



Guideline HPV og Atypi

Forfattere

Anders Fomsgaard
Britt Wiebe
Edith Svare
Suzan Lenz

Korrespondance

Suzan Lenz suzanlenz@dadlnet.dk

Status

Første udkast:	Juli 2007
Diskuteret på Hindsgavl mødet:	2007
Korrigeret udkast:	November 2007
Endelig guideline:	
Guidelines skal revideres senest:	2009

Indholdsfortegnelse

Indledning	side 2
Fejl! Henvisningskilde ikke fundet.	side Fejl! Bogmærke er ikke defineret.
Litteratursøgningsmetode	side 2
Human Papillomavirus (HPV).	side 3
Atypiske celler	side 5
	side 7
	side 8
	side 9
Referencer	side 10
Appendiks	side 13

Indledning

Baggrund

Det er efterhånden veldokumenteret at cervixcancer skyldes human papilloma virus (HPV). Det er derfor væsentligt at belyse sammenhængen mellem den letteste celleforandring, atypi, og HPV infektion.

Definitioner

HPV: human papilloma virus

Atypi: en patologisk diagnose

Afgrænsning af emnet

Guidelinen belyser forholdet mellem cervical HPV infektion og atypi. Under arbejdet med evidens vurderingerne er det blevet klart, at der med hensyn til testning med smear og virusanalyse er vidtgående interessekonflikter såvel sundhedspolitisk som indenfor specialerne og der er derfor ikke angivet en endelig rekommandation. I stedet er guidelinen koncentreret om evidens ud fra hvilken DSOG kan vælge at fastsætte sine retningslinjer.

Rekommandationer

1. Hvis der påvises atypi i cervikal smear skal der testes for HPV (rekommandationsstyrke a)
2. Der er forskellige testmetoder. Som mindste krav skal testen kunne oplyse, om der foreligger en risiko-HPV infektion. Der kan være tilfælde, hvor det er optimalt at kende typen og at vide, om der foreligger infektion med flere typer, for at kunne diagnosticere persisterende infektion (rekommandationsstyrke a).
3. Ved positiv risiko HPV skal patienten følges hver 6. måned. Efter 2 negative HPV tests med 6 måneders interval kan patienten overgå til almindeligt screenings program (rekommandationsstyrke d)
4. Hvis der ikke foreligger risiko-HPV infektion, er der ikke indikation for kontroller udover screenings programmet (rekommandationsstyrke a).
5. Ved dysplasi er der ikke indikation for HPV test, men for kolposkopi med biopsier (rekommandationsstyrke a).

Litteratursøgningsmetode

Der er søgt i Medline på *atypi, HPV, papilloma virus, smear, cervical cancer, dysplasia, ASCUS, dysplasia, CIS, koilocytosis*. Dertil er tilgængelige rapporter draget ind i vurderingerne. Der er fundet mange, solide referencer af høj evidens kvalitet samt metaanalyser over disse. Evidensberegningerne har således høj styrke.

Human Papillomavirus (HPV).

Problemstilling

Forekomst og morbiditet.

Genital infektion med Human Papillomavirus (HPV), som overføres ved seksuel kontakt (Kjaer 2001)(evidens IIa), er en nødvendig forudsætning for udvikling af cervix cancer (Walboomers 1999)(evidens III); Munoz 2003 (evidens IIa). Der er beskrevet over 100 forskellige HPV typer, der inficerer hud og slimhinder og hver type har en særlig affinitet for forskellige lokalisationer på kroppen. Omkring 40 forskellige HPV typer inficerer anogenitalregionen, hvoraf de fleste er onkogene (Munoz 2003)(evidens IIa).

HPV er formentlig den hyppigste seksuelt overførte virus infektion og livstidsrisikoen anslås til at være 50-80% (Syrjänen 1990(evidens IIa)). Prævalensen af HPV varierer i forskellige befolkningsgrupper og er meget afhængig af alder (Peto 2004(Manchester cohorten))(evidens IIa); Sherman 2003(Portland cohorten)(evidens IIa); Dunne 2007(evidens IIa). Peto fandt en samlet prævalens på 9,6% for kvinder mellem 15 og 69 år med den højeste prævalens for aldersgruppen 15-19 år (24%) og jævnt faldende med alderen til 1,8% for gruppen af de 55-69 årige. Dunne fandt en samlet prævalens på 26,8% blandt kvinder mellem 14 og 59 år (Atlanta materialet). Den højeste prævalens fandtes hos kvinder mellem 20 og 24 år (44,8%) faldende til 26% hos kvinder mellem 25 og 49 år og til 19,6% hos 50-59 årige kvinder (evidens IIa).

HPV typerne opdeles i onkogene eller højrisiko typer, som er de typer, der findes i cervix cancer og non-onkogene eller lavrisiko typer, som ikke forårsager sværere cervikale forandringer, men kan give anledning til lette dysplasier. De onkogene typer er angivet efter faldende hyppighed i cervix cancerne: 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58, 35, 59, 56, 39, 51, 73, 68, 66 (Munoz 2004(evidens IIa);Walboomers 1999(evidens III)). De onkogene typer er også de mest hyppige HPV typer hos kvinder med normal smear (Kjær 1996(evidens IIa);Woodman 2001(evidens III);Munoz 2004 (evidens IIa, øget vægt for stort materiale). De mest almindelige onkogene typer globalt set er type 16, 18, 31, 33, 35, 45, 58 og 66 (Burchell 2006(evidens IV)).

HPV uanset type er påvist i 99,7% af cervix cancer væv fra hele Verden (Walboomers 1999, evidens III) øget styrke for stort materiale). Typerne 16, 18, 45, 31 og 33 påvises i omkring 80 % af de planocellulære karcinomer og i 94 % af adenokarcinomerne, medens type 16 og 18 tilsammen er ansvarlig for omkring 70% af samtlige tilfælde (Munoz 2004)(evidens IIa)(Khan 2005, evidens IIa med øget styrke for stort materiale).

De fleste cervikale HPV infektioner er forbigående og clears spontant i løbet af 8-18 måneder (Franco 1999(evidens IIa)). Hos nogle kvinder bliver infektionen persisterende. Ved en kronisk persisterende infektion kan det episomale virale DNA integrere sig i værtscellens DNA og blive en del af genomet. High risk HPV typernes onkogene potentiale skyldes onkoproteinerne E6 og E7, som binder sig til og modulerer flere forskellige genprodukter, især tumorsupressor proteinerne P53 og retinoblastom proteinet. Dette medfører, at en celle, som er kronisk inficeret med high risk HPV, undergår kontinuerlig celledeling og ikke længere er i stand til at reagere på celledskade med stop af celledeling eller apoptose. E6 og E7 proteinerne fra low risk HPV typerne har ikke denne evne og er derfor ikke onkogene (Harald zur Hausen, Nature reviews cancer 2002; 2: 342-350, Evidens IV). Det er kvinder med persisterende HPV infektion, der har risiko for at udvikle dysplasi og dermed også cervix cancer (Kjær 2002 (evidens IIa); Duensing 2004(evidens IV)). Man ved ikke hvorfor nogle HPV positive kvinder udvikler dysplasi; men rygning kan være medvirkende årsag (Tolstrup 2006(evidens IIa)). Rygning kan muligvis svække udviklingen af antistoffer (Wiley 2006(evidens IIb)). Blandt andre medvirkende årsager er p-pillebrug og multiparitet forslået (Castellsague 2003(evidens IV)). Desuden har kvinder med nedsat cellulært immunforsvar, som f. eks HIV-smittede, øget risiko for at udvikle persisterende infektion og dermed cervikal dysplasi (Clifford 2006((evidens Ia)).

HPV infektion har vist sig at øge risikoen for CIN3 med en faktor 26 i forhold til HPV negative og med en faktor 414 hvis der er påvist HPV 2 gange med et par års mellemrum i forhold til 2

Guideline HPV og Atypi

negative tests (Kjaer 2002(evidens IIa)). Schlecht (2001) har fundet at påvisning af HPV 16 eller 18 ved flere konsultationer med måneders mellemrum medførte en RR på 12 for at udvikle CIN3 i forhold til kvinder, som blev testet negative ved to kontroller (evidens IIb). Påvisning af HPV har således prognostisk betydning for senere udvikling af svære celleforandringer. The POBASCAM Study Group (evidens Ia) har vist, at clearance raten af HPV ved normal cytologi var 43 % efter 6 måneder og 65 % efter 18 måneder. Ved ASCUS var den 29 % efter 6 måneder og 41 % efter 18 måneder. Clearance raten var lavest for HPV typerne 16, 18, 31 og 33 og efter 18 mdr signifikant lavest for HPV 16 (Bulksman 2007, evidens Ib).

Forekomsten af HPV på cervix er også afhængig af om kvinden har normal smear, cervikal dysplasi, eller cervix cancer. Hos danske kvinder i 20'erne med atypiske celler var HPV-prævalensen 58%, hos kvinder med let dysplasi 92% og hos kvinder med \geq moderat dysplasi 97% (Kjaer 1996(evidens IIa)). Kvinder med normal smear, som er positive for onkogen HPV har over tid en øget risiko for udvikling af svære celleforandringer eller cancer (Kjaer 2006)(evidens IIa).

Resumé af evidens

Genital HPV er en seksuelt overført infektion og cervix cancer skyldes denne virus i mindst 99% af tilfældene (evidens IIa)

HPV er samtidig den hyppigst overførte seksuelle virus infektion med en anslået livstidsrisiko på 50-80% (evidens IIa)

De fleste genitale HPV infektioner er onkogene (evidens IIa)

De hyppigste onkogene HPV typer er 16, 18, 31, 33 og 45. HPV type 16 har et særligt onkogen potentiale (evidens IIa)

Prævalensen falder med alderen fra et peak i den vestlige verden omkring 20-24 års alderen (evidens IIa)

De fleste HPV infektioner overstås på 8-18 måneder (evidens IIa), men persisterende infektion giver stærkt øget risiko for udvikling af svære celleforandringer og cancer (evidens Ia)

Med øget sværhedsgrad af celleforandringer øges prævalensen af HPV (evidens IIa)

Kliniske rekommandationer

Afsnittet giver sammenhængen mellem seksuelt overførte HPV infektioners forløb på cervix og den mulige udvikling af celleforandringer med cervix cancer som det værst tænkelige.

Atypiske celler

Problemstilling**Klassifikation af celleforandringer**

Udtrykket "atypiske celler" er ikke entydigt anvendt, idet andre klassifikationer bruger andre termer og de enkelte lande ikke har samstemmende fortolkning af cytologi. De fleste data vedrørende atypiske celler er baseret på Bethesda terminologien, der anvender Atypical Squamous Cells of Uncertain Significance (ASCUS) (Nayar 2004 (evidens IV)). Davey (2005) beskriver, at atypi ikke kan udelukke sværere grad af celleforandring (evidens IV).

Ved klassifikation af histologisk materiale anvendes WHO klassifikationen. Ved klassifikation af cytologisk materiale anvendes i Danmark enten WHO klassifikation suppleret med modificerede egnethedskriterier fra Bethesda klassifikationen eller et dansk klassifikationssystem med opdeling i atypi eller malignitetssuspekterede celler. I nærmeste fremtid forventes at alle patologifagter i Danmark vil benytte Bethesda klassifikationen, idet den afspejler den kliniske opfølgning af abnorme fund og indeholder definitioner for atypi og uegnede prøver (evidens IV).

Histologiklassifikation

WHO 2006	normal	let dysplasi / koilocytopse	moderat dysplasi	svær dysplasi	Carcinom a in situ	Invasivt karcinom
----------	--------	-----------------------------	------------------	---------------	--------------------	-------------------

Cytologiklassifikation

modificeret WHO (Danmark)	normal	atypi	let dysplasi	moderat dysplasi	svær dysplasi	Carcinoma in situ	Invasivt karcinom
Andet dansk system	normal	Atypi		Malignitetssuspekterede			
WHO 2006 Bethesda (Internationalt)	normal	ASC-US ASC-H AGC	LSIL	HSIL			Invasivt karcinom

LSIL: low-grade squamous intraepithelial lesion

HSIL: high-grade squamous intraepithelial lesion

ASC-US: atypical squamous cells of undetermined significance

ASC-H: atypical squamous cells, kan ikke udelukke high-grade squamous intraepithelial lesion

AGC: Atypical glandular cells, atypisk cylinderepitel

HPV-test af kvinder med atypiske celler.

Forekomst af atypiske celler i smear er ikke et entydigt begreb. Atypiske celler kan skyldes inflammation eller andre uspecifikke reaktive forandringer, men i 10-15 % af tilfældene findes \geq CIN 2 i opfølgende histologisk materiale fra cervix uteri (Arbyn 2006, evidens Ia). I Arbyn's metaanalyse (evidens Ia) af kvinder med atypiske celler viste den videre udredning at:

9,7% (95% CI 7,7-11,7%) havde $>$ CINII og

4,3 (95% CI 2,7-5,9%) havde $>$ CINIII.

Sensitivitet af HC2 som test til at stille diagnosen var:

92,5% (95% CI: 90,1-94,9%) for $>$ CINII og

95,6% (95% CI: 92,8-98,4%) for $>$ CINIII.

Guideline HPV og Atypi

Den poolerede specificitet af HC2 var:
62,5% (95% CI: 57,8-67,3%) for >CINII og
59,3% (95% CI: 51,2-67,4%) for CIN III.

I de studier, hvor der ud over en HC2 også var taget en kontrol smear fandtes en 14% højere sensitivitet for HC2 i forhold til gentaget smear med en tilsvarende specificitet. Dette er også tidligere vist af Bergeron et al (evidens IIa), at kombineret cytologi og HC2 test for HPV øger sensitiviteten på bekostning af specificiteten. Det kunne konkluderes, at kvinder med ASCUS og negativ HC2-test ikke behøver henvisning til kolposkopisk udredning (evidens IIa).

Da prævalensen af HPV er meget afhængig af alder, har det været diskuteret om anvendelse og konsekvens af en test for HPV hos kvinder med atypiske celler skulle være afhængig af kvindens alder. Man har således fundet den samme *sensitivitet* af HPV-test ved atypiske celler hos kvinder i alle aldersgrupper, men en større *specificitet*, hos kvinder over 30 år (Sherman 2000 (evidens IB med øget styrke for stort materiale), Shlay 2000 (evidens III) og Kjaer 2002 (evidens IV). Med andre ord vil implementering af HPV-testen hos kvinder over f.eks. 30 år med atypiske celler reducere antallet af nødvendige henvisninger til kolposkopi betragteligt, mens der hos de yngre kvinder er tale om en mindre reduktion. I Shermans studie af kvinder med atypiske celler i smear henvises således 65% af 23-28årige kvinder til kolposkopi sammenlignet med kun 31% af de ≥ 29 -årige.

PCR metoden identificerer den enkelte HPV type (se appendix), så der ved gentagen test kan afgøres, om der er tale om en persisterende infektion med dermed følgende risiko for udvikling af dysplasi eller om der er tale om en ny infektion. Ved kronisk persisterende HPV 16 infektion fandtes efter 18 mdr \geq CIN 3 hos 25 % og 38% med henholdsvis normal cytologi og ASCUS ved første undersøgelse. For onkogene HPV typer, ud over HPV typerne 16, 18, 31 og 33, er risikoen for udvikling af \geq CIN 3 lav. (Bulkmans 2007, evidens Ib).

Ved anvendelse af mRNA test påvises aktiv produktion af HPV onkogene E6 og E7 og dermed fås formentlig en mere præcis identifikation af dysplasi risikoen.

E6/E7 onkogene er nødvendige for malign transformation af HPV infektion. Påvisning af mRNA E6/E7 fra HPV typerne 16, 18, 31, 33 og 45 (se Appendix) giver en øget mulighed for at finde virus, der udtrykker onkogene og dermed en forbedret risikovurdering af hvem der, uanset alder, har risiko for udvikling af \geq CIN 2 læsion i cervix uteri. Hos kvinder med ASCUS og positiv mRNA test, er det vist af 83 % havde \geq CIN2 medens 62 % med positiv HPV DNA test havde \geq CIN 2. (Cuschieri 2004, evidens III)(Lie 2005 evidens III). Dysplasi risikoen var i disse studier uafhængig af alder.

Molden (2005)(Evidens III) har fundet, at kvinder med ASCUS eller LSIL og positive mRNA test har en 69,8 gange større risiko for at udvikle CIN2+ inden for 2 år end de kvinder, der havde negative mRNA test. Til sammenligning var risikoen for CIN2+ inden for 2 år 5,2 gange forøget, hvis PCR-metode var anvendt til påvisning af HPV DNA. Specificiteten var 84,9 % for mRNA testen og for PCR testen 50,0 %.

Resumé af evidens

Atypi er en patologisk usikker diagnose, men suppleret med HPV test bliver sikkerheden med hensyn til påvisning af reelle celleforandringer betydelig bedre (evidens Ia)

Valg af metode afhænger af kvindens alder (HCII metoden er mest anvendelig hos kvinder over 30-35 år (evidens Ib). Metoder med typebestemmelse kan anvendes hos kvinder også under 30 år) (evidens Ib)

RNA metoder for onkogen expression synes anvendelige uanset alder (evidens III)

Kliniske rekommandationer

1. Ved påvisning af atypi er der indikation for HPV test med typebestemmelse (rekommandationsstyrke a)

Referencer

Arbyn M, Sasieni P, Meijer CJLM, Clavel C, Koliopoulos G, Dillner J: Clinical applications of HPV testing: A summary of meta-analyses. *Vaccine* 24S3 2006;S3/78-S3/89.

Bulkmans NWJ, Berkhof J, Bulk S, Bleeker MCG, van Kemenade FJ, Rozendaal L, Snijders PJF, Meijer CJLM on behalf of the POBASCAM Study Group. High-risk HPV type-specific clearance rates in cervical screening. *Br J Cancer* 2007;96:1419-1424.

Burchell AN, Franco EL. Epidemiology of Oncogenic and Nononcogenic HPV Types, and the Evidence for Differences in Their Sexual Transmission. In Monsonego J (ed): *Emerging Issues on HPV Infections: From Science to Practice*. Basel, Karger, 2006, pp 20-33.

Castellsague X, Munoz N. Chapter 3: cofactors in human papillomavirus carcinogenesis – role of parity, oral contraceptives and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003;20-28.

Clifford GM, Goncalves MA, Franceschi S. Human papillomavirus types among women infected with HIV: a meta-analysis. *AIDS* 2006;20:2381-3.

Cuschieri KS, Whitley MJ, Cubie HA. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence – implications for cervical disease progression and monitoring. *J Med Virol* 2004;73: 65-70

Davey DD. Cytopathology update on atypical squamous cells. *J Low Genit Tract Dis* 2005;9:124-9.

Duensing S, Munger K. Mechanisms of genomic instability in human cancer: insights from studies with human papillomavirus oncoproteins. *Int J cancer* 2004;109:157-162.

Dunne EF, Unger ER, Sternberg M et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA* 2007;297:813-9.

Guyot A, Karim S, Kyi MS, Fox J. Evaluation of adjunctive HPV testing by Hybrid Capture II in women with minor cytological abnormalities for the diagnosis of CIN2/3 and cost comparison with colposcopy. *BMC Infect Dis*. 2003 Sep 25;3:23

Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, Wacholder S, Sherman M, Scott DR, Rush BB, Glass AG, Schiffman M. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J Natl Cancer Inst*. 2005 Jul 20;97(14):1072-9.

Kjaer SK, van den Brule AJC, Bock JE et al. Human papillomavirus – the most significant risk determinant for cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 1996;65:601-606.

Kjaer SK, Chackerian B, van den Brule AJ, Svare EI, Paull G, Walbomers JM, Schiller JT, Bock JE, Sherman ME, Lowy DR, Meijer CL. High-risk human papillomavirus is sexually transmitted: evidence from a follow-up study of virgins starting sexual activity (intercourse). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001 Feb;10(2):101-6.

Kjaer SK, Svare EI, Munk C, Lidang Jensen M, Hølund B, Norrild B, Nielsen Lp, Westh H, Søgaard Andersen E, Lundh J, Olesen F, Holten I. Human Papillomavirus (HPV). Vejledende retningslinjer for anvendelse af HPV testning i Danmark. 2002 b. www.dadlnet.dk/klaringsrapport/2002-08/2002-08.htm.

Kjaer SK, van den Brule AJC, Paull G, Svare E, 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 squamous intraepithelial lesions in younger women. *BMJ* 2002;325:572-578.

Lie AK, Risberg B, Borge B, Sandstad B, Delabie J, Rimala R, Onsrud M, Thoresen S. DNA- versus RNA- based methods for human papillomavirus detection in cervical neoplasia. *Gyn Oncol* 2005;97:908-915.

Manos MM, Kinney WK, Hurley et al. Identifying women with cervical neoplasia: using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results. *JAMA* 1999 May 5;281(17):1605-10

Molden T, Nygård JF, Kraus I, Karlsen F et al. Predicting CIN2+ when detecting HPV mRNA and DNA by PreTect HPV-Proofer and consensus PCR: a 2-year follow-up with ASCUS or LSIL Pap smear. *Int J. Cancer* 2005;114:973-976.

Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV et al. Epidemiologic classification og human papillomavirus tyupes associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348:518-527.

Munoz N, Bosch FX, Castellsague X, Diaz M, de Sanjose S, Hammouda D, Shah KV, Meijer CJ. Against which human papillomavirus type shall we vaccinate and screen? The International perspective. *Int J Cancer*. 2004;111:278-285.

Nayar R, Solomon D. Second edition of "the Bethesda System for reporting cervical cytology" – atlas, website, and Bethesda interobserver reproducibility project. *Cytojournal* 2004;1:4. www.cytopathology.org/NIH/.

Peto J, Gilham C, Deacon J et al. Cervical HPV infection and neoplasia in a large population-based prospective study: the Manchester cohort. *Br J Cancer* 2004;91:942-53.

Rebello G, Hallam N Smart G et el. Human papillomavirus testing and the management of women with mildly abnormal cervical smears: an observational study. *BMJ*. 2001 Apr 14;322(7291):893-4.

Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J et al. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA* 2001;286:2306-14.

Sherman ME, Lorincz AT, Scott DR et al. Baseline cytology, human papillomavirus testing, and risk for cervical neoplasia: a 10-year cohort analysis. *JNCI* 2003;95:46-52.

Sherman ME, Schiffman M, Cox JT 2002, Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study Group Effects of age and human papilloma viral load on colposcopy triage: data from the randomized Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study (ALTS). *J Natl Cancer Inst*. 2002 Jan 16;94(2):102-7.

Shlay JC, Dunn T, Byers T et al. 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 Sep;96(3):410-6.

Solomon D, Schiffman M, Tarone B, for the Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Intraepithelial Lesion Triage Study (ALTS) Group. Comparison of 3 management strategies for patients with atypical squamous cells of

undetermined significance (ASCUS): baseline results from a randomized trial. *J Natl Inst* 2001;93:293-299.

Syrjänen K, Hakama M, Saarikoski S, Vayrynen M, Yliskoski M, Syrjanen S, Kataja V, Castren O. Prevalence, incidence, and estimated life-time risk of cervical human papillomavirus infections in a nonselected Finnish female population. *Sex Transm Dis*. 1990;17:15-9.

Tolstrup J, Munk C, Thomsen BL, Scare E, van den Brule AJ, Gronbaek, eiher C, Kjaer KS.

The role of smoking and alcohol intake in the development of high-grade squamous intraepithelial lesions among high-risk HPV positive women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006;85:1114-9.

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 Sep;189(1):12-9.

Wiley DJ, Wiesmeier E, Masongsong E et al. Smokers at higher risk for undetected antibody for oncogenic human papillomavirus type 16 infection. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:915-20.

Woodman CB, Collins S, Winter H et al. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* 2001;357:1831-6.

Zielinski DG, Snijders PJ, Rozendaal L et al. High-risk HPV testing in women with borderline and mild dyskaryosis: long-term follow-up data and clinical relevance. *J Pathol*. 2001 Oct;195(3):300-6.

zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nature reviews cancer* 2002;2:342-350.

Appendiks

HPV testningsmetoder

HPV kan ikke dyrkes og serologiske assays kan ikke anvendes diagnostisk i klinikken da antistofferne persisterer i mange år og ikke afspejler en kronisk HPV infektion (Villa et al.2006). Evidens IIb, Rekommandationsstyrke b. Derfor diagnosticeres HPV ved detektion af HPV nukleinsyrer (Molijn 2005).

HPV-DNA påvisning ved probning

Hybrid Capture 2 (HC2) er en signalamplifikationsmetode (signalforstærkning uden opformering af virus DNA) baseret på et mix af prober, der binder sig til denatureret HPV-DNA i prøven. Der anvendes en mix af 5 lavrisikotyper eller en mix af 13 højrisikotyper (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) selekteret af firmaet (Digene). HC2 er FDA godkendt i USA og er blevet anvendt i screeningsstudier til kvinder over 30 år (Castle 2002 (Evidens IIa, rekommandationsstyrke b, øget styrke for stort materiale), Clavel 2001)(Evidens IIb, rekommandationsstyrke b, øget styrke for stort materiale). Ulemperne er at testen ikke indeholder alle risikotyper, ikke tillader identifikation af hvilken eller hvilke HPV genotyper der er i prøven, den relativt lave følsomhed i forhold til PCR, ingen mulighed for kvantitering, og en vis krydsreaktion af HPV til begge probe-mix (Castle 2002, Poljak 2002 (Evidens IIa, rekommandationsstyrke b)), hvilket reducerer den kliniske relevans af et positivt resultat.

Konklusion: HC2 kan detektere HPV, men ikke skelne forbigående infektioner med skiftende typer fra en persisterende infektion. Rekommandation b.

HPV-DNA påvisning ved PCR

PCR er den mest udbredte amplifikationsmetode (DNA-multiplikation) af target (HPV). Oftest anvendes konsensus (fælles for alle HPV) PCR primere, der amplificerer alle HPV genotyper. PCR produktet kan typebestemmes ved sekventering eller ved brug af prober i array hvorved alle de individuelle typer, der indgår i multiple infektioner kan bestemmes (Klaassen 2004; evidens III, rekommandationsstyrke c, Park 2004; evidens III, rekommandationsstyrke c, Sandri 2006; evidens III, rekommandationsstyrke c). Metoden er mere følsom end HC2. Fordelene er således at man får oplyst præcist hvilken eller hvilke HPV typer der er til stede. Metoden er mere følsom end HC2 (Johnson et al.2003)(Evidens III, rekommandationsstyrke c). testen kan påvise persisterende infektion med samme risikotype over tid. Afhængig af testsystem og den undersøgte patientpopulation opgives infektion med multiple typer forskelligt, men kan være op mod 50%.

Konklusion: PCR med typning kan anvendes til at påvise og monitorere en infektion (Rekommandation c).

Sensitiviteten af PCR er højere end HC2 (Rekommandation c).

Individuelle HPV typer kan påvises med microarray (Rekommandation c).

HPV-mRNA påvisning

Det er vist, at man kan undersøge for specifik HPV RNA onkogen ekspresion, for eksempel E6/E7 mRNA transcripts for HPV type 16, 18, 31, 33 og 45 med real-time PCR (Lamarco 2002(evidens IIb), Wang-Johanning 2002(evidens IIb)) eller Nasba baseret teknik (Proffer kit)(Kraus 2004(evidens IIa)(Molden 2005, Lie 2005, Cusheri 2004 (evidens III).

Konklusion: påvisning af mRNA E6/E7 synes at give en forbedret risikovurdering af hvem der, uanset alder, har risiko for udvikling af \geq CIN 2 læsion på cervix uteri.

Nyere metoder:

1. HPV-påvisning af integration

Integration af HPV DNA fra risikotyper i cervix celler er associeret med neoplastisk fænotype eller high grade dysplasi. Assays for integration af type 16 og 18 er publiceret (Luft 2001). Den kliniske værdi af disse epidemiologiske eller forskningsbaserede assays vil vise sig fremover.

2. Påvisning af overudtryk af cellulære onkogen repressorer (P16 og P14)

P16 er et cellulært protein (kinase inhibitor) som udtrykkes i celler hvor cellecyklus er forstyrret af HPV E7 onkoprotein. Påvisning af P16 i basale/parabasale celler kan derfor tyde

Guideline HPV og Atypi

på malignt transformerede celler. Dette kan bl.a. påvises ved immunhistokemi (Ekalaksananan 2006) eller mRNA PCR (Kanao 2004).

Den kliniske værdi af disse epidemiologiske eller forskningsbaserede assays vil vise sig fremover.

Prøvetagning

Hvis prøven kun indeholder et begrænset antal HPV-DNA kopier kan suboptimal prøvetagning give inkonsistente resultater især i mindre følsomme tests. Det kan påvirke positiv/negativ resultater men også bestemmelse af multiple typer, som kan optræde i forskellige koncentrationer. Således har et studie af biopsi og skrab fra samme patient vist sammenlignelige, men ikke identiske resultater (Quint 2001). Hvis der anvendes væskebaseret cytologi kan en del af materialet bruges til undersøgelse for HPV. Hvis HPV prøven tages i forbindelse med konventionel smear (udstrygning på objektglas) tages cytologi smear først og derefter tages en anden prøve med cytobrush i virustransportmedie eller saltvand. Prøven fremsendes indenfor 2 døgn.

Litteratur

Villa LL, Costa RLR, Petta CA, Andrade RP, Paavonen J, Iversen OE, Olsson SE, Høye J, Steinwall M, Riis-Johannessen G, Andersson-Ellstrom A, Elfgrén K, von Krogh G, Lehtinen M, Malm C, Tamms GM, Giacometti K, Lupinacci L, Railkar R, Taddeo FJ, Bryan J, Esser MT, Sings HL, Saah AJ and Barr E: High sustained efficacy of a prophylactic quadrivalent human papilloma virus types 6/11/16/18 L1 virus-like particle vaccine through 5 years of follow up. *Br J Cancer* 2006; 95: 1359-66. (IIb)

Mojlin A, Kleter B, Quint W, van Doorn L-J. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol* 2005; 32S: 43-51. (IV)

Castle PE, Schiffman M, Burk RD, Wacholder S, Hildesheim A, Herrero R et al. Restricted cross-reactivity of Hybrid capture 2 with nononcogenic human papillomavirus types. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11: 394-9. (Ib)

Clavel C, Masure M, Bory J-P, Putaud I, Mangeonjean M, Nazeyrollas P et al. Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high grade cervical lesion: a study of 7932 women. *Br J Cancer* 2001, 89: 1616-23. (Ib)

Johnson T, Bryder K, Corbet S and Fomsgaard A. Routine genotyping of human papilloma virus samples in Denmark. *APMIS* 2003; 111: 398-404.

Poljak M, Marin IJ, Serne K, Vince A. Hybrid capture II HPV test detects at least 15 human papillomavirus genotypes not included in its current high-risk probe cocktail. *J Clin Virol* 2002; 25: 89-97. (III)

Park TC, Kim CJ, Koh YM, Lee KH, Yoon JH, Kim JH, et al. Human papillomavirus genotyping by the DNA chip in cervical neoplasia DNA. *Cell Biol* 2004; 23: 119-25. (IIa)

Klaassen CH, Prinsen CF, de Valk HA, Horrevorts AM, Jeunink MA, Thunnissen FB. DNA microarray format for detection and subtyping of human papillomavirus. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2152-60. (IV)

Sandri MT, Lentati P, Benini E, Dell'Orto P, Zorzino L et al. Comparison of the Digene HC2 assay and the Roche AMPLICOR human papillomavirus (HPV) test for detection of high-risk HPV genotypes in cervical samples. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 2141-6. (III)

Lamarcq L, Deeds J, Ginzinger D, Perry J, Padmanabha S, Smith-McCune K. Measurements of human papillomavirus transcripts by real time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction in samples collected for cervical cancer screening. *J Mol Diag* 2002; 4(2): 97-102. (IIb)

Wang-Johanning F, Lu DW, Wang Y, Johnson MR, Johanning GL, Quantitation of human papillomavirus 16 E6 and E7 DNA and RNA in residual material from ThinPrep papanicolau tests using real-time polymerase chain reaction analysis. *Cancer* 2002; 94(8): 2199-210. (IIb)

Kraus I, Molden T, Ernø LE, Skomedal H, Karlson F, Hagmar B. Human papillomavirus oncogenic expression in the dysplastic portio; an investigation of biopsies from 190 cervical cones. *Br J Cancrer* 2004; 90: 1407-13. (IIa)

Luft F, Klaes R, Nees M, Durst M, Heilmann V, Melsheimer P et al. Detection of integrated papillomavirus sequences by ligase-mediated PCR (DIPS-PCR) and molecular characterization in cervical cancer cells. *Int J Cancer* 2001; 92: 9-17. (IIb)

Ekalaksananan T, Pientong C, Sriamporn S, Kongyingyoes B et al Usefulness of combining testing for p16 protein and human papillomavirus (HPV) in cervical carcinoma screening. *Gyn Oncol* 2006; 103: 62-66. (IIb)

Kanao H, Enomoto T, Ueda Y, Fujita M et al. Correlation between p14/p16 expression and HPV infection in uterine cervical cancer. *Cancer Letters* 2004; 213: 31-37 (III)

Bozzetti M, Nonnenmacher B, Mielzinska I, Villa L, Lorincz A, Breitenbach V et al. Comparison between Hybrid Capture II and polymerase chain reaction results among women at low-risk for cervical cancer. *Ann Epidemiol* 2000; 10: 466. (III)

Nobbenhuis MA, Walboomers JM, Helmerhorst TJ, Rozendaal L, Remmink AJ, Risse EK et al. Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. *Lancet* 1999; 354: 20-25. ((IIa)

Quint WGV, Scholte G, van Doorn LJ, Kleter B, Smits PHM, Lindeman J. Comparative analysis og human papillomavirus infection in cervical scrapes and biopsy specimens by general SPF10 PCR and HPV genotyping. *J Pathol* 2001; 194: 154-8. (III)



DSOG

Dansk Selskab for Gynækologi og Obstetrik

Kliniske guidelines ~ Gynækologi
