

Facultad de Ciencias
Universidad de la República

GENOTIPOS DE HPV CIRCULANDO EN LA COMUNIDAD

Soledad Valsangiácomo
Licenciatura en Bioquímica

Orientadora: Dra. PhD. Laura García

Laboratorio de Biología Molecular
Centro Hospitalario Pereira Rossell

INDICE

	pg.
RESUMEN	1
1. INTRODUCCION	2
1.1 Importancia	2
1.2 Estructura del Virus del Papiloma Humano (HPV)	2
1.3 Ciclo vital del HPV	4
1.4 Factores de riesgo	5
1.5 Taxonomía y clasificación	6
1.6 Patogenia	6
1.7 Vacunas	7
1.8 Detección de la infección por HPV	8
1.8.1 Detección de lesiones virales	8
1.8.2 Detección de proteínas o ácidos nucleicos virales	9
2. OBJETIVOS	11
2.1 Objetivo propuesto	11
2.2 Objetivos formativos para la estudiante	11
3. MATERIALES Y METODOS	11
3.1 Colección de muestras	11
3.2 Extracción de ADN	12
3.3 Ensayo de microarrays para tipificación de HPV	12
3.4 Amplificación genérica de HPV por PCR	16
3.5 Genotipificación y filogenia	16
4. RESULTADOS	17
5. DISCUSION	22
6. CONCLUSIONES	23
7. REFERENCIAS	24

RESUMEN

El Virus del Papiloma Humano (HPV) es el agente causal del cáncer endocervical en mujeres sexualmente activas. El objetivo de este trabajo consistió en la detección de genotipos de alto y bajo riesgo del HPV circulantes en la comunidad.

Para ésto se procesaron 522 muestras endocervicales de mujeres sin sintomatología, no embarazadas, no histerectomizadas, a las cuales se les realizó la extracción de ácidos nucleicos, amplificación simultánea (multiplex) por PCR para 24 genotipos de HPV, seguido de un microarray para la determinación del/los genotipo/s.

El 14% de las muestras resultaron positivas para HPV, de las cuales el 20% correspondieron al genotipo 16, seguido por los genotipos de alto riesgo 51, 53 y 56 pertenecientes a las especies 5 (para el primero) y 6 (para los dos últimos). Estas especies se encuentran filogenéticamente distantes de la especie 9 (genotipos 16, 31, 33, 35) y la especie 7 (18, 39, 45, 59, 70). Dentro de los genotipos de bajo riesgo los más frecuentes resultaron el 42, 44 y 45. La mayoría de las pacientes (80%) presenta un solo genotipo pero las restantes mostraron de 2 a 4 genotipos de HPV concomitantes.

La amplificación genérica de secuencias de HPV por PCR en las muestras negativas mostró que una de ellas presentaba HPV genotipo 81, no incluido en el ensayo anterior. Esta cepa pertenece a la especie 3 (genotipos 61, 72, 83, 89), raramente relacionadas al cáncer de cuello uterino.

Existe una diferencia significativa en la proporción de las cepas que circulan en la comunidad y las que se encuentran en los cánceres de cuello uterino, dando cuenta de la mejor adaptación de las cepas 16, 18, 45 y 33 para lograr la persistencia de la infección.

Se cumplieron con todos los objetivos planteados en esta pasantía.

1. INTRODUCCION

1.1 Importancia

El Cáncer de Cuello uterino (CCU) es la tercera neoplasia más frecuente para las mujeres uruguayas (1). La tendencia de mortalidad ajustada por la edad muestra una leve tendencia ascendente en el período 1988 a 2006 (2). El Virus del Papiloma Humano (HPV) es la causa del CCU en casi el 100% de los casos. 340 mujeres uruguayas son diagnosticadas con CCU cada año y 133 mueren por esta causa prevenible. El científico alemán Harald Zur Hausen recibió el Premio Nobel de Medicina del año 2008 por probar esta asociación lesional, siendo el primer cáncer causado prácticamente en un 100% de los casos por un virus. La infección por el HPV es altamente prevalente, de modo tal que un 70% de las personas sexualmente activas sufrirán una o varias infecciones por este agente (3). La infección genital por el HPV es la enfermedad de transmisión sexual más frecuente y la ausencia de sintomatología en muchos casos favorece su dispersión en la comunidad. En los menores de 30 años la infección asintomática por HPV es la regla y no la excepción por lo que no se estudia en este rango etario.

El comportamiento sexual es el factor de predicción más constante en la adquisición de la infección y el número de parejas sexuales se relaciona proporcionalmente con el riesgo de tener una infección por el HPV (4). Aproximadamente el 70% de las mujeres con infecciones por el HPV resuelven la infección en un año y hasta el 91% de ellas la resuelven a los dos años (5-6). Las infecciones por el HPV 16 tienden a persistir más tiempo que las infecciones por otros tipos de HPV, pero en su mayoría son indetectables a los 2 años (7). El desarrollo gradual de una respuesta inmunitaria eficaz es el mecanismo más probable para el aclaramiento del ADN del HPV (8).

El HPV no es un virus nuevo. La asociación de verrugas humanas con agentes virales (HPV) fue descrita por primera vez en 1907, y el primer papiloma virus fue aislado en conejos e identificado por Richard Shoppe en 1983 (9).

1.2 Estructura del Virus del Papiloma Humano (HPV).

El HPV (Figura 1) pertenece a la Familia *Papillomaviridae*, no presenta envuelta y su genoma es una hebra doble de ADN circular de 8 kb. Los HPV replican y ensamblan su ADN a nivel nuclear. Infectan la lámina basal de los queratinocitos de un epitelio estratificado escamoso. La expresión y replicación génica del virus se encuentra regulada por la diferenciación del queratinocito.

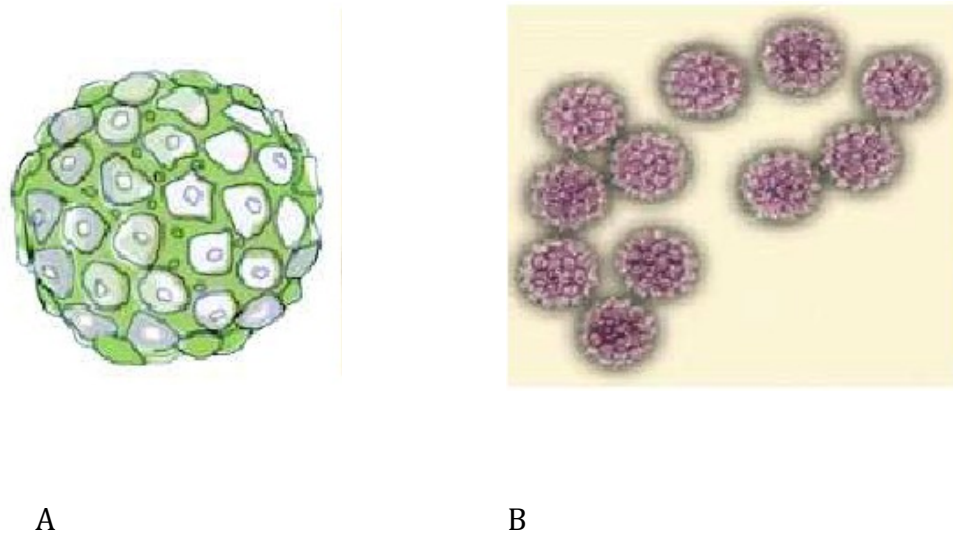


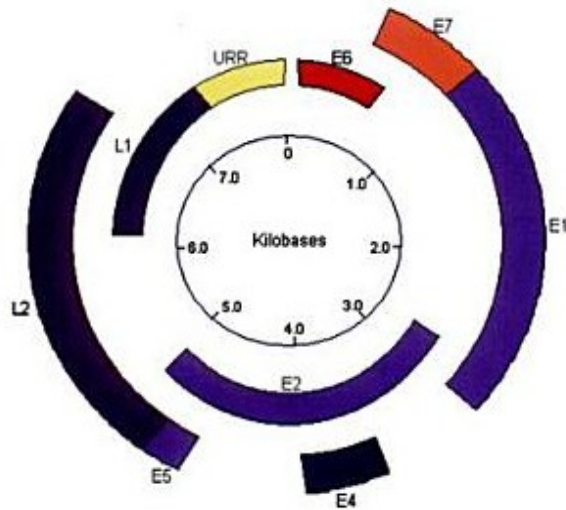
Figura 1. A) Representación del HPV. B) Micrografía electrónica del HPV.

Aunque éste mecanismo aún no se conoce detalladamente, existe un común acuerdo que la expresión génica conduce a la expresión de seis proteínas reguladoras no estructurales desde una región temprana del genoma viral. A su vez, desde una región tardía del genoma se expresan dos proteínas estructurales de la cápside del virus.

Para la replicación correcta y eficaz (especialmente para la síntesis de proteínas y ensamblaje del virión) el HPV requiere células epiteliales escamosas bien diferenciadas (un epitelio escamoso poliestratificado maduro), con algunas excepciones. El genoma está presente en las células de la capa basal. Los distintos tipos virales tienen tropismo específico de especie y tipo celular. No pueden ser cultivados *in vitro* bajo condiciones estándar, y necesitan complejos requerimientos (10).

Los genes que codifican proteínas se localizan en una de las dos cadenas, sólo en una hay transcripción. El genoma viral puede dividirse en tres zonas: a) Región *early*, con varios genes (E) es codificada en la etapa temprana de la infección, representa el 45 % del genoma y corresponde a los genes E1, E2, E4, E5, E6 y E7. Estos genes codifican para proteínas no estructurales cuya función es controlar la replicación del ADN e inducir la transformación maligna de la célula huésped, este segmento produce proteínas que intervienen en la maduración de las

Tabla 1. Regiones codificantes del genoma de HPV.



Funciones principales de los genes	
E1	Modulador de la replicación del ADN
E2	Regulación de la transcripción viral
E3	Desconocida
E4	Disrupción de la citoqueratina en las células escamosas
E5	Ligada a la transformación celular y los receptores de factores de crecimiento
E6	Proliferación y transformación celular, ligada a p53
E7	Proliferación y transformación celular, activación de la transcripción, ligada al gen Rb
L1	Mantenimiento de las proteínas de la cápside mayor
L2	Mantenimiento de las proteínas de la cápside menor

Figura 2. Genoma del HPV.

partículas virales y se cree que inicia los cambios coilocíticos en las células epiteliales. b) Región *late*: corresponde a genes L (L1 y L2), que codifican las proteínas de la cápside viral en etapas tardías del ciclo de replicación del virus y corresponde al 40 % del genoma. La región L1 se utiliza para la tipificación viral. c) LCR (*long control region o URR*), no contiene genes, pero si importantes elementos de regulación transcripcionales y replicacionales y donde se localizan los promotores que inician la replicación, corresponde al 15 % del genoma viral (Figura 2, Tabla 1) (10,11,12).

1.3 Ciclo vital del HPV

El ciclo vital del HPV está estrechamente ligado al crecimiento y diferenciación de las células epiteliales hospederas. La iniciación de su ciclo productivo se da en las células poco diferenciadas de las capas basales del epitelio, dando inicio a la transcripción de sus genes.

El HPV alcanza las células de los estratos bajos del epitelio a través de lesiones, micro-heridas y desgastes del tejido (13). El virus se une a su célula blanco a través de un receptor de membrana, la molécula $\alpha 6$ -Integrina. Una vez ocurrida la infección el virus se establece dentro del núcleo de las células basales. El DNA viral permanece en estado episomal (circular) fuera de los cromosomas del hospedero, replicándose a niveles muy bajos en coordinación con la división celular.

Cuando las células infectadas se diferencian y migran desde la capa basal hacia el estrato espinoso del epitelio, la replicación viral se estimula, produciendo la acumulación de viriones dentro del núcleo. El análisis de las moléculas de ARN mensajero viral durante las diferentes etapas de diferenciación de las células infectadas demuestra que la expresión de los genes tempranos ocurre a lo largo de todos los estratos epiteliales, sin embargo la expresión de los genes tardíos se observa únicamente en los queratinocitos totalmente diferenciados de los estratos más superficiales, donde también ocurre el ensamblado de las cápsidas virales que dan lugar a la formación de viriones (14).

Su genoma se mantiene dentro del núcleo de las células infectadas, ya que no cuenta con la actividad ADN polimerasa encargada de la replicación del genoma viral, por lo que requiere de la maquinaria de replicación del hospedero para la perpetuación de la infección. Esto permite que el ciclo de vida viral sea controlado por diferenciación celular del hospedero (15). La etapa tardía del ciclo ocurre en las capas superiores del epitelio donde los viriones son liberados desde la capa cornificada, cerrándose de esta manera el ciclo en cuestión (15).

El sistema inmune combate la infección pero en algunas pacientes la infección será persistente causando primero lesiones precancerosas y luego cáncer (16-17). De las 200.000 mujeres que se estima que estén infectadas en nuestro país en este momento, unas 45.000 desarrollarán lesiones de bajo grado (20%) y unas 6800 tendrá lesiones de alto grado (3%).

Por otro lado se desconoce si las infecciones persistentes por el HPV se caracterizan por una detección continua del virus, o por un estado de latencia viral durante el cual el virus no se detecta, para luego reaparecer más tarde (18). No existe aún evidencia de competencia entre los tipos de HPV, pero frecuentemente muestran un riesgo aumentado de adquisición de nuevos tipos de HPV las pacientes ya infectadas, comparadas con aquellas que habían sido HPV-negativas (19).

Se ha planteado que hay especificidad de los tipos virales por las diferentes partes del cuello uterino, lo que podría contribuir a las diferencias en el potencial carcinogénico, así como también hay diferente distribución de los tipos virales en diferentes regiones del mundo (20).

1.4 Factores de riesgo

Los factores de riesgo principales para la adquisición de la infección por HPV están vinculados al comportamiento sexual. A partir de la infección, existen otros condicionantes que posibilitarán el desarrollo del cáncer de cérvix como la actividad sexual temprana, el embarazo adolescente, el

tabaquismo, el uso de anticonceptivos orales, el tener múltiples parejas sexuales, la inmunosupresión, las terapias de reemplazo hormonal y otros varios factores desconocidos (11).

1.5 Taxonomía y clasificación

Los Papillomavirus están formados por un genoma DNA doble hebra que evoluciona muy lentamente. Si analizamos el árbol filogenético de todos los genomas conocidos de Papillomavirus (humanos y animales), nos recuerda la evolución de sus hospederos. El HPV pertenece al género Alpha-papillomavirus de la familia *Papillomaviridae*. Los géneros de esta familia se diferencian en el 40-50% de su secuencia nucleotídica. El género Alpha-papillomavirus está formado por 15 especies, que provocan infecciones genitales (Figura 7). Las especies presentan una diversidad en su secuencia nucleotídica del 30-40%. Las especies 7 y 9 reúnen los tipos de HPV que con mayor frecuencia se asocian a los cánceres de cuello uterino. Cada tipo de HPV se diferencia al menos un 10% de los otros HPV. La especie 9 está formada por los tipos 16, 31, 33, 35, 52, 58 y 67 y la especie 7 está formada por los tipos 18, 39, 45, 59, 68 y 70. (21). Dado que no se ha detectado recombinación en estos virus, no es necesaria la secuencia completa de su genoma para establecer el genotipo (21) sino que una secuencia parcial del mismo (gen L1, E2, etc.) pueden brindar la misma información.

En base a su asociación con cáncer de cuello uterino, los tipos de HPV pueden clasificarse en: de alto riesgo (como HPV 16, 18, 31, 33, 35, 45, 56) y de bajo riesgo (como HPV 6, 11). Los de bajo riesgo se asocian fundamentalmente a la presencia de condilomas acuminados y verrugas. Cepas oncogénicas del HPV se han detectado en el 95% de los cánceres de cuello uterino por lo que la detección de una infección endocervical por estas cepas implica un riesgo mayor de padecer un CCU en los años siguientes. Sin embargo, la infección viral precede en años al CCU lo cual brinda una ventaja significativa para la prevención de este cáncer. Los genotipos 16 y 18 son los más agresivos pero también existen otros genotipos como el 31 y 33 que se han relacionado fuertemente con el CCU en nuestro país (4, 40) y los genotipos 35, 39, 45, 52, 56, 58, 59 y 68 que han sido relacionados con CCU por autores de otros países.

1.6 Patogenia

La persistencia de la infección provoca la aparición de lesiones de cuello precancerosas que pueden progresar a cáncer. Los determinantes conocidos de la progresión neoplásica son el tipo

viral, la persistencia de la infección en exámenes repetidos y probablemente la carga viral por unidad celular. Además, si bien la infección persistente por los HPV de alto riesgo oncogénico es el primer requisito para la carcinógenesis cervical, otros factores pueden modular o ser responsables de la persistencia y de la progresión neoplásica.

En las lesiones invasoras, el ADN viral está frecuentemente integrado en los cromosomas de células neoplásicas, a diferencia de las lesiones intraepiteliales de bajo grado (cambios por HPV y displasia leve), en las que se encuentra a menudo en forma de episoma extracromosómico. Excepcionalmente, puede ocurrir en la vecindad de oncogenes conocidos, lo que puede derivar en una rápida activación del proceso oncogénico.

El lugar por donde se rompe la estructura circular del genoma vírico para que éste pueda insertarse en el cromosoma huésped es constante. Se ha observado que la disrupción tiene lugar a nivel de E1 y E2, lo que alterará su expresión y función. E2 codifica en HPV 16 y 18 una proteína que actúa a nivel del promotor localizado en LCR, regulando en sentido represor la actividad transcriptora de E6 y E7, genes que a su vez codifican proteínas (pE6, pE7) que tienen que ver con la proliferación continuada de las células en el cáncer de cuello de útero y lesiones displásicas. Se sabe que es necesaria la expresión continuada de E6/E7 (principalmente en HPV 16 y 18) para la inmortalización-proliferación celular. La disrupción a nivel de E1/E2 implica que dejará de producirse la regulación negativa sobre E6/E7, lo que conduce a la sobreexpresión continua de E6/E7, favoreciendo primero la proliferación y después, la transformación neoplásica (12, 14).

E4 se expresa en una infección y se asocia con el colapso de los filamentos de citoqueratina. E5, E6 y E7 son oncogenes virales y su expresión induce la inmortalización y transformación de la célula. Particularmente E6 y E7 interactúan sobre distintas proteínas celulares reguladoras: de las que p53 y pRB (producto del gen supresor del tumor retinoblastoma) son las más conocidas y estudiadas. Algunas oncoproteínas virales de otros virus oncogénicos conocidos interactúan de manera similar sobre éstas mismas proteínas. Las proteínas E1 y E2 actúan a éste nivel, impidiendo su activación. La función de E1 es menos conocida, pero parece ser similar a E2. E6/E7 permanecen con frecuencia sin sobreexpresarse en HPV de bajo riesgo, en los que a menudo el cromosoma se encuentra en forma circular, no insertado en el genoma huésped. Además las proteínas transformadoras pE6/pE7 codificadas por tipos de HPV de bajo riesgo son funcionalmente menos activas que las codificadas por HPV 16 y 18 (12, 22, 23).

1.7 Vacunas

Hasta el momento se han desarrollado dos vacunas profilácticas usando tecnología recombinante. Gardasil, es una vacuna cuadrivalente que actúa sobre dos de los genotipos de HPV

carcinogénicos que son el 16 y el 18 y sobre dos tipos responsables de más de 90% de las verrugas anogenitales (HPV6 y HPV11), y Cervarix, una vacuna bivalente que previene la infección solo sobre HPV16 y 18 (11). A su vez, ambas vacunas parecen tener eficacia parcial contra la infección causada por HPV tipo 31 y 45, los cuales están genéticamente relacionados a los tipo 16 y 18. Ninguna de estas vacunas contiene producto biológico viable o ADN viral, por eso es que no son infecciosas. Estas vacunas están designadas sólo para uso profiláctico, no erradican una infección por HPV preexistente ni tratan enfermedad relacionada (11, 24, 25).

1.8 Detección de la infección por HPV

La detección de la infección por HPV puede hacerse mediante técnicas que buscan revelar lesiones provocadas por el virus o la detección directa de proteínas o ácidos nucleicos virales.

1.8.1 Detección de lesiones virales.

Se puede realizar por la exploración ginecológica observando lesiones o anomalías que pueden ser asociadas a la infección productiva del HPV. Estas se realizan fundamentalmente con el Test de Papanicolaou como prueba de tamizaje poblacional, seguida de la colposcopia con o sin biopsia.

Test de Papanicolaou: es útil para la detección de cambios cancerosos y precancerosos del cuello uterino. Fue desarrollada en la década de los 40 por el Dr. George Papanicolaou. Desde su introducción la probabilidad de que las mujeres mueran por cáncer cervical ha disminuido en un 75 %. A pesar de que es una prueba para la detección de cáncer cervical, se pueden detectar otras patologías. Antes de que se desarrolle el cáncer, existen diferentes estadios de células anormales llamados displasia o neoplasia intraepitelial (CIN). Los cambios CIN llevan varios años para desarrollarse por lo que el Papanicolaou es muy efectivo en su detección (26).

De acuerdo al diagnóstico citológico las muestras pueden ser agrupadas en siete categorías: 1) cuando no posee particularidades, 2) células escamosas atípicas de significado incierto (ASCUS), 3) lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado (LSIL), 4) células escamosas atípicas sugestivas de HSIL (ASCH), 5) lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (HSIL), 6) células glandulares atípicas de significado indeterminado (AGUS) y 7) carcinoma de células escamosas (SCC)(27).

Las lesiones de tipo HSIL son objeto de screening, debido a que más de un tercio de éstas progresará a cáncer invasivo de cérvix dentro de 10-20 años (16).

Colposcopia: Se considera la técnica más sensible para la detección de enfermedad cérvico uterina preinvasiva e invasiva. La infección por el HPV afecta el epitelio metaplásico de la zona de transformación y el epitelio escamoso original del ectocérvix. El epitelio infectado aparece en la imagen colposcópica como áreas blancas brillantes, de superficie irregular y patrón vascular no característico.

Las infecciones producidas por el HPV 6 y 11 (de bajo riesgo) se observan como lesiones blancas, con bordes bien definidos, mientras que los tipos 16, 18, 31, 33 y 45 (de alto riesgo) aparecen como lesiones de color gris – blancas, con bordes difusos y puntuación gruesa, la mayoría de las lesiones muestran características comunes y puede ser difícil distinguirlas por colposcopia (28). Durante la exploración sistemática, se utiliza una cámara especial para tomar una imagen del cuello después de aplicar ácido acético al 3 ó 5 %. Por lo general, se toman dos imágenes a color y a cada una se asigna un número para identificación adecuada. Después del revelado, la imagen se proyecta y un experto colposcopista la lee. Las lesiones clasificadas como atípicas dentro de la zona de transformación son compatibles con neoplasia intraepitelial cérvico uterina demostrada histológicamente en 30 % de los casos (29).

1.8.2 Detección de proteínas o ácidos nucleicos virales

Detección de proteínas

Los antígenos del HPV se encuentran en el núcleo de los coilocitos y disqueratocitos. Estos antígenos pueden ser demostrados en frotis y secciones de tejido por la técnica de inmunoperoxidasa (ELISA), usando un antisuero de reacción cruzada preparado con viriones del HPV obtenidos de verrugas plantares, agregándoles a estos últimos dodecil sulfato de sodio para romperlos. Una reacción positiva resulta en una coloración café-oro oscuro del núcleo de la célula infectada. Aunque una reacción de inmunoperoxidasa positiva indica la presencia del HPV, una negativa no descarta la infección, ya que la producción de antígenos puede ser encontrada en un 50 por ciento de los casos. No todos los coilocitos contienen partículas virales del HPV. Con la técnica de inmunoperoxidasa se incrementa la detección pero ésta no excede el 50 por ciento. Tanto la técnica de inmunoperoxidasa como la microscopía electrónica necesitan viriones completos, incluyendo su cubierta proteica para demostrar la presencia del HPV. Ha sido demostrado que sólo las células escamosas maduras permiten la replicación completa de los viriones. En las células no permisivas el ADN viral se halla en el núcleo, en un filamento circular libre (episoma) o integrado dentro del ADN de la célula huésped y no puede demostrarse ni por inmunoperoxidasa ni por microscopía electrónica (14).

Las proteínas del HPV recombinantes y los péptidos sintéticos derivados de regiones seroactivas de las proteínas individuales se utilizaron como antígenos en ELISA y técnica de Western. Estos análisis se basan en la inmovilización del antígeno (en una membrana o en la superficie de plástico de un recipiente de microtitulación) que después se expone a los anticuerpos. La unión se detecta utilizando un segundo anticuerpo que está marcado de manera específica (una enzima) y

por tanto puede detectarse fácilmente. Se ha comunicado un máximo de 27 seropositividad de anticuerpos secretores IgA contra el HPV, en mujeres con citología normal de 25 a 32 años de edad. Los anticuerpos parecen declinar después de la desaparición de las verrugas y reaparecen y persisten durante más tiempo en mujeres que en varones (14).

Detección de ácidos nucleicos

- a. Southern blot: es la más sensible y específica de estas técnicas, se generan fragmentos de ADN por digestión con enzimas de restricción separándose por electroforésis en gel, siendo transferidos a un filtro inerte. De acuerdo al tamaño del fragmento de ADN se reconoce el HPV específico siguiendo la hibridización con sondas marcadas radioactivamente o con enzimas (28).
- b. Dot blot: el ADN es inmovilizado sobre un soporte inerte, su principal desventaja es que se analiza el total de ADN y no los fragmentos como en la técnica de Southern blot, por lo que no se puede hacer distinción entre la hibridización cruzada de la prueba a otros ácidos nucleicos presentes en la muestra (28).
- c. Hibridización *in situ* en filtro: se puede hacer sobre un soporte inerte, como un filtro de nitrocelulosa, a excepción de las células enteras obtenidas por raspado de cérvix que deben ser inmovilizadas en el filtro en lugar de usar ADN total, en este método la sonda de ADN es acoplada a un radioisótopo y detectada por autoradiografía (28).
- d. Hibridización *in situ* en tejido embebido en parafina: es el método de elección cuando la morfología tisular debe correlacionarse con la presencia del virus, además es el único método aplicable a estudios retrospectivos en tejido embebido en parafina. Es más sensible en lesiones en las que pocas células pueden contener gran cantidad de ADN, que cualquier otro método que promedia la cantidad de ADN encontrado en un tejido. Es útil y aplicable cuando la muestra es pequeña, además puede utilizarse 28 para detectar ARN mensajero. La desventaja que posee es que es menos sensible que el Southern blot (29).

Aquí se mencionan algunos de los métodos más reconocidos para la detección de ácidos nucleicos de HPV.

- e) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): consiste en extraer el ADN viral. Se utilizan los cebadores de HPV MY09 y MY11, los cuales se amplifican por PCR. Posteriormente, los filtros se hibridizan con sondas de ADN – HPV marcados para la detección de genotipos específicos (11, 16, 30).
- f) Captura Híbrida: En esta técnica se utilizan sondas de RNA capaces de detectar varios tipos de HPV. Cuando la muestra presenta infección vírica se produce un híbrido RNA-DNA que es capturado por un anticuerpo específico contra híbridos y detectado mediante una reacción tipo ELISA por quimioluminiscencia y que proporciona incluso información sobre la cantidad de DNA viral presente en la muestra, que parece tener relación con la presencia de lesiones de alto grado. La técnica dispone de dos sondas, una para virus de bajo riesgo y otra para virus de alto riesgo (31).

g) Arrays: es un método muy utilizado actualmente, en el cual se hibrida el producto de PCR sobre la superficie de un chip que se encuentra unido a una lámina de vidrio. Cada chip contiene sitios de unión a sondas específicas. Actualmente el test comercial Pappilock de Greiner Bio-one es catalogado como el método que provee mayor proporción de resultados válidos (31,32)

h) Linear Array: es un método cualitativo que identifica genotipos de HPV en citología líquida, destinado a infecciones persistentes. El test consiste en cuatro fases: preparación de la muestra, amplificación en la PCR, hibridación del producto con sondas específicas y revelado colorimétrico del amplificado (32).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo propuesto

El objetivo de estudio fue realizar la detección de genotipos de HPV en muestras endocervicales de mujeres uruguayas sin sintomatología.

2.2 Objetivos formativos para la estudiante

La estudiante obtuvo experiencia en las técnicas propuestas, determinó la prevalencia de 18 genotipos oncogénicos y 6 de bajo riesgo de HPV que circulan en la comunidad, determinó el porcentaje correspondiente a los genotipos 16, 18, 6 y 11 en la etapa prevacunal, pudo detectar un genotipo circulante fuera de los 24 genotipos detectados en la rutina asistencial y determinó su relación filogenética con cepas circulantes más prevalentes.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Colección de la muestra

Se procesaron 522 muestras del proyecto “Investigación del Virus del Papiloma Humano en el diagnóstico precoz y su aplicación en el Programa Nacional de Prevención de Cáncer de Cuello de Utero” que se desarrolla en el Laboratorio de Biología Molecular del Centro Hospitalario Pereira Rossell. Las muestras se obtuvieron en 9 policlínicas de la Red de Atención Primaria de ASSE y se enviaron para su análisis con el consentimiento correspondiente. Se realizó una toma endocervical con hisopo y se conservó en medio de transporte viral. Los criterios de inclusión fueron: mujeres mayores de 30 años, no embarazadas, no histerectomizadas sin sintomatología.

3.2 Extracción de ADN

El ADN fue extraído mediante kit comercial (O-Check® DNA Extraction Kit, Greiner Bio-One), amplificado y analizado usando el método de microarrays (PapilloCheck® Greiner Bio-One), siguiendo las instrucciones del fabricante.

A un tubo estéril de 1,5 mL conteniendo 20µL de proteinasa K se le agregan 250µL de muestra y se le mezclan 82,4 µL de RNA Carrier diluído en buffer de lisis. Se vortea brevemente y se incuba al menos 30 minutos a 56°C. Tras sucesivos agregados de agentes lisantes, retención del material de interés sobre membrana y varios lavados para eliminar las impurezas, 100µL de eluído de ADN son recuperados y almacenados a -20°C.

3.3 Ensayo de microarrays para tipificación de HPV (PapilloCheck®)

Papillocheck es un kit de diagnóstico, usado para la detección y genotipificación de un fragmento del gen E1 de HPV. Esto permite determinar 24 tipos de papilomavirus en preparaciones de ADN extraídos de muestras cervicales. HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82, de los cuales 18 son oncogénicos y 6 no oncogénicos. Los pasos involucrados en el procedimiento se muestran en la Figura 3.

Luego de la extracción del DNA genómico humano y viral de un espécimen cervical, un fragmento de 350 pb del gen viral E1 es amplificado por PCR en presencia de un set de primers específicos. Brevemente, se alicuotan 21µL de mix para cada reacción de PCR en un tubo de 200 µL, el cual contiene PCR MasterMix, HotStarTaq® Polimerasa (Qiagen) y Uracilo-N-Glicosilasa (Fermentas). Se adiciona 5 µL de extracto de ADN para cada reacción de PCR. El MasterMix utilizado para la PCR contiene deoxiuridilatos (dUTPs) los cuales son incorporados para la amplificación durante la PCR, dejando a los productos de PCR susceptibles a la degradación por UNG. Esta cliva los productos de PCR en sitios donde ha sido incorporado un residuo de dUTP, entonces los productos de PCR clivados no serán amplificados en una reacción subsecuente por lo que se hace un tratamiento con UNG para eliminar posibles contaminaciones de reacciones previas de PCR.

El programa de ciclos de amplificación involucra uno a 37°C 20 minutos, otro igual a 95°C, luego 40 ciclos a 95, 55 y 72°C, 30, 25 y 45 segundos, respectivamente, finaliza con 15 ciclos a 95 y 72°C durante 30 y 45 segundos y se mantiene a 23°C.

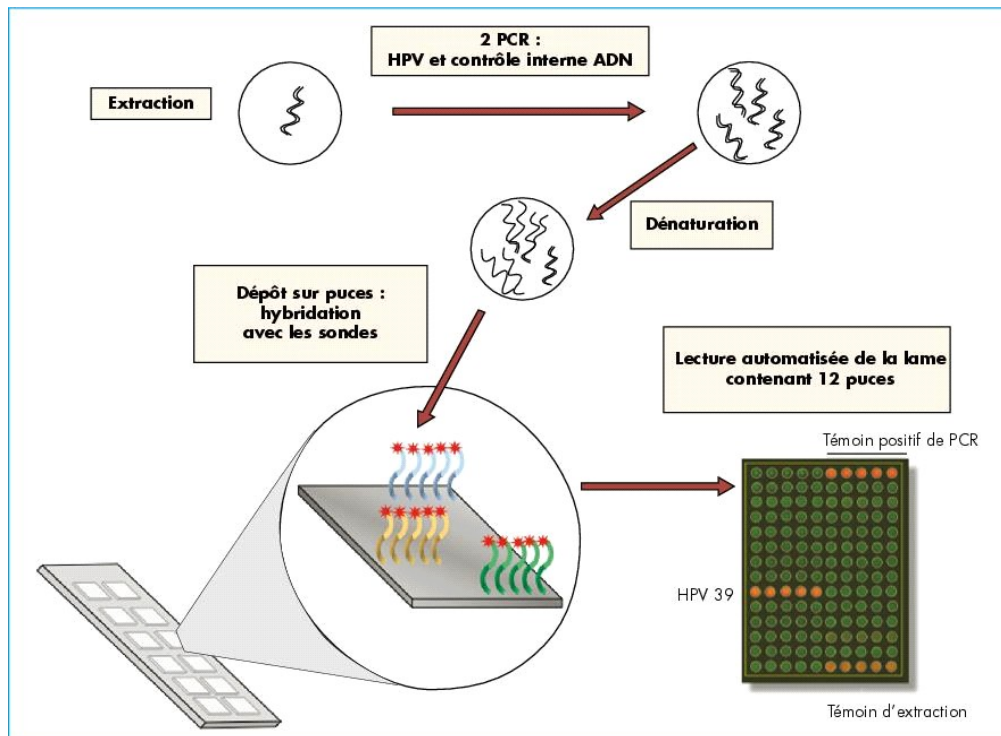


Figura 3. Esquema de los pasos que componen la detección y tipificación por Papillocheck. Se realiza una extracción de los ácidos nucleicos, seguida de una amplificación por PCR de 24 genotipos y controles de la reacción. Luego se desnaturalizan las dobles cadenas de DNA del producto de PCR y se hibridan con sondas específicas de tipo en un array y se realiza la lectura en un lector de arrays.

Los productos de PCR son luego hibridados con sondas específicas de ADN sobre chips. Cada chip contiene 12 microarreglos de DNA, permitiendo el análisis de 12 muestras cervicales en simultaneo. Durante la hibridación, el DNA unido está marcado fluorescentemente y el no unido se remueve en los subsiguientes lavados. La eficiencia de hibridación es monitoreada a través de un control de hibridación.

Finalmente, el chip Papillocheck es automáticamente escaneado, analizado y evaluado usando un CheckScanner y el software CheckReport respectivamente.

El CheckScanner es un scanner con dos colores de laser (longitudes de onda de excitación de 532 nm y 635nm), los cuales permiten la detección de la señal de fluorescencia por la presencia de los productos amplificados específicos de HPV así como también de los controles. El software CheckReport permite la visualización, análisis y evaluación de los resultados y muestra automáticamente los valores correspondientes de los HHPVs detectados y los respectivos controles, brindando un reporte detallado.

El reporte indica claramente la presencia o ausencia de uno o más de los 24 tipos de HPV detectables así como también la presencia de los controles. Para el control de rendimiento del ensayo (muestra y control de PCR), se usa el laser rojo (635nm), mientras que para controlar calidad de hibridación (controles de hibridación, de orientación y de impresión) se usa el laser verde (532 nm) (Figura 4).

Control de muestra.

En caso de que la amplificación de ADAT 1 no ocurra o sea insuficiente, el Software CheckReport™ indicará que el control de muestra falló y que el análisis debe ser repetido.

Control de PCR.

PapilloCheck® también monitorea la calidad de la reacción de PCR. La amplificación de un control interno presente en el PCR MasterMix del PapilloCheck® genera una señal en el sitio de control de PCR en el chip. Si el rendimiento de la PCR es por debajo del necesario el Software CheckReport™ lo indicará y el análisis deberá ser repetido.

Control de Hibridación

PapilloCheck® monitorea la eficiencia de la hibridación a través del uso de una sonda marcada fluorescente en el buffer de hibridación PapilloCheck®, la cual hibrida con una secuencia específica en el chip. Si la eficiencia de hibridación fue adecuada, aparece una señal en el sitio de control de hibridación en el chip, lo cual será indicado por el Software CheckReport™.

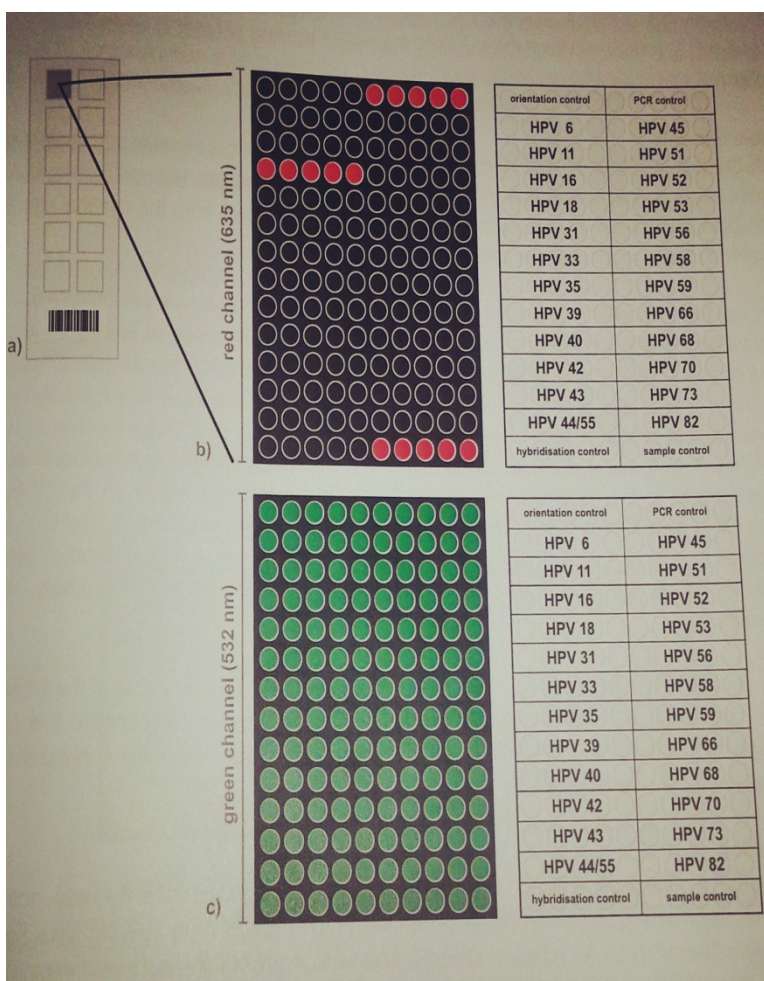


Figura 4: Diseño del chip de PapilloCheck®. a) Figura esquemática del chip de PapilloCheck®. b) y c) imágenes brindadas por el CheckReport™ Software para las dos longitudes de onda de excitación usadas. (b) canal rojo: 635 nm; c) cana verde: 532nm). Los controles están indicados.

Control de Orientación y de Impresión

Las señales de fluorescencia generada en los sitios de éstos controles es independiente de la eficiencia del proceso de hibridación. Estos sitios son usados por el Software CheckReport™ como guía, lo cual es un requisito para el análisis adecuado de las señales. Además, la calidad del proceso de impresión es monitoreado por la presencia de una señal de fluorescencia verde en su sitio correspondiente en el chip.

3.4 Amplificación genérica de HPV por PCR

Todas las muestras de pacientes HPV negativas se sometieron a amplificación por PCR genérica para analizar la posible presencia de genotipos diferentes de HPV de los estudiados. Cada reacción se preparó de la siguiente forma: 34 μ L de agua, 5 μ L de buffer, 3 μ L de MgCl₂ (50mM), 1 μ L de dNTPs (10mM), 0,4 μ L de Taq Polimerasa (5U/ μ l), 1 μ L de de los primers genéricos para Papillomavirus MY09 y MY11 (10pM) (33) y 5 μ L de ADN extraído por oCheck® DNA Extraction Kit, Greiner Bio-One. El programa de amplificación fue: 15 minutos a 95°C, 42 ciclos a 95°C, 50°C y 72°C, 1 minuto, 1 minuto y 2 minutos, respectivamente, seguido de un ciclo a 72°C durante 10 minutos y finaliza manteniendo la temperatura a 23°C.

La presencia del producto de PCR fue confirmado mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% en buffer TAE a 145 Volts durante 35 minutos. El producto de PCR esperado es de 450 pares de bases.

Toda muestra que al ser visualizada mediante luz UV en el documentador de geles (BioRad) revelara la presencia de una única banda, clara y sin interferentes a la altura del control positivo se envió a secuenciar (Macrogen- Corea) con el fin de genotipificar las cepas.

3.5 Genotipificación y filogenia

Se analizaron los dendogramas mediante el programa Chromas. Se descartaron las secuencias con dos lecturas superpuestas. La genotipificación de las secuencias obtenidas se llevó a cabo mediante el estudio filogenético. El análisis filogenético estima la relación de los genes o fragmentos de genes mediante la hipótesis de un ancestro común. Para eso se alinearon las secuencias con las cepas patrón de HPV (Tabla 2) a fin de comparar los sitios homólogos. La alineación de las secuencias se realizó mediante el programa Clustal Omega. La reconstrucción filogenética es reconocida como un problema de inferencia estadística. Debido a que las inferencias estadísticas no pueden estimarse en ausencia de un modelo de probabilidad, el uso de un modelo de sustitución de nucleótidos o aminoácidos (modelo evolutivo), se hace necesario cuando se usan secuencias nucleotídicas o aminoacídicas para estimar las relaciones filogenéticas entre los genomas virales. Los modelos evolutivos están formados por un conjunto de asunciones acerca del proceso en el que se producen los cambios nucleotídicos o aminoacídicos en un genoma. Estos modelos determinan la probabilidad de que un nucleótido o un aminoácido cambie por otro, incluso teniendo en cuenta los cambios que podrían haber pasado desapercibidos.

Estas asunciones pueden ser implícitas como en los métodos de parsimonia o explícitas como en los métodos de distancia o Máxima Probabilidad (Maximum Likelihood). La ventaja de un modelo explícito es que los parámetros pueden ser estimados. A su vez, los métodos de distancia pueden estimar sólo un parámetro: el número de sustituciones por sitio, mientras que el método de Máxima Probabilidad (Maximum Likelihood) puede estimar todos los parámetros revelantes de un modelo de sustitución (37). Los árboles filogenéticos se contruyeron mediante el programa Mega5, utilizando el algoritmo de Máxima Probabilidad y el modelo de Kimura 2-parámetros. Las cepas de referencia se listan en la tabla 2.

Para estimar el error estadístico de los árboles filogenéticos se realizó el análisis de “bootstrap”. El análisis de bootstrap es una técnica efectiva para testear la estabilidad de los grupos ordenados en ramas dentro del árbol filogenético. El análisis realiza nuevos alineamientos a partir de las secuencias originales, tomando cada columna del alineamiento al azar. Se confecciona un árbol por cada réplica del análisis y se computa para cada rama del árbol la proporción de veces que estuvo representado en el total del análisis (37). Un nivel de confianza considerable se obtiene cuando el valor de bootstrap es superior a 70, mientras que las ramas con valores de bootstrap menores a 70 deberán analizarse con precaución (36).

4 RESULTADOS

4.1 Ensayo de microarrays para tipificación de HPV (PapilloCheck®)

Se procesaron un total de 522 muestras endocervicales de mujeres asintomáticas, no embarazadas, no histerectomizadas, mayores de 30 años. El promedio de edad fue de 44.5 años con una desviación standard de 8.7 años. Del total de muestras procesadas por PapilloCheck® se obtuvieron 450 (86%) HPV negativo, 72 (14%) HPV positivo (Figura 5). Los genotipos encontrados se listan en la tabla 3. El genotipo 16 fue el mas prevalente (21%), seguido de los genotipos 56 (13.9%), 53 (9.7%), 51 (8.3%), 33 (8.3%), 31 (5.5%) y 59 (5.5%).

El 83% de las pacientes presentaron un genotipo, mientras que el 13% mostraron dos genotipos concomitantes, seguido del 3% con tres genotipos y el 1% con 4 genotipos de HPV detectados en la misma muestra.

4.2 PCR genérica

Para todas las muestras con resultado negativo (n= 450) por PapilloCheck®, se realizó PCR genérica (Figura 6). 4 muestras, pertenecientes a las pacientes 701, 711, 712 y 713, presentaron una única banda del tamaño esperado y se enviaron a secuenciar. El análisis de las secuencias mostró que tres de ellas presentaban mas de una secuencia de HPV, por lo que la genotipificación no podrá realizarse por filogenia.

Se analizó la secuencia de la muestra 712. Se alineó con las cepas patrón de los genotipos de HPV (Tabla 2) y se realizó un árbol filogenético que se muestra en la figura 7. La cepa 712 es la última del árbol. Las diferentes especies en que se clasifica el género Alpha-papillomavirus están indicadas con llaves. Se observa que la cepa 712 pertenece a la especie 3, genotipo 81. Este genotipo no es detectado por el ensayo de Papillocheck. Esta especie de HPV tiene una baja asociación con cáncer de cuello uterino y se encuentra distante filogenéticamente a las especies 7 y 9 a las cuales pertenecen las cepas mas oncogénicas (18 y 16, respectivamente). La paciente 712 no presentaba alteraciones en su Test de Papanicolaou.

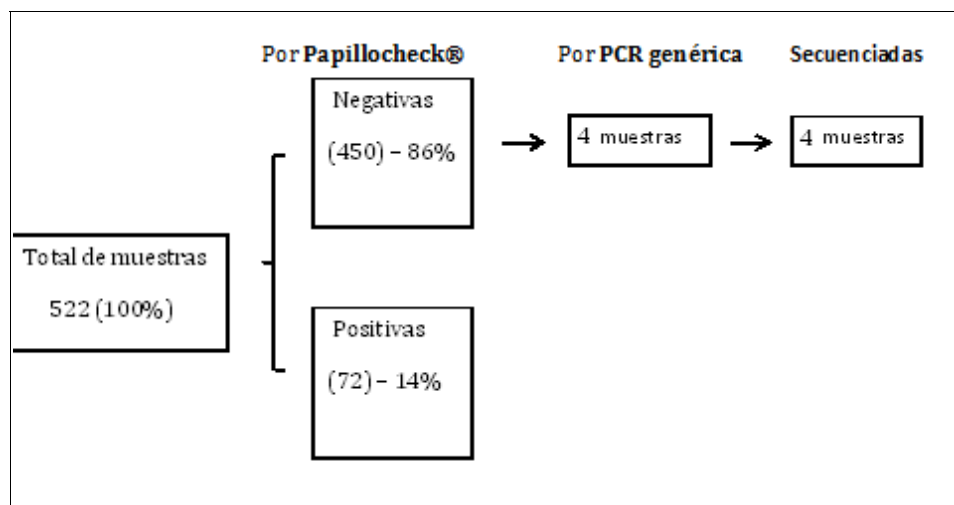


Figura 5. Se detalla el algoritmo de trabajo y los resultados obtenidos.

Tabla 2. Proporciones de genotipos obtenidos por PapilloCheck®. Se detallan los genotipos oncogénicos (fondo amarillo) y los genotipos no oncogénicos (fondo naranja).

Genotipo	Proporción (%)
16	21
18	0
31	5,5
33	8,3
35	1,4
39	4,2
45	1,4
51	8,3
52	4,2
53	9,7
56	13,9
58	0
59	5,5
66	4,2
68	1,4
70	2,8
73	1,4
82	0
6	1,4
11	2,8
40	2,8
42	9,7
43	0
44/45	8,3

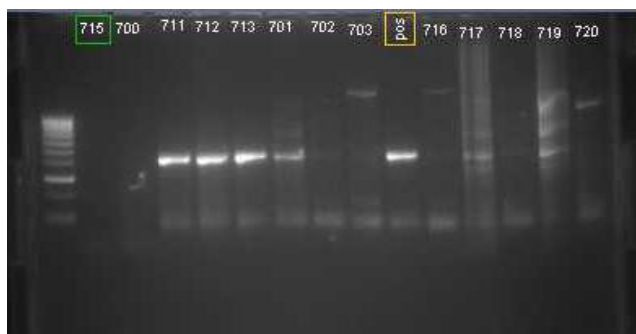


Figura 6. Muestras que presentaron una única banda y se secuenciaron (711, 712, 713 y 701). Los números indican la identificación de la muestra. A la izquierda: marcador de peso molecular de 100 pares de bases.

Tabla 3. Cepas de referencia utilizadas en el análisis filogenético

Genotipo	N° Genbank	Genotipo	N° Genbank	Genotipo	N° Genbank
2	NC_001352	42	M73236	73	X94165
3	X74462	43	AJ620205	74	AF436130
6	X00203	44	U31788	81	AJ620209
7	NC_001595	45	X74479	82	AB027021
10	NC_001576	51	M62877	83	AF151983
11	M14119	52	X74481	84	AF293960
13	X62843	53	NC_001593	85	AF131950
16	K02718	54	NC_001676	87	AJ400628
18	X05015	56	X74483	89	AF436128
26	NC_001583	57	X55965	90	NC_004104
27	X74473	58	D90400	91	AF419318
28	U31783	59	X77858	94	AJ620211
29	U31784	61	NC_001694	97	EF202168
30	X74479	62	AY395706	102	DQ080083
31	J04353	66	U31794	106	DQ080082
32	NC_001586	67	D21208	117	CQ246950
33	PPH33CG	68	DQ080079	125	FN547152
34	NC_001587	69	AB027020	PTPV1	NC_001355
35	X74477	70	U21941	PPPV1	X62844
39	PPH539	71	NC_004104		
40	X74478	72	X94764		

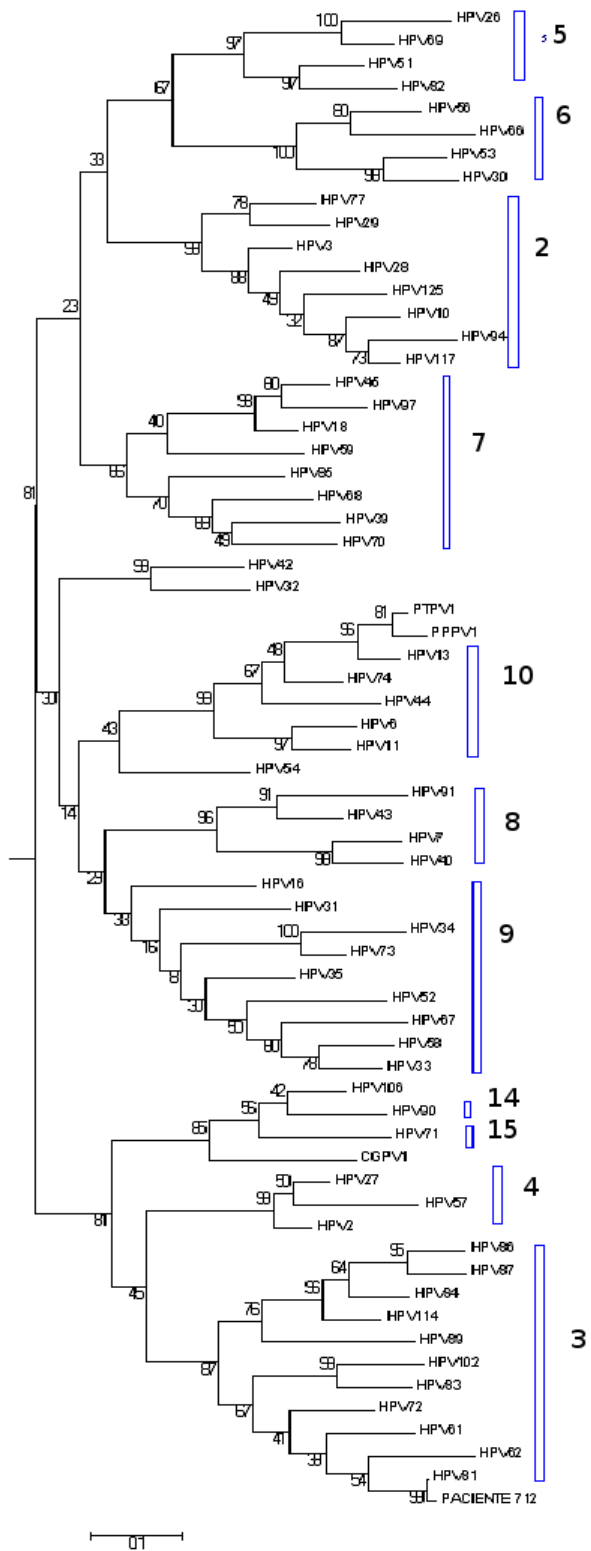


Figura 7: Arbol filogenético, en el cual se observa la relación de la muestra de HPV 712 con el genotipo 81.

5. DISCUSION

La prevalencia de las cepas oncogénicas en mujeres mayores de 30 años (14%) es la esperada y concuerda con los datos que el Laboratorio de Biología Molecular del Centro Hospitalario Pereira Rossel ha obtenido en los últimos tres años (datos sin publicar). La prevalencia de estas pacientes asintomáticas es menor que la observada en las pacientes con sintomatología (14% vs 20%).

La mayoría de las pacientes que presentaron cepas oncogénicas de HPV resolverán la infección mediante sus sistema inmune en un plazo de 2 años. La persistencia de la infección determinará en las restantes, lesiones cervicales de bajo grado (L-SIL) que regresan espontáneamente en un alto porcentaje. El 14% progresarán a lesiones de alto grado y cáncer en el 0.7%. En las pacientes inmunocompetentes este proceso se completa en unos diez años, mientras que en pacientes inmunosuprimidas se acelera significativamente, llevando meses a pocos años. La mayor prevalencia (42%) encontrada por otros autores en mujeres uruguayas asintomáticas (38) se debe a que la edad de las pacientes era menor (desde 17años). La prevalencia de las menores de 30 años puede llegar al 60% para la presencia de cepas oncogénicas de HPV como hemos podido observar en nuestra población hospitalaria, por lo cual, siguiendo las indicaciones internacionalmente aceptadas, no realizamos la búsqueda de HPV en este rango etario.

Se obtuvo que los genotipos oncogénicos HPV 16, 56, 53, 33 y 51 son los mas prevalentes (en orden descendente respectivamente), así como el caso de los genotipos no oncogénicos HPV 42, 44 y 45. Los genotipos oncogénicos encontrados se repiten en otros estudios (38) de poblaciones similares y en otras poblaciones (pacientes sintomáticas, pacientes con lesiones actuales o tratadas de cuello uterino, datos no publicados), por lo que podemos concluir que esta es la distribución de los genotipos en nuestra población. El genotipo 16 es el mas prevalente en todos los grupos. El genotipo 18 es poco prevalente en pacientes sin cáncer de cuello.

Casi un 20% de las pacientes tiene dos o mas genotipos de HPV concomitantes. Este porcentaje concuerda con otros trabajos realizados (38) y con nuestro propio análisis de muestras. La aparición de dos o mas secuencias de HPV en la secuenciación de los productos de PCR genéricos es de esperar para este tipo de muestras. Para estos casos es posible realizar corte con enzimas de restricción para obtener un patrón diferencial de bandas, clonar las cepas, amplificar con primers específicos o realizar hibridación con sondas específicas, pero esto excede los objetivos de esta Tesis de Grado.

La cepa de genotipo 81 hallada en un paciente no reviste gravedad dado que este genotipo no se asocia frecuentemente a cáncer de cuello uterino, al igual que los otros miembros de la especie 3 de HPV. Publicaciones nacionales acerca de los genotipos de HPV que se detectan en las lesiones cancerosas de cuello uterino señalan la presencia del genotipo 16 (67.6%), 18 (8.5%), 45 (6.8%) y 33 (3.4%) (39). La diferencia que encontramos en cuanto a las proporciones de los genotipos circulando en la comunidad es significativa. La suma de los genotipos 16, 18, 45 y 33 en los cánceres asciende al 86,3%, mientras que la sumatoria de los mismos genotipos circulando en la comunidad es del 30,7%. Esto indicaría que estos genotipos poseen una ventaja en lograr la persistencia de la infección, dando lugar inicialmente a lesiones precancerosas y luego, cáncer de cuello uterino.

Una de las mayores problemáticas en la detección de infecciones por HPV son los falsos negativos dado que podrían indicar erróneamente diferir los controles de las pacientes. Esto ha llevado a que los fabricantes de reactivos para detección de HPV coloquen en sus insertos la advertencia de que no se recomienda usar solos sino con la citología. El kit de Papillocheck es confiable en sus resultados negativos dado que sólo se identificaron 4 cepas discordantes, que corresponde al 0.88%. Ninguna de estas pacientes mostró alteraciones en el Test de Papanicolaou.

6. CONCLUSIONES

- El genotipo de HPV 16 es el más prevalente en la comunidad, así como también en pacientes asintomáticas, sintomáticas y con lesiones actuales o tratadas de cuello uterino, seguido de los genotipos 56 (13.9%), 53 (9.7%), 51 (8.3%), 33 (8.3%), 31 (5.5%) y 59 (5.5%).
- Existe una diferencia significativa en la proporción de las cepas que circulan en la comunidad y las que se encuentran en los cánceres de cuello uterino, dando cuenta de la mejor adaptación de las cepas 16, 18, 45 y 33 para lograr la persistencia de la infección.
- La mayoría de las pacientes (80%) presenta un solo genotipo pero las restantes mostraron de 2 a 4 genotipos de HPV concomitantes.
- Se halló una paciente que presentaba un genotipo no incluido en el Papillocheck (genotipo 81), perteneciente a la especie 3, de baja asociación con cáncer de cuello uterino.

7. REFERENCIAS

1. Barrios E, Vasallo JA, Alonso A, Garau M, Musetti C. III Atlas de incidencia de cáncer en el Uruguay 2002-2006. Registro Nacional de Cancer. Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cancer. Montevideo. 2010.
2. Vasallo JA, Barrios E. II Atlas de mortalidad por cáncer en el Uruguay. Comparación de dos quinquenios 1994-1998 y 1999-2003. Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer. Montevideo. 2005.
3. Koutsky LA. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med.* 1997; 102(5A):3-8.
4. Winer RL, Lee SK, Hughes JP, et al. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol* 2003;157(3):218-226.
5. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, et al. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. *N Engl J Med.* 1998;338(7):423-428.
6. Moscicki AB, Hills N, Shiboski S, et al. Risks for incident human papillomavirus infection and lowgrade squamous intraepithelial lesion development in young females. *JAMA.* 2001;285(23):2995-3002.
7. Saxena U, Sauvaget C, Sankaranarayanan R. Evidence-based Screening, early diagnosis and treatment strategy of cervical cancer for national policy in low-resource countries: example of India. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol 13, 2012.
8. National Institutes of Health (NIH). Consensus Statement: Cervical Cancer. 1996; 14:1-38.
9. Faridi R, Zahra A, Khan K, Idrees M. Oncogenic potential of Human Papillomavirus (HPV) and its relation with cervical cancer. Review article. *Virology J.* 8:269. 2011.
10. Zheng Z, Baker C. Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. *Front Biosci.* 2006. 1; 11: 2286-2302.
11. Hopman AH, Kamps MA, Smedts F, Speel EJ, Herrington CS, Ramaekers FC. HPV in situ hybridization: impact of different protocols on the detection of integrated HPV. *Int J Cancer* 2005 Jun 20; 115(3): 419-28.

12. Alonso, Lazcano, Hernandez. Cancer cervicouterino. Diagnóstico, prevención y control. 2Da Edición. Editorial Panamericana. 2005. Pág: 57-64
13. Syrjanen S, Shabalova I, Petrovichev N, Podistov J, Ivanchenko O, Zakharenko S, Nerovjna R, et al. Age-specific incidence and clearance of high-risk human papillomavirus infections in women in the former Soviet Union. *Int J STD AIDS*. 2005 Mar;16(3):217-23.
14. Premoli G, González A, Villarreal J, Percoco T, Pietrocino P, Aguilera L. Virus del papiloma humano; visión actual en biomedicina. *ADM*. 2005. Vol XII N° 6. Pag 213 – 224.
15. Kajitani N, Satsuka A, Kawate A, Sakai H. Productive lifecycle of human papillomaviruses that depends upon squamous epithelial differentiation. *Review Article*. 2012; 3:152.
16. Winer RL, Kiviat NB, Hughes JP, Adam DE, Lee SK, Kuypers JM, Koutsky LA. Development and duration of human papillomavirus lesions, after initial infection. *J Infect Dis*. 2005 Mar 1; 191(5):731-8.
17. Ntova CK, Kottaridi C, Chranioti A, Sphathis A, Hassano D, Paraskevaidis P, Karakistos P. Genetic variability and phylogeny of high risk HPV type 16, 18, 31, 33 and 45 L1 in Greek women. *Int J Mol Sci*. 2012; 13:1-17.
18. Denis F, Hanz S, Alain S. Clearance, persistence and recurrence of HPV infection. *Gynecol Obstet Fertil*. 2008 Apr; 36(4):430-40.
19. Castle PE, Jeronimo J, Schiffman M, Herrero Ro, Rodríguez AC, Bratti MC, et al. Age-Related Changes of the Cervix Influence human papillomavirus type distribution. *Cancer Res* 2006; 66(2): 1218-24.
20. Urasa M, Darj E. Knowledge of cervical cancer and screening practices of nurses at a regional hospital in Tanzania. *Afr. Health Science* 2011 March; 11(1): 48-57.
21. Bernard HU. Phylogeny and Typing of Papillomaviruses. *The Papillomaviruses*. Garcea & Dimaio Eds. Springer. 2007.
22. Muller M, Jacob Y, Jones L, Weiss A, Brino L, Chantier T, Lotteau V, Favre M, Demeret C. Large Scale Genotype Comparison of Human Papillomavirus E2-Host Interaction Networks Provides New Insights for E2 Molecular Functions. *PLoS Pathogens*, June 2012.
23. Surabhi K, Ragini M. Complementary procedures in cervical cancer screening in Low Resource Settings. *J Obst Gyn India*. 2011; 61(4):436–438.

24. Burchell AN, Winer RL, De Sanjosé S, Franco E. Epidemiology and transmission) dynamics of genital HPV infection. *Vaccine*. 2006; 24 (Suppl) 3:52-61.
25. Campo S. Papillomavirus research. From natural history to vaccines and beyond. Ed Caister. 2006. Pag 200-235.
26. Ulrich P, Rinnau F, Böhmer G, Hollwitz B, Luyten A , Buttmann N, Brünger M, Iftner T. Annual Papanicolaou screening for 5 years among human papillomavirus-negative women. *BMC Cancer* 2013,13:379
27. Ciszek B, Heimrath J, Ciszek M. The application of human papillomavirus genotyping for the identification of neoplasm lesions in the cervix of women with abnormal cytology smears. *Adv Clin Exp Med*. 2012 Nov-Dec;21(6):759-66.
28. Syrjanen S, Shabalova I, Petrovichev N, Podistov J, Ivanchenko O, Zakharenko S, Nerovjna R, et al. Age-specific incidence and clearance of high-risk human papillomavirus infections in women in the former Soviet Union. *Int J STD AIDS*. 2005 Mar;16(3):217-23
29. Clínicas obstétricas y ginecológicas de Norteamérica. Colposcopia, cribado cervicouterino y HPV. Vol 35. Pag 519-525. Editorial Saunders. 2008.
30. Mathur RS, Mathur SP. Vascular endothelial growth factor (VEGF) up-regulates epidermal growth factor receptor (EGF-R) in cervical cancer in vitro: this action is mediated through HPV-E6 in HPV-positive cancers. *Gynecol Oncol*. 2005 Apr;97(1):206-13.
31. Tatti S. Colposcopia y patologías del tracto genital inferior. En la era de la vacunación. Editorial Panamericana. 2008. Pag: 25-28.
32. Eklund C, Wallin K.L, Forslund O, Dilsner J. Summary for the report 2010 Who HPV Labnet Proficiency Panell. 2011. Pag: 1-46.
33. Qu W, Jiang G, Cruz Y, Chang Ch, Ho G, Klein R, Burk R. PCR Detection of Human Papillomavirus: Comparison between MY09/MY11 and GP51/GP61 Primer Systems. *Journal of Clinical Microbiology*. June 1997, p. 1304–1310 Vol. 35, No. 6.
34. Sievers F, Wilm A, Dineen DG, Gibson TJ, Karplus K, Li W, Lopez R, McWilliam H, Remmert M, Söding J, Thompson JD, Higgins D. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Mol Syst Biol*. 2011;7:539. doi:10.1038/msb.2011.75

35. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Evolutionary genetics analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance and Maximum Parsimony methods. *Mol Biol Evol* 2011;28:2731-2739.
36. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* (1985) 39:783.
37. Lemey P, Salemi M, Vandamme A. The phylogenetic Handbook. 2nd Ed. Cambridge.2009. Pags: 3-23,55-66,100,106,181-207,267-282.
38. Ramas V, Mirazo S, Bonilla S, Mendoza L, Lago O, Basiletti J, González J, Picconi MA, Arbiza J. Human papillomavirus genotypes distribution in cervical samples from Uruguayan women. *J Med Virol.*2013 May;85(5):845-51.
39. Berois N, De Cremoux P, Mazal D, Sica A, Cedeira M, Caserta B, Barrios E, Osinaga E, Sastre-Garau X. Prevalence and distribution of high-risk human papillomavirus genotypes in invasive carcinoma of the uterine cervix inUruguay. *Int J Gynecol Cancer.* 2013 Mar;23(3):527-32.

ANEXO 1

GI | 9627305 | LCL | HPV26REF. 1 | HPV2
 GI | 6970418 | LCL | HPV69REF. 1 | HPV6
 GI | 333087 | LCL | HPV51REF. 1 | HPV51
 GI | 6970427 | LCL | HPV82REF. 1 | HPV8
 GI | 397053 | LCL | HPV56REF. 1 | HPV56
 GI | 1020290 | LCL | HPV66REF. 1 | HPV6
 GI | 9627377 | LCL | HPV53REF. 1 | HPV5
 GI | 396973 | LCL | HPV30REF. 1 | HPV30
 GI | 397022 | LCL | HPV45REF. 1 | HPV45
 GI | 717266 | LCL | HPV97REF. 1 | HPV
 GI | 60975 | LCL | HPV18REF. 1 | HPV18R
 GI | 71726685 | LCL | HPV68REF. 1 | HPV
 GI | 333245 | LCL | HPV34REF. 1 | HPV39
 GI | 1173493 | LCL | HPV70REF. 1 | HPV7
 GI | 4574720 | LCL | HPV85REF. 1 | HPV8
 GI | 557236 | LCL | HPV59REF. 1 | HPV59
 GI | 9627334 | LCL | HPV34REF. 1 | HPV3
 GI | 1491692 | LCL | HPV73REF. 1 | HPV7
 GI | 397038 | LCL | HPV52REF. 1 | HPV52
 GI | 222386 | LCL | HPV58REF. 1 | HPV58
 GI | 333049 | LCL | HPV31REF. 1 | HPV33
 GI | 3228267 | LCL | HPV67REF. 1 | HPV6
 GI | 333031 | LCL | HPV16REF. 1 | HPV16
 GI | 396997 | LCL | HPV35REF. 1 | HPV35
 GI | 333048 | LCL | HPV31REF. 1 | HPV31
 GI | 22023568 | LCL | HPV91REF. 1 | HPV
 GI | 40804474 | LCL | HPV43REF. 1 | HPV
 GI | 9627389 | LCL | HPV7REF. 1 | HPV7R
 GI | 397014 | LCL | HPV40REF. 1 | HPV40
 GI | 333211 | LCL | HPV42REF. 1 | HPV42
 GI | 9627327 | LCL | HPV32REF. 1 | HPV3
 GI | 9629720 | LCL | PTPV1REF. 1 | PTPV
 GI | 61010 | LCL | PTPV1REF. 1 | PTPV1R
 GI | 60295 | LCL | HPV13REF. 1 | HPV13R
 GI | 27462483 | LCL | HPV74REF. 1 | HPV
 GI | 1020242 | LCL | HPV44REF. 1 | HPV4
 GI | 60955 | LCL | HPV6REF. 1 | HPV6REF
 GI | 333026 | LCL | HPV11REF. 1 | HPV11
 GI | 9628437 | LCL | HPV54REF. 1 | HPV5
 GI | 9626032 | LCL | HPV2REF. 1 | HPV2R
 GI | 396964 | LCL | HPV27REF. 1 | HPV27
 GI | 60882 | LCL | HPV57REF. 1 | HPV57R
 GI | 12084981 | LCL | HPV71REF. 1 | HPV
 GI | 71726710 | LCL | HPV106REF. 1 | HP
 GI | 22138122 | LCL | HPV90REF. 1 | HPV
 GI | 320526310 | LCL | CGPV1REF. 1 | CG
 GI | 15741127 | LCL | HPV86REF. 1 | HPV
 GI | 14475578 | LCL | HPV87REF. 2 | HPV
 GI | 2187589 | LCL | HPV114REF. 1 | H
 GI | 12958167 | LCL | HPV84REF. 1 | HPV
 GI | 71726718 | LCL | HPV102REF. 1 | HP
 GI | 5059324 | LCL | HPV83REF. 1 | HPV8
 GI | 9628574 | LCL | HPV61REF. 1 | HPV6
 GI | 1491683 | LCL | HPV72REF. 1 | HPV7
 GI | 40804509 | LCL | HPV81REF. 1 | HPV
 GI | 39932599 | LCL | HPV62REF. 1 | HPV
 712
 GI | 22095322 | LCL | HPV89REF. 1 | HPV
 GI | 397005 | LCL | HPV3REF. 1 | HPV3RE
 GI | 339639364 | LCL | HPV125REF. 2 | H
 GI | 1020202 | LCL | HPV28REF. 1 | HPV2
 GI | 40804528 | LCL | HPV94REF. 1 | HPV
 GI | 256807724 | LCL | HPV117REF. 1 | H
 GI | 9627257 | LCL | HPV10REF. 1 | HPV1
 GI | 2911558 | LCL | HPV77REF. 1 | HPV7
 GI | 1020210 | LCL | HPV29REF. 1 | HPV2
 AGTACTAACCTTACCATTAGTA---CATTATCTGCAGCATCTGCA-----
 AGTACCAACCTCACTATTAGTA---CTGTATCTGCACAATCTGCA-----
 AGTACAAATTTAACTATTAGTA---CTGCC---ACTGCTGCGGTT-----
 AGTACCAATTTAACCATTAGTA---CTGCTGTTACTCCATCTGTT-----
 AGTACTAACATGACTATTAGTA---CTGCT---ACAGAACAG-----
 AGCACCACATGACTATTAATG---CAGCT---AAAAGCACA-----
 AATACAAACATGACTCTTTCCG---CAACC---ACACAGTCT-----
 AACACAAACATGACTATATCTG---CAACC---ACACAAACG-----
 AGTACTAATTTAACCATTATGTG---CCTCTACACAAAATCCTGTG-----
 AGTACTAATTTAACCATTATGTG---CTTCTACACAAAATGGCGTA-----
 AGTACCAATTTAACAATATGTG---CTTCTACACAGTCTCCTGTGTA-----
 AGTACTAATTTTACATTGCTCA---CTACTACAGACTCTACTGTA-----
 AGTACCAATTTTACATTATCTA---CCTCTATAGAGTCTTCCATA-----
 AGTACTAATTTTACATTGCTG---CCTGCACCAGAAACGGCCATA-----
 AGTACCAATCTTACCTTATCTA---CTGCAACTACTAATCCAGTT-----
 AGCACCATCTTTCTGTGTGTG---CTTCTACTACTTCTTCTATT-----
 AGCACAAACTTTTTCAGTTTGTGTAGGTACACAAATCCACAAAGTACA-----
 AGCCTAATTTTTCTGTATGTGTAGGTACACAGGCTAGTAGCTCT-----
 AGCCTAATATGACTTTATG-----TGCTGAGGTTAAAAAG-----
 AGCCTAATATGACTTTATG-----CACTGAAGTAACCTAAG-----
 AGTACTAATTTGACTTTATG-----CACACAAGTAACCTAGT-----
 AGTACCAACATGACTTTATG-----TTCTGAGGAAAAATCA-----
 AGTACAAATATGCTATTATG-----TGCTGCCATATCTACTTCA-----
 AGTACAAATATGCTGTGTG-----TTCTGCTGTGTCTTCTAGT-----
 AGTACTAATTTGCTGTGTTG-----TGCTGCAATGCAAAACAGT-----
 AGCCTAATTTAACCTTGTGTG---CATCCACTGAGTCTGTGCTA-----
 AGTACAAACTTAACTTATGTG---CCTCTACTGACCCACTACTGTG-----
 AGCACAATTTAACATTATGTG---CTGCTACACAATCGCCACACA-----
 AGTACTAATTTAACCTTATGTG---CTGCCACACAGTCCCCACACA-----
 AGTACTAACATGACTTTGTG-----TGCCACTGCAACATCT-----
 AGTACTAACATGACTGTGTG-----TGCTACTGTAACAACACT-----
 AGTACTAACATGACTGTTTGTGCTTCCACAACATCGTCACTTCT-----
 AGTACTAACATGACTGTTTGTGCTTCCACAACATCGTCACTTCT-----
 AGTACTAACATGACTGTGTGTCAGCCACTACATCATCTCTTTTCA-----
 AGTACTAACATGACTGTGTGTCGCGCTACTACACAATCCCTCTCT-----
 AGTACAAACATGACAATATGTGTCGCTGACACTACAGTCCCTCCG-----
 AGTACTAACATGACTTATGTGTCATCCGTAACACTACATCTT-----
 AGTACAAATATGACTACTATGTGTCATCTGTCTAAATCTG-----
 AGTACTAACCTAACATTGTG-----TGCTACAGCATCCACG-----
 AGCCTAATGTATCTCTGTGTG---CCACTGAGGCGTCTG-----
 AGTACCAATTTTACTTCTGTGTG---CAGCTGAGGTGTCTGATA-----
 AGCACAATGTCTCTTTGTGTG---CCACTGTAACCACAG-----
 AGTACAAATATGTCCATCTGTG---CTACCAAAACTGTTG-----
 AGCACAATATGACTATTTGTG---CCACGCAACAGAAA-----
 AGCACAATATGACTATTTGTG---CCACACAACACCCCT-----
 AGCACAACCTCACTGTGTGTG---CAACTGCCACGTCTG-----
 AGTACTAATTTTACTATTAGTG---CCGCTACCCAGAAGGCCCT-----
 AGTACCAATTTTACTATTAGTG---CTGCCACTCAAACAACCA-----
 AGTACCAATTTTACTATTAGTG---CTGCTACCCAGGCCCTCCGCTACCCA
 AGCACAATTTTACTATTAGTG---CTGCTACCAA---CACCG-----
 AGCACAATATTACTATTTCTG---CAGCCACATCACAGTCCG-----
 AGTACCAATATTACTATTTCTG---CTGCTGTCTACACAGGCTA-----
 AGTACTAATTTAACCATTGTA---CTGCTACATCCCCCTGT-----
 AGTACTAATGTAACTATTTGTA---CTGCCACAGCGTCTCTGT-----
 AGCACAATTTTACTATTTGTA---CAGCTACATCTGCTGCTG-----
 AGTACTAATTTTACTATTTGTA---CCGCTCCACTGTGTGCA-----
 AGCACAATTTTACTATTTGTA---CAGTACCCTGCTGTGCA-----
 AGTACCAACCTTACCATTGTG---CTGCTTCCAGTCTGGCA-----
 AGTACTAATATGACTTTGTGTG---TTTCTACTGAAACCTCGG-----
 AGTACTAACATGACTTTGTGTG---TTAACAACACTGAGACCTCAG-----
 AGTACAAACATGACTTTGTGTG---TTTCTACTGACTCTTCCAG-----
 AGCACAATTTGCTCCCTGTGCG---TCCCTTCTGATGCCTCCACC-----
 AACACAATATGTCTTTGTGTG---TTCCTACTGATACCCCCACT-----
 AGTACCAATATGTCTTTGTGTG---TTCCTTCTGAGGCCCTCCCTCT-----
 AGCACAATATGTCTTCTCAGTG---CCTCCACTGAGTCTCAAACC-----
 AGCACAATATGTCTTTGTGTG---CTACCACAGAGTCTCAAACCG-----

GI | 9627305 | LCL | HPV26REF. 1 | HPV2
GI | 6970418 | LCL | HPV69REF. 1 | HPV6
GI | 333087 | LCL | HPV51REF. 1 | HPV51
GI | 6970427 | LCL | HPV82REF. 1 | HPV8
GI | 397053 | LCL | HPV56REF. 1 | HPV56
GI | 1020290 | LCL | HPV66REF. 1 | HPV6
GI | 9627377 | LCL | HPV53REF. 1 | HPV5
GI | 396973 | LCL | HPV30REF. 1 | HPV30
GI | 397022 | LCL | HPV45REF. 1 | HPV45
GI | 717266 | LCL | HPV97REF. 1 | HPV
GI | 60975 | LCL | HPV18REF. 1 | HPV18R
GI | 71726685 | LCL | HPV68REF. 1 | HPV
GI | 333245 | LCL | HPV39REF. 1 | HPV39
GI | 1173493 | LCL | HPV70REF. 1 | HPV7
GI | 4574720 | LCL | HPV85REF. 1 | HPV8
GI | 557236 | LCL | HPV59REF. 1 | HPV59
GI | 9627334 | LCL | HPV34REF. 1 | HPV3
GI | 1491692 | LCL | HPV73REF. 1 | HPV7
GI | 397038 | LCL | HPV52REF. 1 | HPV52
GI | 222386 | LCL | HPV58REF. 1 | HPV58
GI | 333049 | LCL | HPV33REF. 1 | HPV33
GI | 3228267 | LCL | HPV67REF. 1 | HPV6
GI | 333031 | LCL | HPV16REF. 1 | HPV16
GI | 396997 | LCL | HPV35REF. 1 | HPV35
GI | 333048 | LCL | HPV31REF. 1 | HPV31
GI | 22023568 | LCL | HPV91REF. 1 | HPV
GI | 40804474 | LCL | HPV43REF. 1 | HPV
GI | 9627389 | LCL | HPV7REF. 1 | HPV7R
GI | 397014 | LCL | HPV40REF. 1 | HPV40
GI | 333211 | LCL | HPV42REF. 1 | HPV42
GI | 9627327 | LCL | HPV32REF. 1 | HPV3
GI | 9629720 | LCL | PTPV1REF. 1 | PTPV
GI | 61010 | LCL | PPPV1REF. 1 | PPPV1R
GI | 60295 | LCL | HPV13REF. 1 | HPV13R
GI | 27462483 | LCL | HPV74REF. 1 | HPV
GI | 1020242 | LCL | HPV44REF. 1 | HPV4
GI | 60955 | LCL | HPV6REF. 1 | HPV6REF
GI | 333026 | LCL | HPV11REF. 1 | HPV11
GI | 9628437 | LCL | HPV54REF. 1 | HPV5
GI | 9626032 | LCL | HPV2REF. 1 | HPV2R
GI | 396964 | LCL | HPV27REF. 1 | HPV27
GI | 60882 | LCL | HPV57REF. 1 | HPV57R
GI | 1208498 | LCL | HPV71REF. 1 | HPV
GI | 71726710 | LCL | HPV106REF. 1 | HP
GI | 22138122 | LCL | HPV90REF. 1 | HPV
GI | 320526310 | LCL | CGPV1REF. 1 | CG
GI | 15741127 | LCL | HPV86REF. 1 | HPV
GI | 14475578 | LCL | HPV87REF. 2 | HPV
GI | 2187589 | LCL | HPV114REF. 1 | H
GI | 12958167 | LCL | HPV84REF. 1 | HPV
GI | 71726718 | LCL | HPV102REF. 1 | HP
GI | 5059324 | LCL | HPV83REF. 1 | HPV8
GI | 9628574 | LCL | HPV61REF. 1 | HPV6
GI | 1491683 | LCL | HPV72REF. 1 | HPV7
GI | 40804509 | LCL | HPV81REF. 1 | HPV
GI | 39932599 | LCL | HPV62REF. 1 | HPV
712
GI | 22095322 | LCL | HPV89REF. 1 | HPV
GI | 397005 | LCL | HPV3REF. 1 | HPV3RE
GI | 339639364 | LCL | HPV125REF. 2 | H
GI | 1020202 | LCL | HPV28REF. 1 | HPV2
GI | 40804528 | LCL | HPV94REF. 1 | HPV
GI | 256807724 | LCL | HPV117REF. 1 | H
GI | 9627257 | LCL | HPV10REF. 1 | HPV1
GI | 2911558 | LCL | HPV77REF. 1 | HPV7
GI | 1020210 | LCL | HPV29REF. 1 | HPV2

----TCCACTCCATTTAAACCATCTGATTATAAACAATTTATAAGACATG
----TCTGCCACTTTTAAACCATCAGATTATAAGCAGTTTATAAGGCATG
----TCCCAACATTTACTCCAAGTAACTTTAAGCAATATATTAGGCATG
----GCACAACATTTACTCCAGCAAACTTAAGCAGTACATTAGGCATG
----TTAAGTAAATATGATGCACGAAAAATTAATCAGTACCTTAGACATG
----TTAACTAAATATGATGCCCGTAAATCAATCAATACCTTCGCCATG
----ATGTCTACATATAATTCAAAGCAAATTAACAGTATGTTAGACATG
----TTATCCACATATAATTCAGCCAAATTAACAGTATGTTAGACATG
----CCAAGTACATATGACCCTACTAAGTTAAGCAGTATAGTAGACATG
----GCTACCACATATGACCCTACAAAATATAACAGTATAGTAGACATG
----CCTGGGCAATATGATGCTACCAAATTTAAGCAGTATAGCAGACATG
----CCAGCTGTGTATGATTCTAATAAATTTAAGGAATATGTTAGGCATG
----CCTTCTACATATGATCCTTCTAAGTTTAAAGGAATATACCAGGCACG
----CCTGCTGTATATAGCCCTACAAAGTTTAAAGGAATATACTAGGCATG
----CCATCTATATATGAACCTTCTAAATTTAAGGAATACACACGCCATG
----TTAATGATACACACCTCAGTTTAAAGGAATATGTTAGGCATG
----ACTGCACCATATGCAAACAGTAAATTTAAGGAATACCTCAGACATG
----ACTACAACGTATGCCAAGTCTAATTTAAGGAATATTTAAGACATG
----GAAAGCACATATAAAAATGAAAATTTAAGGAATACCTTCGTCATG
----GAAGGTACATATAAAAATGATAATTTAAGGAATATGTTAGGCATG
----GACAGTACATATAAAAATGAAAATTTAAGGAATATATAAGACATG
----GAGGCTACATACAAAATGAAAATTTAAGGAATACCTTAGACATG
----GAACTACATATAAAAATGAAAATTTAAGGAGTACCTACGCATG
----GACAGTACATATAAAAATGAAAATTTAAGGAATATTTAAGGCATG
----GATACTACATTTAAAAGTAAATTTTAAAGGATATTTAAGACATG
----CCTACTACATATGACAACACAAGTTCAAAGAATATTTAAGGCATG
----CCCAGTACATATGACAATGCAAAGTTTAAAGGAATACCTGCGGCATG
----CCAACCCATATGACAATGAAAATTTAAGGAATATTTACGTCATG
----CCAACCCATATAAATAACAGTAAATTTAAGGAATATTTGCGTCATG
----GGTGATACATATACAGCTGCTAATTTAAGGAATATTTAAGACATG
----GAAGCACATACAAGTCTACTAATTTAAGGAATATCTACGCCATG
----G---CCACATATACAGCTTCAGAATATAACAATACATGCGACATG
----G---CCACATACACAGCTTCAGAATATAACAATACATGCGACATG
----G---ACACATATAAGGCCACAGAATATAACAGTACATGCGACATG
----GCTGCTACATATACTAGTACAGACTACAAACAATACATGAGACATG
----TCTACATATACTAGTGAACAATATAAGCAATACATGCGACATG
----CCACATACACCAAGCTTCGATTATAAAGAGTACATGCGGCATG
----CTACATACACTAATTCAGATTATAAGGAATACATGCGCCATG
----CAGGATAGCTTAAATAATTCGACTTTAGGGAGTATATTAGACATG
----ATACTAATTTAAGGCTACCAATTTTAAAGGAATATCTCAGGCATA
----ATACTAATTTAAGGCTACCAATTTTAAAGGAATACCTCAGGCATA
----AAACTAATTTAAGGCTCCTAATTTAAGGAATACCTTAGGCATA
----AGTCTACATATAAAGCCTCTAGTTTCATGGAATATTTGAGACATG
----ATGCCACATACAAAGCTTCAATTTTAAAGGAATACCTGCGCCACG
----CTGACACATACAAAGCTTCAATTTTAAAGGAGTACATGCGGCATG
----AAACCACATATAAGGCTCCTAATTTTAAAGAATACCTAAGGCATG
----CTGAATATGACCCCTCTAAGTTAATGAATATCTAAGGCATG
----CTGAATATGACCCACAAAGTTTAAAGGAATATTTAAGGCATG
GGCCTCCACGGAATATAAGTCTACTAATTTTAAAGGAATATCTTAGGCATG
----AATCAGAATATAAACCTACCAATTTTAAAGGAATACCTAAGACATG
----GTGAATACCAGGCTCTAATTTTAAAGGAATACCTACGCCACA
----ATGAATACACAGCTTCAATTTTAAAGGAATACCTCCGCCACA
----ATCAGAATATAAGGCTCCTAATTTTAAAGGAATATTTGAGGCACG
----CAGAATACAAGGCTCCTAATTTTAAAGGAATATTTGAGGCACG
----CAGAATACAAGGCTCCTAATTTTAAAGGAATATTTGAGGCACG
----ATATAAGGCTCCTAATTTTAAAGGAATATTTGAGGCACG
----CAGAATACAGTCTACAGCTTAAAGGAATATTTAAGACACA
----CTACATATGATGCTACTAATTTTAAAGGATATTTAAGACACG
----ATACGTATGATGCCACCAATTTTAAAGGAATACCTTCGGCAGC
----CTACGTACGTATGATGCTACAAAATTTAAGGAATATTTGAGGCACG
----GCCACTACGTATGATGCTACAAAATTTAAGGAATATTTGAGGCACG
----CCTGCTACGTACGTATGCTACAAAATTTAAGGAGTACTTAAAGGCACG
----GCCACTACGTATGACGCCACCAATTTTAAAGGAATATTTGAGGCACG
----CCATCTACCTATGATGCCACTAAAATTAAGGAATATTTAAGGCATG
----TTGACCCTTATGATGCTACCAAGATTAAGGAATATTTGAGACATG

GI | 9627305 | LCL | HPV26REF. 1 | HPV2
GI | 6970418 | LCL | HPV69REF. 1 | HPV6
GI | 333087 | LCL | HPV51REF. 1 | HPV51
GI | 6970427 | LCL | HPV82REF. 1 | HPV8
GI | 397053 | LCL | HPV56REF. 1 | HPV56
GI | 1020290 | LCL | HPV66REF. 1 | HPV6
GI | 9627377 | LCL | HPV53REF. 1 | HPV5
GI | 396973 | LCL | HPV30REF. 1 | HPV30
GI | 397022 | LCL | HPV45REF. 1 | HPV45
GI | 717266 | LCL | HPV97REF. 1 | HPV
GI | 60975 | LCL | HPV18REF. 1 | HPV18R
GI | 71726685 | LCL | HPV68REF. 1 | HPV
GI | 333245 | LCL | HPV39REF. 1 | HPV39
GI | 1173493 | LCL | HPV70REF. 1 | HPV7
GI | 4574720 | LCL | HPV85REF. 1 | HPV8
GI | 557236 | LCL | HPV59REF. 1 | HPV59
GI | 9627334 | LCL | HPV34REF. 1 | HPV3
GI | 1491692 | LCL | HPV73REF. 1 | HPV7
GI | 397038 | LCL | HPV52REF. 1 | HPV52
GI | 222386 | LCL | HPV58REF. 1 | HPV58
GI | 333049 | LCL | HPV33REF. 1 | HPV33
GI | 3228267 | LCL | HPV67REF. 1 | HPV6
GI | 333031 | LCL | HPV16REF. 1 | HPV16
GI | 396997 | LCL | HPV35REF. 1 | HPV35
GI | 333048 | LCL | HPV31REF. 1 | HPV31
GI | 22023568 | LCL | HPV91REF. 1 | HPV
GI | 40804474 | LCL | HPV43REF. 1 | HPV
GI | 9627389 | LCL | HPV7REF. 1 | HPV7R
GI | 397014 | LCL | HPV40REF. 1 | HPV40
GI | 333211 | LCL | HPV42REF. 1 | HPV42
GI | 9627327 | LCL | HPV32REF. 1 | HPV3
GI | 9629720 | LCL | PTPV1REF. 1 | PTPV
GI | 61010 | LCL | PTPV1REF. 1 | PTPV1R
GI | 60295 | LCL | HPV13REF. 1 | HPV13R
GI | 27462483 | LCL | HPV74REF. 1 | HPV
GI | 1020242 | LCL | HPV44REF. 1 | HPV4
GI | 60955 | LCL | HPV6REF. 1 | HPV6REF
GI | 333026 | LCL | HPV11REF. 1 | HPV11
GI | 9628437 | LCL | HPV54REF. 1 | HPV5
GI | 9626032 | LCL | HPV2REF. 1 | HPV2R
GI | 396964 | LCL | HPV27REF. 1 | HPV27
GI | 60882 | LCL | HPV57REF. 1 | HPV57R
GI | 12084981 | LCL | HPV71REF. 1 | HPV
GI | 71726710 | LCL | HPV106REF. 1 | HP
GI | 22138122 | LCL | HPV90REF. 1 | HPV
GI | 320526310 | LCL | CGPV1REF. 1 | CG
GI | 15741127 | LCL | HPV86REF. 1 | HPV
GI | 14475578 | LCL | HPV87REF. 2 | HPV
GI | 2187589 | LCL | HPV114REF. 1 | H
GI | 12958167 | LCL | HPV84REF. 1 | HPV
GI | 71726718 | LCL | HPV102REF. 1 | HP
GI | 5059324 | LCL | HPV83REF. 1 | HPV8
GI | 9628574 | LCL | HPV61REF. 1 | HPV6
GI | 1491683 | LCL | HPV72REF. 1 | HPV7
GI | 40804509 | LCL | HPV81REF. 1 | HPV
GI | 39932599 | LCL | HPV62REF. 1 | HPV
712
GI | 22095322 | LCL | HPV89REF. 1 | HPV
GI | 397005 | LCL | HPV3REF. 1 | HPV3RE
GI | 339639364 | LCL | HPV125REF. 2 | H
GI | 1020202 | LCL | HPV28REF. 1 | HPV2
GI | 40804528 | LCL | HPV94REF. 1 | HPV
GI | 256807724 | LCL | HPV117REF. 1 | H
GI | 9627257 | LCL | HPV10REF. 1 | HPV1
GI | 2911558 | LCL | HPV77REF. 1 | HPV7
GI | 1020210 | LCL | HPV29REF. 1 | HPV2

GCGAAGAATATGAATTACAATTTATATTTTCAGTTGTGTAAAATAACA-CT
GTGAGGAATATGAATTACAGTTTATATTTTCAGTTGTGTAAAATAACT-CT
GGGAAGAATATGAATTGCAATTTATATTTTCAGTTGTGTAAAATAACT-CT
GGGAAGAATATGAATTGCAATTTATATTTTCAGTTGTGTAAAATAACT-CT
TGGAGGAATATGAATTACAATTTGTTTTCAATTTATGCAAAAATACT-CT
TGGAGGAATATGAACTACAGTTTGTGTTTTCACTATGTAATAATCC-CT
TAGAGGAATATGAATTACAGTTTGTGTTTTCACTATGTAATAATCC-CT
TGGAGGAATATGATTACAGTTTATTTTTCACTGTGCACTATTACT-CT
TGGAGAGATGATTACAGTTTATTTTTCACTGTGCACTATTACT-CT
TTGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCACTATTACT-CT
TTGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCACTATTACT-CT
TGGAGGAGTATGATTACAATTTATATTTTCAGTTGTGCACTATTACT-CT
TGGAGGAATATGATTACAATTTATATTTTCAGTTGTGCACTATTACT-CT
TAGAGGAATATGATTACAATTTATATTTTCAGTTGTGTAAAATAACA-CT
TGGAGGAATATGATTGCACTTTATATTTTCAGTTGTGTAAAATAACA-CT
CAGAAGAGTATGACCTGCAGTTTGTGTTTTCACTATGCAAAAATACT-CT
CAGAAGAGTATGATTACAGTTTGTGTTTTCACTATGTAATAATAGT-CT
GCGAGGAATTTGATTACAATTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
TTGAGGAATATGACTACAGTTTGTGTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
TTGAGGAATATGATTGCACTTTATATTTTCAGTTGTGCAAAAATAACA-CT
TGGAGGAATATGATTGCACTTTATATTTTCAGTTGTGCAAAAATAACA-CT
GGGAGGAATATGATTACAGTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
GTGAGGAATATGATTACAGTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
GTGAGGAATTTGATTACAATTTATATTTTCAGTTGTGCAAAAATAACA-CT
CAGAAGATTTGATTACAGTTTATATTTTCAGTTGTGCAAAAATAACA-CT
TGGAGGAATATGATCTGCAGTTTATATTTTCAGTTGTGCAAAAATAACA-CT
GGGAGGATTTGATTACAGTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
GGGAGGATTTGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
CTGAGGAATATGATGCACTTTATATTTTCAGTTGTGCAAAAATAACA-CT
CAGAGGAATATGATATACAGTTTATATTTTCAGTTGTGCAAAAATAACA-CT
TAGAGGAATTTGATCTGCAGTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
TGGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
TAGAAGAATTTGATTACAATTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
TGGAGGAATTTGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
TTGAGGAGTTGACTTACAATTTATGTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
TGGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
TGGAGGAGTTGATTACAGTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
TGGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
TGGAGGAGTTGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
GAGAGGAATTTGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
GAGAGGAATTTGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
GAGAGGAATTTGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
GAGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
TGGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
TGGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
TGGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
CAGAAGAATATGATTACAATTTATATTTTCAGTTGTGCAAAAATAACA-CT
CAGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
CTGAGGAATTTGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
CAGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
CGGAGGAATTTGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
CAGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
CTGAGGAATATGACCTACAGTTTATATTTTCAGTTGTGCAAAAATAACA-CT
GGGAGGAATATGATTACAGTTTATATTTTCAGTTGTGCAAAAATAACA-CT
GAGAGGAGTATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
GGGAGGATACGATTGCACTTTATATTTTCAGTTGTGCAAAAATAACA-CT
GAGAAGAGTATGACTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
GGGAGGAGTATGACTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
GAGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
GGGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
GGGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT
GGGAGGAATATGATTGCACTTTATTTTTCACTGTGCAAAAATAACA-CT

GI | 9627305 | LCL | HPV26REF. 1 | HPV2
GI | 6970418 | LCL | HPV69REF. 1 | HPV6
GI | 333087 | LCL | HPV51REF. 1 | HPV51
GI | 6970427 | LCL | HPV82REF. 1 | HPV8
GI | 397053 | LCL | HPV56REF. 1 | HPV56
GI | 1020290 | LCL | HPV66REF. 1 | HPV6
GI | 9627377 | LCL | HPV53REF. 1 | HPV5
GI | 396973 | LCL | HPV30REF. 1 | HPV30
GI | 397022 | LCL | HPV45REF. 1 | HPV45
GI | 717266 | LCL | HPV97REF. 1 | HPV
GI | 60975 | LCL | HPV18REF. 1 | HPV18R
GI | 71726685 | LCL | HPV68REF. 1 | HPV
GI | 333245 | LCL | HPV39REF. 1 | HPV39
GI | 1173493 | LCL | HPV70REF. 1 | HPV7
GI | 4574720 | LCL | HPV85REF. 1 | HPV8
GI | 557236 | LCL | HPV59REF. 1 | HPV59
GI | 9627334 | LCL | HPV34REF. 1 | HPV3
GI | 1491692 | LCL | HPV73REF. 1 | HPV7
GI | 397038 | LCL | HPV52REF. 1 | HPV52
GI | 222386 | LCL | HPV58REF. 1 | HPV58
GI | 333049 | LCL | HPV33REF. 1 | HPV33
GI | 3228267 | LCL | HPV67REF. 1 | HPV6
GI | 333031 | LCL | HPV16REF. 1 | HPV16
GI | 396997 | LCL | HPV35REF. 1 | HPV35
GI | 333048 | LCL | HPV31REF. 1 | HPV31
GI | 22023568 | LCL | HPV91REF. 1 | HPV
GI | 40804474 | LCL | HPV43REF. 1 | HPV
GI | 9627389 | LCL | HPV7REF. 1 | HPV7R
GI | 397014 | LCL | HPV40REF. 1 | HPV40
GI | 333211 | LCL | HPV42REF. 1 | HPV42
GI | 9627327 | LCL | HPV32REF. 1 | HPV3
GI | 9629720 | LCL | PTPV1REF. 1 | PTPV
GI | 61010 | LCL | PTPV1REF. 1 | PTPV1R
GI | 60295 | LCL | HPV13REF. 1 | HPV13R
GI | 27462483 | LCL | HPV74REF. 1 | HPV
GI | 1020242 | LCL | HPV44REF. 1 | HPV4
GI | 60955 | LCL | HPV6REF. 1 | HPV6REF
GI | 333026 | LCL | HPV11REF. 1 | HPV11
GI | 9628437 | LCL | HPV54REF. 1 | HPV5
GI | 9626032 | LCL | HPV2REF. 1 | HPV2R
GI | 396964 | LCL | HPV27REF. 1 | HPV27
GI | 60882 | LCL | HPV57REF. 1 | HPV57R
GI | 12084981 | LCL | HPV71REF. 1 | HPV
GI | 71726710 | LCL | HPV106REF. 1 | HP
GI | 22138122 | LCL | HPV90REF. 1 | HPV
GI | 320526310 | LCL | CGPV1REF. 1 | CG
GI | 15741127 | LCL | HPV86REF. 1 | HPV
GI | 14475578 | LCL | HPV87REF. 2 | HPV
GI | 2187589 | LCL | HPV114REF. 1 | H
GI | 12958167 | LCL | HPV84REF. 1 | HPV
GI | 71726718 | LCL | HPV102REF. 1 | HP
GI | 5059324 | LCL | HPV83REF. 1 | HPV8
GI | 9628574 | LCL | HPV61REF. 1 | HPV6
GI | 1491683 | LCL | HPV72REF. 1 | HPV7
GI | 40804509 | LCL | HPV81REF. 1 | HPV
GI | 39932599 | LCL | HPV62REF. 1 | HPV
712
GI | 22095322 | LCL | HPV89REF. 1 | HPV
GI | 397005 | LCL | HPV3REF. 1 | HPV3RE
GI | 339639364 | LCL | HPV125REF. 2 | H
GI | 1020202 | LCL | HPV28REF. 1 | HPV2
GI | 40804528 | LCL | HPV94REF. 1 | HPV
GI | 256807724 | LCL | HPV117REF. 1 | H
GI | 9627257 | LCL | HPV10REF. 1 | HPV1
GI | 2911558 | LCL | HPV77REF. 1 | HPV7
GI | 1020210 | LCL | HPV29REF. 1 | HPV2

TACAACAGATGTTATGGCTTACATACATTTAATGAATGCCTCCATATTGG
TACCCTGATGTAATGGCTTATATCCATACAATGAATCTACTATTTTGG
AACTACAGAGGTAATGGCTTATTTACACACAATGGATCCTACCATTCTTG
AACTACTGAAATTATGGCTTACCTGCACACCATGGATTCTACAATTTTGG
GTCTGCAGAGGTTATGGCATATTTACATAATATGAATGCTAACCTACTGG
AACTGCAGAAGTTATGGCATATTTGCATAATATGAATAACTTTATTAG
GTCTGCTGAGGTTATGGCTTATTTACATACTATGAATCTACCTTACTGG
GTCTGCAGAAGTATGGCTTATTTACATACTATGAATCCACTTTACTTG
AACTGCAGAGGTTATGTCATATATCCATAGTATGAATAGTAGTATATTAG
ATCTGCAGATGTAATGCTTATATACATAGTATGAATAGCAGTATTTTGG
AACTGCAGATGTTATGCTTATATTCATAGTATGAATAGCAGTATTTTGG
ATCCCTGATGTAATGTCATATATACATACTATGAATCCCTGCTATTTTGG
AACAACTGATGTTATGCTTATATTTACACTATGAATTCCTCTATATTGG
AACTGCTGACGTTATGGCTTACATCCATATGAATCCCTGCAATTTTGG
TACTACTGATGTTATGCTTATATACATAACATGGATCCTACTATTTTGG
AACTACAGAGGTAATGTCATACATTAATATGAATCCACTTTACTTG
AACTACAGATGTAATGACATATATACATTTCTATGAGTTCTAGTATATTGG
AACTACTGAGGTAATGACATATATACATTTCTATGAATTTACTATATTGG
AACAGCTGATGTTATGACATACATTCATAAGATGGATGCCACTATTTTGG
AACTGCAGAGTAATGACATATATACATACTATGAATTCCTCAATTTTGG
AACTGCAGAAGTTATGACATATATTCATGCTATGAATCCAGATATTTTGG
TACTGCAAAATGTTATGCAATACATACACACCATGAATCCAGATATATTAG
AACTGCAGACGTTATGACATACATACATTTCTATGAATTCCTACTATTTTGG
AACAGCAGATGTTATGACATATTTACTATAGTATGAACCCGCTCCATTTTGG
ATCTGCAGACATAATGACATATATTTACAGTATGAATCCCTGCTATTTTGG
TAATCCAGAGGTAATGACATACATCCACTATGGATGCATCATTATTAG
AAACCAGAGGTTATGACATATATTCATACTATGGATCCACATTTATTAG
AAATGCAGAGGTTATGACATATATACATGCTATGGATTCCTCTCTATTAG
AAATGCAGAGGTTATGACATATATTCATGCAATGGATCCCTGCTTTTGG
AACTGTTGAAAGTTATGTCATATATACACAATATGAATCCCTAACATATTAG
ATCTGTAGAGGTTATGTCATATATCCACACCATGAATCCCTGACATACTAG
AACTGCAGAACTTATGGCATATATTCATACTATGAATCCTACAGTTTTTGG
AACTGCTGAAAGTAATGGCATATATTCATACTATGAATCCCTACTTTTGG
AACTGCAGAGGTTATGTCATATATTCATACTATGAATCCTACAATTCTAG
AACTGCTGAGGTTATGGCTTATTCATACTATGAATCCTACAGTTTTTGG
AACGGCGGAGGTAATGGCTTATTCATACTATGAATGCTGGTATTTTGG
GTCTGCTGAAAGTAATGGCTTATTTACACAATGAATCCCTCTGTTTTGG
ATCTGCAGAAGTCAATGGCTTATATACACAATGAATCCCTCTGTTTTGG
TACAGCAGATGTTATGGCTTATATTCATGGAATGAATCCCACTATTCTAG
TACTCCTGAAATTTATGGCTTATATACATAATATGGATCCCCAGTTGTTAG
CACTCCTGAAATTTATGGCTTATACATAAATATGGATCCCCAGTTGTTGG
CACCCCCGAGATAATGGCATACATACATAACATGGATGCGCGGTTGCTAG
AACAGCTGAAATTTATGGCTTACTTACATGGCATGGATGCTACATTACTGG
AACTGCCGAGGTTATGGCTTACTACATAGTATGAATGCTGCTTTACTAG
AACTACAGAGGTTATGGCTTATGCTATGCTATGAATGCTACGTTACTGG
TACTGCAGAGGTCATGACATACATACATGGCATGGACCCCTCTCTGCTAG
TACCCAGAGATAATGCTCCTATTTACATTTCTATGAATGAGTCCCTTTTGG
GACCCCTGAAGTAATGGCTTATTTACATACTATGAATGAATCCCTTTTGG
AACTCCTGAGATAATGCTCCTATTTACATAACCATGAATGAGTCTTTGTTGG
GACTCCAGAGGTCATGCTCCTATTTACATACTATGAATGACTCCTTATTAG
TACACCCGAAATTTATGGCTTACCTCCATGGTATGAATGAATCTTTGCTAG
GACCCCTGAAATTTATGGCATACCTACATAGTATGAATGAACATTTATTAG
AACCCCTGAAATTTATGGCTTACCTACATAATATGAATAAGGCCTTTTGG
AACTCCTGAAATTTATGGCTTACTTGCAACAATATGAATAAGGCCTTATTGG
AACACCAGAAATTTATGGCTTACTTACATAATATGAACAAGGCCTGTTGG
AACCCCGAAATTCATGGCTTACTGCATAATATGAACAAGGCCTTTTGG
AACACCAAGAAATTTATGGCTTACTTACATAATATGAACAAGGCCTTTTGG
AACGCCTGAGATAATGCTCCTATTTACACAATATGAATGACACATTGTTAG
AACTCCTGAAATTTATGGCTTATTTACACAATGAACAGTACTTTGTTGG
GACCCCGAAATTTATGGCTTATTTACACACTATGAACAGTACTTTGCTGG
GACCCCTGATATTTATGGCATATTTACATAACCATGAACAATGTTATTGG
AACCCCGAAATTTATGGCTTATTTACACACCATGAACAGTACTTTACTAG
AACCCCGAAATTTATGGCTTATTTACACACCATGAATAGTAGTTTACTGG
GACCCCGATATTTATGGCTTATTTGCACACCATGAATAGTAGTTTATTGG
AACACCTGAAATTTATGGCTTATTTACACTATGAACACTGCTTTATTGG
GACACCTGAAATTTATGGCTTACTTACATACTATGAACAGTGCCTTACTTG

GI | 9627305 | LCL | HPV26REF. 1 | HPV2
GI | 6970418 | LCL | HPV69REF. 1 | HPV6
GI | 333087 | LCL | HPV51REF. 1 | HPV51
GI | 6970427 | LCL | HPV82REF. 1 | HPV8
GI | 397053 | LCL | HPV56REF. 1 | HPV56
GI | 1020290 | LCL | HPV66REF. 1 | HPV6
GI | 9627377 | LCL | HPV53REF. 1 | HPV5
GI | 396973 | LCL | HPV30REF. 1 | HPV30
GI | 397022 | LCL | HPV45REF. 1 | HPV45
GI | 717266 | LCL | HPV97REF. 1 | HPV
GI | 60975 | LCL | HPV18REF. 1 | HPV18R
GI | 71726685 | LCL | HPV68REF. 1 | HPV
GI | 333245 | LCL | HPV39REF. 1 | HPV39
GI | 1173493 | LCL | HPV70REF. 1 | HPV7
GI | 4574720 | LCL | HPV85REF. 1 | HPV8
GI | 557236 | LCL | HPV59REF. 1 | HPV59
GI | 9627334 | LCL | HPV34REF. 1 | HPV3
GI | 1491692 | LCL | HPV73REF. 1 | HPV7
GI | 397038 | LCL | HPV52REF. 1 | HPV52
GI | 222386 | LCL | HPV58REF. 1 | HPV58
GI | 333049 | LCL | HPV33REF. 1 | HPV33
GI | 3228267 | LCL | HPV67REF. 1 | HPV6
GI | 333031 | LCL | HPV16REF. 1 | HPV16
GI | 396997 | LCL | HPV35REF. 1 | HPV35
GI | 333048 | LCL | HPV31REF. 1 | HPV31
GI | 22023568 | LCL | HPV91REF. 1 | HPV
GI | 40804474 | LCL | HPV43REF. 1 | HPV
GI | 9627389 | LCL | HPV7REF. 1 | HPV7R
GI | 397014 | LCL | HPV40REF. 1 | HPV40
GI | 333211 | LCL | HPV42REF. 1 | HPV42
GI | 9627327 | LCL | HPV32REF. 1 | HPV3
GI | 9629720 | LCL | PTPV1REF. 1 | PTPV
GI | 61010 | LCL | PTPV1REF. 1 | PTPV1R
GI | 60295 | LCL | HPV13REF. 1 | HPV13R
GI | 27462483 | LCL | HPV74REF. 1 | HPV
GI | 1020242 | LCL | HPV44REF. 1 | HPV4
GI | 60955 | LCL | HPV6REF. 1 | HPV6REF
GI | 333026 | LCL | HPV11REF. 1 | HPV11
GI | 9628437 | LCL | HPV54REF. 1 | HPV5
GI | 9626032 | LCL | HPV2REF. 1 | HPV2R
GI | 396964 | LCL | HPV27REF. 1 | HPV27
GI | 60882 | LCL | HPV57REF. 1 | HPV57R
GI | 12084981 | LCL | HPV71REF. 1 | HPV
GI | 71726710 | LCL | HPV106REF. 1 | HP
GI | 22138122 | LCL | HPV90REF. 1 | HPV
GI | 320526310 | LCL | CGPV1REF. 1 | CG
GI | 15741127 | LCL | HPV86REF. 1 | HPV
GI | 14475578 | LCL | HPV87REF. 2 | HPV
GI | 2187589 | LCL | HPV114REF. 1 | H
GI | 12958167 | LCL | HPV84REF. 1 | HPV
GI | 71726718 | LCL | HPV102REF. 1 | HP
GI | 5059324 | LCL | HPV83REF. 1 | HPV8
GI | 9628574 | LCL | HPV61REF. 1 | HPV6
GI | 1491683 | LCL | HPV72REF. 1 | HPV7
GI | 40804509 | LCL | HPV81REF. 1 | HPV
GI | 39932599 | LCL | HPV62REF. 1 | HPV
712
GI | 22095322 | LCL | HPV89REF. 1 | HPV
GI | 397005 | LCL | HPV3REF. 1 | HPV3RE
GI | 339639364 | LCL | HPV125REF. 2 | H
GI | 1020202 | LCL | HPV28REF. 1 | HPV2
GI | 40804528 | LCL | HPV94REF. 1 | HPV
GI | 256807724 | LCL | HPV117REF. 1 | H
GI | 9627257 | LCL | HPV10REF. 1 | HPV1
GI | 2911558 | LCL | HPV77REF. 1 | HPV7
GI | 1020210 | LCL | HPV29REF. 1 | HPV2

AGGATTGGAATTTTGGACTAACCTTACCTCCACTGCTAGTTTGGAAAGAT
AAAATTGGAATTTTGGCCTTACCTTGCCCTCTACTGCTAGTTTGGAAAGAT
AACAGTGGAAATTTTGGATTAACATTACCTCCGCTGCTAGTTTGGAGGAT
AACAGTGGAAATTTTGGATTAACATTGCCCCCTCCGCTAGTTTGGAGGAT
AGGACTGGAATATTGGGTTATCCCCGCCAGTGGCCACCAGCCTAGAAGAT
ACGATTGGAATATTGGCTTATCCCCACCAGTTGCAACTAGCTTAGAGGAT
AAGACTGGAATATAGGTTTGTGCGCTCCTGTTGCCACTAGCTTAGAGGAC
AGGGCTGGAATATTGGATTGTACCCCCAGCTGCCACAAGCTTAGAGGAC
AAAATTGGAATTTTGGTGTCCCTCCACCACCTACTACAAGTTTGGTGGAT
AAAACTGGAATTTTGGTGTCCACCCGCCACCCTACTAGTTTGGTGGAT
AGGATTGGAATTTTGGTGTCCCCCGCCCACTACTAGTTTGGTGGAT
ATGATTGGAATTTTGGTGTGCCCCCTCCACCATCTGCTAGTCTTAGATGAT
ACAATTGGAATTTTGGTGTGCTGCTCCTCCACCATCTGCCAGTTTGGTAGAC
ACAATTGGAATATAGGAGTTACCCCTCCACCATCTGCAAGCTTGGTGGAC
ATAGTTGGAATTTTGGTGTAGTCTCCCCCATCTGCTAGCTTAGTAGAT
AGGATTGGAATTTTGGTGTACACCACCTCCTACTGCTAGTTTGGTAGAC
AACAGTGGAAATTTTGGTCTTACACCACCGCCTCAGGTACTTTAGAAGAA
AAGAGTGGAAATTTTGGTCTTACCCACCACCGTCAAGTACTTTAGAGGAA
AGGACTGGCAATTTTGGCCTTACCCACCACCGTCTGCATCTTTGGAGGAC
AGGACTGGCAATTTTGGTHTAACACCTCCTCCGCTGCCAGTTTACAGGAC
AAGATTGGCAATTTTGGTHTAACACCTCCTCCATCTGCTAGTTTACAGGAT
AGGACTGGCAATTTTGGCCTTACACCACCTCCTCAGGTAATTTACAGGAC
AGGACTGGAATTTTGGTCTACAACCTCCCCAGGAGGCACACTAGAAGAT
AGGATTGGAATTTTGGCCTTACACCACCGCCTCCTGCTAGCTTAGAGGAC
AAGATTGGAATTTTGGATTGACCACCTCCTCAGGTTCTTTGGAGGAT
AAGACTGGAATTTTGGGTTATCCCTCCAGCCACGGCATCTAGAGGAT
AGGACTGGAATTTTGGTGTGCCCCACCTCCTGCTTCTTTGGAAAGAT
ATGATTGGAATTTTAAAATTGGTCTCCTCAGCCTGCAACCTTGAAGAT
AGGATTGGAATTTTAAAATTGCTCCTCCAGCCTCTGCATCTTTAGAGGAT
AGGAGTGGAAATTTGGTGTGACCACCACCTTCCAGGAACTTTAGAAGAT
ACGATTGGAATTTGGTGTAGCTCCACCGCCTCCTGCTAGTTTAGAAGAT
AAGAATGGAATTTGATTATCTCCCCCTCCTAATGGAACATTAGAAGAC
AAGAATGGAATTTGGATTATCTCCCCCTCCTAATGGAACATTAGAAGAC
AAGACTGGAATTTGGGCTATCTCCCCCTCCTAATGGAACATTAGAAGAC
AAGACTGGAATTTGGCCTAACACCTCCCCCAATGGTACTTTAGAAGAC
AACAGTGGAACTTTGGGTTGTGCGCCGCCCCAAATGGTACTTTAGAGGAC
AAGACTGGAATTTGGGTTATCGCCTCCCCCAATGGTACTTTAGAGGAT
AGGACTGGAATTTGGTHTATCGCCTCCACCAATGGTACTTGGAGGAT
AGGACTGGAATTTGGTATAACCCCTCCAGCTACAAGTAGTTTGGAGGAC
AGGATTGGAATTTGGTGTACCCCTCCGCGCTGCTGCCAGTTTACAGGAT
AGGACTGGAATTTGGTGTGCCCCACCCCGCTGCTGCCAGTTTGGAGGAC
AGGACTGGAATTTGGTGTGCCCCACCCCGTCCGCCAGCTTGCAGGAC
AGGACTGGAATTTGGTTCCTTACCACCTCCTACTGCTAGTCTTGGTGTAT
AGGACTGGAATTTGGGTCGTTGCCCCCTCCTCCAGCTTGGGCGAT
AAGACTGGAATTTGGTTCGTTCCCTCCTCCAGCTGCTAGTTTGGGCGAT
AGGACTGGAATTTGGTACCTTGCTCCGCGCTGCTAGTTTGGGGGAC
ATGAGTGGAAATTTGGGTTGTGCCCCCTCCTCCACAAGTTTGGAGGAT
ATGAGTGGAAATTTGGGTTGTGCCCCCTCCTCCACTAGTTTAGATGAT
ATGAGTGGAAATTTGGTGTGTTGCCCCCTCCTCCACAAGTTTGGATGAC
ATGAGTGGAAATTTGGTGTGTTGCCCCCTCCTCCACAAGTTTAGATGAT
ATGACTGGAATTTGGTGTATTGCCCCCTCCTCCACCAGCTTGGATGAT
ATGAGTGGAAATTTGGCGTGTACCCTCCTCCACCAGCTTGGATGAT
ATGACTGGAATTTGGTGTGGTACCACCACCTCCTACCAGTTTAGAAGAC
ATGACTGGAATTTGGTGTGGTGCCTCCTCCTTACCAGTTTGGATGAT
ATGATTGGAATTTGGTGTGTTGCCACCTCCTCCACCAGTTTAGATGAC
ATGACTGGAATTTGGGTTTTACTCCCTCCTCCACTAGTTTAGATGAT
ATGATTGGAATTTGGTGTGTTGCCACCTCCTCCACCAGTTTGGATGAC
ATGAATGGAATTTGGTGTGTTGCCACCTCCTCCACCAGTTTGGATGAT
AGGATTGGAATTTGGGTTAACCTTGCACCGTCCACTAGCTTGGAGGAC
AGGATTGGAATTTGGGTTGACCTTGCACCGTCCACTAGCTTGGAGGAC
AGGACTGGAATTTGGGTTGACTTTACCACCTCCTACTAGCTTGGAGGAC
AAGATTGGAATTTGGGTTGACTGCTGCCCGCTCCACTAGCTTGGAGGAC
AAGATTGGAATTTGGGTTAATTTGCCACCGTCTACTAGCTTGGAGGAC
AGGATTGGAATTTGGGTTAATTTGCCACCGTCCACTAGCTTGGAGGAC
AGGATTGGAATTTGGACTGACATTGCCACCTTCTACTAGCTTGGAAAGAC
AAGACTGGAATTTGGATTGACATTGCCACCTTCCACTAGCTTGGAAAGAC

GI | 9627305 | LCL | HPV26REF. 1 | HPV2
GI | 6970418 | LCL | HPV69REF. 1 | HPV6
GI | 333087 | LCL | HPV51REF. 1 | HPV51
GI | 6970427 | LCL | HPV82REF. 1 | HPV8
GI | 397053 | LCL | HPV56REF. 1 | HPV56
GI | 1020290 | LCL | HPV66REF. 1 | HPV6
GI | 9627377 | LCL | HPV53REF. 1 | HPV5
GI | 396973 | LCL | HPV30REF. 1 | HPV30
GI | 397022 | LCL | HPV45REF. 1 | HPV45
GI | 717266 | LCL | HPV97REF. 1 | HPV
GI | 60975 | LCL | HPV18REF. 1 | HPV18R
GI | 71726685 | LCL | HPV68REF. 1 | HPV
GI | 333245 | LCL | HPV39REF. 1 | HPV39
GI | 1173493 | LCL | HPV70REF. 1 | HPV7
GI | 4574720 | LCL | HPV85REF. 1 | HPV8
GI | 557236 | LCL | HPV59REF. 1 | HPV59
GI | 9627334 | LCL | HPV34REF. 1 | HPV3
GI | 1491692 | LCL | HPV73REF. 1 | HPV7
GI | 397038 | LCL | HPV52REF. 1 | HPV52
GI | 222386 | LCL | HPV58REF. 1 | HPV58
GI | 333049 | LCL | HPV33REF. 1 | HPV33
GI | 3228267 | LCL | HPV67REF. 1 | HPV6
GI | 333031 | LCL | HPV16REF. 1 | HPV16
GI | 396997 | LCL | HPV35REF. 1 | HPV35
GI | 333048 | LCL | HPV31REF. 1 | HPV31
GI | 22023568 | LCL | HPV91REF. 1 | HPV
GI | 40804474 | LCL | HPV43REF. 1 | HPV
GI | 9627389 | LCL | HPV7REF. 1 | HPV7R
GI | 397014 | LCL | HPV40REF. 1 | HPV40
GI | 333211 | LCL | HPV42REF. 1 | HPV42
GI | 9627327 | LCL | HPV32REF. 1 | HPV3
GI | 9629720 | LCL | PTPV1REF. 1 | PTPV
GI | 61010 | LCL | PTPV1REF. 1 | PTPV1R
GI | 60295 | LCL | HPV13REF. 1 | HPV13R
GI | 27462483 | LCL | HPV74REF. 1 | HPV
GI | 1020242 | LCL | HPV44REF. 1 | HPV4
GI | 60955 | LCL | HPV6REF. 1 | HPV6REF
GI | 333026 | LCL | HPV11REF. 1 | HPV11
GI | 9628437 | LCL | HPV54REF. 1 | HPV5
GI | 9626032 | LCL | HPV2REF. 1 | HPV2R
GI | 396964 | LCL | HPV27REF. 1 | HPV27
GI | 60882 | LCL | HPV57REF. 1 | HPV57R
GI | 12084981 | LCL | HPV71REF. 1 | HPV
GI | 71726710 | LCL | HPV106REF. 1 | HPV
GI | 22138122 | LCL | HPV90REF. 1 | HPV
GI | 320526310 | LCL | CGPV1REF. 1 | CG
GI | 15741127 | LCL | HPV86REF. 1 | HPV
GI | 14475578 | LCL | HPV87REF. 2 | HPV
GI | 2187589 | LCL | HPV114REF. 1 | H
GI | 12958167 | LCL | HPV84REF. 1 | HPV
GI | 71726718 | LCL | HPV102REF. 1 | HPV
GI | 5059324 | LCL | HPV83REF. 1 | HPV8
GI | 9628574 | LCL | HPV61REF. 1 | HPV6
GI | 1491683 | LCL | HPV72REF. 1 | HPV7
GI | 40804509 | LCL | HPV81REF. 1 | HPV
GI | 39932599 | LCL | HPV62REF. 1 | HPV
712
GI | 22095322 | LCL | HPV89REF. 1 | HPV
GI | 397005 | LCL | HPV3REF. 1 | HPV3RE
GI | 339639364 | LCL | HPV125REF. 2 | H
GI | 1020202 | LCL | HPV28REF. 1 | HPV2
GI | 40804528 | LCL | HPV94REF. 1 | HPV
GI | 256807724 | LCL | HPV117REF. 1 | H
GI | 9627257 | LCL | HPV10REF. 1 | HPV1
GI | 2911558 | LCL | HPV77REF. 1 | HPV7
GI | 1020210 | LCL | HPV29REF. 1 | HPV2

GCCTATAGGTTTATTAATAAACTCTGCTACTACCTGTGACGCG---TAACGC
GCATATAGGTTTATTAATAAATTACGCTACTACATGTCAACG---CGATGC
GCATATAGGTTTGTAGAAATGCAGCTACTAGCTGTCAAAA---GGACAC
GCCTATCGATTTGTAATAAATGCAGCAACATCCTGTCAAAA---GGACAG
AAATATAGATATGTTAGAAGCACAGCTATAACATGTCAACG---GGAACA
AAATATAGGTTATTAATAAAGCACAGCTATTACATGTCAAG---GGAACA
AAATACAGATATGTGAAAAGTGCAGCTATAACCTGTCAAAA---GGATCA
AAATACAGATATGTTAAAAGCCTTGCTATAACCTGTCAAAA---GGATCA
ACATATCGTTTTGTGCAATCAGTTGCTGTTACCTGTCAAAA---GGATAC
ACATATCGTTTTGTGCAATCAGTTGCTGTTACCTGTCAAAA---GGATAC
ACATATCGTTTTGTGCAATCAGTTGCTGTTACCTGTCAAAA---GGATAC
ACATACCGCTTACCTACAATCAGCAGCAATTACATGTCAAAA---GGACGC
ACTTACAGATACCTACAGTCTGCAGCCATTACATGTCAAAA---GGATGC
ACGTATAGGTTTACAATCAGCAGCTATAGCATGTCAAAA---GGATGC
ACATATAGGTTTACAGTCATCTGCCATTACATGTCAAGAA---GGATGT
ACATACCGTTTTGTTCAATCTGCTGTAACCTGTCAAAA---GGATGC
ACATATAGATATGTTACTTACAGGCCATTACATGTCAAGCG---TCCGCA
ACATATAGATATGTAACATCACAGGCTATTAGTTGCCAAGC---TCCCTCA
ACATACAGATTTGTCACTTCTACTGCTATAAATTGTCAAAA---AAACAC
ACATATAGATTTGTTACCTCCAGGCTATTACTTGCCAAA---AACAGC
ACCTATAGGTTTGTACCTCAGGCTATTACGTGTCAAAA---AACAGT
ACATATAGATTTGTTACCTCGCAGGCTATTACCTGTCAAAA---AACATC
ACTTATAGGTTTGTAAACATCCCAGGCAATTGCTTGTCAAAA---ACATAC
ACATATCGTATGTAACATCACAGGCTGTAACCTGTCAAAA---ACCCAG
ACCTATAGGTTTGTACCTCACAGGCCATTACATGTCAAAA---AACTGC
ACTTATCGTTTTTGGCTAATAAGGCAATTGCCTGTCAAAA---AAATGT
ACTTATCGTTTTTGTCTAACAAGGCCATTGCATGTCAAAA---AAATGC
ACTTATAGGTTTCTTACCAATAAAGCCATAGCATGTCAAGC---TGATGC
ACATATAGGTTTCTTACCAACAAGGCTATTGCCTGTCAAGC---GATGC
AGTTATAGGTTATGTACAATCAGAAGCTATTGCTGTCAAGC---TAAGGT
AGTTATAGATTTGTGCAAGTCTCAGGCCATACGATGTCAAGC---TAAGGT
ACATATAGATATGTTAGTCTCAGGCCATAACGTGTCAAAA---ACCTAC
ACATATAGATTTGTTCAAGTCTCAGGCTATTACATGTCAAAA---ACCTAC
ACATATAGATATGTACAATCTCAGGCCATAACGTGTCAAAA---GCCTAC
ACCTACAGATATGTGCAAGTCTCAGGCTATTGCATGTCAAAA---GCCTAC
AAATACAGATATGTGCAAGTCCCAGGCCATTACATGTCAAAA---GCCACC
ACCTATAGGTTATGTGCAAGTCCCAGGCCATTACCTGTCAAAA---GCCACC
ACTTATAGATATGTACAGTCAAGGCCATTACCTGTCAAGAA---ACCCAC
ACATATAGGTTTGTACAGTCAAGGCCATTGCATGTCAAAAAGAAATATG
ACCTATAGATATTTGCAGTCCCAGGCTATTACATGTCAAAAACCTACA--
ACTTATAGATTTTGCAGTCCCAGGCTATTACCTGTCAAGAAACCTACG--
ACCTACAGGTTTGTCAATCCCAAGCGATAACATGTCAAGAAAGCCACA--
ACCTACCGTTTTTACAGTCTCAGGCCATAACCTGTCAAGAAACAGTCC
ACCTATAGGTTTACAGTCCCAGGCCATAACATGTCAAAAAGCCCTCCGC
ACCTACCGTTTCTACAGTCCCAGGCTATTTCCTGTCAAAAACCTCTGC
ACCTACAGGTTTCTGCAAGTCCCAGGCCATAACATGTCAAAAAGCCCTCAGC
ACCTACCGTTTTCTGCAAGTCCCAGGCCATTACCTGTCAAAAAGGGGCTAC
ACATACCGATACCTTCAAGTCCCAGGCCATTACATGTCAAAAAGGGGCTGC
ACCTACAGGTTTCTACAGTCCCAGGCCATTACCTGTCAAAAAGGGGCTGC
ACCTATAGGTTTCTGCAAGTCCCAGGCCATTACCTGTCAAAAAGGGGCTGC
ACCTATAGGTTTCTGCAAGTCCCAGGCCATTACCTGTCAAAAAGGGGCTGC
ACATATCGTTTTTACAGTCTCAGGCCATTACCTGTCAAAAAGGGGCTGC
ACATATCACTATTTGCAAGTCCCAGGCCATTACATGTCAAAAAGGGGCTGC
ACATATCGTTTTTACAGTCTCAGGCCATTACCTGTCAAAAAGGGGCTGC
ACCTATAGATTTTAACTTCTCTGCCATTACCTGCCAGAAAG---ATGC
ACTTACCGATTTTAACTTCTCTGCCATTACCTGCCAGAAAG---AGAC
ACGTATAGGTTTCAATCTTCTCTGCCATTACCTGTCAAAAAG---ATGC
ACTTATAGGTTTCTGCTCCTCCGCAATAAATTGTCAAGG---AGGC
ACGTATAGATTTTGTCTCCTCTGCCATAAATTGTCAAGG---ATGC
ACATATAGATTTTGTCTCTCTCAGCCATTACTTGTCAAGG---ATAC
ACATATAGGTTTGTAAAGTCTCTGCCATTACATGTCAAAAAG---ATGT
ACGTATAGGTTTGTAAACATCTCTGCCATAAATTGTCAAAAAG---ATTT