

Frequency of human papilloma virus genotypes among woman with genital lesions, in Sanandaj, Iran

Hajibagheri K., MD¹, Abaszade A., MD², Afrasiabian Sh., MD³, Verdi F., MD⁴, Roshani D., PhD⁵, Abdi F., Medical Student⁶, Mohsenpour B., MD⁷

1. Assistant Professor, Department of infectious disease, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

2. Specialist in Infectious Disease, Department of Infectious Disease, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

3. Associate Professor, Department of infectious disease, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

4. Dr Verdi's medical laboratory, Sanandaj, Iran.

5. Associate Professor, Department of Epidemiology and Biostatistics, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

6. Medical Student, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

7. Associate Professor, Department of infectious disease, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, Tel: +98-87-33664958, behzadmohsenpour@yahoo.com

ABSTRACT

Background and Aim: Genital wart is the most common sexually transmitted infection and its role in cervical cancer has been confirmed. The aim of this study was to determine the presence of human papillomavirus (HPV) and the frequency of its genotypes in the patients with genital lesions referring to the clinics in Sanandaj, Iran.

Material and Method: This descriptive analytical study included 50 women with genital lesions referring to the clinics in Sanandaj City from February 2016 to February 2017. Biopsy samples were examined for four genotypes (HPV 16, 18 (high risk) and HPV 11, 6 (Low risk)) by PCR. Demographic information and risk factors were recorded in a questionnaire for every patient. Using spss v.20 software, data were analyzed by descriptive statistics. Fischer test was used to investigate the relationship between the risk factors and HPV infection.

Results: The results showed that 28 cases (56%) were HPV positive. Among the four genotypes of HPV, HPV 6 was the most frequent (32%), followed by the types of 18 (12%), 16 (6%) and 11 (2%). Co-infection of HPV-16 and 18 were found in 2 cases (7.1%). The mean age of the patients with HPV infection was 34.07 ± 8.7 years and the mean age of the first sexual contact was 21.22 ± 4.8 years. No significant association was found between the risk factors and HPV infection ($P > 0.05$).

Conclusion: Considering the high prevalence of HPV infection and its asymptomatic course in many cases, early detection and treatment of the genital warts, especially HPV16 and 18, can lead to prevention of cervical cancer.

Keywords: Human papillomavirus, Genotype, Genital lesion, PCR

Received: Feb 5, 2018

Accepted: July 23, 2018

بررسی فراوانی ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) و ژنوتیپ های آن در زنان مبتلا به

ضایعات ژنیتال در شهرستان سنندج

کتابون حاجی باقری^۱، عاصفه عباس زاده^۲، شهلا افراسیابیان^۳، فرزانه وردی^۴، دائم روشنی^۵، فرید عبدی^۶، بهزاد محسن پور^۷

۱. استادیار، گروه بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.
۲. متخصص بیماریهای عفونی، گروه بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.
۳. دانشیار، گروه بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۴. دکترای علوم آزمایشگاهی، آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر وردی، سنندج، ایران
۵. دانشیار، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران .
۶. دانشجوی پزشکی، کمیته ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.
۷. دانشیار، گروه بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران .، تلفن ثابت: ۰۸۷-۳۳۶۶۴۹۵۸ behzadmohsenpour@yahoo.com

چکیده:

زمینه و هدف: ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) عامل یکی از شایعترین عفونتهای ویروسی منتقله از راه جنسی است که نقش آن در ابتلا به سرطان دهانه رحم به اثبات رسیده است. هدف از این مطالعه تعیین حضور ویروس پاپیلومای انسانی و بررسی فراوانی ژنوتیپ های آن در مبتلایان به ضایعات ژنیتال در زنان مراجعه کننده به کلینیک زنان شهر سنندج میباشد.

روش بررسی: مطالعه حاضر، یک مطالعه توصیفی - تحلیلی بود که در آن از ضایعات ژنیتال ۵۰ نفر از زنان مراجعه کننده به کلینیکهای شهرستان سنندج از تاریخ بهمن ۱۳۹۴ لغایت بهمن ۱۳۹۵ نمونه برداری انجام و به بخش مولکولی آزمایشگاه ارسال شدند و با استفاده از روش PCR از نظر حضور HPV و تعیین چهار ژنوتیپ 16, 18 (پر خطر) و 6, 11 (کم خطر) مورد بررسی قرار گرفتند. همزمان با تهیه نمونه از بیماران با تکمیل پرسشنامه ای که از قبل تهیه شده بود اطلاعات دموگرافیک و ریسک فاکتورها ثبت شد. داده ها توسط نرم افزار SPSS و با استفاده از آمار توصیفی آنالیز شدند و جهت بررسی ارتباط ریسک فاکتورها با عفونت HPV از تست فیشر استفاده شد.

یافته ها: نتایج نشان داد در ۵۶٪ نمونه های مورد مطالعه ژنوم HPV شناسایی گردید. فراوانی ژنوتیپهای حاضر در کل نمونه ها شامل ۳۲٪، ۱۲٪، ۶٪ و ۲٪ به ترتیب برای ژنوتیپ های ۱۸، ۱۶، ۱۱ و ۱۶ بودند. عفونت توام تیپ های ۱۶ و ۱۸ در ۴٪ از نمونه ها دیده شد. همچنین میانگین سنی افراد HPV مثبت 34.07 ± 8.7 سال و میانگین سن اولین تماس جنسی 21.22 ± 4.8 سال بوده است. بین ریسک فاکتورهای بررسی شده با عفونت HPV ارتباط معنی دار آماری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

نتیجه گیری: از آنجا که عفونت با این ویروس گاهی علامتی ندارد و با توجه به شیوع بالای آن در این مطالعه و سایر مطالعات تشخیص به موقع بخصوص ژنوتیپ های ۱۶ و ۱۸ و درمان سریع آن می تواند از تبدیل این زخم ها به مشکلات پیشرفته مانند سرطان جلوگیری نماید.

کلید واژه: ویروس پاپیلومای انسانی، ژنوتیپ، ضایعات ژنیتال، واکنش زنجیرهای پلیمرز

و وصول مقاله: ۹۶/۱۱/۱۶ اصلاحیه نهایی: ۹۷/۴/۱۰ پذیرش: ۹۷/۵/۱

نرمال قرار دارند احتمال ابتلا به بدبخیمی در آنها بیشتر است (۱۴).

بنابراین جهت شناسایی بیمارانی که در خطر پیدایش ضایعات بدخیم تناسلی هستند، تعیین ژنوتیپ HPV در نمونه های بافتی میتواند ارزشمند باشد (۱۵). ژنوتیپ ۱۶ به عنوان شایعترین تیپ ویروس پاپیلومای انسانی در سراسر جهان شناخته شده است (۱۶). با این حال توزیع انواع تیپ های دیگر ویروس در جوامع مختلف متفاوت گزارش شده است (۱).

در ایران نیز آمار رسمی در این زمینه وجود ندارد و نتایج بدست آمده از مطالعات انجام گرفته نیز تفاوت قابل توجهی با هم دارند. با توجه به شیوع بالای ضایعات ژنیال ویروس پاپیلوم انسانی در زنان در شهر سنج و وجود ندارد این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) و ژنوتیپ های آن در زنان مبتلا به ضایعات ژنیال در شهرستان سنج انجام گرفت.

روش بررسی

در یک مطالعه توصیفی-تحلیلی که در شهرستان سنج از تاریخ بهمن ۱۳۹۴ لغایت بهمن ۱۳۹۵ انجام شد، زنانی که بدلیل وجود ضایعات ژنیال به کلینیک زنان بیمارستانهای آموزشی مراجعه میکردند تحت بررسی قرار گرفتند. روش نمونه گیری به صورت سر شماری انجام شد. ابتدا چک لیستی که شامل اطلاعات دموگرافیک بیمار، سن اولین تماس جنسی، روش پیشگیری از بارداری، سابقه مصرف داروهای کورتون، مصرف سیگار، شغل و سابقه بیماریهای امیزی در همسر بود توسط کادر درمان تکمیل گردید، سپس نمونه برداری از ضایعات بوسیله متخصص زنان در شرایط استریل گرفته شده و در محیط Standard Transport Medium به بخش ملکولی آزمایشگاه ارسال گردید.

سرطان سرویکس چهارمین سرطان شایع در بین کل زنان و دومین سرطان شایع زنان در سنین ۱۵ تا ۴۴ سالگی در جهان است. برآوردهای اخیر نشان می دهد که سالانه ۲۶۵،۶۷۲ زن به سرطان سرویکس مبتلا شده و ۲۶۵،۶۷۲ نفر از این بیماری می میرند که سهم کشورهای کمتر توسعه یافته خیلی بیشتر است (۱). ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) عامل یکی از شایعترین عفونتهای ویروسی منتقله از راه جنسی است که نقش آن در ابتلا به سرطان دهانه رحم به اثبات رسیده است (۲و۱). میزان بروز سرطان سرویکس ناشی از HPV در بین کشورهای مختلف آسیا به ازای هر ۱۰۰۰۰۰ نفر زن از ۲ درصد در فلسطین تا ۲۹.۴ درصد در قزاقستان متغیر است. در ایران این میزان ۲.۸ درصد برآورد شده است (۲).

بیشتر از ۲۰۰ نوع مختلف از این ویروس شناسایی شده که به گروه های کم خطر و پر خطر تقسیم میشوند (۳و۴). شایعترین ژنوتیپ های کم خطر ویروس پاپیلومای انسانی تیپ های ۶ و ۱۱ هستند که اغلب منجر به ایجاد ضایعات خوش خیم مانند زگیل های تناسلی و ضایعات پیش سرطانی با درجه تمایز کم میشوند (۵و۶). انواع پرخطر HPV از جمله تیپ های ۱۶ و ۱۸ به عنوان شایعترین علل ایجاد سرطان سرویکس و دیگر سرطان های انورژنیال مطرح میباشند (۷).

بیشتر عفونت های HPV موقت و بدون علامت هستند و به صورت خودبخود بهبود می یابند (۸) و تنها نسبت کمی از این عفونتها باقی مانده که منجر به نئوپلاسمی های داخل اپیتلیالی سرویکس و سرطانهای مهاجم میشود (۹-۱۱). تیپ های ۱۶ و ۱۸ HPV مسئول ۷۰٪ از موارد سرطان دهانه رحم در سراسر جهان هستند (۱۲). همچنین این دو تیپ ویروس علت بروز ۸۰٪ سرطان های واژن و ۹۲٪ سرطان های انال می باشند (۱۳). زنانیکه در معرض الودگی تیپ های ۱۶ و ۱۸ ویروس با یا بدون سیتولوژی

پس از استخراج DNA کنترل کیفی و بررسی کیفیت قطعات DNA جدا شده از نمونه ها با استفاده از روش PCR و جفت پرایمرهای (5- ACACA ACTGTGTTCACTAGC-3) PCO3: (5- و PCO4: CAACTTCATCCACGTTACC-3) که قطعه ای از ژن B-Globin انسانی را تکثیر مینمایند ، انجام شد (۱۷).

از نمونه های مثبت از نظر وجود ژن B-Globin جهت انجام HPV-PCR استفاده گردید. برای تعیین نوع ژنوتیپ از کیت های (Hayan Teb GEN Tehran Iran) که برای تعیین دو ژنوتیپ (high risk) 16, 18 و دو ژنوتیپ (low risk) 6, 11 طراحی شده اند ، طبق دستور شرکت سازنده استفاده گردید.

پروتکل اجرای این طرح مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کردستان بود. از کلیه بیماران جهت شرکت در مطالعه رضایتنامه اخذ شد و بر اساس معاهده هلسینکی تمام جنبه های حفاظت از اطلاعات شخصی شرکت کنندگان، توسط محققان مورد توجه قرار گرفت.

داده های جمع آوری شده وارد نرم افزار SPSS (ویرایش ۲۰) گردید و با استفاده از روشهای آماری توصیفی از جمله جداول توزیع فراوانی نتایج ارائه شدند. جهت بررسی ارتباط ریسک فاکتورها با عفونت HPV از تست فیشر و مقایسه میانگین سنی افراد HPV مثبت و منفی از تست تی استفاده شد .

یافته ها

در مطالعه انجام شده در بین ۵۰ نفر از زنان مورد بررسی با ضایعات ژنیتال حضور HPV در نمونه ۲۸ نفر (۵۶٪) از آنها مثبت گزارش شد. در میان آنها شایعترین ژنوتیپ درگیر تیپ ۶ با فراوانی (۳۲٪) ۱۶ مورد بود و سایر ژنوتیپ ها به ترتیب فراوانی شامل ۱۸، ۱۶ و ۱۱ بودند . عفونت چندگانه در دو نمونه مشاهده گردید که عفونت توأم ژنوتیپ های ۱۶ و ۱۸ بودند (جدول ۱) .

همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است میانگین سنی در گروه HPV مثبت $34/07 \pm 8/78$ سال و میانگین سن اولین تماس جنسی در آنها $21/22 \pm 4/83$ سال بوده است . در ۸۲٪ از آنها ضایعه در خارج از واژن قرار داشت . همه آنها متاهل (۹۶٪) و حدود نیمی از آنها شغل همسرانشان کارمند (۵۳٪) بود .

در افراد HPV مثبت سابقه مصرف OCP ، داروهای کورتونی، استعمال دخانیات و همچنین سابقه ابتلا به بیماریهای امیزی در افراد و همسران آنها به ترتیب ۵۷٪، ۵۳٪، ۲۵٪، ۴۶٪ و ۷۸٪ بود که فراوانی این ریسک فاکتورها در آنها در مقایسه با افرادی که وجود HPV در نمونه گرفته شده از آنها منفی گزارش شد ، بیشتر بوده هر چند این اختلاف از نظر آماری معنی دار نشد ($P > 0/05$) (جدول ۲).

جدول ۱: فراوانی ژنوتیپهای ویروس پاپیلوما انسانی در ۵۰ نفر از زنان مبتلا به ضایعات ژنیتال

ژنوتیپ	تعداد (درصد)
N=50	
HPV+	۲۸ (۵۶٪)
۶	۱۶ (۳۲٪)
۱۱	۱ (۲٪)
۱۶	۳ (۶٪)
۱۸	۶ (۱۲٪)
۱۶، ۱۸	۲ (۴٪)

جدول ۲: توزیع فراوانی ویروس پاپیلوما ی انسانی بر حسب ریسک فاکتورهای کانسر سرویکس در زنان مبتلا به ضایعات ژنیتال مراجعه کننده به کلینیک زنان در شهرستان سنندج

Pvalue	HPV- تعداد (%)	HPV+ تعداد (%)	متغیر
۰/۶۵	۳۷/۸۵ ± ۱۰/۴۷	۳۴/۰۷ ± ۸/۷۸	میانگین سنی
۰/۷۷	۲۲/۴۵ ± ۵/۲۲	۲۱/۲۲ ± ۴/۸۳	میانگین سن ازدواج
			وضعیت تاهل
	۲۰ (%/۹۰/۹)	۲۸ (%/۱۰۰)	متاهل
۰/۱۸	۲ (%/۹/۱)	۰ (%/۰)	مجرد
			شغل همسر
	۸ (%/۳۶/۳۶)	۱۵ (%/۵۳/۶)	کارمند
	۴ (%/۱۸/۱۸)	۷ (%/۲۵)	کارگر
۰/۱۹	۱۰ (%/۴۵/۴۵)	۶ (%/۲۱/۴)	آزاد
۰/۳۳	۸ (%/۳۶/۴)	۱۳ (%/۴۶/۴)	سابقه بیماری امیزی
			محل ضایعه
	۱ (%/۴/۵)	۵ (%/۱۷/۹)	داخل واژن
۰/۱۶	۲۱ (%/۹۵/۵)	۲۳ (%/۸۲/۱)	خارج واژن
۰/۵۶	۵ (%/۲۲/۷)	۷ (%/۲۵)	مصرف سیگار
۰/۱۷	۸ (%/۳۶/۴)	۱۵ (%/۵۳/۶)	سابقه مصرف کورتون
۰/۱۹	۹ (%/۴۰/۹)	۱۶ (%/۵۷/۱)	مصرف قرص ضد بارداری
۰/۱۹	۱۳ (%/۵۹/۱)	۲۲ (%/۷۸/۶)	سابقه بیماریهای امیزی در همسر

بحث

پلازی های اینترا اپیتلیال می گردد. متاسفانه این سرطان در کشورهای در حال توسعه از شیوع بیشتری برخوردار است. در مطالعه حاضر وجود HPV در ۵۶ درصد از کل افراد مبتلا به ضایعات ژنیتال مثبت گزارش گردید.

ویروس پاپیلوما ی انسانی عامل اصلی سرطان دهانه رحم می باشد. عفونت پایدار با تیپ های پر خطر ویروس پاپیلوما ی انسانی به مدت طولانی منجر به سرطان دهانه رحم و نئو

در مطالعات دیگری که در ایران انجام شده شیوع HPV در بین زنان با سیتولوژی نرمال سرویکس ۰/۶ تا ۳۲/۵ درصد گزارش شده است (۲۴-۱۸). بالا بودن میزان این آمار در مطالعه ما نسبت به آمارهای دیگر مطالعات شاید به این علت باشد که افراد مراجعه کننده همگی مشکوک به ابتلا بودند در صورتی که در دیگر بررسی‌های انجام شده افراد به صورت غربالگری و یا در صورت نرمال بودن جواب پاپ اسمیر انتخاب شده اند.

فراوانی ژنوتیپ های ۶، ۱۱، ۱۶ و ۱۸ در بین زنان بررسی شده در این مطالعه به ترتیب تیپ ۳۲٪، ۲٪، ۶٪ و ۱۲٪ بودند. در بررسی مطالعات مشابه که در شهرهای مختلف ایران انجام شده نیز میزان شیوع HPV تیپ ۶ و ۱۱ در بین زنان ۳ تا ۶ درصد، تیپ ۱۶ حدود ۲/۱ تا ۲۴ درصد و تیپ ۱۸ حدود ۰/۲ تا ۱۰ درصد گزارش شده است (۲۶-۲۲). بنابراین در مطالعه ما شیوع ژنوتیپ های ۶ و ۱۸ در مقایسه با شهرهای دیگر بیشتر میباشد.

طبق آخرین اطلاعات منتشر شده در سال ۲۰۱۷ میلادی، میزان شیوع تیپ های کم خطر ۶ و ۱۱ و پرخطر ۱۶، ۱۸، HPV در بین زنان دنیا با سیتولوژی نرمال به ترتیب ۱/۲٪، ۶/۲٪، ۲/۳٪ و ۰/۵٪، ضایعات سرویکس با درجه پایین ۶/۲٪، ۲/۹٪، ۱۹/۳٪ و ۶/۵٪، ضایعات سرویکس با درجه بالا ۲/۳٪، ۱/۳٪، ۴۵/۱٪ و ۶/۸٪ و در افراد مبتلا به کانسر سرویکس ۰/۵٪، ۰/۴٪، ۴۵/۱٪ و ۱۴/۲٪ گزارش شده است (۱) که بیانگر بالا بودن میزان شیوع تیپ ۶ و ۱۱ در افراد مبتلا به ضایعات سرویکس با درجه پایین و نیز ارتباط قوی شیوع تیپ های ۱۶ و ۱۸ با کانسر سرویکس میباشد.

نتایج این مطالعه نشان داد افراد HPV مثبت از میانگین سنی کمتری برخوردار بوده و همچنین میانگین سن اولین تماس جنسی افراد HPV مثبت پایینتر میباشد که این نتایج

با دیگر مطالعات انجام شده همخوانی دارد (۲۹-۲۷). مطالعات اپیدمیولوژیک مهم ترین عوامل خطر برای ایجاد سرطان دهانه رحم ناشی از عفونت HPV را سن پایین بهنگام اولین مقاربت، وجود شرکای جنسی متعدد و تعدد مقاربت می دانند و دیگر عوامل ذکر شده شامل تعداد بارداری ها، پیدایش اولین بارداری در سنین پایین و قبل از ۱۸ سالگی، تماس جنسی با مردان پرخطر (مردانی که با زنان متعدد تماس جنسی دارند)، مصرف طولانی مدت قرص های ضد بارداری خوراکی، کشیدن سیگار، وضعیت اجتماعی و اقتصادی پایین، عدم رعایت بهداشت تناسلی و مصرف داروهای کاهش دهنده سیستم ایمنی میباشد (۱). در مطالعه ما سابقه مصرف OCP، داروهای کورتونی، استعمال دخانیات و همچنین سابقه ابتلا به بیماریهای امیزشی در افراد و همسران آنها در افراد HPV مثبت نسبت به افرادی که وجود HPV در نمونه گرفته شده از آنها منفی گزارش شد، بیشتر بود هر چند این اختلاف از نظر آماری معنی دار نشد.

نتیجه گیری

در مطالعه حاضر ۵۶ درصد افراد HPV مثبت بوده اند. از آنجا که عفونت با این ویروس گاهی علامتی ندارد و با توجه به شیوع بالای آن در این مطالعه و سایر مطالعات، تشخیص به موقع به خصوص ژنوتیپ های ۱۸ و ۱۶ و درمان سریع آن می تواند از تبدیل این زخم ها به مشکلات پیشرفته مانند سرطان جلوگیری نماید. همچنین توجه به عوامل زمینه ساز مانند سن ازدواج، مصرف قرص های ضد بارداری مصرف سیگار و کنترل این عوامل در بروز مشکلات و تبدیل به خطرات و مشکلات پیشرفته جلوگیری نمود.

این مقاله حاصل پایان نامه مقطع دکترای حرفه ای پزشکی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان میباشد.

Reference

1. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Albero G, Serrano B, Mena M, Gómez D, et al. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. Summary Report 27 July 2017. [Date Accessed].
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base. [serial online] 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>.
3. Skerlev M, Grce M, Sirotkoviæ-Skerlev M, Husnjak K, Lipozen i J. Human papillomavirus male genital infections: clinical variations and the significance of DNA typing. *Clin Dermatol* 2002; 20: 173–8
4. Clavel C, Masure M, Bory JP, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M, et al. Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women. *Br J Cancer* 2001; 84: 1616–23.
5. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12–9.
6. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518–27.
7. Roush SW, McIntyre L, Baldy LM. Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention 2008: 4.
8. Steben M, Duarte-Franco E. Human papillomavirus infection: epidemiology and pathophysiology. *Gynecol Oncol* 2007; 107: S2-S5
9. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55: 244-65.
10. Parkin DM, Bray F. The burden of HPV-related cancers. *Vaccine* 2006 ; 24: S11-S25.
11. Giuliano AR, Nyitray AG, Kreimer AR, Pierce Campbell CM, Goodman MT, Sudenga SL, et al. EUROGIN 2014 roadmap: Differences in human papillomavirus infection natural history, transmission and human papillomavirus related cancer incidence by gender and anatomic site of infection. *Int J Oncol* 2015; 136: 2752-60.
12. Clifford G, Franceschi S, Diaz M, Munoz N, Villa LL. HPV type-distribution in women with and without cervical neoplastic diseases. *Vaccine* 2006; 21: 24:S26-S34
13. McCormack PL, Joura EA. Quadrivalent Human Papillomavirus (Types 6, 11, 16, 18) Recombinant. *Vaccine (Gardasil)*. *Drugs* 2010; 70: 2449-74.
14. Das BC, Murthy NS, Sharma JK, Singh V, Sehgal A, Gopalkrishna V, et al. Human papillomavirus and cervical cancer in indian women. *Lancet* 1989; 334: 1271.
15. Arora R, Kumar A, Prusty BK, Kailash U, Batra S, Das BC. Prevalence of high-risk human papillomavirus (HR-HPV) types 16 and 18 in healthy women with cytologically negative Pap smear. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 121: 104-9.
16. Bosch FX, Burchell AN, Schiffman M, Giuliano AR, de Sanjose S, Bruni L, et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine* 2008; 26: 10-16.
17. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 1988; 239: 487-91.

18. Eghbali S, Amirinejad R, Obeidi N, Mosadeghzadeh S, Vahdat K, Azizi F, et al . Oncogenic human papillomavirus genital infection in southern Iranian women: population-based study versus clinic-based data. *Virology* 2012; 9: 194.
19. *Shahramian I, Heidari Z, Mahmoudzadeh-Sagheb HR, Moradi A, Forghani F.* Prevalence of HPV Infection and High Risk HPV Genotypes (16, 18), among Monogamous and Polygamous Women, In Zabol, Iran. *Iranian J Public Health* 2011; 40:113-21.
20. Zandi K, Eghbali SS, Hamkar R, Ahmadi S, Ramedani E, Deilami I, et al. Prevalence of various Human Papillomavirus (HPV) genotypes among women who subjected to routine Pap smear test in Bushehr city (south west of Iran) 2008-2009. *Virology* 2010; 7: 65.
21. Jamali Zavarei M, Hamkar R, Ghobadi Dana V, Delforoosh M, Shojamoradi MH, Modarresi Gilani M. Prevalence of HPV infection and its association with cytological abnormalities of Pap smears in Tehran. *Iranian J Publ Health* 2008; 37: 101–06.
22. Khodakarami N, Clifford GM, Yavari P, Farzaneh F, Salehpour S, Broutet N, et al . Human papillomavirus infection in women with and without cervical cancer in Tehran, Iran. *Int J Cancer* 2012; 131: E156-61.
23. Moradi A, Bakhshandeh Nosrat S, Besharat S. Molecular Epidemiology of High-Risk Types of Human Papillomaviruses (16, 18) in Pap-Smear, the North East of Iran. *Iran J Cancer Prev.* 2011; 4(3): 135–140.
24. Safaei A, Khanlari M, Momtahn M, Monabati A, Robati M, Amooei S, et al . Prevalence of high-risk human papillomavirus types 16 and 18 in healthy women with cytologically negative pap smear in Iran. *Indian J Pathol Microbiol* 2010; 53: 681-5.
25. Ghaffari SR, Sabokbar T, Mollahajian H, Dastan J, Ramezanzadeh F, Ensani F, et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes in women with normal and abnormal cervical cytology in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2006; 7: 529-32.
26. Hamkar R, Azad TM, Mahmoodi M, Seyedirashti S, Severini A, Nategh R. Prevalence of human papillomavirus in Mazandaran Province, Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J* 2002;8:805-11.
27. Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, McQuillan G, Swan DC, Patel SS, et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA* 2007; 297: 813–9.
28. Kahn JA, Lan D, Kahn RS. Sociodemographic factors associated with high-risk human papillomavirus infection. *Obstet Gynecol* 2007; 110: 87–95.
29. Manhart LE, Holmes KK, Koutsky LA, Wood TR, Kenney DL, Feng Q, et al. Human papillomavirus infection among sexually active young women in the United States: implications for developing a vaccination strategy. *Sex Transm Dis* 2006; 33: 502–8.