

# HPV-GENOTÍPUSOK MAGYARORSZÁGON A GENOID LABORATÓRIUM 2005/2006-BAN VÉGZETT 12000 VIZSGÁLATA ALAPJÁN

LEVELEZÉSI CÍM

Dr. Benczik Márta

GenoID

Molekuláris Diagnosztikai Laboratórium

1528 Budapest, Szanatórium u. 18.

HPV GENOTYPES IN HUNGARY BASED ON 12000 SAMPLES  
PROCESSED IN GENOID LABORATORY IN 2005/2006

BENCZIK MÁRTA DR., TAKÁCS TIBOR, JENEY CSABA DR.

*GenoID Molekuláris Diagnosztikai Laboratórium (Ügyvezető Igazgató: Nyíri Miklós)*

## ÖSSZEFOGLALÁS

A Humán papillomavírus (HPV) genotípusok földrajzi eloszlásának és a HPV-genotípus-eloszlás időbeli változásainak követése nagy jelentőségű a HPV16/18 oltás hatásának a méhnyakrákra és a méhnyakrákszűrő-programokra. A magyarországi HPV-fertőzések gyakoriságát egészséges és citológiai elváltozásokat mutató populációban már vizsgálták. A Magyarországi HPV-fertőzések típuseloszlásáról viszont nincsenek széleskörű adatok. Jelen publikációban a GenoID Molekuláris Diagnosztikai Laboratórium központi, automatizált, nagy áteresztőképességű (high-throughput) PCR laboratóriumában 2005/2006-ban végzett több mint 12000 HPV-vizsgálat eredményeit összegeztük. A HPV-pozitív minták több, mint 70%-a a méhnyakrákszűrés során citológiai elváltozásokkal kiszűrt betegek HPV-vizsgálatának eredményei. A GenoID laboratóriumban vizsgált mintákban a HPV-DNS-pozitivitás 40%-os volt, amely megfelel a nemzetközi statisztikákban szereplő bizonytalan citológiájú, úgynevezett ASCUS (atypic squamous cells of undetermined significance) mintákban kimutatható pozitívítási aránynak. A méhnyakrákra magas kockázatú (high risk, HR) HPV-DNS-pozitív mintákat minden esetben tovább vizsgáltuk és meghatároztuk a HPV-genotípusát. A 2005/2006-ban végzett több mint 6000 genotípus-meghatározás eredményét összegezve megállapítható, hogy a citológiai elváltozásokat mutató populációban a leggyakoribb HR-HPV-genotípus a HPV-16 (HPV DNS pozitív minták 17.1%-a) volt, mely megfelel a nemzetközi statisztikákban szereplő ASCUS mintákban tapasztalható HPV-16 pozitívítási rátának. A másik HR oltási típus, a HPV-18 kevésbé gyakori, a HPV-DNS-pozitív minták 4.1%-a, viszont a két oltási típus összesen 21.2%-ban volt kimutatható a HPV-pozitív mintákban. A nyolc leggyakoribb HR-HPV-típus az általunk vizsgált mintákban, gyakorisági sorrendben a következő volt: 16, 31, 51, 33, 58, 56, 39, 18. A HPV-típezés, mely a GenoID Molekuláris Diagnosztikai Laboratóriumban a HPV-diagnosztika szerves része, lehetőséget ad a beteg pontos követésére és rizikóbecslésére, illetve a már szexuális életet élt nők HPV-oltása során az oltási típusokkal való fertőzöttség megállapítására.

**KULCSSZAVAK:** HPV, HPV-típezés, Prevalencia, Méhnyakrák, Szűrés, Triage, Follow-up

## SUMMARY

Obtaining geographical widespread data on human papillomavirus (HPV) genotype-distribution and following its changes by time are essential for estimating the impact of HPV16/18 vaccines on cervical cancer and cervical cancer screening programs. The burden of HPV infections in women with and without cervical cytological disorders has already been studied. Nevertheless there are no published data about the type-distribution of the HPV infections in Hungary. Here we publish the results of more than 12000 HPV tests performed in GenoID Molecular Diagnostic Laboratory, which is a centralized, automatized, high-throughput PCR laboratory in Hungary. More than 70% of the HPV positive samples came from patients with cervical cytological disorders diagnosed by cervical cancer screening programs in 2005/2006. The HPV DNA positivity rate was 40% in the samples, which is similar to previously published international statistics of samples with uncertain cytology results defined as ASCUS (atypical squamous cells of undetermined significance). All samples that were detected positive having high risk (HR) HPV for cervical cancer were genotyped. The analysis of more than 6000 genotyped results we performed in 2006/2007 shows, that the most prevalent HPV genotype among the HPV DNA positive samples was the HPV16 (17.1%) and the other HR HPV vaccine type, HPV18 was less common (4.1%), and altogether they were detected in 21.2% of the cases. The eight most common HR-HPV genotypes in the samples in order of their increasing frequency were HPV16, 31, 51, 33, 58, 56, 39 and 18. HPV genotyping, which is an integral part of the HPV diagnostics in GenoID Molecular Diagnostic Laboratory contributes to proper follow-up and risk assessment of the patients. In connection with preventive HPV vaccination genotyping gives us an opportunity to determine the viral status before vaccinating sexually active women.

**KEY WORDS:** HPV, HPV-typing, Prevalence, Cervical cancer, Screening, Triage, Follow-up



GYNOFLOR  
hüvelytabletta

MEDICO

**BEVEZETÉS**

A humán papillomavírus (HPV) klasszikus virológiai módszerekkel nem tenyészthető, kimutatása molekuláris technológiával a HPV-DNS detektálásával lehetséges. A nemzetközi protokollokban alkalmazott tömeges HPV-szűrővizsgálatok kielégítésére szükséges olyan nagy áteresztőképességű (high-throughput) technológia alkalmazása, amely elérhető áron, kellően érzékeny és specifikus, standardizálható és lehetőleg részben vagy teljesen automatizálható módon képes a HPV-fertőzöttség kimutatására, és ezen belül a magas kockázatú HPV-fertőzések detektálására, illetve genotipizálásra. A GenoID Molekulárdiagnosztikai Laboratórium egy ilyen központi high-throughput PCR laboratórium, ahol 2005/2006-ban feldolgozott több mint 12000 minta HPV-genotipizálását végeztük, melyek eredményeiről számolunk be jelen publikációnkban.

**A HPV-DIAGNOSZTIKA JELENTŐSÉGE**

A HPV az egyik leggyakoribb nemi úton terjedő kórokozó. Ismert, hogy a HPV jelenléte szoros összefüggést mutat egyes rákmegelőző állapotok előfordulási gyakoriságával és bizonyos rákos megbetegedésekkel, mint a méhnyakrák [1].

A HPV a méhnyakrákok 99.7%-ában kimutatható. Különböző HPV-genotípusok különböző kockázatot jelentenek a méhnyakrák kialakulására. A kockázat mértéke alapján alacsony (low-risk, LR) és magas kockázatú (high-risk, HR) csoportokat határoztak meg. A nem klasszifikált (nem azonosított kockázatú, NA) anogenitális HPV-típusok képezik a harmadik csoportot [2].

A HPV fertőzés igen gyakori, kumulatív lifetime incidenciája 70-80% számos országban. Ugyan szerencsére legtöbb HPV-fertőzött nő szervezete képes leküzdeni a vírusfertőzést hosszú távú következmények nélkül, de bizonyos százalékukban perzisztáló HPV-fertőzés alakul ki, ami a cervix rákmegelőző állapotához illetve méhnyakrákhoz vezethet [3]. A HPV-perzisztencia genotípus függő kockázatot jelent a méhnyakrák kialakulására [4]. A HPV16-os fertőzés 5 éves fennállása 40%-os abszolút kockázatot jelent a méhnyakrák súlyos fokú rákmegelőző állapotára, a CIN-3-ra (cervicalis intraepithelialis neoplasia-3-as fokozata)[5].

A méhnyakrák szűrővizsgálatok (citológia, kolposzkópia) az utóbbi 50 évben igen sikeresek voltak a méhnyakrák megelőzésében [6]. Anglia, Kanada és Skandinávia területén végzett széleskörű vizsgálatok kimutatták, hogy a citológiai szűrés hatására csökkent a méhnyakrák incidenciája, viszont a hatékonysága széles skálán mozgott. Megállapították, hogy a primer citológiai szűrés 1-3 évenként ismételve tud kellően biztonságos lenni a rákmegelőző állapotok és a kezelhető rákok kimutatására [7].

Mindezek miatt az utóbbi időben egyre nagyobb az érdeklődés világszerte a magas kockázatú HPV-DNS-kimutatásra és típus meghatározásra a méhnyakrák szűrő programokban a citológiai vizsgálatok kiegészítéseként [8]. Bizonyos országokban (pl. Egyesült Államok) a HPV-vizsgálat a primer méhnyak szűrés területén is elfogadott, a citológia mellett. Tehát ezekben az esetekben a HPV és a citológia vizsgálat eredményeinek közös értékelése alapján határozzák meg a további teendőket.

A két módszer együttes alkalmazása bizonyul legoptimálisabbnak a méhnyakrák korai felismerésében, illetve a kezelésre került betegek követésében [9].

A Magyarországon alkalmazott protokollban a HPV-kimutatást az előzetes citológiai szűrést követően kell végezni a bizonytalan citológiai eredmények megerősítésére (reflex HPV-teszt). A méhnyakrák szűrés során két egymást követő, úgynevezett „borderline”, azaz nem egyértelmű citológiai eredmény (P3, a Papanicolaou skála szerint; illetve ASCUS, a Bethesda skála szerint), illetve alacsony malignitású citológiai diagnózisok (LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion) megerősítésre, illetve a további kockázat becsülésére végezhető a társadalombiztosítás (OEP) által finanszírozott magas kockázatú HPV-kimutatás, mely a GenoID laboratóriumban automatikusan HPV-típusozási eredménnyel is kiegészül. Ajánlott HPV-tesztet végezni a citológiai indikáció alapján végzett műtétet követő első citológiai vizsgálat és szövettani mintavétel esetén [10], mely szintén a társadalombiztosítás által finanszírozottan vehető igénybe hazánkban.

**PCR-TECHNOLÓGIA A HPV-KIMUTATÁSÁRA**

Több mint 100 féle HPV-genotípus ismert, melyek közül mintegy 50 féle okoz anogenitális fertőzést, és ezek közül 14 féle HPV-típust sorolnak a HR-HPV csoportba [11]. A minőségi betegellátás érdekében szükséges az összes anogenitális HPV-típus, azon belül különösen a HR-HPV-típusok kimutatása. Ezeknek a szükségleteknek a kielégítésére nagy szenzitivitású és nagy specifitású technológia szükséges, amely képes a különböző HPV-típusok között pontos különbséget tenni. A GenoID által kifejlesztett Full Spectrum HPV PCR detektáló kit és tipizálás az egyik ilyen tulajdonságokkal bíró diagnosztikai platform.

A klinikai gyakorlatban alkalmazott HPV-kimutatási technikák két fő csoportba sorolhatók, az egyik a target DNS-t amplifikálja (DNS amplifikációs technológia), a másik a HPV-DNS detektálását eredményező szignált amplifikálja (jelamplifikációs technológia). A világon legelterjedtebb HPV kimutatási technika a jelamplifikációs elven működő hybrid capture technika (Hybrid Capture-2, HC-2, Digene), amely egy DNS/RNS hibrid képződé-

sét mutatja ki a HPV-DNS és az RNS-próbamix között keletkezett jel amplifikálásával. Hátránya, hogy nem ad tipizálási eredményt, és ismert bizonyos keresztreagálási és ál-pozitivitási tulajdonsága [12].

A DNS-amplifikációs technika a polymerase chain reaction (PCR), amely képes az izolált DNS-ből több milliányi másolatot (kópiát) készíteni az amplifikációs ciklusok során. A detektált HPV típusa az alkalmazott primer-szettől függ. Az összes klinikailag jelentős mucosális HPV-genomot amplifikáló legelterjedtebb primerek az irodalomban a MY09/11 és PGMY09/11 [13] a GP5/6 és GP5+/6 [14], az SPF [15] és az L1C [16] primerek. A GenoID által kifejlesztett Full Spectrum HPV kit L1F/L1R primerei a HPV-genom L1 régióját amplifikálják, melynek tulajdonságairól és validálásáról korábbi publikációinkban olvashatnak részletesen [17]. A technológia röviden a HPV-genom konzervált L1 régiójának amplifikálása és a HPV típus meghatározás, mely a PCR-termék detektálása típus specifikus próbákkal végzett hibridizálással.

Számos jelentős publikáció jelent meg a magyarországi HPV kutatási eredményekről [18-21], azonban ez az első közlemény, amely több mint 12000 HPV-vizsgálat tipizálási eredményét összegzi.

#### MÓDSZEREK

##### VIZSGÁLATI ALANYOK

A GenoID Molekuláris Diagnosztikai Laboratórium-ba 2005/2006-ban HPV diagnosztikára érkezett minták (n=12354 minta), melyből összesen 6447 HPV-genotipizálást végeztünk.

##### MINTA ELŐKÉSZÍTÉSE DNS-PREPARÁLÁSHOZ

A különböző transzport csőben (PBS, azaz phosphate buffered saline pH 7.4 (Sigma) (in house gyártott), PreservCyt (Cytoc), érkezett sejt minták (cervix, urethra, hüvelyváladék, hámkaparek) centrifugálása (5000g, 10 perc) és mosása egyszer PBS-oldattal. A sejttüledék emésztése 250 µl proteinase-K (2.5 mg/ml proteinase-K, 0.01 M TRIS-HCl pH8, 0.001 M EDTA pH8, Sigma) enzimmel 56°C-on 1 órán keresztül, melyhez standard mennyiségű, HPV esetén 200 kópia végkoncentrációban belső kontroll (IC) adása. Ondó minta hígítása 15 ml-re PBS-sel, majd ebből 2 ml feldolgozása a sejt minták protokollja szerint. Condyloma és egyéb szövetminták esetében a minta előzetes darabolása, majd a szövetdarabok 125 µl PBS-ben 5-ször fagyasztása/olvasztása (-20 °C fagyásig/5 perc 100 °C), az így feltárt szövethez 125 µl szöveti proteinase-K (5 mg/ml proteinase-K, 0.01 M TRIS-HCl pH8, 0.001 M EDTA pH8, Sigma) adása és inkubálása 56°C-on 1 órán keresztül. Vizelet minta (8 ml) üledékéből kiindulva az egyéb sejt minták protokoll alkalmazása, azzal kü-

lönbséggel, hogy a proteinase-K emésztés után a mintához 5%-os Chelex (Biorad) adása, majd inkubálása (100°C-on 20 perc) szükséges a lehetséges PCR gátló anyagok eltávolítása érdekében.

*DNS preparálása* proteinase-K emésztett mintákból nagy áteresztőképességű (high-throughput) TECAN RSP150 robotikus platformon, saját fejlesztésű software rendszerben, 96 lyukú plate formátumban, módosított szilika-alapú technológiával, saját gyártású reagensekkel [17, 22]. A PCR minőségű DNS-termék (150 µl) elegendő több mint 12 vizsgálatra.

*HPV kimutatása high-throughput PCR alapú technológiával*, a GenoID Full Spectrum kitjének adaptációja a TECAN RSP150 robotikus platformra. A folyamat röviden a következő lépésekből áll: kórokozó-specifikus PCR plate összemérése a GenoID software úgynevezett „cherry-picking” programjával. A különböző DNS-plate-ekből az adatbázissal kommunikáló program segítségével a robot kiválogatja azokat a mintákat, amelyekből HPV-vizsgálatot kértek, és átpipettázza egy 96 lyukú PCR plate-be. A TECAN software fejlesztése során külön figyelmet fordítottunk a robot biztonságos, kontamináció-mentes pipettázási programjának kifejlesztésére, mely napi közel 1000 PCR-reakció összemérés ellenére is kevesebb, mint 1%-os kontamináció-gyakoriságot eredményez. Ez a hatékonyság kézi pipettázással gyakorlatilag lehetetlen. Továbbiakban a PCR-vizsgálat és a HR/LR HPV detektálása a Full Spectrum kit-leírás szerint történik. A Full Spectrum HPV HR/LR kimutatás érzékenysége a minta előkészítése és a preparálás során keletkezett veszteségeket, és bemérési koncentrációkat figyelembe véve 2000 kópia/ml minta érzékenységgű, mely hasonló, a nemzetközi protokollokban alkalmazott HC-2 (Digene) reakció érzékenységgel [17].

*HPV tipizálás* során minden HR-pozitív mintát típus-specifikus próbákkal, a GenoID in-house validált HPV-tipizáló kitje szerint tipizáltunk. A HR-HPV pozitívítás esetén a jelenleg ide sorolt 14 féle HR genotípus (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) tipizálásával végeztük. A LR-HPV pozitív (6, 11, 42, 43, 44) mintákat nem tipizáltuk, közösen detektáltuk 2006-ban (azóta bevezettük a HPV-6 és 11 típusok genotipizálását, míg a többi LR-HPV (42, 43, 44) típust változatlanul közösen detektáljuk). A se nem HR, se nem LR típusú HPV-pozitív mintákat NA-HPV csoportban (2a, 3, 7, 13, 26, 27, 28, 29, 30, 34, 40, 53, 54, 57, 61, 67, 70, 72, 73, 74, 81, 82, 83, 84, 87, 89, 90, 91) közösen detektáltuk, nem tipizáltuk.

#### EREDMÉNYEK

HPV-vizsgálatra főleg nőgyógyászok és kisebb számban bőrgyógyászok, bőr- és nemi beteg gondozók, urológusok, proktológusok küldenek mintákat a GenoID



GENO/003

**GYNOFLOR**  
hüvelytabletta

M  
MEDICO UNO

Molekuláris Diagnosztikai Laboratóriumba. 2005-ben 3828, míg 2006-ban 8526 mintát dolgoztunk fel HPV kimutatása céljából, melyek 118 városból illetve településről érkeztek országos mintaszállító hálózattal.

A minták nemek szerinti eloszlásában értelemszerűen a nők domináltak 96%-kal, míg a férfiak csak 4%-ot képeztek 2006-ban. Ez az arány hasonló volt 2005-ben is. A betegeket korosztályi eloszlásuk alapján négy csoportba soroltuk, melyből a 26-45 évesek száma volt a legmagasabb 68%-kal, míg a 15-25 évesek (17%) és a 46-65 évesek (13%) mintegy hasonló mértékben voltak reprezentálva. A 65 év felettiiek előfordulása elenyésző volt 0.5%-kal.

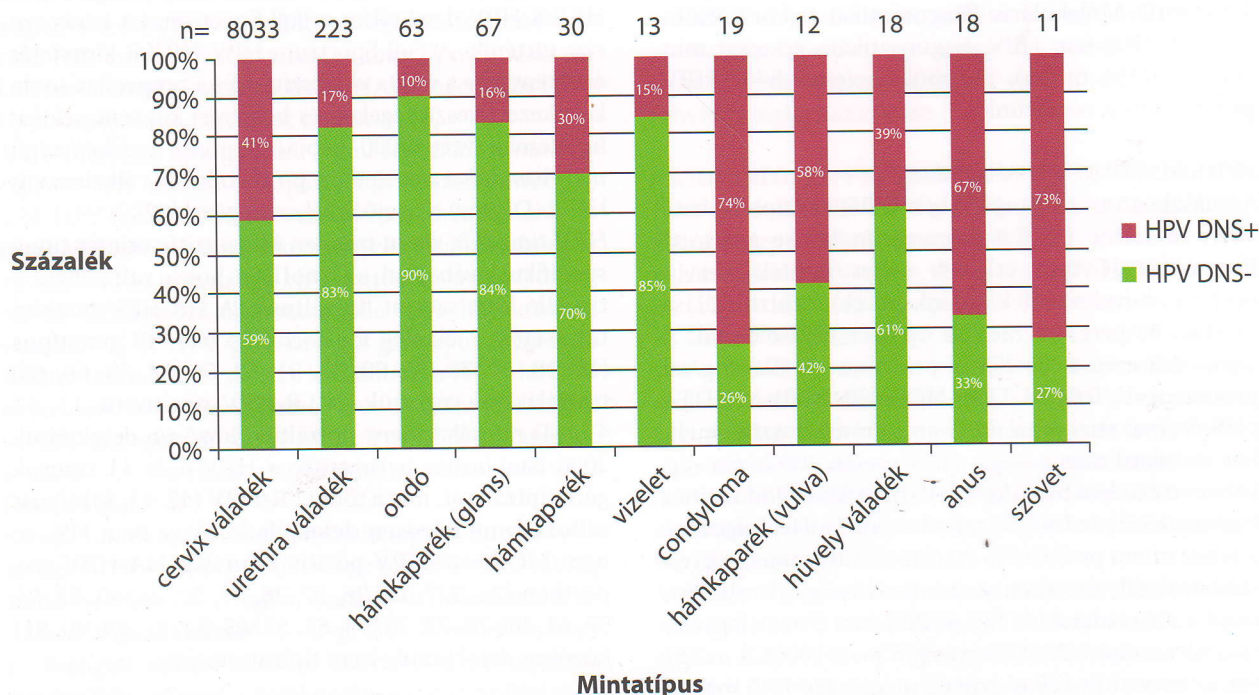
A HPV-vizsgálatok HPV-DNS pozitivitási rátája 40% körül mozgott mind a két évben, ami egyértelműen magasabb, mint a korábban publikált random populációban, ahol átlagosan 17,5% volt [19]. Ez azzal magyarázható, hogy a minták túlnyomó többségének korábban diagnosztizált citológiai eltérése volt (reflex HPV-vizsgálat), vagy méhnyakrák megelőzését szolgáló nőgyógyászati beavatkozás után kontroll céljából végezték. Hasonló mértékű, azaz átlagosan 42.2%-os HPV-DNS-pozitivitást mutattak ki egy tanulmányban, mely összefoglalta azokat a mostanában publi-

kált metaanalíziseket, melyek a HPV-diagnosztika klinikai alkalmazásaival foglalkoztak, és a vizsgálatban ASCUS-pozitív citológiájú mintákat követően HPV-DNS-meghatározást végeztek [10].

A HPV-kimutatásra elsősorban cervikális minták érkeznek a laboratóriumba. A HPV-vizsgálatok mintatípusonkénti eloszlását és a pozitivitási rátákat összesítettük (1. ábra). A cervix minták (n=8033) 41%-a volt pozitív, míg az egyéb típusú minták száma jelentősen alacsonyabb és a pozitivitási arányuk széles skálán mozog. A condyloma/szövet mintákban volt a legmagasabb a pozitivitási ráta, míg az ondó esetében a legalacsonyabb. A mintavétel jellegéből adódóan a vizelet és az ondó pozitivitása nem kizárt, hogy az urethrából és a glansról lesodródó HPV-fertőzött sejtek okozta kontamináció eredménye. Figyelemre méltó, hogy az analízis minták esetében igen magas a HPV-pozitívitas, ami összefügghet a szexuális szokásokkal és a HPV végbélrákban betöltött etiológiai szerepével [23].

2006-ban HPV-DNS-pozitív minták kockázati típusok szerinti eloszlása alapján (2. ábra) a HPV-fertőzések legtöbbször magas kockázatú (67%) típusok voltak, míg az alacsony kockázatúak 8,6%-ban voltak kimutathatóak. A nem klasszifikált rizikójú (HPV-NA) típusok

HPV DNS vizsgálatok minták szerinti pozitivitási rátája 2006-ban



1. ábra. 2006-ban HPV-vizsgálatra érkezett minták típuseloszlása és pozitivitási rátája. A minták jelentős része cervix minta, 40% körüli pozitivitással, míg az egyéb típusú minták száma jóval alacsonyabb és a pozitivitási arányuk széles skálán mozog. (Genotype distribution and positivity rate for the HPV samples in 2006. Most of the samples were cervix, with a positivity rate of 40 percent, the percentage of rest of the sample types was much lower with a wide range of positivity rate.)

GENO/003

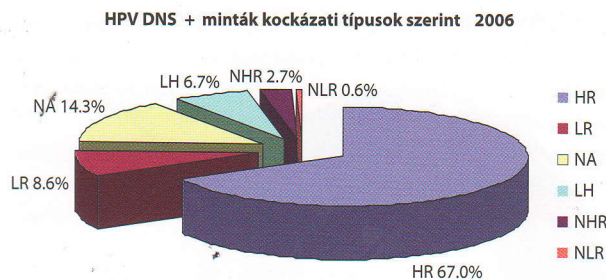


# GYNOFLOR

hüvelytabletta



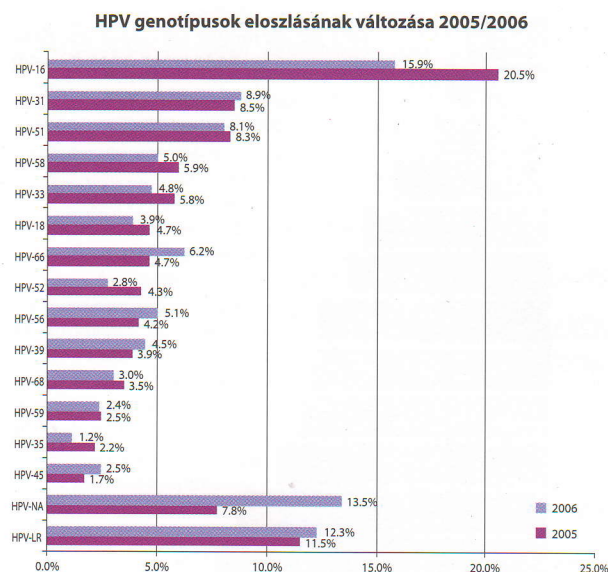
MEDICO BRP



**2. ábra.** HPV-DNS-pozitív minták kockázati típusok szerinti eloszlása (2006). A HPV-fertőzéseket legtöbbször egy típus okozza. A többszörös fertőzések lehetnek különböző kockázatú HPV-típusok kombinációi, melyeket az alábbiak szerint jelöltük: LH: LR-HPV és HR-HPV; NHR: NA-HPV és HR-HPV; NLR: NA-HPV és LR-HPV. (HPV-DNS-positive samples' distribution by risk groups (2006). HPV-infections are caused by single type HPV. Multiple infections could be the variation of HPV-types with different risk groups like: LH: LR-HPV and HR-HPV; NHR: NA-HPV and HR-HPV; NLR: NA-HPV and LR-HPV.)

14,3 %-kal a második leggyakoribb csoportot képezték a pozitív mintákban. A multivalens fertőzések lehetnek különböző kockázatú HPV-típusok kombinációi, melyek közül a HR és LR HPV együttes előfordulása volt a leggyakoribb (6.7%).

A 2005/2006-ban végzett HPV-tipizálási eredményeket genotípusonként csoportosítottuk (3. ábra). Mindkét évben, a legmagasabb százalékban a 16-os típus fordult elő a mintákban 16-20%-ban. Ezt követően 2006-ban a leggyakoribb HPV-típusok a 31, 51, 66, 56, 58, 33, 39 és a 18. A HPV-típusok eloszlásában kis mértékű ingadozás mutatkozott a két évet összehasonlítva, azonban a HPV 16-ot kivéve az eltérés egyik típus esetében sem volt nagyobb két százaléknál. A 16-os típus alacsonyabb előfordulási százalékát 2006-ban okozhatta a két év alatt HPV-vizsgálatra küldött minták citológiai elváltozásainak különbözősége, ugyanis ha a 2006-os minták átlagos citológiai státusza alacsonyabb szintű volt, mint a 2005-ben érkezett mintáké (erről sajnos nem áll rendelkezésünkre kellően pontos információ), akkor a HPV 16-os fertőzések számának statisztikai valószínűsége is alacsonyabb, mivel a HPV 16 előfordulási gyakorisága fordítottan arányos a citológiai státusszal. Ugyanis ismert, hogy míg a HPV 16 illetve 18 előfordulási gyakorisága a citológiai státusz romlásával az ASCUS-tól LSIL és HSIL-en keresztül a méhnyakrákig haladva emelkedik, addig a többi HPV-típusé csökken. A nem HPV 16 és 18 típusok ASCUS-ban közel azonos gyakoriságúak, mint a HPV-16/18, és előfordulásuk a citológiai státusz romlásával csökkenő tendenciát mutat és a méhnyakrákos megbetegedésekben együttesen mindössze 23-35%-ban mutathatók ki, míg a HPV 16 /18 típusok 65-77%-ban okoz méhnyakrákot [24]. Összesítettük a 2005/2006-ban kimutatott HPV-típusokat egy



**3. ábra.** HPV-genotípusok eloszlásának változása 2005 - 2006-ban. A legmagasabb százalékban a 16-os típus fordult elő a mintákban 16-20%-ban. További leggyakoribb HPV-típusok a 31, 51, 66, 56, 58, 33, 39 és a 18. A HPV-típusok eloszlásában kis mértékű ingadozás mutatkozott, mely a HPV 16 esetében volt a legnagyobb. (Comparison of the HPV-genotypes' distribution in 2005-2006. HPV 16 had the highest rate of 16-20 percent of the samples, followed by 31, 51, 66, 56, 58, 33, 39 and 18. The distribution percentages of the HPV-types have shown small variations, which was the highest in the case of HPV 16.)

kumulatív ábrán (4. ábra), olyan sorrendben feltüntetve a genotípusokat, hogy a HPV preventív vakcinálással megelőzhető HR-típusok okozta fertőzések százalékos eloszlásáról együttes információt kapjunk. Eszerint a HPV 16/18 genotípusok 21,2%-ban voltak kimutathatóak a laboratóriumba küldött HPV-DNS-pozitív mintákból. Ez a pozitívítási ráta a nemzetközi adatok szerint az ASCUS citológiai mintákra jellemző [24].

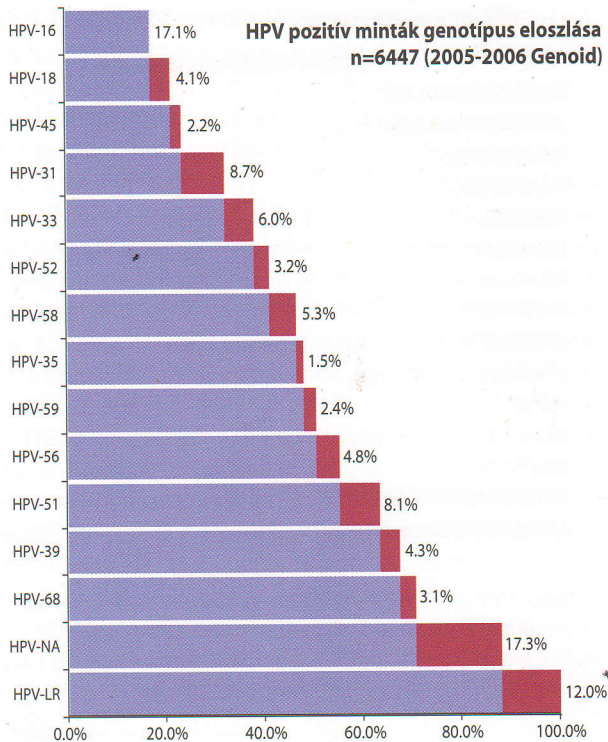
A tipizálási eredmény információt szolgáltat a multivalens fertőzések előfordulási gyakoriságáról is (5. ábra), mely a méhnyakrák kialakulásának további rizikófaktora lehet. Megállapítható, hogy nincs eltérés a két év közötti eredményekben, és a monovalens fertőzések aránya mindkettőben magas (75%), a bivalens fertőzések képezik a minták 18-20%-át, és 5% körüli a kettőnél több típus a mintákban.

#### MEGBESZÉLÉS

A HPV-fertőzés jelentős százalékban átmeneti jellegű, és tünetmentesen elmúlik, azonban kis százalékban tartós maradhat, melynek talaján az évek során méhnyakrák alakulhat ki [5]. A HPV-fertőzések közül a jelenlegi diagnosztikai lehetőségek alapján nem szűrhetőek ki egyértelműen azok az esetek, amelyek méhnyakrák kialakulásának útjára léptek. Bizonyítottan a méhnyakrák

GYNOFLOR  
hüvelytabletta

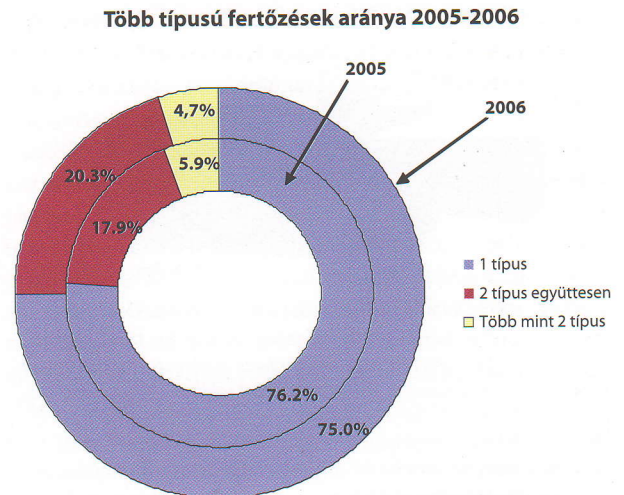
MEDICO UNO



**4. ábra.** A HPV-DNS-pozitív minták genotípus-eloszlása (n=6447) 2005-2006-ban kumulatív diagrammon ábrázolva. A HPV-66 genotípust az NA csoportban szerepeltettük, mert nemzetközi statisztikák alapján a „feltehetően HR-HPV csoportba” tartozik. A HPV pozitív minták 70-75%-a OEP-finanszírozottan, valamilyen fokú citológiai elváltozást követően került HPV-vizsgálatra laboratóriumunkba. (The HPV-DNA-positive samples' genotype distribution (n=6447) in 2005-2006 by cumulative diagram. HPV 66 was included in the NA group, because it belongs to the “probably HR-HPV group” based on the international studies. 70-75 percent of the samples was financed by the national health insurance, and was sent after diagnosing cytological abnormalities.)

kialakulásának feltétele és rizikó tényezője a perzisztáló HPV-fertőzés, illetve egyes HPV-típusok (16, 18, 45) tartós jelenléte [25]. Ezekben az esetekben más protokoll ajánlott a fertőzés követésére [26]. A fokozottabb rizikójú betegek követésének protokollja országonként változó, és jelenleg is zajló vizsgálatok tárgya.

A Magyarországon érvényes finanszírozási előírások szerint a HPV-diagnosztikát meg kell előznie két ASCUS vagy ennek megfelelő bizonytalan pozitív citológiai eredménynek. Egy részletes összefoglaló tanulmány adatai alapján felmerül az a lehetőség is, hogy a ASCUS/AGUS pozitív mintákat rögtön HPV- vizsgálatra érdemes küldeni, mivel a bizonytalan citológia tesztelése HPV-DNS-re sokkal pontosabb eredményt ad, mint a citológia ismétlése a CIN-2+ (cervicalis intraepithelialis neoplasia II fokozat, vagy rosszabb) hisztológiával megerősített elváltozások detektálására [10]. A 7 metaanalízis ösz-



**5. ábra.** Több típusú fertőzések aránya 2006-ban. Megállapítható, hogy nincs eltérés a két év között, és a monovalens fertőzések aránya magas (75%), a bivalens fertőzések képezik a minták 18-20%-át, és 5% körüli a kettőnél több típus a mintákban. (The rate of multiple infections in 2006. There are no differences in the rates of two years. The rate of single infections are high (75 percent) the infections by two HPV-types includes 18-20 percent, by more than two types 5 percent of the samples.)

szegését adó tanulmány szerint a HPV-DNS-teszt érzékenysége átlagosan 14%-kal volt nagyobb (arány:1.14; 95% CI:1.08-1.20), mint az ismételt citológia, míg a specificitásuk hasonló volt (arány: 0.99; 95% CI: 88-1.10). Az ASCUS minták azonnali HPV-tesztelésével tehát egy érzékenyebb módszerrel korábban ki tudnánk szűrni azokat az ASCUS és HR-HPV pozitív betegeket, akiknél szorosabb után követésre van szükség [8], míg a HPV-DNS-negatív esetekben a beteg visszatérhet a rutinszűrési protokollba [27].

A tipizálást lehetővé tevő high-throughput technológiák kifejlesztése fontos lehet a fent említett klinikai igények kielégítésére. A tipizálás áteresztőképességét nagymértékben fokozni képes a multiplex detektálás, melyre több megoldás is található a nemzetközi piacon, azonban áraik miatt még nem tudtak elterjedni a gyakorlatban.

A HPV-tipizálásra költséghatékony megoldást nyújt a GenoID laboratórium in-house validált HPV-tipizáló módszere [17], mely lehetővé tett egy 12000 HPV-vizsgálaton alapuló analízist a 2005/2006-os eredmények alapján. A cervix minták nagy része már bizonyos fokú citológiai elváltozásokkal rendelkező betegektől származott, ezért lehetett magasabb, mint 40% a pozitivitási ráta. A pozitív leletek ezekben az esetekben megerősítik a citológiai eredményt, és segítik a klinikust a szükséges teendők meghatározásában. A HPV-negatív eredmény a bizonytalan citológiai leletek kórokából kizárható a HPV jelenléte, és ennek értelmében a rutin szűrési in-



GENOID/003

# GYNOFLOR

hüvelytabletta



MEDICO UNO

tervállomokban követhető a beteg állapota. A HPV-típi-  
zálás, mely Magyarországon a GenoID HPV-diagnosz-  
tika szerves része, egyben lehetőséget ad a beteg pontos  
követésére és rizikóbecslésére, illetve a HPV-oltás során  
a már szexuális életet megkezdett nők körében az oltási  
típusokkal való fertőzöttség meghatározására. A HPV-  
tipizálás integrálása a méhnyakrák szűrőprogramokba  
még a jövő feladata, melynek alapvető feltétele a meg-  
felelő áteresztőképességű, validált, és költséghatékony  
technológia elterjedése.

#### KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Liszonyi Zsuzsannának fáradhatatlan vezetőasszisz-  
tensi munkájáért, Farkas Szabolcsnak az adatok szá-  
mítógépes összegzésében nyújtott segítségért.

#### IRODALOM

- Parkin DM, Bray F: Chapter 2: The burden of HPV-related cancers. *Vaccine* 2006, 24 Suppl 3:S11-25.
- Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ: Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003, 348(6):518-527.
- Snijders PJ, Steenbergen RD, Heideman DA, Meijer CJ: HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J Pathol* 2006, 208(2):152-164.
- Munoz N, Castellsague X, de Gonzalez AB, Gissmann L: Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine* 2006, 24S3:S1-S10.
- Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S, Villa LL: Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine* 2006, 24 Suppl 3: S42-51.
- Davey DD: Cervical cytology classification and the Bethesda System. *Cancer J* 2003, 9(5):327-334.
- Nanda K, McCrory DC, Myers ER, Bastian LA, Hasselblad V, Hickey JD, Matchar DB: Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med* 2000, 132(10):810-819.
- Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, Szarewski A, Birembaut P, Kulasingam S, Sasieni P et al: Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 2006, 119(5):1095-1101.
- Wright TC, Jr., Schiffman M, Solomon D, Cox JT, Garcia F, Goldie S, Hatch K, Noller KL, Roach N, Runowicz C et al: Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. *Obstet Gynecol* 2004, 103(2):304-309.
- Arbyn M, Sasieni P, Meijer CJ, Clavel C, Koliopoulos G, Dillner J: Chapter 9: Clinical applications of HPV testing: A summary of meta-analyses. *Vaccine* 2006, 24 Suppl 3:S78-89.
- Wiley D, Masongsong E: Human papillomavirus: the burden of infection. *Obstet Gynecol Surv* 2006, 61(6 Suppl 1):S3-14.
- Vernon SD, Unger ER, Williams D: Comparison of human papillomavirus detection and typing by cycle sequencing, line blotting, and hybrid capture. *J Clin Microbiol* 2000, 38(2):651-655.
- Gregoire L, Arella M, Campione-Piccardo J, Lancaster WD: Amplification of human papillomavirus DNA sequences by using conserved primers. *J Clin Microbiol* 1989, 27(12):2660-2665.
- Jacobs MV, de Roda Husman AM, van den Brule AJ, Snijders PJ, Meijer CJ, Walboomers JM: Group-specific differentiation between high- and low-risk human papillomavirus genotypes by general primer-mediated PCR and two cocktails of oligonucleotide probes. *J Clin Microbiol* 1995, 33(4):901-905.
- Kleter B, van Doorn LJ, ter Schegget J, Schrauwen L, van Krimpen K, Burger M, ter Harmsel B, Quint W: Novel short-fragment PCR assay for highly sensitive broad-spectrum detection of anogenital human papillomaviruses. *Am J Pathol* 1998, 153(6):1731-1739.
- Yoshikawa H, Kawana T, Kitagawa K, Mizuno M, Yoshikura H, Iwamoto A: Detection and typing of multiple genital human papillomaviruses by DNA amplification with consensus primers. *Jpn J Cancer Res* 1991, 82(5):524-531.
- Jeney C, Takacs T, Sebe A, Schaff Z: Detection and typing of 46 genital human papillomaviruses by the L1F/L1R primer system based multiplex PCR and hybridization. *J Virol Methods* 2007, 140(1-2):32-42.
- Sapy T, Poka R, Szarka K, Konya J, Huga S, Hernadi Z: Age-specific prevalence of high-risk human papillomavirus infection in a Hungarian female population with positive cytology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007.
- Kornya L, Cseh I, Deak J, Bak M, Fulop V: The diagnostics and prevalence of genital human papillomavirus (HPV) infection in Hungary. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002, 100(2):231-236.
- Konya J, Veress G, Juhasz A, Szarka K, Sapy T, Hernadi Z, Gergely L: Additional human papillomavirus types detected by the hybrid capture tube test among samples from women with cytological and colposcopic atypia. *J Clin Microbiol* 2000, 38(1):408-411.
- Hernadi Z, Gazdag L, Szoke K, Sapy T, Krasznai ZT, Konya J: Duration of HPV-associated risk for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006, 125(1):114-119.
- Younes SA, Csire M, Palyi B, Mikala G, Valyi-Nagy I, Cseh I, Benczik M, Jeney C, Takacs T, Simon E et al: Endotoxins do not influence transplacental transmission of lymphotropic human herpesviruses and human papillomaviruses into amniotic fluid taken from healthy mothers before parturition in Hungary. *Acta Microbiol Immunol Hung* 2007, 54(3):279-303.
- Daling JR, Madeleine MM, Johnson LG, Schwartz SM, Shera KA, Wurscher MA, Carter JJ, Porter PL, Galloway DA, McDougall JK: Human papillomavirus, smoking, and sexual practices in the etiology of anal cancer. *Cancer* 2004, 101(2):270-280.
- Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S: Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005, 14(2):467-475.
- Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, Wacholder S, Sherman M, Scott DR, Rush BB, Glass AG, Schiffman M: The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J Natl Cancer Inst* 2005, 97(14):1072-1079.
- Cuschieri KS, Cubie HA, Whitley MW, Gillison G, Arends MJ, Graham C, McGoogan E: Persistent high risk HPV infection associated with development of cervical neoplasia in a prospective population study. *J Clin Pathol* 2005, 58(9):946-950.
- Safaeian M, Solomon D, Wacholder S, Schiffman M, Castle P: Risk of precancer and follow-up management strategies for women with human papillomavirus-negative atypical squamous cells of undetermined significance. *Obstet Gynecol* 2007, 109(6):1325-1331.

Érkezett: 2008. 03. 21. Közlésre elfogadva: 2008.03.31.