantes del estudio, con frecuencias tipo específicas por VPH-16 -39 -31 para la región de los Andes y de VPH-16 -31-52 para la región del Amazonas; en cuanto a la prevalencia de infección con más de un tipo viral en simultaneo, se encontró que por cada 100 mujeres infectadas con VPH 85,6 presentaba este

tipo de coinfección, resultado que fue significativamente mayor a lo esperado, lo que sugiere que este grupo poblacional presentan factores que propician un mayor riesgo de infección simultánea con VPH, entre los que se destaca el estado civil y el método de planificación para la región del Amazonas mientras que para los Andes, factores como el nivel de educativo y económico se vieron menos asociados a la adquisición de infecciones virales.

PALABRAS CLAVES: VPH, Cáncer de cérvix, diagnóstico, citología.

1 INTRODUCCIÓN

El cáncer de cuello uterino (CCU) se encuentra en tercer lugar dentro de los diez tipos de cáncer con mayor incidencia a nivel mundial¹, presentando en el año 2018 una incidencia de 569.847 casos y una mortalidad de 311.365 en mujeres de todas las edades, con un alto impacto en países en vía de desarrollo^{1,2}.

Los Virus del Papiloma Humano (VPH) de alto riesgo VPH-AR) se consideran el principal factor en el desarrollo de CCU³, su transmisión se da por vía sexual, por lo que se estima que entre el 60 al 75% de la población mundial sexualmente activa, está infectada por algún tipo de VPH⁴. Según la sociedad de cáncer americana, dentro de los factores de riesgo que aumentan la probabilidad de desarrollar este tipo de cáncer se encuentra: la situación económica relacionada con bajos ingresos que limita el acceso a los servicios de salud⁵, junto con un bajo nivel escolar, una edad temprana en el inicio de relaciones sexuales, la multiparidad, hábitos como tener múltiples compañeros sexuales y el tabaquismo desempeñan un rol importante en el desarrollo de CCU⁶.

Actualmente son desarrollados alrededor del mundo, múltiples programas de tamizaje para la detección del VPH, al estar comprobado que esta enfermedad es prevenible, cuando se cuenta con adecuados programas de promoción y prevención enfocados hacia un diagnóstico oportuno⁷.

En Colombia el CCU, es el tercer cáncer más prevalente, después del cáncer de seno y de tiroides según GLOBOCAN⁸, en el año 2018 se presentaron 3.853 casos nuevos de CCU⁹, con un total de 1.775 muertes en mujeres entre los 10 a 65 años de edad, ocupando el segundo lugar en mortalidad por cáncer en Colombia, seguido del cáncer de seno¹⁰.

Estudios previos, han demostrado que existe una elevada prevalencia de infección por VPH en la población indígena de diferentes países suramericanos¹¹⁻¹⁴. En Colombia, pocos estudios se han enfocado en la circulación de VPH en este grupo poblacional, entre los que sobresale, el trabajo realizado por la Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (FIDIC)¹⁵⁻¹⁸, el cual fue llevado a cabo alrededor de 40.000 muestras cervicales de mujeres procedentes de 16 departamentos del país, a las que se les realizó tipificación para diferentes tipos de VPH-AR y un análisis citológico, muestras que sirvieron como base, para el desarrollo del presente trabajo de investigación, en el que se seleccionó un grupo de mujeres representes de la etnia indígena, procedentes de diferentes departamentos de la región del Amazonas y los Andes Colombianos, por ser este considerado un grupo vulnerable dentro del marco jurídico colombiano¹⁹⁻²², según el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo: ²³*“De las poblaciones en situación de vulnerabilidad, tal vez los indígenas son los que padecen más pobreza y miseria; violación de sus territorios; mayor despojo de tierras; pésimas condiciones de salud, desnutrición y enfermedades crónicas; muy baja cobertura educativa; y ausencia de una alimentación equilibrada y suficiente”*, además de tener un conductas sexuales no seguras²⁴, y relacionarse con una elevada prevalencia de infección con VPH^{20, 21}; razones por las cuales se les realizo a cada una de las muestra, la tipificación para once tipos de VPH-AR, un análisis citológico, además de estudiar su

asociación, entre la infección y coinfección con los once tipos diferentes de VPH-AR y su región de procedencia, características sociodemográficas y factores de riesgo en el desarrollo de CCU. Con el fin de brindar un servicio de gran impacto médico en este grupo poblacional, por medio del acceso voluntario a la prueba de tipificación de ADN (Ácido desoxirribonucleico) de VPH, normalizado por la FIDIC¹⁵; examen altamente específico y sensible, no provisto al momento de la realización de este estudio dentro del Programa Nacional para el Control y Detección Precoz de Cáncer de Cuello Uterino²⁵, por su elevado costo; cuyos resultados que deben ser tenidos en cuenta en el desarrollo de futuras vacunas, en las que se incluyan aquellos tipos de VPH con alta prevalencia en la población colombiana, sirviendo como base en el desarrollo de futuros estudios y para implementación de un diagnóstico con técnicas más modernas, específicas y sensibles, en la detección de VPH²⁶, previniendo y disminuyendo de esta forma la incidencia y mortalidad por CCU del país⁷.

2 ANTECEDENTES

La investigación realizada por Picconi²⁷ (2002) titulada, “Virus del papiloma humano en mujeres Quechuas jujeñas con alta frecuencia de cáncer de cuello uterino tipos virales y variantes 16”, muestra la importancia de un diagnóstico oportuno del VPH en la prevención de CCU, en este estudio se evaluó una población de 271 mujeres Quechuas, provenientes de regiones Puna y Quebrada Humahuaca de Jujuy zona rural de Argentina. De las cuales 110 obtuvieron una citología normal, 99 presentaban LSIL (Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado), 40 con HSIL (Lesión intraepitelial escamosa de alto grado) y 22 de las muestras desarrollaban CCU. En este estudio se evaluaron los tipos: 6, 11, 70, 16, 18, 31, 33 y 45, donde se obtuvo como resultado una alta prevalencia del VPH 16 en dichas mujeres, presentándose en un 55% de las muestras positivas. El percentil de la población estudiada se encontraba entre los 14 a los 65 años de edad, donde el 85% de las mujeres evaluadas asistieron por primera vez a una citología, y desconocían las consecuencias de la infección por VPH, lo cual hace de esta una población susceptible para desarrollar CCU.

Otro de los estudios que respaldan la importancia de la infección por VPH-HR en el desarrollo de cáncer de cuello uterino fue realizado en mujeres indígenas de Perú (2004)²⁸, en el que se estudiaron 18 distritos rurales en regiones costeras, montañosas y selváticas de Perú. En este se evaluaron 754 pacientes provenientes de zonas rurales, con un promedio de edad de 36 años, quienes se clasificaron de acuerdo a su idioma, estado civil, nivel de educación, ocupación, historia clínica y conductas sexuales. Como principal factor de riesgo dentro de esta población se identificó un alto número de parejas sexuales al año, conducta evidenciada en el 64% de la población; adicionalmente se identificaron otros factores de riesgo como el

número de embarazos (partos y abortos), ser mayor de 25 años de edad, tener más de una pareja sexual, residencia rural, uso de métodos anticonceptivos hormonales y estar cursando por una vaginitis.

Dentro de este estudio se analizaron un total de 715 citologías, donde el 4.9% de la población estudiada presentaba CCU, 4 presentaba HSIL y 15 con LSIL. Un 77% de la población reportó alguna clase de síntoma, sin la oportunidad de acceder al sistema de salud, en base a los resultados anteriores se realizó la tipificación de VPH en 576 muestras por medio de la técnica de PCR, para los tipos 16, 6, 18, 11, obteniéndose como resultado una alta prevalencia (30%) para el VPH 16 dentro de la población estudiada.

Una de las investigaciones más relevantes fue realizada por la universidad de Para (2010) ²⁹, el cual tuvo como objetivo identificar en mujeres ribereñas del municipio de Abaetetuba la infección por VPH y establecer su relación con el CCU, a través de la evaluación de 5 comunidades ribereñas, analizando un total de 79 muestras de mujeres habitantes de zonas rurales, pertenecientes al grupo etario de 18 a 80 años de edad. Identificándose dentro de estos, 16 tipos de VPH en los que se presentó un porcentaje de infección del 33.3%, con una prevalencia del 55.5% para tipos de bajo riesgo y 11.1% para alto riesgo, destacándose el tipo 58. Respecto al examen citológico el 56.96% de las muestras presentaba un frotis inflamatorio, el 2.53% LSIL y el 1.39% HSIL las cuales fueron positivas para VPH; el restante presentaba lesiones no neoplásicas. Dentro de los factores de riesgo encontrados en las mujeres de esta zona se encontraron: altos índices de coinfección con distintos tipos de VPH, la presencia de *Gardnerella vaginalis* y el poco acceso a los servicios de salud.

En el mismo año Kightlinger¹¹, realizó un análisis retrospectivo para la detección y tratamiento de CCU, en un total de 2.250 mujeres entre los 20 a los 30 años de edad provenientes de Aldeas indígenas de Guyana, dentro de las cuales se detectó en 1.423 muestras el VPH. En el 0.8% de las muestras analizadas en el estudio se detectó CCU, presentándose en un 5.0% neoplasia intraepitelial grado 1 y 2. Las tasas de prevalencia del VPH para los tipos 31, 16 y 18 fueron del 25%, 22% y 55% respectivamente.

El presente trabajo, tomo como línea de base para su desarrollo diferentes artículos indexados y publicados por el grupo de investigación de Biología Molecular de la FIDIC, de los que sobresale el trabajo titulado “Frequency of Human Papillomavirus Infection, Coinfection, and Association with Different Risk Factors in Colombia”¹⁸, en donde se evaluaron un total 1.810 muestras cervicales procedentes de Leticia, Chaparral, Engativá, Girardot y Tumaco; que dieron como resultado una frecuencia de 49,6% de infección por VPH, con predominio para los tipos VPH-16 (36,1%), VPH-31 (18,6%) y VPH-18 (15,37%), además de analizar diferentes factores de riesgo en la adquisición de infección y coinfección por VPH, entre los que se destacó la pertenecía étnica indígena.

En otro estudio¹⁵ llevado a cabo por esta línea de investigación evaluó el comportamiento diagnóstico de los cebadores GP5+/GP6+ y MY09/11, implementados en la detección de VPH, los resultados mostraron para GP5+/GP6+ una sensibilidad fue del 51%, mientras que para MY09/11 fue del 72,2 %. Teniendo en cuenta la sensibilidad obtenida en los cebadores anteriores dirigidos hacia L1, en el año 2012¹⁶ se evalúa el funcionamiento de un cebador adicional denominado pU1M/2R dirigido hacia los genes *E6-E7*, del cual se obtiene un mejor

rendimiento diagnóstico, concluyendo que las mujeres positivas por este set de cebadores pU1M/2R, presentaron los hallazgos citológicos de peor pronóstico.

En el año 2013 se realiza un estudio en la población indígena de Paraguay¹⁴ en el cual se evaluaron 181 muestras de mujeres indígenas de las etnias: Maka (n=40), Nivacle (n=23), Sanapaná (33), Enxet sur (51) y Toba-Qom (n=34). En el que se encontró un porcentaje del 23.3% de mujeres indígenas positivas para la presencia del VPH, de los cuales el 16.6% presentaba VPH de alto riesgo. Dentro de los factores sociodemográficos de esta población evaluados se encontró: la edad, el número de embarazos, el nivel de escolaridad, el número de parejas sexuales, la edad de la primera relación sexual y el uso de anticonceptivos, identificando de esta manera los factores de riesgo a los que se encuentran expuestas las mujeres indígenas de Paraguay.

En el año 2017 en una población de mujeres del norte de México^{30, 31}, se estableció como factor de riesgo fundamental para desarrollar CCU, la falta de acceso a los servicios de salud que presentan las mujeres en zonas rurales, para evaluar esta población se realizó un estudio con 1.188 muestras de las cuales un 20% resultó positivas para infección por VPH, cuyos tipos más prevalentes fueron el 59, 52,16 y 56.

Los estudios expuestos anteriormente muestran la necesidad de estudiar a profundidad el comportamiento del VPH dentro de la población indígena de Colombia, ya que como se observó en el estudio desarrollado por Camargo M. et al¹⁸, ser de ascendencia indígena, es

considerado un factor de riesgo en la adquisición de VPH, lo que ha sido corroborado en diferentes estudios realizados en sur América,.

3 MARCO TEÓRICO

3.1 Cuello uterino

3.1.1 Anatomía del cuello uterino

El cuello uterino, se encuentra ubicado en la porción inferior del útero, caracterizado por ser de forma redonda, cartilaginosa, con un tamaño aproximado de 2 cm de ancho por 4 cm de profundidad, realizando funciones de comunicación entre el útero y la vagina, permitiendo el paso de espermatozoides, flujo menstrual y del feto ³².

Desde el punto de vista anatómico este se divide en cuatro fracciones, tal y como se evidencia en la figura 1:

- Exocérvis: Parte del cuello uterino de fácil visualización, recubierto por epitelio escamoso, con múltiples capas celulares³³.
- Endocérvis: Forma el canal endocervical, encargado de la unión del orificio cervical externo con la cavidad uterina, con una medida de 18 a 35 mm de longitud y un revestimiento por la membrana mucosa, con tres tipos celulares diferentes (Cilíndricas secretoras, Cilíndricas y Cilíndricas de reserva) ³³.
- Unión escamoso-cilíndrica: Es la unión del epitelio escamoso estratificado con el epitelio cilíndrico simple, ubicado frente al orificio cervical externo³³.
- Orificios cervicales: Orificio externo el cual comunica la vagina con el canal endocervical y se suele localizar en el centro. En condiciones naturales es de aspecto

puntiforme, y Orificio interno. Comunica el canal endocervical con el interior de la cavidad uterina³³.

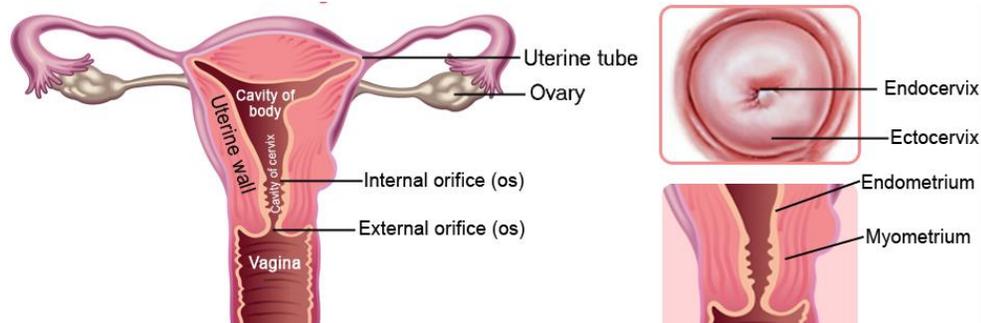


Figura 1. Anatomía del cuello uterino.³⁴

3.1.2 CCU

El CCU, es el segundo cáncer con mayor mortalidad a nivel mundial, seguido por el cáncer de seno¹, este se encuentra relacionado con la infección de células cervicales por VHP-AR (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 67, 68, 73 y 82)³⁵ junto con diferentes factores de riesgo como el inicio temprano de relaciones sexuales, pertenecer a un grupo racial o de minoría étnica, aumento en la frecuencia del consumo de alcohol y cigarrillo, cuya persistencia desencadena la progresión de lesiones precancerosas e invasivas⁶.

El 90% de los casos que presentan lesiones de bajo grado causadas por VPH son transitorias y asintomáticas, siendo capaces de eliminar el virus por sí mismas, sin la necesidad de someterse a tratamiento, el 10% restante mantendrá una infección persistente, con riesgo de desarrollar posteriormente CCU⁶. Las lesiones de alto grado, son menos frecuentes y surgen por la progresión de lesiones de bajo grado y por la infección persistente por VPH hasta el

desarrollo del carcinoma invasor, tal y como se evidencia en la figura 2, lo que hace del CCU una enfermedad relativamente fácil de prevenir, ya que su tiempo de evolución es de 10 a 20 años cursando con diferentes etapas como se evidencia en la figura 2 ³⁵.

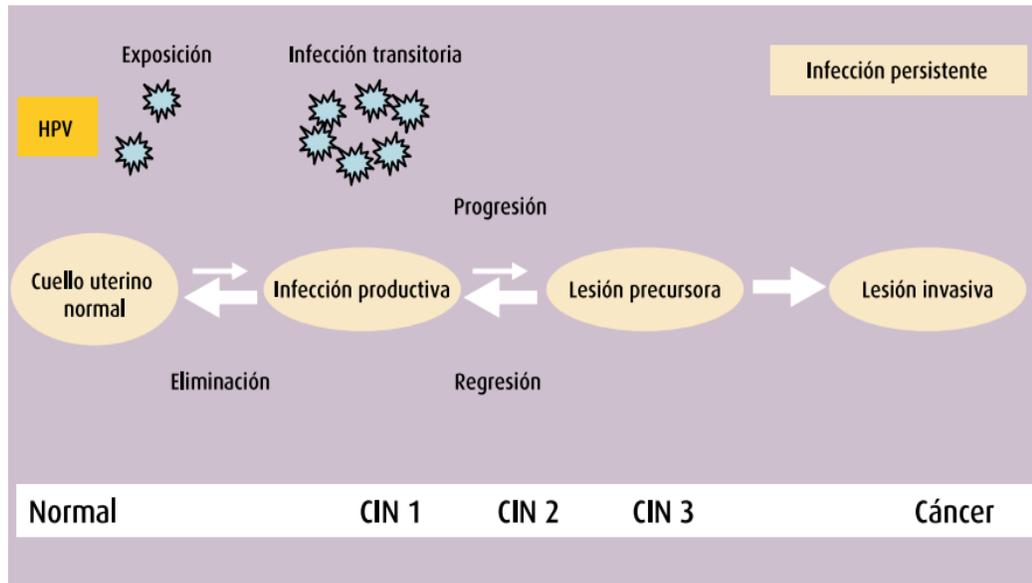


Figura 2. Historia natural de las anomalías del cuello uterino, en donde se evidencian las diferentes etapas de progresión y regresión.³⁵.

Es importante mencionar que esta es una de las pocas patologías cancerígenas prevenibles mediante la vacunación y un diagnóstico oportuno a través de la citología cérvico-vaginal, ya que la detección temprana ha reducido en 80%-90% la incidencia y mortalidad por cáncer de cérvix ³⁶

3.1.3 Factores de riesgo en el desarrollo de cáncer de cuello uterino

La organización mundial de la salud (OMS)³⁷, define como un factor de riesgo, a todo aquel hecho, circunstancia o condición que propicia que un individuo aumente su probabilidad de adquirir una enfermedad o lesión, esto con el fin de informar y prevenir sobre aquellas actividades o circunstancias que propician su desarrollo.

Se ha demostrado que el principal factor de riesgo en el desarrollo de CCU es la infección persistente por (VPH), siendo esta por sí sola, insuficiente para su desarrollo, por lo que se ha llegado a relacionar con la actuación en conjunto de otros factores riesgo, los cuales son:³⁸ promiscuidad, tabaquismo, número de parejas sexuales, edad de inicio de vida sexual, número de gestaciones/abortos, uso de anticonceptivos hormonales, estado de inmunosupresión, los antecedentes de infecciones de transmisión sexual, falta o uso inadecuado del preservativo, tener bajos recursos económicos, bajos niveles de educación, no asistir a controles médicos y toma de citología vaginal. Factores que se consideran determinantes, en el desarrollo de la enfermedad.^{38, 39}

3.1.4 Algoritmo diagnóstico

Colombia, inició desde los años sesenta actividades en el diagnóstico y prevención del cáncer de cuello uterino, a través de la promoción de la citología cervical (cuello uterino) anual, como técnica de tamización primaria creando en los años 90, el Programa Nacional para el Control y Detección Precoz de Cáncer de Cuello Uterino²⁵, con la finalidad de incrementar la cobertura de la citología cervical dentro de la población objeto, y mejorar la oportunidad en el diagnóstico; perdiendo su carácter vertical y centralizado, en el año de 1993, a través

de la reforma del sistema de salud, pasando este conjunto de actividades a ser cargo de las aseguradoras y sus redes de servicios, cuyo pilar se encuentra en la Resolución 412 del 2000⁴⁰ en donde se establece como población objeto del programa a mujeres entre los 25 a 69 años de edad, y en aquellas mujeres menores de 25 años que hayan iniciado su vida sexual, se recomienda realizar la tamización tres años después de la primera relación sexual, siendo establecido para ambas poblaciones el esquema 1-1-3, lo que significa que si el resultado de la primera citología es normal, la próxima citología se debe realizar cuando se cumpla un año de haberse realizado la primera citología, si el resultado de la segunda citología es normal (dos citologías normales durante años consecutivos), la próxima citología deberá realizarse a los 3 años de haberse realizado la segunda citología⁴⁰.

Actualmente, se cuenta un cobertura del 76% del programa, según el protocolo de cáncer de mama y cuello uterino del Instituto Nacional de Salud de Colombia⁴¹, pero a pesar del aumento progresivo en la cobertura de este, la mortalidad por CCU no se ha visto disminuida^{42, 43}, lo cual se encuentra relacionado con diversos factores como: alteraciones en la calidad de la toma de la muestra, lectura de la citología y el tratamiento, además del acceso oportuno a la confirmación diagnóstica y no solo a la cobertura de la población como lo expone la OMS²⁶.

En Colombia, la mayor causa de mortalidad por CCU, se encuentra relacionada con el limitado seguimiento de los casos positivos identificados por medio de la citología cervical, sumado con la baja sensibilidad (42%-61%) de la misma⁴⁴, , lo que dificulta el diagnóstico oportuno y certero en las pacientes analizadas. Actualmente se encuentra comprobado que la

citología cervical, es un recurso altamente específico, de bajo costo pero poco sensible y subjetivo para la detección de lesiones pre-malignas⁴⁵, debilidad que puede ser superada con la implementación de alguno de los 4 test moleculares o pruebas de cribado automatizadas, reproducibles y con elevada sensibilidad aprobadas por la FDA (del inglés: Food and Drug Administration) basadas en técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y detección de la presencia del ARN mensajero de los oncogenes E6 y E7⁴⁵, y que al correlacionarse con los cambios morfológicos anormales en los queratinocitos del cuello uterino, se convierten en indicadores de la iniciación o presencia de la enfermedad⁴⁶; por lo que se hace necesario promover y masificar el acceso diagnóstico a programas de tamizaje de CCU que se encuentra cubierto dentro del plan obligatorio de salud (POS) (tabla 1), en donde se incluyen técnicas altamente sensibles de biología molecular como la PCR, la cual complementa los estudios diagnósticos.^{46, 47}.

Tabla 1 Exámenes para la detección de cáncer de cuello uterino ⁴⁸.

Exámenes para detección de cáncer de cuello uterino	
Estadio clínico	Examen clínico general.
Intervenciones	Colposcopia, Biopsia.
Métodos moleculares	Tipificación de VPH de alto riesgo.

3.1.5 Sistema de clasificación de citología vaginal - Bethesda

El sistema Bethesda, fue desarrollado en 1988 por un grupo de expertos en Citología, Histopatología y Ginecología del Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos, con el propósito informar los resultados de la citología vaginal de una forma uniforme, flexible, y

reproducibile, con una interpretación descriptiva de los hallazgos y empleo el término de “citología cervical”⁴⁹.

A nivel general el sistema de clasificación vaginal Bethesda se reporta como:

- Negativo para Lesión Intraepitelial o Malignidad: cuando no existe ninguna anomalía de las células epiteliales⁴⁹.
- Anomalía en Células Epiteliales: cuando se identifica alteraciones celulares de lesiones pre malignas o malignas en las células escamosas o en las células glandulares⁴⁹.

Las que se subdividen a su vez en dos categorías según el tipo de lesión:

- Lesión Intraepitelial escamosa de bajo grado (LIEBG) que incluye infección por HPV y NIC I (displasia leve)⁴⁹.
- Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado (LIEAG) que incluye NIC II y NIC III (displasia moderada, displasia severa y carcinoma in situ)⁴⁹.

En esta también se introduce una categoría para las Células Escamosas Atípicas las cuales son de significado indeterminado (ASC-US), en donde se refleja la dificultad para interpretar

ciertos cambios celulares con precisión y reproducibilidad para brindar un diagnóstico confiable y oportuno⁴⁹.

La categoría carcinoma escamoso se define como un tumor maligno invasor que presenta diferenciación escamosa de las células.⁴⁹

Respecto a las anormalidades en células glandulares, este sistema ha incorporado cambios en el modo de informar, teniendo en cuenta que los hallazgos glandulares atípicos involucran el posible desarrollo de actividad neoplásica maligna relacionada y deben ser clasificarse en endocervical o endometrial⁴⁹. Reporte que se expone detalladamente en la Tabla 2.

Tabla 2. Clasificación Bethesda⁴⁹

ITEM	FORMA DE REPORTE
1.Tipo de espécimen	Convencional o líquido.
2.Valoración de la idoneidad de la muestra	Satisfactorio: Frotis adecuado para diagnóstico, con presencia de células endocervicales conservadas.
	No satisfactorio: Frotis inadecuado para diagnóstico, por datos incompletos, material celular escaso, fijación deficiente, presencia de abundantes glóbulos rojos en la muestra, presencia de exudado inflamatorio, ausencia de células endocervicales.
3.Categorías generales	Negativa para lesión intraepitelial o malignidad: La muestra se encuentra dentro de los límites normales y cambios celulares benignos.
	Hallazgos no neoplásicos:
	Variaciones celulares no neoplásicas: Metaplasia escamosa, cambios en los queratinocitos, atrofia y cambios asociados al embarazo
	<ul style="list-style-type: none"> • Cambios celulares reactivos asociados a: inflamación, cervicitis folicular, radiación, dispositivo intrauterino. • Células glandulares en mujeres con histerectomía.
	Organismos
	Elementos micóticos morfológicamente compatibles con <i>Candida</i> spp.
	<i>Trichomona vaginalis</i> .
	Cambio de flora vaginal sugestiva de vaginosis bacteriana.
	Bacterias morfológicamente compatibles con <i>Actinomyces</i> spp.
	Cambios celulares compatibles con Herpes Virus.
Cambios celulares compatibles con Citomegalovirus.	
	Otros
	Se refiere a los hallazgos no neoplásicos como: Cambios asociados por presencia del dispositivo intrauterino, presencia de células endometriales en toda mujer mayor de 40 años.
	Células escamosas atípicas: En esta categoría, se consideran los cambios celulares que pueden relacionarse con varios factores etiológicos, pero que no se logra determinar una causa definitiva.
	Células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US): Sugerentes de una lesión de bajo grado, comúnmente relacionada con una infección por VPH.
	Células escamosas atípicas que no excluyen una lesión intraepitelial escamosa de alto grado (ASC-H): Sugerentes de una lesión de alto grado y de mayor relevancia clínica en comparación con las ASC-US.
4.Anormalidades en células epiteliales	Lesión intraepitelial escamosa: Comprende un espectro de anomalías epiteliales no invasivas, que tradicionalmente se han clasificado como condiloma plano, displasia, carcinoma in situ, y neoplasia intraepitelial (NIC) las que se dividen en lesiones de bajo grado y de alto grado.
	Lesión intraepitelial de bajo grado (LSIL): En este se agrupan las alteraciones celulares asociadas a la infección por Virus Papiloma Humano (VPH), la displasia leve/NIC I.
	Lesión intraepitelial de alto grado (HSIL): En esta se agrupan la displasia moderada/NIC II, displasia severa/NIC III y el carcinoma in situ.
	Carcinoma de células escamosas: Este se agrupan en: células glandulares, células glandulares atípicas (que se clasifican a su vez en endocervicales, endometriales, glandulares), células glandulares con atipias a favor de neoplasia, adenocarcinoma cervical in situ, adenocarcinoma (que se clasifica a su vez en endocervical, endometrial, extrauterino sin especificar), otras neoplasias malignas

3.2 Epidemiología del cáncer en el mundo, en Latinoamérica y en Colombia

Las enfermedades no transmisibles, son actualmente responsables de la mayoría de las muertes a nivel mundial, por lo que se espera que el cáncer se ubique como la principal causa de mortalidad en el mundo, al ser la barrera más importante en el aumento de la esperanza de vida del siglo XXI. La OMS estima, que esta es la primera o segunda causa de muerte antes de los 70 años, en 91 de 172 países, lo que lo convierte en un importante problema de salud pública¹. En Colombia según informes preliminares del DANE el 20% de todas las muertes ocurridas durante el 2018, fue por cáncer, de las cuales el 5% correspondía a cáncer de cuello uterino⁵⁰.

Los cinco tipos de cáncer con mayor mortalidad durante el 2018 fueron en orden descendente, en el mundo y Latinoamérica: el cáncer de seno, pulmón, cuello uterino, estómago y colón. Frente a Colombia, el orden del cáncer de estómago se invierte al ocupar el tercer lugar y por el de cuello uterino que ocupa el cuarto respecto al orden del mundo y Latinoamérica. Entre los casos con mayor incidencia durante el 2018, se encuentra el cáncer de seno, en el mundo, en Latinoamérica y Colombia, seguido del cáncer de cuello uterino el cual se encuentra en segundo puesto en Latinoamérica y Colombia, y en tercer lugar a nivel mundial. Es importante recalcar que la incidencia de CCU más alta se encuentra en Latinoamérica seguida de Colombia y el mundo ⁵¹⁻⁵⁴.

Lo que se evidencia con las más de 5 millones de personas adquieren el VPH cada año, donde aproximadamente el 74% de los casos ocurre entre los 15 y los 24 años de edad; siendo considerado un agente de importancia en salud pública, debido a que presenta infecciones en

numerosas especies y es el responsable de producir diferentes enfermedades en humanos, entre ellas, la más importante el CCU ⁵⁵.

3.3 Generalidades del Virus del Papiloma Humano

Los Virus del Papiloma Humano (VPH), son un grupo de virus pertenecientes a la familia *Papillomaviridae*, con ADN circular de doble cadena y un tamaño de 7.500 a 8.000 pb que se codifican de 8 a 9 marcos de lectura abierta⁵⁶, encargados de la expresión de características biológicas propias del virus⁵⁷ a través de la traducción de proteínas. Esta familia de virus presenta un tamaño aproximado de 50 a 55 nm, con cápside icosaédrica sin envoltura, (figura 3) y afinidad por el tejido epitelial^{56, 58}.

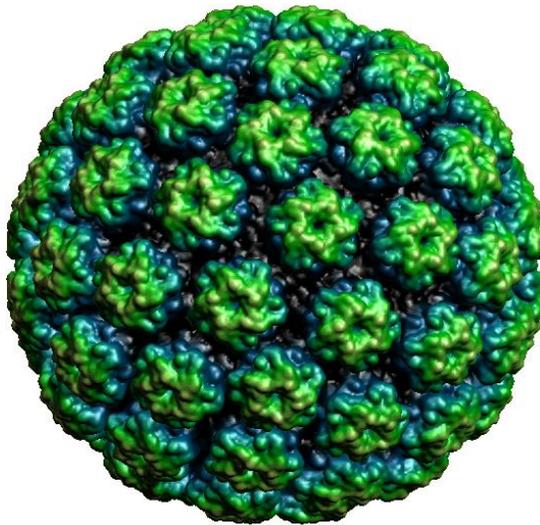


Figura 3. Fotografía de microscopía crioelectrónica de un virión de VPH.

Reconstruido por medios informáticos a partir de imágenes por microscopía crioelectrónica y de la proteína L1 cristalizada⁵⁹.

3.3.1 Genoma del VPH

El genoma del VPH, se encuentra conformado por cuatro regiones, dos de las cuales se encuentran compuestas por dos tipos de genes divididos en aquellos que son codificados en las etapas tempranas de la infección, conocidos como genes *E* (*E1*, *E2*, *E4*, *E5*, *E6* y *E7*) (del inglés Early) (figura4) encargados de dar origen a las proteínas que controlan la replicación y regulación viral, así como de su capacidad carcinogénica, por otro lado se encuentran aquellos que son codificados durante las etapas tardías del ciclo de replicación conocidos como *L* (del inglés Late) que dan origen a las proteínas estructurales *L1* y *L2*,(figura4) tal y como se muestra en la figura 4, las cuales conforman la cápside viral, con una equivalencia del 95% y 5% respectivamente, y una región reguladora no codificante de aproximadamente 1 kb, la cual se denomina región larga de control (LCR, Long control región o URR) que contiene elementos de respuesta para factores de transcripción celulares, tales como AP1, SP1, Oct1, así como para las proteínas virales *E1* y *E2*, que controlan la replicación y la expresión del genoma viral y una región pequeña, altamente variable y no codificante (NCR) entre los genes *L5* y *E2* ⁶⁰.

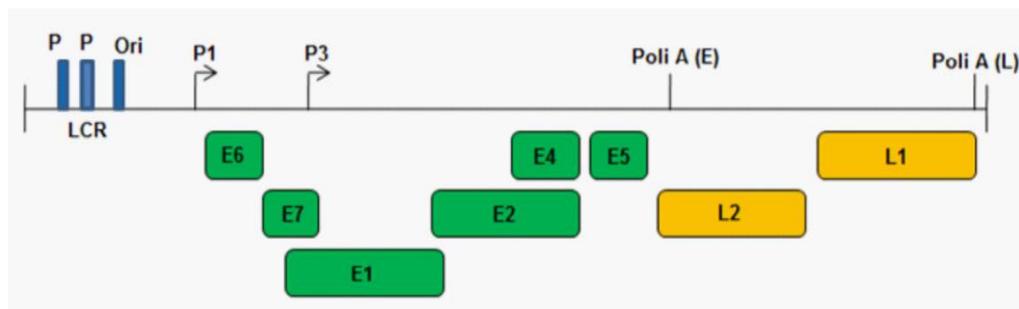


Figura 4. Genoma del Virus del Papiloma Humano. En esta se exponen los P: potenciadores, promotores P1 Y P3, Poli A: sitios de poliadenilación LCR región control) ⁶⁰.

3.3.2 Proteínas del VPH y sus funciones asociadas

El Virus del Papiloma Humano se encuentra compuesto por ocho genes de expresión temprana o early (E1-E8), que se traducen en proteínas implicadas en la regulación y replicación viral, dos genes de expresión tardía (L1, L2), encargados de la codificación de las proteínas de ensamblaje de la cubierta viral o cápside y la región de control (LCR), encargada de controlar la expresión de los genes tempranos E6 y E7, ^{61, 62}cuyas funciones se encuentra resumidas en la Tabla 3.

Tabla 3. Características de las proteínas estructurales y no estructurales del VPH

Tipo de proteína	Nombre	Funciones asociadas
NO ESTRUCTURALES	E1	La proteína E1 contiene una señal de localización nuclear y se ha propuesto que el mantenimiento del episoma viral en queratinocitos no diferenciados es una función de una región conservada de E1; esta es una proteína de 68 kDa con ATPasa y helicasa con actividades 3' – 5.
		Las secuencias de reconocimiento de E1 en los orígenes de VPH es ligado a los sitios de unión al ADN de E2 y estas últimas para cargar E1 en el origen y facilitan la unión de mayor afinidad iniciando así la replicación y transcripción de ADN. E1 interactúa con las proteínas quinasas activadas por mitógenos y los reguladores del ciclo celular ciclina E y A.
	E2	E2 es una proteína de 50 KDa, que desempeña un papel importante en la regulación transcripcional de los genes tempranos, la replicación de ADN y las funciones del
	E4-E5	Las proteínas E4-E5 se expresan temprano pero funcionan para modular la fase tardía del VPH.
		Después de la diferenciación epitelial E4 se convierte en el gen viral más altamente expresado debido a la utilización del promotor gen tardío. Las funciones de la proteína E4-E1 incluyen la detención G2/M mediada por E4 a través de la unión a ciclina. La proteína E5 está relacionada con la activación del (EGFR).
	E6 -E7	E6 forma un complejo tmeroco con P53 y ubiquitina ligasa dando como resultado la ubiquinilación de P53, la degradación de la proteína 265 y la reducción de la vida media de P53. Cuando se sobre expresa E6-E7 interrumpe la función de Rb y P53 que conduce al desarrollo de un fenotipo maligno permitiendo a las células un crecimiento significativo. Conducen la transcripción activa del VPH, proliferación celular, inestabilidad genómica.
ESTRUCTURALES	L1	Proteína principal de la cápside Reconoce receptores sobre la célula hospedadora Es altamente inmunogénica e induce anticuerpos neutralizantes.
	L2	Proteína secundaria de la cápside. Participa a la unión del virión a la célula, en su entrada a la célula y su transporte al núcleo, la liberación del genoma y el ensamble de los viriones.

En la que se exponen funciones de regulación, replicación viral, proteínas de ensamblaje de la cápside y la región de control (LCR)⁶¹

Proteínas estructurales

L1, es la principal proteína de la cápside y participa en la entrada del virus a la célula hospedera⁶³, además de ser considerada una de las regiones más conservadas del VPH, ideal para el diagnóstico molecular⁵⁸. L2, es la proteína secundaria en la conformación de la cápside, participante en el proceso de encapsulación⁶³, unión al virión, entrada a la célula y transporte al núcleo⁵⁶.

Proteínas no estructurales

E1, participa en la replicación del ADN viral por medio de su función de helicasa⁵⁶; E2, se encuentra implicada en la replicación y transcripción del ADN viral actuando como un represor de la transcripción de las oncoproteínas E6 y E7^{58,63}, dentro de su marco de lectura también se encuentra una secuencia de 260pb que codifica para la proteína E4⁶³, con funciones asociadas en la regulación de la expresión de los genes tardíos L1 y L2, que controlan la maduración viral y la salida de los viriones⁵⁶, por medio de la afectación de la estabilidad de las células epiteliales⁶³. E5, se encarga de regular la actividad de los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), papel importante en la proliferación celular^{56,63}.

Proteínas oncogénicas: E6 y E7

La transfección de los genes E6 y E7 en los queratinocitos basales es necesaria para la immortalización de los queratinocitos evitando su diferenciación en células basales. La proteína E6 tiene como función la unión y degradación de p53, afectando la habilidad de inducir las células en apoptosis e interrumpir el ciclo celular; la proteína E7 tiene como función la unión a la proteína supresora de tumores retinoblastoma Rb esenciales en el control del ciclo celular⁶⁴.

3.3.3 Taxonomía del Virus del Papiloma Humano

Se han identificado aproximadamente 16 géneros de *Papillomavirus* (Figura 5), con tropismo hacia el epitelio de diferentes especies, dentro de los que se destacan los Alphapapillomavirus, Betapapillomavirus y Gammapapillomavirus^{55, 65} por ser infectantes exclusivamente del epitelio humano, con más de 100 tipos diferentes⁶⁶.

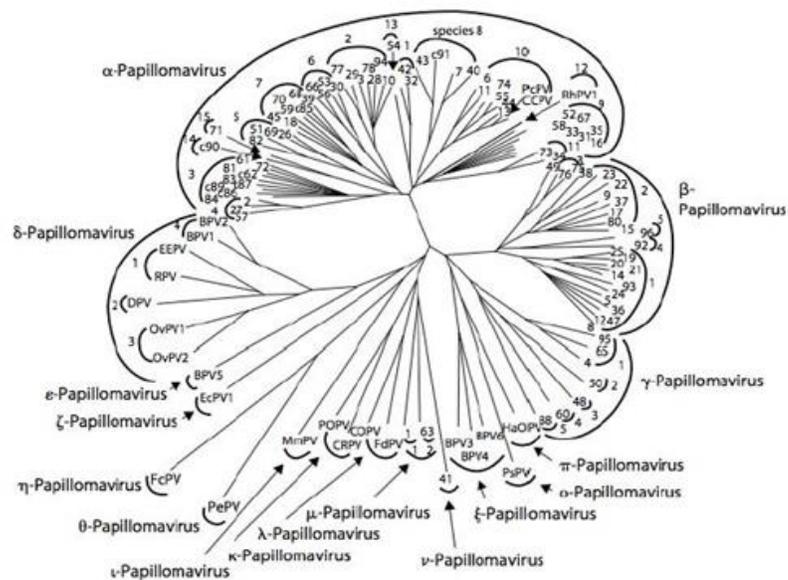


Figura 5. Taxonomía de los Papillomavirus⁶⁷

La clasificación del VPH, se basa en la conservación u homología del genoma presente en el gen L1. La diferencia entre un tipo u otro, es designada por números, según el orden cronológico de su descubrimiento, y se da cuando entre estos, hay una homología del 71% al 89%; respecto a los subtipos y variables, su homología debe ser del 90% al 95% y 95% al 98% respectivamente ⁶⁸(Tabla 4).

Tabla 4 Porcentaje de similitud de la clasificación de los Papillomavirus

Especie	Tipos	Sub-Tipos	Variante
60%-70%	71%-89%	90%-95%	95%-98%

En la que expone el porcentaje de similitud de los nucleótidos de las regiones codificadas por las proteínas E6, E7 y L1, del VPH, para su clasificación⁶⁸.

Los géneros del *Papillomavirus* con importancia clínica en la especie humana, se clasifican según su tropismo en mucosos y cutáneos, los mucosos se asocian con lesiones benignas y se denominan como tipos de bajo riesgo (VPH-BR), causadas principalmente por 6 y 11, expresados en condilomas, mientras que los tipos asociados a lesiones malignas son conocidos como tipos de alto riesgo (VPH-AR) causados principalmente por los tipos 16, 18, 30, 31, 33, 35, 45, 51 y 52, entre los que se destacan 16 y 18 por su potencial oncogénico (Tabla 5).

Tabla 5 Clasificación de los Papilomavirus, con tropismo por la especie humana^{66, 68}

Género	Especie	Tipos	Implicación lesión
α -papilomavirus	1	HPV-32,42	Lesiones benignas mucosas
	2	HPV-10,3,28,29,78,94	Lesiones de bajo grado cutaneas
	3	HPV-61,72,81,83,84,	Lesiones de bajo grado mucosas
	4	HPV-2,27,57	Verrugas comunes de piel
	5	HPV-26,51,69,82	Lesiones de alto grado mucosas
	6	HPV-53,30,56,66	Lesiones de alto grado mucosas
	7	HPV-18,39,45,59,68,70	Lesiones de alto grado mucosas
	8	HPV-7,40,43	Lesiones de alto grado mucosa-cutáneas
	9	HPV-16,31,33,35,52,58,67	Lesiones de alto grado mucosa-malignas
	10	HPV-6,11,13,44,74	Lesiones mucosas de bajo riesgo benignas
	11	HPV-34	Lesiones de alto grado mucosas
	13	HPV-54	Lesiones mucosas de bajo riesgo
	14	HPV-c90	Lesiones mucosas de bajo riesgo
	15	HPV-5	Lesiones mucosas de bajo riesgo
	β -papilomavirus	1	HPV-5,8,12,14,19,20,21,25,36,47,93
γ -papilomavirus	2	HPV-9,15,17,22,23,37,39,80	Lesiones cutáneas
	3	HPV-49,75,76	Lesiones cutáneas benignas
	4	HPV-c92,d92	Lesiones cutáneas premalignas
	5	HPV-c96, d96	Lesiones cutáneas premalignas

En la que se describe el género, especie, tipo y clasificación de la lesión que causa^{66, 68}.

3.3.4 Ciclo de replicación del VPH

El ciclo de vida del VPH está ligado a la diferenciación del epitelio infectado, el transporte nuclear del genoma viral depende de una variedad de procesos que incluyen la unión a los receptores celulares, fusión o penetración a través de la membrana plasmática o endosomal, transporte endosomal, interacción con el citoesqueleto celular, eventos de desensamblaje viral y por último proliferación celular.

El ADN viral se mantendrá en un bajo número de copias en los núcleos de las células infectadas, las células y los virus serán desplazados hacia la superficie del epitelio a medida que van ocurriendo los procesos de diferenciación, siendo replicado en un alto número de copias en las células terminales diferenciadas. Los genes tardíos (L1, L2) son expresados, y la progenie del virus se produce, teniendo en cuenta que los VPH son virus no líticos, la progenie del virus se elimina al medio ambiente como una carga dentro de células epiteliales escamosas (Figura 6).

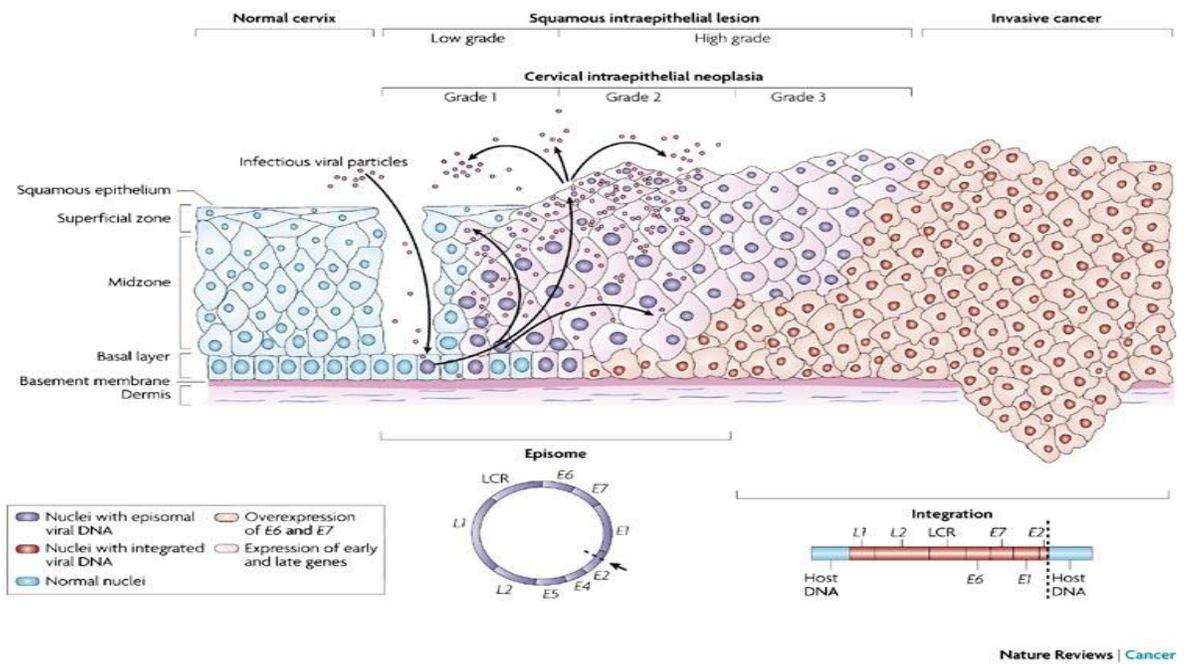


Figura 6 Ciclo de replicación del Virus de Papiloma Humano.⁶⁹

Las etapas iniciales de la infección viral requieren de la unión a receptores celulares, esto tiene lugar en la capa basal de las células la cual se da por medio de un micro trauma generado en la zona de transformación celular, la capa basal es constituida por células epiteliales que se dividen activamente; una vez expuestas las células blanco de procesos de infección y transformación viral, hay dos posibles maneras de anclaje a la membrana basal celular, una consta de estructuras de HSPG (Del inglés: Heparan Sulfate Proteoglycan) y la otra por la internalización de viriones la cuál ocurre por endocitosis a través de vesículas recubiertas de clatrina o caveolina^{60, 70}.

El transporte de la partícula viral a través del endosoma se da por la actividad de las proteínas Rab5 y Rab7 dependientes de GTPasa; Rab5 es la encargada de transportar y fusionar el

caveosoma con el endosoma temprano por otro lado Rab7 fusiona el endosoma tardío con el lisosoma, de manera que la partícula del virus puede atravesar el citoplasma celular^{61, 69}.

A medida que el endosoma temprano madura, ocurre una acidificación interna, en el pH ácido se rompen los puentes disulfuro de las proteínas L1 de la cápside viral, lo cual deja expuesto el ADN viral y a la proteína L2 en el medio, esta proteína tiene un péptido que desestabiliza la membrana endosomal y a medida que el pH se acidifica, esta se encarga de extraer el ADN viral y dirigirlo hacia los receptores de importación nuclear para realizar el transporte del genoma viral al núcleo celular^{61, 69}.

El transporte dentro y fuera del núcleo ocurre a través de complejos de poro nuclear, compuestos por karioferina alfa la cual funciona como un receptor de la señal de localización nuclear y subunidad beta que media el acoplamiento hacia el poro nuclear. Durante la importación Ran-GTP se induce el acoplamiento de las importinas para permitir la entrada de sustratos que luego se dirigen a los dominios nucleares, donde comienza la replicación del ADN viral; una vez entra al núcleo, el genoma viral utiliza la maquinaria celular para su replicación, síntesis y expresión de las proteínas tempranas (E1-E7) y tardías (L1-L2)^{71, 72}. Un aspecto importante en el ciclo de VPH es el establecimiento a largo plazo de la infección viral en el epitelio escamoso, donde las células están sometidas constantemente a la diferenciación y estas son desprendidas^{61, 69}.

3.4 Población indígena de Colombia

Se estima que el 5% de la población mundial actual, se encuentra compuesta por poblacional indígena, los cuales se dividen a su vez en 5000 grupos étnicos diferentes, en alrededor de 90 países⁷³. Respecto a población indígena del continente americano esta se encuentra en un 8,3% aproximadamente⁷⁴.

El DANE (Departamento Administrativo Nacional de Estadística) cálculo en el año 2005, que el 3,43% de la población colombiana pertenece al grupo étnico indígena, equivalente a 1.392.623 habitantes, distribuidos en el 29,8% del territorio nacional (34 millones de hectáreas), a lo largo de 27 departamentos y 228 municipios del país⁷⁵, con cerca de 106 pueblos indígenas, pertenecientes a 710 resguardos titulados⁷⁶.

Dentro de las regiones más representativas de la población indígena de colombiana, se encuentra la región de Andes la cual se encuentra conformada por los departamentos de Antioquia, Boyacá, Caldas, Caquetá, Cauca, Cesar, Choco, Cundinamarca, Huila, Nariño, Norte de Santander, Putumayo, Quindío, Risaralda, Santander, Tolima y Valle del cauca, en donde la mayor proporción por sus habitantes pertenece al grupo étnico indígenas (43,9%) pero presenta la menor diversidad étnica delos minos (14,4%), frente a la población del indígena de la región del Amazonas que se encuentra constituida con la mayor diversidad en grupos étnicos(53,3%) y menor población indígena (12,6%) del país, la cual se encuentra conformada a su vez por los departamentos de Amazonas, Caquetá, Guainía, Guaviare, Meta, Putumayo, Vaupés y Vichada; manteniendo desde el Siglo XIX estas dos regiones una

estrecha interrelación, al descender poblamiento de la región del Amazonas desde de la región de los Andes⁷⁷.

3.4.1 Características demográficas de la población indígena colombiana

Los pueblos indígenas, presentan una composición diferente en la característica de sexo predominante respecto al resto de la población colombiana, el cual es dado por el índice de masculinidad, con predominio de 102 hombres por cada 100 mujeres indígenas⁷⁸. En relación con la característica etaria, este grupo poblacional es relativamente joven, presentando un población de 40% de habitantes en edades menores a los 15 años, que se divide en mayor proporción, en el grupo etario de 0 a 9 años (28%)⁷⁸. Respecto al índice de envejecimiento, este corresponde a 13, es decir que por cada 100 indígenas menores de 15 años hay 13 personas entre 65 o más años⁷⁸, lo que se resume en un gráfico de tipo piramidal progresivo (Figura 7) ⁷⁸o en una población con tasas altas de natalidad y de mortalidad⁷⁸.

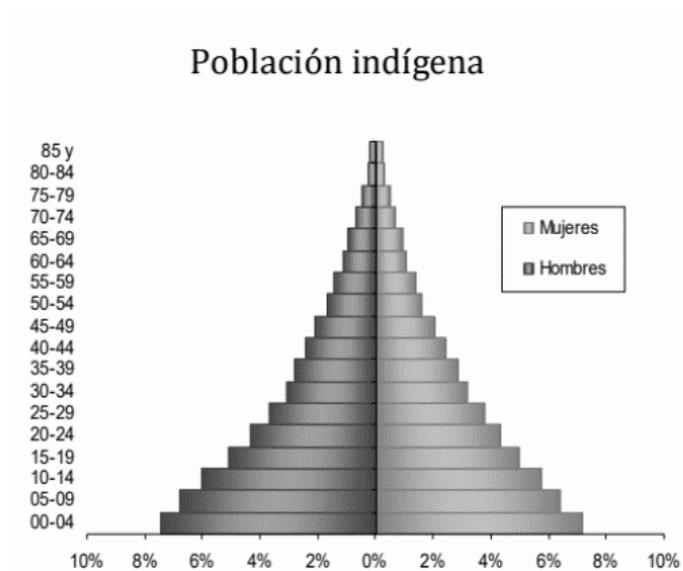


Figura 7. Tipificación por sexo y por edad de la población indígena de Colombia.
Fuente DANE, 2005⁷⁸.

La tasa de fecundidad de esta población es de 62 niños por cada 100 mujeres indígenas en edad fértil, lo que se traduce en una Tasa de Fecundidad Global (TFG) de 3,85 hijos por cada mujer indígena. En cuanto a la tasa de dependencia (personas menores de 15 años y mayores de 65 años), esta es de 81 por cada por cada 100 habitantes⁷⁸.

4 OBJETIVOS

4.1 General

Calcular la prevalencia genérica y tipo específica de 11 tipos del Virus de Papiloma Humano de alto riesgo en un grupo de mujeres indígenas de la región del Amazonas y los Andes colombianos.

4.2 Específicos

- Describir las características sociodemográficas de la población participante del estudio.
- Evaluar la asociación entre los factores de riesgo y la infección con VPH.

5 DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 Tipo de investigación

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal, con el fin de determinar la prevalencia de la infección y coinfección del VPH en mujeres indígenas pertenecientes a la región del Amazonas y los Andes Colombianos.

5.2 Universo

Mujeres indígenas de Colombia.

5.3 Población

Mujeres indígenas residentes de la región del Amazonas y los Andes Colombianos.

5.4 Muestra

Muestreo no probabilístico por conveniencia dentro de una población de 644 mujeres que asisten a programas de promoción y prevención de CCU y que accedieron a participar voluntariamente dentro del estudio llevado a cabo desde el año 2007 al 2014, en las ciudades de Leticia-E.S.E. Hospital San Rafael de Leticia, Puerto Nariño-Hospital-Local de Puerto Nariño (Región del Amazonas colombiano), Bucaramanga-Hospital de Universitario de Santander, Chaparral-E.S.E. Hospital San Juan Bautista, Girardot-E.S.E. Hospital de Girardot, Guaduas- E.S.E Hospital San José e Ipiales-E.SE. Hospital Civil de Ipiales (Región de los Andes).

5.4.1 Criterios de inclusión

Todas las mujeres que hayan iniciado su vida sexual, que participen en los programas de promoción y prevención ofertados en los Hospitales de Puerto Nariño y San Rafael de Leticia para la región del Amazonas y del Hospital Universitario de Santander, Hospital San José de Ipiales, Hospital de Girardot y del Hospital Civil de Ipiales para la región de los Andes, que se auto-reconocieron como indígenas y cumplieron con la documentación requerida, compuesta por: Fotocopia del documento de identidad, firma del permiso de participación por parte del tutor (familiar en primer o segundo grado de consanguinidad) en caso de ser menor de edad, firma del consentimiento informado, además del diligenciamiento de un cuestionario sociodemográfico.

5.4.2 Criterios de exclusión

Mujeres que no cumplieran con los criterios de inclusión, que no hayan iniciado vida sexual, que se encuentren en estado de embarazo, durante el periodo menstrual, que hayan tenido relaciones sexuales tres días antes de la toma de la citología o se hayan aplicado productos que interfieran con el resultado del examen como óvulos, duchas o cremas vaginales

5.5 Verificación étnica

Se verificó la pertenencia étnica a través de contacto telefónico con cada una de las mujeres incluidas en el estudio, para así establecer el pueblo indígena o resguardo de pertenencia. Con las mujeres que no fue posible establecer comunicación telefónica (número equivocado o fuera de servicio) se tomó como referencia el lugar de nacimiento registrado en la historia clínica, y se comparó con el Sistema de Información de Grupos Étnicos del Departamento Administrativo Nacional de Planeación de Colombia (DANE), junto con el censo de resguardos indígenas elaborado por el Ministerio del Interior de Colombia del año 2015, para poder definir el grupo indígena de cada mujer. El lugar de nacimiento, residencia y la pertenencia indígena de las pacientes permitieron establecer el área geo-cultural de dominio de cada mujer.

Para este estudio los pueblos indígenas con mayor número de participantes fueron para el Amazonas (Yagua, Cocama, Tikuna) y los Andes (Yanacona, Patos, Nasa) colombianos. Cuya delimitación se considera elementos legales, ambientales, históricos, etnográficos y lingüísticos⁷⁹.



Pueblos indígenas de la región del Amazonas	n	Etnias
E.S.E. Hospital San Rafael de Leticia	106	Yagua
E.S.E. Hospital local de Puerto Nariño	29	Cocama
Pueblos indígenas de la región de los Andes	n	Etnias
E.S.E Hospital San Juan Butista	21	Yanacona, Patos,Nasa
E.S.E Hospital de Girardot	33	
E.S.E Hospital San Jose de Ipiales	24	
E.S.E Hospital Civil De Ipiales	32	
E.S.E. Hospital universitario de Bucaramanga	60	

Figura 8. Mapa de Colombia, delimitado con los lugares de procedencia de las mujeres indígenas participante del estudio.^{80, 81}

5.6 Consideraciones éticas y cuestionario sociodemográfico

Las mujeres que accedieron a participar en el presente estudio, lo hicieron de forma voluntaria, dejando constancia de esto por medio de la firma del consentimiento informado, (Anexo 3) además de diligenciar posteriormente un cuestionario sociodemográfico, donde se les preguntó acerca de sus características sociodemográficas (edad, ingresos mensuales, familiares con quien convive, escolaridad, estado civil), comportamiento sexual (edad de inicio de vida sexual, número de parejas sexuales, método de planificación) y de otros factores de riesgo que se asocian con el desarrollo de CCU (historia de infecciones de transmisión sexual), los cuales fueron aprobados por el comité de ética de cada institución hospitalaria participante del estudio, y por el comité de ética de la FIDIC, en el caso de las mujeres menores de 18 años, que deseaban participar dentro de este estudio, la firma del consentimiento informado fue dada por su tutor (familiar con hasta segundo grado de consanguinidad).

6 PROCEDIMIENTOS

6.1 Toma y conservación de las muestras

Previo a la toma de las dos muestras cervicales se le informa a cada mujer participante del estudio el procedimiento a realizar a cargo de la enfermera jefe, en el que se le solicitó que se ubicara en la camilla ginecológica para el posterior inserto del especulo en la vagina con el fin de abrir la cavidad vaginal y observar el fondo del cuello del uterino, para con una espátula y un citocepillo realizar un raspado tanto en el parte interior como externa de este. Con la primera muestra de origen cervical, se realizó la lectura de la citología a cargo del citohistotecnólogo del hospital, donde asistió la mujer participante del estudio, clasificando los hallazgos citológicos encontrados según el sistema Bethesda. La segunda muestra, se almaceno en etanol al 95% a -20 °C hasta su procesamiento a cargo del grupo de biología molecular de la FIDIC, por medio de la técnica molecular de PCR convencional

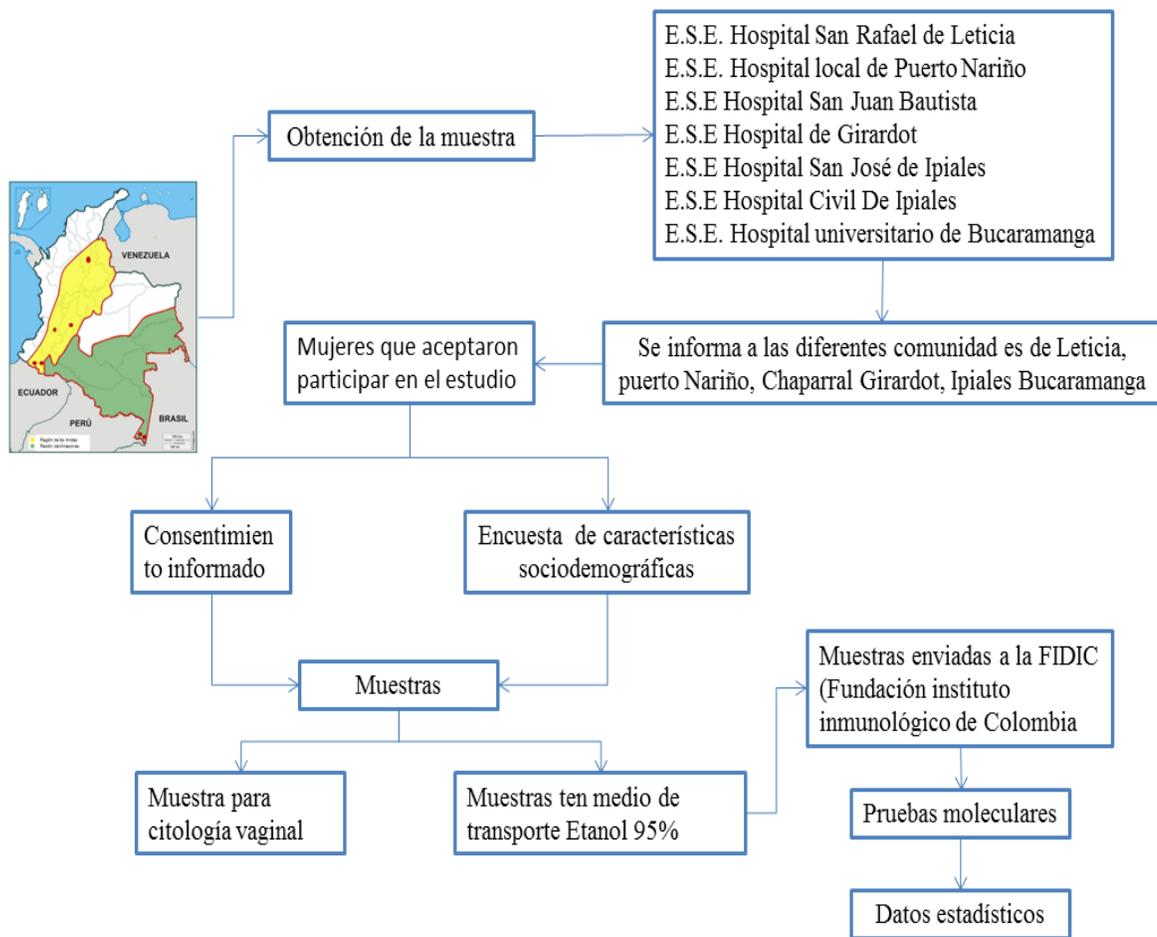


Figura 9. Algoritmo de la toma y conservación de las muestras

6.2 Extracción de ADN

El aislamiento del ADN, se realizó mediante el kit comercial Quick Extract Solution de la casa comercial *Epicentre*, a partir de las muestras de epitelio cervical conservadas en etanol, en base a las instrucciones del fabricante⁸² las cuales se listan a continuación:

1. Descongelar una de las balas de 1.5 mL por cada paciente.
2. Centrifugar las balas a 12000 rpm durante 10 minutos.

3. Descartar el sobrenadante con una pipeta de un mililitro , sin alterar el pellet.
4. Adicionar 200µL a 250 µL de PBS 1X filtrado, según la cantidad del pellet.
5. Resuspender el pellet totalmente por medio de la agitación con vortex.
6. Centrifugar nuevamente las balas a 12000 rpm durante 10 minutos.
7. Descartar el sobrenadante con una pipeta de 200µL , sin alterar el pellet.
8. Adicionar 200µL de Quick Extract Solution 1.0 en cada bala.
9. Resuspender el contenido celular por la técnica de pipeteo.
10. Incubar la bala al baño maría a 65 grados Celsius durante 6 minutos
11. Mezclar en vortex hasta que se resuspendan las células, con la finalidad de favorecer la lisis celular.
12. Incubar durante un minuto en baño serológico seco a 95 grados Celsius, para desactivar de esta forma la proteinasa.
13. Centrifugar las muestras a 12000 rpm durante 10 minutos.
14. Envasar la solución en balas de PCR de 200µL, debidamente etiquetadas y marcadas en la tapa con el consecutivo correspondiente.

6.3 PCR para determinar la calidad del ADN y detección del VPH

Actualmente se encuentran aprobadas 4 pruebas para la identificación y tipificación del VPH por la FDA, las que varían entre sí, por características propias de sensibilidad, especificidad y complejidad de cada una, la mayoría basada en la técnica de reacción en cadena de la polimerasa de punto final (PCR)⁴⁵, por ser esta altamente sensible, sencilla, específica y económica⁸³, cuyas limitaciones se encuentran principalmente en la selección del kit

(primers) y los equipos adecuados así como la estandarización de parámetros como temperatura y tiempo.

Una vez extraídas las muestras se sometieron a PCR convencional con el fin de determinar la presencia de VPH. Para determinar la calidad del ADN se amplificó un fragmento del gen B-globina utilizando los cebadores PC 03/PC 04 con un producto amplificado de 268pb, posteriormente las muestras con resultados positivos para el gen B-globina fueron sometidas a PCR convencional para determinar la presencia de VPH de bajo riesgo con el par de cebadores GP5+/GP6+ con un producto amplificado de 150 pb, finalmente con el fin de determinar la presencia de VPH de alto riesgo se utilizaron dos tipos de cebadores, el primer par de cebadores fue MY 09/MY 11 con un producto amplificado de 450 pb Pu-1M/Pu-2R y Pu-1M/Pu-2R con producto amplificado de aproximadamente 268 pb.

Tabla 6. Secuencia de los cebadores de B-globina, GP5+/GP6+, MY09/MY01 y PU 1M/2R, Del laboratorio Macrogen.⁸⁴

Pares de cebadores	Detección	Secuencia	Tamaño del fragmento	Gen que codifica
β-globina	Calidad del ADN	PC03: ACACAACCTGTGTTCACTAGC	268pb	β-globina
		PC04: CAACTTCATCCACGTTCCACC		
Pares de cebadores GP5+/GP6+	Presencia de VPH de bajo riesgo	GP5+: TTTGTTACTGTGGTAGATACTAC	150	L1
		GP6+: GAAAAATAAACTGTAAATCATATTC		L1
Pares de cebadores MY09/MY11	Presencia de VPH de alto riesgo	MY09: CGTCCMAARRGGAWACTGATC	450	L1
		MY11: GCMCAGGGWCATAAAYAATGG		L1
Pares de cebadores Pu-1M/Pu-2R	Presencia de VPH de alto riesgo	pU-1M: TGTCAAAAACCGTTGTGTCC	228-268pb	E6/E7
		pU-2R: GAGCTGTGCGCTTAATTGCTC		E6/E7

Cada PCR convencional fue realizada de manera independiente, ajustándosele según el caso condiciones de concentración y temperatura, como se muestran en la tabla 7 y 8, específicamente para el gen de β .globina.

Tabla 7. Condiciones de amplificación de los reactivos de la técnica PCR para la identificación del gen β -Globina

Ensayo	Reactivo	Concentración inicial	Concentración final	Volumen final
β -globina	Agua	-	-	5,281 μ l
	Buffer	5x	1x	1,25 μ l
	MgCl ₂	25mM	2,5 Mm	1,25 μ l
	dNTPs	100 mM	0,25 Mm	0,031 μ l
	Primer1	100 mM	1mM	0,125 μ l
	Primer2	100 mM	1 mM	0,125 μ l
	Taq polimerasa	50 MI	0,5 MI	1,25 μ l
	DNA Molde			
Volumen final				12,5 μ l

Tabla 8. Condiciones de amplificación referentes a la temperatura y tiempo de la PCR para la identificación del gen β -Globina

Ensayo	Fase de PCR	Temperatura	Tiempo	Ciclos
β - globina	Desnaturalización inicial	95°C	1 min	1
	Desnaturalización	95°C	30 seg	35
	Anillamiento	58 °C	30 seg	
	Extensión	72 °C	30 seg	
	Elongación	72 °C	5 min	1

Características específicas de tiempo, temperatura y numero de ciclos en cada una de las fases de la PCR, empleadas dentro del presente estudio para la identificación del gen β -Globina

Teniendo en cuenta que cada conjunto de cebadores (GP5+/GP6+, MY09/MY011 y pU1M/2R) posee características específicas y amplifican en diferentes fragmentos (150 pb, 450 pb y 228-268 pb respectivamente), se procedió a realizar de forma independiente para

cada uno la aplicación de las siguientes condiciones específicas de tiempo, temperatura y ciclo expuesta en la Tabla 9 y Tabla 10.

Tabla 9. Condiciones de amplificación de los reactivos de la PCR para la identificación del ADN del Virus de Papiloma Humano

Ensayo	Reactivo	Concentración inicial	Concentración final	Volumen final
GP5+/GP6+	Agua	-	-	1,75 µl
	Primer 1	20 µM	1 µM	1,25 µl
	Primer 2	20 µM	1 µM	1,25 µl
	Go Taqgreen master mix	2X	1X	6,25 µl
	Mix por tubo			10,5 µl
	DNA Molde			2 µl
MY09/MY011	Agua	-	-	5,7 µl
	Buffer color	10X	1x	2 µl
	MgCl ₂	50 Mm	3 mM	1,2 µl
	dNTPs	10 Mm	0,1 Mm (c/u)	0,8 µl
	Primer1	10 µM	2 µM	4 µl
	Primer2	10 µM	2 µM	4 µl
	Mango polimerasa	5 U	1U	0,2 µl
	DNA Molde			2,7 µl
Volumen final			20 µl	
PU 1R/2M	Agua	-	-	3,2 µl
	Buffer color	5X	1x	2 µl
	MgCl ₂	50 Mm	1,5 mM	0,4 µl
	dNTPs	10 Mm	0,2 mM	0,2 µl
	Primer1	10 µM	1 µM	1 µl
	Primer2	10 µM	1 µM	1 µl
	Taq polimerasa	5 U	1U	0,2 µl
	DNA Molde			2 µl
	Volumen final			10µl

En la siguiente tabla (Tabla10) se muestran las condiciones de temperatura utilizada para el par de cebadores GP5+/GP6+ el cual identifica VPH de bajo riesgo y para los cebadores MY09/MY011 y Pu-1M/Pu-2R los cuales identifican VPH de alto riesgo.

Tabla 10. Condiciones de amplificación referentes a la temperatura y tiempo de la PCR para la identificación del ADN del VPH

Ensayo	Fase de PCR	Temperatura	Tiempo	Ciclos
GP5+/GP6+	Desnaturalización inicial	94°C	10 min	1
	Desnaturalización	94°C	30 seg	35
	Anillamiento	42 °C	30 seg	
	Extensión	72 °C	30 seg	
	Elongación	72 °C	7 min	1
MY09/MY011	Desnaturalización inicial	94°C	5 min	1
	Desnaturalización	94°C	30 seg	35
	Anillamiento	51 °C	45 seg	
	Extensión	72 °C	45 seg	
	Elongación	72 °C	7 min	1
Pu-1M/Pu-2R	Desnaturalización inicial	94°C	5 min	1
	Desnaturalización	94°C	30 seg	35
	Anillamiento	53 °C	45 seg	
	Extensión	72 °C	45 seg	
	Elongación	72 °C	7 min	1

Características específicas de tiempo, temperatura y número de ciclos en cada una de las fases de la PCR, empleadas dentro del presente estudio para la identificación del ADN del Virus de Papiloma Humano con los cebadores de: GP5+/GP6+, MY09/MY011 y PU 1M/2R.

6.4 Tipificación del VPH por PCR

A las muestras positivas para VPH por medio de los cebadores GP5+/GP6+, MY09/MY011 y PU 1M/2R, se les realizó la determinación para 11 tipos de VPH-AR (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56 y 58) por medio de cebadores específicos de la casa comercial MacroGen⁸⁴ (Tabla 11), la técnica PCR convencional fue realizada de forma independiente, para cada uno de los tipos, variando en la temperatura de anillaje (Tabla 11).

Tabla 11. Secuencia de 11 cebadores para la tipificación del VPH-AR

Pares de Cebadores	Detección	Secuencia	Tmñ del fragmento	Proteína que cod.	Temp. de anillamiento
Pares de cebadores 16 D/16R	VPH 16	16 D: TCAAAAGCCACTGTGTCCTGA	78 pb	E7	71 °C
		16 R: GGTACAATATTGTAATGGGCTC			
Pares de cebadores 18 D/18R	VPH 18	18 D: GACCTTCTATGTCACGAGCAATTA	236 pb	E6-E7	69 °C
		18 R: TGCACACCACGGACACACAAAG			
Pares de cebadores 31 D/31R	VPH 31	31 D: CTACAGTAAGCATTGTGCTAT	210 pb	E6	71 °C
		31R: ACGTAATGGAGAGGTTGCAATAACCC			
Pares de cebadores 33D/33R	VPH 33	33 D:AACGCCATGAGAGGACACAAG	212 pb	E7	69 °C
		33 R:ACACATAAACGAACTGTGGTG			
Pares de cebadores 35 D/35R	VPH 35	35 D: CAA CGA GGT AGA AGA AAG CAT C	358 pb	E6-E7	62 °C
		35 R: CCG ACC TGT CCA CCG TCC ACC G			
Pares de cebadores 39 D/39R	VPH 39	39 D: GAC GACCAC TAC AGC AAA CC	280 pb	E6-E7	71 °C
		39 R: TTA TGA AAT CTT CGT TTG CT			
Pares de cebadores 45 D/45R	VPH 45	45 D: TGTTGGACATCACACCTACCGTGG	205 pb	E6-E7	73 °C
		45 R: TCCGTACCTGACCCAGAAGATGCA			
Pares de cebadores 51 D/51R	VPH 51	51 D: GAG TAT AGA CGT TAT AGC AGG	223 pb	E6-E7	67 °C
		51R: TTT CGT TAC GTT GTC GTG TACG			
Pares de cebadores 52 D/52R	VPH 52	52 D: TAA GGC TGC AGT GTG TGC AG	229 pb	E6-E7	67 °C
		52 R: CTA ATA GTT ATT TCA CTT AAT GGT			
Pares de cebadores 56 D/56R	VPH 56	56 D: GTG TGC AGA GTA TGT TTA TTG	181 pb	E6-E7	69 °C
		56 R: TTT CTG TCA CAA TGC AAT TGC			
Pares de cebadores 58 D/58R	VPH 58	58 D: ACCACCGAGGCCACCAACGAAAGT	128 pb	E7	66 °C
		58 R: CGTGGTCTACTGTCCACGGCGCAGTCT			

En la siguiente tabla (Tabla 12) se muestran las características de los reactivos que fueron empleados para realizar la PCR convencional de manera independiente para cada uno de los pares de cebadores o tipos de VPH.

Tabla 12. Condiciones de amplificación de los reactivos de la PCR para la tipificación de 11 tipos de VPH

Ensayo	Reactivo	Concentración inicial	Concentración final	Volumen final
REACTIVOS EMPLEADOS DE FORMA INDEPENDIENTE, EN CADA UNO DE LOS 11 TIPOS DE VPH.	Agua	-	-	1,75 µl
	Primer 1 D	20 µM	1 µM	1,25 µl
	Primer 2 R	20 µM	1 µM	1,25 µl
	Go Taq green master mix	2X	1X	6,25 µl
	DNA Molde			2 µl
	Volumen final			12,5 µl

En la siguiente tabla (Tabla 13) se observan las características de temperatura para la PCR convencional que fue realizada de forma independiente para cada uno de los 11 tipos, teniéndose en cuenta la variabilidad de la temperatura de anillaje tipospecifica (Tabla 11).

Tabla 13. Condiciones de amplificación referentes a la temperatura y tiempo de la PCR para la tipificación de 11 tipos de VPH

Ensayo	Fase de PCR	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Tipo específico	Desnaturalización inicial	94 °C	10 min	1
	Desnaturalización	94 °C	60 seg	35
	Anillamiento	--*	60 seg	
	extención	72 °C	2 min	
	Enlongación	72 °C	7 min	1

*Temperatura específica según el tipo de VPH a amplificar (Tabla 11)

6.5 Electroforesis

La electroforesis es una técnica que se emplea con el fin de visualizar el tamaño de las moléculas de ADN, ARN y proteínas amplificado a través de la PCR, a través de un gel generalmente de agarosa y una carga eléctrica, en donde se produce la migración de la molécula según su carga.

La técnica empleada para la lectura del gen B-globina, GP5+/GP6+, MY09/MY01 y PU 1M/2R y para 11 tipos de VPH-AR, se realizó bajo las siguientes condiciones relacionadas con la concentración del gel de agarosa y el marcador de peso molecular de la casa comercial BIOLINE (Tabla 15), cuya variación depende del tamaño del fragmento a identificar, al tenerse en cuenta que cuanto más baja es la concentración de agarosa mayor es el tamaño de las moléculas que pueden separarse, y viceversa.

Tabla 14. Características de la electroforesis

Ensayo	Tamaño pb	% gel agarosa	Hyper Ladder
β-globina	268 pb	2,0%	V
GP5+/GP6+	150 pb	2,5%	
MY09/MY011	450 pb	2,0%	
PU 1R/2M	228-268 pb	2,0%	
VPH-AR -16	78 pb	2,5%	
VPH-AR -18	236 pb	2,0%	
VPH-AR -31	210 pb	2,0%	
VPH-AR -33	212 pb	2,0%	
VPH-AR -35	358 pb	2,0%	
VPH-AR -39	280 pb	2,0%	
VPH-AR -45	205 pb	2,0%	
VPH-AR -51	223 pb	2,0%	
VPH-AR -52	229 pb	2,0%	
VPH-AR -56	181 pb	2,5%	
VPH-AR -58	128 pb	2,5%	V

Estos fueron teñidos con el agente intercalante de ADN SYBR Safe del laboratorio Invitrogen, con un corrido electroforético de 120V durante 18 minutos, en buffer TAE 1X, dada su capacidad de discriminación en función del tamaño de los fragmentos de ADN a identificar. Finalizado el corrido, la lectura del gel se realizó por medio del Trans-iluminador con luz ultravioleta, para posterior registro fotográfico y análisis⁸⁵.

6.6 Análisis estadísticos

El análisis de los datos se realizó mediante estadística descriptiva, las variables categóricas (escolaridad, número de parejas sexuales, gestaciones, entre otras), se expresaron en porcentaje, con intervalos de confianza (IC) al 95%. Respecto a las frecuencias de VPH genérico y tipo específico, estas se presentaron en porcentaje y las diferencias en sus proporciones fueron evaluadas mediante χ^2 . Las variables cuantitativas como la edad y edad de inicio de relaciones sexuales, se expresaron por medio de medianas, con sus respectivos rangos intercuartiles (RIC).

Cuatro análisis de regresión logística ordinal, se llevaron a cabo con el fin de modelar la asociación entre distintos eventos (infección viral) y las variables categóricas. El primer modelo tomo la infección de VPH como variable dependiente y los distintos factores de riesgo (edad, escolaridad, estado civil, número de familiares con los que convive, ingresos mensuales, edad de inicio de relaciones sexuales, número de gestaciones, número de parejas sexuales, método anticonceptivo, historia de ITS e historia de abortos) fueron tomados como variables independientes dentro del modelo. En la segunda regresión se evaluó la asociación en el incremento de tipos virales en infección simultánea (variable dependiente) y los factores analizados descritos previamente. En la tercera regresión se evaluó la asociación entre la región de origen de las mujeres indígenas participantes del estudio y los distintos tipos virales evaluados, por lo que se tomó como variable dependiente la región de procedencia de las mujeres (Amazonas y Andes) y como variables independientes los tipos virales detectados en este estudio (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58); finalmente, se evaluó la fuerza de asociación, entre combinaciones de parejas de tipos de VPH de acuerdo al origen (Amazonas y Andes). Todos los modelos de regresión descritos anteriormente se evaluaron mediante

ORs y reportaron con IC del 95% y valores significativos de $p < 0,05$, por medio del programa STATA14®.

7 RESULTADOS

Un total de 666 mujeres participaron voluntariamente dentro de este estudio, de las que se descartaron 22 (3,3%), debido a la baja calidad del ADN de la muestra, quedando 644 de las cuales 46,7% (n= 301) provenía de la región del Amazonas y 53,3% (n= 343) de la región de los Andes, empleadas en los análisis estadísticos presentados a continuación.

7.1 Características de la población

La edad general de las mujeres incluidas en este estudio se encuentra comprendida entre 15 a los 79 años, respecto a la mediana de la edad, de las mujeres que participaron en el estudio para la región del Amazonas esta fue de 34 años de edad y para la región de los Andes esta fue de 32 años de edad, en relación con el rango intercuartil este fue de 26 a 43 años de edad y de 26 a 39 años de edad para cada región respectivamente (Figura10.)

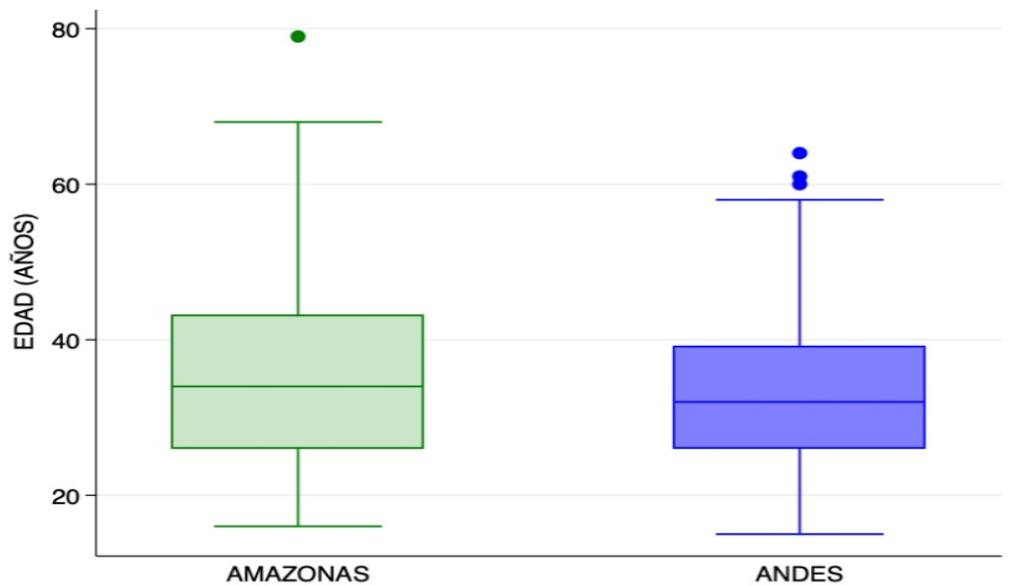


Figura 10. Edad de las mujeres de la región del Amazonas y los Andes. Donde se muestran la distribución de los rangos intercuartiles, la mediana y los valores atípicos en la edad de las mujeres participantes del estudio, según su región de procedencia, a través de un gráfico de caja y bigotes.

La edad general en el inicio de relaciones sexuales estuvo entre los 9 a los 34 años de edad, con una mediana de 15 años (rango intercuartil 14 a 17 años) para las mujeres del Amazonas, mientras que para los Andes fue de 17 años (rango intercuartil 15 a 18 años) (Figura 11.).

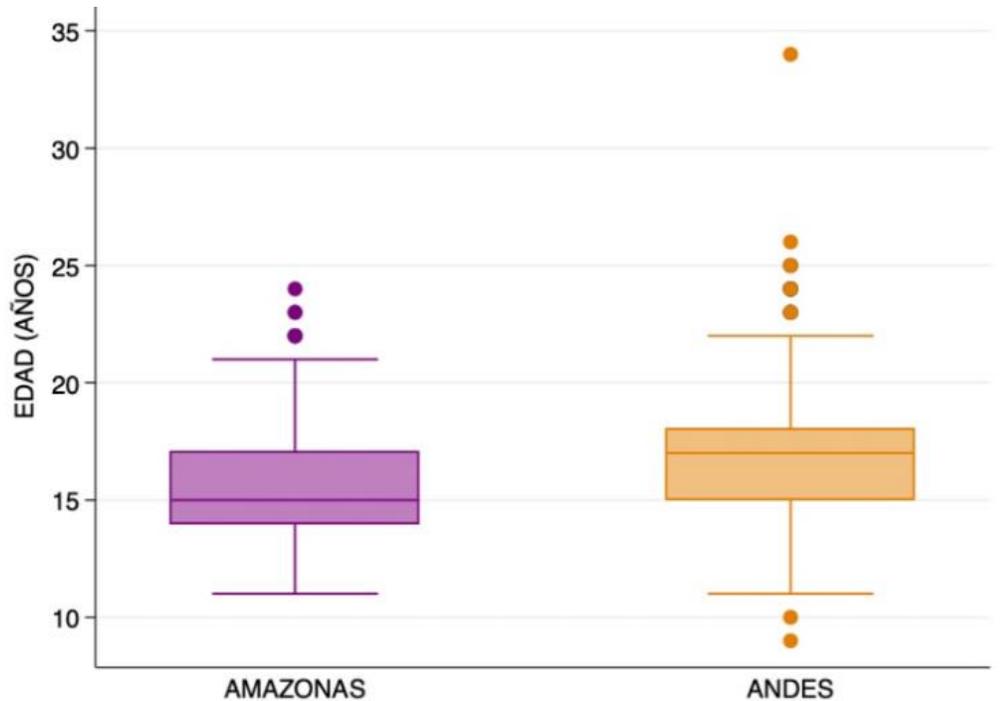


Figura 11. Edad de inicio de relaciones sexuales de las mujeres de la región del Amazonas y los Andes. Donde se muestran la distribución de los rangos intercuartiles, la mediana y los valores atípicos en la edad de inicio de relaciones sexuales de las mujeres participantes del estudio, según su región de procedencia, a través de un gráfico de caja y bigotes.

La caracterización de las condiciones sociodemográficas, de las mujeres indígenas se realizó por medio del diligenciamiento por parte estas de una entrevista escrita, en la que se preguntaron aspectos como la edad, ingreso mensual, familiares con quien convive, escolaridad, edad de inicio de relaciones sexuales, número de parejas sexuales, método de planificación, número de gestaciones, historia de infecciones de transmisión sexual y abortos, los cuales se presentan en la siguiente tabla (Tabla 15)

Tabla 15. Características sociodemográficas-factores de riesgo según la región de procedencia de las mujeres evaluadas.

Variable	Región del Amazonas	Región de los Andes
Edad, mediana (RIQ)	34 años (26-43 años)	32 años (26-39 años)
Inicio de vida sexual, mediana (RIQ)	15 años (14-17 años)	17 años (15-18 años)
	<i>n (%)</i>	<i>n (%)</i>
Ingresos mensuales		
≤ Salario mínimo	199 (78.7)	235(85.5)
> Salario mínimo	54 (21.3)	40 (14.5)
Familiares con quien convive		
< de 4 familiares	120 (39.9)	125 (36.4)
4-7 familiares	71 (23.6)	40 (11.7)
> de 7 familiares		
Escolaridad		
Analfabeta/Primaria	145 (57.8)	203 (63.8)
Secundaria	97 (38.6)	100 (31.4)
Técnica/Universitaria	9 (3.6)	15 (4.7)
Estado civil		
Soltera	37 (12.7)	82 (24.3)
Casada/Unión libre	236 (81.1)	246 (72.8)
Separada/viuda	18 (6.2)	10 (3.0)
Número de parejas sexuales		
≤ 2	208 (70.7)	238 (70.4)
> 2	86 (29.3)	100 (29.6)
Método de planificación		
Ninguno	121 (51.7)	98 (29.3)
Hormonal	80 (34.2)	68 (20.3)
Otro	33 (14.1)	169 (50.4)
Número de gestaciones		
≤ 2	83 (28.7)	144 (50.2)
3 a 4	128 (44.3)	120 (41.8)
> 4	78 (27.0)	23 (8.0)
Historia de infecciones de transmisión sexual		
No	224 (76.2)	198 (59.6)
Si	70 (23.8)	134 (40.4)
Historia de abortos		
No	149 (66.8)	156 (69.3)
Si	74 (33.2)	69 (30.7)

En la que se muestran los resultados de las variables sociodemográficas- factores de riesgo, que se recopilieron mediante la encuesta realizada a las 644 mujeres participantes del estudio, representados en frecuencias absolutas y relativas según su región de procedencia.

Dentro de los resultados más relevantes de cada categoría, se encontró que más del 75% de las mujeres de cada una de las regiones estudiadas, presenta ingresos menores a un salario mínimo legal vigente, el 39,9% de las mujeres de la región del Amazonas conviven con alrededor de 4 a 7 familiares, frente a un 51,9% de las mujeres de la región de los Andes, que convive con menos de 4 familiares, el nivel de escolaridad más predominantes en ambas regiones se encuentra en Analfabeta/Primaria con porcentajes de 57,8% y 63,8% para la región del Amazonas y los Andes respectivamente, el estado civil con mayor porcentaje (mayor al 70%) en las mujeres de ambas regiones se encontró en la categoría de Casada/Unión libre (Tabla 15) .

En relación al comportamiento sexual de las mujeres indígenas de la región del Amazonas y los Andes colombianos participantes en este estudio, se puede afirmar que este es similar para ambas regiones, al observarse que más del 70% de las mujeres, ha tenido menos de dos compañeros sexuales a lo largo de su vida. El 51,7% de las mujeres indígenas de la región del Amazonas no utiliza ningún método de planificación, frente al 50,2% de las mujeres indígenas de la región de los Andes que planifica con otro método diferente al hormonal (DIU, condón y cirugía), respecto al número de gestaciones por cada mujer, el 44,3% de las mujeres de la región de la Amazonia, ha tenido de 3 a 4 gestaciones a lo largo de su vida, frente a un 50,2% de mujeres de la región de los Andes que ha tenido menos de 2 gestaciones a lo largo de su vida, en cuanto al historial de infecciones de transmisión sexual, más del

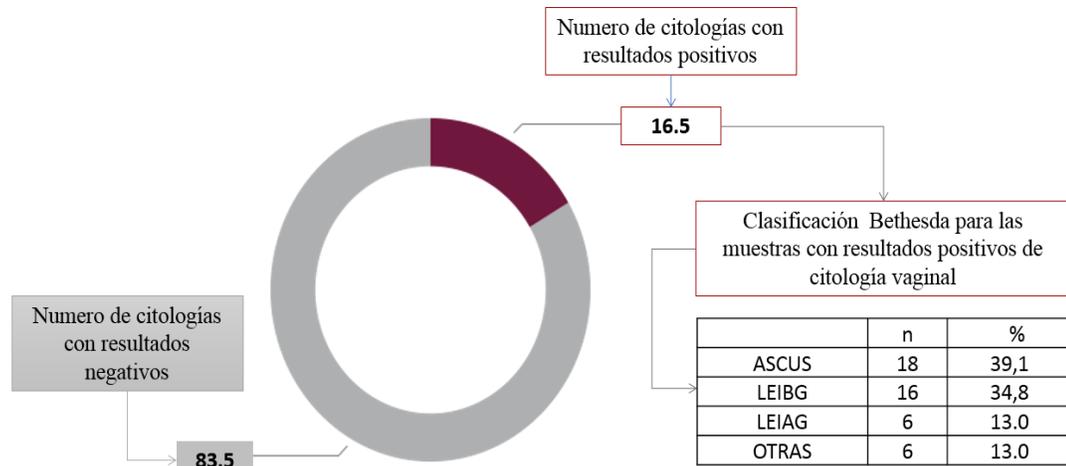
40,4% de las mujeres indígenas de la región de los Andes, dice no haber presentado alguna de estas, en los últimos diez años, respecto a si habían presentado algún aborto a lo largo de su vida, más del 60% de las mujeres de ambas regiones respondieron negativamente a esta categoría.

7.2 Hallazgos citológicos de la población

Respecto a los resultados de citología, se encontró que 49 (34 a la región del Amazonas y 15 a la región de los Andes) de las 644 muestras cervicales analizadas, presentaron resultados insatisfactorios (7,6%). De las 595 muestras restantes, 529 (88,9%; IC95%: 86,1-91,3) presentaron resultados negativos para alguna clase de lesión cervical, frente a 66 muestras (11,1%; IC95%: 9,2-14,6) que presentaron resultados para algún tipo de lesión cervical, los cuales se clasificaron según el sistema Bethesda en: 26 (39,4%; IC95%: 27,5-52,1) para ASCUS, 26 (39,4%; IC95%: 27,5-52,1) para Lesión Intraepitelial de Bajo Grado - LEIBG, 6 (9,1%; IC95%: 3,4-18,7) para Lesión Intraepitelial de Alto Grado - LEIAG y 8 (12,1%; IC95%: 6,5-22,4) para otro tipo de anormalidad (AGC y ASC-H).

En relación a la distribución de los hallazgos citológicos según su región de origen, los resultados con mayor reporte de anormalidad cervical provenían de las mujeres indígenas de la región del Amazonas (n= 46; 17,2%), siendo ASCUS el resultado de mayor reporte (n= 18; 39,1%); mientras que el 6,1% (n= 20) de los resultados para las mujeres indígenas de los Andes presentaba alguna clase anormalidad cervical, sobresaliendo LEIBG (n= 10; 50,0%), (Figura 12)

A. Región del Amazonas



B. Región de los Andes

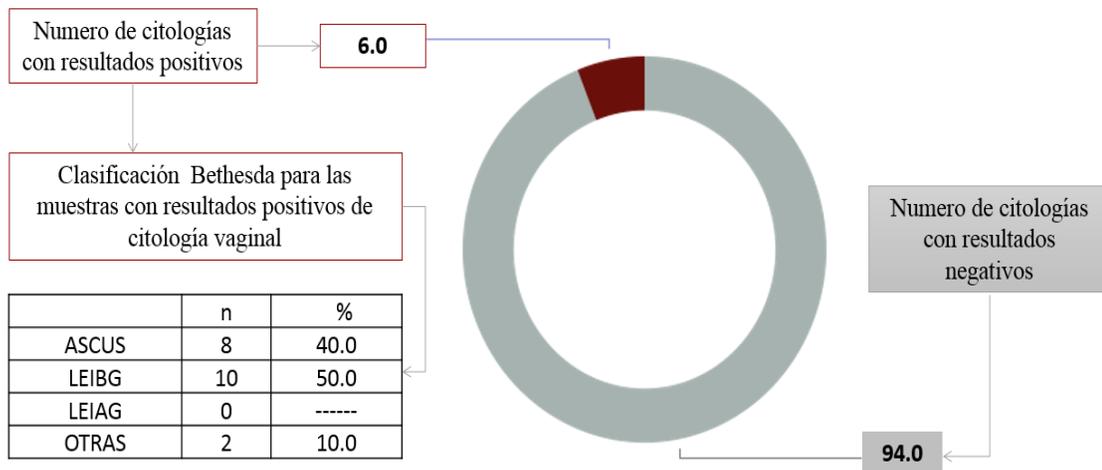


Figura 12. Distribución de los hallazgos citológicos de acuerdo a la región de origen de las mujeres. Donde se representa por medio de un gráfico de anillo la distribución en porcentaje de los hallazgos citológicos categorizados en normales en gris y anormales en rojo, los cuales se encuentran discriminados por el sistema de clasificación Bethesda, encontrados en cada región.

Posteriormente se evaluó la fuerza de asociación a través de razones de disparidad (ORs, por las siglas en inglés de *Odds ratio*), entre el hallazgo citológico y la región de procedencia del mismo (Tabla 16), encontrándose una asociación positiva, entre la detección de anomalías cervicales y las mujeres provenientes de la región del Amazonas (ORa: 13,70; IC95% 4,04– 42,65), en contraste, se encontró una menor asociación, para las mujeres provenientes de la región de los Andes (ORa: 0,07; IC95% 0,01- 0,22).

Tabla 16. Asociación entre los hallazgos citológicos y la región de procedencia de las mujeres evaluadas.

Hallazgo citológico	REGIÓN					
	Amazonas			Andes		
	OR ajustado	IC 95%	p	OR ajustado	IC 95%	p
Normal		Referencia			Referencia	
Anormal	13,7*	4,04-42,65	0,001	0,07*	0,01-0,22	0,001

*Valores en negrilla estadísticamente significativos ($p < 0,05$).

En la que se muestran asociaciones positivas entre la detección de anomalías cervicales y las mujeres provenientes de la región del Amazonas

7.3 Prevalencia general del VPH-AR discriminada por región de procedencia

En los resultados de la prevalencia del VPH de las muestras evaluadas, se observó de manera general que el 47,4% (n=305) de las mujeres cursaban con infección por el VPH-AR, respecto a la frecuencia del VPH-AR de acuerdo a cada región analizada, los resultados mostraron una menor prevalencia en las mujeres indígenas de la Amazonia comparadas con las de la región de los Andes (44,9% y 49,6% respectivamente) (Figura 13), diferencia estadísticamente no significativa ($p = 0,232$), al tenerse en cuenta que el valor de p definido dentro de este estudio fue de $<0,05$.

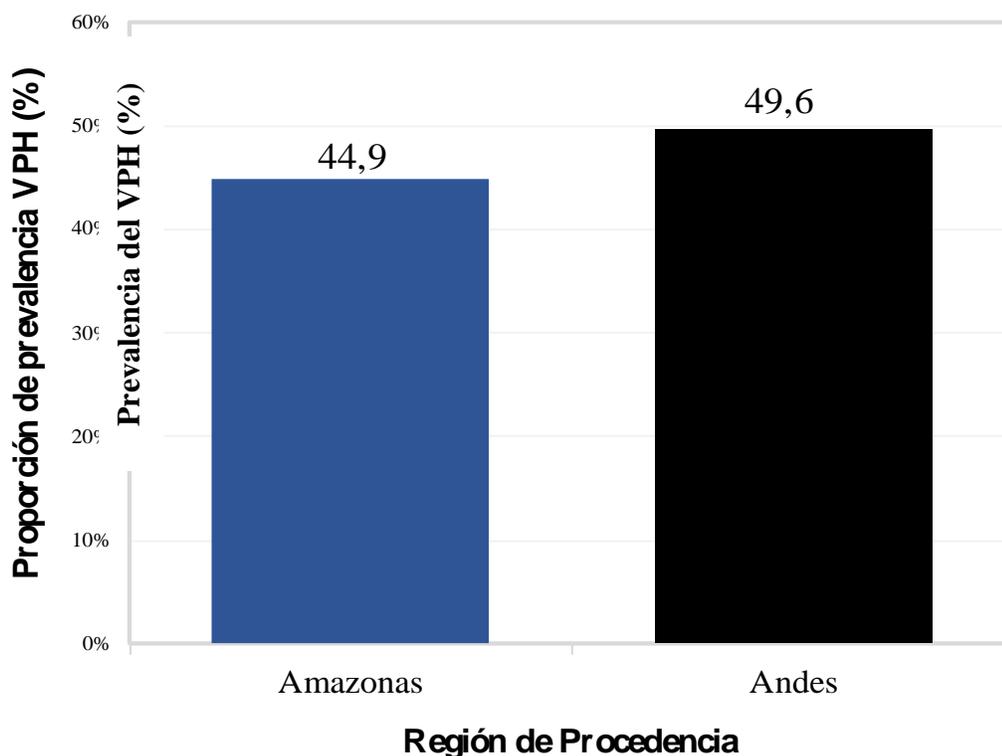


Figura 13. Proporción de prevalencia del VPH- AR en mujeres indígenas de la región del Amazonas y Andes colombianos. Valores estadísticamente significativos ($p < 0,05$). En la que se observa por medio de un gráfico de barras la prevalencia genérica del VPH-AR en la región del Amazonas (azul) y los Andes (negro) colombianos.

7.4 Prevalencia tipo- específica del VPH-AR

La distribución tipo-específica del VPH-AR se aprecia en la figura 14., donde se encuentran agrupados por medio de un mismo color los tipos de VPH-AR que pertenecen a una misma especie (Especie 9= VPH-AR -16, -31, -33, -35, -52 y -58; Especie 7= VPH-AR-18, -39 y -45; Especie 6= VPH-AR -56 y Especie 5= VPH-AR-51) dadas las propiedades en consenso

que presentan entre si establecidas en el séptimo informe del Comité Internacional de Taxonomía de Virus (International Committee on Taxonomy of Viruses).

Los tipos de VPH-AR con mayor proporción de prevalencia fueron el VPH-16 con un 33,9% (n= 218), el VPH-31 con un 21,3% (n= 137), el VPH-39 con un 19,6% (n= 126), VPH-18 con un 12,6% (n= 81), VPH-52 con un 12,3% (n= 79) y el VPH-51 con un 11,6% (n=75), los tipos restantes presentaron porcentajes menores al 10% y corresponden al VPH-56 con un 8,4%(n=54), VPH-58 con un 7,8%(n=39),VPH-35 con un 6,1% (n=32) y VPH-45 con un 5,0% (n=24) y VPH-33 con un 3,7% (n=20).

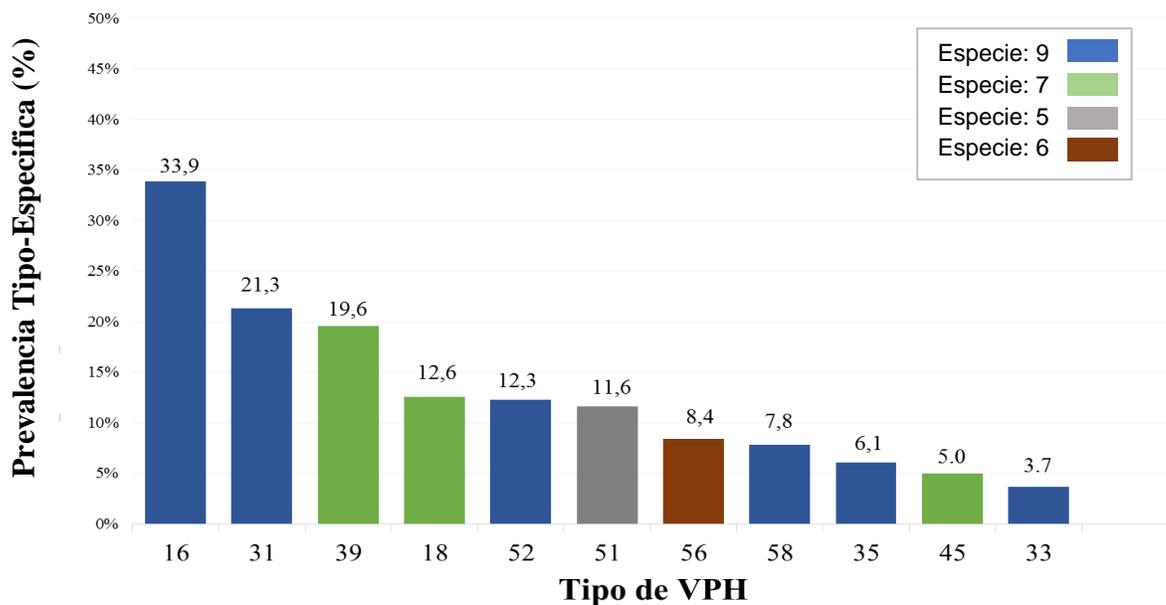


Figura 14. Proporción de prevalencia tipo específica, de once tipos del VPH-AR de las mujeres evaluadas. Valores estadísticamente significativos ($p < 0,05$). En la que se observa por medio de un gráfico de barras la prevalencia tipo específica de cada uno de los VPH-AR estudiados, agrupados por color (escala de azul) según su especie.

7.5 Prevalencia tipo- específica del VPH discriminada por región de procedencia

La distribución de los once tipos de VPH-AR frente a cada región estudiada, mostró para la región del Amazonas los tipos de VPH-16 con 29,9% (n=90), VPH-31 con 23,9% (n=72) y VPH-52 con 15,3% (n=46) como los de mayor proporción de prevalencia, respecto a la región de los Andes el VPH -16 también fue el de mayor proporción de prevalencia con un 37,3% (n=128), seguido del VPH- 39 con un 23,6% (n=81) y del VPH -31 con un 19,0% (n=65), en la Figura 18. también se observan diferencias entre la proporción de prevalencia de cada tipo viral respecto a cada una de las regiones procedencia estudiadas, encontrándose diferencias estadísticamente significativas para el VPH-31 (p= 0,008), VPH-39 (p= 0,012), VPH-52 (p= 0,004), VPH-51 (p= 0,037), VPH-56 (p= 0,001), VPH-35 (p= 0,001) y VPH-45 (p= 0,010).

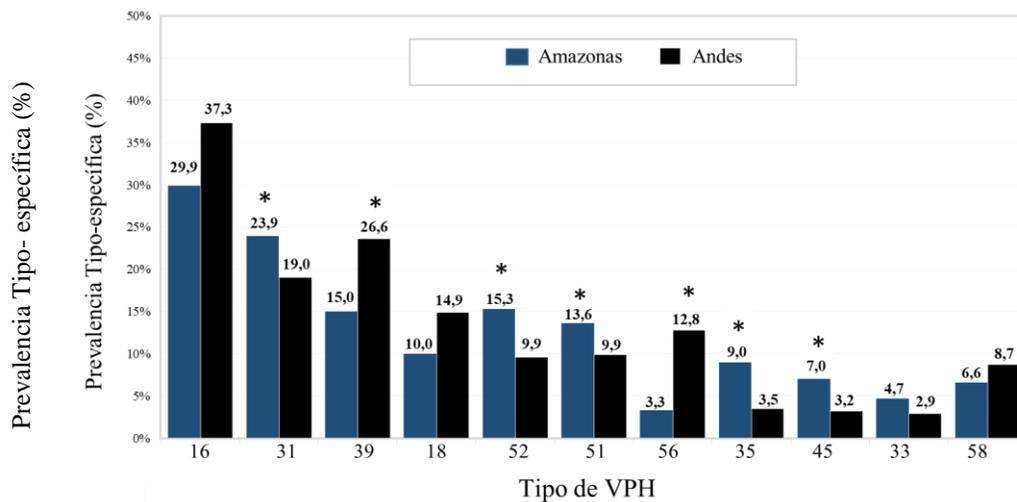


Figura 15. Comparación de la proporción de prevalencia tipo específica, entre once tipos de VPH-AR, respecto lugar de procedencia de las mujeres evaluadas. Valores en estadísticamente significativos ($p < 0,05$). En la que se observa por medio de un gráfico de barras la comparación entre la prevalencia tipo específica de cada uno de los VPH-AR estudiados según la región de procedencia, Amazonas (azul) Andes (negro).

7.6 Asociación entre el VPH-AR y la región de procedencia

Para evaluar la fuerza de asociación entre las variables dependientes (Lugar de procedencia de las mujeres) y las variables independientes (11 Tipos de VPH-AR) se emplearon razones de disparidad, cuyos resultados mostraron Asociaciones positivas entre la región de Amazonas y la detección de VPH-31 (ORa: 5,26) y VPH-33 (ORa: 6,85) y VPH-35 (ORa: 27,7), estos mismos tipos virales se vieron menor asociados para las indígenas de los Andes (Tabla 17).

Adicionalmente, para mujeres provenientes del Amazonas, menores asociaciones se encontraron para los tipos VPH-16 (ORa: 0,25), VPH-39 (ORa: 0,15) y VHP-56 (ORa: 0,13), para los Andes estos tipos virales mostraron asociaciones positivas (Tabla 17).

Tabla 17. Asociación entre los once tipos virales de VPH- AR y la región de procedencia de las mujeres evaluadas.

	REGIÓN DE PROCEDENCIA							
	Amazonas				Andes			
	<i>n</i> (%)	<i>OR</i> <i>ajustado</i>	<i>IC</i> 95%	<i>p</i>	<i>n</i> (%)	<i>OR</i> <i>ajustado</i>	<i>IC</i> 95%	<i>p</i>
VPH-16								
Negativo	211 70,1%		Ref.		215 62,7%		Ref.	
Positivo	90 29,9%	0,25*	0,08-0,72	0,012	128 37,3%	3,96*	1,35-11,61	0,012
VPH-31								
Negativo	229 76,1%	Ref.			278 81,0%	Ref.		
Positivo	72 23,9%	5,26*	1,82-15,22	0,002	65 19,0%	0,18*	0,06-0,54	0,002
VPH-33								
Negativo	287 95,3%	Ref.			333 97,1%	Ref.		
Positivo	14 4,7%	6,85*	1,02-45,6	0,047	10 2,9%	0,14*	0,02-0,97	0,047
VPH-35								
Negativo	274 91,0%	Ref.			331 96,5%	Ref.		
Positivo	27 9,0%	27,7*	1,82-39,25	0,016	12 3,5%	0,03*	0,00-0,54	0,016
VPH-52								
Negativo	255 84,7%	Ref.			310 90,4%	Ref.		
Positivo	46 15,3%	2,8	0,92-8,50	0,068	33 9,6%	0,35	0,11-1,08	0,068
VPH-58								
Negativo	281 93,4%	Ref.			313 91,3%	Ref.		
Positivo	20 6,6%	1,52	0,40-5,68	0,531	30 8,7%	0,65	0,17-2,44	0,531
VPH-18								
Negativo	271 90,0%	Ref.			292 85,1%	Ref.		
Positivo	30 10,0%	0,51	0,16-1,63	0,261	51 14,9%	1,92	0,61-6,07	0,261
VPH-39								
Negativo	256 85,0%	Ref.			262 76,4%	Ref.		
Positivo	45 15,0%	0,15*	0,05-0,46	0,001	81 23,6%	6,25*	2,13-18,32	0,001
VPH-45								
Negativo	280 93,0%	Ref.			332 96,8%	Ref.		
Positivo	21 7,0%	4,07	0,89-20,46	0,994	11 3,2%	1,97	0,49-3,06	0,994
VPH-56								
Negativo	291 96,7%	Ref.			299 87,2%	Ref.		
Positivo	10 3,3%	0,13*	0,02-0,85	0,033	44 12,8%	7,27*	1,16-45,23	0,033
VPH-51								
Negativo	260 86,4%	Ref.			296 86,4%	Ref.		
Positivo	41 13,6%	2,05	0,68-6,17	0,199	47 13,6%	0,48	0,16-1,46	0,199

*En la que se muestra los valores estadísticamente significativos ($p < 0,05$) en negrilla, de la asociación entre los 11 tipos VPH- AR estudiados y la región de procedencia.

7.7 Asociación entre el VPH-AR y las características sociodemográficas- factores de riesgo

La asociación entre las características sociodemográficas-factores de riesgo y la adquisición de VPH-AR, se realizó por medio de razones de disparidad (Tabla 18), segregando los resultados según región de procedencia, dando como resultado para la región del Amazonas una asociación positiva entre la detección de VPH y el pertenecer al estado civil de separada/viuda (ORa: 31,05), junto con el uso de métodos de planificación diferentes al hormonal y que fueron agrupados como otros (cirugía, condón, y DIU) (ORa: 3,29) (Tabla15). Respecto asociación entre las características sociodemográficas-factores de riesgo y la detección de VPH-AR en las mujeres procedentes de la región de los Andes se encontró como asociación positiva aquellas con ingresos mayores a un salario mínimo mensual (ORa: 0,26) y el tener una escolaridad Técnica/Universitaria (ORa: 0,66) (Tabla 18).

Tabla 18. Asociación entre las características sociodemográficas- factores de riesgo y el lugar de procedencia de las mujeres evaluadas.

	VPH POSITIVAS					
	Amazonas			Andes		
	OR ajustado	IC 95%	p	OR ajustado	IC 95%	p
Edad (años)						
≤ 20		Referencia			Referencia	
21 a 30	0,23	0,02-1,85	0,168	0,31	0,06-1,61	0,166
31 a 40	0,22	0,02-2,10	0,192	0,49	0,96-2,58	0,407
> 40	0,24	0,18-3,19	0,284	0,37	0,05-2,64	0,325
Ingresos mensuales						
≤ Salario mínimo		Referencia			Referencia	
> Salario mínimo	0,93	0,27-3,19	0,912	0,26*	0,07-0,97	0,46
Número de Familiares ¶						
≤ 4		Referencia			Referencia	
5 a 7	1,16	0,40-3,35	0,774	2,18	0,85-5,56	0,103
> 7	0,85	0,25-2,82	0,791	0,94	0,24-3,67	0,938
Escolaridad						
Analfabeta/Primaria		Referencia			Referencia	
Secundaria	1,54	0,55-4,24	0,404	2,78	1,15-6,71	0,708
Técnico/Universitario	0,4	0,15-4,64	0,468	0,66*	0,07-0,96	0,023
Estado Civil						
Soltera		Referencia			Referencia	
Unión Libre/Casada	2,49	0,44-1,38	0,296	0,37	0,01-1,02	0,056
Separada/Viuda	31,05*	1,55-62,10	0,025	0,07	0,01-1,23	0,07
Inicio de vida sexual (años)						
≤ 16		Referencia			Referencia	
> 16	2,38	0,87-6,49	0,089	1,98	0,84-4,69	0,117
Parejas sexuales †						
≤ 2		Referencia			Referencia	
> 2	1,64	0,62-4,27	0,311	0,67	0,27-1,65	0,395
Método anticonceptivo						
Sin método		Referencia			Referencia	
Hormonal	2,54	0,93-6,96	0,069	0,46	0,13-1,57	0,219
Otro ‡	3,29*	2,96-3,67	0,004	0,69	0,24-1,95	0,494
Número de gestaciones						
≤ 2		Referencia			Referencia	
3 a 4	0,91	0,26-3,20	0,895	0,65	0,22-1,88	0,437
> 4	0,59	0,94-3,76	0,583	0,3	0,43-2,10	0,228
Historia de ITS						
No		Referencia			Referencia	
Si	0,62	0,23-1,71	0,364	1,05	0,42-2,60	0,909
Historia de abortos						
No		Referencia			Referencia	
Si	1,33	0,45-3,92	0,596	0,63	0,23-1,69	0,116

† Métodos de planificación no hormonales: Cirugía, condón y DIU

‡ Número de parejas sexuales durante la vida

¶ Número de familiares con el que conviven

*En la que se muestra los valores estadísticamente significativos ($p < 0,05$) en negrilla, de la asociación entre las características sociodemográficas- factores de riesgo y su región de procedencia.

7.8 Prevalencia de la infección y coinfección con VPH AR

En cuanto a la presencia simultánea con más de un tipo de VPH (coinfeción), los resultados mostraron a nivel general que del total de mujeres con infección por VPH (n=305), el 85,6% (n= 261) presentaban eventos de coinfección, en cuanto a la infección múltiple de acuerdo a la región de procedencia, mostrando mayores eventos de coinfección, en mujeres indígenas provenientes del Amazonas (n= 119; 88,1%), comparadas con las de los Andes (n= 142; 83,5%), no obstante esta diferencia no fue significativa (p= 0,254).

Al evaluar el porcentaje de aparición de coinfección e infección única para cada tipo viral, los resultados mostraron que los tipos VPH 33, 35, 52 y 56, solo se presentan en infección simultánea con otro(s) de VPH, frente al 11,5% y 10,0% de los tipos de VPH 16 y 58, causantes de infección unico-especifica (Figura 16.).

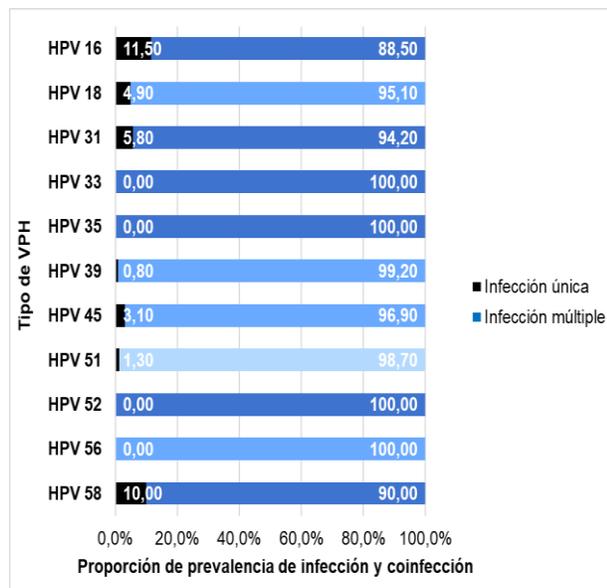


Figura 16. Comparación de la proporción de prevalencia tipo específica, entre la infección y coinfección por VPH-AR en las mujeres evaluadas. En la que se observa por medio de un gráfico de barras horizontales el comportamiento de cada uno de los tipos de VPH-AR estudiados relacionado con la presentación de infección única (negro) y múltiple(azul).

7.9 Asociación entre el VPH-AR y las características sociodemográficas- factores de riesgo y la infección simultánea con más de un tipo viral de VPH-AR.

En este mismo contexto se evaluó la fuerza de asociación entre la adquisición de más de un tipo de VPH y los factores de riesgo, de acuerdo al a región analizada (Tabla 19). Los resultados mostraron para la región del Amazonas asociación positivas para los factores reportados arriba siendo el estado civil separada/viuda (ORa: 12,7) y el método de planificación de otros (ORa: 5,28), no obstante, se identificó adicionalmente el inicio de las relaciones sexuales a edad mayor de 16 años (ORa: 2,42) como un factor asociado positivamente (Tabla 19). Para para la región de los Andes se encontró menor asociación solo para mujeres que reportaron vivir en Unión libre o casada años (ORa: 0,41) (Tabla 19).

Tabla 19. Asociación entre las características sociodemográficas-factores de riesgo y la infección simultánea con más de un tipo viral de VPH-AR.

	NÚMERO DE TIPOS DE VPH-AR					
	Amazonas			Andes		
	OR ajustado	IC 95%	p	OR ajustado	IC 95%	p
Edad (años)						
≤ 20		Referencia			Referencia	
21 a 30	0,50	0,92-2,75	0,429	0,32	0,08-1,29	0,11
31 a 40	0,59	0,08-3,91	0,588	0,51	0,12-2,16	0,367
> 40	0,55	0,05-5,28	0,61	0,34	0,06-1,91	0,225
Ingresos mensuales						
≤ Salario mínimo		Referencia			Referencia	
> Salario mínimo	1,64	0,56-4,85	0,364	0,43	0,13-1,32	0,142
Número de familiares¶						
≤ 4		Referencia			Referencia	
5 a 7	1,92	0,75-4,89	0,171	1,81	0,81-4,00	0,143
> 7	1,33	0,47-3,71	0,582	1,1	0,31-3,84	0,877
Escolaridad						
Analfabeta/Primaria		Referencia			Referencia	
Secundaria	1,06	0,43-2,61	0,884	1,51	0,71-3,21	0,279
Técnico/Universitario	0,33	0,04-2,71	0,308	0,73	0,10-4,99	0,75
Estado civil						
Soltera		Referencia			Referencia	
Unión libre/Casada	1,55	0,38-6,25	0,537	0,41*	0,17-0,97	0,042
Separada/Viuda	12,7*	1,35-19,44	0,026	0,14	0,01-2,12	0,157
Inicio de vida sexual (años)						
≤ 16		Referencia			Referencia	
> 16	2,42*	1,02-5,75	0,045	1,8	0,82-3,93	0,138
Parejas sexuales†						
≤ 2		Referencia			Referencia	
> 2	1,59	0,69-3,66	0,273	1,07	0,47-2,42	0,858
Método anticonceptivo						
Sin método		Referencia			Referencia	
Hormonal	1,83	0,73-4,58	0,194	0,43	0,15-1,22	0,114
Otro‡	5,28*	1,48-18,78	0,01	0,68	0,27-1,68	0,494
Número de gestaciones						
≤ 2		Referencia			Referencia	
3 a 4	0,6	0,19-1,89	0,386	0,48	0,18-1,25	0,135
> 4	0,28	0,05-1,47	0,135	0,21	0,03-1,32	0,098
Historia de ITS						
No		Referencia			Referencia	
Si	0,62	0,25-1,52	0,304	1,26	0,55-2,87	0,573
Historia de abortos						
No		Referencia			Referencia	
Si	111	0,43-2,87	0,823	0,72	0,29-1,79	0,491

†Número de parejas sexuales durante la vida

‡Método de barrera incluye: cirugía, condón y DIU

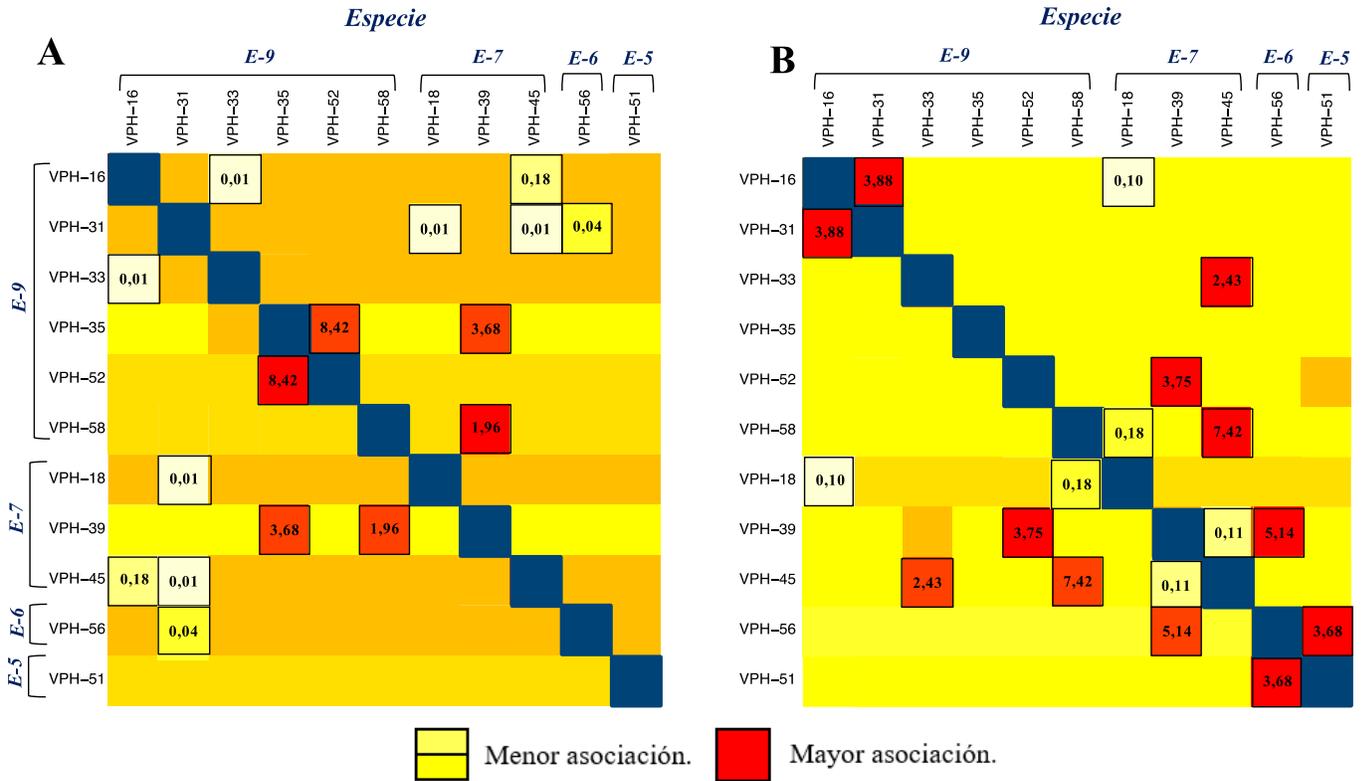
¶Número de familiares con quien convive

*En la que se muestra los valores estadísticamente significativos (p< 0,05) en negrilla, de la asociación entre las características sociodemográficas- factores de riesgo y la infección simultánea con más de un tipo viral.

7.10 Asociaciones entre parejas de VPH-AR

Finalmente, con el objetivo de evaluar las asociaciones entre parejas de tipos de VPH-AR de acuerdo al origen se calcularon OR ajustados, reportadas en cuadro en la Figura 17 con su correspondiente OR aquellas asociaciones estadísticamente significativos ($p < 0,05$), como lo fueron las asociaciones positivas en el Amazonas en las combinaciones de VPH-35/-52 (ORa: 8,42), VPH-35/-39 (ORa: 3,68) y VPH-58/-39 (ORa: 1,96); menores asociaciones se encontraron entre VPH-16/-33 (ORa: 0,01), VPH-16/-45 (ORa: 0,18), VPH-31/-18 (ORa: 0,01), VPH-31/-45 (ORa: 0,01) y VPH-31/-56 (ORa: 0,04). Para los Andes, los resultados mostraron asociaciones positivas entre VPH-16/-18 (ORa: 3,88), VPH-33/-45 (ORa: 2,43), VPH-52/-39 (ORa: 3,75), VPH-58/-45 (ORa: 7,42), VPH-39/-56 (ORa: 5,14) y VPH-56/-51 (ORa: 3,68); menor asociación se encontró para VPH-16/-18 (ORa: 0,10), VPH-58/-18 (ORa: 0,18) y VPH-39/-45 (ORa: 0,11), lo cual se expone en la Figura 17.

Figura 17. Número de pares de infecciones y ORs.



Según combinaciones de pares de tipos específicos de VPH y de acuerdo a la región de procedencia (A) Mujeres del Amazonas. (B) Mujeres de los Andes. En la figura se muestran en cuadro las asociaciones estadísticamente significativas con sus respectivos OR ajustados.

8 DISCUSIÓN

Más de la mitad de las mujeres sexualmente activas en algún momento han tenido contacto con el VPH; sin embargo, la mayoría de las infecciones son transitorias y solo un pequeño porcentaje de éstas se convierten en persistentes, contribuyendo al desarrollo de lesiones cervicales. Es por esta razón que el tiempo entre la aparición inicial de lesiones y el desarrollo de la neoplasia permite la detección y tratamiento oportuno, lo que convierte este cáncer en prevenible⁸⁶.

En los resultados de la presente investigación, evidenciaron hallazgos bajos en anomalías cervicales, para ambos grupos de mujeres indígenas estudiadas (Figura 12), con respecto a la positividad de VPH-AR obtenida (Tabla 16), lo que se explica probablemente con que tener infección por VPH, no implica necesariamente un alto porcentaje de hallazgos citológicos anormales (ASC-US, L-SIL y H-SIL) y menos del 5% de las mujeres que adquieren el virus desarrollan CCU^{87, 88}, se debe tener en cuenta también que el tiempo promedio transcurrido entre el contacto inicial con VPH-AR y la aparición de lesiones a nivel cervical es de 10 años⁸⁹.

Así como se indica, que si bien la citología cervical es una herramienta útil en la disminución de la morbilidad de CCU⁹⁰⁻⁹², existen varios factores que influyen en la obtención de falsos negativos, entre los que se encuentran, errores en la toma y procesamiento de las muestras, inadecuada en la identificación de células malignas o problemas en la interpretación de los resultados, falta de experiencia de los citotecnólogos^{93, 94}.

Por lo que cabe resaltar que la asistencia a los programas de P&P, basados en la toma de citología se considera una herramienta útil, ampliamente reconocida a nivel mundial, y que en países en desarrollo ha contribuido al descenso de la mortalidad por CCU⁹⁵⁻⁹⁷. No obstante, se ha encontrado que estos

programas presentan mayores dificultades para la detección temprana y tratamiento oportuno de las lesiones precancerosas en países Latinoamericanos, generalmente atribuido a la falta de infraestructura, falta de educación sobre el cáncer cervical entre las mujeres, escasez de recursos técnicos, médicos y financieros⁹¹. Para Colombia, si bien los niveles de cobertura alcanzan el 80%, la adherencia y seguimiento principalmente de las mujeres con resultados de citología anormal, no son adecuadas y buena proporción de ellas no tienen acceso al tratamiento adecuado⁹⁸⁻¹⁰⁰.

En cuanto a los resultados reportados de frecuencias elevadas para infección con VPH, datos concordantes con los previamente reportados en mujeres colombianas¹⁰¹, la coinfección encontrada fue significativamente mayor a lo esperado comparada con estudios anteriores que involucran población indígena de Colombia^{17, 18, 102}, lo que se puede explicar gracias a la metodología empleada en el presente estudio donde en el que se incluyó para la identificación de VPH a nivel de género, tres sets distintos de cebadores (GP5+/6+ y MY09/11) dirigidos hacia el aumento de la sensibilidad y la detección de copias virales bajas del gen que codifica para la proteína de la cápside L1 y E6-E7¹⁸, la cual se encuentra en mayor cantidad durante la fase de replicación activa del VPH, siendo actualmente de gran importancia en el diagnóstico molecular del virus¹⁶

En anteriores estudios, el uso de un único conjunto de cebadores llevó a subestimar la prevalencia de la infección por VPH¹⁵, sin embargo, para estudios epidemiológicos es importante implementar más de un set de cebadores con el fin de lograr mayor detección de VPH, aumentando la sensibilidad de la técnica para la detección del virus, brindando resultados oportunos y confiables¹⁶. Adicionalmente, nuestros resultados mostraron una mayor proporción de mujeres con eventos de infecciones simultáneas por más de un tipo viral, debido a que se realizó la detección específica para 11 tipos de VPH-AR (16, 31, 39, 18, 52, 51, 56, 58, 35, 45, 33).

La importancia clínica de las coinfecciones no ha sido completamente comprendida, estudios indican que una lesión puede ser atribuida a la infección por un único tipo de VPH; sin embargo, otros estudios han demostrado una alta proporción en de mujeres con lesiones cervicales y más de un tipos de VPH, por lo que en este grupo atribuir la relación causal a un único tipo viral se dificulta¹⁰³. Así como que las poblaciones con infección por VPH-AR-16- y 18, aumentan la probabilidad de 5-7 veces de contraer una infección concomitante por otro tipo de VPH, principalmente VPH-58¹⁰³.

Adicionalmente, estudios *in vitro* han demostrado la capacidad de una misma célula para albergar más de un tipo de VPH, sin embargo, al evaluar esto en mujeres con lesiones, los resultados son poco concluyentes¹⁰³⁻¹⁰⁵, siendo sugerido que las infecciones múltiples favorecen las condiciones para que un solo tipo viral logre llevar a cabo su ciclo replicativo de forma eficiente y colonice el tejido cervical¹⁰⁵.

Con respecto a la distribución tipo-especifica, en este estudio se realizó la identificación de once tipos de VPH-AR, donde se encontró mayor proporción de infección para el VPH-16, lo cual concuerda con estudios previos realizados en tanto Colombia como a nivel mundial, además de ser considerado el tipo con mayor potencial carcinogénico¹⁰⁶, cuya elevada prevalencia puede deberse a que este tipo de VPH se encuentra hasta diez veces más frecuentemente en infecciones únicas como se menciona en el estudio publicado por Chunqing Lin et al¹⁰⁷, dato que se relaciona con la frecuencia hallada en este estudio para el mismo tipo viral (11,50) en infecciones únicas (Figura16.). Seguido de este, se encuentra el VPH-31, el cual ha sido reportado como el segundo tipo más prevalente en Europa¹⁰⁸, en Colombia¹⁸, en pacientes con algún tipo de lesión cervical^{109, 110}, y en casos de la recurrencia viral después del tratamiento¹¹¹, siendo igual para este estudio.

Teniendo en cuenta que el CCU es una patología multifactorial¹¹², se evaluó la asociación entre la población estudiada y los factores de riesgo relacionados con la adquisición de VPH¹¹³. Los resultados mostraron diferencias entre dichos factores y el origen de la población indígena (Amazonas y Andes) (Tabla 18.), para las mujeres del Amazonas los factores asociados a la infección con VPH fueron las de viudo/separado (ORa: 31,05) y otro método (ORa: 3,29) anticonceptivo diferente al hormonal (cirugía, condón y DIU), lo que se puede por medio de estudios publicados donde se indica que el uso del condón disminuye el riesgo de adquisición de VPH en un 70%, mas no se considera como un método de prevención contra el VPH¹¹⁴. Respecto al DIU, en diferentes estudios realizados se ha encontrado que las mujeres que usaron este método de planificación presentaron un riesgo 50 veces mayor de desarrollar CCU^{115, 116}, desconociéndose actualmente el mecanismo por el cual se favorece el progreso hacia lesiones de mal pronóstico, llegándose a sugerir que el uso prolongado del mismo genera a nivel epitelial procesos inflamatorios, de estrés oxidativo y daño a nivel celular, lo que facilita la rotura mecánica epitelial, lo que permite la exposición de las células basales al virus^{117, 118}.

En contraste para mujeres de los Andes, los factores que se vieron menos asociados al evento dependiente (infección por VPH) fueron ingresos superiores al salario mínimo (ORa: 0,26) y tener estudios Técnico/Universitario (ORa: 0,66) (Tabla 18). Factores que se encuentran relacionados en estudios socio-políticos, en los que se ha llegado a observar que mujeres de bajos recursos económicos presentan el doble de probabilidad de presentar infección con el VPH y desarrollar CCU, comparado con mujeres que cuentan con ingresos mayores¹¹⁹, adicionalmente, en mujeres que con educación universitaria tiene mayor conocimiento y facilidad para acceder a programas de promoción y prevención, lo que disminuye su mortalidad por CCU y favorece el acceso a servicios de salud¹²⁰⁻¹²².

Uno de los principales determinantes en la participación de la población para la detección de CCU, es el acceso a los servicios de salud, ya sea en programas de prevención o consulta por ginecología,

que permitan realizar pruebas de Papanicolaou con mayor frecuencia¹²³, nuestros resultados sugieren que el tener un mayor grado de educación, así como una mayor capacidad económica, podría favorecer la consulta de las mujeres a los programas de promoción y prevención (P&P) y que en últimas favorezcan la tamización del cáncer cervical¹²⁴. Población con bajos índices de accesibilidad a la atención, como aquella ubicada en zonas, se caracteriza por presentar una menor participación en los programas de P&P¹²⁵, por lo que sería importante aumentar la cobertura de dichos programas en población rural como la indígena.

Para Colombia las regiones que reportan mayor dificultad para el acceso a los servicios de salud son chocó, Vaupés, Vichada, Guainía y Amazonas¹²⁶, este hallazgo podría estar vinculado a la escasez de asistencia sanitaria en estas poblaciones y una mayor resistencia en estas áreas para discutir temas relacionados con educación¹²⁶. En cuanto a la población indígena de los Andes, esta cuenta con mayor accesibilidad a los servicios de salud ya que se encuentra más cerca de ciudades y zonas urbanas, lo cual facilita el acceso a programas de promoción y prevención.

En esta mismo contexto, también se evaluó que factores se relacionaban con la adquisición de infecciones por múltiples tipos virales (coinfecciones) (Tabla 19), los resultados mostraron en mujeres del Amazonas, los mismos factores relacionados con la infección por VPH; no obstante adicional a estos, se encontró asociado positivamente el inicio de vida sexual en mujeres mayores de 16 años, esto puede deberse a que el inicio de relaciones sexuales en menores edades aumenta la posibilidad de tener conductas sexuales arriesgadas (no uso de preservativo, más compañeros sexuales) y razones biológicas (inmadurez cervical, déficit del flujo cervical protector y ectopia cervical aumentada)¹⁰¹. En contraste para indígenas de los Andes, se encontró una menor asociación con el evento de coinfección el estado civil Unión Libre/Casada lo cual puede deberse a tener una pareja sexual estable, disminuyendo así la exposición para adquirir VPH¹⁷.

Una limitante del presente estudio fue no identificar factores genéticos propios de cada región como el HLA, que puede tener información sobre la susceptibilidad y que ayuden en la comprensión los resultados obtenidos en cada región, adicionalmente teniendo en cuenta que el diseño de este estudio es de corte transversal, no permitió detectar la dinámica de la adquisición de las coinfecciones, lo que lo hace relevante a futuro realizar estudios longitudinales que permitan identificar el momento en que se produce la adquisición de más de un tipo de VPH y así determinar si dichos eventos de infección ocurren simultáneamente. Finalmente, para estudios posteriores sería conveniente la inclusión de población indígena de la costa colombiana para evaluar las prevalencias de infección y coinfección en esta población.

Los resultados del presente estudio mostraron diferencias entre la identificación de VPH y los orígenes de la población indígena. Adicionalmente la coinfección en este estudio fue mayor para las dos regiones, que las reportadas en estudios anteriores. Nuestros resultados sugieren que los aspectos culturales y/o ambientales, geográficas y genéticas particulares de cada región, son factores relevantes que podrían modular la infección y coinfección de VPH; finalmente, los resultados de este trabajo proporcionan información y una visión de los retos que afrontan los programas en caminados a la prevención del CCU en población indígena colombiana.

9 CONCLUSIONES

La frecuencia de infección por VPH-AR tipo específica encontrada en las mujeres indígenas de la región de los Andes colombianos fue mayor para los tipos 16, 39 y 31; desemejante en la región del Amazonas, cuya mayor frecuencia se encontró en los tipos 16, 31 y 52.

La coinfección hallada dentro de este estudio fue mayor a lo esperado, lo que sugiere que las mujeres indígenas participantes presentan características sociodemográficas y de comportamiento sexual que propician un mayor riesgo de exposición en simultáneo con diferentes tipos de VPH.

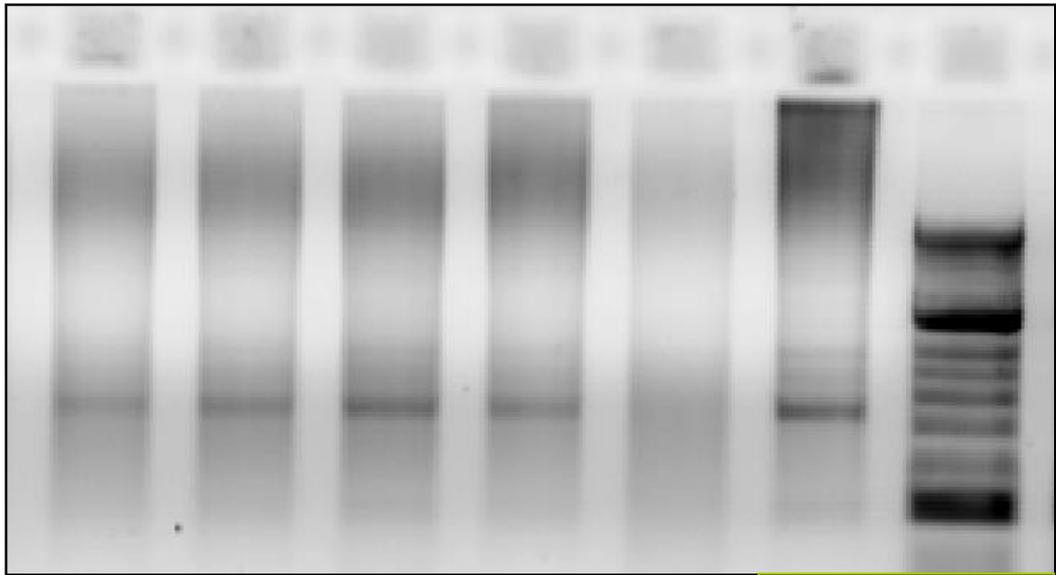
Los resultados mostraron la existencia de diferentes factores de riesgo relacionados con la adquisición de VPH, desemejantes entre ambas poblaciones, evidenciándose en la región del Amazonas asociaciones positivas entre la detección del VPH y el estado civil y método de planificación; mientras que para los Andes factores relacionados con su nivel de educación y económico se vieron menos asociados en la adquisición de infecciones con este virus.

La información derivada del presente estudio contribuye en la generación de conocimiento sobre la frecuencia de infecciones por VPH y los factores de riesgo asociados a dichas infecciones, en población cuyo acceso a los programas de promoción y prevención es escaso, y cuyos perfiles epidemiológicos aún no han sido descritos en su totalidad.

La falta de recursos, limito el alcance de este trabajo, al excluirse dentro del mismo el análisis sobre el comportamiento de este virus para los tipos de bajo riesgo en este grupo de mujeres, los cuales son de importancia clínica.

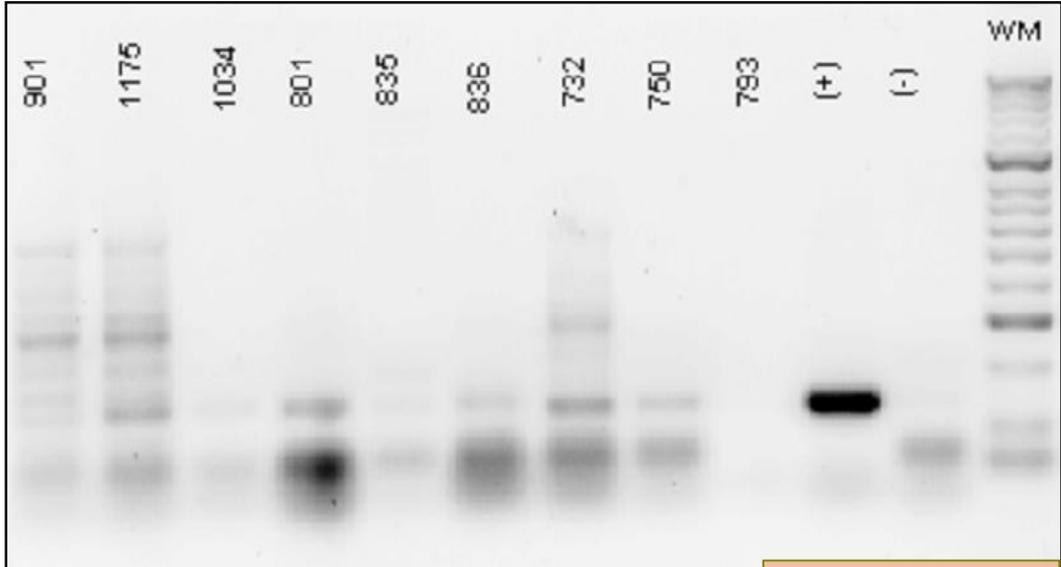
ANEXOS

Anexo 1. Fotografías geles de agarosa



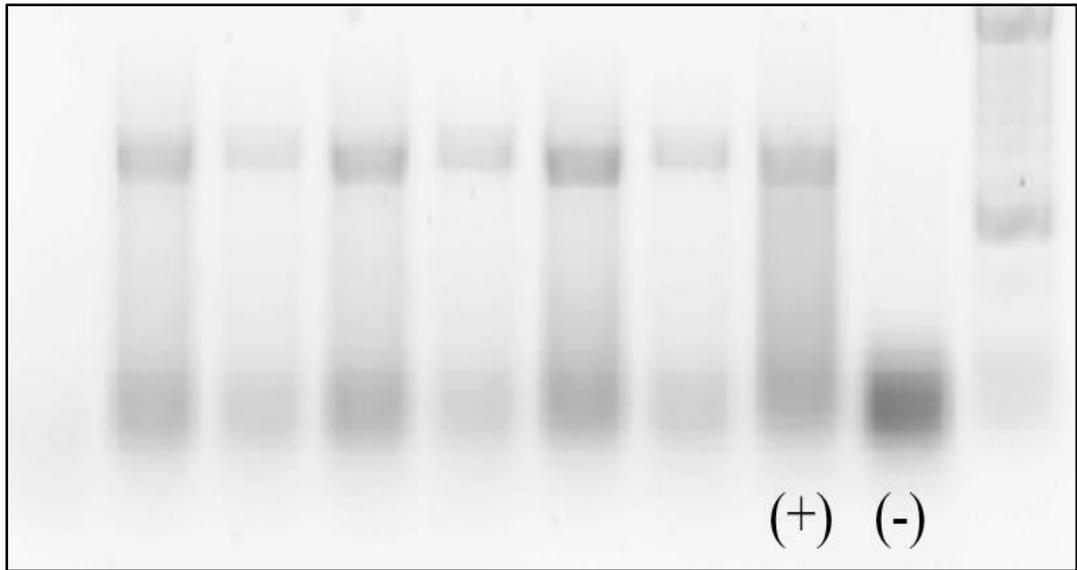
β-Globina. 268 pb

Gel de agarosa donde se muestran bandas positivas para β-Globina



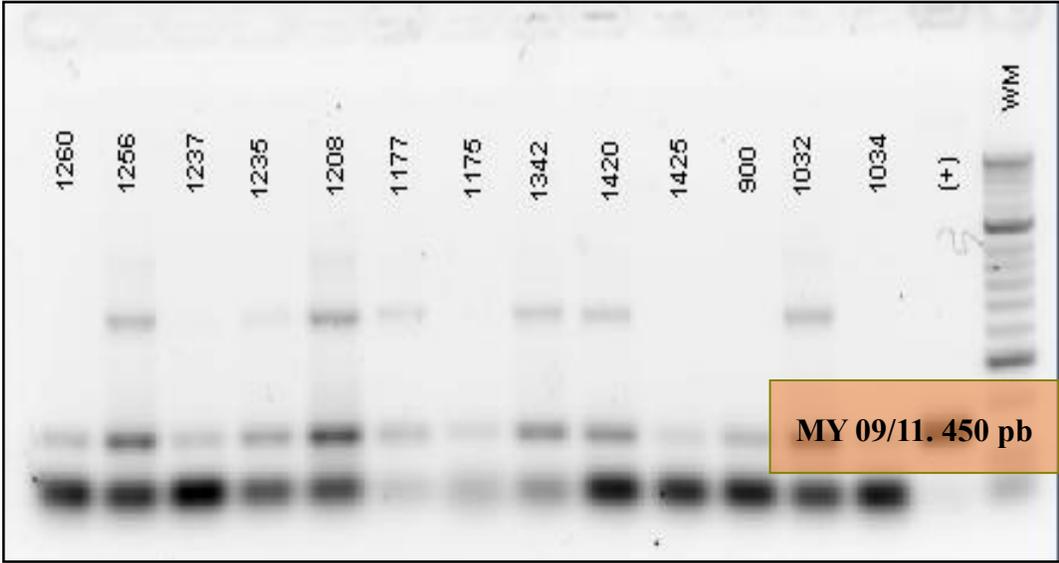
GP5+/6+ .140 pb

Gel de agarosa donde se muestran bandas positivas para VPH 45 Y 58.



MY 09/11.

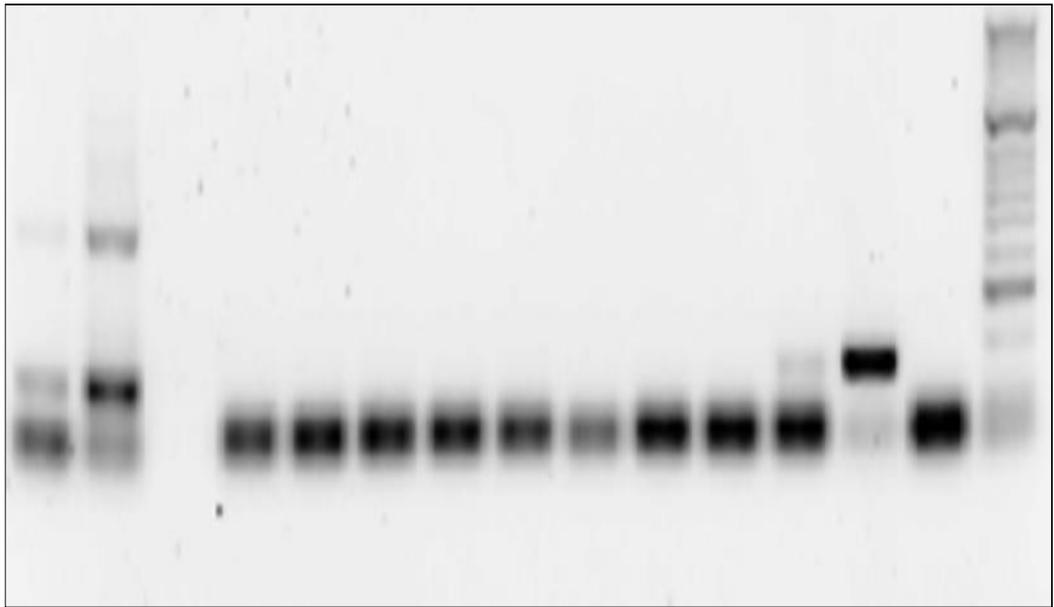
Gel de agarosa con bandas positivas para MY 09/11.



MY 09/11. 450 pb

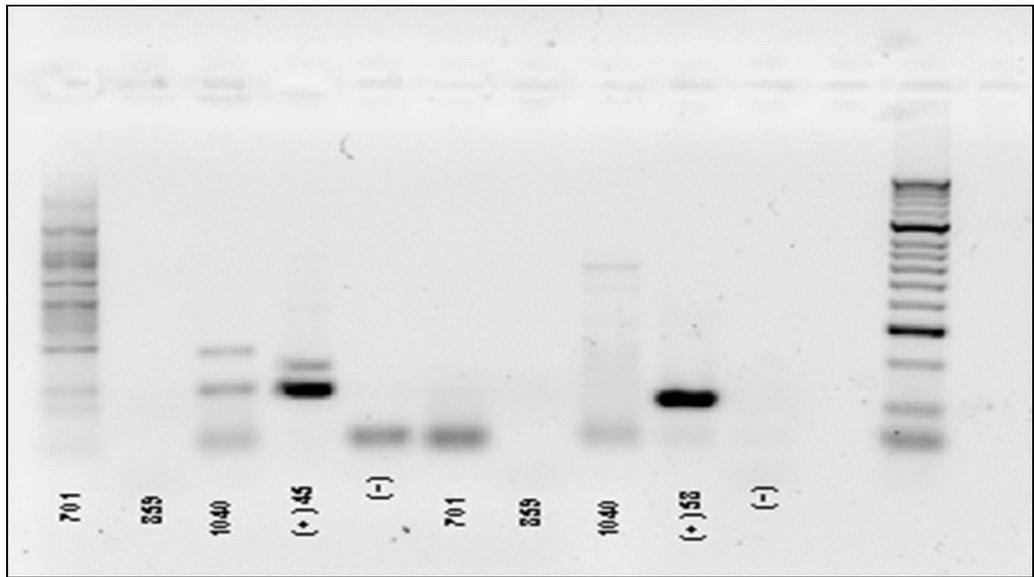
VPH-16. 120 pb

Gel de agarosa con bandas positivas para VPH 16



VPH-18. 172 pb

Gel de agarosa con bandas positivas para VPH 18.



VPH-45. 134 pb

VPH-58. 109 pb

Gel de agarosa con bandas positivas para VPH 45 Y 58.

Anexo 2 Consentimiento informado

Participante N:

 FIDIC	<p>PROYECTO "COMPARACION DE LA PRUEBA SEROLOGICA DE ELISA DE ANTICUERPOS ANTI-VPH CON LA CITOLOGIA Y CON LA DETECCION DEL ADN VIRAL, AL SER UTILIZADAS COMO PRUEBAS DE TAMIZACION PARA LA DETECCION DE INFECCION PERSISTENTE POR EL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO"</p> <p>FUNDACIÓN INSTITUTO DE INMUNOLOGIA DE COLOMBIA</p>
---	---

Solo ingresará al estudio previo a la firma de este consentimiento informado. Se le recuerda que su participación es totalmente voluntaria.

El virus de papiloma humano o VPH causa el **cáncer de útero**.

Es el segundo cáncer más frecuente en las mujeres del mundo y el primero en países en vías de desarrollo como el nuestro.

Su participación en este estudio es una generosa contribución al desarrollo de la ciencia y a la mejoría de la salud de nuestros semejantes, así como su propio beneficio.

Procedimientos a seguir

Si usted está de acuerdo en participar en este estudio, previa evaluación médica, se le solicitará la donación de una (1) muestra de sangre de 5 cc y una (1) muestra citológica cervicovaginal para análisis de ADN viral que se tomara en el momento de realizar la colposcopia.

Período de participación

Tiempo necesario para la toma de la muestra de sangre (Aproximadamente 5 minutos).

Riesgos

Este estudio se considera de bajo riesgo. El volumen de sangre por individuo es mínimo (5cc). Se puede tener algo de dolor o enrojecimiento en el área de la veno-punción y en raras ocasiones se presenta sensación de mareo de la que se recupera espontáneamente. La toma de la muestra cervical no presenta molestias adicionales a la colposcopia.

Beneficios

Usted recibirá a través de su servicio de salud, el resultado de laboratorio de la seropositividad o no para el **Virus del Papiloma Humano**. Esto ayudará a su médico tratante para la toma de decisión en su caso particular. Además significa un nuevo conocimiento acerca de los mecanismos de defensa del ser humano contra la infección por **Virus del Papiloma Humano** y hace parte del proceso de evaluación de la prueba que podría, en el futuro, ser la base para el desarrollo de métodos de diagnóstico más precisos y posibles vacunas.

Confidencialidad

Su nombre no será usado en ningún informe de este estudio.

Hallazgos nuevos de importancia para su salud

Cualquier información adicional e importante encontrada durante el periodo de duración del estudio, que pudiese resultar importante para su salud, le será comunicada inmediatamente.

IMPORTANTE: Si existe alguna parte de este documento que no entienda, por favor pregunte a uno de los investigadores antes de firmar.

Por medio de la presente constancia, en pleno y normal uso de mis facultades mentales, otorgo en forma libre mi consentimiento a la FUNDACIÓN INSTITUTO DE INMUNOLOGIA DE COLOMBIA para que me sea practicada la prueba de tamizaje para la detección de anticuerpos contra el virus del papiloma humano (VPH), mediante la técnica ELISA.

Declaro que se me ha suministrado información sobre la prueba y aspectos concernientes a la infección por el VPH, dentro del desarrollo de un trabajo de investigación que busca detectar este virus en la muestra de mi sangre que se toma cuando la citología vaginal presenta resultados anormales para recibir posteriormente las indicaciones que se requieran en el manejo de esta infección.

La información acerca del resultado de esta prueba se maneja con confidencialidad por parte del equipo de salud que participa de la investigación.

Soy consciente que la sangre que donaré y la colaboración que prestaré, será utilizada con fines de investigación solamente y que nadie obtendrá ningún tipo de lucro con ellas. Soy también consciente que mi participación en este estudio no representa ningún peligro para mi salud y que el procedimiento para la toma de la muestra es seguro.

Nombre:

_____ **Identificación** _____

Dirección: _____

Lugar y fecha: _____

Testigo1 _____

Firma e identificación del testigo:

Parentesco con Relación con el sujeto de investigación _____

Testigo2 _____

Firma e identificación del testigo:

Parentesco con Relación con el sujeto de investigación _____

BOGOTA, _____

Anexo 3. Cuestionario preguntas sociodemográficas.

		PROYECTO "COMPARACION DE LA PRUEBA SEROLOGICA DE ELISA DE ANTICUERPOS ANTI-VPH CON LA CITOLOGIA Y CON LA DETECCION DEL ADN VIRAL, AL SER UTILIZADAS COMO PRUEBAS DE TAMIZACION PARA LA DETECCION DE INFECCION PERSISTENTE POR EL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO"	
FUNDACIÓN INSTITUTO DE INMUNOLOGIA DE COLOMBIA			
1. Fecha		2. Ciudad:	
4. Nombres y Apellidos:		3. Participante N°:	
6. Dirección de residencia habitual		5. Cédula:	
7. Teléfono Fijo:		8. Teléfono Celular:	
9. Ha pensado cambiar de residencia en los próximos dos años: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No			
10. Esta dispuesta a continuar un seguimiento clínico cada seis meses durante dos años: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No			
11. Fecha de Nacimiento: D/M/A		12. Edad:	13. Con cuántas personas de su familia vive:
14. Cuanto promedian sus ingresos mensuales:		15. Nivel de escolaridad:	
		<input type="checkbox"/> Analfabeta <input type="checkbox"/> Primaria <input type="checkbox"/> Secundaria <input type="checkbox"/> Técnica <input type="checkbox"/> Universitaria	
16. Raza: <input type="checkbox"/> Indígena <input type="checkbox"/> Negra <input type="checkbox"/> Blanca <input type="checkbox"/> Mestiza <input type="checkbox"/> Otra: Cual : _____			
17. Estado civil: <input type="checkbox"/> Soltera <input type="checkbox"/> Unión libre <input type="checkbox"/> Casada <input type="checkbox"/> Separada <input type="checkbox"/> Viuda			
18. Ha fumado alguna vez:	<input type="checkbox"/> Si	20. Hace cuanto tiempo fuma? <input type="checkbox"/> Menos 1 año <input type="checkbox"/> Mas de 3 años	
	<input type="checkbox"/> No	21. Cuantos cigarrillos fuma al día: <input type="checkbox"/> 1 - 5 <input type="checkbox"/> 10 - 20 <input type="checkbox"/> 5 - 10 <input type="checkbox"/> Mas de 20	
19. Actualmente Fuma: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		22. Cuando fumó, por cuanto tiempo lo hizo: <input type="checkbox"/> Menos 1 año <input type="checkbox"/> 1 a 3 años <input type="checkbox"/> Mas de 3 años	
23. Ha tenido relaciones sexuales: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		24. Edad primera relación sexual:	
25. Vida sexual activa: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No			
26. N° de compañeros sexuales: <input type="checkbox"/> Ninguno <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> Mas de 3			
27. Cual es su método más frecuente de planificación, usado en los últimos 5 años:			
<input type="checkbox"/> 1. Sin Método <input type="checkbox"/> 3. Ant orales <input type="checkbox"/> 5. Condón <input type="checkbox"/> 7. Norplant o Jadell <input type="checkbox"/> 2. D.I.U <input type="checkbox"/> 4. Inyectables <input type="checkbox"/> 6. Cirugía <input type="checkbox"/> 8. Otro Cual: _____			
28. Gestaciones: _____ Partos: _____ Vivos: _____ Abortos: _____		<input type="checkbox"/> Embarazo <input type="checkbox"/> Menopausia	
29. Alguna vez ha tenido infección de transmisión sexual por:			
<input type="checkbox"/> 1. Vaginosis <input type="checkbox"/> 2. Chlamydia <input type="checkbox"/> 3. VPH Cervical <input type="checkbox"/> 4. Trichomona <input type="checkbox"/> 5. Gonorrea <input type="checkbox"/> 6. HIV <input type="checkbox"/> 7. Sífilis <input type="checkbox"/> 8. Ninguna <input type="checkbox"/> 9. Otra Cual: _____			
30. Citologías previas: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No Primera vez		31. Fecha última citología. D/M/A Resultado: <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Anormal	
32. Alguna vez le practicaron:			
<input type="checkbox"/> Conización del Cuello Uterino <input type="checkbox"/> Radioterapia <input type="checkbox"/> Crioterapia <input type="checkbox"/> Cauterización del Cuello Uterino <input type="checkbox"/> Histerectomía <input type="checkbox"/> Biopsia <input type="checkbox"/> Ninguna			
33. Citología compatible con:			
<input type="checkbox"/> 0. ASC-US <input type="checkbox"/> 4. Lesión intraepitelial escamosa de Alto grado (LEI AG) <input type="checkbox"/> 1. ASC-H <input type="checkbox"/> 5. Cáncer: _____ <input type="checkbox"/> 2. AGC (Atipias de células glandulares) <input type="checkbox"/> 6. Negativo para lesiones intraepiteliales o malignidad <input type="checkbox"/> 3. Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LEI BG) <input type="checkbox"/> 7. Muestra Insatisfactoria			
34. Colposcopia: Satisfactoria <input type="checkbox"/> Insatisfactoria <input type="checkbox"/>			
<input type="checkbox"/> 0. Negativo para lesiones intraepiteliales o malignidad <input type="checkbox"/> 3. Lesión intraepitelial escamosa de Alto grado (LEI AG) <input type="checkbox"/> 1. Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LEI BG) <input type="checkbox"/> 4. Cáncer: _____			
35. Biopsia: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No			
<input type="checkbox"/> 0. Negativo para lesiones intraepiteliales o malignidad <input type="checkbox"/> 2. Lesión intraepitelial escamosa de Alto grado (LEI AG) <input type="checkbox"/> 1. Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LEI BG) <input type="checkbox"/> 3. Cáncer: _____			
Observaciones:			
Firma del Responsable: _____			

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referencias

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
2. Bruni L, Albero G, Serrano B, Mena M, Gómez D, Muñoz J, et al. Human Papillomavirus and Related Diseases in Colombia. Summary Report 10 December 2018. [Accesado: Diciembre 2018]. 2018.
3. José G SN. Virus del Papiloma humano 2009.
4. Gloria PA, González. Juana, Villarreal. Tiziana, Percoco. Pierina, Pietrocino. Luis. Aguilera. Virus del papiloma humano; visión actual en biomedicina. 2005;12:213-24.
5. Cáncer LSACE. ¿Cuáles son los factores de riesgo del cáncer de cuello uterino? November 16, 2016 ed2016.
6. Rosell Juarte Ernesto MDA, Cepero Muñoz Floro, Cardoso Hernández Jorge, Estenoz Fernández Andrés. . FACTORES DE RIESGO DEL CÁNCER DE CUELLO UTERINO. *AMC, Scielo.* 2007;11(1).
7. Jeronimo J, Holme F, Slavkovsky R, Camel C. Implementation of HPV testing in Latin America. *J Clin Virol.* 2016;76 Suppl 1:S69-S73.
8. GLOBOCAN. Estimated number of prevalence cases (5- years) in 2018, Latin American and the Caribbean all cancer. 2018.
9. GLOBOCAN. COLOMBIA 2018 [
10. GLOBOCAN. Numero estimado de muertes en Colombia en mujeres entre los 0 a las 74 años de edad 2018 [
11. Kightlinger RS, Irvin WP, Archer KJ, Huang NW, Wilson RA, Doran JR, et al. Cervical cancer and human papillomavirus in indigenous Guyanese women. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(6):626 e1-7.
12. Gottschlich A, Rivera-Andrade A, Grajeda E, Alvarez C, Mendoza Montano C, Meza R. Acceptability of Human Papillomavirus Self-Sampling for Cervical Cancer Screening in an Indigenous Community in Guatemala. *J Glob Oncol.* 2017;3(5):444-54.
13. Blas MM, Alva IE, Garcia PJ, Carcamo C, Montano SM, Munante R, et al. Association between human papillomavirus and human T-lymphotropic virus in indigenous women from the Peruvian Amazon. *PLoS One.* 2012;7(8):e44240.
14. Mendoza L, Mongelos P, Paez M, Castro A, Rodriguez-Riveros I, Gimenez G, et al. Human papillomavirus and other genital infections in indigenous women from Paraguay: a cross-sectional analytical study. *BMC Infect Dis.* 2013;13:531.
15. Camargo M, Soto-De Leon S, Sanchez R, Munoz M, Vega E, Beltran M, et al. Detection by PCR of human papillomavirus in Colombia: Comparison of GP5+/6+ and MY09/11 primer sets. *J Virol Methods.* 2011;178(1-2):68-74.
16. Munoz M, Camargo M, Soto-De Leon SC, Rojas-Villarraga A, Sanchez R, Jaimes C, et al. The diagnostic performance of classical molecular tests used for detecting human papillomavirus. *J Virol Methods.* 2012;185(1):32-8.
17. Soto-De Leon S, Camargo M, Sanchez R, Munoz M, Perez-Prados A, Purroy A, et al. Distribution patterns of infection with multiple types of human papillomaviruses and their association with risk factors. *PLoS One.* 2011;6(2):e14705.

18. Camargo M, Soto-De Leon SC, Sanchez R, Perez-Prados A, Patarroyo ME, Patarroyo MA. Frequency of human papillomavirus infection, coinfection, and association with different risk factors in Colombia. *Ann Epidemiol.* 2011;21(3):204-13.
19. Ley 1712 de 2014. Ley de Víctimas No. 4633 de 2011. 2011. p. 98.
20. ESPINOSA CC-MJC. AUTO 092 : Adopción de medidas para la protección a mujeres víctimas del desplazamiento forzado por causa del conflicto armado. 2008.
21. Colombia UNd. ANEXO 9: LA SITUACIÓN DE LOS GRUPOS ÉTNICOS EN COLOMBIA. 2000. p. 27.
22. Constituyente AN. CONSTITUCION POLITICA DE COLOMBIA 1991. Colombia1991.
23. (PNUD) PdINUpED. Cuaderno del Informe de Desarrollo Humano Colombia 2011. Pueblos indígenas, Diálogo entre culturas. Bogotá, Colombia2012.
24. Nava-Navarro V. O-RD, Báez-Hernández F. Autoestima, violencia de pareja y conducta sexual en mujeres indígenas. *Enferm univ [Internet].* 2017; 14:[162-9 pp.]. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-70632017000300162&lng=es.
25. Social MdSyP. Guía de Práctica Clínica para la detección y manejo de lesiones precancerosas de cuello uterino. Guía para pacientes y cuidadores. In: Colombia, editor. 2014. p. 1-30.
26. Rincón DF ML, Rincón Orozco B. Modernas metodologías diagnosticas para la detección del Virus del Papiloma Humano y prevención del cáncer de cuello uterino. *Rev Univ Ind Santander Salud [Internet].* 49:[478-88 pp.]. Available from: <https://revistas.uis.edu.co/index.php/revistasaluduis/article/view/6655/6966>.
27. Picconi MA, Gronda J, Alonio LV, Villa LL, Sichero L, Miranda S, et al. [Human Papilloma virus in Quechua women from Jujuy with high frequency of cervical cancer: viral types and HPV-16 variants]. *Medicina (B Aires).* 2002;62(3):209-20.
28. Patricia J. García SC, Barbara Feringa, Marina Chiappe, Weili Li, Kathrin U. Jansen, César Cárcamo, King K. Holmes. Reproductive tract infections in rural women from the highlands, jungle, and coastal regions of Peru. *Bulletin of the World Health Organization.* 2003:483.
29. Duarte DV ea. Frecuencia y genotipado del Papilomavirus humano en mujeres de comunidades ribereñas del Municipio de Abaetetuba, Estado de Pará, Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude.* 2010;3:75-82.
30. Leon-Maldonado L, Wentzell E, Brown B, Allen-Leigh B, Torres-Ibarra L, Salmeron J, et al. Perceptions and Experiences of Human Papillomavirus (HPV) Infection and Testing among Low-Income Mexican Women. *PLoS One.* 2016;11(5):e0153367.
31. Fajardo-Ramirez OR, Barboza-Cerda MC, Ortiz-Lopez R, Rojas-Martinez A, Garza-Rodriguez ML, Sepulveda-Flores A, et al. Prevalence and 3-year persistence of human papillomavirus serotypes in asymptomatic patients in Northern Mexico. *Int J Gynaecol Obstet.* 2017;136(1):40-6.
32. Introducción a la anatomía del cuello uterino. p. 1-12.
33. Colombia SGdSSeS-. Guía de Práctica Clínica, para la detección y manejo de lesiones precancerosas de cuello uterino. 2014. [1 - 30]. Available from: http://gpc.minsalud.gov.co/gpc_sites/Repositorio/Otros_conv/GPC_Cuello_Uterino/LPC_Guia_pacientes_julio_2016.pdf.
34. Social MdSyP. Guía de práctica clínica (GPC) para la detección y manejo de lesiones precancerosas de cuello uterino. . Bogota- Colombia: 44; 2014. p. 1-30.
35. Cervicouterino PNdPdC. Guía Programática Abreviada para el tamizaje de Cáncer Cervicouterino. Argentina. p. 1- 32.

36. Pinidis P, Tsikouras P, Iatrakis G, Zervoudis S, Koukouli Z, Bothou A, et al. Human Papilloma Virus' Life Cycle and Carcinogenesis. *Maedica (Buchar)*. 2016;11(1):48-54.
37. Salud OMdl. Factor de riesgo 2017 [
38. Hernández Carreño LSP, Loredó. Quintero Soto, María Luisa FACTORES DE RIESGO EN ADOLESCENTES PARA CONTRAER EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO. *Revista Digital Universitaria*. 2012;13(9):1-16.
39. VILLEGAS CASTRO SE. DISEÑO DE UNA ESTRATEGIA EDUCATIVA PARA LA PREVENCIÓN DE LAS INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL EN LAS MUJERES DE 20 A 49 AÑOS. CIUDADELA ASSAD BUCARAM. DAULE. AÑO 2018.: UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL; 2018.
40. SALUD EMD. RESOLUCIÓN NÚMERO 412 DE 2000. Por la cual se establecen las actividades, procedimientos e intervenciones de demanda inducida y obligatorio cumplimiento y se adoptan las normas técnicas y guías de atención para el desarrollo de las acciones de protección específica y detección temprana y la atención de enfermedades de interés en salud pública. In: Colombia, editor. 2000. p. 1-6.
41. Salud INd. Protocolo de Vigilancia en Salud Pública. CANCER DE MAMA Y CUELLO UTERINO. In: Colombia, editor. 2014. p. 1-39.
42. Murillo R. CR, Wiesner Carolina , Piñeros Marion , Tovar, Sandra. . Efectividad de la citología cérvico-uterina para la detección temprana de cáncer de cuello uterino en el marco del sistema de salud de Colombia. *Biomédica [Internet]*. 2009; 29:[354-61 pp.]. Available from: <https://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/777>.
43. Cendales R, Pardo C, Uribe C, Lopez G, Yepez MC, Bravo LE. Data quality at population-based cancer registries in Colombia. *Biomedica*. 2012;32(4):536-44.
44. Murillo R, Wiesner C, Cendales R, Píneros M, Tovar S. Comprehensive evaluation of cervical cancer screening programs: the case of Colombia. *Salud Publica Mex*. 2011;53(6):469-77.
45. Mateos Lindemann ML, Pérez-Castro, S., Pérez-Gracia M.T. Diagnóstico microbiológico de la infección por el virus del papiloma humano 2016; 57. Available from: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia57.pdf>.
46. Rincón R Diego F MLLA, Rincón-Orozco Bladimiro. Modernas metodologías diagnósticas para la detección del Virus del Papiloma Humano y prevención del cáncer de cuello uterino. *Rev Univ Ind Santander [Internet]*. 2017; 49:[478-88 pp.]. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-08072017000300478&lng=en.
47. Agorastos T, Chatzistamatiou K, Katsamagkas T, Koliopoulos G, Daponte A, Constantinidis T, et al. Primary screening for cervical cancer based on high-risk human papillomavirus (HPV) detection and HPV 16 and HPV 18 genotyping, in comparison to cytology. *PLoS One*. 2015;10(3):e0119755.
48. Amaya JR, S. TAMIZAJE PARA CÁNCER DE CUELLO UTERINO: CÓMO, DESDE Y HASTA CUÁNDO. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología* 2005;56(1):59- 67.
49. La cruz C. Nomenclatura de las lesiones cervicales (de Papanicolau a Bethesda 2001). *Revista Española de Patología*. 2003;36(1):5-10.
50. DANE. Defunciones no fetales 2018 preliminar. 2019.
51. Cancer AfRo. Estimated crude incidence and mortality rates in 2018, worldwide, females, all ages 2018 [
52. Cancer AfRo. Estimated crude incidence and mortality rates in 2018, Latin America and the Caribbean, females, all ages 2018 [

53. 2018 AfRoC. Estimated crude incidence and mortality rates in 2018, Colombia, females, all ages 2018 [
54. GLOBOCAN. Estimated age-standardized incidence and mortality rates (World) in 2018, Latin America and the Caribbean, females, all ages. 2018.
55. CRISTALES. GDCP, MOLINA. NRP. "Uso de PAP y VPH CARE en mujeres de 30 A 59 años, para la obtención de incidencia, principales factores de riesgo asociados con el virus del papiloma humano y la relación causal del HPV con el Cáncer Uterino en San Ildefonso, San Vicente. Marzo-Agosto 2016": UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.
56. al S-LGe. Aspectos generales de la estructura, la clasificación y la replicación del virus del papiloma humano. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2015;53.
57. Marcela CR. Diagnóstico y terapia del virus papiloma humano. *Revista chilena de infectología [Internet].* 2007; 3:[209-14 pp.]. Available from: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182007000300006.
58. Alejandra. PM. Detección de virus papiloma humano en la prevención del cáncer cérvico-uterino 2013; 6:[585-96 pp.].
59. Modis Y, Trus BL, Harrison SC. Atomic model of the papillomavirus capsid. *EMBO J.* 2002;21(18):4754-62.
60. Álvarez Aldana ASA, Juan Carlos. Siller López, Fernando. . Carcinogénesis inducida por el virus del papiloma huma. *INVESTIGACIONES ANDINA.* 2011;14:438-56.
61. Miller DL, Puricelli MD, Stack MS. Virology and molecular pathogenesis of HPV (human papillomavirus)-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Biochem J.* 2012;443(2):339-53.
62. Ramos Ramírez MCTV, María Fernanda. Falcón Córdova, Diana Virus del Papiloma Humano como factor etiopatogénico de lesiones cervicales: Revisión de literatura Enfermería Investiga, Investigación, Vinculación, Docencia y Gestión. 2018;3:1-7.
63. Beltrán-Lissabet JF. Aspectos generales sobre la estructura y función de las proteínas codificadas por el virus del Papiloma Humano. *Revista CENIC Ciencias Biológicas.* 2014;45(2):108-18.
64. Klingelhutz AJ, Roman A. Cellular transformation by human papillomaviruses: lessons learned by comparing high- and low-risk viruses. *Virology.* 2012;424(2):77-98.
65. Martel Marin M. Prevalencia del virus de papiloma humano asociado a carcinoma de orofaringe en una cohorte de pacientes. Estudio de las características epidemiológicas y repercusión pronóstica. : Universidad autónoma de Barcelona; 2015.
66. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 2004;324(1):17-27.
67. MEDINA GARCÍA CV. PERSISTENCIA Y CARGA VIRAL ANAL DE VPH 16 Y 18, EN UNA COHORTE DE HOMBRES QUE TIENEN SEXO CON HOMBRES Y QUE VIVEN CON VIH: ESCUELA DE SALUD PÚBLICA DE MÉXICO; 2014.
68. VANEGAS VÍCTOR ANDRÉS RAI, BEDOYA ASTRID MILENA, SÁNCHEZ GLORIA INÉS. ESTRUCTURA MOLECULAR Y ANTIGÉNICA DE LA VACUNA CONTRA EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO 16 Scielo. 2008 Dec;13(3):37-48.
69. Woodman CB, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nat Rev Cancer.* 2007;7(1):11-22.
70. Raff AB, Woodham AW, Raff LM, Skeate JG, Yan L, Da Silva DM, et al. The evolving field of human papillomavirus receptor research: a review of binding and entry. *J Virol.* 2013;87(11):6062-72.
71. Moroianu J. Molecular mechanisms of nuclear protein transport. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 1997;7(1-2):61-72.

72. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol.* 2005;32 Suppl 1:S7-15.
73. Agricultura OdINUpIAYl. Pueblos Indígenas 2018 [
74. CEPAL CEPAL-. Los pueblos indígenas en América Latina 2014 [
75. DANE. Grupos étnicos 2005 [
76. Onyido EK, Sweeney E, Nateri AS. Wnt-signalling pathways and microRNAs network in carcinogenesis: experimental and bioinformatics approaches. *Mol Cancer.* 2016;15(1):56.
77. Arcila Niño OHSC, Carlos Ariel . LA AMAZONIA COLOMBIANA: POBLADA Y URBANIZADA. *REVISTA COLOMBIA AMAZÓNICA.* 2011;4:37 -55.
78. DANE DANDE-. COLOMBIA UNA NACIÓN MULTICULTURAL. Su diversidad étnica. In: *DEMOGRAFÍA DDCY*, editor. 2007. p. 1-45.
79. Planeación EeCceDNd. Los Pueblos Indígenas de Colombia 1997 [Pag. 126-7].
80. Codazzi IGA, cartographer Mapa departamental, Amazonas , Colombia2012.
81. Codazzi: IGA. Instituto Geográfico Agustín Codazzi: Terms and Conditions of Use 2017 [
82. Epicentre. QuickExtract™ DNA Extraction Solution. 2017.
83. Perera Carmen Laura AAM. Nuevas tendencias en el diagnóstico de enfermedades virales en los animales. *Rev Salud Anim* [Internet]. 2018 Dic; 40. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2018000300007&lng=es.
84. Macrogen. SEQUENCE OF THE PRIMERS OF B-globina, GP5+/GP6+, MY09/MY01 y PU 1M/2R. 2017.
85. Fierro Fierro F. Electroforesis de ADN. Mexico; [27-51]. Available from: <https://micrositios.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/710/electroforesis.pdf>.
86. Ibeanu OA. Molecular pathogenesis of cervical cancer. *Cancer Biology & Therapy* [Internet]. 2011; 11(3). Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/cbt.11.3.14686>.
87. Woodman CB, Collins S, Winter H, Bailey A, Ellis J, Prior P, et al. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet.* 2001;357(9271):1831-6.
88. Bosch X, Harper D. Prevention strategies of cervical cancer in the HPV vaccine era. *Gynecol Oncol.* 2006;103(1):21-4.
89. Baldwin P, Laskey R, Coleman N. Translational approaches to improving cervical screening. *Nat Rev Cancer.* 2003;3(3):217-26.
90. Schiffman M, Solomon D. Findings to date from the ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS). *Arch Pathol Lab Med.* 2003;127(8):946-9.
91. Safaeian M, Solomon D, Castle PE. Cervical cancer prevention--cervical screening: science in evolution. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2007;34(4):739-60, ix.
92. Varela Martínez S. Citología Cervical. *Rev Med Hondur* [Internet]. 2005; 73(3):[131-6 pp.]. Available from: <http://www.bvs.hn/RMH/pdf/2005/pdf/Vol73-3-2005-7.pdf>.
93. Lee KJ, Lee JK, Saw HS. Can human papillomavirus DNA testing substitute for cytology in the detection of high-grade cervical lesions? *Arch Pathol Lab Med.* 2004;128(3):298-302.
94. Jorge Ojeda Ortiz RMM, * Manuel Pardo López, Martha Guevara Cruz, Tomás Hernández Quijano, Claudia Valencia Elizondo, Marcelino Hernández Valencia. Comparación de la toma de citología cervical con calidad satisfactoria con el método Cervex-brush o Cervex-mex. *Ginecol Obstet Mex* [Internet]. 2008; 76(7). Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/ginobs/mex/gom-2008/gom087d.pdf>.

95. Arbyn M, Bergeron C, Klinkhamer P, Martin-Hirsch P, Siebers AG, Bulten J. Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2008;111(1):167-77.
96. Miller AB, Nazeer S, Fonn S, Brandup-Lukanow A, Rehman R, Cronje H, et al. Report on consensus conference on cervical cancer screening and management. *Int J Cancer.* 2000;86(3):440-7.
97. Madlensky L, Goel V, Polzer J, Ashbury FD. Assessing the evidence for organised cancer screening programmes. *Eur J Cancer.* 2003;39(12):1648-53.
98. Luz Angela Chocontá-Piraquive NA-G, Fernando De la Hoz-Restrepo. How protective is cervical cancer screening against cervical cancer mortality in developing countries? The Colombian case. *BMC Health Services Research.* 2010;10(270):1-6.
99. Profamilia. Encuesta Nacional de Demografía y Salud 2011:1-794.
100. Murillo R, Almonte M, Pereira A, Ferrer E, Gamboa OA, Jeronimo J, et al. Cervical cancer screening programs in Latin America and the Caribbean. *Vaccine.* 2008;26 Suppl 11:L37-48.
101. Del Rio-Ospina L, Soto-De Leon SC, Camargo M, Sanchez R, Mancilla CL, Patarroyo ME, et al. The Prevalence of High-Risk HPV Types and Factors Determining Infection in Female Colombian Adolescents. *PLoS One.* 2016;11(11):e0166502.
102. Soto-De Leon SC, Camargo M, Sanchez R, Leon S, Urquiza M, Acosta J, et al. Prevalence of infection with high-risk human papillomavirus in women in Colombia. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15(1):100-2.
103. Quint W, Jenkins D, Molijn A, Struijk L, van de Sandt M, Doorbar J, et al. One virus, one lesion--individual components of CIN lesions contain a specific HPV type. *J Pathol.* 2012;227(1):62-71.
104. McLaughlin-Drubin ME, Meyers C. Evidence for the coexistence of two genital HPV types within the same host cell in vitro. *Virology.* 2004;321(2):173-80.
105. Mejlhede N, Pedersen BV, Frisch M, Fomsgaard A. Multiple human papilloma virus types in cervical infections: competition or synergy? *APMIS.* 2010;118(5):346-52.
106. Clifford GM, Tully S, Franceschi S. Carcinogenicity of Human Papillomavirus (HPV) Types in HIV-Positive Women: A Meta-Analysis From HPV Infection to Cervical Cancer. *Clin Infect Dis.* 2017;64(9):1228-35.
107. Lin C, Franceschi S, Clifford GM. Human papillomavirus types from infection to cancer in the anus, according to sex and HIV status: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2018;18(2):198-206.
108. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Munoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2003;88(1):63-73.
109. Clifford G, Franceschi S, Diaz M, Munoz N, Villa LL. Chapter 3: HPV type-distribution in women with and without cervical neoplastic diseases. *Vaccine.* 2006;24 Suppl 3:S3/26-34.
110. Antonishyn NA, Horsman GB, Kelln RA, Saggar J, Severini A. The impact of the distribution of human papillomavirus types and associated high-risk lesions in a colposcopy population for monitoring vaccine efficacy. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132(1):54-60.
111. Bogani G, Martinelli F, Ditto A, Taverna F, Lombardo C, Signorelli M, et al. Human papillomavirus (HPV) persistence and HPV 31 predict the risk of recurrence in high-grade vaginal intraepithelial neoplasia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2017;210:157-65.

112. Chelimo C, Wouldes TA, Cameron LD, Elwood JM. Risk factors for and prevention of human papillomaviruses (HPV), genital warts and cervical cancer. *J Infect.* 2013;66(3):207-17.
113. (CDC) CpeCylPdE. Virus del papiloma humano: Información sobre el VPH para los médicos. 2007. Available from: https://www.minsalud.gov.co/salud/Documents/observatorio_vih/documentos/literatura_interes/Virus%20del%20papiloma%20humano.pdf.
114. Tu YC, Wang HH, Lin YJ, Chan TF. HPV knowledge and factors associated with intention to use condoms for reducing HPV infection risk among adolescent women in Taiwan. *Women Health.* 2015;55(2):187-202.
115. Agenjo Gonzalez M, Lampaya Nasarre B, Salazar F, Varillas D, Cristobal I. Influence of intrauterine device in human papillomavirus clearance. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2019;232:65-9.
116. Averbach S, Silverberg MJ, Leyden W, Smith-McCune K, Raine-Bennett T, Sawaya GF. Recent intrauterine device use and the risk of precancerous cervical lesions and cervical cancer. *Contraception.* 2018.
117. Gold MA, Johnson LM. Intrauterine devices and adolescents. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2008;20(5):464-9.
118. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol.* 2005;3:28.
119. Marañón Cardonne Tatiana MCK, Flores Barroso Yanet, Vaillant Lora Lillian, Landazuri Llago Sanlia. . Prevención y control del cáncer de cuello uterino 2017; 21(1):[187-203 pp.]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812017000100015&lng=es.
120. Maar M, Burchell A, Little J, Ogilvie G, Severini A, Yang JM, et al. A qualitative study of provider perspectives of structural barriers to cervical cancer screening among first nations women. *Womens Health Issues.* 2013;23(5):e319-25.
121. Bayrami R, Taghipour A, Ebrahimipour H. Challenges of providing cervical cancer prevention programs in Iran: a qualitative study. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(23):10071-7.
122. Birhanu Z, Abdissa A, Belachew T, Deribew A, Segni H, Tsu V, et al. Health seeking behavior for cervical cancer in Ethiopia: a qualitative study. *Int J Equity Health.* 2012;11:83.
123. Araujo M, Franck JE, Cadot E, Gautier A, Chauvin P, Rigal L, et al. Contextual determinants of participation in cervical cancer screening in France, 2010. *Cancer Epidemiol.* 2017;48:117-23.
124. Harder E, Juul KE, Jensen SM, Thomsen LT, Frederiksen K, Kjaer SK. Factors associated with non-participation in cervical cancer screening - A nationwide study of nearly half a million women in Denmark. *Prev Med.* 2018;111:94-100.
125. Moss JL, Liu B, Feuer EJ. Urban/Rural Differences in Breast and Cervical Cancer Incidence: The Mediating Roles of Socioeconomic Status and Provider Density. *Womens Health Issues.* 2017;27(6):683-91.
126. Bermedo-Carrasco S, Waldner C, Pena-Sanchez JN, Szafron M. Spatial variations in cervical cancer prevention in Colombia: Geographical differences and associated socio-demographic factors. *Spat Spatiotemporal Epidemiol.* 2016;19:78-90.

