

Farklı Hasta Gruplarında Servikal Biyopsi ve Sürüntü Örneklerinde PCR ile Genital Human Papillomavirus Araştırılması ve Tip Tayini

Seyyal ROTA(**), Aydan BİRİ (***), Gülendam BOZDAYI (**),
Bedia DİNÇ (**), Haldun GÜNER (***)

(*) Bu çalışma XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (2002 Antalya)' de sunulmuştur.
(**) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
(***) Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Ankara.

ÖZET

Bu çalışmada gebelik, infertilite, genital papillom ve çeşitli şikayetler ile Kadın Doğum polikliniğine başvuran hastalarda servikal sürüntüden ve papillom olan grupta ise biyopsi materyalinden Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Human Papillomavirus araştırılması ve pozitif bulunan hastalarda aynı yöntem ile tip tayini yapılması amaçlanmıştır.

Çalışmamıza , 92 gebe, 59 infertil, 16 genital papillomlu, 313 çeşitli şikayetleri olan toplam 480 hasta ve hiç bir şikayeti ve fizik muayene bulgusu olmayan 104 kadın kontrol grubu olarak dahil edilmiştir. Örnekler MY09, MY11 primerleri kullanılarak in-house PCR ve tip 16 ve 18'in tayin edilebilmesi için özgün primerler kullanılarak ikinci tur PCR yapılmıştır.

Gebelerin %3 (3/92)'ünde HPV' ye rastlanırken, infertil hastaların %12 (7/59)'in de, biyopsi örneklerinin %25 (4/16) 'ün de, çeşitli şikayetlerle başvuran hastaların ise %11 (34/313)'in de HPV'ye rastlanmıştır. Pozitiflik oranının bu gruplarda kontrol grubundan anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır. Pozitif örnekler yapılan tip tayini sonucunda gebe ve infertil hastalarda tip 16, 18 ve 16-18 harici tipler, biyopsi örneklerinde ve diğer hasta grubunda tip16,18 ve 16-18 harici tiplere rastlanmıştır. Kontrol grubunda ise bir pozitif bulunmuştur, tip 18 olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: HPV, PCR, genotip, gebelik, infertilite.

SUMMARY

Screening and Genotyping of Human Papillomavirus by PCR from Cervical Biopsies and Smears in Different Patient Groups

The aim of this study was to investigate the presence of HPV from the cervical smears of patients admitted to Obstetrics and Gynecology Clinic, due to pregnancy, infertility or other gynecologic complaints and from the biopsies of patients with genital papilloma by PCR method and type detection in HPV positive patients.

Ninety-two pregnant women, 59 infertile women, 16 women with genital papillomas, 313 women with other gynecologic complaints and 104 women with no complaints and physical findings as a control group (totally 480 patients) were included in our study. By using MY09 and MY11 primers an in house PCR was performed and HPV positive samples were typed by using by type-specific primers.

Three percent (3/92) of pregnant women, 12 % (7/59) of infertile patients, 25 % (4/16) of biopsy specimens and 11% (34/313) of women with other complaints were found to be positive for HPV. The HPV positivity rates in these groups was significantly higher than that of control groups. Types 16 and 18 were found to be predominant both in pregnant in infertile groups as well as in patients with genital papillomas.

Key Words: HPV,PCR, genotype, pregnancy, infertility.

Human Papillomavirus (HPV) genital infeksiyonları yaygın olup, virus genç, seksüel aktif insanlarda ve çoğunlukla asemptomatik olarak bulunmaktadır. Ge-

nital sistem HPV infeksiyonunun alt genital sistem malignensileri, özellikle servikal kanserle ilişkisi saptanmıştır (1). Yüksek riskli HPV tipleri (özellikle tip 16 ve 18) ile infekte olan kişilerde viral yükün fazla ve bulaşın da hızlı olduğu saptanmıştır. Tip 16

İletişim : Gülendam Bozdayı,
e-posta gbozdayi@hotmail.com

ve 18, yüksek derecede intraepitelial neoplasi ve invazif kansere yol açmaktadır (2). Vulva kanserlerinin %50 'sinde HPV' un etken olduğu ve özellikle de tip 16'nın rol aldığı ileri sürülmüştür (3). Moleküler yöntemlerin gelişmesi ile in vitro üretilmeyen ve güvenilir bir serolojik testi olmayan HPV' nin tanısı kolaylaşmıştır. Moleküler yöntemlerden polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile hem virüs tanımlanabilmekte, hem de pozitif bulunan örneklerden genotip tayini yapılabilmektedir (4).

Bu çalışmanın amacı laboratuvarımıza başvuran farklı hasta gruplarında (gebe, infertil, çeşitli şikayetleri olan) servikal biyopsi ve sürüntü örneklerinde moleküler yöntemlerden PCR ile genital HPV varlığının saptanması ve virus saptanan olgulara tip tayininin yapılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Örnekler. Çalışmamıza, hastanemiz Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran, 92' si gebe, 59' u infertil, 16' sı genital papillomlu ve 313 çeşitli şikayetleri (vajinal akıntı, ağrı, adet düzensizliği) olan hasta grupları dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan infertil grup, en az bir yıldır düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebe kalamadığı için başvuran primer ve sekonder infertilite olgularından seçilmiştir.

Kontrol grubu olarak hiç bir şikayeti ve muayene bulgusu olmayan 104 kadın alınmıştır. Hastalardan alınan servikal sürüntü ve biyopsi örnekleri fosfat tamponlu tuzlu su (FTTS) içerisinde laboratuvara ulaştırılmıştır.

Hastalar yapılacak işlem hakkında bilgilendirilmiş ve izinleri alınmıştır. Çalışma tamamlandığında test sonuçları hastalara iletilmiş ve dosyalarına kaydedilmiştir.

DNA saflaştırılması. Örnekler FTTS içerisinden alındıktan sonra 0.1mg/ml proteinaz K içeren lizis solüsyonu (20mM Tris-HCl, 10mM EDTA, %0.1 SDS) içinde 1 saat 60°C'de, takiben 1 gün 37°C'de bekletilmiştir. Fenol-kloroform-izoamilalkol ile DNA saflaştırılması yapılmıştır (5). Ardından 3M sodyum asetat içeren saf etanol eklenip -20°C'de bir gece bekletilerek çöktürme işlemi gerçekleştirilmiştir. Ertesi gün örnekler bu kez %70'lik etilalkol ile muamele edilmiş, kurutulmuş ve süspanse edilmiştir. Süspanse

edilen örnekler çalışma zamanına kadar -20°C'de saklanmıştır.

DNA'nın çoğaltılması. Bu çalışmada kullanılan primerler çok sayıda HPV genotipi için ortak olan genel primerlerdir. HPV genomunun L1 (major viral kapsid proteini yapımıyla görevli) bölgesinden seçilmiştir. Primerler Tıbbi Mol-biol (Berlin, Almanya)'de sentez ettirilmiştir. HPV primer seti olarak MY09/11 (5' CGTCCMARRGGAWACTGATC 3' ve 5' GCMCAGGGWCATAAYAATGG 3') primer dizileri kullanılmış ve 450 bp uzunluğunda segmentleri çoğaltılmıştır (6). Her çoğaltma işlemi sırasında mutlaka bir DNA içermeyen negatif kontrol ve DNA içeren pozitif kontrol ilave edilmiştir. Çoğaltma işlemi için 4 mM MgCl₂, 50 mM KCl₂, 10mM Tris HCl (pH 9) içinde her dNTP'den 100 mM (dATP, dCTP, dGTP ve dTTP), her primerden 100 pmol ve lümite Taq DNA polimeraz enzimi (DNA mp ltd., Hants, UK) içeren 45 ml olarak hazırlanan karışım içerisine saflaştırılmış 5 ml DNA eklenerek gerçekleştirilmiştir. Cihaz olarak MJ Research thermalcycler (USA) kullanılmıştır. Thermalcycler; denatürasyon için 94°C'de 5 dakika, takiben 94°C'de 20 saniye, 55°C'de 45 saniye, 72 °C'de 1 dakika 35 döngü ve en son 72°C'de 7 dakika olacak şekilde programlanmıştır. Çoğaltılan ürünlerden 7.5ml, 2.5ml jel yükleme solüsyonu ile birlikte, etidyum bromid içeren %1.5'lük agaroz jelde yürütüldükten sonra UV transiluminatör altında HPV için 450 bp büyüklüğüne denk gelen bant aranmıştır (7).

HPV tip tayini. HPV 16 primer seti için MY09/MY14 (sens 5'-CGTCCMARRGGAWACTGATC-3' ve antisens 5'-CATACACCTCCAGCACCTAA-3') ve HPV 18 primer seti için MY11 ve WD74 (sens 5'-CMCAGGGWCATAAYAATGG-3' ve antisens 5'-GGATGCTGCACCGGCTGA) kullanılmıştır (6,7). Çoğalttığımız genel HPV ürününden 5ml alınıp, HPV 16 ve 18 primer seti içeren 95ml 'lik reaksiyon karışımına aktararak çoğaltma işlemi gerçekleştirilmiştir. Primer setleri haricindeki diğer karışımlar ve thermal cycler programı yukarıda kullandığımız şekildedir. Çoğaltılan ürünler etidyum bromid içeren %1.5'lük agaroz jelde yürütüldükten sonra UV transiluminatör altında HPV16 için 110 bp, HPV18 için 140 bp büyüklüğüne denk gelen bantlar aranmıştır.

İstatistik. Ki kare testi uygulanmıştır.

BULGULAR

Gebelerin %3 (3/92)' ünde, infertil hastaların %12 (7/59)' sinde, biyopsi örneklerinin %25 (4/16)'inde, çeşitli şikayetler ile başvuran hastaların ise %11 (34/313)' inde HPV bulunmuştur.

Pozitif örneklere yapılan tip tayini sonucunda gebelerin biri tip 18, diğer ikisi 16, infertil hastaların beşi tip 18, ikisi ise 16 ve 18 harici tip, biyopsi örneklerinin ikisinin de tip 18, birinde tip 16 ve birinde 16 ve 18 harici tip, çeşitli şikayetlerle başvuran hastaların ise 13'ün de tip 16, 9'unda tip 18 ve 11'in de ise 16 ve 18 harici tip tesbit edilmiştir.

Kontrol grubumuzda ise %1 (1/104) hastada virus pozitifliğine rastlanmış ve bu hasta tip 18 olarak bulunmuştur. Hastaların HPV ve tip dağılımları Tablo 1' de gösterilmiştir.

Tablo 1. HPV pozitif olgularda tip dağılımı

	HPV	pozitif	Olgular
	HPV tip 16	HPV tip 18	Tip 16-18 harici
Gebe (n:92)	2 (%2)	1 (%1)	-
İnfertil (n:59)	-	5 (%8.5)	2 (%4)
Genital papillom (n:16)	1 (%6)	2 (%12)	1 (%6)
Diğer (n:313)	13 (%4)	9 (%3)	12 (%3.5)
Toplam (n:480)	16 (%3.3)	17(%3.4)	15 (%3.3)

Gruplar kendi içlerinde istatistiki olarak değerlendirildiklerinde anlamlı bir fark bulunmuştur. Bu farkı yaratan gebe grubudur ($p=0.026$). Kontrol grubu ile gruplar arasında ise gebeler hariç, istatistiki olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.007$).

TARTIŞMA

Human Papillomavirus tiplerinin tümü kadında ve erkekte alt genital sistemde skuamoz hücreli kötü huylu ve/veya iyi huylu neoplazilere neden olmaktadır. Bu ilişki bir çok moleküler, deneysel, epidemiyolojik, morfolojik ve klinik verilerle gösterilmiştir (8). Son zamanlarda özellikle kültürü yapılamayan mikroorganizmalar için PCR altın standart olma yolunda ilerlemektedir. HPV tanısı içinde PCR teknolojisinin duyarlılığı oldukça yüksektir (9).

Çalışmamızda gebelerin %3'ün de HPV pozitifliğine

rastlanmıştır. Ancak bu konuda yapılan yurtdışındaki çok sayıda çalışmada gebelerde hormonal denge ve immün sistemle ilgili değişikliklerden dolayı HPV görülme oranının özellikle de kanserojen tiplerinin görülme oranının arttığı gösterilmiştir (10-13). Bizim çalışmamızda gebelerde yüksek riskli grubu ; bir gebede tip 18, iki gebede tip 16 olmak üzere tesbit edilmiştir. Maternal infeksiyonda lezyonlar vulva'da olmadığı sürece çoğunlukla asemptomatik olduğundan tanı ve tedavi yeterince yapılamamaktadır (11). Gebelikte HPV infeksiyonu, gebelik esnasında genital lezyonun hızla genişlemesi ve mekanik obstrüksiyon yaratması, genellikle servikal intraepitelial neoplazi (CIN) ile birlikte olması, perinatal bulaş sonucu juvenil laringeal papillomun gelişmesi nedeni ile oldukça önemlidir (14,15). Juvenil laringeal papillom infant ve genç çocuklarda larinksin en sık neoplazmalarındandır. Doğumdan sonraki 6. ay itibari ile lezyonlar oluşmaya başlamakta ve 5 yaş civarında genital papillom hikayesi olan kadınların çocuklarının %50' sinde laringeal papillom gelişmektedir (16,17). Bizim sonucumuz kontrol grubu ile yakın bir oranda bulunmuştur. Ancak kendi kontrol grubumuzdan %2' lik bir oranda artış görülmüştür. Gebe kadınlarda gebe olmayanlara göre yüksek riskli HPV infeksiyonu görülme olasılığının daha fazla olduğu bilinmektedir (10). Gebelerle ilgili bu konuda ülkemizde her hangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak yurtdışında yapılan çalışmalarda yüksek riskli HPV' yi Armbruster-Moraes ve ark. (10) %48, Schneider ve ark. (14) %28, Fife ve ark. (18) %35.6, Roda Husman ve ark (19) %3.1 olarak bulmuşlardır. Çalışmacılar çok farklı oranlarda sonuçlar elde etmişlerdir. Ancak çalışmacılardan biri ile benzer sonuçlar elde edilmiştir (19). Farklı bulunan diğer sonuçlardan özellikle Armbruster-Moraes ve ark. (10) 'nın sonucu ortalamanın çok üzerindedir. Araştırmacı bunun nedeni olarak Brezilya'da hijyenik şartlara uyulmamasını ve çok partnerli cinsel hayat olmasına bağlamaktadır . Bizim ise ülkemizde evlilik kurumunun düzenli olması ve tek eşliliğin halen çoğunluğu oluşturmasından dolayı bulduğumuz oranın kontrol grubumuza yakın olması beklediğimiz bir sonuçtur.

Çalışmamızda infertil hastalar ve çeşitli jinekolojik şikayetlerle (kanama, ağrı, akıntı vs.) başvuran hastalar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.07$). İnfertil hastaların %12 (7/59)'ün

de, çeşitli şikayetlerle başvuran hastaların ise %11 (34/313)'ün de virüs'e rastlanmıştır. Yapılan çalışmalarda, infertil ve servikal lezyonu olan ancak servikovajinal sitolojik bulguları negatif olan kadınlarda HPV'ye spesifik tedavi yapıldıktan sonra spontan gebelik gerçekleştiği görülmüştür. Erkek infertilitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda ise HPV'nin sperm motilitesini olumsuz yönde etkilediği tesbit edilmiştir (20-22). Bulduğumuz oranlar kontrol grubu ve gebelere oranla oldukça yüksek değerlerdedir. Ülkemizde infertilite ile ilgili yapılan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu yüzden ülkemizdeki infertil hastalarda HPV pozitiflik oranı hakkında yorum yapamamaktayız. Ancak bizim hasta grubumuzda infertilite nedeni olacak etkenler ekarte edilmiş olduğundan ve HPV PCR pozitiflik oranını kontrol grubuna oranla yüksek olarak bulduğumuzdan kendi infertil hasta grubumuzda da etken olabileceğini düşünmekteyiz .

Çeşitli şikayetler ile başvuran hastalar bakteriyel enfeksiyonlar açısından kültür yöntemi, *Chlamydia* enfeksiyonu açısından PCR yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Herhangi bir patolojik etken üretilmemiş ve PCR sonucu da tüm hastalarda negatif olarak bulunmuştur. Mikolojik incelemeler sonucunda %28 (32/115) hastada *Candida albicans* üremiştir. Ancak bu hastaların HPV PCR' ları negatif olup klinisyen açısından da HPV ile uyumlu herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Bu yüzden enfeksiyon ajanlarının PCR' ı inhibe edici etkisi göz ardı edilmiştir. İnfertilite ve herhangi bir etken gösterilemeyen çeşitli servikal lezyonların arkasında çoğunlukla enfeksiyon ajanlarının rol aldığına dair çalışmalar mevcut olup bu iki grupta HPV pozitifliğini yüksek oranda bulmamızı bu şekilde açıklayabiliriz. Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada çeşitli şikayetler ile kliniğe başvuran hastaların farklı bir yöntem (Hybride capture) ile HPV PCR pozitifliğini Gökahmetoğlu ve ark. (23)%11 (11/100) olarak bulmuşlardır . Bizim sonucumuzda yapılan bu çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur.

Bu çalışmada biyopsi örneklerinde HPV pozitiflik oranı %25 'lere çıkmıştır. Ancak bu oran beklenenin altında ve istatistiksel bir anlam taşımamaktadır. Hastaların patoloji sonuçları incelendiğinde sadece PCR ile pozitif bulunan örneklerin patoloji raporunun HPV ile uyumlu lezyon olarak geldiği görülmüştür.

Sonuçta biyopsi alınan lezyonların HPV 'ye ait olmadığını düşünmekteyiz. Ancak hasta sayımızın az olmasında konuyla ilgili bulduğumuz yüzdeyi şüpheye sokabilmektedir. HPV ile ilgili çalışmalarda mümkün olduğunca lezyondan örnek veya direkt biyopsi materyali tercih edilmelidir (24). Yapılan çalışmalarda biyopsi örneklerinde PCR yöntemi ile pozitiflik oranı diğer örneklere oranla oldukça yüksek olduğu gösterilmiştir. (9,25).

Kontrol grubumuzda ise %1 (1/104) kadında virus pozitifline rastlanmış ve bu hasta tip 18 olarak bulunmuştur. Ülkemizde Midilli ve ark. (26)'nın yaptığı bir çalışmada sağlıklı Türk kadınlarındaki HPV pozitifliği %6.9 olarak bulunmuştur . Kontrol grubumuzdaki kadınların tümünün evli ve daha önce cinsel eşleri olmadığı sorgulandığından, %1 HPV pozitiflik oranı için tek eşliliğin anlamlı olduğu düşünülmüştür.

Sonuç olarak, normal doğum sırasında fetus, serviks ve vagina'da bulunan bir çok mikroorganizma ile karşılaşmaktadır. HPV'nun da bu etkenlerden biri olduğu gösterilmiştir. Bu yüzden gebelerde şüpheli durumlarda patoloji laboratuvarı tarafından yapılan inceleme haricinde mutlaka bir örnek de moleküler mikrobiyoloji laboratuvarı tarafından incelenmelidir. Son zamanlarda infertilite etkenleri arasında HPV 'ninde olumsuz rolü olduğunu düşündüren çalışmalar bulunmaktadır. Bu yüzden hem çeşitli lezyonları olduğu için inceleme yapılan ve hem de infertil hastalarda diğer enfeksiyon ajanlarının yanı sıra HPV'nin de rolü olabileceği unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

1. Tuncer S: İnsan Papilloma Virusları,. " Ustaçelebi Ş, Mutlu G, İmir T, Cengiz TA, Tümbay E, Mete Ö (eds): Temel ve Klinik Mikrobiyoloji " 1. Baskı. s. 801-802, Güneş Kitabevi, Ankara (1999).
2. Brennan MM, Lambkin HA, Sheehan CD, Ryan DD, O'connor TC, Kealy WF: Detection of high-risk subtypes of human papillomavirus in cervical swabs: routine use of the Digene Hybrid Capture™ assay and polymerase chain reaction analysis. British J Biomed Sci 58: 24 (2001).
3. Atasü T, Şahmay S : Jinekoloji , s. 216-25 (1984).
4. Syrjanen SM, Saastamoinen J, Chang F, Ji H, Syrjanen K: Colposcopy, punch biopsy, in situ DNA hybridiza-

tion and the PCR in searching for genital HPV infections in women with normal PAP smears. J Med Virol 31: 259 (2000).

5. Maniatis T, Fritsch EF: Molecular Cloning: A laboratory Manual, p. 1334. Third ed. Cold Spring Harbor, New York (1990).

6. Poljak Mario, Seme Katja: Rapid detection and typing of human papillomaviruses by consensus polymerase chain reaction and enzyme-linked immunosorbent assay. J Virol Methods 56: 231 (1996).

7. Baay MFD, Quint WGV, Koudstaal J et al: Comprehensive study of several general and type-specific primer pairs for detection of human papillomavirus DNA by PCR in paraffin-embedded cervical carcinomas. J Clin Microbiol 34: 745 (1996).

8. Crum CP: Genital papillomaviruses and related neoplasms: causation, diagnosis and classification. Modern Pathol 7: 138 (1994).

9. De Sanjose S, Bosch XF, Munoz N, et al: Screening for Genital Human Papillomavirus: Results from an international validation study on Human Papillomavirus sampling techniques. Diag Mol Path 8: 26 (1999).

10. Armbruster-Moraes E, Ioshimoto LM, Leao E, Zugaib M: Prevalence of 'high risk' human papillomavirus in the lower genital tract of Brazilian gravidas. Int J Gynecol Obstetric 69:223 (2000).

11. Sethi S, Müller M, Schneider A, et al: Serologic response to E4, E6 and E7 proteins of HPV type 16 in pregnant women. Am J Obstet Gynecol 178: 360 (1998).

12. Czegledy J, Bugely L, Endiodi J: Detection of human papillomavirus deoxyribonucleic acid by filter in situ hybridization during pregnancy. J Med Virol 28: 250 (1989).

13. Morrison EAB, Gammon MD, Goldberg GL, Vermund SH, Burk RD: Pregnancy and cervical infection with human papillomaviruses. Int J Gynecol Obstetr 54: 125 (1996).

14. Scheider A, Hotz M, Gissmann L: Increased prevalence of Human Papillomavirus in lower genital tract of pregnant women. Int J Cancer 40: 198 (1987).

15. Eppel W, Worda C, Frigo P, Ulm M, Kucera E, Czerwenka K: Human papillomavirus in the cervix and placenta. Obstet Gynecol 96: 337 (2000).

16. Wang X, Zhu Q, Rao H: Maternal-fetal transmission

of human papillomavirus. Chin Med J (Engl) 111: 726 (1998).

17. Arena S, Markoni M, Ubertosi M, Frega A, Arena G, Villani C: HPV and pregnancy: diagnostic methods, transmission and evolution. Minerva Ginecol 54: 225 (2002).

18. Fife KH, Katz BP, Brizendine EJ, Brown DR : Cervical human papillomavirus deoxyribonucleic acid persists throughout pregnancy and decreases in the postpartum period. Am J Obstet Gynecol 180: 1110 (1999).

19. de Roda Husman AM, Walboomers JM, Hopman E, et al: HPV prevalence in cytomorphologically normal cervical scrapes of pregnant women as determined by PCR: the age related pattern. J Med Virol 46: 97 (1995).

20. Alvarez Fernandez J, Bustos Lopez HH, Villanueva Diaz C, Zambrana Castaneda MC, Coria Soto I, Aranda Flores C: Epidemiologic characteristics in women with sterility and cervical lesions with and without human papillomavirus infection. Comparative study. Gynecol Obstet Mex 66: 157(1998).

21. Lai YM, Lee JF, Huang HY, Soong YK, Yang FP, Pao CC: The effect of human papillomavirus infection on sperm cell motility. Fertil Steril 67: 1152(1997).

22. Pakendorf UW, Bornman MS, Du Plessis DJ : Prevalence of human papillomavirus in men attending the infertility clinic. Andrologia 30 : 11(1998).

23. Gökahmetoğlu S, Eşel D, Özçelik B, Küttükoğlu İ, Özbal Y, Canöz Ö: Servikal örneklerde HPV DNA'sının Hibrid Yakalama yöntemi ile araştırılması [özet p-72]. 1.Ulusal Viroloji Kongresi Kitabı, s.339 (2003).

24. Bozdayı G, Biri A, Rota S: Mikrobiyoloji laboratuvarlarında human papillomavirus'unun genital biyopsi örneklerinden PCR ile hızlı tanısı ve tip tayini için yapılan bir ön çalışma. Türkiye Klin Jinekoloj Obstet 12: 463 (2002).

25. Chichareon, Herro R, Munoz N, et al: Risk factors for cervical cancer in Thailand: a case-control study. J Natl Cancer Inst 90: 50 (1998).

26. Midilli K, Benian A, Ergin S, Kuşkuçcu MA, Özergil E, Özdamar M, Altaş K: Sağlıklı Türk kadınlarında HPV ve HHV-8 [özet p-71]. 1.Ulusal Viroloji Kongresi Kitabı, s.338 (2003).

GİRİŞ

Strongyloides stercoralis, dünyanın çeşitli bölgele-