

Nr. 8 2002

Human papillomavirus (HPV)**Vejledende retningslinjer for anvendelse af HPV testning i Danmark**

Susanne Krüger Kjær, Edith Ingerslev Svare, Christian Munk, Marianne Lidang Jensen, Berit Hølund, dr.scient. Bodil Norrild, Lars Peter Nielsen, Henrik Westh, Erik Søgaard Andersen, Jesper Lundh, Frede Olesen, Iben Holten

**Indholdsfortegnelse**

- | | |
|--|--|
| 1. Baggrund | 1.6 HPVs rolle i udredning af cytologi-diagnosen atypi |
| 1.1 Introduktion | Problemets størrelse |
| Kommissorium og arbejdsgruppens sammensætning | Status for håndtering af lettere celleforandringer |
| 1.2 Nomenklatur og metodik inden for cervizcytologien | HPV-testning i håndteringen af atypiske celleforandringer |
| Metodik | 1.7 Kommentar |
| 1.3 Human papillomavirus (HPV) | HPV-testning af kvinder med lettere celleforandringer |
| HPV's struktur | HPV-testning af kvinder med \geq moderat dysplasi |
| HPV's livscyklus | HPV-testning som led i primær screening |
| HPV's naturhistorie | HPV-testning som kontrol efter konisation |
| Incidens af genital HPV-infektion | 2. Implementering af HPV-testning i udredningen af kvinder med atypiske celler i smear |
| Prævalens af HPV hos kvinder med normal smear | 2.1 Vejledende retningslinier |
| Prævalens af HPV hos kvinder med dysplasi eller cervixcancer | Kvinder med atypiske celler og positiv HPV-test |
| Risikofaktorer for HPV | Kvinder med atypiske celler og negativ HPV-test |
| Cervikal neoplasia's naturhistorie | 2.2 Registrering |
| 1.4 Metoder til påvisning af HPV | 2.3 Evaluering af brugen af HPV-testen i udredning af danske kvinder med atypi |
| Polymerase Chain Reaction (PCR) | 3. Konsekvenser af implementering |
| Hybrid Capture 2 (HC-2) | 3.1 Organisation og konsekvenser |
| 1.5 Nuværende praksis for udredning af kvinder med atypiske celler i smear | 3.2 Patientvinklen |
| | 3.3 Afsluttende bemærkninger |
| | Referencer |

Human papillomavirus (HPV)

Vejledende retningslinjer for anvendelse af HPV testning i Danmark

1. Baggrund

1.1 Introduktion

Gennem flere årtier har man haft mistanke om at en infektion var årsagen til livmoderhalskræft. Laboratiestudier fra 1970'erne og 1980'erne viste at nogle typer af human papillomavirus (HPV) har et onkogenet potentiale. Ydermere havde nogle af disse typer affinitet til slimhinder i ano-genital regionen. På den baggrund blev der derefter udført store molekylær-epidemiologiske studier, hvor sammenhængen mellem genital HPV infektion og risiko for livmoderhalskræft blev undersøgt. Disse studier har vist at infektion med bestemte typer af HPV er en nødvendig årsag for udvikling af livmoderhalskræft. HPV er også associeret med andre kræftformer, men denne rapport omhandler udelukkende om sammenhængen med livmoderhalskræft og forstadier hertil.

I et forsøg på at forbedre de eksisterende metoder til forebyggelse af livmoderhalskræft er det derfor blevet foreslået at testning for tilstedeværelse af HPV kunne være en ny modalitet eller et supplement til de allerede anvendte metoder.

Således er det teoretisk muligt at forestille sig HPV-testning anvendt 1) i den primære screening mod livmoderhalskræft, 2) i kontrol efter konusbehandling af kvinder med svære celleforandringer og endelig, 3) som led i udredningen af kvinder med lette celleforandringer diagnosticeret ved cervixcytologisk undersøgelse.

En nylig publiceret MTV-rapport udarbejdet for de britiske sundhedsmyndigheder inkluderede et omfattende review af litteraturen om anvendelsesmulighederne for HPV-testning indenfor rammerne af et screeningsprogram (1). En af konklusionerne var at det endnu er for tidligt at benytte HPV-testning i primær screening mod livmoderhalskræft. Der er endnu mange vigtige punkter, som ikke er tilstrækkeligt belyst. Det er f.eks. ikke endelig afklaret i hvilken aldersgruppe HPV-testning kan bruges i relation til primær screening. Det er også uvist hvordan man skal håndtere HPV-positive kvinder med normal cervixcytologi, og endelig foreligger der endnu ikke data, der viser hvor langt screeningsintervallet kan forlænges hos kvinder, som både har normal cervixcytologi og er HPV-negative. Der foregår imidlertid i øjeblikket store, randomiserede undersøgelser i USA, England, Holland og Sverige, der søger at afdække blandt andet disse aspekter af HPV-testning i primær screening. Derfor beskæftiger den foreliggende klaringsrapport sig ikke med HPV's rolle i den primære screening.

HPV til kontrol efter behandling for svære celleforandringer (keglesnit) har været emne for en række studier. I de fleste af disse har keglesnits-metoden dog været en anden end den der hyppigst anvendes i Danmark ("loop" eller slynge-metoden). Dette er vigtigt, da disse andre metoder fjerner mere væv end slynge-metoden. Derudover har de fleste af studierne været små med en relativ kort followup periode. Større prospektive undersøgelser er nødvendige og det er således på nuværende tidspunkt ikke muligt at vurdere HPV-testning til kontrol af keglesnit-opererede kvinder.

Der foreligger efterhånden en omfattende litteratur om brug af HPV-testning i forbindelse med udredning af lettere celleforandringer (atypiske celler og let dysplasi) fundet ved cervixcytologisk undersøgelse. Emnet for denne rapport er en gennemgang af denne litteratur og på baggrund heraf at angive vejledende retningslinjer for anvendelse af HPV-testning.

Til top ▲

Kommissorium og arbejdsgruppens sammensætning

Erfaringer fra andre medicinske områder har vist, at når en ny metode er tilgængelig vil den ofte blive taget i brug før metoden er undersøgt og sammenlignet med de allerede etablerede metoder inden for området. For at undgå at det samme sker for HPV-testning fik arbejdsgruppen følgende kommissorium:

- På baggrund af den eksisterende litteratur at udarbejde vejledende retningslinier tilpasset danske forhold for anvendelsen af HPV-testning i udredning og den videre opfølgning af lettere celleforandringer diagnosticeret ved cervixcytologisk undersøgelse
- At udarbejde et forslag, der beskriver, hvordan registrering og evaluering af iværksættelse af disse retningslinjer bør forløbe
- At beskrive forhold/tilstande hvor brug af HPV testning på nuværende tidspunkt er uhensigtsmæssig

På initiativ af overlæge, dr.med. Iben Holten, Forebyggelsesafdelingen, Kræftens Bekæmpelse og overlæge, dr.med. Susanne Krüger Kjær, Afdeling for Virus, Hormoner og Kræft, Institut for Epidemiologisk Kræftforskning, Kræftens Bekæmpelse blev en række videnskabelige selskaber inviteret til at udpege hver 2 deltagere.

1.2 Nomenklatur og metodik inden for cervixcytologien

Der findes flere diagnostiske klassifikationssystemer inden for cervixcytologi. Tabel 1 viser en sammenligning mellem disse. I Danmark er der betydelig variation i hvilken nomenklatur der anvendes på de patologiske afdelinger. Da anvendelse af en ensartet terminologi åbner muligheder for sammenlignende undersøgelser af screeningsresultater mellem forskellige afdelinger og samtidig kan føre til ensartet kontrol og behandling af patienterne, har Dansk Selskab for Patologisk Anatomi og Cytologi (DSPAC) anbefalet samtlige patologi-afdelinger at anvende WHO-klassifikationen (Tabel 1) (2; 3). Denne klassifikation er valgt fordi den afspejler den underliggende histologi.

Tabel 1
Sammenligning af anvendt terminologi

Forventet Histologi	ukendt	normal	Reaktivt/ Dysplastisk/ Neoplastisk	Kondylom/ Let dysplasi	Moderat dysplasi	Svær dysplasi/CIS	Karcinom
Forventet Cytologi							
WHO Anbefalet terminologi i Danmark (2)	uegnet	Normale celler	Atypiske celler (pladeepitel), uvist om benign forandring eller dysplasi/neoplasi)	Koilocytose*/ Let dysplasi (CIN I)	Moderat dysplasi (CIN II)	Svær dysplasi/CIS (CIN III)	Karcinom
Bethesda	uegnet	Within normal limits	ASCUS (atypical squamous cells of undetermined significance)	Low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL*)	High-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL)		Carcinoma
Anden anvendt terminologi i Danmark	uegnet	Normale celler/ Ingen malignitets-suspekterede celler	Atypiske celler		Malignitetssuspekterede celler		

* koilocytose/kondylomatøs atypi: cellulære forandringer tydende på humant papillomvirus (HPV) inkluderes nu i CIN I (3) og i LSIL(4).

Metodik

Den cervixcytologiske prøve (Papanicolaou smear), anvendes helt overvejende til screening af raske kvinder som led i befolkningsundersøgelsen mod livmoderhalskræft. Den anvendes endvidere som kontrolprøve efter tidligere påviste celleforandringer og til kontrol efter behandling.

Det er anbefalet at tage smear med spatel fra ektocervix og cytobørste fra endocervix for at opnå optimalt prøvemateriale fra transformationszonen (2, 5). Prøven kan også tages med en kombibørste, hvor celler fra ektocervix og endocervix udtages i samme seance (2, 6). Cellematerialet udstryges på prøveglasset og sprayfixeres, hvorefter spatel og cytobørste smides ud. Prøven sendes til patologiafdelingen, hvor den farves efter Papanicolaou metoden og undersøges i mikroskop (screenes) af en cytobioanalytiker, der forsyner alle normale smears (85-90%) med en diagnose. Prøver med celleforandringer (5-9%) konfereres med patologen.

Sensitiviteten af den cervixcytologiske undersøgelse angives at variere fra 30 - 87% og specificiteten fra 86 - 100% (7). Sensitiviteten begrænses af: kvaliteten af prøvetagningen fordi de abnorme celler ikke altid bliver repræsenteret på glasset (sampling error). Prøvematerialets kvalitet kan også være en begrænsende faktor, hvis cellerne på glasset er vanskelige at identificere. Endelig begrænses sensitiviteten også af fejltolkning (screening error).

Smearprøvernes kvalitet kan variere betydeligt (8, 9), hvilket også understreges af at mellem 2 % og 8 % af prøverne betegnes som uegnede. Blandt disse udgøres ca. halvdelen af smear af teknisk dårlig kvalitet, hvor cellelagets tykkelse kan være uensartet og materialet præget af udtøringsartefakter pga. forsinket fixering. Herudover kan prøverne være tilblandet blod, slim og betændelsesceller. Det er anslået, at diagnosen atypi er resultatet af dårlig prøve kvalitet i 20% af tilfældene (10).

For at forbedre kvaliteten af de cervixcytologiske undersøgelser er der udviklet en ny teknik, den såkaldte væskebaserede cytologi. I stedet for at lave et udstrygningspræparat sendes alt cellemateriale fra cytobørste og spatel i fikseringsvæske til patologiafdelingen. Fra fikseringsvæsken fremstilles et præparat, som med denne teknik er repræsentativt for materialet og som kan renses for blod, slim og betændelsesmateriale. Ved det konventionelle smear vil op mod 80% af cellematerialet sidde tilbage på cytobørsten og vil derfor ikke kunne blive vurderet (11). Væskebaseret cytologi har således både den fordel at alt cellemateriale sendes til undersøgelse og at præparaterne har en ren baggrund, ensartet cellefordeling og gode kernedetaljer. Flere undersøgelser har da også vist at den diagnostiske sensitivitet forbedres ved anvendelse af væskebaseret cytologi (12, 13, 14, 15, 16). Teknikken har derudover den fordel at resten af det fremsendte materiale kan anvendes til for eksempel HPV testning (17, 18).

[Til top](#) 

1.3 Human papillomavirus (HPV)

HPV inficerer hud og slimhinder og har en høj affinitet for bestemte typer af epitel (f.eks. epitel i mundhule, øvre luftveje, konjunktiva, hænder/fødder og i ano-genital regionen). Der er på nuværende tidspunkt beskrevet mere end 100 forskellige HPV typer, hvoraf omkring 30 typer har en speciel affinitet for det ano-genitale epitel hos både kvinder og mænd. Virus inddeles i høj-risiko typer (onkogene typer) (f.eks. HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 54, 56, 58, 59, 66, 68) og lav-risiko typer (non-onkogene typer) (f.eks. 6, 11, 42, 43, 44) på basis af deres evne til at inducere malign vækst. De non-onkogene typer er associeret med genitale kondylomer, og er ikke i sig selv forbundet med en øget cervixcancer risiko. I cervixcancer findes for alle praktiske formål kun høj-risiko HPV typer. Også i lettere celleforandringer som let dysplasi (CIN1) er høj-risiko typerne de hyppigste (~ 75-85%), efterfulgt af blandet infektion med høj- og lav-risiko HPV typer (~ 15%). Infektioner udelukkende med lav-risiko HPV typer er mindre hyppige (2-25%) (19). Selv hos kvinder med normal smear er høj-risiko HPV typerne, herunder især HPV 16 og 18, de hyppigst forekommende.

HPV's struktur

HPV er små DNA virus, som er omgivet af et proteinkapsid. Genomet består af dobbeltstrengt, cirkulært DNA indeholdende 8000 basepar, hvoraf sekvensen af hele genomet er kendt for mere end 80 HPV typer på nuværende tidspunkt. De virale proteiner E6 og E7 fra høj-risiko HPV typerne har betydning for den maligne transformation, mens de tilsvarende genprodukter fra lav-risiko HPV typerne ikke eller kun i ringe grad har transformerende evner. En del af E6 og E7's onkogene potentiale er baseret på deres evne til at binde sig til tumorsuppressor-proteinerne p53 og retinoblastom (Rb) proteinet. Ved denne binding sker der en inaktivering af disse cellulære værts-proteiner, hvilket kan medføre en deregulering af cellecyklus. Det vides at eksplosion af HPV onkoproteinerne afficerer værts-cellen så dens evne til at opretholde kontrol af cellecyklus og genetisk stabilitet ved geno-toksiske påvirkninger er kompromitteret.

HPV's livscyklus

Genital HPV-infektion er langt overvejende seksuelt transmitteret og virus kommer sandsynligvis i kontakt med epitelets basale cellelag via mikroskopiske ulcera opstået ved samleje. HPV dræber ikke sin værtscelle men begynder sin DNA replikation samtidig med at cellen rekrutteres til differentiering. Samtidig med at cellen differentieres og bevæger sig op igennem epitelet, syntetiseres de forskellige virusproteiner. I en produktiv infektion samles viruspartiklerne i de øvre cellelag, og når cellerne dør og afstødes, er de fyldt med HPV. Under transformation afkobles den produktive livscyklus og kun få viruspartikler er til stede.

HPV's naturhistorie

HPV-infektion kan beskrives som værende klinisk, subklinisk eller latent. Den kliniske HPV-infektion, som er den umiddelbart synlige infektion (condyloma acuminata), udgør kun omkring 1% af alle genitale HPV-infektioner. Den subkliniske HPV-infektion er ikke makroskopisk synlig, men kan påvises ved kolposkopi eller ved mikroskopi af smear og vævsprøver. I modsætning hertil er den latente HPV-infektion ikke synlig hverken mikro- eller makroskopisk, da cellerne er morfologisk normale, men kun konstateres ved påvisning af HPV DNA/RNA. Så længe HPV-infektionen er latent, replikeres virus i takt med cellens DNA forud for at cellen deler sig. Når replikationen af HPV sker uafhængigt af celledelingen er infektion blevet aktiv og forårsager en proliferation af værtscellerne. Der udvikles således morfologiske forandringer som f.eks. koilocytose.

Det vides ikke hvor længe en infektion kan være latent før den eventuelt bliver produktiv og giver anledning til kliniske/subkliniske forandringer. Forløbet afhænger blandt andet af det lokale cellulære immunforsvar. Man ved ikke med sikkerhed om HPV-infektionen forsvinder helt eller om den forbliver latent i det basale cellelag med et så lavt antal virus, at den ikke kan påvises med de til dato mest følsomme metoder.

Det er blevet estimeret at livstidsrisikoen blandt kvinder for at få HPV er så høj som 79% (20), hvorimod livstidsrisikoen for cervixcancer kun ligger på omkring 1%. Dette kan delvis forklares ved at de fleste HPV-infektioner er forbigående og forsvinder spontant. Det er vist i flere undersøgelser at hovedparten af HPV-infektionerne er relativt kortvarige og ikke øger risikoen for cervixneoplasi, mens kun en ganske lille del af infektionerne persisterer. For eksempel fandt Ho et al. (21) at 12 måneder efter en nyopstået HPV-infektion var 70% kvinderne i undersøgelsespopulationen blevet HPV-negative. Median varigheden af en HPV-infektion er blevet fundet til at være 8 måneder (95% konfidens-interval: 7-10), hvor de onkogene typer har en længere varighed (~9 måneder) end de non-onkogene HPV typer (4-5 måneder) (21, 22).

Til top ▲

Incidens af genital HPV-infektion

Den præcise incidens af genital HPV-infektion kendes ikke. De fleste undersøgelser har beskæftiget sig med kondylomer, og incidensen heraf synes at være steget inden for de seneste fire årtier. Eftersom pålidelig påvisning af HPV DNA kun har været mulig i de seneste år, kender vi ikke den tilsvarende tidsmæssige udvikling for latent HPV-infektion.

I en nyligt publiceret prospektiv kohorte-undersøgelse af 1400 kvinder, som blev undersøgt hver 4. måned for tilstedeværelse af HPV DNA i cervix ved hjælp af PCR, blev der påvist en incidens af HPV på 1,3% per måned. Efter 18 måneder var 38% af kvinderne på et eller andet tidspunkt fundet HPV-positive (21). I en tilsvarende undersøgelse blandt 600 college-studerende, som blev undersøgt hvert halve år, fandt man en årlig incidens på 14% og en kumuleret incidens efter 3 år på 43% (22). I en dansk prospektiv undersøgelse af en gruppe yngre kvinder, som blev undersøgt 2 gange med 24 måneders mellemrum fandtes en kumuleret incidens af HPV på 35% (23).

Prævalens af HPV hos kvinder med normal smear

Prævalensen af HPV varierer efter sammensætningen af den population, der undersøges og den metode, der anvendes til påvisningen. Prævalensen af HPV er undersøgt hos f.eks. tilfældigt udvalgte kvinder fra befolkningen, unge studerende, kvindelige patienter fra venereaklinikker og hos gravide. Den PCR-bestemte HPV prævalens i disse studier varierer fra ca. 5% blandt tilfældigt udvalgte spanske kvinder (24) til 50% blandt college kvinder fra Californien (25). I danske undersøgelser er der fundet en HPV prævalens på 15% blandt 1000 tilfældigt udvalgte 20-29 årige kvinder (26) og en HPV prævalens på henholdsvis 35% blandt kvindelige venereapatienter (27) og 32% blandt kvindelige prostituerede (28).

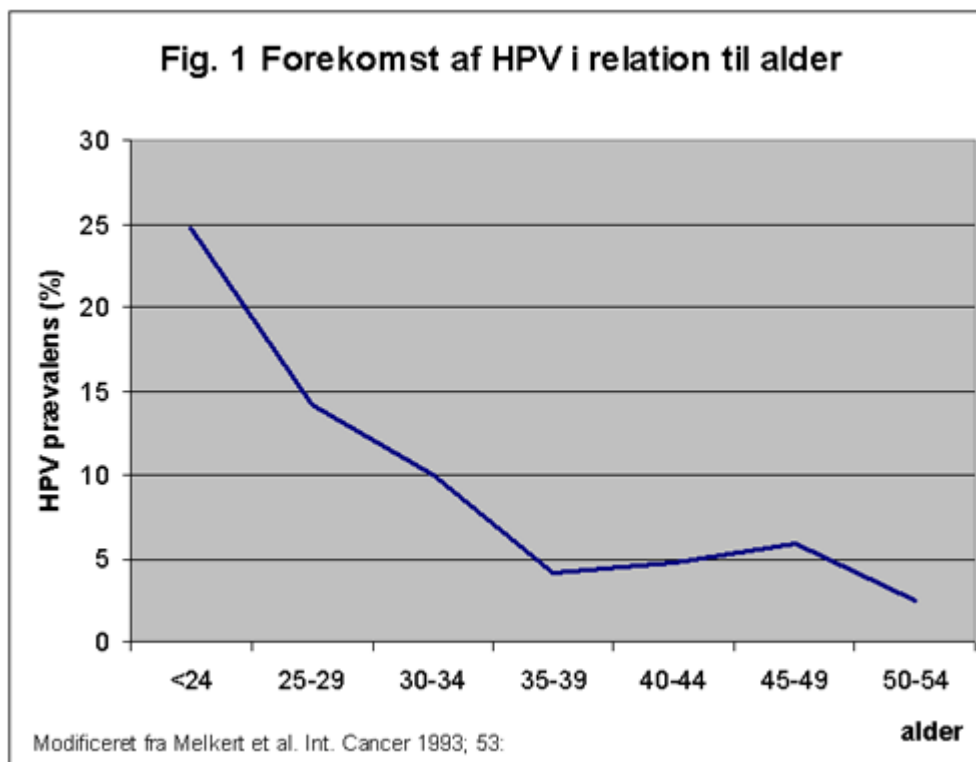
Prævalens af HPV hos kvinder med dysplasi eller cervixcancer

Der er lavet adskillige undersøgelser over forekomsten af HPV DNA hos kvinder med forskellige grader af celleforandringer. I de fleste er der fundet en stigende HPV prævalens med stigende sværhedsgrad af celleforandringen gående fra ca. 40-50% blandt kvinder med ASCUS til ca. 80-90% hos kvinder med dysplasi eller carcinoma in situ. I et stort internationalt studie undersøgte man mere end 1000 cervixcancer fra 22 lande for tilstedeværelse af HPV DNA ved hjælp af PCR-metoden og fandt en prævalens på 99,7% (29). Blandt de HPV-positive cancer indeholdt ca. 78% en af typerne 16, 18, 31, 45, og i yderligere ca. 16% kunne påvises en af typerne 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 68. Således indeholdt omkring 94% af cancerne HPV typer, der kan påvises med de på nuværende tidspunkt mest benyttede HPV-tests (PCR MY 9/11, PCR GP5+/6+, Hybrid Capture II).

Til top ▲

Risikofaktorer for HPV

Risikoen for at være HPV-positiv er associeret til alder (Figur 1). Således er der i de fleste undersøgelser fundet den højeste HPV forekomst blandt unge, seksuelt aktive kvinder og en meget lavere prævalens hos ældre kvinder. I en stor kohorte-undersøgelse fra Costa Rica var HPV-prævalensen 20% hos kvinder under 25 år, mens kun 5% af kvinder i aldersgruppen 35-54 år var positive for HPV (30). Tilsvarende er det i en dansk undersøgelse af 1000 tilfældigt udvalgte kvinder fundet at HPV-prævalensen faldt fra 20% blandt de 20 årige til ca. 12% blandt 28-29 årige kvinder (26). Dette fald i HPV forekomsten med stigende alder blev tidligere forklaret ved en aldersrelateret ændring i seksualvaner med færre sex partnere og dermed en lavere eksponering for HPV. Dog har bl.a. en nyere dansk undersøgelse af kvindelige prostituerede vist det samme fald i HPV-prævalensen med alderen trods en uændret høj seksuel aktivitet og mange nye partnere (28). En alternativ hypotese, der kan forklare faldet i HPV, er at der efter en vis eksponeringstid udvikles et immunologisk respons overfor HPV. I nogle studier synes HPV prævalensen at stige let igen hos ældre kvinder, måske på grund af et med alderen faldende immunforsvar og dermed aktivering af latent infektion. Kvinder med nedsat celledieret immunforsvar, f.eks. HIV-positive og nyretransplanterede har øget risiko for HPV-infektion og øget risiko for persisterende infektion. Ændret immunitet for eksempel med stigende alder kan være en forklaring på at tiden mellem udsættelse og synlig affektion kan være lang. Derfor er det stort set umuligt for de fleste HPV inficerede at vide nøjagtigt hvornår og af hvem de er blevet smittet.



I de fleste undersøgelser har antallet af seksualpartnere været en af de vigtigste determinanter for HPV-positivitet. Risikoen øges ikke lineært med stigende antal partnere men synes at stige indtil et vist punkt for derefter at stagnere. Immunitet, som erhverves efter en vis eksponering, er blevet foreslået som forklaring på dette fænomen.

Betydningen af seksuel aktivitet i form af samleje i relation til HPV-risikoen understreges af resultaterne af en dansk prospektiv undersøgelse af jomfruer, der blev undersøgt ved indgang i studiet og ligeledes 2 år efter. Hos de kvinder, der også var jomfruer ved followup undersøgelsen fandtes ingen HPV DNA ved nogen af de to undersøgelser. I modsætning hertil steg HPV prævalensen hos de kvinder, der blev seksuelt aktive i løbet af den 24 måneder lange followup periode fra 1,5% til 35,4% (23). Tilsvarende fandt Burk et al. (31) HPV hos 3% og 53% af kvinder med henholdsvis ingen og ≥ 5 seksual partnere.

Andre variable, der mindre konsistent er fundet associeret til risikoen for at få en HPV infektion, inkluderer kondom/pessar-brug, p-pillebrug, graviditet og rygning. Endelig har nyere undersøgelser fundet forskellige risikofaktorer for høj-risiko og lav-risiko HPV typer (32, 33).

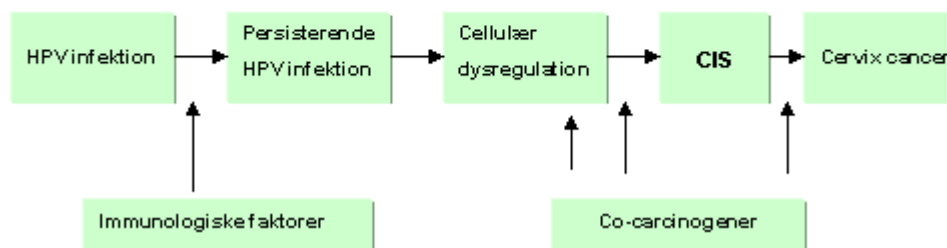
Til top ▲

Cervikal neoplasie's naturhistorie

I de seneste år er der kommet resultater fra prospektive undersøgelser af nyopstået neoplasie på cervix hvor gentagne målinger af HPV er anvendt. Kun i sådanne studier er det muligt at fastlægge den tidsmæssige relation mellem eksponering og udfald. Liaw et al (34) fulgte mere end 17.000 kvinder med normal smear ved indgang i undersøgelsen og fandt at kvinder, der var HPV-positive både ved indgang i studiet og ved followup undersøgelsen, havde en 100 gange større risiko for at udvikle lette celleforandringer end de kvinder, der var HPV negative ved begge undersøgelser. I en dansk kohorte-undersøgelse af mere end 11.000 yngre kvinder, havde kvinder, som både var HPV positive initialt og igen efter 2 år en mere end 300 gange større risiko for at udvikle svære celleforandringer i løbet af 2 år sammenlignet med kvinder, der var HPV-negative begge gange (35). Risikoen var endnu større, hvis kvinden ved begge undersøgelser havde samme høj-risiko HPV type på cervix. Disse undersøgelser støtter således hypotesen om at persisterende høj-risiko HPV-infektion er en vigtig risikofaktor for udvikling af cervixneoplasie. Desuden har en svensk undersøgelse bekræftet, at det samme er tilfældet for udvikling af cervixcancer (36).

Genital HPV-infektion, inklusiv den persisterende infektion, er mange gange hyppigere end cervikal neoplasie. Det er derfor indlysende, at selvom HPV-infektionen er nødvendig for udviklingen af cervixcancer og forstadierne hertil er den ikke tilstrækkelig. Andre forhold må have en indflydelse på om en given HPV-infektion udvikler sig i malign retning. Endnu er der kun ganske få data om sådanne mulige cofactorer. Blandt kandidaterne er foreslået langvarig p-pillebrug, rygning og infektion med andre seksuelt overførte infektioner som Chlamydia trachomatis. Den multistep-model (Fig. 2), der er foreslået at ligge til grund for carcinogenesisen, omfatter således mindst 4 trin: HPV-infektion med en onkogen type, persisterende HPV-infektion, progredierende dysplasi og invasiv cancer (37). Cervixcancer kan således opfattes som en meget sjælden komplikation til en meget hyppig infektion.

Figur 2
Trin i udviklingen af cervix cancer



1.4 Metoder til påvisning af HPV

HPV kan ikke dyrkes in vitro og de serologiske metoder, der findes til påvisning af antistoffer mod HPV kan indtil videre kun anvendes i forskningsøjemed. Påvisning af HPV kræver derfor en direkte påvisning af HPV-genomet, hvilket kun kan gøres med meget følsomme metoder. Da kun påvisning af høj-risiko (onkogene) HPV typer er relevante for udredning af kvinder med mulig cervikal neoplasie er det i det følgende underforstået kun disse HPV-typer, der er tale om med mindre andet er nævnt.

I en omfattende gennemgang af metoderne til påvisning af HPV (38) vurderedes kun to metoder som anvendelige til store kliniske undersøgelser, nemlig Polymerase Chain Reaction (PCR) og Hybrid Capture 2 (HC-2). For begge metoder gælder det, at materiale til undersøgelse kan opsamles med vatpind eller børste fra cervix på samme måde som til den almindelige celleprøve. Begge metoder kan også anvendes til påvisning af HPV i restmaterialet ved væskebaseret cytologi.

Til top ▲

Polymerase Chain Reaction (PCR)

PCR er baseret på amplifikation af HPV DNA ved hjælp af oligonucleotid primere. De mest velbeskrevne PCR-metoder er GP5+/GP6+ (39) og MY 09/11 (40), der tilsammen kan teste for HPV typerne 6, 11, 13, 16, 18, 26, 31-35, 39, 40,42 45,51-59, 61, 62, 64, 66-70, 72, 73, AE2, PAP155, PAP291 og W13B. Efter amplifikationen påvises PCR produkterne oftest ved hybridisering ved brug af HPV DNA prober. Ved hjælp af såkaldte konsensus-primere kan der undersøges for en bred vifte af HPV-typer på én gang og efterfølgende kan de(n) enkelte HPV-typer identificeres. PCR har en meget høj sensitivitet og kan påvise mellem 10 og 100 kopier af HPV genomet. (Tabel 2). PCR reaktionen kan udføres under samtidig måling af den genererede mængde af HPV DNA (41, 42). En ny PCR-metode kaldet SPF(10) med HPV Line Probe Assay (HPV-LiPA) (43) forventes at blive kommercielt tilgængelig.

Tabel: 2**Sammenligning mellem Polymerase Chain Reaction (PCR) og Hybride Capture-2 (HC-2) metoderne til HPV-påvisning.**

	PCR	HC-2
Fordele:	<ul style="list-style-type: none"> ● Meget høj sensitivitet:10-100 genomer ● Stort prøveantal ● HPV typebestemmelse ● Kvantitering af virus mængden 	<ul style="list-style-type: none"> ● Høj sensitivitet: 300-500 genomer ● Stort prøveantal ● Let at udføre ● Standardiseret ● Kommercielt tilgængeligt kit
Ulemper:	<ul style="list-style-type: none"> ● Risiko for kontaminering ● Ikke standardiseret ● Krævende teknik ● Ikke kommercielt tilgængelig 	<ul style="list-style-type: none"> ● Lavere sensitivitet ● Ikke bestemmelse af virus mængden ● Ikke HPV-typning

Det er en ulempe ved PCR til HPV påvisning at der ikke er fælles metodologiske standarder. For eksempel anvendes der forskellige metoder til DNA-ekstraktion, til påvisning af det opformerede DNA og forskellige primere. Sammenligning af resultater baseret på forskellige PCR metoder kan derfor være vanskelig. I en sammenligning af MY09/11 PCR og GP5+/6+ PCR fandtes stort set samme prævalens af HPV i kliniske prøver; men forskelle i sensitiviteten for de enkelte HPV typer og forskellig forekomst af multiple infektioner (44). Et multicenterstudie har dog vist at det er muligt at standardisere PCR (GP5+/GP6+) (45). En anden ulempe er, at PCR-metoderne ikke er kommercielt tilgængelige endnu. Desuden bevirker PCR-metodens meget høje analytiske sensitivitet en risiko for kontaminering og derved for falsk positive resultater. Dette stiller store krav til de laboratorier, der anvender PCR.

Fordele ved PCR-metoden er udover den høje analytiske sensitivitet, at mange prøver kan analyseres på én gang, at de enkelte HPV-typer kan påvises, og at det er muligt at bestemme mængden af virus. Den kliniske anvendelighed af at bestemme hvilke(n) onkogen(e) typer, der er til stede og mængden af virus er dog endnu uafklaret.

Hybrid Capture 2 (HC-2)

HC-2 metoden er baseret på hybridisering af HPV DNA til en blanding af specifikke RNA prober efterfulgt af en signal-amplifikation. De dannede DNA/RNA hybrider påvises ved binding af specifikke antistoffer som igen påvises ved en kemoluminescence reaktion. HC-2 høj-risiko proben tester for 13 onkogene HPV typer; men metoden tillader ikke specifik påvisning af hvilke(n) af disse typer, der er i prøven. Der testes for HPV16, 18, 31, 33, 35,39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 og 68 (46). HC-2-metoden har en analytisk sensitivitet på 300 til 500 HPV genomer (47) (Tabel 2). Sammenligning af PCR (MY09/11) og HC-2 har vist over 90% overensstemmelse ved påvisning af onkogene HPV typer (48).

Ulemper ved HC-2 er udover mindre analytisk sensitivitet sammenlignet med PCR, at metoden ikke giver mulighed for bestemmelse af virusmængden; men denne kan anskueliggøres ved at vælge forskellige tærskelværdier af totalt DNA for positivt udslag. Desuden kan det være en ulempe, at der ikke kan typebestemmes.

Fordele ved HC-2 er, at mange prøver kan analyseres på én gang, at metoden er standardiseret, let at udføre, ikke kræver så store laboratoriemæssige faciliteter som PCR-metoden bortset fra måleapparatet og endelig, at den findes i et kommercielt tilgængeligt kit. En ny generation af denne test med en 10 gange højere sensitivitet (HC-3) er på vej.

Både PCR og HC-2 kan anvendes til store undersøgelser. Det kan imidlertid være attraktivt med en kommercielt tilgængelig metode, da det sikrer en vis standardisering fra laboratorium til laboratorium og dermed mere ensartede resultater. Inden for de seneste år har de fleste store undersøgelser af den kliniske anvendelighed af HPV-testning været baseret på HC-2 (49). Med hensyn til sammenligning af metodernes diagnostiske sensitivitet/specificitet (dvs. egnethed til at påvise cervical neoplasia) henvises til afsnittet om "HPVs rolle i udredning af cytologi-diagnosen atypi".

Til top ▲

1.5 Nuværende praksis for udredning af kvinder med atypiske celler i smear

Udredning af kvinder med atypiske celler varierer fra amt til amt. Det afspejler formentlig en forskellig afvejning af ressourceforbrug og risikoen for unødigt sygeliggørelse mod ønsket om at finde alle kvinder med behandlingskrævende forandringer.

Konsekvensen af diagnosen atypiske celler i forskellige amter fremgår af Tabel 3. I de fleste amter anbefaler man, at der tages et nyt smear efter 3 måneder, enkelte steder efter et længere interval. Kun i Københavns Amt henvises alle kvinder med abnorme celler direkte til speciallæge. I Fyns og Ringkøbing Amter henvises de mest dysplasi-suspekterede atypier eller "low grade lesions" (atypi, HPV og CIN1), til speciallæge-undersøgelse med det samme. Alle steder henvises kvinder med gentagne prøver med abnorme celler til speciallæge, hvor der foretages kolposkopi, portio biopsier og cervical abrasio eller celleafskrab med cytobørste (KBC). Såfremt man finder behandlingskrævende forandringer, kontrolleres patienten i en årrække efter behandlingen. Hvis der ved den histologiske undersøgelse ikke findes forandringer, er rekommandationerne lidt forskellige. Nogle amter lader derefter kvinden vende tilbage til rutinescreening, mens andre amter tager et eller flere kontrolsmear før kvinden igen indgår i rutinescreeningen.

Ved en spørgeskema undersøgelse foretaget af Sundhedsstyrelsen i 2001 fandt man, at der i Danmark tages ca. 480.000 smear om året. Ved en rundspørge til alle landets amter er det blevet oplyst, at antallet af smear med diagnosen atypiske celler udgør 1 - 6 % af det pågældende amts smear, i gennemsnit godt 2%. Det svarer til ca. 10.000 smear, med diagnosen atypiske celler. Variationen i andelen af smear med atypiske celler er udtryk for forskellige diagnostiske kriterier og holdninger, men også at man nogle steder anvender koilocytose som en særskilt diagnose, mens koilocytose andre steder indgår i gruppen atypiske celler eller CIN1 (Tabel 1).

1.6. HPV's rolle i udredning af cytologi-diagnosen atypi

Formålet med cervixcancer-screening er at påvise forstadier til livmoderhalskræft inden de bliver invasive, og således ved fjernelse af prækankroserne at undgå udvikling af livmoderhalskræft. I Skandinavien har vi været i front hvad angår cervixcancer-screening, idet denne blev indført adskillige steder i de nordiske lande allerede fra midten af 1960'erne. Fra begyndelsen af 1970'erne har man observeret et fald i forekomsten af livmoderhalskræft i disse områder – mest udtalt i Finland, hvor incidensen er reduceret med ca. 80%, men også i Danmark har vi set et fald. Således var der i 1963-67 årligt omkring 910 nye tilfælde, mens der i perioden 1993-97 kun blev diagnosticeret 478 tilfælde af livmoderhalskræft pr. år, svarende til en aldersjusteret incidens på henholdsvis 31.7 og 12.7 pr. 100.000.

Papanicolaou (Pap) smearprøven betragtes af mange som en af de mest succesfulde tests til at forebygge cancer. Der er dog ingen tvivl om at denne cytologiske screening er forbundet med flere problemer. Dels er der en relativ høj rate af falsk positive prøver, og dels er mange af de lettere celleforandringer, der findes ved screeningen, i virkeligheden uden reelt malignt potentiale. Problemet er imidlertid at de ikke kan skelnes fra de forandringer, der vil progredierte, hvis de ikke behandles. Et andet problem er forekomsten af falsk negative smearprøver, som kan være forårsaget af inadækvat prøvetagning, men også kan skyldes fejldiagnosticering.

Til top ▲

Problemet størrelse

I Danmark diagnosticeres der årligt på cytologisk basis mere end 10.000 atypier på cervix uteri. Disse udgør et problem både for klinikerne og for patologerne. Blandt disse lettere forandringer skal patologerne skelne mellem reaktive og dysplastiske celleforandringer. I et nyligt publiceret review af nøjagtigheden af Pap smear testen i relation til screening og opfølgning af cytologisk påviste celleforandringer blev det konkluderet at de fleste undersøgelser af den konventionelle Pap smear er behæftet med alvorlige fejlkilder. Selv efter de mest optimistiske estimater bedømmes Pap testen til kun at være moderat nøjagtig (7). Et af problemerne ved atypi og let dysplasi-diagnosen er den høje grad af subjektivitet og dermed mangel på reproducerbarhed. Det er blevet rapporteret at overensstemmelsen mellem patologer hvad angår LSIL (low-grade intraepithelial lesion) kun er på omkring 30% og med hensyn til ASCUS (atypical squamous cells of undetermined significance) er overensstemmelsen væsentlig mindre (50).

Selvom en meget stor del af de lettere celleforandringer forsvinder spontant, vil nogle persistere eller endog progredierte, hvis der ikke indsættes behandling. Det grundliggende problem er dog at man ikke umiddelbart kan sige hvilke, der vil forsvinde af sig selv og hvilke der vil progredierte, fordi den cervixcytologiske test er en screenings-test uden prognostisk information. At man ikke blot kan ignorere atypi-diagnosen understreges af at i flere materialer har næsten 25% af kvinder med let atypiske smear en underliggende CIN, herunder har op mod 8%-10% en HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesion) (51, 52, 53).

Status for håndtering af lettere celleforandringer

I Danmark sker followup af kvinder med atypiske celleforandringer på meget varierende måde (Tabel 3). Nogle steder henvises kvinder med en lettere abnorm smear til kolposkopi og evt. biopsi, mens man andre steder følger kvinderne op med gentagne smear og kun foretager kolposkopi ved persisterende eller tilbagevendende abnorm smear. Kolposkopi er en meget sensitiv metode til at diagnosticere underliggende svære celleforandringer, men det er en dyr undersøgelse, og den skal udføres af specialister, hvis resultatet skal være optimalt. Især i relation til den kolposkopiske udredning af atypi og CIN1 er der en ikke ringe diagnostisk subjektivitet (54, 55, 56). Således findes ved denne metode en betydelig inter- og intraobservatør variation, og med en direkte henvisning til kolposkopi af alle kvinder med atypiske celler, er specificiteten lav, da der vil diagnosticeres et relativt stort antal lette celleforandringer, som for størstedelens vedkommende er uden den store kliniske betydning, idet de er den morfologiske manifestation af en sædvanligvis godartet HPV infektion.

Tabel 3. Rekommandationer for udredning af kvinder med atypiske celler i smear i forskellige danske amter

	Konsekvens af 1. smear med atypi			Konsekvens af 1. kontrol smear		
	Ny prøve om 3 mdr	Ny prøve om 3-6 mdr	Ny prøve om 12 mdr.	Normal rutine → Abnorm spec. læge →	Normal ny prøve 6 mdr → Abnorm spec. læge →	Normal ny prøve 12 mdr → Abnorm spec. læge →
Roskilde amt						
Storstrøms amt						
HS						
Sønderjyllands amt						
Fyns amt	*					
Vejle amt						
Ribe amt						
Viborg amt						
Bornholms amt						
Vestsjællands amt						
Frederiksborg amt						
Nordjyllands amt		**				
Ringkøbing amt		***				
Århus amt						
Københavns amt	Alt til speciallæge			Ikke aktuelt		

* Nogle kvinder sendes direkte til KBC.

** Anvender Pøtten nomenklaturen. Hvor mange smear der tages afhænger af hvilken diagnose der er mistanke om.

*** Anvender Bethesda nomenklaturen. Hvis der er mistanke om dysplasi henvises kvinden straks til speciallæge.

Follow-up-strategien, der inkluderer en gentaget smear, har en relativ lav sensitivitet, idet op til 25-30% af de tilstedeværende sværere celleforandringer ikke bliver fanget ved den gentagne smear (57, 58, 59, 60).

Subjektiviteten og den lave reproducerbarhed hvad angår den cytologiske diagnose af lettere celleforandringer og den deraf følgende diagnostiske variabilitet af kolposkopien kan føre til lange udredningsforløb med unødvendige kirurgiske diagnostiske indgreb og i sidste ende overbehandling. Dette er først og fremmest en stor fysisk og psykisk belastning for patienterne, men medfører også en lav cost-benefit af de nævnte opfølgingsmetoder og derfor en unødigt økonomisk belastning for samfundet.

Til top ▲

HPV-testning i håndteringen af atypiske celleforandringer

Det er vist at infektion med visse typer af HPV er en nødvendig faktor (men ikke tilstrækkelig) for udvikling af cervixcancer (19, 29). Endvidere er det kendt at med stigende sværhedsgrad af de prækankrøse forandringer ses en stigende prævalens af HPV DNA positivitet (61, 26). Yderligere har flere prospektive undersøgelser fundet at HPV-testning indeholder prædiktiv information, idet cytologisk normale kvinder, som har høj-risiko HPV typer, har en mere end 100 gange større risiko for at udvikle svære celleforandringer på cervix end kvinder, som er HPV negative (21, 34).

På baggrund af disse fund er det blevet foreslået at HPV DNA testning kunne være værdifuld i udredningen af kvinder med atypiske celler. Testen skal således hjælpe med at identificere de kvinder, som har en underliggende svær celleforandring, og endvidere identificere kvinder, der har en reel risiko for progression af celleforandringerne. I de senere år har flere undersøgt om en positiv HPV DNA test hos kvinder med cytologisk påvist lettere celleforandringer kunne tjene som en objektiv markør for tilstedeværelse af HSIL hos disse kvinder (58, 62, 59, 53). De fleste undersøgelser har sammenlignet sensitiviteten og specificiteten af HPV testning ved hjælp af PCR eller Hybrid Capture I (HC I) med sensitivitet/specificitet af gentaget cytologisk undersøgelse (reviewet af Kaufman (63)). Inden for den enkelte undersøgelse var HPV testning generelt ikke bedre til at påvise underliggende celleforandringer (\geq CIN 2/3) end en gentaget smear. Til gengæld blev det konkluderet i så godt som alle disse undersøgelser at kombinationen af de to metoder øgede sensitiviteten, hvorimod specificiteten faldt.

I de seneste undersøgelser har der især været brugt en nyere Hybrid Capture-version, kaldet Hybrid Capture II (HC II) testen, som indeholder flere cancer-associerede HPV typer og har en højere sensitivitet end førstegenerations HC testen (53, 64, 65). HC II testen er også blevet sammenlignet med PCR metoden. Den generelle konklusion er at HC II og PCR er stort set lige diagnostisk sensitive ved et cutoff på 1 pg/ml (48, 65, 66, 67).

[Til top ▲](#)

Der er udført flere undersøgelser af HPV-testnings værdi i udredningen af kvinder med en cytologisk diagnose lydende på LSIL (Tabel 4). Det er tidligere fundet at kvinder med LSIL har en højere HPV-prævalens end kvinder med ASCUS (61, 26). Derfor har det på forhånd været tvivlsomt hvilken rolle HPV-testning kunne have i den videre håndtering af LSIL-smear. Wrigth et al (64) fandt at sensitiviteten af HC II (0,2 pg/ml) for at finde en underliggende HSIL hos kvinder henvist med LSIL var høj (~90%), men specificiteten var til gengæld meget lav (~12%) og både Ferris et al (53), Bergeron et al (66) og Rebello et al (68) fandt lignende resultater. I USA har der i de sidste par år kørt en stor randomiseret multicenterundersøgelse, der er designet til at finde den bedste strategi til udredning og followup af lettere celleforandringer (69). I dette såkaldte ALTS-trial (ASCUS / LSIL Triage Study) er der inkluderet omkring 3600 kvinder med en nylig cytologisk LSIL-diagnose og 3600 kvinder med en cytologisk ASCUS-diagnose. Kvinderne blev randomiseret til enten kolposkopi uden yderligere forudgående undersøgelser eller kolposkopi baseret på HPV HC II og det cytologiske resultat (væskebaseret cytologi) eller håndtering alene på basis af cytologi. Resultaterne for kvinder med en LSIL-Pap smear diagnose er for nyligt blevet publiceret (69). HPV (høj-risiko typer) blev fundet hos næsten 83% af kvinderne med LSIL og det blev derfor konkluderet at HPV-testning med HC II kun har en begrænset værdi i håndteringen af disse kvinder.

I Tabel 4 er nogle af de seneste undersøgelser af HPV-testning af kvinder med en ASCUS-smeardiagnose resumeret. For ASCUS ligger sensitiviteten for at opdage en underliggende HSIL (CIN 3) på 83%-96%, mens sensitiviteten for en gentaget cytologisk undersøgelse af alle rapporteres at ligge væsentlig lavere (44%-76%). Denne øgede sensitivitet sker på bekostning af en nedgang i specificiteten. Det skal dog fremhæves at den negative prædiktive værdi af HPV (HC II) testen er særdeles høj, henholdsvis 98,5%, 99,3% og 99,5% i undersøgelserne af Manos et al (60), Zielinski et al (71) og Solomon et al (72).

Tabel 4. Undersøgelser af sensitivitet og specificitet for påvisning af underliggende high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) hos kvinder med lettere celleforandringer.

Forfatter (ref.)	Materiale	Påvisningsmetode	Cutoff værdi	Henvisningsdiagnose	Sensitivitet	Specificitet
Ferris et al., 1998	143 ASCUS og 99 LSIL	HC II	0.2 pg/ml	ASCUS LSIL	89% 91%	40% 12%
Wright et al., 1998	107 ASCUS og 144 LSIL	HC II	0.2 pg/ml 0.5 pg/ml	ASCUS ASCUS	90% 90%	42% 52%
		HC II	0.2 pg/ml 0.5 pg/ml	LSIL LSIL	~90% ~82%	~12% ~20%
Manos et al., 1999	995 ASCUS	Gentaget cytologi		ASCUS	76% 84% (ThinPrep)	-
		HC II	1 pg/ml	ASCUS ASCUS	89% 66%	64% 71%
Bergeron et al., 2000	111 ASCUS og 267 LSIL	Gentaget cytologi HC II		LSIL ASCUS	100% 83%	45% 62%
			1 pg/ml	LSIL	93%	44%
Shlay et al., 2000	195 atypia	HC II	1 pg/ml	atypi	93%	74%
Rebello et al., 2001	75 borderline smears og 117 mild dyskariosis	HC II	1 pg/ml 1 pg/ml	borderline mild dyskaryose	86% 94%	76% 39%
Morin et al., 2001	360 ASCUS	Gentaget cytologi HC II		ASCUS	74%	63%
		PCR	1 pg/ml	ASCUS	90%	74%
Zielinski et al., 2001	278 borderline/mild dyskariosis	HC II	1 pg/ml	borderline/mild dyskary+H13osis	96%	60%
Solomon et al., 2001	3488 ASCUS	Gentaget cytologi HC II	1 pg/ml	ASCUS ASCUS	44% (væske-baseret) 96%	54% henvist til kolposkopi 54% henvist til kolposkopi
Sherman et al., 2002	3488 ASCUS	HC II	1 pg/ml 10 pg/ml	ASCUS ASCUS	96% 92%	7% henvist til kolposkopi 42% henvist til kolposkopi

C II: Hybrid Capture II microplate method ~) estimeret ud fra figur i artiklen
PCR: Polymerase Chain Reaction

I flere af undersøgelserne har der været testet forskellige cutoff-niveauer for HC II testen. Wright et al (64) fandt at man praktisk taget ikke tabte sensitivitet, men udelukkende øgede specificiteten, ved at hæve cutoff fra 0.2 pg/ml til 0.5 pg/ml. Ligeledes fandt Sherman et al. (73) at når cutoff-værdien øgedes fra 1 pg/ml til 10 pg/ml, faldt sensitiviteten fra 96% til 92%, mens der til gengæld blev henvist 12% færre kvinder til kolposkopi.

Det har været diskuteret om HPV-testning kan bruges i alle aldersgrupper i forbindelse med udredning af de lettere celleforandringer på cervix. Som det fremgår af Tabel 5 fandt Sherman et al (73) stort set den samme sensitivitet af HC II testen (hos kvinder henvist med en ASCUS) i aldersgrupperne 18-22 år og 23-28 år såvel som blandt kvinder som er 29 år eller ældre. Imidlertid er der en udtalt forskel i specificiteten, som er meget lavere blandt de yngste kvinder. Der blev således henvist mere end dobbelt så mange kvinder til kolposkopi blandt de 18-22-årige (72%) som blandt de ≥ 29 -årige kvinder (31%). I overensstemmelse med dette fandt Wright et al (64) en sensitivitet og specificitet for at finde en underliggende HSIL hos kvinder over 30 år (henvist for ASCUS eller LSIL) på henholdsvis 86% og 61%. Hos kvinder under 30 år var sensitiviteten højere (~98%), men det var på bekostning af en langt lavere specificitet (~22%). Det samme mønster blev genfundet hos Shlay (74). Endelig fandt Zielinski et al (71) den samme høje sensitivitet for at påvise en underliggende CIN 2/3 hos kvinder over og under 40 år, men igen var specificiteten langt højere hos de ældste kvinder (≥ 40 år). Disse data antyder at HPV testning af en lettere abnorm smear kan have forskellige konsekvenser i forskellige aldersgrupper.

Tabel 5. Sensitivitet og specificitet for påvisning af underliggende high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) hos kvinder med lettere celleforandringer. i relation til alder

Forfatter (ref.)	Materiale	Påvisningsmetode	Aldersgrupper	Henvisningsdiagnose	Sensitivitet	Specificitet
Wright et al., 1998	107 ASCUS og 144 LSIL	HC II	≤ 30 år	(ASCUS eller LSIL)	~98%	~22%
			> 30 år	(ASCUS eller LSIL)	~86%	~61%
Shlay et al., 2000	195 atypia	HC II	≤ 29 år		100%	57%
			≥ 30 år		86%	84%
Zielinski et al., 2001	278 borderline/mild dyskariosis	HC II	< 40 år	borderline/mild dyskaryose	96%	34%
			≥ 40 år	borderline/mild dyskaryose	100%	77%
Sherman et al., 2002	3488 ASCUS	HC II	18-22 år	ASCUS	98%	72% henvist til kolposkopi
			23-28 år		96%	65% henvist til kolposkopi
			29+ år		94%	31% henvist til kolposkopi

HC II: Hybrid Capture II microplate method ~) estimeret ud fra figur i artiklen
PCR: Polymerase Chain Reaction

Til top 

1.7 Kommentar

HPV-testning af kvinder med lettere celleforandringer

Et af problemerne ved den cervix-cytologiske undersøgelse er at skelne mellem de lette celleforandringer, der alene er udtryk for benigne tilstande og de, der er udtryk for en prækankrose og dermed har et malignt potentiale. Flere nyligt publicerede studier af kvinder med ASCUS finder samstemmende, at HPV-testning har en højere sensitivitet til påvisning af HSIL end gentaget cytologi. Det er også konsistent blevet vist, at HPV-testning har en meget høj negativ prædiktiv værdi for påvisning af HSIL hos kvinder med ASCUS eller borderline/mild dyskaryosis (60, 71, 72). Derimod tyder den nuværende litteratur på at HPV-testning ikke er anvendelig i udredningen af kvinder med LSIL på grund af den høje HPV prævalens (>80%).

I de nævnte undersøgelser af kvinder med ASCUS har den øgede sensitivitet været opnået på bekostning af et fald i specificiteten. Dette har været rejst som et væsentligt problem ved HPV-testningen til udredning af kvinder med ASCUS (75, 76). En del af forklaring på den lave specificitet er formentlig, at den er udregnet for alle aldersgrupper under eet. Blandt unge kvinder vil den meget høje prævalens af kortvarig og ukompliceret HPV-infektion bidrage til en lav negativ prædiktiv værdi og specificitet af en positiv HPV test. Indtil videre er der kun ganske få studier (57, 50, 74), der har vurderet HPV-testningen i forskellige aldersgrupper og de finder samstemmende en markant højere specificitet blandt de relativt ældre kvinder, hvilket i denne sammenhæng vil sige kvinder som er ældre end 30-35 år.

Der er stor aktivitet indenfor forskningen i de forskellige kliniske anvendelsesmuligheder af HPV-testning og der foreligger på nuværende tidspunkt kun resultater fra tværnsnitsundersøgelser, da followup resultater fra store undersøgelser endnu ikke er publiceret (76). Man kunne derfor overveje, om man skulle afvente disse resultater før en mere systematisk form for HPV-testning blev introduceret i Danmark.

Vi finder vi dog at der ud fra litteraturen er basis for en gradvis implementering af HPV-testning herhjemme til udredning af kvinder med atypiske celler. Dertil kommer, at den optimale vurdering af HPV-testningens anvendelighed til udredning af danske kvinder med atypiske celler kun kan foregå i én population, nemlig den danske. Dette skyldes især to forhold. For det første er HPV-testens specificitet og negative prædiktive værdi afhængig af HPV-prævalensen i en given population. Da HPV-prævalensen varierer mellem populationer vil værdien af HPV-testning at kvinder med lettere celleforandringer formentlig også variere i forskellige befolkningsgrupper. For det andet er der store regionale og nationale forskelle i så væsentlige forhold som screeningshyppighed og tradition for udredningen og kontrol af kvinder med lettere celleforandringer. De fleste store undersøgelser af HPV-testning hos kvinder med lettere celleforandringer er fra USA. Her er der, blandt andet af juridiske årsager, tradition for at lægge mere vægt på en tests sensitivitet (for at undgå falsk negative resultater) end i Skandinavien, hvor holdningen snarere er at foretrække en høj specificitet (for at undgå mange falsk positive resultater) (77). Dette vil bidrage til, at en ASCUS diagnose fra USA formentlig ikke vil være direkte ækvivalent med en dansk atypi diagnose

HPV-testning af kvinder med \geq moderat dysplasi

Der er ingen grund til at teste kvinder med \geq moderat dysplasi for HPV, da disse kvinder skal henvises til gynækologisk speciallæge uanset udfaldet af en HPV-test.

HPV-testning som led i primær screening

Det er muligt at HPV-testning i fremtiden vil finde en anvendelse i den primære cervixcancer screening. Endnu er der dog for mange uafklarede forhold til at dette kan anbefales. Det anbefales at afvente resultaterne af de store randomiserede undersøgelser, der er undervejs.

Til top 

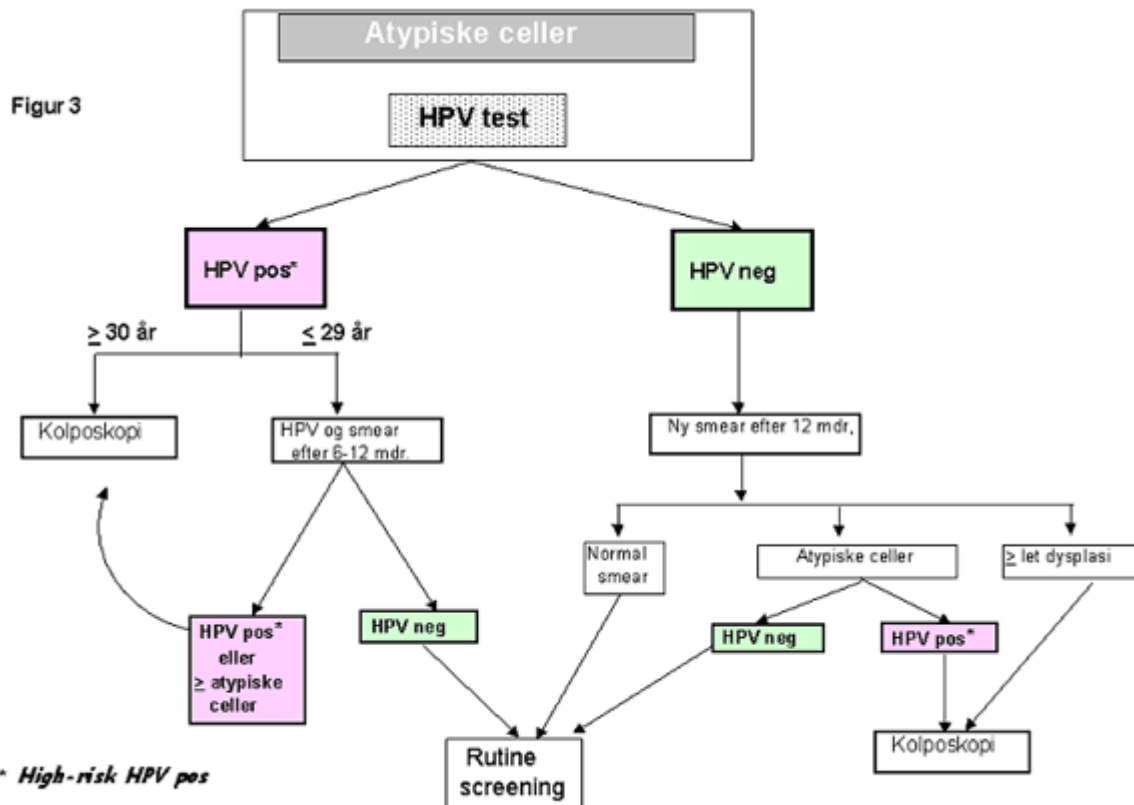
HPV-testning som kontrol efter konisation

De fleste undersøgelser af HPV-testning til kontrol af koniserede kvinder har været små og retrospektive, har haft en kort observationsperiode og desuden helt eller delvist været baseret på kvinder, der er behandlet med andre operationsmetoder end slynge-metoden, som er langt den hyppigst anvendte herhjemme. Der er således ikke endnu basis for at anbefale HPV-testning til efterkontrol af koniserede danske kvinder. Det anbefales at der initieres sådanne undersøgelser i et dansk regi.

2. Implementering af HPV-testning i udredningen af kvinder med atypiske celler i smear

2.1 Vejledende retningslinier (Tabel 6, Figur 3)

Ved anvendelse af HPV-testning som supplerende test ved atypiske celler i smear foreslås følgende flow-skema (Figur 3). På baggrund af den høje forekomst af forbigående HPV-infektion hos yngre kvinder (<30 år) kan man hos disse forventes en lavere positiv prædiktiv værdi (for påvisning af sværere celleforandringer) af en positiv HPV-test. Der er derfor sandsynligvis grundlag for at differentiere brugen af HPV i udredning af atypiske celler afhængigt af kvindens alder.



Tabel 6 HPV-testning: nuværende anvendelsesområder

HPV-testning kan anvendes

- I udredningen af kvinder med atypiske celler i smear.

HPV-testning bør ikke anvendes

- Hvis smear viser \geq let dysplasi
- I primær screening mod livmoderhalskræft
- I kontrol efter konisation

Kvinder med atypiske celler og positiv HPV-test

- *Kvinder der er fyldt 30 år: Henvises til gynækolog med henblik på kolposkopi.*
- *Kvinder under 30 år: Ny HPV-test og smear efter 6-12 måneder.*

Baggrunden for at vælge at lægge kontrollen netop på dette tidspunkt er et kompromis mellem to modsatrettede forhold nemlig: a) den gennemsnitlige varighed af en HPV-infektion er 8 måneder, hvorfor en tidligere kontrol vil være u hensigtsmæssig; men samtidigt b) kan man formode at en længere ventetid før kontrol vil være uacceptabel for mange kvinder.

Hvis denne HPV-test er positiv og/eller smear viser forandringer \geq atypi henvises kvinden til kolposkopi. Er begge prøver derimod negative kan kvinden vende tilbage til rutine-screening hvert 3. år.

Kvinder med atypiske celler og negativ HPV-test

Uanset alder tages der nyt smear efter 12 måneder. Er dette normalt returnerer kvinden til rutine-screening hvert 3. år. Er der igen atypiske celler, testes for HPV, og er kvinden fortsat negativ, kan hun vende tilbage til rutine-screeningen. Derimod henvises hun til kolposkopi, hvis HPV-testen er blevet positiv. Det samme gælder, hvis smear viser \geq let dysplasi.

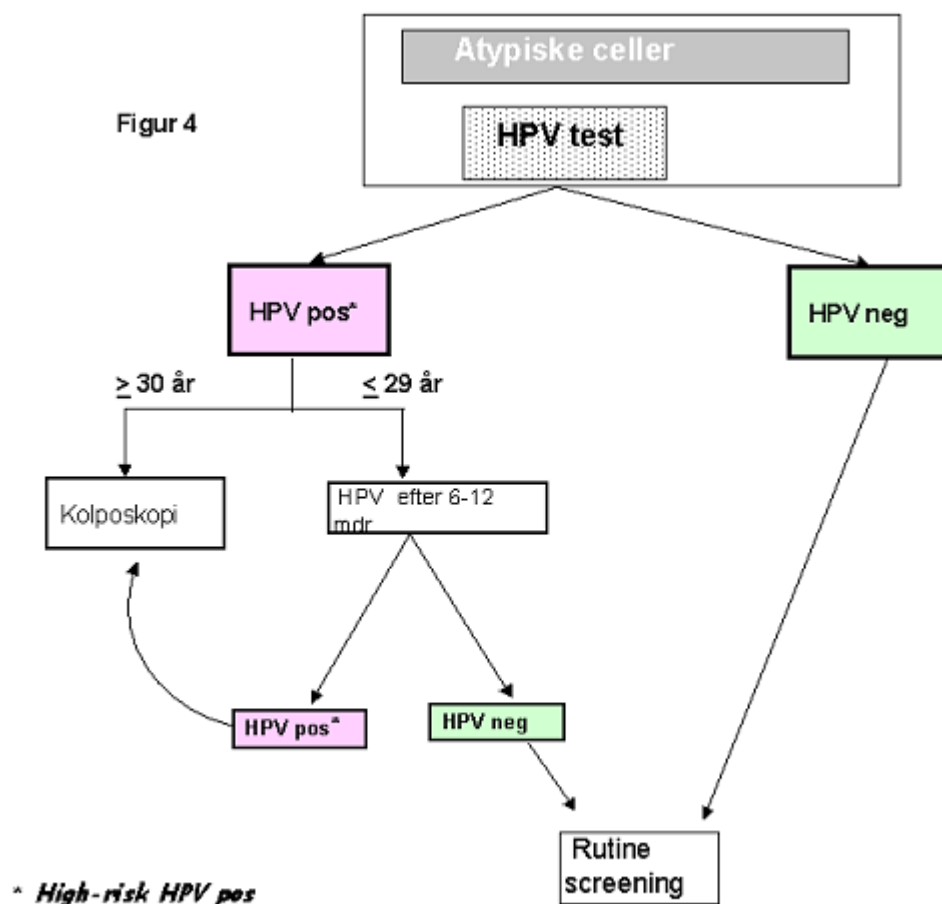
2.2 Registrering

Det er en forudsætning for indførelsen af HPV-testning at resultaterne registreres. Disse data vil gøre det muligt at vurdere værdien af denne nye teknologi og foretage eventuelle tilpasninger af retningslinierne. En central registrering vil være mest hensigtsmæssig. Det er muligt at etablere en helt ny database til formålet; men denne løsning vil være meget ressourcekrævende. En anden mulighed er at benytte en allerede eksisterende database som f.eks. det landsdækkende Patologi Register. En del af de relevante data findes allerede i Patologi Registeret, og registrering af HPV resultatet kan ske samtidig med registrering af cytologiresultatet. De nye variable, der kunne tænkes registreret er a) hvilken metode der er anvendt til HPV testen, inklusive hvilke HPV typer, testen omfatter og b) tilstedeværelse af høj risiko HPV typer eller ej og eventuelt c) HPV type. Arbejdsgruppen anbefaler, at der nedsættes en styregruppe, der sikrer at de relevante data registreres og evalueres.

Til top 

2.3 Evaluering af brugen af HPV-testen i udredning af danske kvinder med atypi

Der forskes intenst i klinisk anvendelse af HPV-testning og formentlig vil der være behov for en revision af de aktuelle retningslinier efter relativt få år. En sådan revision vil ikke alene være baseret på nye internationale forskningsresultater; men også på en evaluering af de registrerede data vedrørende HPV-testning af danske kvinder med atypiske celler. Det skal for eksempel evalueres om udredning af kvinder med atypi kan yderligere forenkles som vist i Figur 4. Det skal således vurderes om kontrol smear og eventuel HPV-testning af de HPV-negative kvinder efter 12 måneder kan undlades. Hvis dette er tilfældet vil alle de kvinder med atypiske celler, der er HPV negative kunne vende tilbage til rutine-screeningen med det samme uden yderligere undersøgelser. Desuden bør det evalueres om den ekstra smear, der er planlagt for de HPV-positive kvinder under 30 år efter 6-12 måneder kan undlades, således, at der kun kontrolleres for HPV status. Endelig vil det være muligt at vurdere om den forslåede aldersopdeling over og under 30 år er den mest hensigtsmæssige i en dansk population. Det vil være mest hensigtsmæssigt, at der foretages en regelret medicinsk teknologi vurdering.



3. Konsekvenser af implementering

3.1 Organisation og konsekvenser

Indførelse af HPV testning vil betyde ændringer i de udredningsforløb, der hidtil har været anvendt for kvinder med atypiske celler i smear. Der vil også være ændringer i organiseringen både i almen praksis og på sygehusene. Der er forskellige muligheder for forsendelse og opbevaring af prøver til HPV test.

- Smear tages på sædvanlig vis. Efter diagnosen atypiske celler indkaldes kvinden til ny prøvetagning til HPV testning. Denne procedure er næppe acceptabel for kvinden, og må derfor betragtes som mindre realistisk.
- Celleprøven tages på sædvanlig vis. Cytobørsten med restmaterialet fra udstrygningen sendes fra alle kvinder sammen med smear til patologiafdelingen. Hvis kvinden har atypiske celler ved den cervixcytologiske undersøgelse, foretages en HPV test. Når prøvematerialet på denne måde opbevares, skal kvinden kun have taget én prøve, og egen læge kan sende prøvematerialet på én gang. En central opbevaring betyder også at prøverne kan registreres samme sted som smear. Ulemperne er et større antal prøver, der skal opbevares og et øget ressourceforbrug på patologiafdelingen til at registrere, finde prøver frem og eventuelt videresende dem. Teoretisk set kunne restmaterialet opbevares hos den der tager celleprøven, men denne mulighed anses i praksis for mindre realistisk.
- Hvis der anvendes væskebaseret cytologi, tages celleprøven på samme måde som ved smear, men i stedet for et udstrygningspræparat (smear) fremstiller man maskinelt et præparat fra forsendelsesmediet. Også i disse tilfælde skal kvinden kun have taget én prøve og egen læge skal kun sende en prøve til patologiafdelingen, som ikke modtager et øget antal prøver.

Indførelse af HPV diagnostik stiller også ændrede krav til afdelingernes indretning. PCR diagnostik kræver 3-4 laboratorierum (der kan dog udføres andre undersøgelser i samme laboratorium). PCR metoder er ressourcekrævende, men der eksisterer i dag robotter, som kan udføre en del af arbejdet. Hybrid Capture II (HCII) fordrer ingen speciel laboratorieindretning og metoden kan anvendes på alle laboratorier. For både PCR og HCII metoderne gælder, at personale skal uddannes til at anvende dem. Begge HPV testnings metoder har fordele og ulemper, og lokale forhold kan tale for om den ene eller den anden metode anvendes.

Der vil være forskellige muligheder for, hvor undersøgelsen af prøven for HPV skal foretages.

- **HPV-testning foretages på én central afdeling**

En af mulighederne er at én afdeling i landet udfører samtlige analyser.

Dette vil betyde standardisering af HPV analysen og formentlig give nogle stordrift fordele, idet laboratorier og personale kan udnyttes bedre. Det er imidlertid en ulempe at alle er helt afhængige af et enkelt laboratorium. Et sådant laboratorium vil have en monopolstilling med de ulemper det medfører både praktisk og økonomisk.

- **HPV-testning foretages regionsvis**

HPV testen kan også foretages regionsvist for eksempel på tre til seks afdelinger, som varetager alle analyser. Der vil stadig være de formodede stordrift fordele. Samtidig får flere afdelinger ekspertise i HPV testning og der kan foretages sammenlignende undersøgelser i kvalitetssikringsøjemed.

- **HPV-testning foretages på alle sygehuse**

Hvis alle de sygehuse, som varetager screeningsprogrammer, foretager analysen vil man kunne opnå en kort svartid fordi prøven ikke sendes ud af sygehuset, og man undgår det fordyrende led som forsendelse er. Det kan imidlertid være uøkonomisk for afdelinger med få prøver at udføre analysen, fordi laboratorier og personale ikke udnyttes optimalt.

Til top ▲

Hvilken organisering man vælger må ligesom hvilken metode man vælger være afhængig af mulighederne for at sikre kvaliteten. Det bør vurderes hvor mange prøver en afdeling som minimum skal udføre for at opnå tilstrækkelig ekspertise.

Det helt afgørende af hensyn til patienterne er at sikre kvaliteten og et optimalt patientforløb. Det er derfor vigtigt, at svaret på HPV testen afgives sammen med svaret på den cervixcytologiske undersøgelse.

3.2 Patientvinklen

Det er formentligt nyt for de fleste kvinder, at celleforandringer er relateret til HPV som er en seksuelt overført infektion. Information herom indebærer risiko for at de berørte kvinder vil føle sig stigmatiseret p.gr.a. associationer til begrebet kønssygdom (anklager for promiskuitet og frygt for at partneren har været utro). Det er også et problem, at der ikke er nogen behandling for infektionen.

Det er derfor vigtigt at informere kvinden om, at genital HPV-infektion på et eller andet tidspunkt i livet findes hos de fleste kvinder (mindst 80%), at infektionen er meget hyppig hos unge, at den oftest er forbigående og uden symptomer og at man kan være blevet smittet flere år før celleforandringerne viser sig (Tabel 7). Da infektion med de HPV-typer, der er associeret til celleforandringer i øvrigt ikke er synlig, er det umuligt at vide hvornår og af hvem hun er blevet smittet.

Tabel 7

Nøgleinformation om HPV.

- Livstidsrisiko for HPV er mindst 80%.
- Infektionen er meget hyppig hos unge.
- Infektionen er oftest forbigående og uden symptomer.
- Man kan være blevet smittet flere år før celleforandringerne viser sig.
- Det er umuligt at vide hvornår og af hvem man er blevet smittet.
- Ingen grund til at partneren skal HPV-testes.

Spørgsmål om smitterisiko vil også være nærliggende. Har kvinden en fast partner, er der ikke nogen grund til at begynde at anvende kondom, fordi man har fået påvist HPV. Man ved dog ikke så meget om, hvor effektivt kondom er til at beskytte mod HPV. Der er ingen grund til at partneren skal undersøges for HPV. I forhold til nye/skiftende partnere gælder den generelle anbefaling om, at anvende kondom for at undgå seksuelt overførte infektioner. Da det ofte er unge kvinder, der vil blive testet er det vigtigt at informere dem om, at en positiv HPV test ikke giver anledning til særlige foranstaltninger ved graviditet eller fødsel.

Kvinder med atypiske celler bør informeres i detaljer om baggrunden for at teste for HPV og om konsekvensen af at teste HPV-negativ og HPV-positiv. Udover den mundtlige information kunne der udleveres skriftligt materiale, der med fordel kunne indeholde svar på ofte stillede spørgsmål.

Selvom anvendelse af HPV i udredning af kvinder med lettere abnorm smear er relativt vel belyst, er undersøgelser af kvinders holdning til testen et forsømt område og der findes kun få undersøgelser (fra USA) af kvinders holdning til at få foretaget en HPV test (78, 79). I en undersøgelse af kvinder med lettere celleforandringer i smear blev en videre udredning med henholdsvis HPV-test, ny smear, kolposkopi og cervikografi foretrukket af henholdsvis 7%; 58%; 14% og 21% af kvinderne med ASCUS og af 8%; 14%; 51% og 27% af kvinder med LSIL (78). Blandt de relativt få kvinder, der foretrak HPV testen, angav over 85% at valget skyldes metodens større nøjagtighed. I en anden undersøgelse mente kun 58% af raske, unge, seksuelt aktive kvinder at de havde risiko for at få HPV, og blandt disse ønskede 78% at blive testet for infektionen (79). I begge undersøgelser var kvindernes viden om HPV begrænset og dette går igen i andre studier (80). Eftersom HPV ikke har været særlig meget omtalt herhjemme er danske kvinders viden om infektionen formentlig også sparsom.

De få arbejder, der findes om rådgivning af kvinder med HPV, viser at det ikke er nok at tage sig af de medicinske tekniske aspekter af infektionen; men at man også skal være forberedt på at tage sig af de psykosociale og rådgivningsmæssige behov, der kan opstå som følge af en positiv HPV test (81, 82, 83, 84, 85, 86).

Til top ▲

3.3 Afsluttende bemærkninger

Formålet med anvendelsen af HPV testen på den beskrevne måde er at reducere antallet af undersøgelser af den enkelte kvinde og for nogle dermed også den tid der går før en endelig diagnose og behandling.

Når der indføres noget nyt er det vigtigt at sikre sig at det har den forventede effekt og at de nye principper er bedre end de tidligere. Der bør derfor efter nogle år foretages en evaluering af effekten. Den økonomiske effektivitet bør også vurderes. I de amter der indfører HPV testning bør der derfor afsættes ressourcer til en evaluering.

Det er ligeledes vigtigt allerede fra starten af implementeringen af de nye udredningsprincipper, at der udarbejdes kvalitetssikringsprogrammer som tillader en rigoristisk evaluering. Der er også behov for en medicinsk teknologivurdering for at etablere et bedre beslutningsgrundlag. Især er der behov for at analysere de økonomiske konsekvenser af at indføre en ny analyse metode som HPV test. I den forbindelse skal det nævnes, at der kan være risiko for, at der sker en ændring i de diagnostiske kriterier, således at der diagnosticeres flere atypier, fordi denne diagnose kan blive adgangen til HPV test, hvis den foreliggende vejledning følges. Sådanne mulige skred i de diagnostiske kriterier understreger behovet for en stringent registrering og for overvejelser af de økonomiske konsekvenser af de nye rutiner.

Arbejdsgruppen finder det vigtigt at der nedsættes en styregruppe, som skal søge at sikre at de relevante data registreres og evalueres.

På længere sigt når resultaterne af anvendelsen af HPV testen kan vurderes er det sandsynligt, at de kontrolsmear, der tages efter den første HPV test (se flow-skemaet), viser sig overflødige. For kvinder, der er HPV negative, vil det betyde en væsentlig forkortelse af den tid udredningen tager.

Inden for primær screening med HPV test er der flere store undersøgelser på vej, og det er muligt, at vi om få år har så meget viden på området, at man kan overveje primærscreening med HPV test for i hvert fald visse grupper af kvinder.

Flere steder i verden foregår store undersøgelser af profylaktiske HPV-vacciner og resultaterne heraf vil komme indenfor en overskuelig fremtid. Det er endnu for tidligt at vurdere, hvilken betydning HPV-vaccination vil have for screeningsprogrammerne.

På en række områder sker der en hastig udvikling i vores viden om HPV, og vi må forudse, at der vil være behov for en revision af retningslinierne efter en evaluering af de registrerede data senest 5 år efter implementeringen.

Til top 

Referencer:

1. Cuzick J, Sasieni P, Davies P, Adams J, Normand C, Frater C, van Ballegooijen M, van den Akker-van Marle E. A systematic review of the role of human papilloma virus (HPV) testing within a cervical screening programme: summary and conclusions. *Br J Cancer* 2000; 83(5): 561-5.
2. Dansk Selskab for Patologisk Anatomi og Patologi (DSPAC): anbefalede retningslinjer for danske patologi-afdelinger vedrørende kvalitetssikring af screening mod livmoderhalskræft, Januar 2000.
3. WHO (World Health Organization) International Histological Classification of tumors: Histological typing of female genital tract tumors, 1994.
4. Bibbo M. The Bethesda system for cervicovaginal cytopathology. In: *Comprehensive Cytopathology*, second edition 1997; 93-100.
5. Boon ME, Suurmeijer JH. Optimal Pap Smear. In: *The PAP Smear*, Harwood Academic Publishers, the Netherlands, 1996; 243-248.
6. Buntinx F, Brouwers M. Relation between sampling device and detection of abnormality in cervical smears: a meta-analysis of randomised and quasi-randomised studies. *British Medical Journal* 1996; 313: 1285-1290.
7. Nanda K, McCrory DC, Myers Er, Bastian LA, Hasselblad V, Hickey JD, Matchar DB. Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Annals of Internal Medicine* 2000; 16: 810-819.
8. Joseph MG, Cragg F, Wright VC, kontozoglou TE, Downing P, Marks FR. Cytohistological correlates in a colposcopic clinic: A 1-year prospective study. *Diagnostic Cytopathology* 1991; 7: 477-481.
9. US Department of Health and Human Services-Public Health Service: Improving the quality and clinical Pap smear technique and management, client Pap smear education, and the evaluation of Pap smear laboratory testing, 1989.
10. McGoogan E, Reith A. Would monolayers provide more representative samples and improved preparations for cervical screening? Overview and evaluation of systems available. *Acta Cytologica* 1996; 49: 107-119.
11. Hutchinson M, Isenstein L, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK et al. Homogeneous sampling accounts for the increased diagnostic accuracy using the ThinPrep Processor: Subsampling - a problem with Pap smears. *American Journal of Clinical Pathology* 1994; 101: 215-219.
12. Cenci M, Giovagnoli MR, Olla SV, Drusco A, Vecchione A. Automation of cytological analysis of cervical smears. *Minerva Ginecology* 1999; 51: 291-298.
13. Vassilakos P, Saurel J, Rondez R. Direct-to-vial use of the AutoCyte Prep liquid-based preparation for cervical-vaginal specimens in three European laboratories. *Acta Cytologica* 1999; 43: 65-68.
14. Minge L, Fleming M, Vangeem T, Bishop JW. AutoCyte Prep system vs. conventional cervical cytology. Comparison based on 2156 case. *Journal of Reproductive Medicine* 2000; 45: 179-184.
15. Weintraub J, Morabia A. Efficacy of a liquid-based thin layer for cervical cancer screening in a population with a low incidence of cervical cancer. *Diagnosis Cytopathology* 2000, 22: 52-9.
16. Jensen LM, Fursted PB, Svanholm H. Sammenligning af monolagsprøver og konventionelle smears. *Ugeskrift for Læger* 2001; 163: 1270-1275.
17. de Sanjose S, Bosch XF, Munoz N, Chichareon S, Ngelangel C, Balaguero L, Jacobs MV, Meijer CJ, Walboomers JM. Screening for genital human papillomavirus: results from an international validation study on human papillomavirus sampling techniques. *Diagnostic Molecular Pathology* 1999; 8: 26-31.
18. Soler ME, Blumenthal PD. New technologies in cervical cancer precursor detection (in process citation). *Current Opinion Oncology* 2000; 12: 460-465.
19. IARC. International Agency for research on cancer, WHO. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenics to Humans. Vol. 64: Human Papillomaviruses. Lyon 1995.
20. Syrjänen K, Syrjänen S. Epidemiology of human papillomavirus infections and genital neoplasia. *Scand J Infect Dis* 1990; 69 (Suppl): 1-17.
21. Ho GY, Bierman R, Bearsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998; 3:423-8.
22. Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Prado JM, Rousseau MC, Desy M, Rohan TE. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human Papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. *J Infect Dis* 1999; 80: 1415-23.
23. Kjør, SK, Chackerian B, van den Brule, AJC, Svare EI, Paull G, Walboomers JMM, Schiller JT, Bock JE, Sherman ME, Lowy DR, Meijer CLM. High-risk Human Papillomavirus is sexually transmitted: evidence from a follow-up study of virgins starting sexual activity (intercourse). *Cancer Epi, Biom, Prev.* 2001; 10: 101-6.
24. Bosch X, Munoz N, de Sanjose S, Navarro C, Moreo P, Ascunce N, Gonzalez LC, Tafur L, Gili M, Larranaga I, et al.: Human papillomavirus and cervical intraepithelial neoplasie grade III/carcinoma in situ: A case-control study in Spain and Columbia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1993; 2: 415-22.

25. Ley C, Bauer HM, Reingold A, et al. Determinants of genital human papillomavirus infection in young women. *J Natl Cancer Inst.* 1991; 83: 997-1003.
26. Kjær SK, van den Brule AJC, Bock JE et al. Human papillomavirus – the most significant risk determinant for cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 1996; 65: 601-6.
27. Svare EI, Kjær SK, Worm AM et al. Risk factors for HPV infection in women from sexually transmitted disease clinics: comparison between two areas with different cervical cancer incidence. *Int J Cancer.* 1998; 75: 1-8.
28. Kjær SK, Svare EI, Worm AM, et al. Human papillomavirus infection in Danish female sex workers. Decreasing prevalence with age despite continuously high sexual activity. *Sexually Transmitted Diseases* 2000; 27: 438-45.
29. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Munoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999;189:12-9.
30. Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman MC, Hutchinson M, Morales J, Balmaceda I, Greenberg MD, Alfaro M, Burk RD, Wacholder S, Plummer S, Sciffman M. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92: 464-74.
31. Burk RD, Ho GY, Beardsley L, Lempa M, Peters M, Bierman R. Sexual behaviour and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. *J Infect Dis.* 1996; 174: 679-89.
32. Kjær SK, van den Brule AJC, Svare EI, et al. Determinants for Genital Human Papillomavirus (HPV) Infection in 1000 randomly chosen young Danish women with normal Pap smear: are there different risk profiles for oncogenic and nononcogenic HPV types? *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.* 1997; 6: 7099-805.
33. Rousseau MC, Franco EL, Villa LL, et al. A cumulative case-control study of risk factor profiles for oncogenic and nononcogenic cervical human papillomavirus infections. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 469-76.
34. Liaw KL, Glass AG, Manos MM et al. Detection of human papillomavirus DNA in cytologically normal women and subsequent cervical squamous intraepithelial lesions. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 954-60.
35. Kjær SK, van den Brule AJC, Paull G, Svare EI, Sherman ME, Thomsen BL, Suntum M, Bock JE, Poll PA, Meijer CJLM. Type-specific persistence of high-risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high-grade cervical squamous intraepithelial lesions in younger women. *BMJ* 2002; 325: 572-578.
36. Wallin KL, Wiklund F, Angstrom T, Bergman F, Stendahl U, Wadell G, Hallmans G, Dillner J. Type-specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. *N Engl J Med* 1999; 341: 1633-8.
37. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJLM, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J clin Pathol* 2002; 55: 244-65.
38. Cuzick J, Sasieni P, Davies P et al. A systematic review of the role of human papillomavirus testing within a cervical screening programme. *Health Technol Assess* 1999; 3(14).
39. Jacobs MV, Snijders PJ, van den Brule AJC, Helmerhorst TJ, Meijer CJLM, Walboomers JMM. A general primer GP5+/GP6(+)-mediated PCR-enzyme immunoassay method for rapid detection of 14 high-risk and 6 low-risk human papillomavirus genotypes in cervical scrapings. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 791-95.
40. Qu W, Jiang G, Cruz Y, Chang CJ, Ho GY, Klein RS, Burk RD. PCR detection of human papillomavirus: comparison between MY09/MY11 and GP5+/GP6+ primer systems. *J Clin Microbiol* 1997; 6: 1304-10.
41. Jacobs MV, Walboomers JMM, van Beek J, Voorhost FJ, Verheijen RHM, Meijer CJLM, van den Brule AJC, Helmerhorst TJM Snijders PJF. A quantitative polymerase chain reaction-enzyme immunoassay for accurate measurements of human papillomavirus type 16 DNA levels in cervical scrapings. *Br Jour Cancer* 1999a; 81: 114-121.
42. Ylitalo N, Sorensen P, Josefsson AM, Magnusson PK, Andersen PK, Ponten J, Adami HO, Gyllenstein UB, Melbye M. Consistent high viral load of human papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study. *Lancet* 2000; 355: 2194-2198.
43. Kleter B, van Doorn LJ, Schrauwen L, Molijn A, Sastrowijoto S, ter Schegget J, Lindeman J, ter Harmsel B, Burger M, Quint W. Development and clinical evaluation of a highly sensitive PCR-reverse hybridization line probe assay for detection and identification of anogenital human papillomavirus. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2508-17.
44. Nindl I, Jacobs M, Walboomers JMM, Meijer CJ, Pfister H, Wieland U, Meyer T, Stockfleth E, Klaes R, von Knebel Doeberitz M, Schneider A, Duerst M. Interlaboratory agreement of different human papillomavirus DNA detection and typing assays in cervical scrapes. *Int J Cancer,* 1999; 81:666-8.

45. Jacobs MV, Snijders PJ, Voorhorst FJ, Dillner J, Forslund O, Johansson B, von Knebel Doeberitz M, Meijer CJ, Meyer T, Nindl I, Pfister H, Stockfleth E, Strand A, Wadell G, Walboomers JM. Reliable high risk HPV DNA testing by polymerase chain reaction: an intermethod and intramethod comparison. *J Clin Pathol* 1999b; 52: 498-503.
46. Terry G, Ho L, Londesborough P, Cuzick J, Mielzynska-Lohnas I, Lorincz A. Detection of high-risk HPV types by the hybrid capture 2 test. *J Med Virol* 2001 Sep; 65(1): 155-62.
47. Cope JU, Hildesheim A, Schiffman MH, Manos MM, Lorincz AT, Burk RD, Glass AG, Greer C, Buckland J, Helgesen K, Scott DR, Sherman ME, Kurman RJ, Liaw KL. Comparison of the hybrid capture tube test and PCR for detection of human papillomavirus DNA in cervical specimens. *J Clin Microbiol* 1997;35(9):2262-5.
48. Peyton CL, Schiffman M, Lörinz AT, Hunt WC, Mielzynska I, Bratti C, Eaton S, Hildesheim A, Morera LA, Rodriguez AC, Herrero R, Sherman ME, Wheeler CM. Comparison of PCR- and Hybrid Capture-based papillomavirus detection systems using multiple cervical specimen collection strategies. *J Clin Microbiol* 1998; 11: 3248-54.
49. Follen M and Richards-Kortum R. Emerging technologies and cervical cancer. *Jour Natl Cancer Inst* 2000; 92: 363-68.
50. Sherman ME, Schiffman MH, Lorincz AT, Manos MM, Scott DR, Kuman RJ, Kiviat NB, Stoler M, Glass AG, Rush BB. Toward objective quality assurance in cervical cytopathology. Correlation of cytopathologic diagnoses with detection of high-risk human papillomavirus types. *Am J Clin Pathol*. 1994; 102: 182-7.
51. Kaufman RH. Atypical squamous cells of undetermined significance and low-grade squamous intraepithelial lesion: diagnostic criteria and management. *Am J Obstet Gynecol* 1996 Oct;175:1120-8.
52. Kinney WK, Manos MM, Hurley LB, Ransley JE. Where's the high-grade cervical neoplasia? The importance of minimally abnormal Papanicolaou diagnoses. *Obstet Gynecol* 1998 Jun;91(6):973-6.
53. Ferris DG, Wright TC Jr, Litaker MS, Richart RM, Lorincz AT, Sun XW, Borgatta L, Buck H, Kramer L, Rubin R. Triage of women with ASCUS and LSIL on Pap smear reports: management by repeat Pap smear, HPV testing or colposcopy? *Journal of Family Practice* 1998; 46: 125-34.
54. Hopman EH, Voorhorst FJ, Kenemans P, Meyer CJ, Helmerhorst TJ. Observer agreement on interpreting colposcopic images of CIN. *Gynecology and Oncology* 1995; 58: 206-9.
55. Sellors JW, Nieminen P, Vesterinen E, Paavonen J. Observer variability in the scoring of colopophotographs. *Obstet Gynecol* 1990; 76; 1006-8.
56. Mitchell M, Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, Cantor SB, Richards-Kortum R. Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: a metaanalysis. *Obstet Gynecol* 1998; 91: 626-31.
57. Wright TC, Sun XW, Koulos J. Comparison of management algorithms for the evaluation of women with low-grade cytologic abnormalities. *Obstet Gynecol* 1995; 85: 2010-10.
58. Cox JT, Lorincz AT, Schiffman MH, Sherman ME, Cullen A, Kurman RJ. Human papillomavirus testing by hybrid capture appears to be useful in triaging women with a cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 946-54.
59. Kaufman RH, Adam E, Icenogle J, Reeves WC. Human papillomavirus testing as a triage for atypical squamous cells of undetermined significance and low-grade squamous intraepithelial lesions: Sensitivity, specificity, and cost-effectiveness. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177; 930-36.
60. Manos M, Kinney WK, Hurley LB, Sherman ME, Shieh-Ngai J, Kurman RJ, Ransley JE, Fetterman BJ, Hartinger JS, McIntosh KM, Pawlick GF, Hiatt RA. Identifying women with cervical neoplasia. Using human papillomavirus DNA testing for equivocal Pap results. *JAMA* 1999; 281: 1605-10.
61. Schiffman MH et al. Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 958-64.
62. Hatch KD, Schneider A, Abdel-Nour MW. An evaluation of human papillomavirus testing for intermediate- and high-risk types as triage before colposcopy. *Am J Obstet Gynecol*. 1995; 172: 1150-5; discussion 1155-7.
63. Kaufman RH, Adam E, Vonka V. Human papillomavirus infection and cervical carcinoma. *Clin Obstet Gynecol*. 2000; 43: 363-80.
64. Wright TC Jr, Lorincz A, Ferris DG, Richart RM, Ferenczy A, Mielzynska I, Borgatta L. Reflex papillomavirus deoxyribonucleic acid testing in women with abnormal Pap smear. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 962-66.
65. Clavel C et al. Hybrid Capture II, a new sensitive test for human papillomavirus detection. Comparison with Hybrid Capture I and PCR results in cervical lesions. *J Clin Pathol* 1998; 51: 737-40.
66. Bergeron C et al. Human papillomavirus testing in women with mild cytologic atypia. *Obstet Gynecol* 2000; 95: 821-27.
67. Morin C, Bairati I, Bouchard C, Fortier M, Roy M, Moore L, Meisels A. Managing atypical squamous cells of undetermined significance in Papanicolaou smears. *J Reprod Med* 2001; 46: 799-805.

68. Rebello G, Hallam N, Smart G, Farquharson D, McCafferty J. Human Papillomavirus testing and the management of women with mildly abnormal cervical smears: an observational study. *BMJ* 2001; 322: 893-4.
69. Schiffman M, Adriansa ME. ASCUS-LSIL Triage Study. Design, methods and characteristics of trial participants. *Acta Cytol* 2000; 44: 726-42.
70. ALTS Study group. Human papillomavirus testing for triage of women with cytologic evidence of low-grade squamous intraepithelial lesions: baseline data from a randomized trial. The Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Triage Study (ALTS) Group *J Natl Cancer Inst* 2001; 92(5): 397-402.
71. Zielinski GD, Snijders PJF, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Runsink AP, de Schipper FA, Meijer CJLM. High-risk HPV testing in women with borderline and mild dyskaryosis: longterm follow-up data and clinical relevance. *Journ Pathol.* 2001, 195: 300-6.
72. Solomon D, Schiffman M, Tarone R; ALTS Study group. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2001 Feb 21; 93(4): 293-9.
73. Sherman ME, Schiffman M, Cox JT. Atypical Squamous Cells of undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study Group Effects of age and human papilloma virus load on colposcopy triage: data from the randomised Atypical Squamous Cells of undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Triage Study (ALTS). *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 102-7.
74. Shlay JC, Dunn T, Byers T, Baron AE, Douglas JM Jr Prediction of cervical intraepithelial neoplasia grade 2-3 using risk assessment and human papillomavirus testing in women with atypia on papanicolaou smears. *Obstet Gynecol* 2000; 96(3):
75. Strickler H, Shah K. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: Baseline results from a randomized trial. *Journal of the National Cancer Institute.* 2001; 93: 950-951.
76. Herbst AL, Pickett KE, Follen M, Noller KL. The management of ASCUS Cervical Cytologic Abnormalities and HPV Testinh: A Cautionary Note. *Obstetrics & Gynecology.* 2001; 98(5): 849-851.
77. Scott DR, Hagmar B, Maddox P, Hjerpe A, Dillner J, Cuzick J, Sherman ME; Stoler MH, Kurman, RJ, Kiviat NB, Manos, MM, Schiffman M. Use of human papillomavirus DNA testing to compare equivocal cervical cytologic interpretations in the United States, Scandinavia, and the United Kingdom. *Cancer* 2002; 96: 14-20.
78. Ferris DG, Kriegel D, Cote L, Litaker M, Woodward L. Women's triage and management preference for cervical cytologic reports demonstrating atypical squamous celles of undetermined significance and low-grade squamous intraepithelial lesions. *Archives of Family Medicine* 1997; 6(4): 348-53.
79. Ramirez JE, Ramos DM, Clayton L, Kanowitz S, Moscicki AB. Genital human papillomavirus infections: knowledge, perception of risk, and actual risk in a nonclinic population of young women. *J Womens Health* 1997 Feb;6:113-21.
80. Yacobi E, Tennant C, Ferrante J, Pal N, Roetzheim R. University student's knowledge and awareness of HPV. *Prev Med* 1999; 28: 535-41.
81. Linnehan MJ, Groce NE. Counseling and educational interventions for women with genital human papillomavirus infection. *Aids Patient Care STDS* 2000 Aug; 14 (8): 439-45.
82. Linnehan MJ, Groce NE. Psychosocial and educational services for female college students with genital human papillomavirus infection. *Fam Plann Perspect.* 1999; May-Jun; 31: 137-41.
83. Spigener SD, Mayeaux EJ Jr. Patient education and issues of HPV infection. *Hosp Pract (Off Ed).* 1998 Jan 15; 33(1): 133-5.
84. Taylor CA, Keller MA, Egan JJ. Advice from affected persons about living with human papillomavirus infection. *Image J Nurs Sch.* 1997 Spring; 29(1): 27-32
85. Clarke P, Ebel C, Catotti DN, Stewart S. The psychosocial impact of human papillomavirus infection: implications for health care providers. *Int J STD AIDS* 1996; (7): 197-200.
86. Fernández-Esquer ME, Ross MW, Torres I. The importance of psychosocial factors in the prevention of HPV infection and cervical cancer. *Int J STD AIDS* 2000; (11): 701-13.

Til top 