

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЕ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ  
Первый заместитель министра

\_\_\_\_\_ В.А. Ходжаев  
29 декабря 2010  
Регистрационный № 126-1110

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

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

УО «Гомельский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ:

канд. мед. наук, доц. Вергейчик Г.И.

д-р. мед. наук Еремин В.Ф.

Мезенцева И.Н.

Стрибук Ж.А.,

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 ( $\beta$ -актин,  $\beta$ -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

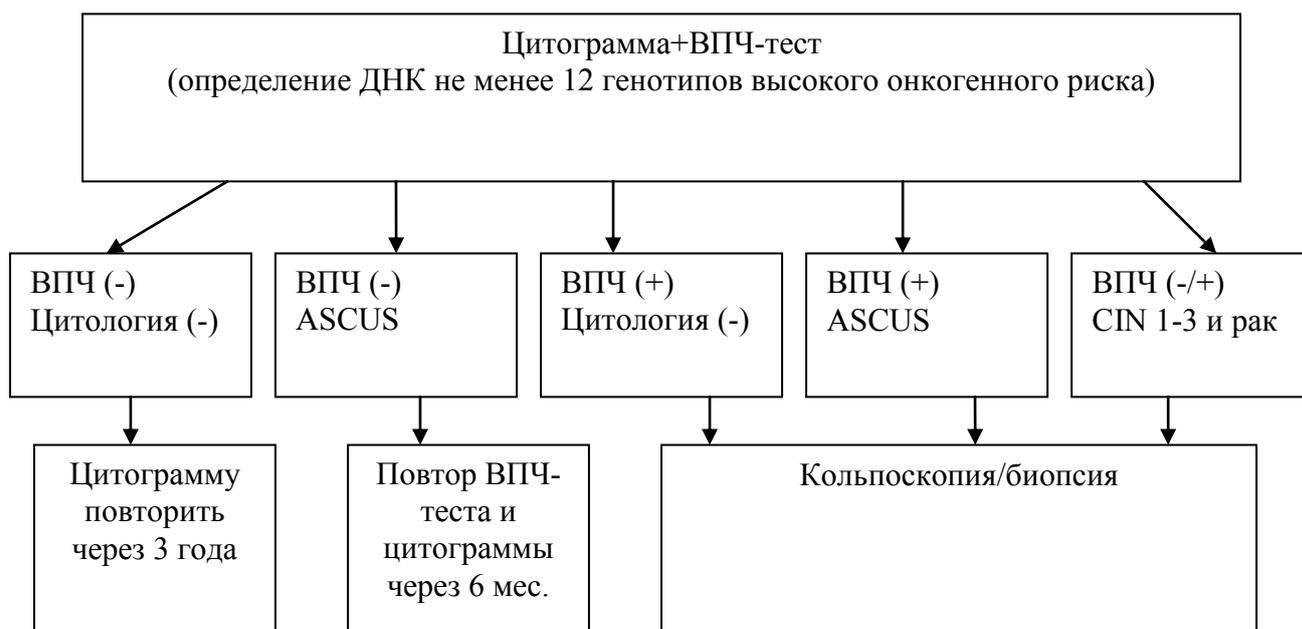
Тест-система	Особенности	Преимущества	Недостатки	Комментарии
ВПЧ-скрин (ВПЧ-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 70)	Выявляет общий участок ДНК для 13 генотипов ВПЧ-ВР	1. Простота постановки 2. Рекомендована для скрининга 3. Низкая стоимость исследования.	Выявляет наличие или отсутствие ДНК 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 высокой квалификации 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

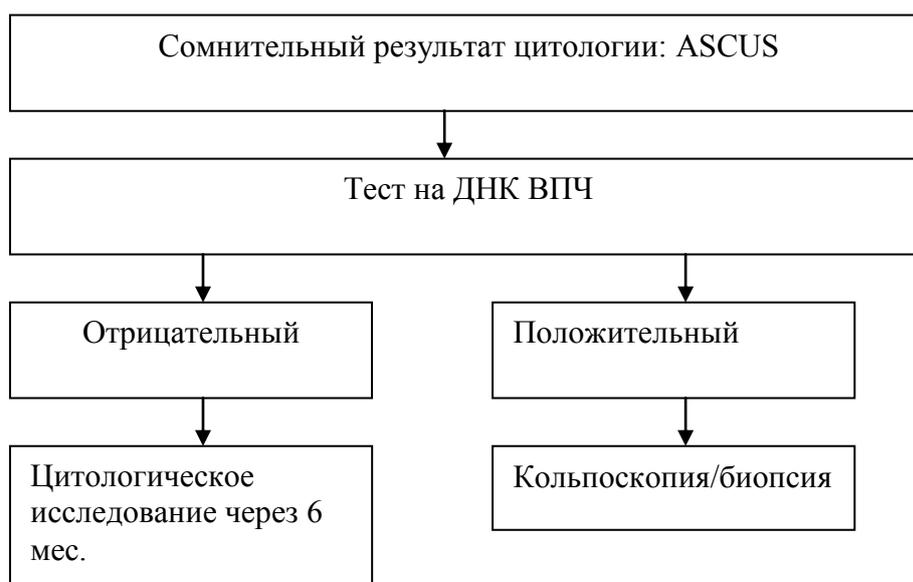
## ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПОСОБА

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**



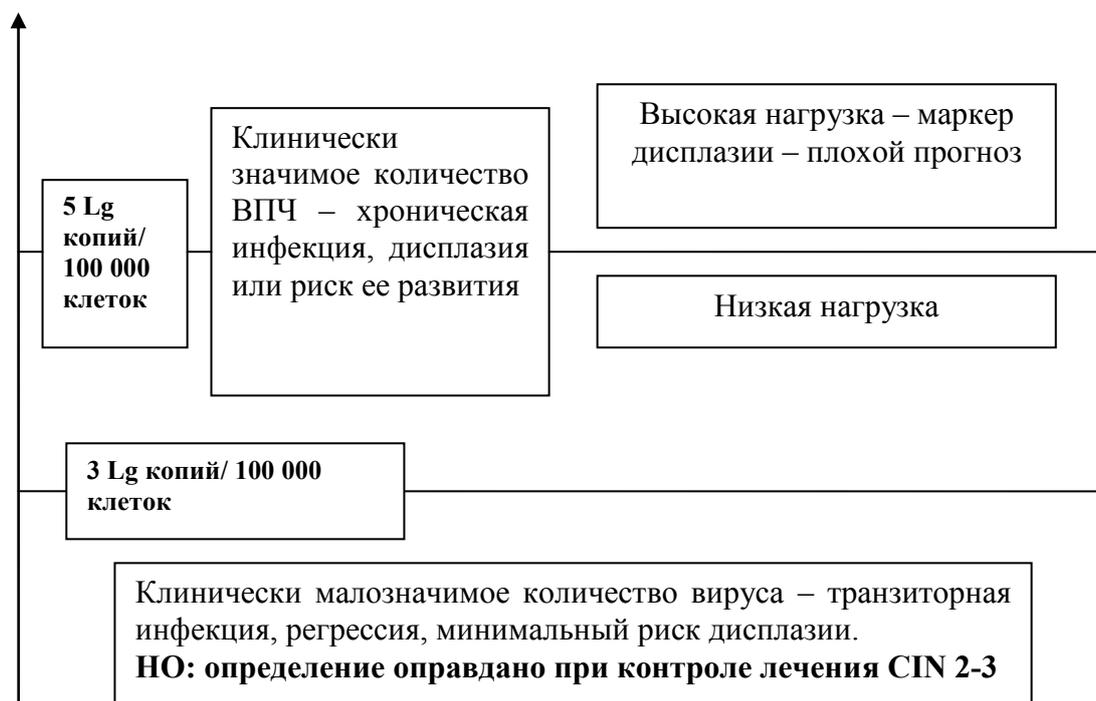
**Рис. 2. Алгоритм использования ВПЧ-теста при сомнительных результатах цитологического исследования**

### **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.



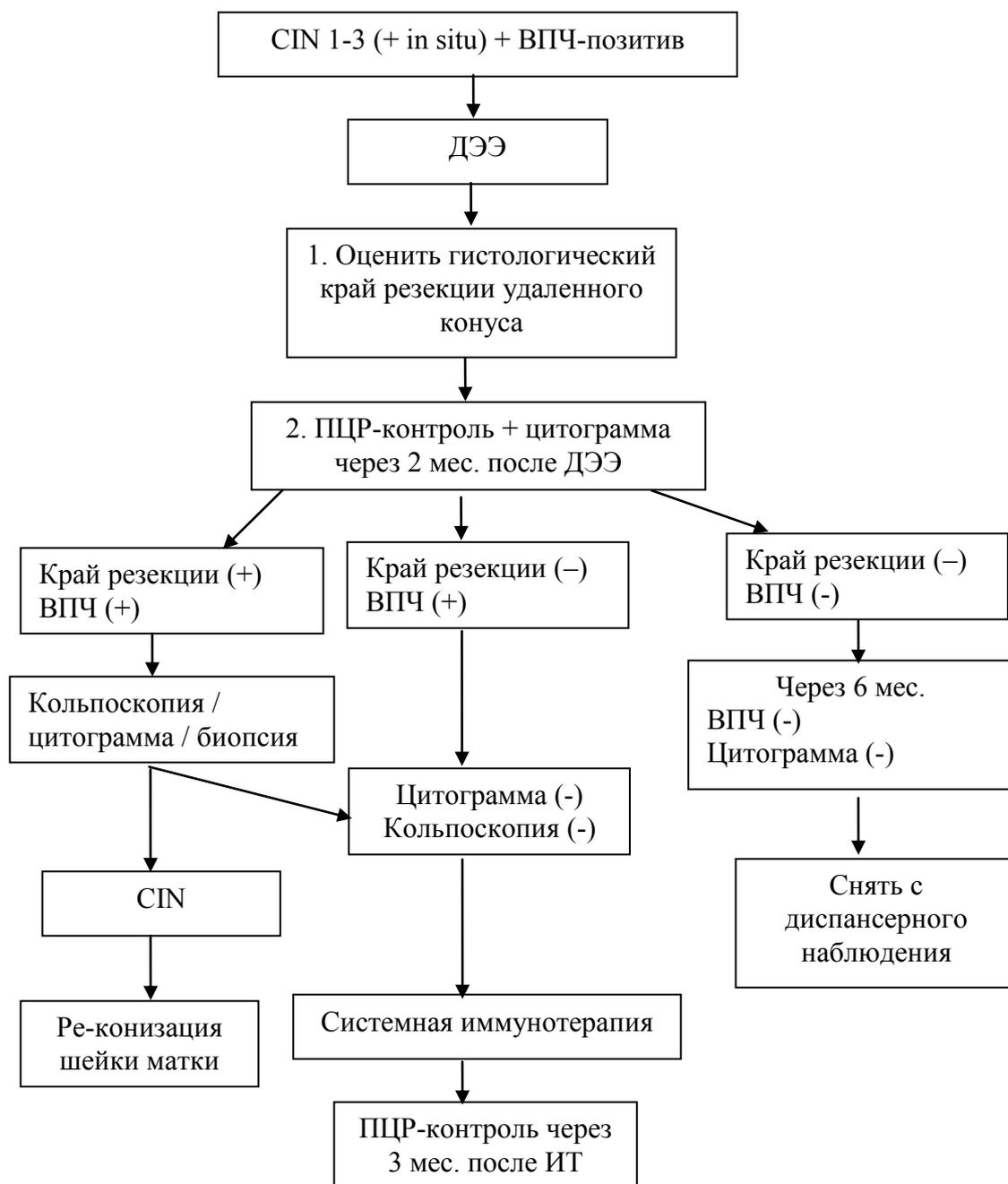
**Рис. 3. Схема интерпретации результата количественного ВПЧ-теста**

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**

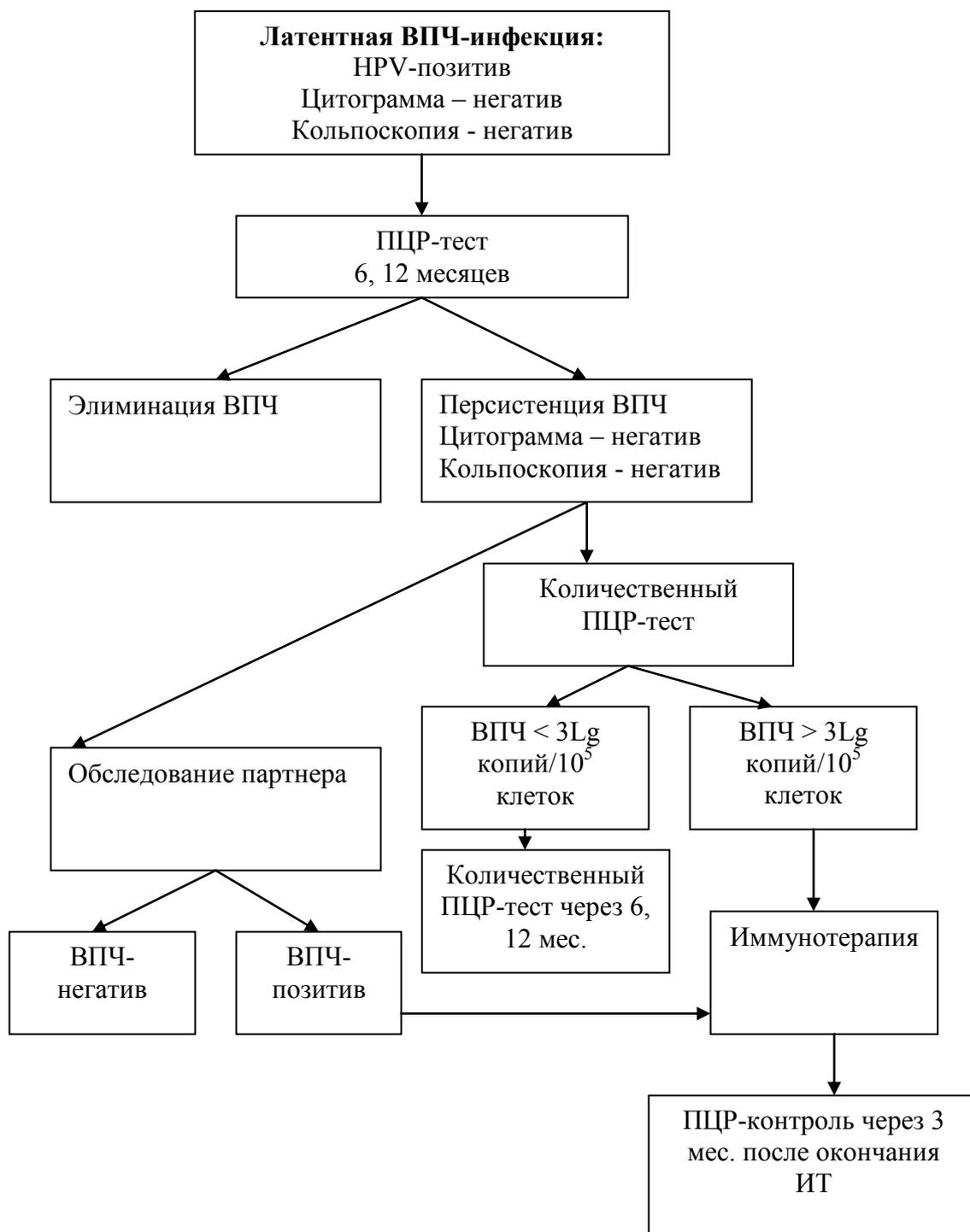
Предлагаемый алгоритм мониторинга результатов хирургического лечения пациенток с CIN 1–3 позволит своевременно выявить группу риска по прогрессии заболевания среди пациенток, перенесших радикальное иссечение патологического очага шейки матки, но с персистирующей ВПЧ-инфекцией, назначить им иммунотерапию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

