

# Učestalost HPV infekcije u žena Splitsko-dalmatinske županije

---

**Dragun, Paola**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split / Sveučilište u Splitu**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:176:075812>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-05-06**



Sveučilišni odjel zdravstvenih studija  
SVEUČILIŠTE U SPLITU

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University Department for Health Studies, University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Paola Dragun**

**Učestalost HPV infekcije u žena Splitsko-dalmatinske županije**

**Završni rad**

Split, 2019.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Paola Dragun**

**Učestalost HPV infekcije u žena Splitsko-dalmatinske županije**

**The prevalence of HPV infection among women in the Split and  
Dalmatia County**

**Završni rad / Bachelor's Thesis**

Mentor:

**Doc. prim. dr.sc. Vanja Kaliterna, dr.med.**

**spec. medicinske mikrobiologije s parazitologijom**

Split, 2019.

# SADRŽAJ

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. UVOD.....                                                              | 1  |
| 1.1. Humani papilloma virus – HPV .....                                   | 1  |
| 1.2 Epidemiologija infekcije HPV – om.....                                | 2  |
| 1.2.1. Čimbenici rizika za nastanak HPV infekcije .....                   | 3  |
| 1.2.2. Način prijenosa HPV infekcije .....                                | 4  |
| 1.3. Patogeneza HPV infekcije.....                                        | 5  |
| 1.4. Klinička slika infekcija uzrokovanih HPV- om.....                    | 6  |
| 1.5. Dijagnostika infekcija uzrokovanih HPV- om.....                      | 12 |
| 1.6. Liječenje promjena uzrokovanih HPV-om .....                          | 13 |
| 1.6.1. Liječenje cervikalne intraepitelne neoplazije (CIN).....           | 13 |
| 1.6.2. Liječenje karcinoma vrata maternice .....                          | 13 |
| 1.6.3. Praćenje nakon liječenja CIN-a .....                               | 14 |
| 1.6.4. Liječenje intraepitelne neoplazije i raka vulve .....              | 14 |
| 1.6.5. Liječenje genitalnih bradavica (GW).....                           | 14 |
| 1.6.6. Drugi mogući tretmani neoplazija donjeg genitalnog trakta .....    | 15 |
| 1.7. Prevencija infekcija uzrokovanih HPV-om .....                        | 16 |
| 1.7.1. Primarna prevencija – cjepivo protiv humanog papiloma virusa ..... | 16 |
| 1.7.2. Sekundarna prevencija – probir na rak vrata maternice .....        | 17 |
| 2. CILJ RADA.....                                                         | 18 |
| 3. IZVORI PODATAKA .....                                                  | 19 |
| 4. METODE DIJAGNOSTIKE HPV INFEKCIJE.....                                 | 19 |
| 4.1 Uzorkovanje .....                                                     | 19 |
| 4.2 PCR METODA .....                                                      | 21 |
| 5. REZULTATI .....                                                        | 28 |
| 5.1. Rezultati HPV testiranja u NZJZ SDŽ za 2018. godinu.....             | 28 |
| 5.2 Interpretacija nalaza .....                                           | 29 |
| 6. RASPRAVA.....                                                          | 31 |

|                     |    |
|---------------------|----|
| 7. ZAKLJUČAK .....  | 32 |
| 8. SAŽETAK.....     | 33 |
| 9. ABSTRACT .....   | 34 |
| 10. LITERATURA..... | 35 |
| 11. ŽIVOTOPIS ..... | 37 |

# 1. UVOD

## 1.1. Humani papilloma virus – HPV

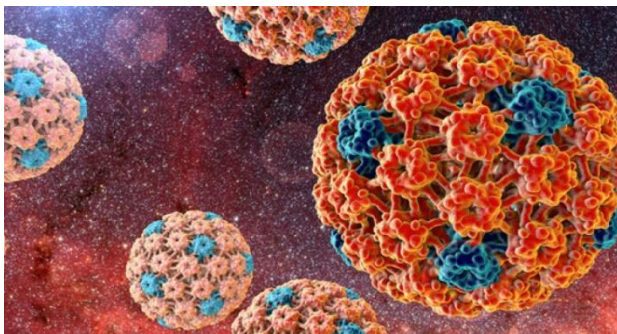
Humani papilloma virusi (lat. riječi *papilla* – bradavica i grč. riječi *oma* – tumor) su mali, neobloženi, dvolančani DNK virusi koji pripadaju porodici *Papovaviridae* i rodu *Papilloma* virus. Papilloma virus sadrži kružne dvolančane DNK genoma veličine do 8 kb.

Virusni genom podijeljen je na tri područja: rano (eng. *Early* – E), kasno (eng. *Late* – L) i regulatorno (eng. *Regulatory* – R) područje.

Onkogeni E5, E6 i E7 moduliraju proces transformacije, dok regulatorni proteini E1 i E2 moduliraju transkripciju i replikaciju. Protein E4 bitan je za sastavljanje virusa i dva strukturna proteina, L1 i L2, koji čine virusnu kapsidu (proteinska ljuska virusa). Regulatorno područje sadrži mjesta za vezanje transkripcijskih faktora i ima ulogu za kontroliranje ekspresije gena.

HPV virus ima posebni afinitet za epitelne stanice te inficira bazalne stanice pločastog epitela, osobito cerviksa. Virus ulazi u bazalne stanice putem mikro trauma i mikroabrazija.

Danas je poznato 200 različitih tipova virusa, ali ih samo 40 može zaraziti anogenitalnu regiju koja se može svrstati u tri klase na temelju njihovog onkogenog potencijala. HPV tipovi 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 59, 68, 73 i 82 pripadaju skupini visokog rizika, dok su HPV tipovi 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 i 81 uključeni u skupinu niskog rizika. Virusi niskog rizika uzrokuju benigni rast na koži i epitelu sluznice (bradavice), dok virusi visokorizične skupine dovode do premalighnih i malignih promjena.



**Slika 1.**Prikaz HPV virusa

## 1.2 Epidemiologija infekcije HPV – om

HPV je najčešća spolno prenosiva bolest u svijetu, a smatra se da 660 milijuna ljudi u svijetu ima ovu infekciju (1). Svake godine više od 270 tisuća žena umire od raka vrata maternice, a većina tih smrtnih slučajeva je u srednje razvijenim i nerazvijenim zemljama koje nemaju organizirani program probira. Rak vrata maternice nalazi se na trećem mjestu među karcinomima koji pogađaju žene širom svijeta, a na drugom mjestu u zemljama u razvoju. Stope incidencije nerazvijenih zemalja u odnosu na razvijene zemlje su dvostruko veće (17,8 % u odnosu na 9 %). Uočeno je da je ta razlika posljedica primjene ranih metoda probira u razvijenim zemljama koje su omogućile pravovremeno liječenje i tako smanjile rizik od nastanka karcinoma vrata maternice povezanog sa HPV infekcijom. Također se procjenjuje da će 80 % spolno aktivnih žena biti zaraženo u nekom trenutku do 50. godine života.

HPV 16 i 18 su najčešći onkogenitipovi virusa, i oni su odgovorni za 70 % karcinoma vrata maternice. Najčešći tipovi su HPV 16, 18, 33, 45, 31, 58, 52, 35 koji čine 90 % od svih slučajeva HPV infekcije.

U Splitsko – dalmatinskoj županiji, prema podacima Kaliterne i suradnika, najveći broj HPV pozitivnih žena bio je u dobi između 25. – 35. godine (48,5 %), nešto manji broj (32 %) otpadao je na žene starije od 35. godine, a 19,5 % žena je bilo u dobi mlađoj od 24. godine.

Postoje različite studije o znanju o HPV-u u populaciji. Argentinska i Grčka studija pokazala su da su studenti zdravstvenih studija, obrazovaniji ljudi, žene, samci i oni koji su bili zaraženi HPV-om imali veću razinu znanja o HPV-u (2). U Škotskoj, Portugalu i Italiji, više od 90 % ih je imalo znanje o HPV infekciji. Što se tiče znanja o cijepljenju protiv HPV-a 39,4 % odgovora za ne-cijepljenje bili su "cijepljenje je skupo" i "zabrinuti zbog nuspojava"(3).

### 1.2.1. Čimbenici rizika za nastanak HPV infekcije

Najčešći čimbenici rizika za razvoj HPV infekcije su:

- dob (žene do 25. godine)
- imunodeficijencija
- pušenje cigareta
- rano stupanje u spolni odnos (prije 16. godine)
- dugotrajna oralna kontracepcija
- često mijenjanje spolnih partnera
- nepravilna upotreba kondoma
- druge spolno – prenosive bolesti (*klamidija*, *gonoreja*)
- kronične upale donjeg dijela spolnog sustava

Mikroflora vagine važan je pokazatelj zdravlja ili bolesti u žena. Istraživanjem se dokazalo da žene koje su HPV pozitivne imaju više vrsta bakterija uz izraziti manjak *Lactobacillus* spp. HPV infekciju te razvoj CIN-a prate brojne bakterije uključujući *Gardnerella*, *Megasphaera*, *Sneathia* i *Prevotella*.

I u muškaraca je rizično spolno ponašanje najvažniji čimbenik rizika za dobivanje HPV infekcije, osobito veći broj spolnih partnera u posljednje vrijeme.

Kondom ne pruža potpunu zaštitu s obzirom na to da ne prekriva u potpunosti područje kože potencijalno kontaminirano virusom. Uporaba kondoma je tako prepoznata kao čimbenik rizika za infekciju, što se objašnjava slobodnijim spolnim ponašanjem uz zaštitu.



### **1.2.2. Način prijenosa HPV infekcije**

Prijenos HPV infekcije događa se u žena tijekom spolnog odnosa sa zaraženim partnerom. Također, postoji i mogućnost neizravnog prijenosa preko odjeće, plahta, ručnika, površine, ali vjerojatnost ovakvog načina prijenosa je vrlo mala i gotovo nemoguća.

Neke studije navode da su kod 15 % uzoraka mlijeka normalnih žena u laktaciji pronađeni HPV-ovi visokog rizika što ukazuje na mogućnost njihovog prijenosa na dijete putem mlijeka (2).

Od kontakta virusom do pojave prvih kliničkih promjena potrebno je između 3 tjedna do 8 mjeseci, ali postoje slučajevi gdje se klinički oblici pojave tek nakon 10 godina. Infekcija nestaje kod 90 % ljudi tijekom 2 godine bez ikakve terapije.

Nakon provedenog liječenja genitalne HPV infekcije, kod 45 % bolesnika prisutna je latentna infekcija, dok 67 % bolesnika ima kliničke recidive.

Važno je otkriti HPV infekciju, te potom pratiti eventualni nastanak premalignih i malignih promjena vrata maternice.

### 1.3. Patogeneza HPV infekcije

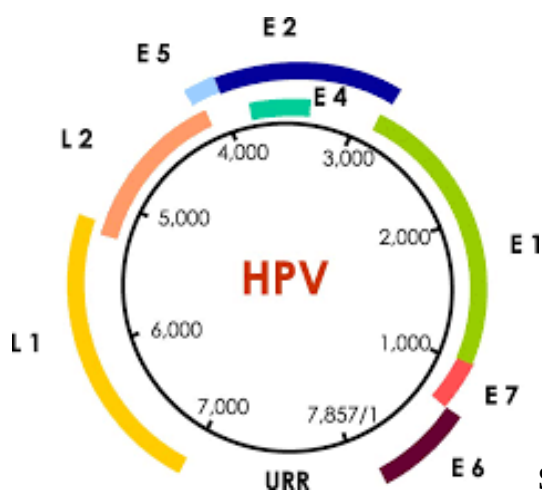
HPV infekcija najvažniji je predisponirajući faktor koji uzrokuje razvoj predzloćudnih i zloćudnih promjena vrata maternice. Papilloma virusi uzročnici su brojnih infekcija kože, stopala, anogenitalnih bradavica, laringealnih papiloma te različitih karcinoma.

Papiloma virusi su epiteliotropni virusi koji inficiraju bazalni sloj pločastih epitelnih stanica kože i sluznica. Nakon uspješnog vezanja virusa za receptor, virus ulazi procesom endocitoze u stanicu. Kod onkogenih tipova dolazi do ugradnje virusne DNK u genom domaćina te nastupa ekspresija E6 i E7 onkoproteina. Onkoproteini se vežu za tumor supresorske gene, što pospješuje ulazak diferenciranog keratinocita u nekontroliranu proliferaciju. Kao rezultat, broj kopija virusa pojačava se na tisuće primjeraka po stanici. Kapsidni proteini, L1 i L2 prikazuju se u terminalno diferenciranom sloju epitela.

Papilloma virusi imaju izraženi tkivni tropizam, tako da su HPV tipovi podijeljeni na kožne i mukozne tipove. Veliki broj tipova uzrokuje tipične lokalne infekcije sluznica što se očituje pojavom benignih papiloma, ali neki tipovi mogu dovesti do razvoja karcinoma.

Prirodna infekcija HPV-om uzrokuje specifični imunološki odgovor u većini slučajeva, ali samo ograničeni broj pojedinaca uspije razviti visoki titatr antitijela, koji pruža zaštitu od ponovne infekcije istim tipom. HPV ne lizira inficirane stanice, ne uzrokuje viremiju, ne izaziva upalu što smanjuje izloženost virusnih antigena imunološkom sustavu domaćina.

Razumijevanjem patogeneze HPV-a olakšavamo terapijsku intervenciju usmjerenu prema HPV onkoproteinima (E5, E6 i E7), koja će omogućiti liječenje početne lezije, ali i odrediti smjer i razvoj infekcije.



Slika 2. Prikaz HPV genoma

## 1.4. Klinička slika infekcija uzrokovanih HPV-om

Klinička slika infekcije ovisi o tipu HPV-a, lokalizaciji infekcije te imunosnom statusu osobe. Infekcija može biti:

- klinička (postoji vidljiva lezija)
- subklinička (dokazuje se premazom 3 – 5 % octene kiseline i kolposkopskim pregledom)
- latentna, asimptomatska (dokazuje se HPV tipizacijom)

Velika većina HPV infekcija na svim mjestima je subklinička i asimptomatska. Stoga većina pojedinaca koji dobiju HPV ne znaju da su zaraženi.

Najčešći mogući simptomi su: krvarenje, svrbež, osjetljivost, pečenje, bol i vaginalni sekret.



**Slika 3.** Kondilomi na spolovilu

Kliničke manifestacije infekcije mogu biti različite:

**Kožne bradavice ili veruke** nastaju kao posljedica infekcije keratiniziranih dijelova kože, najčešće ruku i stopala, različitim genotipovima HPV-a. To su izrasline na koži ili sluznicama koje mogu biti šiljaste (*condylomata acuminata*), ravne (*condylomata plana*), papularne (*condylomata papulosa*) te u obliku keratotičnih genitalnih bradavica. Bradavice se mogu naći kao pojedinačne promjene na koži ili sluznicama, ali većinom se vide kao multiple bradavice. Mogu se pojaviti u bilo kojoj životnoj dobi, ali se najčešće javljaju kod djece ili u ranoj adolescentnoj dobi.

Kožne bradavice dijelimo na:

- *verrucae vulgares*
- *verrucae plantares*
- *verrucae planae* (juvenilne)
- *epidermodysplasia verruciformis*

**Tumori glave i vrata** pojavljuju se kao pojedinačni papilomi i najčešći su dobroćudni tumori epitelnih stanica usne šupljine. Oni se pojavljuju u svim dobnim skupinama. Sindrom rekurentne respiracijske papilomatoze uzrokovan je genotipovima 6 i 11, najčešće se pojavljuje u djece i nastaje kao posljedica zaraze pri prolasku djeteta kroz inficirani porođajni kanal. Genotipovi 16 i 18 uzrokuju karcinome glave i vrata. Prema istraživanju dokazano je da je 25 % karcinoma usne šupljine i 35 % karcinoma ždrijela povezano s HPV infekcijom (4).

**Anogenitalne bradavice (lat. *Condylomata acuminata*)** pojavljuju se u obliku šiljastih kondiloma na perpucciju, glansu penisa, labijama, vagini, uretri i oko anusa. Najčešće ih uzrokuju nisko rizični tipovi HPV-a 6 i 11.

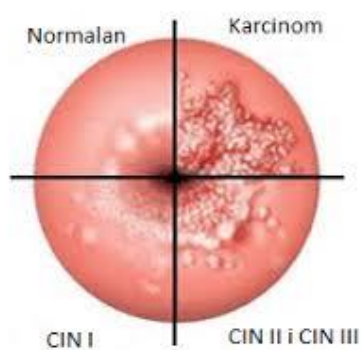
**Subkliničke infekcije** (latentne infekcije) nevidljive su okom, ali se dokazuju premazivanjem 3 – 5 %-tnom octenom kiselinom, te potom kolposkopskim pregledom. To su asimptomatske lezije, ali ponekad mogu uzrokovati iritaciju i upalu u obliku balanopostitisa ili vulvitisa.

Oko 90 % HPV infekcija nestaje spontano u roku od dvije godine. Međutim, u 10 % slučajeva infekcija se nastavlja i može doći do transformirajuće HPV infekcije koja inducira neoplastične lezije visokog stupnja ili invazivne karcinome. Prekancerozne lezije pločastih stanica, uzrokovane HPV-om, nazivaju se cervikalna intraepitelna neoplazija (CIN), vulvarna intraepitelna neoplazija (VIN), vaginalna intraepitelna neoplazija (VAIN) i analna intraepitelna neoplazija (AIN).

## CIN – Cervikalna intraepitelna neoplazija

CIN predstavlja premaligne intraepitelne promjene vrata maternice. Intraepitelni stadij označava pojavu diskariotičnih i atipičnih stanica unutar epitela cerviksa. Ovisno o zahvaćenosti epitela razlikujemo tri tipa CIN-a:

- **CIN 1 - blaga displazija:** predstavlja najblaži oblik cervikalne intraepitelne neoplazije. Kod njega je zahvaćena samo donja trećina debljine epitela, mjereno od bazalne membrane. U PAPA testu se nalazi diskarioza na superficijalnim stanicama
- **CIN 2 - umjerena displazija:** predstavlja srednje teški poremećaj koji je okarakteriziran promjenama na stanicama u donje 2/3 epitela. U PAPA testu se nalazi diskarioza na superficijalnim i intermedijalnim stanicama
- **CIN 3 - teška displazija:** označava tešku displaziju CIS (*Carcinoma in situ*), kao i atipične kondilomatozne promjene. Kod CIN-a 3 nezrele displastične stanice se nalaze u više od 2/3 debljine epitela. U PAPA testu diskariotične stanice se nalaze u slojevima superficijalnih, intermedijalnih i parabazalnih stanica. CIN 3 je predstadij karcinoma cerviksa



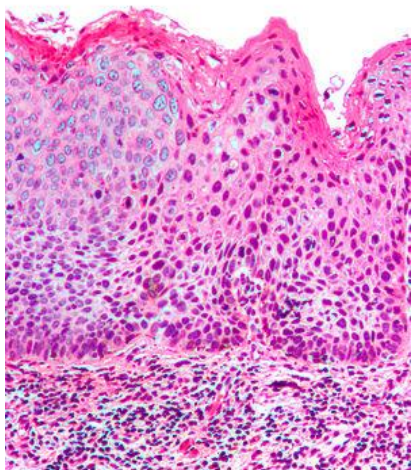
**Slika 4.** Premaligne i maligne promjene epitela inficiranog HPV- om

## VAIN – Vaginalna intraepitelna neoplazija

VAIN predstavlja intraepitelne premaligne promjene vagine. VAIN se najčešće javlja zajedno s već premaligim lezijama vulve i cerviksa. Zbog toga je važan detaljni pregled vagine u svim slučajevima displazije vulve ili cerviksa i obratno.

Razlikuju se tri vrste vaginalnih intraepitelnih neoplazija:

- **VAIN 1 – blaga displazija:** dolazi do promjena na stanicama, diskeratoza ili atipija, javlja se odstupanje od normalnog izgleda stanice kao nejednakost u obliku i veličini. Osim promjena stanice dolazi i do promjena u jezgri, poremećaju sazrijevanja i odnosa citoplazma - jezgra, izgledu i broju nukleusa, kao i načinu orijentacije jezgara. Ove promjene prisutne su samo u donjoj trećini epitela
- **VAIN 2 – umjerena displazija:** opisane promjene na stanicama prisutne su u donje 2/3 epitela, a sazrijevanje epitela je izraženo najviše u gornjoj 1/3 epitela
- **VAIN 3 – teška displazija:** karakterističan je za tešku displaziju, CIS, kao i atipične kondilomatozne promjene. kod ovog tipa VAIN-a nezrele displastične stanice nalaze se u više od 2/3 epitela. VAIN je predstadij karcinoma vagine.



**Slika 5.** Vaginalna intraepitelna neoplazija

## **VIN – Vulvarna intraepitelna neoplazija**

VIN je premaligna displazija pločastog epitela koja za razliku od raka pločastog epitela vulve ne prolazi epitelnu bazalnu membranu. Dok karcinom vulve nije čest, učestalost VIN-a je u porastu, osobito kod mlađih žena. Zloćudni potencijal VIN-a nije određen, pa VIN visokog stupnja treba liječiti. Simptomi VIN-a su svrbež, pečenje, dugotrajna nelagoda u području stidnice, te oni loše utječu na kvalitetu života i seksualnost. Većina slučajeva VIN-a uzrokovana je infekcijom HPV-om podtipovima 16 i 18.



**Slika 6.** Vulvarna intraepitelna neoplazija

## **AIN – Analna intraepitelna neoplazija**

Benigne bradavice i ravne lezije mogu se pojaviti u svim područjima muškog donjeg genitalnog trakta, a HPV infekcija rijetko može rezultirati razvojem analne i penilne intraepitelne neoplazije (AIN i PIN) i karcinoma. Analna infekcija s onkogenim genotipovima HPV-a, ključni je uzročnik analnog raka s istim mehanizmom kao i za rak vrata maternice. AIN potiče sumnju na napredak prema analnom raku. Spektar AIN-a uključuje lezije niskog stupnja (AIN 1) do lezija visokog stupnja (AIN 2 i AIN 3).

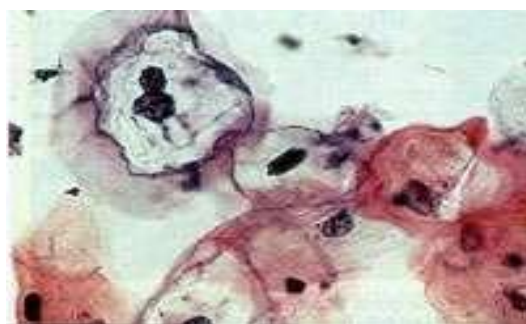


## 1.5. Dijagnostika infekcija uzrokovanih HPV-om

Zahvaljujući molekularnom razumijevanju malignih transformacija donjeg genitalnog trakta koje su uzrokovane HPV-om, došlo je do razvoja mnogih testova za pravodobno otkrivanje infekcija, pa tako i za ranu intervenciju. Noviji testovi za onkogene genotipove HPV-a omogućili su predviđanje rizika za budući razvoj raka vrata maternice. Testovi probira uključuju ravnotežu između točnosti, reproducibilnosti, cijene i jednostavne integracije u programe probira kao što je pokrivenost, prihvatljivost i tehnološki zahtjevi. U testove probira se ubrajaju: izravna vizualna provjera cerviksa nakon premazivanja octenom kiselinom (VIA), citologija cerviksa pomoću konvencionalne ili tekućinske citologije (LBC), HPV DNA testiranje.

Prema stavu CDC-a (*Centers for Disease Control and Prevention*) i ASC-a (*American Cancer Society*) danas je prihvaćena važnost HPV testiranja kod žena s nalazom atipičnih stanica u Papa-testu. Kod infekcije HPV-om u Papa-testu se pojavljuju karakteristične promjene na stanicama, koilociti. Njih karakterizira perinuklearna vakuolizacija citoplazme i uvećana stanična jezgra. Ako je rezultat Papa-testa dvojbjen, ili u slučaju pojave visokog stupnja skvamozne intraepitelne lezije (HSIL-a), zahtjeva se kolposkopska procjena cerviksa i mogući tretman. Optimalan način za liječenje žena s manjim abnormalnostima ostaje upitan kao što su i troškovi za liječenje često nesrazmjerni njihovom kliničkom značaju. Te lezije su česte kod mladih žena kod kojih infekcije prođu spontano pa treba razmisliti o tome treba li uopće testirati na HPV mlade žene, kao i o tome treba li liječiti mlade žene kod kojih se pronađu premaligne lezije.

Uloga kliničara je izrazito važna u procjeni metode dijagnostike i potrebe za liječenjem.



**Slika 7:** Koilociti u Papa testu

## **1.6. Liječenje promjena uzrokovanih HPV-om**

U malom broju perzistentnih slučajeva neoplazije napreduju do karcinoma. Gotovo 100 % cervikalnih, 43 % vulvarnih i 70 % vaginalnih tumora može se pripisati infekciji HPV-om. Liječenje anogenitalnih lezija povezanih s HPV-om rješavalo se kirurškom ekscizijom (1).

### **1.6.1. Liječenje cervikalne intraepitelne neoplazije (CIN)**

Današnje liječenje usredotočeno je na uklanjanje abnormalnih prekanceroznih stanica koje su zaražene HPV-om, uz istovremeno smanjivanje oštećenja samog ceviksa. Krioterapija je tretman koji se široko koristi u mnogim zemljama, jer je jedina metoda dostupna izvan kirurških uvjeta zbog svoje jednostavnosti. Nedostatak krioterapije je nemogućnost uzimanja uzorka za histopatologiju. Jedan od najčešće korištenih postupaka je postupak elektrokirurške ekscizije, zbog cijene i mogućnosti da se ti postupci izvode u ambulantnim uvjetima. Hladan nož je izbor liječenja ako postoji sumnja u invazivnost bolesti, zbog sposobnosti dubokog rezanja endocervikalnog kanala. Histerektomija nije terapija izbora za liječenje premalignih promjena.

### **1.6.2. Liječenje karcinoma vrata maternice**

Većina karcinoma vrata maternice može se liječiti konizacijom ili radikalnom histerektomijom s izvrsnim preživljavanjem. Napredniji tumori liječe se s istodobnom kemoradioterapijom. Kirurško liječenje ovisi o FIGO stadiju (*The International Federation of Gynecology and Obstetrics*), ali i o histološkim rezultatima iz prethodne biopsije konusa.

### **1.6.3. Praćenje nakon liječenja CIN-a**

HPV testiranje razlikuje one žene koje su izložene riziku od neuspjeha liječenja (HPV pozitivne nakon liječenja), od onih koje su postale HPV negativne i nisu više rizične, te se mogu sigurno vratiti u rutinski probir. Vrlo je važno uključiti HPV testiranje u rutinsko praćenje pacijentica nakon terapije s CIN 2+ radi ranog otkrivanja recidiva i progresije raka. Kao biološki pokazatelj trajne bolesti koriste se metode HPV genotipizacije, koje su prikladnije za stratifikaciju rizika nego skupna HPV testiranja.

Idealno vrijeme za ponavljanje HPV testa nakon konizacije je 18 - 24 mjeseca. Žene s negativnim HPV testom 6 mjeseci nakon terapije imaju vrlo nizak rizik za ponovnu bolest, zbog čega je važno pratiti pacijentice individualno.

### **1.6.4. Liječenje intraepitelne neoplazije i raka vulve**

Za liječenje VIN-a standard je kirurška ekscizija za unifokalne bolesti i za lezije sumnjive na moguću invaziju. Problematičnija je multifokalna bolest jer kod ovakvog oblika treba odstraniti veliki dio vulve. Time dolazi do gubitka kontura vulve i spolne funkcije, što uvelike utječe na samopoštovanje i kvalitetu života žene. Laserska ablacija ima prednost preciznog djelovanja i izbjegavanja gubitka kože, ali je i povezana s visokom stopom neuspjeha liječenja.

### **1.6.5. Liječenje genitalnih bradavica (GW)**

Tretmani genitalnih bradavica uključuju krioterapiju, primjenu trikloroctene kiseline ili kirurško uklanjanje. Kod krioterapije, nakon uspješnog uklanjanja često je ponavljanje bolesti. Kirurška ekscizija je najdjelotvornija, ali zahtjeva osposobljene stručnjake i dodatnu opremu. U terapiji se može koristiti i podofilotoksin, imikvimod i sinekatehin.

### 1.6.6. Drugi mogući tretmani neoplazija donjeg genitalnog trakta

Fotodinamička terapija (PDT) je odobrena za liječenje ranih stadija bolesti i za ublažavanje simptoma.

Cidofovir je licenciran za antivirusnu terapiju i primjenjuje se intravenski u liječenju citomegalovirusa (CMV). On djeluje na smanjenje ekspresije E6 i E7 proteina, pa tako smanjuje metastatska svojstva HPV - pozitivnih tumorskih stanica. Lokalnom primjenom cidofovira može se djelovati na anogenitalne kondilome kao i na regresiju CIN-a 3.



Slika 8. Cidofivir

## **1.7. Prevencija infekcija uzrokovanih HPV-om**

Najbolji i najisplativiji način borbe protiv malignih bolesti koje su povezane s HPV-om je primarna prevencija cijepljenjem protiv HPV-a i eliminacija kofaktora, npr. pušenje cigareta.

Sekundarna prevencija provodi se redovitim fizikalnim pregledima, otkrivanjem citoloških promjena uzrokovanih virusom i HPV testiranjem.

### **1.7.1. Primarna prevencija – cjepivo protiv humanog papiloma virusa**

Dostupnost profilaktičkih cjepiva protiv HPV-a uvelike je osigurala primarnu prevenciju raka vrata maternice i drugih bolesti koje su povezane s HPV-om. Postoje dvovalentna, četverovalentna i deveterovalentna cjepiva koja su u primjeni u mnogim zemljama svijeta kao dio nacionalnih programa.

Profilaktička primjena cjepiva dovela je do napretka u sprječavanju infekcija i bolesti povezanih s HPV tipovima sadržanim u cjepivu, ali ne očekuje se da će spriječiti bolest kod osoba koje su već zaražene s HPV-om. Najčešće nuspojave cjepiva su bol, oticanje i eritem na mjestu uboda. Cjepivo je široko prihvaćeno u suzbijanju perzistentne infekcije HPV tipovima 6/11/16/18, CIN-a 1 i CIN-a 2/3, AIS-a, VAIN-a 2/3 i VIN-a 2/3, AIN-a 2/3, analnog raka i anogenitalnih bradavica. Cjepivo je najdjelotvornije kad se primjenjuje prije izlaganja HPV-u pa se preporuča cijepljenje tijekom preadolescencije tj. u dobi od 11-12 godina. Čak bi se 80% HPV pozitivnih karcinoma moglo spriječiti primjenom HPV cjepiva. Unatoč razvoju profilaktičkih cjepiva, bolesti povezane s HPV-om i dalje predstavljaju glavne izazove za javno zdravstvo za zemlje u razvoju, ali i za razvijene zemlje. Prema evidenciji samo 6,2 % žena koje su napunile 15 godina su u 2004. godini primile su cjepivo (5). Prepreke za cijepljenje protiv HPV-a su: roditelji i pacijenti koji nemaju znanja o HPV cjepivu, nedostatak preporuka liječnika za cijepljenje, regionalne razlike zbog promicanja potrebe cijepljenja. U rješavanju trenutno poznatih prepreka cijepljenja mogu se primijeniti mjere poboljšanja sustava zdravstva i obrazovanja (roditelji, liječnici, mlađe žene) kao i poticajne mjere za cijepljenje na regionalnoj razini.

### **1.7.2. Sekundarna prevencija – probir na rak vrata maternice**

Ne postoji jedinstvena globalna strategija za prevenciju karcinoma vrata maternice. Integracijom HPV cjepiva s novim, osjetljivijim testovima za dijagnostiku HPV-a poboljšat će se zdravstvena zaštita za sve žene. Svaka metoda treba biti validirana, sigurna za rad, ali i isplativa u okviru raspoloživih sredstava pojedine regije.

Najveći problem pojave karcinoma vrata maternice pojavljuje se zbog toga što se ne provodi probir. Prema studijama u SAD-u dokazano je da 60 % žena s rakom vrata maternice nikada nije napravilo Papa test ili ga nije napravilo u periodu duljem od pet godina (6).

Prema novijim smjernicama, prvo se treba primijeniti osjetljivi test (HPV test), a specifičniji test (citologija) bi trebao biti korišten samo za HPV pozitivne žene kako bi se odredilo daljnje postupanje s pacijenticom.

Metodologija za primarni skrining vrata maternice uključuje HPV testiranje s individualnim HPV 16 i HPV 18 genotipiziranjem. Prema dogovoru ASCCP 2012. za smjernice probira za prevenciju i rano otkrivanje vrata maternice preporučuje se skrining u dobi od 21. godine do 65. godine života za cijepljene i ne cijepljene žene. Uvođenje HPV testiranja u probir žena ima potencijal za daljnje smanjenje morbiditeta i smrtnosti od raka vrata maternice. Važno je prepoznati da je cilj probira spriječiti nastanak raka, a temelji se na otkrivanju i liječenju prekursorskih lezija prije nego što postanu rak.

## **2. CILJ RADA**

Rad je izrađen u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Splitsko – dalmatinske županije, u Laboratoriju za molekularnu dijagnostiku infekcija spolnog sustava.

Ciljevi ovog rada bili su:

- dijagnosticirati Humani papiloma virus u uzetim uzorcima
- prikazati zastupljenost HPV virusa kod žena u Splitsko – dalmatinskoj županiji
- usporediti podatke s podacima za učestalost virusa u drugim zemljama

### 3. IZVORI PODATAKA

Izvori podataka su rezultati rutinskog rada Laboratorija za molekularnu dijagnostiku infekcija spolnog sustava u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Splitsko – dalmatinske županije.

### 4. METODE DIJAGNOSTIKE HPV INFEKCIJE

#### 4.1 Uzorkovanje

Za dijagnostiku HPV infekcije metodom RealTime PCR kao uzorak koristi se obrisak cerviksa.

##### Upute za uzimanje uzorka za otkrivanje HPV infekcije

Za ispravno provođenje testa potrebno se striktno pridržavati uputa za uzimanje uzoraka za molekularnu dijagnostiku HPV virusa.

##### NAPOMENE:

- Uzorkovati obrisak za PAPA test prije uzimanje uzorka za DNK testiranje
- Uzorkovati obrisak za DNK testiranje prije premazivanja octenom kiselinom ili jodom, ako se radi kolposkopija
- Uzorak za ovu pretragu potrebno je poslati u transportnom mediju za PCR –ThinPrep PAP TEST, koristeći četkicu za uzorkovanje



**Slika 9.**Transportni medij za uzimanje uzorka cervikalnog obriska



## Uzorkovanje obriska cerviksa

- uvući centralna vlakna četkice u endocervikalni kanal dovoljno duboko da kraća vlakna četkice budu u kontaktu s ektocerviksom. Lagano pritiskati i okretati četkicu 5 puta u smjeru kazaljke na satu
- odmah nakon uzorkovanja pritiskujući četkicu u dno transportnog medija 10 puta tako da se vlakna razdvoje. Zatim, energično zavrtjeti četkicu u mediju kako bi se cijeli uzeti sadržaj stanica oslobodio u medij
- odbaciti četkicu
- zatvoriti bočicu transportnog medija pazeći da navoji čepa dobro prionu na bočicu da bi spriječili prolijevanje medija pri transportu
- označiti bočicu s transportnim medijem, te obavezno napisati ime i prezime pacijenta na bočicu, te poslati u laboratorij



uzimanje brisa

ispiranje

zatvoriti

označiti

poslati

**Slika 10.** Uzorkovanje obriska cerviksa za molekularnu dijagnostiku

## 4.2 PCR METODA

Lančana reakcija polimerazom – PCR (engl. *Polymerase Chain Reaction*) predstavlja replikaciju (prepisivanje, umnažavanje) DNK molekula *in vitro*. Ovom metodom, koja je vrlo jednostavna, se relativno kratki dio DNK umnožava u veliki broj identičnih kopija. Ciljni dio DNK molekule koji želimo umnožiti određuje se kratkim oligonukleotidnim sekvencama tj. početnicama (engl. *primer*), koji su komplementarni krajevima dijela DNK koju umnažamo. Upravo su početnice pokretači serijske reakcije pomoću enzima DNK polimeraze, koja na kalupu jednog DNK lanca sintetizira novi komplementarni lanac. Pri tome dužina sintetiziranog dijela DNK molekule odgovara dužini koju omeđuju izabrane početnice.

PCR se izvodi ponavljanjem jednakih ciklusa (30 – 40), od kojih se svaki sastoji od tri osnovne faze:

### 1. Razdvajanje lanaca DNK (*denaturation*):

Inicijalno denaturiranje DNK u trajanju od jedne minute pri temperaturi od 94 °C. Dolazi do razdvajanja sparenih lanaca dvolančane DNK, koji zatim služe kao kalupi za amplifikaciju. Ova faza traje 1 minutu.

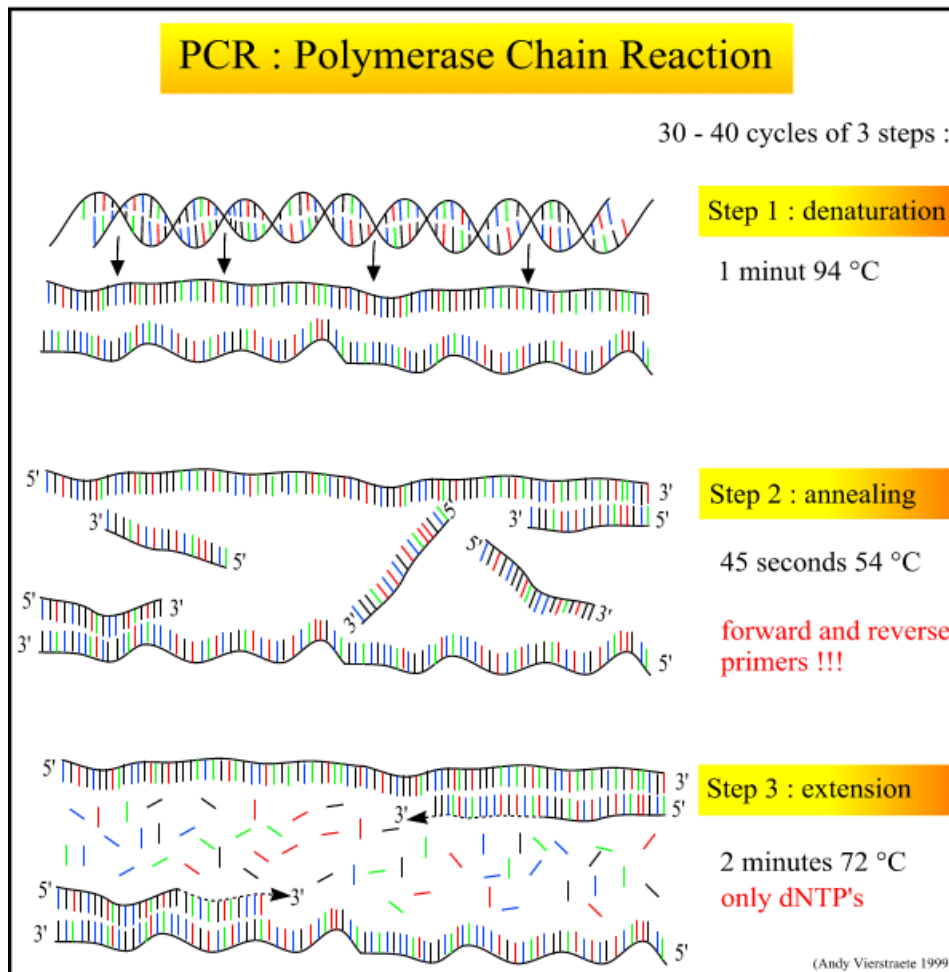
### 2. Sparivanje početnica s komplementarnim dijelovima DNK (*annealing*):

Hibridizacija početnica na komplementarne dijelove DNK. U tom procesu temperatura pada na 55 °C, a oligonukleotidni primeri se vežu za komplementarne razdvojene lance DNK. Ova faza traje u prosjeku 45 sekundi, a ovisi o dužini primera.

### 3. Produljenje lanca (*extesion*):

U posljednjoj fazi dolazi do sinteze komplementarnog lanca pri temperaturi od 72 °C. Tada Taq polimeraza započinje polimerizaciju i dostiže svoj maksimum aktivnosti. Trajanje ove faze je 1 - 2 minute, a ovisi o dužini fragmenta koji se želi umnožiti.

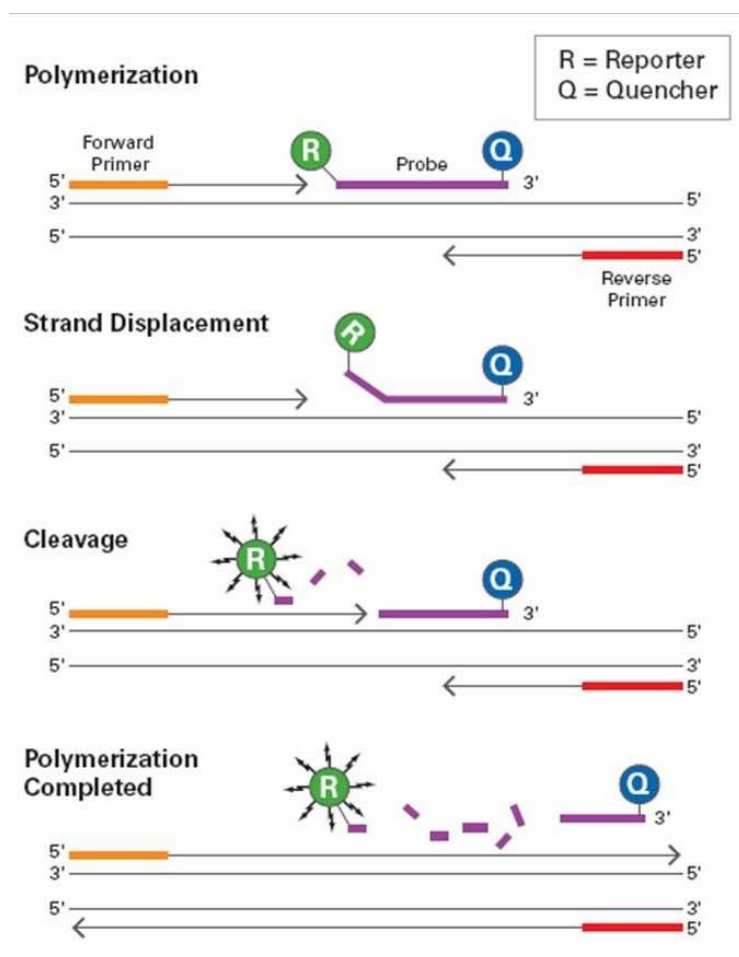
Budući da se na oba lanca sinteza odvija istovremeno u jednom ciklusu amplifikacije će se broj DNK molekula udvostručiti. Ponavljanjem postupka broj novonastalih molekula DNK će se povećavati geometrijskom progresijom. Konačno, reakcija će biti ohlađena na 4 °C.



**Slika 11.** Shematski prikaz PCR metode

## Detekcija umnoženih sekvenci

Cobas 4800 HPV Test koristi real-time tehnologiju. Oligonukleotidne probe u reakciji označene su fluorescentnom bojom koja služi kao reporter, te s prigušivačem čija je uloga sprječavanje emisije fluorescentne boje dok se proba ne veže za DNK lanac. U daljnjoj amplifikaciji komplementarne probe se vežu na sekvence razdvojenih lanaca DNK. Polimeraza svojom aktivnošću odcjepljuje reporter od prigušivača. Slobodni reporter, kada se pobudi određenim spektrom svjetlosti, emitira fluorescentno svjetlo određene valne duljine. Oligonukleotidne probe označene su različitim bojama i emitiraju svjetlo različitih valnih duljina ovisno o tipu virusa, te tako možemo razlikovati HPV 16 i 18, ostale visokorizične tipove i  $\beta$  – globin koji služi kao kontrola kvalitete uzorka.



**Slika 12.** Shematski prikaz vezanja fluorescentno obilježenih proba i oslobađanja reportera od prigušivača

## Potrebni reagensi za izolaciju i amplifikaciju ciljne sekvence virusne DNK

1. Cobas 4800 System Sample Preparation Kit (komplet otopina za pripremu uzoraka)
  - MGP cobas 4800 System Magnetic Glass Particles (sustav sa česticama magnetskog stakla)
  - EB cobas 4800 System Elution Buffer (sustav bufera za ispiranje)
2. Cobas 4800 HPV Ampification/Detection Kit (komplet za amplifikaciju/detekciju DNK)
  - HPV MMX cobas 4800 HPV Master Mix
  - HPV Mg/Mn cobas 4800 HPV Mg/Mn Solution
3. Cobas 4800 HPV Controls Kit (kontrola)
  - HPV (+) C cobas 4800 HPV Positive Control
  - HPV (-) C cobas 4800 System Negative Control
4. Cobas 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit (komplet otopina za pripremu uzoraka tekućinske citologije)
  - PK cobas 4800 Proteinase K
  - SDS cobas 4800 System SDS Reagent (deterđent koji otapa membranu i oslobađa DNK)
  - LYS cobas 4800 System Lysis Buffer
5. Cobas 4800 System Wash Buffer Kit



**Slika 13.** Komplet otopina za pripremu uzoraka tekućinske citologije  
Proteinase K, SDS Reagent, Lysis Buffer

## Pribor i aparati

Roche Cobas 4800 sastoji se od:

- računala (Cobas 4800 software, kontrolna jedinica)
- roche Cobas x480 aparata
- roche Cobas z480 analizator (PCR termoblok)



**Slika 14.** Prikaz uzoraka za HPV unutar Roche Cobas x480 aparata

## **Cobas 4800 software i kontrolna jedinica**

Software radi s posebnom kontrolnom jedinicom. Program vodi korisnika kroz cijeli proces od pripreme uzorka do amplifikacije i otkrivanja DNK te na kraju interpretacije rezultata. Ručni barkod čitač spojen je na kontrolnu jedinicu i služi za skeniranje uzoraka i reagensa te podešavanje radnih naloga datoteke.

Cobas sistem može biti spojen s laboratorijskim informacijskim sustavom (LIS). Na taj se način automatski preuzimaju nalozi iz LIS-a nakon što su uzorci stavljeni u Cobas aparat. Završni rezultati se ručno unose u LIS.

## **Cobas x480 aparat**

U aparatu Cobas x480 odvija se prvi dio metode, automatska priprema uzorka, izolacija DNK i dodavanje reakcijske smjese. Radni proces odvija se u tri faze:

1. punjenje aparata uzorcima (u svojim transpornim medijima), reagensa i potrošnog materijala
2. automatska izolacija čiste DNK
3. automatsko dodavanje reakcijske smjese (Master Mix) izoliranoj DNK u drugoj fazi

Na kraju treće faze, pripremljeni uzorci su u mikrotitar pločici spremni za PCR.



**Slika 15.** Roche Cobas x480 aparat

## **Cobas z480 analizator**

Cobas z480 analizator (termoblok) izvodi točne i precizne promjene temperature, a služi za amplifikaciju i detekciju DNK.

Mikrotitar pločica s pripremljenim uzorcima iz prve faze rada stavlja se u PCR uređaj Cobas x480 gdje se unutar 2 sata umnožava DNK. Analizator koristi fluorescentni signal za detekciju umnoženih nukleinskih kiselina koristeći metodu RealTime PCR. Cijeli proces je automatiziran, osim dijela stavljanja i vađenja mikrotitarskih pločica.



**Slika 16.** Roche Cobas z480 analizator



## 5. REZULTATI

### 5.1. Rezultati HPV testiranja u NZJZ SDŽ za 2018. godinu

**Tablica 1.** Učestalost HPV pozitivnih žena od ukupnog broja testiranih pacijentica u SDŽ u 2018-oj godini

|                         | Broj uzoraka | Postotak |
|-------------------------|--------------|----------|
| POZITIVNE               | 842          | 31 %     |
| NEGATIVNE               | 1875         | 69 %     |
| UKUPNI TESTIRANI UZORCI | 2717         | 100 %    |

**Tablica 2.** Distribucija HPV genotipova među HPV pozitivnim ženama u SDŽ u 2018-oj godini

|                          | Broj pozitivnih<br>uzoraka | Distribucija HPV<br>genotipova od ukupnog<br>broja testiranih<br>N = 2717 | Distribucija HPV<br>genotipova od ukupnog<br>broja pozitivnih<br>N = 842 |
|--------------------------|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| HPV 16                   | 240                        | 8.8 %                                                                     | 28.5 %                                                                   |
| HPV 18                   | 74                         | 2.7 %                                                                     | 8.8 %                                                                    |
| OSTALI HPV<br>GENOTIPOVI | 654                        | 24.1 %                                                                    | 77.6 %                                                                   |

\*broj pozitivnih uzoraka je dobiven kao ukupni broj pozitivnih uzoraka na određen genotip (samostalno ili u kombinaciji s ostalim genotipovima)

Tijekom 2018. godine u ovom laboratoriju testirano je ukupno 2717 uzoraka obrisaka cerviksa na visokorizične tipove HPV-a, molekularnom metodom (PCR). Od 2717 uzoraka, 842 (31%) uzorka bila su pozitivna na bar jedan visokorizični tip HPV-a.

Prema navedenim podacima, od ukupno 2717 testiranih uzoraka najveći broj pozitivnih, 654, bilo je pozitivno na jedan ili više tipova u skupini ostalih visokorizičnih tipova HPV-a (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68).

Od ukupnog broja testiranih, 240 uzoraka bilo je pozitivno na HPV 16 (samostalno ili u kombinaciji s ostalim HPV genotipovima), a 74 uzorka bilo je pozitivno na HPV tip 18.

## 5.2 Interpretacija nalaza

NZJZ Split

**cobas® 4800**

**cobas HPV Test Report**

Roche

|                      |                            |                           |                   |
|----------------------|----------------------------|---------------------------|-------------------|
| Start of run:        | 06-Apr-2017 08:38:48       | Lysis Buffer Lot/Exp:     | X00728 / Mar-2018 |
| System:              | c4CZC34155S1               | MGP Lot/Exp:              | X02511 / Mar-2018 |
| Serial No.:          | x 480: 6168 / z 480: 51526 | Elution Buffer Lot/Exp:   | X08869 / Jun-2018 |
| Test version:        | 2.0.0                      | Proteinase K Lot/Exp:     | W15501 / Aug-2017 |
| Operator:            | Laboperator1               | Positive Control Lot/Exp: | X02534 / Mar-2018 |
| MVP ID:              | ID3026171                  | Negative Control Lot/Exp: | X02539 / Mar-2018 |
| DWP ID:              | IA0732409                  | Master Mix Lot/Exp:       | X01647 / Mar-2018 |
| Wash Buffer Lot/Exp: | X02240 / Apr-2018          | MgMn Reagent Lot/Exp:     | X01963 / Mar-2018 |
| SDS Lot/Exp:         | X00723 / Mar-2018          |                           |                   |

Run name 06-APR-2017 08:38 HPV 06.04.2017

Test status: **VALID**

Controls

| Position | Sample ID       | Control Type     | Result | Flags | Accepted by  |
|----------|-----------------|------------------|--------|-------|--------------|
| A01      | 2H1X025342I09KZ | Positive control | Valid  |       | Laboperator1 |
| B01      | 0NCX025392I0KO3 | Negative control | Valid  |       | Laboperator1 |

Specimens

| Position | Sample ID | Result 1             | Result 2      | Result 3      | Flags | Accepted by  |
|----------|-----------|----------------------|---------------|---------------|-------|--------------|
| C01      | 0757      | NEG Other HR HPV     | NEG HPV16     | NEG HPV18     |       | Laboperator1 |
| D01      | 0758      | POS Other HR HPV     | NEG HPV16     | NEG HPV18     |       | Laboperator1 |
| E01      | 0759      | NEG Other HR HPV     | NEG HPV16     | NEG HPV18     |       | Laboperator1 |
| F01      | 0760      | NEG Other HR HPV     | NEG HPV16     | NEG HPV18     |       | Laboperator1 |
| G01      | 0761      | NEG Other HR HPV     | NEG HPV16     | NEG HPV18     |       | Laboperator1 |
| H01      | 0762      | Invalid Other HR HPV | Invalid HPV16 | Invalid HPV18 |       | Laboperator1 |
| A02      | 0763      | NEG Other HR HPV     | NEG HPV16     | NEG HPV18     |       | Laboperator1 |
| B02      | 0764      | NEG Other HR HPV     | POS HPV16     | NEG HPV18     |       | Laboperator1 |
| C02      | 0765      | POS Other HR HPV     | NEG HPV16     | NEG HPV18     |       | Laboperator1 |
| D02      | 0767      | NEG Other HR HPV     | NEG HPV16     | NEG HPV18     |       | Laboperator1 |

cobas® 4800 software 2.2.0 07-Apr-2017 08:21:39

06-APR-2017 08:38 HPV 06.04.2017 Page 1 of 2

Slika 17. Izgled konačnih rezultata, Cobas 4800 software

Nastavni zavod za javno zdravstvo Splitsko - dalmatinske županije  
Služba za mikrobiologiju i parazitologiju  
21 000 Split, Vukovarska 46  
Tel: (021) 401 111



K

Zaprimljeno : 14.05.2019.  
Završeno : 16.05.2019.

Prezime i ime :   
Uzorak : **Bris cerviksa**  
Lab broj : 1000

Lila tjeđan

**Nalaz mikrobiološke pretrage**

| Pretraga                                                     | Rezultat  | Metoda |
|--------------------------------------------------------------|-----------|--------|
| DETEKCIJA HPV VISOKOG RIZIKA                                 |           |        |
| HPV tip 16                                                   | negativan | rtPCR  |
| HPV tip 18                                                   | negativan | rtPCR  |
| HPV tipovi 31, 33, 35, 39,<br>45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 | negativan | rtPCR  |



*Kaliterna*  
Doc.prim.dr.sc. Vanja Kaliterna, dr.med.  
specijalist  
medicinske mikrobiologije  
Iden. Br. HZZJZ 137987

Doc. prim. dr.sc. Vanja Kaliterna, dr. med., specijalist medicinske mikrobiologije

**Slika 18.** Prikaz gotovog nalaza

Rezultati testa Cobas 4800 HPV High Risk Panel Plus Genotyping izdaju se kao negativni ili pozitivni zajedno za HPV tip 16, 18 i ostale HPV visokorizične tipove (31, 33, 35, 39, 56, 51, 52, 56, 58, 69, 66, 68).

Mogući rezultati pretrage na HR HPV su:

- HPV visokog rizika negativan ili
- u slučaju pozitivnog nalaza, dobiva se pojedinačni rezultat za HPV 16, za HPV 18 te skupno za ostale tipove HPV-a

## 6. RASPRAVA

Prema podacima iz studije Kaliterne i suradnika, vidljivo je da je HPV 16 najčešće zastupljen tip HPV-a koji se nalazi u uzorcima cerviksa kod žena u južnoj Hrvatskoj, kao i u većini studija koja su provedena u svijetu. U ovom istraživanju su se stope pozitivnosti za HPV 18 i 31 malo razlikovale u odnosu na druga istraživanja provedena u sjevernoj Hrvatskoj. To upućuje na geografske i okolišne čimbenike koji su povezani s učestalošću pojedinih HPV tipova. Splitsko – dalmatinska županija je važna turistička regija Hrvatske s velikim brojem turista. Također je pomorsko središte s lukom gdje se zaustavlja značajan broj pomoraca koji su nositelji različitih HPV tipova iz cijelog svijeta koji se šire unutar ove regije. Izrazito je važno prikupljati informacije o regionalnim varijacijama koje utječu na HPV spektar. U gore navedenom istraživanju bilo je 406 HPV pozitivnih uzoraka. Među pozitivnim uzorcima HPV 16 je bio najčešći tip u 30,8 % slučajeva, HPV 18 (22,2 %), HPV 31 (6,7 %), HPV 33 (3,2 %), HPV 52 (2,5 %), HPV 45 (1,7 %) i HPV 59 (1,2 %).

U ovom radu utvrđena je slična distribucija HPV genotipova u obrisima cerviksa žena Splitsko – dalmatinske županije testiranim u NZJZ SDŽ tijekom 2018. godine. Od ukupnog broja pozitivnih slučajeva (842), 240 (28,5 %) ih je bilo pozitivno na HPV 16, a 74 (8,8 %) na HPV 18.

HPV DNK identificirana je u gotovo svim slučajevima karcinoma cerviksa u svijetu, od kojih su tipovi 16 i 18 bili uzročnici u 70 % slučajeva. U Europi je prevalencija HPV-a kod invazivnog karcinoma cerviksa 85,9 %, kod žena s niskim stupnjem lezija u Papa testu je 67,8 %, dok je u uzorcima cerviksa kod žena s normalnom citologijom prevalencija HPV-a 8,1 % (7). Hrvatska ima manju incidenciju karcinoma od većine zemalja istočne Europe. Iako je važno pratiti međunarodna istraživanja o prevalenciji i distribuciji HPV tipova u svijetu, jednako je važno prikupljati informacije o regionalnim varijacijama o spektru HPV tipova, posebice zbog primjene HPV cjepiva.

## 7. ZAKLJUČAK

Infekcija humanim papiloma virusom (HPV) predstavlja najčešću spolno prenosivu infekciju. Očekuje se da će oko 90 % spolno aktivne populacije bar jednom u životu biti zaraženo ovim virusom. Najveće stope prevalencije prisutne su u mlađim dobnim skupinama te je u većini razvijenih zemalja HPV infekcija zastupljena u 40 – 80 % djevojaka. Rizični faktori za stjecanje HPV infekcije su veći broj spolnih partnera, rano stupanje u spolne odnose, druge spolno – prenosive bolesti (klamidija, herpes simpleks tipa 2). Većina infekcija je subklinička, benigna i prolazna, bez obzira radi li se o infekciji nisko- ili visokorizičnim HPV genotipovima.

HPV tipovi 16 i 18 imaju najveću sklonost perzistenciji i progresiji u karcinom te su ovi tipovi zastupljeni u preko 70 % svih karcinoma vrata maternice. Zahvaljujući napretku testova koji se koriste u dijagnostici HPV infekcija, omogućena je individualna genotipizacija tipova 16 i 18 uz davanje skupnog rezultata na prisutnost ostalih 12 visokorizičnih tipova. Time je omogućen drugačiji pristup u terapiji žena koje imaju HPV 16 i 18, jer su takve žene u većem riziku od razvoja karcinoma nego žene koje imaju ostale visokorizične genotipove.

Tijekom 2018. godine u NZJZ SDŽ testirano je ukupno 2717 žena, od kojih su 842 (31 %) bile pozitivne, a najzastupljeniji je bio HPV tip 16.

## 8. SAŽETAK

Humani papilloma virusi su mali, neobloženi, dvolančani DNK virusi veličine genoma oko 8000 parova baza. Danas je poznato 200 različitih tipova virusa, ali ih samo 40 može zaraziti anogenitalnu regiju koja se može svrstati u tri klase na temelju njihovog potencijala. HPV genotipovi 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 59, 68, 73 i 82 pripadaju skupini visokog rizika koji se povezuju s intraepitelnim lezijama i genitalnim karcinomima.

HPV je najčešća spolno prenosiva bolest u svijetu, a smatra se da 660 milijuna ljudi u svijetu ima tu infekciju. Papilloma virusi uzročnici su brojnih infekcija kože, stopala, anogenitalnih bradavica, laringealnih papiloma te različitih karcinoma. Velika većina HPV infekcija na svim mjestima je subklinička i asimptomatska. Stoga većina HPV pozitivnih pojedinaca ne znaju da su zaraženi. Prijenos HPV infekcije događa se kod žena tijekom spolnog odnosa sa zaraženim partnerom. Od kontakta virusom do pojave prvih kliničkih promjena potrebno je između 3 tjedna do 8 mjeseci, ali za razvoj malignih promjena potrebno je 10 – 15 godina. HPV infekcija najvažniji je predisponirajući faktor za razvoj predzloćudnih i zloćudnih promjena vrata maternice.

U razvijenim zemljama program probira na karcinom vrata maternice, provodi se od sredine 1950-ih godina. Metoda prvog izbora je Papa test koji ima relativno nisku osjetljivost jer zahtjeva educirano i izvježbano osoblje. Nakon patološkog nalaza Papa - testa potrebno je ponoviti nalaz Papa - testa, napraviti HPV testiranje, kolposkopiju i biopsiju.

Uvođenjem molekularnih metoda koje imaju znatno veću osjetljivost u odnosu na Papa test, omogućena je ranija detekcija osoba koje imaju HPV pa su time pod rizikom razvoja lezija. Detekcija nukleinskih kiselina PCR tehnikom neivazivna je metoda detekcije HPV infekcije spolnog sustava. Također, detekcijom pojedinačnih tipova HPV 16 i 18, kao najčešćih uzročnika karcinoma, omogućeno je selektiranje žena pod najvećim rizikom te njihovo daljnje upućivanje na kolposkopiju i biopsiju.

Tijekom 2018. godine u NZJZ SDŽ testirano je ukupno 2717 žena, od kojih su 842 (31 %) bile pozitivne, a najzastupljeniji je bio HPV tip 16. Provođenjem mjera primarne (cijepljenje i edukacija) i sekundarne prevencije (probir na karcinom vrata maternice HPV testiranjem), u budućnosti bi trebale biti eliminirane bolesti koje uzrokuju HPV.

## 9. ABSTRACT

Human papilloma viruses are small, unbroken, double-stranded DNA genomic viruses, about 8,000 base pairs. Today, 200 different types of virus are known, but only 40 of them can infect anogenital region that can be classified into three classes based on their cancer potential. HPV genotypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 59, 68, 73 and 82 belong to a high risk group associated with intraepithelial lesions and genital carcinoma.

HPV is the most common sexually transmitted disease in the world, and it is believed that 660 million people have this infection worldwide. Papilloma viruses cause many infections of the skin, feet, anogenital warts, laryngeal papillomas, and various cancers. The majority of HPV infections in all places are subclinical and asymptomatic. Therefore, most HPV positive individuals do not know that they are infected. Transmission of HPV infection occurs in women during sexual intercourse with the infected partner. From the contact of the virus to the appearance of the first clinical changes, it takes between 3 weeks and 8 months, but for the development of malignant changes it takes 10 to 15 years. HPV infection is the most important predisposing factor for the development of premalignant and malignant changes in the cervix. In developed countries, the cervical cancer screening program exists since the mid-1950s. The first choice method is a Pap test that has relatively low sensitivity because it requires educated and trained staff. After the pathological Pap test, it is necessary to repeat the Papa test, then to perform HPV testing, colposcopy and biopsy.

By introducing molecular methods that have a much greater sensitivity in comparison with Pap test, earlier detection of HPV positive persons is enabled who were at risk of developing lesions. Detection of nucleic acids by PCR technique is an inescapable method of detecting HPV infection in the genital system. Also, detection of individual types of HPV 16 and 18 as the most common causer of cancer, allowed gynecologist to select women at the highest risk and their further referral to colposcopy and biopsy.

In 2018, a total of 2717 women were tested in the Public Health Institute of Split and Dalmatia County, out of which 842 (31 %) were HPV positive and the most common type was HPV 16. By performing primary (vaccination and education) and secondary prevention (HPV cervical cancer screening), HPV-related diseases should be eliminated in the future.

## 10. LITERATURA

1. Kalenić S. i sur. Medicinska mikrobiologija. 2. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2019. Str. 517 – 542
2. E. Jelastopulu, E. Fafliora, A. Plota, V. Babalis, C. Bartsokas, K. Poulas, P. Plotas: Knowledge, behaviours and attitudes regarding HPV infection and its prevention in female students in West Greece. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 20, 2622-2629 (2016)
3. S. Yörük, A. Açıkgöz, G. Ergör: Determination of knowledge levels, attitude and behaviors of female university students concerning cervical cancer, human papiloma virus and its vaccine. *BMC Womens Health* 16, 51 (2016)
4. Kalenić S. i sur. Medicinska mikrobiologija. 2. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2019. Str. 517 – 542
5. S. M. Garland, S. K. Kjaer, N. Muñoz, S. L. Block, D. R. Brown, M. J. DiNubile, B. R. Lindsay, B. J. Kuter, G. Perez, G. Dominiak-Felden, A. J. Saah, R. Drury, R. Das, C. Velicer: Impact and Effectiveness of the Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine: A Systematic Review of 10 Years of Real-world Experience. *Clin Infect Dis* 63, 519-527 (2016)
6. E. Petrosky, J. A. Jr Bocchini, S. Hariri, H. Chesson, C. R. Curtis, M. Saraiya, E. R. Unger, L. E. Markowitz: Use of 9-valent human papillomavirus (HPV) vaccine: updated HPV vaccination recommendations of the advisory committee on immunization practices. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 64, 300-304 (2015)
7. Kaliterna V, Kaliterna M, Pejković L, Drmić – Hofman I, Anđelinović Š. Prevalence and genotyping of the Human papillomavirus in the cervical specimens among women of Southern Croatia (Dalmatia Country). *Cent Eur J Public Helth* 2013M; 21 (1):26 – 9
8. Karelović D. i suradnici. Infekcije u ginekologiji i perinatologiji. Zagreb; Medicinska naklada; 2012., str. 460 – 475
9. Serić J. Klinička kemija i molekularna dijagnostika u kliničkoj praksi. Zagreb: Medicinska naklada; 2015.
10. Harper D.M, DeMars L.R. HPV vaccines – A review of the first decade. 2017. *Gynecologic oncology*. 146 (1): 196 – 204
11. Miller D.L, Puriccelli M.D, M. Stack M.S. Virology and Molecular Pathogenesis of Human Papillomavirus (HPV) – Associated Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. *Biochem J*. 2012 Apr 15; 443 (2): 339 - 353



12. Vanja Kaliterna, Zvonimir Barisic. Genital human papillomavirus infections. *Frontiers In Bioscience, Landmark*, 23, 1587-1611, March 1, 2018
13. Degen H.J, Deufel A, Eisel D, Grunewald – Janho S, Keesey J. *PCR Applications Manual*. Germany: Roche Diagnostics GmbH 2006.
14. Westra W. H, Detection of human papillomavirus (HPV) in clinical samples: Evolving methods and strategies for the accurate determination of HPV status of head and neck carcinomas. *Oral Oncology* 2014; 50 (9): 771 – 779
15. L Stern P, C Kitchener H, *Vaccines for the Prevention of Cervical Cancer*. Oxford, Oxford Oncology Library, 2008.
16. Baseman J. G, Koutsky L.A. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 2005; 32S : S16 – S24.
17. Doorbar J. The papilloma virus life cycle. *J Clin Virol* 2005; 32S : S7 – S15.
18. Poljak M, Kocjan B. J, Commercially available assays for multiplex detection of alpha human papillomaviruses. 2010. *Expert Rev Anty Infect THER* 8, 1139 – 1162.
19. Schiller J. T, The Potential Benefits of HPV Vaccination in Previously Infected Women. 2016. *EbioMedicine* 10, 5 – 6
20. Ćorušić A, Škrgatić L, Karadža M, Planinić P, Lovrić – Gršić H, Human papillomavirus infection and genital cancer in women. April, 2013. *Medix*. 19 (104 – 105)

## **11. ŽIVOTOPIS**

### **Opći podatci:**

Ime i prezime: Paola Dragun

Datum rođenja: 18.06.1997.

Adresa stanovanja: Sv. Lovre 25, Stobreč

e-mail: paoladragun1997@gmail.com

### **Obrazovanje:**

2004. – 2012. – Osnovna škola Stobreč, Stobreč

2012. – 2016. – Opća Gimnazija Marko Marulić, Split

2016. – 2019. – Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, preddiplomski sveučilišni studij  
medicinsko - laboratorijske dijagnostike

## POPIS SLIKA

|                                                                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Slika 1.</b> Prikaz HPV virusa.....                                                                                 | 1  |
| <b>Slika 2</b> Prikaz HPV genoma.....                                                                                  | 5  |
| <b>Slika 3.</b> Kondilomi na spolovilu .....                                                                           | 6  |
| <b>Slika 4.</b> Premaligne i maligne promjene epitela inficiranog HPV- om .....                                        | 9  |
| <b>Slika 5.</b> Vaginalna intraepitelna neoplazija .....                                                               | 10 |
| <b>Slika 6.</b> Vulvarna intraepitelna neoplazija .....                                                                | 11 |
| <b>Slika 7.</b> Koilociti u PAPA testu.....                                                                            | 12 |
| <b>Slika 8.</b> Cidofivir.....                                                                                         | 15 |
| <b>Slika 9.</b> Transportni medij za uzimanje uzorka cervikalnog obriska.....                                          | 19 |
| <b>Slika 10.</b> Uzorkovanje obriska cerviksa za molekularnu dijagnostiku.....                                         | 20 |
| <b>Slika 11.</b> Shematski prikaz PCR metode .....                                                                     | 22 |
| <b>Slika 12.</b> Shematski prikaz vezanja fluorescentno obilježenih proba i oslobađanja reportera od prigušivača ..... | 23 |
| <b>Slika 13.</b> Komplet otopina za pripremu uzoraka tekućinske citologije .....                                       | 24 |
| <b>Slika 14.</b> Prikaz uzoraka za HPV unutar Roche Cobas x480 aparata.....                                            | 25 |
| <b>Slika 15.</b> Roche Cobas x480 aparat .....                                                                         | 22 |
| <b>Slika 16.</b> Roche Cobas z480 analizator .....                                                                     | 23 |
| <b>Slika 17.</b> Izgled konačnih rezultata, Cobas 4800 software .....                                                  | 29 |
| <b>Slika 18.</b> Prikaz gotovog nalaza.....                                                                            | 30 |