

7
921 Res. 2do.
MED Tesis 2005 R.173 i
7=

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN SIMON
HOSPITAL MATERNO-INFANTIL GERMAN URQUIDI
RESIDENCIA DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA
SEGUNDO AÑO

“IDENTIFICACIÓN Y GENOTIPIFICACION DEL
VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO POR
CITO-HISTOPATOLOGIA Y PCR-RFLP
EN ALTERACIONES CERVICALES
EN HMIGU”

AUTOR: Dr. Victor Ruben Ramirez Mamani
CURSO: Segundo año
TUTOR: Dr. Jaime Barriga Ch.
JEFE DE ENSEÑANZA: Dr. Angel Maida T.

Cochabamba 14 de febrero del 2005


Dr. Jaime Barriga
Médico Ginecólogo
Residencia de Ginecología y Obstetricia
Dr. Angel Maida Terceros
M.P.M. - 200
H. MATERNO INFANTIL GERMAN URQUIDI
COMPLEJO HOSPITALARIO MEDMA

INDICE	PAGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
JUSTIFICACION	3
OBJETIVO GENERAL	4
OBJETIVO ESPECIFICO	4
HIPOTESIS	5
MARCO TEORICO	5
Inmunologia	9
Epidemiologia	11
Clinica	12
Diagnostico	13
Reacción en cadena de la polimeraza	14
DISEÑO METODOLOGICO	17
Tipo de estudio	17
Universo	17
Población	17
Tamaño de la muestra	17
Criterios de inclusión	18
Criterios de exclusión	18
Material y métodos	18
Material de muestra	18
Manejo de la muestra	18
VARIABLES	20
COSTO DE ESTUDIO	20
MATERIAL UTILIZADO POR PACIENTE	20
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	21
ANALISIS DE DATOS	21
RESULTADOS	22
DISCUSION	23
CONCLUSIONES	24
ANEXOS	25

II. INTRODUCCIÓN

El más importante descubrimiento en los últimos 50 años en patología cervical es la fuerte asociación entre la infección del virus papiloma humano (VPH) y el cáncer cervical.

Estudios recientes señalan que la adquisición de una infección por VPH precede y puede predecir la aparición de una lesión intraepitelial escamosa (LIE) o un carcinoma invasor, existiendo una correlación de causa-efecto entre esta infección y la enfermedad cervical.

Existen más de 80 genotipos de VPH conocidos y alrededor de 30 de ellos infectan el tracto genital, según la clasificación de Schneider se consideran VPH de “alto riesgo” los genotipos 16, 18, 24, y 56, que están relacionados principalmente con lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado y carcinoma cervical invasor. De “riesgo intermedio” los genotipos 30, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 58, 59 y 60, que están asociados con lesiones intraepiteliales de alto grado y menos frecuentemente a carcinoma invasor. De “bajo riesgo” los genotipos 6, 11, 40, 42, 43, 44, y 57, se encuentran en los condilomas acuminados y lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado, no en el carcinoma cervical invasor.

El desarrollo de la citopatología que describe un amplio rango de lesiones en la clasificación de Papanicolaou, utilizando raspados cervicales y vulvares y los estudios con biopsias son considerados estrategias importantes en la prevención del cáncer cervical. En citología, para describir las células anormales han sido utilizados varios términos como la Neoplasia Cervical Intraepitelial (NIC) y las displasias; pero actualmente el sistema de Bethesda, que reporta las condiciones precancerosas divididas en Lesiones Intraepiteliales Escamosas (LIE) de bajo grado y LIE de alto grado está siendo más difundido en los laboratorios de citopatología. La mayoría de las LIE de bajo grado (VPH Y NIC I) pueden retornar a la normalidad, pero en un grupo de casos progresan a LIE de alto grado y a carcinoma invasor. Debido a la alta frecuencia de genotipos de VPH de alto riesgo que se han detectado en el cáncer cervical, se hace necesario realizar la tipificación del VPH con el objetivo de detectar las pacientes con esta infección, mantener una vigilancia de las mismas y conducir un tratamiento adecuado para detener la progresión de las lesiones hacia un carcinoma cervical invasor.

Debido a la imposibilidad del virus del papiloma humano para multiplicarse en los sistemas celulares, el diagnóstico de esta infección fue un problema complejo durante muchos años; con el desarrollo de técnicas de biología molecular se han creado métodos de detección para este importante patógeno. Una de las técnicas más utilizadas es la Reacción en cadena de la Polimerasa (conocida por las siglas en inglés de PCR) que ha tenido una gran aceptación debido a su sensibilidad, especificidad y posibilidades de automatización.

En el presente estudio se realiza la detección y tipificación de VPH utilizando la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa combinada con análisis por enzimas de restricción para la tipificación del VPH, en muestra enviadas a INLASA, de pacientes que asistieron a consultas ginecológicas con sospecha citológica o biopsia con cambios histopatológicos sugestivos de infección por VPH.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el servicio de consulta externa de ginecología del Hospital Materno Infantil German Urquidí, se realizan citologías para detección y o diagnóstico de cáncer ginecológico; así mismo en forma indirecta se efectúa el despistaje del VPH, por encontrarse en estrecha relación con el cáncer cervicouterino.

Por otro lado se han reportado citologías convencionales con cambios morfológicos sugestivos de infección por VPH los cuales no son indicativos de presencia del genoma viral. Por lo que surge la necesidad de plantear el siguiente problema:

“Será realmente necesario emplear una metodología, en teoría más sensible y confirmar la presencia de este virus a nivel cervical?”.

IV. JUSTIFICACIÓN

- ❖ Confirmar la presencia de este virus a nivel cervical, contribuirá en la prevención directa de la infección por VPH e indirectamente en el diagnóstico precoz de cáncer de cuello uterino, que constituye una de las primeras causas de muerte en la mujer boliviana. Además de conocer el tipo de virus más frecuente circulante en nuestro

medio y su asociación con LIE de alto grado y LIE de bajo grado. Por tal motivo para el desarrollo de esta investigación se planteó los siguientes objetivos.

V. OBJETIVO GENERAL

- ❖ Detección y tipificación de los tipos de virus del Papiloma Humano en cuello uterino, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y posterior análisis de restricción enzimática (RFLP), en pacientes que acudan a la consulta de ginecología del “HMIGU” de Cochabamba los meses de octubre a diciembre del 2004, con sospecha clínica de infección por VPH y/o citología anormal o cambios histopatológicos en biopsia que indiquen LIE de bajo grado o LIE alto grado.

VI. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ❖ Detectar la presencia del virus del Papiloma Humano en muestras citológicas e histológicas de cuello uterino
- ❖ Detectar la presencia del genoma del virus del Papiloma Humano en muestras citológicas de cuello uterino mediante PCR-RFLP
- ❖ Establecer los tipos de VPH de bajo riesgo, riesgo intermedio y alto riesgo mediante la PCR-RFLP
- ❖ Precisar la coinfección por más de un tipo de VPH
- ❖ detectar la asociación de infección por VPH y la presencia de LIE de alto grado y LIE de bajo grado
- ❖ Establecer la sensibilidad de los métodos citológicos con espátula Ayre y cepillado endocervical- biopsia dirigida de cervix, respecto a las pruebas de biología molecular.
- ❖ Conocer la prevalencia de la infección por VPH
- ❖ Conocer los factores que favorecen la infección por VPH