

Strokovni prispevek/Professional article

# HUMANI VIRUSI PAPILOMA PRI ABNORMNIH PLOŠČATIH IN BLAGO DISKARIOTIČNIH CELICAH

## HUMAN PAPILLOMA VIRUS IN THE ABNORMAL SQUAMOUS CELLS AND MILDY DYSKARYOTIC CELLS

Eda Vrtačnik-Bokal<sup>1</sup>, Andrej Možina<sup>1</sup>, Mario Poljak<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ginekološka klinika, Klinični center, Šljamerjeva 3, 1525 Ljubljana

<sup>2</sup> Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Korytkova 2, 1000 Ljubljana

Prispelo 2003-05-14, sprejeto 2003-06-19; ZDRAV VESTN 2003; 72: Supl. II: 55-9

**Ključne besede:** *humani virusi papiloma; abnormne ploščate celice; blaga diskarioza; test po Papanicolaou; rak materničnega vratu*

**Izvleček** – Izhodišča. Dolgotrajna okužba z genotipi humanih virusov papiloma (HPV) z visokim tveganjem predstavlja najpomembnejši etiološki dejavnik za razvoj raka materničnega vratu (RMV), drugega najpogostejšega raka pri ženskah v svetu kot v Sloveniji. Za odkrivanje predrakavih sprememb uporabljamo v Sloveniji in v večini razvitih držav presejalni citološki test po Papanicolaou (Pap). Obravnavanje bolnic s ponavljajočimi se rezultati testa Pap II predstavlja velik in kompleksen klinični in javni zdravstveni problem. V mnogih državah, tudi v Sloveniji, je ponavljanje citoloških preiskav v takih primerih ustaljena klinična praksa, čeprav je občutljivost citološkega testiranja za odkrivanje cervikalnih intraepitelijskih neoplazij stopenj II in III (CIN II, III) sorazmerno nizka. V svetu se kot dopolnilna metoda k citološkemu testiranju pri abnormnih ploščatih celicah in blagih diskariotičnih celicah vse pogosteje uporablja testiranje na prisotnost okužb z genotipi HPV z visokim tveganjem.

Metode in preiskovanke. V našo raziskavo smo vključili 148 žensk s tremi zaporednimi rezultati Pap II (abnormne ploščate celice ali blago diskariotične celice) presejalnega testa Pap v dveh letih. Prevalenco okužb s HPV smo ugotavljali s tremi molekularnimi testi: s testom tekočinske hibridizacije Hybrid Capture II (HCII) (Digene Corporation, Gaithersburg, ZDA) in z dvema različicama verižne reakcije s polimerazo (PCR-PGMY11/PGMY09 in PCR-CPI/CPIIG). Genotipe HPV smo opredelili z metodo encimske razgradnje pridelkov PCR, pomnoženih s skupinsko značilnimi oligonukleotidnimi začetniki PGMY11/PGMY09.

Rezultati. Pri 25,7% žensk smo ugotovili okužbo s HPV. Pri ženskah, starih 30 let in manj, smo dokazali statistično višjo pogostnost okužbe s HPV (37,8%) v primerjavi z ženskami nad 30 let (20,4%). Pri ženskah, starih 30 let in manj, smo kot najbolj pogosto in v enakem deležu opredelili okužbo z genotipoma HPV16 in HPV73 z visokim tveganjem in genotipom HPV26 verjetno tudi z visokim tveganjem, medtem ko smo pri starejših ženskah kot najbolj pogosto in v enakem deležu opredelili okužbo z genotipom HPV16 z visokim tveganjem in genotipom HPV53 verjetno tudi z visokim tveganjem. Vse tri izbrane molekularne metode za dokazovanje okužbe s HPV so se ujemale v 93,2%.

**Key words:** *human papilloma virus; abnormal squamous cells; mildly dyskaryotic cells; Papanicolaou test; cervical cancer*

**Abstract** – Background. A persistent infection with high-risk genotypes of human papilloma viruses (HPV) represents the most important etiologic factor for the development of cervical cancer, the second most frequent cancer in women in Slovenia as well as elsewhere in the world. In the detection of precancerous lesions the cervical Papanicolaou (Pap) smear screening is used in Slovenia and worldwide. Management of patients with repeat abnormal smears (Pap II) represents a great and complex clinical and public health problem; repeat cytologic examinations are the routine procedure in many countries, also in Slovenia, although the sensitivity of Pap smear testing in the detection of cervical intraepithelial neoplasms (CIN) II and III is relatively low. In cases of abnormal squamous cells and mildly dyskaryotic cells the presence of infections with high-risk HPV genotypes is being increasingly used as a complementary method to Pap smear testing.

Methods and patients. In the study we enrolled 148 women who within two years had three subsequent Pap II smears (abnormal squamous cells or mildly dyskaryotic cells). The prevalence of HPV infections was determined using three molecular tests: Hybrid Capture II (HCII) (Digene Corporation, Gaithersburg, USA) and two variants of polymerase chain reaction (PCR-PGMY11/PGMY09 and PCR-CPI/CPIIG). HPV genotypes were determined using the method of enzyme restriction of PCR products multiplied by group-specific oligonucleotide primers PGMY11/PGMY09.

Results. HPV infection was detected in 25.7% of women. In women aged  $\leq 30$  years a statistically significantly higher incidence of HPV infections was found (37.8%) than in women aged  $\geq 30$  years (20.4%). In women aged  $\leq 30$  years most frequent infections, and also equally distributed, were the ones with high-risk genotypes HPV 16 and HPV 73 and with a potentially high-risk genotype HPV 26. In women aged  $\geq 30$  years most frequent infections, and also equally distributed, were the ones with high-risk genotypes HPV 16 and with a potentially high-risk genotype HPV 53. The results of the three chosen molecular methods for the detection of HPV infections matched in 93.2%.

Zaključki. *Izsledki raziskave kažejo, da ponavljanje citoloških preiskav kot način sledenja in odkrivanja predrakavih sprememb v preiskovani populaciji nima posebne vrednosti zaradi nizke prevalece okužbe s HPV, kar posredno kaže na nizko občutljivost in specifičnost citološkega testiranja. Molekularno dokazovanje okužbe s HPV je tako predstavlja občutljiv dopolnilni presejalni test k citološkemu testiranju pri ženskah z abnormnimi ploščatimi celicami ali blago diskariotičnimi celicami.*

## Uvod

Humani virusi papiloma (HPV) so zelo heterogena skupina virusov, ki jih razvrščamo v različne virusne genotipe glede na skladnost nukleotidnih zaporedij. Doslej je popolnoma opredeljenih 91 različnih genotipov HPV (1). Glede na tropizem HPV je vsaj 42 različnih genotipov HPV sluzničnih ali anogenitalnih (2, 3).

S številnimi raziskavami (4–6) so dokazali, da je dolgotrajna okužba z genotipi HPV z visokim tveganjem glavni etiološki dejavnik za nastanek raka na materničnem vratu (RMV). Na vznik RMV pa vplivajo tudi sodejavniki: številnejši spolni partnerji, nižja starost pri prvem spolnem odnosu, redkejša uporaba mehanskih kontracepcijskih pripomočkov, prostitucija, pogostejše okužbe s spolno prenosljivimi mikroorganizmi (7–9), kajenje (10), uporaba hormonske kontracepcije več kot pet let (11), dejavniki okolja, nižja izobrazba, genetski dejavniki in zmanjšana odpornost organizma (8).

RMV se razvije prek različnih stopenj predrakavih sprememb ploščatega epitelijskega tkiva, ki jih lahko ugotovimo vsaj 10 let pred pojavom invazivnega karcinoma (6). Ženske s predrakavimi spremembami materničnega vratu (MV) bistveno pogosteje zbolijo za RMV kot ženske brez takšnih sprememb (12).

Presejanje za množično odkrivanje predrakavih sprememb MV in neinvazivnega raka temelji na analizi citološkega brisa MV, ki ga ocenjujemo po Papanicolaou (Pap) (13, 14). V Sloveniji, pa tudi drugod po svetu, predstavlja spremljanje bolnic s ponavljajočimi rezultati Pap II (abnormne in blago diskariotične celice) klinični in javni zdravstveni problem, predvsem zaradi nizke občutljivosti in specifičnosti citološkega testiranja (15–17). Občutljivost citoloških testov je nizka zaradi napak pri odvzemu materiala, ker se abnormne celice kvantitativno ne prenesejo na razmaz, in zaradi napak pri vrednotenju, ko majhnega števila abnormnih celic med drugimi normalnimi celicami ne odkrijejo. Po podatkih iz literature (15–17) se občutljivost citoloških testov za odkrivanje cervikalnih intraepitelijskih neoplazij druge oz. tretje stopnje (angl. *cervical intraepithelial neoplasia*, CIN II oz. III) giblje med 40–80%. Poleg tega pa citološko presejanje ni zanesljivo pri odkrivanju sprememb žleznega epitelijskega tkiva in adenokarcinoma, ki tudi prispeva k naraščanju incidence RMV (18).

Zaradi dokazane tesne povezave med okužbo z določenimi genotipi HPV in RMV z visokim tveganjem so v nekaterih državah vključili v spremljanje žensk z abnormnimi in blago diskariotičnimi celicami tudi testiranje na okužbe z genotipi HPV z visokim tveganjem (19–21).

Zaradi visoke prevalece prehodnih okužb z genotipi HPV z visokim tveganjem pri ženskah, mlajših od 30 let, in spontanega izginevanja virusa v 80% v prvem letu po okužbi (5, 22) priporočajo uvajanje testa za genotipe HPV z visokim tveganjem kot dopolnitev k presejalnemu programu ali kot primarno presejanje pri ženskah, starejših od 30 let (5, 16, 23). Tako priporočilo je v letu 2003 izdala tudi FDA (Food and Drug Administration, USA).

Namen naše raziskave je bilo ugotoviti prevalenco in porazdelitev genotipov HPV z visokim tveganjem pri slovenskih ženskah s ponavljajočimi se rezultati Pap II v različnih starost-

Conclusions. *Our findings show that repeat Pap smears as the method of follow-up and detection of precancerous lesions do not provide relevant results due to low prevalence of HPV infections in Slovenia, which indirectly indicates low sensitivity and specificity of Pap smear testing. In the detection of HPV infections, molecular methods are thus sensitive screening tests to be used complementary to cytologic tests in women with abnormal squamous cells or mildly dyskaryotic cells.*

nih obdobjih. Prav tako smo želeli oceniti in primerjati ustreznost izbranih visoko občutljivih molekularnih metod za odkrivanje okužbe z genotipi HPV z visokim tveganjem, ki bodo predstavljale dopolnitev k citološkemu testiranju.

## Material in metode

V raziskavo smo vključili 148 brisov MV, ki so bili odvzeti istemu številu bolnic, pri katerih so bile spremembe epitelijskih celic sluznice MV v obdobju dveh let trikrat zapored opredeljene kot Pap II (abnormne ploščate celice ali blago diskariotične celice).

Brisi MV so bili odvzeti na Ginekološki kliniki v Ljubljani z uporabo komercialnega diagnostičnega kompleta *Digene Specimen Collection Kit*<sup>®</sup> (Digene Corporation, Gaithersburg, ZDA). Vzorci so bili shranjeni pri temperaturi -20°C.

Laboratorijski del raziskave je potekal na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani, v Laboratoriju za molekularno mikrobiologijo in diagnostiko aida in hepatitisov.

Preiskovanke smo razdelili v dve skupini. V prvo skupino smo vključili ženske, stare 30 let in manj, v drugo skupino pa ženske, starejše od 30 let.

Prevalenco okužb s HPV smo ugotavljali s tremi molekularnimi testi: s testom tekočinske hibridizacije *Hybrid Capture II* (HCII) (Digene Corporation, Gaithersburg, ZDA) in z dvema različicama verižne reakcije s polimerazo (PCR-PGMY11/PGMY09 in PCR-CPI/CPIIG). Genotipe HPV smo opredelili z metodo encimske razgradnje pridelkov PCR, pomnoženih s skupinsko-značilnimi oligonukleotidnimi začetniki PGMY11/PGMY09.

## Rezultati

V raziskavo smo vključili 148 brisov MV, ki so bili odvzeti 148 ženskam, pri katerih so bile spremembe epitelijskih celic sluznice MV trikrat zapored v obdobju dveh let opredeljene kot Pap II. Povprečna starost žensk je bila 35,9 let. Najmlajša ženska je imela 19 let, najstarejša pa 56 let.

Na podlagi rezultatov treh molekularnih metod za dokazovanje okužbe s HPV (HC II in dve različici PCR) pri izbrani populaciji 148 žensk smo ugotovili prisotnost okužbe s HPV pri 38 ženskah (25,7%). Merilo za prisotnost okužbe s HPV je bil ponovljivo pozitiven rezultat vsaj ene od treh uporabljenih metod za dokazovanje okužbe s HPV.

Pri razdelitvi 148 preiskovanih žensk v dve starostni skupini, na ženske, stare 30 let in manj, in na ženske, starejše od 30 let, je bil delež okuženih žensk s HPV pri mlajših od 30 let 37,8% (17/45), pri starejših od 30 let pa 20,4% (21/103). Razlika v prevalenci okuženih s HPV med obema skupinama je bila statistično pomembna ( $p = 0,038$ ).

Razporeditev genotipov HPV pri 37 ženskah, okuženih s HPV, prikazuje razpredelnica 1. Skupno smo pri 36 ženskah opredelili vsaj en genotip HPV. Vse neopredeljive genotipe smo poimenovali HPVX.

Razpr. 1. *Razporeditev genotipov HPV pri 37 ženskah, okuženih s HPV s ponavljajočimi se rezultati Pap II.*

Table 1. *Distribution of HPV genotypes in 37 patients, infected with HPV and with repeated Pap II smears.*

Genotip HPV HPV genotype	Število žensk Number of patients	Delež žensk (%) Percentage of patients
6b	1	2,7
16	5	13,5
18	1	2,7
31	2	5,4
44	1	2,7
45	1	2,7
51	2	5,4
52	1	2,7
53	4	10,8
56	1	2,7
68	1	2,7
16+34	1	2,7
16+57	1	2,7
18+40	1	2,7
18+51	1	2,7
31+62	1	2,7
52+HP70	1	2,7
51+59	1	2,7
53+62	1	2,7
25+31+73	1	2,7
25+31+candHPV89	1	2,7
25+58+IS39+candHPV89	1	2,7
66+72+73+53	1	2,7
45+73+X	1	2,7
61+81+X	1	2,7
16+39+58+X	1	2,7
25+51+73+X	1	2,7
X	1	2,7
Skupaj Total	37	100

X - neopredeljen genotip (HPV X) / undetermined genotype (HPV X)

Opredeljene genotipe smo glede na onkogeni potencial razvrstili v štiri skupine. Upoštevali smo najnovjša priporočila iz februarja leta 2003 (24). Genotipe HPV6, HPV40, HPV44, HPV61, HPV72, HPV81 in CP6108 smo tako razvrstili v skupino genotipov z nizkim tveganjem, genotipe HPV53 in HPV66 v skupino genotipov z verjetno visokim tveganjem, genotipe HPV16, HPV18, HPV31, HPV39, HPV45, HPV51, HPV52, HPV56, HPV58, HPV59, HPV68 in HPV73 v skupino genotipov z visokim tveganjem in genotipe HPV25, HPV34, HPV57, HPV62, HP70, IS39 v skupino genotipov z nejasnim tveganjem. Tako smo pri 36 ženskah, okuženih s HPV, v 58,2% opredelili genotip HPV z visokim tveganjem, v 11,7% genotip HPV z verjetno visokim tveganjem, v 13,4% genotip HPV z nizkim tveganjem in genotip HPV z nejasnim tveganjem v 16,7%.

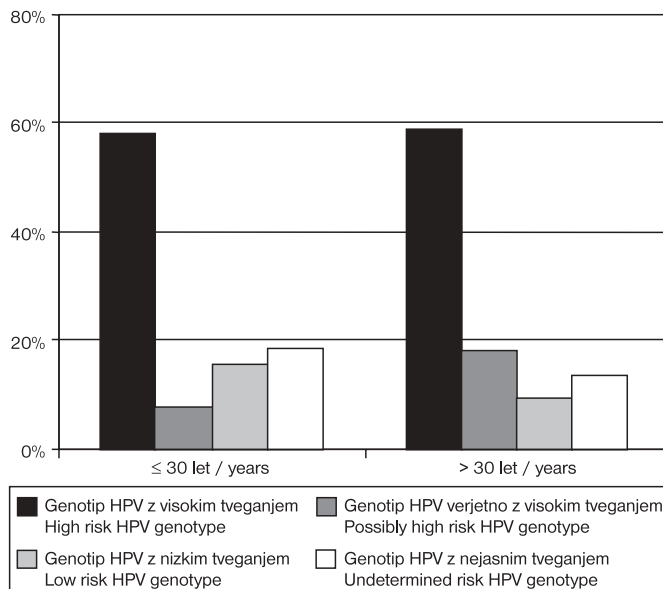
Razporeditev opredeljenih genotipov HPV glede na onkogeni potencial in starost žensk ni bila statistično pomembna in je prikazana na sliki 1.

Prevalenca okužb s HPV, dokazana s pomočjo treh molekularnih metod, je prikazana na sliki 2.

Z metodo HR-HCII smo od skupnega števila 38 HPV pozitivnih vzorcev dokazali okužbo s HPV v 32 vzorcih. Negativni rezultat smo ugotovili v 6 vzorcih pri okužbah z genotipi HPV6b, HPV44, HPV53, HPV68 in pri okužbi s štirimi genotipi hkrati: HPV66+HPV72+HPV73+HPV53.

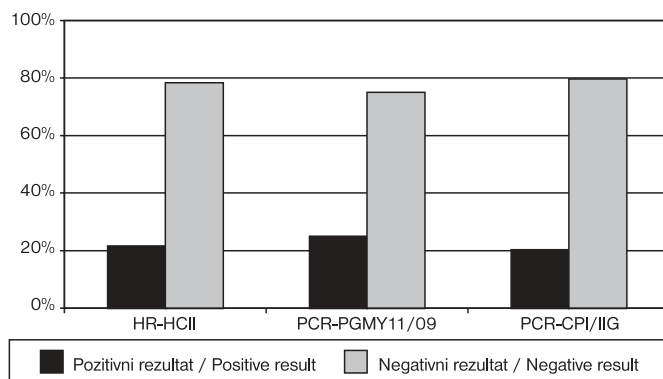
## Razpravljanje

Invazivni RMV je predvsem v razvitih deželah drugi najpogostejši rak pri ženskah (25). To je edina rakava bolezen, pri kateri je z odkrivanjem in zdravljenjem predrakavih sprememb mogoče uspešno preprečiti nastanek invazivne bolezni in zmanjšati umrljivost. Ta dejstva utemeljujejo zahtevo za uva-



Sl. 1. *Razporeditev genotipov HPV glede na onkogeni potencial in starost žensk s ponavljajočimi se rezultati Pap II.*

Figure 1. *Distribution of HPV genotypes according to oncogenic potential and age of the patients with repeated Pap II smears.*



Sl. 2. *Prevalenca okužb s HPV, dokazana s pomočjo treh molekularnih metod (HR-HCII, PCR-PGMY11/PGMY09 in PCR-CPI/IIG) pri ženskah s ponavljajočimi se rezultati Pap II.*

Figure 2. *Prevalence of HPV infections confirmed by three molecular methods (HR-HCII, PCR-PGMY11/PGMY09 in PCR-CPI/IIG) in the patients with repeated Pap II smears.*

janje novih in strokovno preverjenih metod za doseg tega cilja (26, 27).

S pomočjo citološkega pregledovanja razmazov brisa MV žal ni uspelo izkoreniniti RMV s seznama onkoloških bolezni ne v Sloveniji ne v državah z najbolje organiziranim in vodenim presejanjem. Nasprotno, v nekaterih najbolj razvitih deželah število bolnic z RMV celo narašča, predvsem pri mlajših, ki za družino in družbo predstavljajo izjemno pomembno skupino žensk (28).

Glavni etiološki dejavnik za nastanek RMV je dolgotrajna okužba z genotipi HPV z visokim tveganjem (19–21). Zgodnje odkritje okužbe z genotipi HPV z visokim tveganjem pri ženskah s ponavljajočimi citološkimi izvidi z abnormnimi ploščatimi celicami ali blago diskariotičnimi celicami lahko prispeva k uspešnejšemu odkrivanju predrakavih sprememb in posredno k preprečevanju razvoja RMV. Informacija o razpore-

ditvi genotipov HPV pri okuženih ženskah v določeni državi je bistvena za izbor ustreznega presejalnega testa za dokazovanje okužb z genotipi HPV z visokim tveganjem. V prihodnosti bodo ti podatki lahko tudi pomembno prispevali k izboru ustreznega cepiva za preprečevanje okužb s HPV.

V naši raziskavi smo dokazali okužbo s HPV pri 25,7% žensk s ponavljajočimi se rezultati Pap II. Prevalenca okužbe s HPV, ki jo je v določeni populaciji mogoče ugotoviti, je predvsem odvisna od izbire metode za dokazovanje okužbe in od starosti žensk. Merilo za prisotnost okužbe s HPV v naši raziskavi je bil ponovljivo pozitiven rezultat vsaj ene od uporabljenih metod za dokazovanje okužbe s HPV (HC II, PCR). Po razdelitvi preiskovank v dve starostni skupini smo pri ženskah, starih 30 let in mlajših, dokazali statistično pomembno pogostejšo okužbo s HPV (37,8%) v primerjavi z ženskami nad 30 leti starosti (20,4%).

Prevalenca okužb z genotipi HPV z visokim tveganjem je bila v naši raziskavi (15,8%) v primerjavi s podobnimi raziskavami v svetu (31–60%) bistveno nižja (29, 30). To pomeni, da je cervikalni presejalni program v Sloveniji preobremenjen z rezultati Pap II z abnormnimi ploščatimi celicami in blago diskariotičnimi celicami. V našo raziskavo smo vključili samo ženske s ponavljajočimi se rezultati Pap II, ker smo menili, da so to ženske s povečanim tveganjem za razvoj predrakavih sprememb in posredno povečanim tveganjem za razvoj RMV. Ugotovili smo, da je bila kljub strogemu vključitvenemu merilu prevalenca HPV okužbe v naši raziskavi najnižja v primerjavi s podobnimi doslej opravljenimi študijami (29, 30). Izsledki naše raziskave kažejo, da ponavljanje citoloških preiskav kot način sledenja in odkrivanja predrakavih sprememb v preiskovani populaciji ni imelo posebne vrednosti prav zaradi ugotovljene nizke prevalenca HPV. Ta predvidevanja se ujemajo tudi s podatki Monsonega in sod. (31), ki so ugotovili, da se odstotek abnormnih citoloških brisov zaradi strahu pred lažno negativnimi citološkimi izvidi ponekod lahko poveča tudi do trikrat, kar brez dvoma povečuje število ginekoloških pregledov in odvzemov kontrolnih brisov, dodatno pomembno obremenjuje bolnice, tako duševno kot telesno, in povečuje stroške. Po podatkih Arnolda in sod. (32) znaša povprečni delež citoloških brisov z abnormnimi celicami 5%, ponekod 7–8%, odvisno od deleža bolnic s tveganjem. Povprečni delež blago diskariotičnih celic naj bi bil približno 1,6%, ponekod do 7,7%, prav tako odvisno od deleža bolnic s tveganjem (32). Po priporočilu Monsonega in sod. (31) naj bi citološki laboratoriji, ki dosegaajo več kot 8-odstotni delež brisov z abnormnimi in blago diskariotičnimi celicami, uvedli določanje genotipov HPV z visokim tveganjem kot dopolnilno metodo citološkemu testiranju. V Sloveniji smo v letih 1998–2002 zabeležili visok delež citoloških brisov Pap II. Povprečen delež brisov z abnormnimi ploščatimi celicami in blago diskariotičnimi celicami je bil namreč 10–11% (33). Menimo, da bi se v Sloveniji morali odločiti za enako priporočilo, predvsem zaradi visokega deleža citološkega testiranja, rezultatov Pap II in glede na nizko (20,4%) prevalenco okužbe s HPV med ženskami, starejšimi od 30 let, ki smo jo ugotovili v naši raziskavi. Določanje genotipov z visokim tveganjem HPV metodo HCII poveča verjetnost ugotovitve CIN v primerjavi s citološkim brisom tudi do 8-krat (34). Mandelblatt in sod. (34) so poročali, da je bil pri 5–17% žensk z abnormnimi ploščatimi celicami z biopsijo ugotovljen CIN II ali III, pri ženskah z blago diskariotičnimi celicami pa je ta delež znašal 15–30%. Občutljivost testiranja HPV za CIN II, III je bila 90%, občutljivost citološkega testiranja pa 75%. Največja prednost testiranja HPV je visoka negativna napovedna vrednost, ki dosega vrednosti do 98% (34).

O visoki občutljivosti testiranja HPV za odkrivanje histološko potrjenih predrakavih sprememb pri ženskah z abnormnimi ploščatimi celicami v primerjavi z občutljivostjo citološkega testiranja (76%) poročajo tudi Manos in sod. (19), ki pa hkrati opozarjajo na nekoliko nižjo specifičnost (64%) testiranja HPV.

To je v nasprotju z izsledki Schiffmana in sod. (17), ki so z metodo HCII za odkrivanje CIN II dosegli občutljivost 88% in specifičnost 89%. Prednost testiranja HPV je visoka negativna napovedna vrednost, slabost pa nizka pozitivna napovedna vrednost (35).

Kombinacija citološkega in testiranja HPV v primeru abnormnih ploščatih celic in blago diskariotičnih celic v citološkem brisu MV je zelo zanesljiv diagnostični postopek, ki se pri ženskah, okuženih s HPV, kaže v uspešnejšem odkrivanju predrakavih sprememb (CIN II, III). Pri ženskah, pri katerih je test HPV negativen, pa lahko opustimo ponavljanje citološkega testiranja in kolposkopske preglede, ki so del cervikalnega diagnostičnega postopka (36, 37).

Kljub temu, da v naši raziskavi nismo ugotavljali občutljivosti in specifičnosti testiranja HPV za odkrivanje CIN II, III, lahko glede na visoko stopnjo rezultatov Pap II v Sloveniji (10–11%), glede na ugotovljeno nizko prevalenco okužbe s HPV med ženskami s ponavljajočimi se rezultati Pap II (20,4%) in glede na visoko incidenco RMV (v letu 1997 23/100.000) (podatki registra raka za Slovenijo) posredno sklepamo, da je cervikalni presejalni citološki program v Sloveniji preobremenjen s ponavljanjem citološkega testiranja, ki ima zelo verjetno nizko občutljivost in specifičnost

Novejši raziskave (38–40) tudi kažejo, da je razporeditev genotipov HPV v različnih populacijah in zemljepisnih področjih različna. Na Češkem so opredelili 22 različnih genotipov (38), na Kitajskem 13 (39) in v ZDA 23 različnih genotipov HPV (40).

V naši raziskavi smo določili zelo širok spekter različnih genotipov HPV, skupno 26, pri sorazmerno majhni populaciji žensk, okuženih s HPV in s ponavljajočimi se rezultati Pap II. Podatek o širokem spektru opredeljenih genotipov v preiskovani populaciji pomeni predvsem to, da smo izbrali dovolj občutljive metode za dokazovanje in genotipizacijo okužbe s HPV.

Razporeditev genotipov HPV je zelo odvisna od preiskovane populacije žensk. Tako v svetu (41) kot tudi pri nas je v celotni populaciji žensk najpogosteje opredeljen genotip HPV 16, sledijo pa genotipi HPV53, HPV31 in HPV51.

V naši raziskavi so se vse tri izbrane metode ujemale v 93,2%. Test HCII se je zadovoljivo ujema z metodo PCR, kar pomeni, da ga lahko uporabljamo v presejalnem programu preprečevanja RMV kot dopolnilno metodo k citološkemu testiranju ali celo kot primarno presejalno metodo.

Izsledki naše raziskave, ki so v skladu z izsledki drugih novejših raziskav (31, 34), kažejo, kako pomembno bi bilo uvesti testiranje na prisotnost okužbe s HPV pri ženskah s ponavljajočimi se rezultati Pap II v Sloveniji v smislu dopolnilne diagnostične metode citološkemu testiranju, da bi na ta način izbrali tiste ženske, pri katerih je tveganje za razvoj predrakavih sprememb povečano. Dokazana okužba s HPV bi bila hkrati lahko tudi koristen klinični kazalnik za pravilno selekcijo žensk za kolposkopski pregled in kontrolni mehanizem za vrednotenje kakovosti citološkega testiranja.

## Literatura

1. Terai M, Burk RD. Characterization of a novel genital human papillomavirus by overlapping PCR: candHPV86 identified in cervicovaginal cells of a woman with cervical neoplasia. *J Gen Virol* 2001; 82: 2035–40.
2. Syrjänen K, Syrjänen S. Papillomavirus infections in human pathology. Chichester: Wiley, 2000.
3. Matsukura T, Sugase M. Relationships between 80 human papillomavirus genotypes and different grades of cervical intraepithelial neoplasia: association and causality. *Virology* 2001; 283: 139–47.
4. Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International Biological Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 796–802.
5. Nobbenhuis MAE, Walboomers JM, Helmerhorst TJ et al. Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical cancer screening: a prospective study. *Lancet* 1999; 354: 20–5.

6. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM et al. Human papillomavirus is necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12-9.
7. Kjaer SK-de, Villiers EM, Haugaard BJ et al. Human papillomavirus, herpes simplex virus and cervical cancer incidence in Greenland and Denmark. A population-based cross-sectional study. *Int J Cancer* 1988; 41: 518-24.
8. Koutsky LA, Holmes KK, Critchlow CW et al. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *N Engl J Med* 1992; 327: 1272-8.
9. de Sanjosé S, Muñoz N, Bosch FX et al. Sexually transmitted agents and cervical neoplasia in Columbia and Spain. *Int J Cancer* 1994; 56: 358-83.
10. Layde PM, Broste SK. Carcinoma of the cervix and smoking. *Biomed Pharmacother* 1989; 43: 161-5.
11. Brinton LA. Oral contraceptives and cervical neoplasia. *Contraception* 1991; 43: 581-95.
12. Morrison EAB. Natural history of cervical infection with human papillomaviruses. *Clin Infect Dis* 1994; 18: 172-80.
13. 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: 810-9.
14. Stoler MH. Advances in cervical screening technology. *Mod Pathol* 2000; 13: 275-84.
15. Cuzick J, Szarewski A, Terry G et al. Human papillomavirus testing in primary cervical screening. *Lancet* 1995; 345: 1533-7.
16. Cuzick J, Beverley E, Ho L et al. HPV testing in primary screening of older women. *Br J Cancer* 1999; 81: 554-8.
17. Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A et al. HPV DNA testing in cervical cancer screening: results from women in a high-risk province of Costa Rica. *JAMA* 2000; 283: 87-93.
18. Vizcaino AP, Moreno V, Bosch FX, Munoz N, Barros-Dios XM, Parkin DM. International trends in incidence of cervical cancer: I. Adenocarcinoma and adenosquamous cell carcinomas. *Int J Cancer* 1998; 75: 536-45.
19. Manos MM, Kinney WK, Hurley LB et al. Identifying women with cervical neoplasia using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results. *JAMA* 1999; 281: 1605-11.
20. Bergeron C, Jeannel D, Poveda J, Cassonnet P, Orth G et al. Human papillomavirus testing in women with mild cytologic atypia. *Obstet Gynecol* 2000; 95: 821-7.
21. Lin CT, Tseng CJ, Lai CH, Hsueh S, Huang HJ, Law KS. High-risk HPV DNA detection by Hybrid Capture II. *J Reprod Med* 2000; 45: 345-50.
22. Ho GY, Burk RD, Klein S, Chang CJ, Palan P, Basu J, Tachezy R, Lewis R, Romney S. Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1365-71.
23. Rebello G, Hallam N, Smart G, Farquharson, McCafferty J. Human papillomavirus testing and the management of women with mildly abnormal cervical smears: an observational study. *BMJ* 2001; 322: 893-4.
24. Munoz N, Bosch X, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijder PJF, Meijer CJLM, for International Agency for Research on Cancer Multi-center Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-27.
25. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of eighteen major cancers in 1985. *Int J Cancer* 1993; 54: 594-606.
26. Coleman D, Day N, Douglas D, et al. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. *Eur J Cancer* 1993; 29A: Suppl 4: S1-S38 (Europe Against Cancer Programme).
27. Franco E, Monsonego J eds. New developments in cervical cancer screening and prevention. Oxford: Blackwell Science Ltd, 1997.
28. Ponten J, Adami HO, Bergstrom R et al. Strategies for global control of cervical cancer. *Int J Cancer* 1995; 60: 1-16.
29. Wright TC Jr, Lonincz A, Ferris DG et al. Reflex human papillomavirus deoxyribonucleic acid testing in women with abnormal Papanicolaou smears. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 962-6.
30. Sherman ME, Schiffman M, Cox JT, Group TA. Effects of age and human papilloma viral load on colposcopy triage. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 102-7.
31. Monsonego J. Global challenges of cervical cancer prevention. *Eur J Gynecol Oncol* 2000; 6: 533-41.
32. Arnold K. Guidelines for abnormal Pap tests: Do physicians follow them? *JNCI* 2002; 94: 880-1.
33. Uršič-Vrščaj M in sodelavci. Navodila za izvajanje programa ZORA. Ljubljana: ZORA, 2003.
34. Mandelblatt JS, Lawrence WF, Womak SM et al. Benefits and costs of using HPV testing to screen for cervical cancer. *JAMA* 2002; 287: 2372-81.
35. Ratnam S, Franco E, Ferenczy A. Role of human papillomavirus (HPV) testing in primary cervical cancer screening: a canadian experience. *Eurogin* 2003, 5<sup>th</sup> International Multidisciplinary Congress: Preventing and controlling cervical cancer in the new millenium, April 13-16, 2003. Abstract SEM1-2-05, Eurogin, 2003: 91-1.
36. Kim JJ, Wright TC, Goldie SJ. Cost-effectiveness of alternative triage strategies for atypical squamous cells of undetermined significance. *JAMA* 2002; 287: 2382-90.
37. Manos MM. Utility of HPV DNA testing and liquid-based cytology in the triage of women with mild Pap abnormalities. *JAMA* 1999; 281: 1605-10.
38. Tachezy R, Hamšíková E, Hájek T et al. Human papillomavirus genotype spectrum in Czech women: correlation of HPV DNA presence with antibodies against HPV16, 18 and 33 virus-like particles. *J Med Virol* 1999; 58: 378-86.
39. Chan PKS, Li WH, Chan MYM et al. High prevalence of human papillomavirus type 58 in Chinese women with cervical cancer and precancerous lesions. *J Med Virol* 1999; 59: 232-8.
40. Liaw KL, Glass AG, Manos MM et al. Detection of human papillomavirus DNA in cytological normal women and subsequent cervical squamous intraepithelial lesions. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 954-60.
41. Bosch FX. The use of HPV typing in epidemiological research. *Eurogin* 2003, 5<sup>th</sup> International Multidisciplinary Congress: Preventing and controlling cervical cancer in the new millenium, April 13-16, 2003. Abstract PS7-2a: Eurogin, 2003: 102-2.