

BM-8

DETECCIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO POR PCR ANIDADA CON MY09/11 Y GP5+/6+, EN MUESTRAS ENDOCERVICALES DE PACIENTES CON PAPANICOLAOU NORMAL, DE LA CIUDAD DE XALAPA, VERACRUZ, MÉXICO

Yerena Aguilar Clara Elena,¹ Miñón Hernández Alfredo,¹ Ortiz López Rocío,² Ramírez Aguilera Juana.¹ ¹Facultad de Química Farmacéutica Biológica. Universidad Veracruzana, Xalapa, Ver., ²Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León. E-mail: cyerena@uv.mx

Palabras clave: VPH, CaCu, PCR.

Introducción: El cáncer cérvico uterino (CaCu) es una de las enfermedades más frecuentes en las mujeres y es una causa considerable de su mortalidad, correspondiendo al segundo tipo de cáncer a nivel mundial en ellas, precedido solo por el de mama.¹ México ocupa el primer lugar de mortalidad por esta enfermedad.² Múltiples estudios epidemiológicos han concluido que el factor definitivo en la etiología del CaCu es la infección del cérvix por algunos tipos del virus del papiloma humano (VPH). En países en vías de desarrollo, como lo es México, este virus es comúnmente detectado por el estudio citológico Papanicolaou (Pap) y recientemente mediante métodos de Biología Molecular como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), utilizando diferentes juegos de oligonucleótidos para amplificar distintas regiones del genoma viral. La mayoría de los estudios realizados han sido en pacientes con citología anormal y pocos sobre citología normal; de ahí la importancia de haber realizado este estudio, con fines preventivos y predictivos, en pacientes que aun no han presentado daño celular.

Objetivo: Detectar la presencia de virus del papiloma humano (VPH's), en muestras endocervicales de pacientes con Papanicolaou normal, mediante la técnica de PCR anidada.

Metodología: El grupo de estudio se conformo por 123 pacientes atendidas en el Hospital Escuela de Ginecología y Obstetricia de la Universidad Veracruzana cuyos resultados de PAP fueron de citología normal, con rango de de edad de 18-50 años, que dieron su consentimiento por escrito. Las muestras endocervicales se tomaron con citobrush, se colocaron en buffer PBS y se conservaron a 4°C hasta su procesamiento. La extracción del ADN celular se hizo mediante la técnica de proteinasa K, con posterior cuantificación e identificación. La detección del genoma viral se efectuó por PCR anidada con MY09/11 y GP5+/6+, con el fin de incrementar la sensibilidad de detección del VPH.³ Se calculó la prevalencia del virus, la sensibilidad y especificidad del método.

Resultados: Como se muestra en la figura 1, de las 123 pacientes estudiadas, al realizar la amplificación del genoma viral con los oligonucleótidos universales MY09/11, se detectaron 12 pacientes con VPH's positivo, que corresponde a un 9.75 %, mientras que en una segunda amplificación en las muestras negativas usando el sistema de oligonucleótidos GP5+/6+, se detectaron 3 muestras positivas adicionales, haciendo un total de 15 (12.2 %), lo que representa un incremento del 2.43 %. En 108 pacientes (87.82 %), no se detectó la presencia del virus.

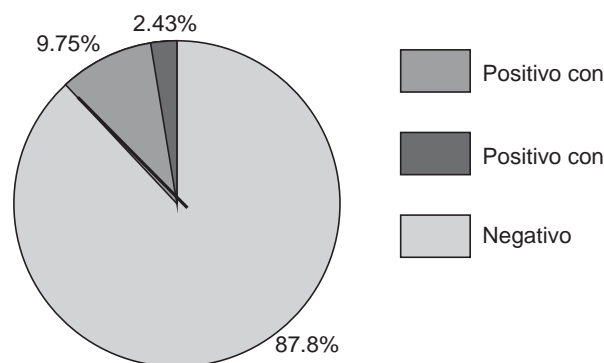


Figura 1. Distribución de los resultados de la determinación de VPH por Nested-PCR en población con diagnóstico citológico normal, en la ciudad de Xalapa, Ver.

Discusión: Los resultados obtenidos (12.2%) de VPH positivo son menores a los de otros estudios similares realizados en la ciudad de México reportados por Torrella que fueron de 17 % y de 23.1 % por Carrillo, y se encuentran entre el rango a nivel global: 3.3 % (Cuzick) a 43.4 % (Zehbel). Al comparar los resultados de la detección de la presencia del VPH en muestras endocervicales por PCR MY y PCR anidada, se encontró que el método que utiliza la reacción de PCR MY presenta una menor sensibilidad y especificidad, así como un valor predictivo positivo bajo.

Conclusión: La presencia del virus en población clínicamente sana resalta la importancia de realizar el tamizaje del VPH mediante técnicas moleculares. La utilización de PCR anidada proporciona una mayor certeza en la detección del virus antes de que produzca anomalías en las células.

REFERENCIAS

1. Schiffman M, Castle P, Jeronimo J, Rodríguez A, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet*. 2007; 370: 890-907.
2. Carrillo A, Mohar A, Meneses A. Usefulness of combining universal oligonucleotides in detecting human papillomavirus in cervical cancer and premalignant lesions. *Salud pública Méx.* 2004 Jan./Feb; 46: 7-11
3. Van den Brule AJC, Po R, Fransen-Daalmeijer N, Schouls LM, Meijer CJLM, Snijders PFJ. GP5+/6+ PCR followed by reverse line blot analysis enables rapid and high-throughput identification of human papillomavirus genotypes. *J Clin Microbiol.* 2002; 40: 779-787.