

## VI STRUČNA KONFERENCIJA SZRV

# MOLEKULARNO-BIOHEMIJSKA METODA ODREĐIVANJA PRISUSTVA HUMANOG PAPILOMA VIRUSA U CERVIKALNOM UZORKU

Tepić Stana, Andrijević Ljiljana, Rajović Jelka



Institut za onkologiju Vojvodine

eMail: [info@decena.eu](mailto:info@decena.eu)

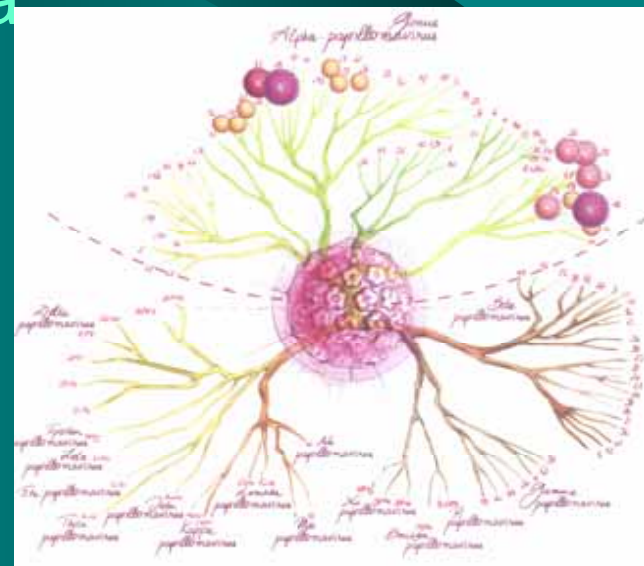
[www. Decena.eu](http://www.Decena.eu)

**Decena** je projekat koji su pokrenuli Pokrajinski sekretarijat za zdravstvo i socijalnu politiku i Institut za ekologiju Vojvodine, čiji zadatak je rano otkrivanje raka grlića materice

Kod nas je stopa smrtnosti zbog raka grlića matrice najveća u Evropi i to čak 4x veća nego u Evropskoj uniji

U slučajevima karcinoma grlića kod 98% pacijentkinja je dokazano prisustvo HPV VR - humani papiloma virus visokog rizika

Međunarodna agencija za istraživanje karcinoma (IARC) je zvanično označila HPV tipove 16 i 18 kao karcinogene agense, a tipove 31, 33 i 35 kao verovatno karcinogene



Test HPV DNK hybrid capture je standardizovana molekularno- biohemijska metoda koja u kombinaciji sa Papanikolau testom u 98% slučajeva može otkriti premaligne i maligne promene na grliću materice

Ovom metodom se određuje prisustvo HPV VR tipovi 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68

Određivanje prisustva HPV VR pomaže da se razjasne dvosmisleni citološki rezultati i identifikuje perzistentna infekcija kod žena preko 30 godina

# SAKUPLJANJE UZORAKA



Cervikalni uzorak se uzima i transportuje sa Digene Specimen Transport Medium™

Uzorak koji je adekvatno obeležen (prezime i ime pacijentkinje, matični broj i datum uzimanja uzorka) se doprema u laboratoriju u kojoj se zaštiti parafilmom, sakuplja i čuva

# Čuvanje cervikalnih uzoraka

Vreme pre testiranja	Način čuvanja uzoraka	Temperatura čuvanja uzoraka
Tri nedelje	-do dve nedelje -jedna nedelja	Sobna temperat. $+4^{\circ}\text{C}$
Više od tri nedelje	Do tri meseca	$-20^{\circ}\text{C}$

# Potrebna oprema za izvođenje testa



Hibrid capture system se sastoji od luminometra sa softverom, hitera, šejkera i vošera

Vodeno kupatilo odgovarajuće veličine, automatske pipete jednokanalne i višekanalne sa odgovarajućim sterilnim nastavcima

# 1. Faza



Test se izvodi u pet faza. Uzorak je denaturisan u baznoj sredini na  $65^{\circ}\text{C}$  u vodenom kupatilu. U ovoj fazi dolazi do razlaganja ćelijske i jedarne membrane, razdvajanja DNK lanaca i uništavanja ćelijskih RNK.

## 2. Faza



RNK proba se vezuje na DNK virusa i formira RNK:DNK hibrid.

Hibridizacija se odvija u hibridizacijskim mikrotitarskim pločama na 65°C u hiteru.

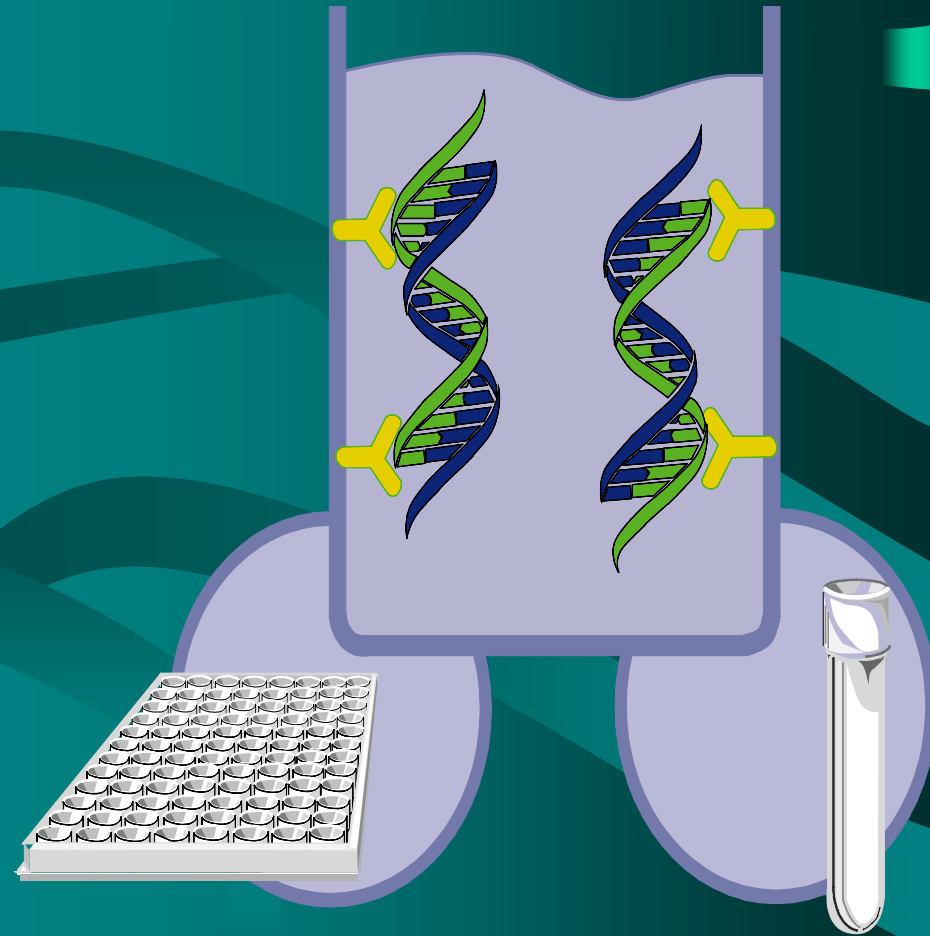
RNK:DNK hibrid služi kao meta analize.



# 3. Faza

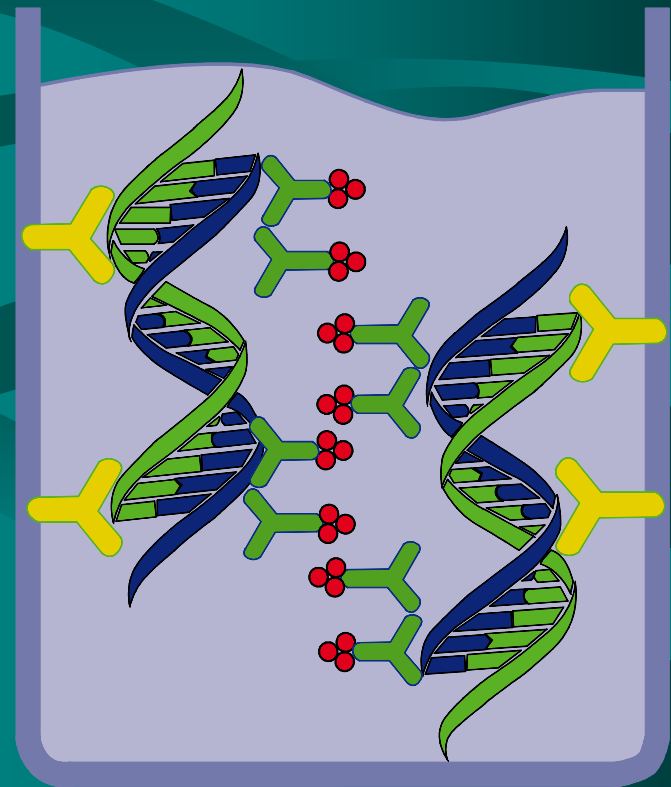
RNK:DNK hibrid se vezuje za specifična antitela na zidovima otvora posebnih mikrotitarskih ploča.

Ova faza se izvodi na sobnoj temperaturi na šejkeru.

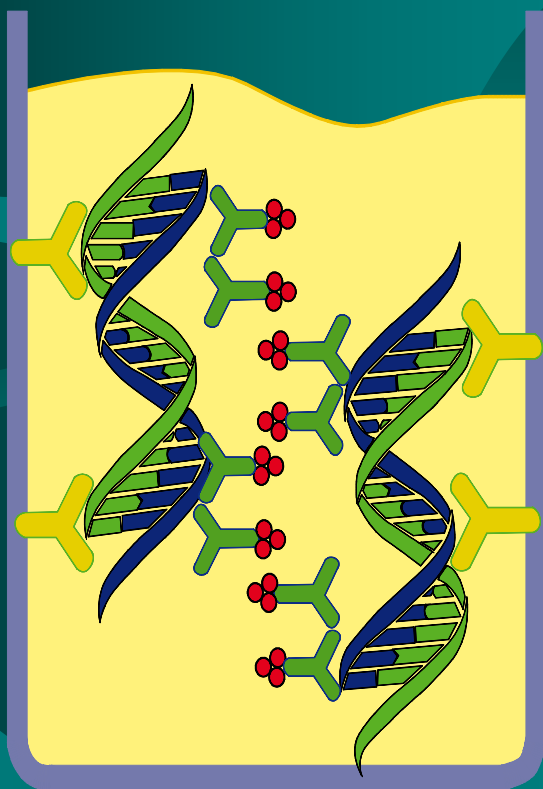


## 4. Faza

Posle vezivanja  
RNK:DNK hibrida  
dodaje se reagens  
R1 koji predstavlja  
enzim alkalnu  
fosfatazu sa  
specifičnim  
antitelima.



## 5. FAZA



U ovoj fazi dodaje se reagens R2 koji predstavlja hemiluminescentni supstrat.

RNK:DNK hibrid se detektuje preko relativnih svetlostnih jedinica.



INSTITUT ZA ONKOLOGIJU VOJVODINE

21204 Semmska Katolnica, Institutski put 4, B  
Tel: +381 21 480-5266, 480-5187  
Klinika za onkologiju  
Laboratorija za onkobiologiju

IME I PREZIME PACIJENTKINJE: \_\_\_\_\_

JMBG: \_\_\_\_\_ Broj protokola: \_\_\_\_\_ Datum uzimanja brisa: \_\_\_\_\_

Upućuje: a) ustanova: Institut za onkologiju Vojvodine

b) lekar: Dr J.Rajović

### REZULTAT TESTA HPV-HR-NoRTZ-Q

REZULTAT:	pozitivan	Digene HPV Hybrid Capture 2 (hc2) je test sa ojačanim signalom, mikroploščastom analizom hibridizacije koja koristi henzilminesenciju za kvalitativno otkrivanje 13 vrsta rizičnih HPV DNA u cervikalnim uzorcima. HPV vrste sa visokim rizikom: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68.
RLU/COodnos:	67,62	

#### INTERPRETACIJA REZULTATA TESTA HPV-HR-NoRTZ-Q

Uzorak sa odnosom (RLU / CO)  $\geq 1,0$  upućuje na prisustvo sekvence HPV DNA visokog rizika u uzorku.

Uzorak sa odnosom (RLU / CO)  $< 1,0$  upućuje na odsustvo sekvence HPV DNA visokog rizika u uzorku.

**Napomena:** Rezultat testa HPV-HR-NoRTZ-Q interpretirati u korelaciji sa kolposkopskim nalazom i citološkim pregledom grlića materice.

\* test urađen gratis u okviru pilot programa decena

Datum izdavanja rezultata:

07.09.2006.

Analizu izvršio:

Doc.dr Lj. Andrejević

Rezultat se izražava  
odnosom RLU/CO  
( relativna svetlosna jedinica/  
granična vrednost)

Uzorak sa odnosom RLU/ CO  
> 1 upućuje na prisustvo  
sekvence HPV VR u uzorku

Uzorak sa odnosom RLU/ CO  
< 1 upućuje na odsustvo  
sekvence HPV VR u uzorku