

Vážená pani doktorka / vážený pán doktor,

dovoľujeme si Vám týmto oznámiť uvedenie nového vyšetrenia spoločnosti KLINICKÁ BIOCHÉMIA s.r.o. :

Molekulárno-biologická diagnostika HPV infekcie - vyšetrenie expresie HR-HPV onkogénov E6/E7

Klinický význam

HPV vírusy sú zodpovedné za viac ako 99% prípadov karcinómu cervixu. Za vysoko rizikové typy HPV (HR HPV) pre ochorenie rakoviny krčka maternice je považovaných 14 HPV genotypov: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68.

HPV infekcia býva veľmi bežná. Prítomnosť DNA vírusu potvrdzuje prítomnosť vírusu, nemusí však potvrdzovať aj jeho aktivitu a v mnohých prípadoch je imunitným systémom eliminovaná do 6 – 12 mesiacov. Zvýšené riziko rozvoja závažnej dysplázie alebo cervikálneho karcinómu hrozí však u pacientok s pretrvávajúcou infekciou niektorým z HR HPV typov. Metóda detekcie, ktorá sa zameriava na tie onkogénne prvky HPV, ktoré napomáhajú práve pretrvávajúcej vírusovej infekcii a bunkovej transformácii, predstavuje účinný prístup k detekcii cervikálneho ochorenia. Detekciou na úrovni mRNA sa detegujú len aktívne vírusy, ktorých DNA sa už exprimuje a môže sa naplno prejaviť ich onkogénny charakter.

Aptima HPV test detekuje práve mRNA vírusových E6/E7 onkogénov, čím sa zisťuje nielen prítomnosť, ale aj aktivita HR HPV. Expresia vírusových onkogénov E6/E7 je umožnená včlenením HPV genómu do genómu bunky. Proteíny z E6/E7 mRNA menia funkciu bunkových proteínov p53 a Rb, čo vedie k narušeniu kontrolných bodov bunkového cyklu a nestabilite genómu bunky.

Tento test pomáha identifikovať pacientky s vyšším rizikom pre rozvoj karcinómu cervixu a tak určenie potreby pre ďalšie sledovanie a diagnostické postupy (kolposkopia). Poskytuje rovnakú vynikajúcu senzitivitu ako DNA-HPV testy (podiel zachytených falošných negatív je porovnateľný s bežnými testami založenými na DNA analýze) a zároveň vyššiu špecifitu (menej falošne pozitívnych výsledkov) (v klinickej štúdii u NILM pacientok (negatívne pre intraepiteliálne lézie alebo malignitu) ukázal Aptima HPV test o 24% menej falošne pozitívnych výsledkov v porovnaní s DNA HPV testami HC2 (1).

Pomocou testu je možné analyzovať aj cervikálne klinické vzorky pre Pap test odobraté do skúmaviek pre LBC - ThinPrep (PreservCyt Solution).

Indikácia vyšetrenia

- následné vyšetrenie pre pacientky s nálezom H-SIL a s dlhodobou pretrvávajúcim nálezom L-SIL (dokázaná prítomnosť DNA HPV)
- perzistencia MRCH po ablatívnom zákroku alebo podľa indikácie onkogynekológa
- screening pacientok s výsledkom Pap testu ASC-US na určenie, či je potrebné kolposkopické vyšetrenie
- prvotný skriningový test v spojení s cervikálnou cytológiou alebo bez nej na určenie žien so zvýšeným rizikom vzniku rakoviny cervixu alebo ohrozených iným závažným ochorením

Toto vyšetrenie môžu indikovať lekári so špecializáciou:

Poistovňa VŠZP:

009 gynekológia

Poistovňa UNION:

009 gynekológia

019 klinická onkológia

229 onkológia v gynekológii

Ak je pacientka poistená v ZP Union, vyšetrenie je možné realizovať pri diagnóze: N87.0, N87.9, D069, C530.

Vyšetrenie je možné uskutočniť 1x za 12 mesiacov.

Dôležité upozornenie:

Vyšetrenie je zatiaľ hradené poisťovňou len pre poistencov VŠZP a UNION.

Metóda stanovenia

Test Aptima HPV je amplifikačný test pre kvalitatívnu detekciu E6/E7 vírusovej mRNA zo 14 vysokorizikových typov ľudského papillomavírusu (HPV) (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68) a to pomocou trojkrovového postupu: zachytením cieľa (izolácia a purifikácia nukleovej kyseliny zo vzorky) a jeho amplifikácie pomocou transkripčne sprostredkovanej amplifikácie (TMA) a následne detekcie produktov amplifikácie pomocou analýzy s hybridizačnou ochranou (HPA) a dvojitou kinetickou analýzou (DKA).

Forma výsledku

Výsledky z molekulárno-genetického vyšetrenia pomocou testu Aptima HPV sú formulované slovne:

Kvalitatívna detekcia mRNA génov E6/E7 HR-HPV pozitívne / negatívne

Pozitívny výsledok znamená prítomnosť mRNA génov E6/E7 vysokorizikových typov HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68).

Negatívny výsledok znamená neprítomnosť mRNA génov E6/E7 vysokorizikových typov HPV. Ak je koncentrácia mRNA HPV pod hranicou detekovateľnosti použitej metódy, výsledok je tiež negatívny.

Výsledok vyšetrenia: do 15 pracovných dní

Upozornenie

Negatívny výsledok nevylučuje možnosť cytologických abnormalít ani budúcej či skrytej CIN2, CIN3 alebo karcinómu. Detekcia mRNA HR HPV je závislá od počtu kópií prítomných vo vzorke a môže byť ovplyvnená metódou odberu vzorky (nesprávnym odberom), manipuláciou so vzorkou alebo jej prepravou, faktormi pacientky, fázou infekcie a prítomnosťou interferujúcich látok (lubrikanty, ktoré obsahujú Polyquaternium 15 s koncentráciou vyššou ako 0,025% alebo antimykotiká, ktoré obsahujú tiokonazol s koncentráciou vyššou ako 0,3%). Výsledky by mali byť použité spolu so zhodnotením cytologickej histórie pacientky, ďalšími rizikovými faktormi a odbormými smernicami.

Preanalytické informácie

Odber biologického materiálu

Na vyšetrenie je potrebný ster z krčka maternice (cervixu). Vzorky je možné odobrať do dvoch typov odberových nádobiek:

1. odberová súprava Aptima® Cervical Specimen Collection and Transport Kit (Gen-Probe)

Pri odbere najprv odstráňte nadbytočné množstvo hlienu z cervikálneho ústia a okolitej sliznice pomocou čistiacieho tampónu (tampón s bielou násadkou v balení s červenou potlačou). Tampón vyhodte. Zasuňte odberovú kefku (kefka s modrou násadkou v balení s čiernou potlačou) do endocervikálneho kanálu a otočte v smere hodinových ručičiek o celé 3 otáčky. Opatrne vytiahnite kefku, pričom sa nedotknite vaginálnej sliznice. Ihneď vložte kefku do odberovej skúmavky, otočte násadkou kefky medzi palcom a ukazovákom 3-krát, aby ste uvoľnili bunky a nádobku pevne uzavrite a označte ju identifikačnými údajmi pacientky. Kefku vyhodte. Násadu nelámate vo vnútri odberovej skúmavky.

2. odberová nádobka ThinPrep Pap Test (Preserv Cyt® Solution) (Hologic Inc.) – odber na LBC

Odobratú vzorku spolu s vyplnenou žiadankou doručiť do laboratória najneskôr do 7 dní od odberu.

Vzorky odobraté do odberovej súpravy Aptima® sú stabilné a vhodné na analýzu HPV:

- maximálne 14 dní po odbere, ak sú uchovávané pri laboratórnej teplote (15-30°C)
- maximálne 30 dní od odberu, ak sú uchovávané pri teplote 2-8°C

Vzorky odobraté do odberovej nádobky pre LBC - ThinPrep Pap Test sú stabilné a vhodné na analýzu HPV:

- maximálne 30 dní po odbere, ak sú uchovávané pri laboratórnej teplote (15-30°C)

Odberové nádobky aj so žiadaniami Vám zašleme po vyžiadaní (**odberové skúmavky Aptima® sú iného typu ako pre detekciu DNA HPV**). Odberové nádobky oboch typov bez odobratej vzorky je potrebné skladovať na dobre vetrateľnom, najlepšie chladnejšom mieste (15-30°C).

Dostupnosť vyšetrenia: Vyšetrenie sa vykonáva v Medicínskom laboratóriu v Žiline.

V prípade akýchkoľvek otázok, prosím, **kontaktujte:**

RNDr. Jana Čamajová, PhD., camajova@klinickabiochemia.sk , 0905 338 859, 0800 820 010

Monika Dupkalová, dupkalova@klinickabiochemia.sk , 0918 423 237

Mgr. Ardian Ameti, ameti@klinickabiochemia.sk , 0918 210 678

Literatúra

1. Aptima® HPV Assay (AW-14517-2601 Rev. 001). Instruction Booklet.
2. Heideman D.A.M. et al. The Aptima HPV Assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *J Clin Microbiol* 2013, 51 (11): 3653-3657.
3. Arbyn M. et al. Which high-risk HPV assays fulfil criteria for use in primary cervical cancer screening? *Clin Microbiol Infect.* 2015, 21(9): 817-826.
4. Rebolj M. et al. Human papillomavirus assay and cytology in primary cervical screening of women aged 30 years and above. *PLoS ONE* 2016, 11(1): e0147326.
5. Haedicke J and Iftner T. A review of the clinical performance of the Aptima HPV assay. *J Clin Virol* 2016, 76: S40-S48.
6. Ratnam S. et al. Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *J Clin Microbiol* 2011: 49 (2), 557-564.