

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЕ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра
В.А. Ходжаев

2010

Регистрационный № 126-1110



**АЛГОРИТМЫ ДИАГНОСТИКИ И МОНИТОРИНГА
ГЕНИТАЛЬНОЙ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ С
ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДА ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ
РЕАКЦИИ**

(инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: Учреждение образования «Гомельский
государственный медицинский университет»

АВТОРЫ: к.м.н., доцент Вергейчик Г.И., Стрибук Ж.А., д.м.н. Ерёмин В.Ф.,
Мезенцева И.Н.

Гомель, 2010

Проблема рака шейки матки (РШМ) является актуальной для Республики Беларусь. Последние 15 лет наблюдается неуклонный рост заболеваемости цервикальным раком и смещение структуры заболеваемости в сторону женщин молодого возраста. Этиологическая роль вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска в развитии рака шейки матки не вызывает сомнений. Эпидемиологические и вирусологические исследования показали, что ВПЧ является причиной РШМ в 100% случаев.

Несмотря на возможности первичной профилактики РШМ-вакцинации — на сегодняшний день наиболее важным методом профилактики данной патологии является ранняя диагностика предраковой стадии папилломавирусной инфекции — цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN).

Цитологический метод исследования, используемый на первом этапе профилактических осмотров, имеет низкую чувствительность, варьирующую в пределах 40–70%, (в среднем 50%). В связи с этим целесообразно в программах ранней диагностики использовать тесты, позволяющие выявить ДНК ВПЧ.

Цель: повысить эффективность ранней диагностики и мониторинга результатов лечения цервикальных интраэпителиальных неоплазий путем использования метода ПЦР для определения ДНК ВПЧ высокого канцерогенного риска.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, ПРЕПАРАТОВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ:

1. Типовая ПЦР-лаборатория для проведения полимеразной цепной реакции
 - 1.1. Реактивы:
 - тест-системы для определения и генотипирования (не менее 12 генотипов) ДНК вирусов папилломы человека высокого онкогенного риска с использованием эндогенного внутреннего контроля (β -актин, β -глобин);
 - тест-системы для определения вирусной нагрузки ВПЧ.
 2. Латексные перчатки.
 3. Гинекологические зеркала.
 4. Одноразовые цитощетки или одноразовые ложки Фолькмана.
 5. Пробирки типа «эппендорф» с транспортной средой.
 6. Анатомический пинцет.
 7. Марлевые шарики.
 8. Типовая морфологическая (цитологическая и гистологическая) лаборатория.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

- на первом этапе профилактических осмотров у женщин в дополнение к цитологическому исследованию;
- для разрешения сомнительных результатов цитологического исследования (атипичные плоские клетки неясного генеза — ASCUS);

- для мониторинга терапии цервикальных поражений (CIN 2-3, рак in situ, микроинвазивный рак).

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Не выявлены.

Выбор тест-системы для проведения ПЦР-анализа

Вирусы папилломы человека — широко распространенная и гетерогенная группа вирусов. По степени канцерогенного потенциала среди ВПЧ выделяют генотипы высокого канцерогенного риска (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 и др.).

Использование тест-систем, идентифицирующих не менее 12 генотипов ВПЧ высокого онкогенного риска, позволяет выявить более 90% случаев ВПЧ-инфекции и существенно повысить эффективность диагностики заболеваний, ею обусловленных.

В таблице 1 представлены особенности различных тест-систем для определения ДНК ВПЧ и комментарии, основанные на многолетнем опыте их применения.

Таблица 1

Преимущества и недостатки различных тест-систем для выявления ДНК ВПЧ

Тест-система	Особенности	Преимущества	Недостатки	Комментарии
ВПЧ-скрин (ВПЧ-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 70)	Выявляет общий участок ДНК для 13 генотипов ВПЧ-ВР	1. Простота постановки 2. Рекомендована для скрининга 3. Низкая стоимость исследования.	Выявляет наличие или отсутствие ДНК ВПЧ, но не генотипирует	1. Не подходит для мониторинга результатов лечения заболеваний, обусловленных ВПЧ-инфекцией. 2. Может быть 1-м этапом для отбора инфицированных пациентов с последующим генотипированием, кольпоскопией, цитологическим и гистологическим исследованием.
ВПЧ-генотип (ВПЧ-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 58, 59, 66)	Выявляет ДНК 12 ВПЧ-генотипов с их идентификацией	1. Позволяет за одну постановку выявить ДНК 12 генотипов ВПЧ-ВР 2. Позволяет одновременно не только выявить ДНК ВПЧ, но и определить	1. Требуется высокая квалификация врача-лаборанта, выполняющего ПЦР 2. Стоимость одного исследования в 1,5	1. Позволяет проводить эффективный мониторинг лечения заболеваний, обусловленных ВПЧ 2. Позволяет дифференцировать персистентную ВПЧ-инфекцию от

Тест-система	Особенности	Преимущества	Недостатки	Комментарии
		генотипы	раза дороже по сравнению с ВПЧ-скрин	элиминации одного генотипа и инфицирования другим вследствие смены сексуальных партнеров. 3. Выявление 3 и более генотипов ВПЧ в эпителии шейки матки одновременно является маркером иммунодефицита и показанием для обследования на ВИЧ-инфекцию.
ВПЧ-16, 18	Выявляет только ДНК ВПЧ-16 и 18 типов	1. Позволяет выявить генотипы, ответственные за развитие более 50% случаев рака шейки матки 2. Низкая стоимость исследования. 3. Простота постановки	Не позволяет выявлять генотипы ВПЧ, отличные от ВПЧ-16 и 18 типов.	Отрицательные результаты по этому тесту ведут к «потере» пациентов, инфицированных другими генотипами ВПЧ
Количественный ВПЧ-тест	Выявляет точное количество вирусной ДНК в копиях/мл	1. Выявляет только ассоциированные с развитием онкологической патологии генотипы вируса 2. Выявляет широкий спектр генотипов ВПЧ	1. Не позволяет идентифицировать генотипы ВПЧ 2. Выявляет вирусную нагрузку только в филогенетических группах	1. Позволяет выявить клинически значимое и малозначимое количество вируса, что может иметь значение в мониторинге течения инфекции 2. В сочетании с генотипированием дает полную картину ВПЧ-инфекции

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПОСОБА

Широкое использование метода ПЦР для выявления ДНК онкогенных папилломавирусов (ВПЧ-тестов) оправдано с целью ранней диагностики патологии шейки матки, обусловленной онкогенными генотипами ВПЧ, как на первом этапе программ ранней диагностики, так и для прояснения диагноза при получении сомнительных цитологических результатов (атипических плоских клеток неясного значения — ASCUS).

Алгоритмы диагностики с применением ВПЧ-тестов представлены на рис. 1 и 2.

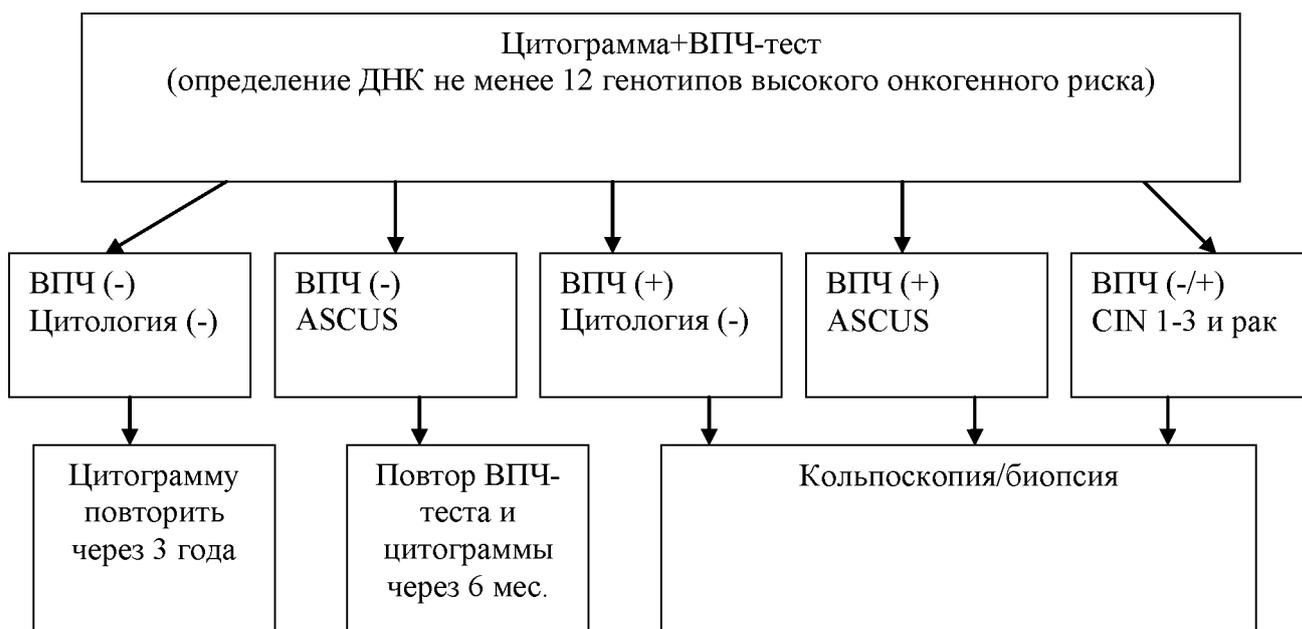


Рис. 1. Алгоритм использования ВПЧ-теста на первом этапе профилактических осмотров или скрининга рака шейки матки

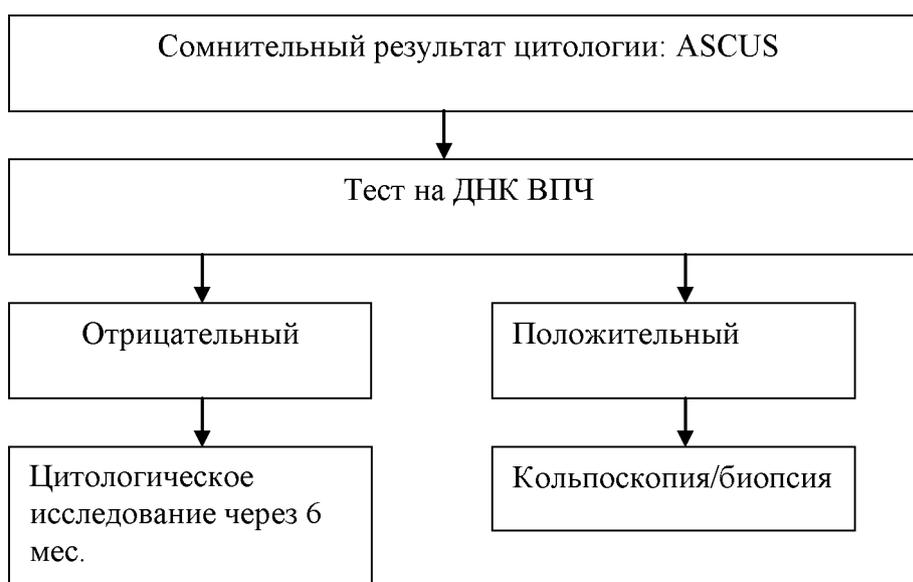


Рис. 2. Алгоритм использования ВПЧ-теста при сомнительных результатах цитологического исследования

ЗНАЧЕНИЕ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ТЕЧЕНИЯ ВПЧ-ИНФЕКЦИИ

В отсутствие клинической симптоматики переход в состояние дисплазии ассоциирован с вирусной нагрузкой, превышающей порог клинической значимости. При наличии диспластических изменений прогрессия более вероятна для случаев вирусной нагрузки, превышающей порог прогрессии.

У 30% инфицированных онкогенными ВПЧ женщин у 30% развивается рак шейки матки, однако на сегодняшний день не известно, у кого из данного контингента вирус элиминирует самостоятельно, а у кого будет персистировать

до клинических проявлений. Поэтому выявление клинически значимого и малозначимого количества вируса может иметь важное значение в мониторинге течения инфекции.

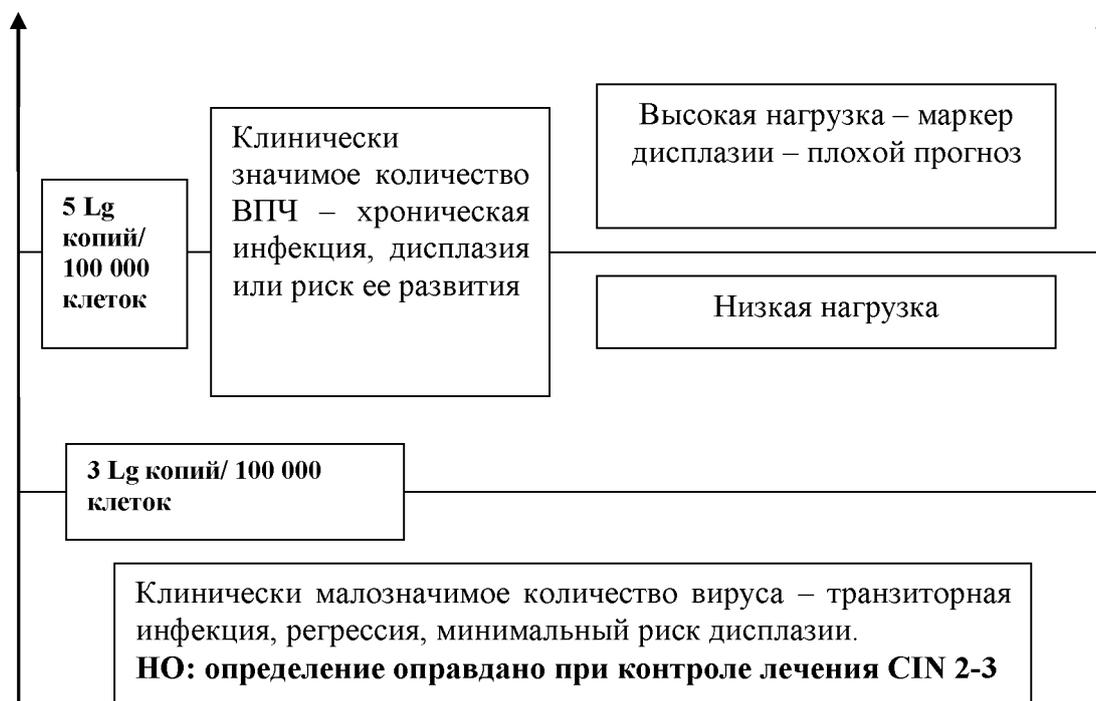


Рис. 3. Схема интерпретации результата количественного ВПЧ-теста

В Приложениях 1, 2 представлены алгоритмы использования качественных и количественных ВПЧ-тестов.

Мониторинг элиминации ВПЧ-инфекции после хирургического лечения цервикальной интраэпителиальной неоплазии 1–3 степени тяжести

Предлагаемый алгоритм мониторинга результатов хирургического лечения пациенток с CIN 1–3 позволит своевременно выявить группу риска по прогрессии заболевания среди пациенток, перенесших радикальное иссечение патологического очага шейки матки, но с персистирующей ВПЧ-инфекцией, назначить им иммунотерапию и предотвратить развитие рецидива заболевания.

Пациенток, радикально прооперированных (негативный гистологический край резекции в удаленном конусе шейки матки), у которых произошла полная элиминация ВПЧ после эксцизии шейки матки, при получении двух отрицательных ВПЧ-тестов в течение 6 мес. после операции можно считать излеченными, снять с диспансерного учета и наблюдать как здоровых женщин. Выявление ВПЧ-инфекции в эпителии шейки матки после радикального иссечения патологического очага является показанием для иммунотерапии с целью элиминации вируса и устранения риска рецидива заболевания.

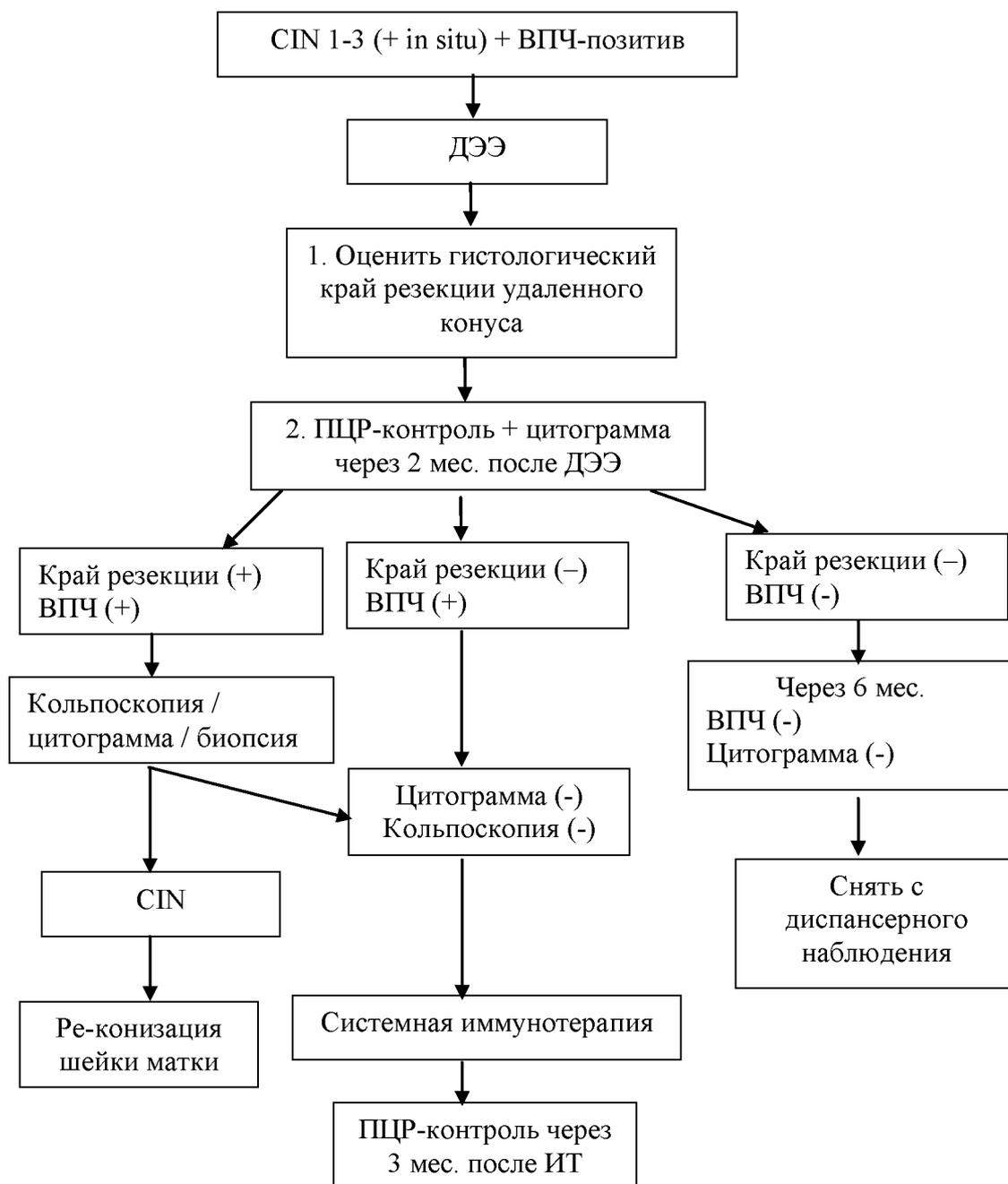
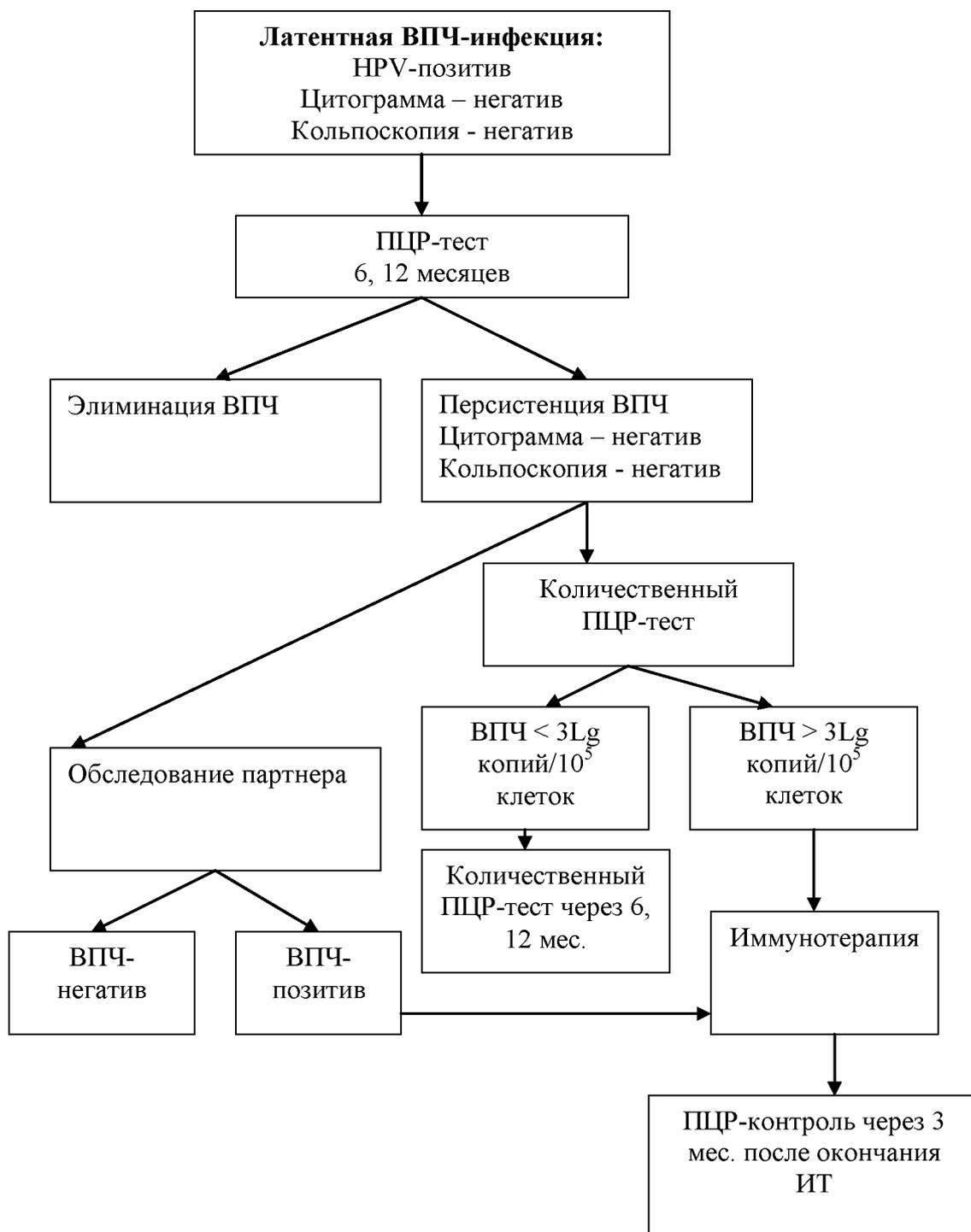


Рис. 4. Алгоритм мониторинга элиминации ВПЧ после хирургического лечения CIN 1–3 (+in situ)

Алгоритм использования ВПЧ-теста при латентной ВПЧ-инфекции или койлоцитозе многослойного плоского эпителия шейки матки



Алгоритм использования ВПЧ-теста при мониторинге и лечении CIN1

