

PREVALENCIA DE TIPOS DE VPH-AR Y SU ASOCIACION CON PATOGENOS VAGINALES  
(VAGINOSIS BACTERIANA, CANDIDIASIS Y TRICHOMONIASIS)

Facundo Gómez Cherey<sup>1</sup>, Sandra Payalef<sup>2,3</sup>, Laura Fleider<sup>1</sup>, Ana Paula Reyes<sup>2,3</sup>, Verónica Maldonado<sup>1</sup>, Mirta Losada<sup>2,3</sup>, Beatriz Perazzi<sup>2,3</sup>, Silvio Tatti<sup>1</sup>

## RESUMEN

## OBJETIVOS:

- 1) Determinar la prevalencia de la infección por tipos de VPH de alto riesgo (VPH-ar) en pacientes de 18 a 24 años.
- 2) Describir los tipos de VPH de alto riesgo según el grado de lesión intraepitelial escamosa cervical.
- 3) Establecer la prevalencia de vaginosis bacteriana, candidiasis y trichomoniasis en pacientes de 18 a 24 años según el tipo de VPH de alto riesgo detectado.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** DISEÑO: Estudio consecutivo, prospectivo, descriptivo, de corte transversal. Se examinaron 138 pacientes entre 18 a 24 años, con inicio de relaciones sexuales. A todas las pacientes se les realizó examen clínico y toma de fondo de saco vaginal para estudio de los EVB mediante BACOVA y cultivo. Para comparar la prevalencia de los patógenos vaginales y su asociación con los tipos de VPH-ar se utilizó el test de Chi cuadrado y Fisher. Se consideró significativo un  $p < 0,05$ . Se determinaron los tipos virales de alto riesgo mediante una prueba de PCR real time multiplex, AmpFire Multiplex HPV Assays.

**RESULTADOS:** Se analizaron un total de 138 mujeres que fueron divididas en pacientes VPH negativas, VPH positivas sin lesiones, L-SIL, CIN2+. El VPH 16 se asoció al 63,3% (7/11) de las lesiones CIN2+. El patógeno más prevalente fue la vaginosis bacteriana, seguido de la candidiasis y con menor frecuencia trichomoniasis ( $p < 0,001$ ). El 54,2% de las pacientes con VPH16 tuvieron VB asociada ( $p = 0,054$ ).

**CONCLUSIONES:** Se detectó una elevada prevalencia de infección por VPH-ar en el grupo de estudio siendo el VPH16 el tipo más prevalente. El patógeno más frecuentemente detectado fue la vaginosis bacteriana, principalmente asociado a VPH16.

**Gómez Cherey F, Payalef S, Fleider L, Reyes AP, Maldonado V, Losada M, Perazzi B, Tatti S. Rev Ginecol Arg 2021; 1: 5-10**

## INTRODUCCIÓN

La vagina y las comunidades bacterianas que allí residen son un ejemplo de ecosistema finamente equilibrado. El huésped proporciona beneficios a las comunidades bacterianas en forma de nutrientes, algunos de los cuales provienen de las células descamadas y otros de las secreciones glandulares. Las comunidades bacterianas juegan un papel protector contra infecciones del tracto genital inferior tales como, vaginosis bacteriana (VB), hongos, infecciones de transmisión sexual (ITS) e infecciones del tracto urinario (ITU). Los lactobacilos son las especies más abundantes en las comunidades vaginales en las mujeres en edad reproductiva, be-

neficiando al huésped ya que son capaces de producir ácido láctico que reduce el pH vaginal y protege de microorganismos potencialmente dañinos [1].

En las mujeres adultas sanas, el pH se encuentra entre 3,5-4,5; y a su vez las especies predominantes de lactobacilos mantienen el pH bajo a través de su actividad de fermentación de glucógeno, que protege el área contra la invasión de microorganismos indeseables [2].

Es conocido el hecho que un microbioma vaginal balanceado puede prevenir las infecciones del tracto genital inferior, mientras que la falta de lactobacilos favorece el desarrollo de vaginosis bacteriana y la adquisición de ITS como Herpes virus, Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) y Virus Papiloma Humano (VPH) [3-4].

En cuanto a la relación entre el cáncer ginecológico y el desbalance del microbioma, el ejemplo más claro encontrado hasta este momento es el desarrollo de tumores VPH relacionados. La infección por VPH es extremadamente común, el 50% de las mujeres menores de 30 años tendrán una prueba de VPH positiva en un periodo de 3 años [5]. Asimismo, la presencia del virus de VPH podría seleccionar el ecosistema microbiano vaginal acompañante. Un estudio demuestra que las mujeres con infección con VPH presentaron en sus microbiomas aumento del contenido de *L. gasseri* y *Gardnerella*

1. Universidad de Buenos Aires. Hospital de Clínicas "José de San Martín". División Ginecología y Obstetricia, Programa de Diagnóstico, Terapéutica y Vacunación del Tracto Genital Inferior. CABA, Argentina.

2. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Departamento de Bioquímica Clínica, Laboratorio de Bacteriología Clínica. CABA, Argentina.

3. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC). CABA, Argentina.

correspondencia: drsilvioatatti@gmail.com

vaginalis [6]. En cambio, que microbiomas balanceados demuestran mayor cantidad de *L. crispatus* [7, 8].

Factores mecánicos como las duchas vaginales o las relaciones sexuales y factores biológicos como la VB [9, 10] o ITS [11] alteran el microambiente vaginal y han sido identificados como cofactores en la persistencia de la infección por VPH. Esto sugiere que factores adicionales actúan en conjunto con el virus de VPH para influenciar en el riesgo del desarrollo de cáncer cervical.

Los objetivos de este trabajo fueron:

- 1) Determinar la prevalencia de la infección por tipos de VPH de alto riesgo en pacientes de 18 a 24 años.
- 2) Describir los tipos de VPH de alto riesgo según el grado de lesión intraepitelial escamosa cervical.
- 3) Establecer la prevalencia de vaginosis bacteriana, candidiasis y trichomoniasis en pacientes de 18 a 24 años según el tipo de VPH de alto riesgo detectado.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio consecutivo, prospectivo, descriptivo, de corte transversal. Se examinaron 138 pacientes entre 18 y 24 años con inicio de relaciones sexuales, independientemente de la presencia de síntomas de infección vaginal, atendidas en el Programa de Prevención, Diagnóstico, Terapéutica y Vacunación en el Tracto Genital Inferior, entre octubre del 2013 a junio del 2019. Este trabajo fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital y todas las pacientes dieron su consentimiento informado.

La población estudiada se clasificó en los siguientes grupos: pacientes VPH negativas (Grupo Control), pacientes VPH positivas sin lesión intraepitelial, pacientes con LSIL, pacientes con CIN2+.

Los criterios de exclusión fueron: uso de antibióticos (ATB), locales o sistémicos, dentro de los 15 días previos a la consulta, embarazadas, malformaciones genitales, pacientes en tratamiento con corticoides o quimioterapia, sin inicio de relaciones sexuales, quienes no tengan abstinencia sexual dentro de las 48 hs previas al estudio.

En el Programa de Prevención, Diagnóstico, Terapéutica y Vacunación en el Tracto Genital Inferior, previa firma del consentimiento informado se recabaron los datos para completar la historia clínica ginecológica. Además, se recogieron datos médicos y epidemiológicos de interés. Se tomó muestra para citología cervical, exo y endocervical (con espátula de Ayre y citobrush).

Se realizó colposcopia a todas las pacientes con un aumento de 16x previa aplicación de un spray de ácido acético sobre el cuello uterino. Los datos recabados de la colposcopia fueron

catalogados de acuerdo a la clasificación de la International Federation of Colposcopy and Cervical Pathology (versión 2011) [12].

Las citologías fueron coloreadas con la técnica de Papanicolaou (en el Departamento de Patología), la cual, se informó según la clasificación de Bethesda (versión 2001) [13]. Las muestras histológicas fueron informadas de acuerdo a la clasificación propuesta por el LAST (Lower Anogenital Squamous Terminology) Project [14].

A todas las pacientes se les realizó examen clínico y toma de fondo de saco vaginal para el estudio microbiológico por metodología convencional y estudio de los EVB mediante BACOVA.

El estudio microbiológico del contenido vaginal incluyó los siguientes exámenes:

1. Extendidos para coloración de Gram y May-Grunwald Giemsa prolongado.
2. Observación en fresco con 1 ml de solución fisiológica (SF).
3. Determinación de pH de la secreción vaginal.
4. Observación en fresco con 1 ml de KOH al 10% y prueba de aminas.
5. Cultivo en medio líquido (Tioglicolato modificado) para *T. vaginalis*, con incubación de 7 días a 37°C en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> [15].
6. Cultivo en agar base Columbia con 5% de sangre humana y en agar Man Rogosa con incubación de 48 hs. a 37°C en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub>, conservando la muestra en medio de Stuart.

La detección de candidiasis se realizó a través de la observación en fresco con SF y con KOH al 10% y por cultivo en agar Sabouraud y agar sangre.

La investigación de *T. vaginalis* se realizó a través de la observación microscópica directa con solución fisiológica (SF), la coloración de May-Grunwald Giemsa prolongado y el cultivo en tioglicolato modificado [15, 16].

El diagnóstico de vaginosis bacteriana se realizó utilizando el criterio de Nugent [17].

El estudio del Balance del Contenido Vaginal (BACOVA), incluyó el análisis morfológico del contenido vaginal en función de la relación del valor numérico (VN) y la reacción inflamatoria vaginal (RIV), identificándose 5 Estados Vaginales Básicos (EVB): microbiota normal (I), microbiota normal más reacción inflamatoria (II), microbiota intermedia (III), VB (IV) y vaginitis microbiana inespecífica (V) [18].

Para la detección de Virus del Papiloma Humano de Alto Riesgo (VPH-ar) a las muestras de las pacientes se le realizó una prueba de PCR real time multiplex, AmpFire Multiplex HPV Assays (catalog number: MHPVF1618-100), el cual detecta

la presencia de 15 tipos de VPH-ar y simultáneamente de VPH-16 y 18 en una reacción más un control interno (gen de  $\beta$ -globina humana) con detección fluorescente isotérmica en tiempo real. Las sondas específicas para VPH-16, VPH-18, VPH-ar no 16/18 (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68) y el control interno se marcaron con CY5, ROX, FAM y HEX, respectivamente. La falta de una curva de amplificación exponencial en el canal HEX se interpretó como un resultado no válido (19).

### MÉTODO ESTADÍSTICO:

Para comparar la prevalencia de candidiasis, VB y trichomoniasis y su asociación con los tipos de VPH-ar, en los distintos subgrupos atendiendo a la lesión intraepitelial que la paciente presenta, se utilizó el test de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ), Odds Ratio y el test de Fisher. Se consideró significativo un valor de p menor a 0,05.

### RESULTADOS

Se estudiaron 138 pacientes (x: 21,6; IC95% 21,7-21,9). Para el análisis de los resultados se excluyeron las muestras de las pacientes en las que no hubo amplificación del gen control en el test de detección del VPH-ar.

La prevalencia de infección por VPH en las pacientes del estudio se muestra en la **Tabla 1**. En las pacientes el tipo más prevalente de VPH-ar fue el VPH 16, 17,4% (24/138) seguido por otros tipos de alto riesgo (35, 39, 51, 53, 56, 59, 68) 13,8% (19/138).

**TABLA 1: PREVALENCIA DE LOS DISTINTOS TIPOS DE VPH DE ALTO RIESGO EN EL GRUPO DE ESTUDIO (N=138).**

Prevalencia de los distintos tipos de VPH-ar en el grupo estudiado		
	Grupo de 18-24 años	
	n	%
VPH 16	24	17,4
VPH 18	7	5,1
VPH 45	0	0
VPH 31,33	14	10,1
VPH 52,58	9	6,5
VPH 66	6	4,3
Otros tipos	19	13,8
Negativo	59	42,8
<b>TOTAL</b>	<b>138</b>	<b>100</b>

Las prevalencias de los distintos tipos de VPH-ar en función de las lesiones intraepiteliales escamosas se presentan en la **Tabla 2**. El VPH 16 se asoció al 63,6% (7/11) de las lesiones CIN2+, seguido de VPH 18, 9,1% (1/11) y otros tipos de alto riesgo 9,1% (1/11).

**TABLA 2: PREVALENCIA DE LOS DISTINTOS TIPOS VIRALES DE VPH DE ALTO RIESGO EN FUNCIÓN DEL GRADO DE LESIÓN INTRAEPITELIAL ESCAMOSA EN EL GRUPO DE ESTUDIO (N=138).**

Prevalencia de los distintos tipos virales de VPH de alto riesgo en función del grado de lesión intraepitelial escamosa						
	Sin lesión		LSIL		CIN2+	
	n	%	n	%	n	%
VPH 16	10	9,6	7	30,4	7	63,6
VPH 18	5	4,8	1	4,3	1	9,1
VPH 45	0	0	0	0	0	0
VPH 31,33	10	9,6	4	17,4	0	0
VPH 52,58	7	6,7	2	8,7	0	0
VPH 66	6	5,8	0	0	0	0
Otros tipos	15	14,4	3	13,0	1	9,1
Negativo	51	49,0	6	26,1	2	18,2
<b>TOTAL</b>	<b>104</b>	<b>100</b>	<b>23</b>	<b>100</b>	<b>11</b>	<b>100</b>

El grupo de estudio presentó mayor prevalencia de VB (34%) que de candidiasis (22,7%) y de tricomoniasis (2,8%) respectivamente, resultando estas diferencias estadísticamente significativas (p= <0,001).

Del análisis de prevalencia de VB según tipos de VPH-ar se observó que 13/24 (54,2%) de las pacientes con VPH16 tuvieron asociada una VB (p= 0,054), 6/14 (21,4%) de las pacientes con VPH 31,33 se asociaron a este patógeno. En contraste, la prevalencia de candidiasis en este grupo fue 2/24 (8,3%) en las pacientes con VPH16 y 6/14 (42,9%) en las pacientes con VPH 31,33 tuvieron asociado este patógeno (**Tabla 3**).

### DISCUSIÓN

Existe evidencia sólida que la infección por VPH es necesaria pero no suficiente para el desarrollo del carcinoma de cuello uterino. Se han identificado más de 200 tipos de VPH en la actualidad, 40 de los cuales están asociados a infecciones del tracto anogenital, y se han asociado solamente algunos con la carcinogénesis cervical (principalmente el tipo VPH-16) (20). El principal factor en la carcinogénesis cervical es la infección transformante por VPH, aunque el resto de los factores permanecen sin dilucidar. Uno de los factores que ha cobrado mayor importancia actualmente es el microbioma que acompaña la infección por VPH.

Según Gonzales et al, refirieron como prevalencia de la infección por VPH-ar en la Argentina en adolescentes de 42,2% (21), en nuestro trabajo el 57,2% de las pacientes del grupo de 18-24 años tuvieron infección por VPH-ar al momento del reclutamiento. Dicho hallazgo es de capital importancia debido a que, en este grupo de pacientes, en la zona de transformación, existe una metaplasia activa. Estas células que están en constante crecimiento y diferenciación son terreno

**TABLA 3: PREVALENCIA DE VAGINOSIS BACTERIANA, CANDIDIASIS Y TRICOMONIASIS EN PACIENTES ENTRE 18-24 AÑOS SEGÚN CADA TIPO DE VPH-AR (N=138).**

Grupo de 18-24 años																
	HPV 16 (n= 24)		HPV18 (n= 7)		HPV 45 (n= 0)		HPV 31,33 (n= 14)		HPV 52,58 (n= 9)		HPV 66 (n= 6)		Otros tipos (n= 19)		Negativo (n= 59)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Vaginosis Bacteriana	13	54.2	3	42.9	0		3	21.4	1	11.1	1	16.7	8	42.1	19	32.2
Candidiasis	2	8.3	2	28.6	0		6	42.9	1	11.1	1	11.1	7	36.8	13	22.0
Trichomoniasis	1	4.2	0	0	0		0	0	0		0		0		3	5.1

propicio para el desarrollo de una lesión intraepitelial escamosa (5).

En Latinoamérica y el Caribe la prevalencia VPH-16 en las pacientes con diagnóstico de HSIL histológico fue de 46,5% y en la Argentina del 48,5% (22). En nuestra casuística, la prevalencia de VPH-16 en las pacientes con CIN2+ cervical fue de 63,6%.

La composición de la microbiota a su vez, es influenciada por numerosos factores, la etnia es el principal factor intrínseco que se asocia con la composición del microbioma, tal es así que las mujeres caucásicas y asiáticas muestran mayor prevalencia de colonización por lactobacilos, en comparación con las hispánicas y de raza negra (23, 24).

El cáncer cervical es una enfermedad de larga data, y existen etapas previas a ella durante las cuales las condiciones del entorno cervical y vaginal se modifican, como ser la acidez vaginal y el patrón de citoquinas que transita desde un patrón proinflamatorio para finalmente conducir a un estado de inmunosupresión local.

La literatura que explora la relación entre la vaginosis bacteriana y el VPH es consistente, los estudios longitudinales demuestran una mayor asociación de este patógeno con el aumento de la incidencia de la infección y disminución del clearance del VPH (25).

Adicionalmente se ha propuesto que el microambiente vaginal y el perfil de citoquinas juegan un rol en la generación de las lesiones intraepiteliales escamosas (26). Por ejemplo, la infección por *Fusobacterium* spp. podría desempeñar un papel clave en el desarrollo de un microambiente inmunosupresor caracterizado por citoquinas antiinflamatorias (perfil de citoquinas Th2), como IL-4 y TGF- $\beta$ 1, en células de cuello uterino transformadas por VPH (25), lo cual favorecería la evasión del sistema inmune y la persistencia de la infección (24).

En nuestro estudio, el 54,2% de las pacientes infectadas por VPH-16 tuvieron una VB asociada. Esto puede deberse a que la infección por VPH puede alterar el metabolismo de la mucosa vaginal (26), la inmunidad del huésped (27) o ambas, lo que da lugar a cambios en la estructura del ecosistema

vaginal. Lee et al (28) reportan que los epitelios vaginales infectados por VPH presentan una disminución en la producción de glucógeno, el cual es fuente de energía para los lactobacilos y responsables de la disminución del pH vaginal. Las citoquinas proinflamatorias, las especies reactivas del oxígeno, la integración del ADN viral y la inflamación crónica que ocurren en la infección por VPH pueden provocar cambios en el entorno de la mucosa vaginal, lo que da lugar a cambios en la microbiota vaginal (28).

En nuestro estudio las pacientes con CIN2+ presentaron una elevada prevalencia de VB (54,5%) y no presentaron candidiasis (0%). Esta disminución de la prevalencia de candidiasis observada en las pacientes con CIN2+ puede deberse a la disminución de la microbiota lactobacilar observada en este grupo (29).

La cohorte estudiada presentó mayor prevalencia de VB, que de candidiasis y trichomoniasis. Estos hallazgos también fueron notificados por Abdul-Aziz et al. (30) en Yemen, quienes refirieron en pacientes en edad reproductiva una prevalencia de VB de 27,2%, levaduras de 6,8% y trichomonas de 0,9%, con un incremento en las pacientes menores de 25 años, de 39,6% para VB y de 9,9% para levaduras. Sin embargo, dado que a prevalencia la de infecciones por estos gérmenes varía de un país a otro, Bucemi et al (31) en Argentina reportaron una prevalencia de VB de 25,6% y de levaduras de 17,4%, mientras que Kamara et al. (32) en Jamaica describieron una prevalencia de VB de 44,1%, levaduras 30,7% y trichomonas 18%.

La candidiasis es la infección fúngica más frecuente del tracto genital inferior, aunque en la mayoría de los casos es una colonización asintomática. Sin embargo, existen algunas especies de levaduras altamente virulentas que causan la degradación de la membrana basal del epitelio vaginal con la consecuente invasión endógena y respuesta inflamatoria acompañante. Dicho epitelio dañado favorece la entrada de otras ITS, como por ejemplo el VPH. Estos hallazgos fueron observados por Kero et al (33), quienes demostraron que la candidiasis puede ser un factor de riesgo para la adquisición de la infección por VPH, pero no para la persistencia viral. En



nuestro estudio debido a la baja prevalencia de levaduras por tipo viral, no se puede establecer asociación entre tipo específico de VPH-ar y este patógeno.

En la literatura no se hace referencia a la asociación de levaduras con un tipo específico de VPH-ar.

En nuestra casuística, hemos encontrado una baja prevalencia de trichomonas (menor al 4%), motivo por el cual no se pudo relacionar a ningún tipo de VPH-ar en particular. Esta baja prevalencia se debe a que se estudió población tanto sintomática como asintomática. Similares hallazgos fueron reportados por Abdul Aziz et al. (30), quienes describieron una prevalencia de trichomonas de 0,9%. En cambio, Kamarra (32) et al. reportaron una prevalencia de trichomonas de 18%. Estas disparidades en la prevalencia podrían deberse a distintas condiciones socioeconómicas y diferencias étnicas (34).

## CONCLUSIÓN

Se detectó una elevada prevalencia de infección por VPH-ar en el grupo estudiado. El VPH-16 fue el tipo más prevalente detectado en relación con el CIN2+.

La vaginosis bacteriana fue el patógeno más prevalente en el grupo de estudio, siendo el VPH16 el tipo viral más prevalente asociado a este patógeno.

Es importante investigar la presencia de patógenos vaginales en las pacientes con VPH dado que el incremento de la prevalencia de VB podría favorecer la persistencia y progresión al cáncer cervical.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1) Ma B, Forney LJ, Ravel J. Vaginal microbiome: rethinking health and disease. *Annu Rev Microbiol.* 2012; 66:371-89. doi: 10.1146/annurev-micro-092611-150157. Epub 2012 Jun 28. PMID: 22746335; PMCID: PMC3780402.
- 2) Cauci S, Driussi S, De Santo D, Penacchioni P, Iannicelli T, Lanzafame P et al. Prevalence of bacterial vaginosis and vaginal flora changes in peri- and postmenopausal women. *J Clin Microbiol.* 2002; 40: 2147-52.
- 3) Behbakht K, Friedman J, Heimler I, Aroutcheva A, Simoes J, Faro S. Role of the vaginal microbiological ecosystem and cytokine profile in the promotion of cervical dysplasia: A case-control study. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2002; 10:181-6.
- 4) Gao W, Weng J, Gao Y, Chen X. Comparison of the vaginal microbiota diversity of women with and without human papillomavirus infection: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis* 2013; 13:271. doi: 10.1186/1471-2334-13-271.
- 5) Moscicki AB. Human papillomavirus disease and vaccines in adolescents. *Adolesc Med State Art Rev.* 2010 Aug;21(2):347-63, x-xi. PMID: 21047033; PMCID: PMC3057670.
- 6) Silva J, Cerqueira F, Medeiros R. *Chlamydia trachomatis* infection: implications for HPV status and cervical cancer. *Arch Gynecol Obstet.* 2014; 289:715-23. doi: 10.1007/s00404-013-3122-3.
- 7) Oh HY, Kim BS, Seo SS, et al. The association of uterine cervical microbiota with an increased risk for cervical intraepithelial neoplasia in Korea. *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21: 674.e1-9. doi: 10.1016/j.cmi.2015.02.026.
- 8) Gillet E, Meys JF, Verstraelen H, Bosire C, De Sutter P, Temmerman M, et al. Bacterial vaginosis is associated with uterine cervical human papillomavirus infection: a meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2011, 11:10. doi: 10.1186/1471
- 9) Seo SS, Oh HY, Lee JK, et al. Combined effect of diet and cervical microbiome on the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Clin Nutr.* 2016; 35: 1434-41. doi: 10.1016/j.clnu.2016.03.019.
- 10) Guo YL, You K, Qiao J, Zhao YM, Geng L. Bacterial vaginosis is conducive to the persistence of HPV infection. *Int J STD AIDS* 2012; 23:581-4.
- 11) Vriend HJ, Bogaards JA, van Bergen JE, Brink AA, van den Broek IV, Hoebe CJ, et al. Incidence and persistence of carcinogenic genital human papillomavirus infections in young women with or without *Chlamydia trachomatis* co-infection. *Cancer Med* 2015; 4:1589-98.
- 12) Bornstein J, Bentley J, Bösze P, Girardi F, Haefner H, Menton M, Perrotta M, Prendiville W, Russell P, Sideri M, Strander B, Tatti S, Torne A, Walker P. 2011 colposcopic terminology of the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstet Gynecol.* 2012 Jul;120(1):166-72.
- 13) Solomon D, Nayar R. *El sistema Bethesda para informar citología cervical.* 1° Edición: Buenos Aires 2006
- 14) Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, McCalmont T, Nayar R, Palefsky JM, Stoler MH, Wilkinson EJ, Zaino RJ, Wilbur DC; Members of LAST Project Work Groups. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2012 Oct;136(10):1266-97.
- 15) Poch F, Levin D, Levin S, Dan M. Modified thioglycolate medium: a simple and reliable means for detection of *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2630-1.
- 16) Perazzi B, Menghi C, Coppolillo E, Gatta C, Cora Eliseth M, de Torres RA et al. Prevalence and comparison of diagnostic methods for *Trichomonas vaginalis* infection in pregnant women in Argentina. *Korean J Parasitol* 2010; 1: 61-5.
- 17) Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991 Feb;29(2):297-301. doi: 10.1128/jcm.29.2.297-301.1991. PMID: 1706728; PMCID: PMC269757.
- 18) Proyecto BACOVA, Programa PROSAR, Fundación Bioquímica Argentina. *Manual de Procedimientos BACOVA 2012.* Disponible en: <http://www.fba.org.ar/PROSAR>
- 19) Tang YW, Lozano L, Chen X, Querec TD, Katabi N, Moreno-Docón

- A, Wang H, Fix D, De Brot L, McMillen TA, Yoon JY, Torroba A, Wang Y, Unger ER, Park KJ. An Isothermal, Multiplex Amplification Assay for Detection and Genotyping of Human Papillomaviruses in Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Tissues. *J Mol Diagn*. 2020 Mar;22(3):419-428. doi: 10.1016/j.jmoldx.2019.12.004. Epub 2020 Jan 22. PMID: 31978559; PMCID: PMC7081142.
- 20) Kyrgiou M, Mitra A, Moscicki AB. Does the vaginal microbiota play a role in the development of cervical cancer? *Transl Res*. 2017 Jan; 179:168-182. doi: 10.1016/j.trsl.2016.07.004. Epub 2016 Jul 15. PMID: 27477083; PMCID: PMC5164950.
- 21) González JV, Deluca GD, Liotta DJ, Correa RM, Basiletti JA, Colucci MC, Katz N, Vizzotti C, Picconi MA; MALBRAN HPV Surveillance Study Group; MALBRAN HPV Surveillance Study Group. Baseline prevalence and type distribution of Human papillomavirus in sexually active non-vaccinated adolescent girls from Argentina. *Rev Argent Microbiol*. 2021 Jan-Mar;53(1):11-19. doi: 10.1016/j.ram.2020.06.004. Epub 2020 Aug 9. PMID: 32788072.
- 22) Ciapponi A, Bardach A, Glujovsky D, Gibbons L, Picconi MA. Type-specific HPV prevalence in cervical cancer and high-grade lesions in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2011; 6(10):e25493. doi: 10.1371/journal.pone.0025493. Epub 2011 Oct 4. PMID: 21991313; PMCID: PMC3186785.
- 23) Pavlova SI, Kilic AO, Kilic SS, SO JS, Nader-Macias ME, Simoes JA, et al. Genetic diversity of vaginal lactobacilli from women in different countries on 16S rRNA gene sequences. *J Appl Microbiol* 2002; 92:451-9.
- 24) Mitra A, MacIntyre DA, Marchesi JR, Lee YS, Bennett PR, Kyrgiou M. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next? *Microbiome*. 2016 1; 4:58.
- 25) Lewis FMT, Bernstein KT, Aral SO. Vaginal Microbiome and Its Relationship to Behavior, Sexual Health, and Sexually Transmitted Diseases. *Obstet Gynecol*. 2017 Apr;129(4):643-654. doi: 10.1097/AOG.0000000000001932. PMID: 28277350; PMCID: PMC6743080.
- 26) Hillier SL, Lau RJ. Vaginal microflora in postmenopausal women who have not received estrogen replacement therapy. *Clin Infect Dis*. 1997 Sep;25 Suppl 2:S123-6. doi: 10.1086/516221. PMID: 9310650.
- 27) Scott M, Stites DP, Moscicki AB. Th1 cytokine patterns in cervical human papillomavirus infection. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1999 Sep;6(5):751-5. PMID: 10473530; PMCID: PMC95767.
- 28) Lee JE, Lee S, Lee H, Song YM, Lee K, Han MJ, Sung J, Ko G. Association of the vaginal microbiota with human papillomavirus infection in a Korean twin cohort. *PLoS One*. 2013 May 22;8(5):e63514. doi: 10.1371/journal.pone.0063514. PMID: 23717441; PMCID: PMC3661536.
- 29) Murta EF, Souza MA, Araújo Júnior E, Adad SJ. Incidence of *Gardnerella vaginalis*, *Candida* sp and human papilloma virus in cytological smears. *Sao Paulo Med J*. 2000 Jul 6;118(4):105-8. doi: 10.1590/s1516-31802000000400006. PMID: 10887386.
- 30) Abdul-Aziz M, Mahdy MAK, Abdul-Ghani R, Alhilali NA, Al-Mujahed LKA, Alabsi SA, Al-Shawish FAM, Alsarari NJM, Bamasmos W, Abdulwali SJH, Al Karawani M, Almikhlaflay AA. Bacterial vaginosis, vulvovaginal candidiasis and trichomonal vaginitis among reproductive-aged women seeking primary healthcare in Sana'a city, Yemen. *BMC Infect Dis*. 2019 Oct 22;19(1):879. doi: 10.1186/s12879-019-4549-3. PMID: 31640583; PMCID: PMC6805389.
- 31) Buscemi L, Arechavala A, Negroni R. Estudio de las vulvovaginitis agudas en pacientes adultas, sexualmente activas, con especial referencia a la candidiasis, en pacientes del hospital de infecciosas Francisco J. Muñiz [Study of acute vulvovaginitis in sexually active adult women, with special reference to candidosis, in patients of the Francisco J. Muñiz Infectious Diseases Hospital]. *Rev Iberoam Micol*. 2004 Dec;21(4):177-81. Spanish. PMID: 15709796.
- 32) Kamara P, Hylton-Kong T, Brathwaite A, Del Rosario GR, Kristensen S, Patrick N, Weiss H, Figueroa PJ, Vermund SH, Jolly PE. Vaginal infections in pregnant women in Jamaica: prevalence and risk factors. *Int J STD AIDS*. 2000 Aug;11(8):516-20. doi: 10.1258/0956462001916425. PMID: 10990336.
- 33) Kero K, Rautava J, Syrjänen K, Grenman S, Syrjänen S. Association of asymptomatic bacterial vaginosis with persistence of female genital human papillomavirus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017 Nov;36(11):2215-2219. doi: 10.1007/s10096-017-3048-y. Epub 2017 Jul 5. PMID: 28681204.
- 34) Ghosh I, Mandal R, Kundu P, Biswas J. Association of Genital Infections Other Than Human Papillomavirus with Pre-Invasive and Invasive Cervical Neoplasia. *J Clin Diagn Res*. 2016 Feb;10(2):XE01-XE06. doi: 10.7860/JCDR/2016/15305.7173. Epub 2016 Feb 1. PMID: 27042571; PMCID: PMC4800637.