

Nytte av HPV-test ved celleprøve fra livmorhalsen

Sammendrag

Bakgrunn. Fra juli 2005 ble det innført retningslinjer for bruk av HPV-test ved oppfølging av kvinner med usikre og lavgradige forandringer i celleprøve fra livmorhalsen.

Materiale og metode. Studien inkluderer 951 HPV-analyser utført i Helse Bergen fra oktober 2003 til oktober 2005. Funn i HPV-test ble sammenliknet med funn i tidligere cytologisk prøve, aktuell cytologisk prøve tatt sammen med prøve til HPV-test, senere cytologisk prøve, og eventuelt utført biopsi. Høyrisikotyper av humant papillomvirus ble påvist med en kommersiell test.

Resultater og fortolkning. Det kunne knyttes en cytologisk eller histologisk forandring til 86 % av de positive HPV-testene når funn fra tidligere og senere cytologiske prøver og fra biopsi også ble tatt med i vurderingen. Sensitivitet for påvisning av en høygradig lesjon var 93 % ved HPV-test og 78 % ved cytologisk prøve. Negativ prediktiv verdi var > 0,993 for ikke å ha høygradig lesjon dersom HPV-testen var negativ og aktuell cytologisk prøve var normal. Resultatene gir støtte til retningslinjene for bruk av HPV-test sammen med cytologisk prøve ved oppfølging av kvinner med usikre eller lavgradige celleforandringer.

Oppgitte interessekonflikter:
Se til slutt i artikkelen

Olav Karsten Vintermyr
olav.vintermyr@helse-bergen.no

Robert Skar
Avdeling for patologi
Gades Institutt

Ole Erik Iversen
Avdeling for gynekologi og obstetikk
Institutt for klinisk medisin

Hans Kristian Haugland
Avdeling for patologi
Gades Institutt

Haukeland Universitetssjukehus
5021 Bergen

I Norge får hvert år om lag 300 kvinner diagnosen livmorhalskreft og om lag 100 kvinner dør av sykdommen (1). Plateepitelkarzinomer utgjør omkring 80 % av tilfellene, og de utvikler seg over tid gjennom ulike stadier av celleforandringer i slimhinnen. Disse forandringene og eventuelt utvikling av kreft er knyttet til infeksjon med humant papillomvirus (HPV) (2). Viruset overføres ved seksuell aktivitet og hudkontakt, og er utbredt også i Norge (3). Det finnes svært mange typer, og bare noen av disse, de såkalte høyrisiko-HPV, er knyttet til utvikling av kreft. Infeksjon med HPV-type 16 og 18 er mest vanlig ved utvikling av kreft (4).

Det norske masseundersøkelsesprogrammet mot livmorhalskreft startet i regi av Kreftregisteret i 1995. Programmet er basert på vurderinger av celleprøver tatt fra livmorhalsen. Denne metoden har ikke optimal sensitivitet for påvisning av alvorlige celleforandringer inklusive kreft (5). HPV-test har høyere sensitivitet enn cytologisk prøve for dette, men har samtidig lavere spesifisitet (6, 7). Som en forsøksordning har Kreftregisteret fra og med juli 2005 utarbeidet retningslinjer for masseundersøkelsen mot livmorhalskreft der HPV-test inngår som en integrert del av oppfølgingen av pasientene (8).

Kvalitetsmanualen for masseundersøkelsen anbefaler nå HPV-test brukt som en del av kontrollopplegget for kvinner som får påvist usikre (ASC-US (ramme 1)) eller lavgradige (LSIL) forandringer i en cytologisk prøve. I studien har vi ønsket å undersøke om HPV-test vil påvise flere kvinner med høygradige lesjoner og gi en tryggere tilbakeføring til screeningprogrammet av kvinner med tidligere påviste usikre (ASC-US) eller lavgradige (LSIL) celleforandringer.

Materiale og metode

Tidlig på høsten 2003 sendte Avdeling for patologi informasjon med tilbud om HPV-test til rekvirenter i Helse Bergen. På dette tidspunkt var det ikke etablert offisielle retningslinjer for HPV-test. Testen ble introdusert med indikasjon etter følgende retningslinjer:

- Usikre (ASC-US) eller lavgradige (LSIL) forandringer i plateepitelet
- Ikke-representativ prøve ved tidligere cytologisk prøvetaking
- Kontroll av kvinner etter konisering
- Annen pasientspesifikk årsak

Rekvirentene ble bedt om å ta cellematerialet fra livmorhalsen med børste og lage cellestryk på et objektglass (cytologisk prøve),

mens resten av cellematerialet på børsten skulle legges i en liten beholder med transportvæske (Digene Cervical Sampler, Digene Corp., Gaithersburg, USA).

Prøver

Fra oktober 2003 til oktober 2005 ble det utført til sammen 951 HPV-tester i prøver fra livmorhalsen. Pasientene ble fulgt opp prospektivt i perioden med en observasjonstid i perioden på minst seks måneder. Resultater fra HPV-analyse ble sammenholdt med funn i samtidig tatt cytologisk prøve, funn i tidligere cytologisk prøve, og funn i eventuelt utført biopsi i perioden. I 13,8 % av tilfellene ble det ikke tatt prøve til cytologisk analyse sammen med prøve til HPV-test, og 8,9 % av pasientene hadde ikke tatt tidligere cytologisk(e) prøve(r) ved vår avdeling.

HPV-analyse

Humant papillomvirus ble påvist med Hybrid Capture II i henhold til leverandørens anbefalinger (Digene Corp, Gaithersburg, MD, USA). Denne tester for tilstedeværelse av høyrisiko-HPV type 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, og 68, uten at den enkelte subtype blir identifisert. Instrumentet ble i prosjektperioden kontrollert og funnet i orden av leverandør.

Cytologiske og morfologiske begreper brukt i undersøkelsen

Tidligere cytologisk prøve ble i undersøkelsen definert som svar på en tidligere cytologisk undersøkelse som ikke var eldre enn tre år fra tidspunktet da prøve til HPV-test ble tatt. I praksis lå de fleste positive funn i tidligere cytologisk prøve innenfor et tidsrom av et halvt til ett år. Den mest alvorlige cytologidiagnose i denne perioden er brukt som representativ for tidligere cytologisk analyse i perioden.

For kvinner som ble konisert for en høygradig lesjon i treårsperioden før HPV-test, er kun nye funn etter konisering registrert i

Hovedbudskap

- Det er viktig å sammenholde resultater av HPV-test med funn i cytologisk prøve
- HPV-test og cytologisk prøve påviser flere høygradige lesjoner enn cytologisk prøve alene, og gir større trygghet for at slik lesjon ikke er til stede

Ramme 1

Forkortelser for morfologiske entiteter

- LSIL Lavgradig intraepitelial neoplas (dysplasi) i plateepitel
- HSIL Høygradig intraepitelial neoplas (dysplasi) i plateepitel
- ASC-US Irregulære plateepitelceller med forandringer av usikker betydning
- ASC-H Irregulære plateepitelceller med forandringer som kan gi mistanke om høygradig lesjon
- AGUS Irregulært sylindrer/kjertelepitel av usikker opprinnelse og/eller signifikans
- ACIS Adenocarcinoma in situ
- CIN II Moderat dysplasi i plateepitel
- CIN III Grov dysplasi i plateepitel

tidligere cytologisk prøvesvar. Aktuell cytologisk undersøkelse gjelder kun de cytologiske prøver der det samtidig ble tatt prøve til HPV-analyse. Senere cytologisk utredning angir svar på den sist avgitte cytologiske prøve som er tatt av pasienten etter aktuellprøve. Med biopsi menes svar på vevsprøve fra livmorhals tatt inntil ett år før prøve til HPV-test og i hele observasjonstiden etter dette, dvs. frem til medio mars 2006. Det mest alvorlige funnet ved biopsi er angitt. Svar på biopsi som har vist betenelse, reaktive forandringer eller ulike former for metaplasi er klassifisert som normale i denne studien. Med begrepet positiv cytologisk prøve menes i undersøkelsen en cytologisk prøve som enten har vist et usikkert cellulært funn (ASC-US, ASC-H eller AGUS (ramme 1)), lavgradig eller høygradig intraepitelial neoplas (LSIL eller HSIL

(ramme 1)), adenocarcinoma in situ eller kreft. Ikke-representativ prøve er i undersøkelsen kategorisert sammen med de normale når det gjelder tidligere cytologiske prøver. For aktuell og senere cytologiske prøver er det kun prøver som gir indikasjon for HPV-test som er med i denne gruppen.

Med høygradig lesjon menes en celleforandring ved biopsi som enten har vist moderat (CIN II) eller grov dysplasi (CIN III) i plateepitel, adenocarcinoma in situ i sylinderepitel, eller kreft. Av de totalt 127 påviste høygradige lesjoner i denne studien viste 32 CIN II, 87 CIN III, fire plateepitelkarinomer og fire adenocarcinoma in situ.

Resultater

HPV-funn

Av 951 HPV-tester i forsøksperioden var 18,9% tatt fra kvinner yngre enn 25 år eller eldre enn 67 år. 2,7% av kvinnene var yngre enn 20 år. Hele 47,6% av prøvene representerte positiv HPV-test, slik at materialet var selektert (fig 1).

I materialet var det en betydelig andel (22,6%) kvinner med normale funn i tidligere cytologiske prøv(er) og også i ny, aktuell prøve. Hos disse antatt friske kvinner var HPV-testen positiv hos 21,5%.

Kvinner med positiv HPV-test

I gruppen kvinner med positiv HPV-test hadde hele 55% normale funn i aktuell cytologisk prøve (data ikke vist). Når prøver med positive HPV-svar ble sammenliknet med funn i tidligere cytologisk prøve, senere cytologiske prøver eller funn ved biopsi fra den samme pasienten, var det kun i 14% av disse at det ikke kunne knyttes et morfologisk korrelat (histologisk eller cytologisk) til et positivt HPV-svar.

Usikre forandringer og påvisning av høygradig lesjon

Av pasientene med usikre (ASC-US) forandringer i tidligere cytologisk prøve fikk

9% påvist en høygradig lesjon ved senere oppfølging. I denne gruppen hadde kvinner med positivt funn i cytologisk kontrollprøve (den aktuelle) og positiv HPV-test 34% sannsynlighet for høygradig lesjon (tab 1). I den store gruppen av kvinner med normal cytologisk prøve og negativ HPV-test er det så langt ikke påvist noen tilfeller av høygradig lesjon. En pasient med negativ HPV-test hadde høygradig lesjon som ble påvist ved at aktuell cytologisk prøve viste usikre høygradige (ASC-H) celleforandringer (tab 2).

Lavgradige forandringer og påvisning av høygradig lesjon

I materialet hadde 256 kvinner lavgradige (LSIL) forandringer i en tidligere cytologisk prøve (tab 2). Av disse hadde 36% en høygradig lesjon dersom det i ny (aktuell) prøve var et positivt funn ved cytologisk analyse og ved HPV-test. I den relativt store gruppen av kvinner med både normal cytologisk prøve og negativ HPV-test fikk en pasient påvist CIN II ved histologisk undersøkelse. Senere kontroll av denne pasienten har vist normale funn (tab 2). I gruppen med negativ HPV-test og positiv cytologisk prøve hadde en pasient CIN III ved histologisk undersøkelse. Dette tilfellet ble oppdaget ved at aktuell cytologisk prøve viste ASC-H, slik at biopsi ble utført. Så langt har ingen med negativ HPV-test og ASC-US eller LSIL i aktuell cytologisk prøve fått påvist høygradig lesjon (tab 1 og 2).

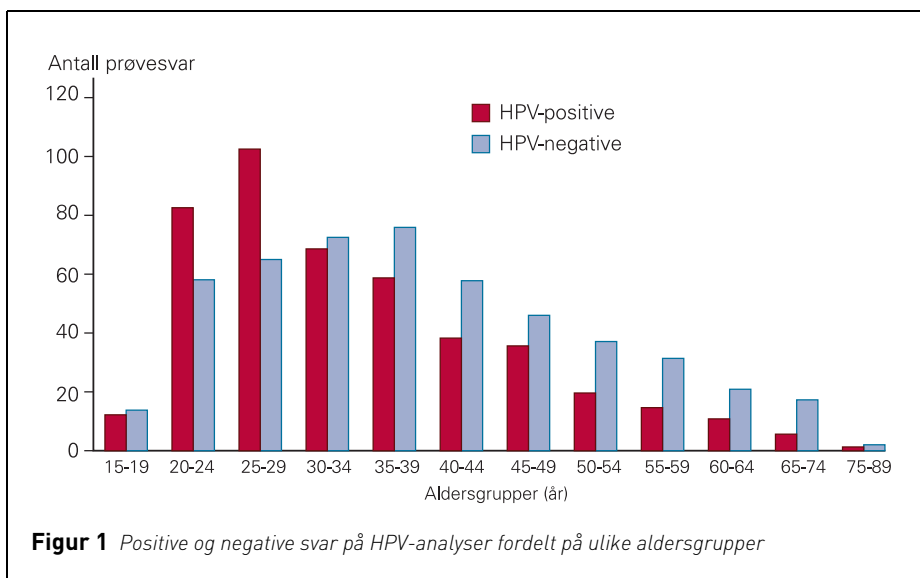
HPV-funn etter lavgradige forandringer

Av kvinner med lavgradige (LSIL) forandringer i tidligere cytologisk prøve hadde bare 37% av disse et nytt positivt funn i cytologisk kontrollprøve (den aktuelle), mens hele 60% fortsatt hadde positiv HPV-test (tab 3). Dette var enda tydeligere i gruppen av kvinner med normalisert cytologisk prøve der hele 45% fortsatt var positive ved HPV-test (tab 3). Dette var betydelig høyere andel enn vi påviste i et bakgrunnsmateriale av HPV-positive svar i den antatt friske del av populasjonen, som nevnt over.

Diskusjon

Kvalitetsmanualen for masseundersøkelse mot kreft i livmorhalsen anbefaler HPV-test brukt som en del av kontrollopplegget for kvinner som får påvist usikre (ASC-US) eller lavgradige (LSIL) forandringer ved celleprøve fra livmorhalsen (9). I vårt materiale hadde 435 av i alt 951 kvinner, undersøkt med HPV-test, enten forandringer av typen ASC-US eller LSIL i tidligere cytologisk prøve. Resultatene indikerer at bruk av HPV-test sammen med celleprøve i disse tilfeller fører til at flere kvinner med høygradige lesjoner vil bli oppdaget (tab 1 og 2).

I den gruppen kvinner som fikk påvist både positiv cytologisk prøve og positiv HPV-test ved ny (kontroll)prøve var det ca. 35% risiko for tilstedeværelse av samtidig høygradig lesjon. Det kan videre anføres at



Figur 1 Positive og negative svar på HPV-analyser fordelt på ulike aldersgrupper

Tabell 1 Høygradige lesjoner hos kvinner med funn av usikre forandringer (ASC-US) i tidligere cytologisk prøve, Haukeland Universitetssjukehus, 2003–5

Funn i aktuelle prøver		Antall prøver	Høygradig lesjon
HPV-test	Cytologisk prøve		
Positiv	Positiv	32	11
Positiv	Negativ	47	3
Negativ	Positiv	5	1
Negativ	Negativ	95	0

Tabell 2 Høygradige lesjoner hos kvinner med funn av lavgradige forandringer (LSIL) i tidligere cytologisk prøve, Haukeland Universitetssjukehus, 2003–5

Funn i aktuelle prøver		Antall prøver	Høygradig lesjon
HPV-test	Cytologisk prøve		
Positiv	Positiv	81	29
Positiv	Negativ	72	4
Negativ	Positiv	14	1
Negativ	Negativ	89	1

Tabell 3 Funn i HPV-test og ny (aktuell) cytologisk prøve ved oppfølging av kvinner med lavgradige (LSIL) forandringer i tidligere cytologisk prøve, Haukeland Universitetssjukehus, 2003–5

Funn i den aktuelle cytologiske prøve	Antall prøver	HPV-test	
		HPV-positiv	HPV-negativ
		Antall (%)	Antall
Normal	161	72 (45)	89
Positiv	95	81 (85)	14

de fleste av pasientene med positiv cytologisk prøve i denne gruppen hadde fortsatt usikker (ASC-US) eller lavgradig (LSIL) funn i den nye (aktuelle) cytologiske prøven. Disse funnene vil således støtte de nye retningslinjer i kvalitetsmanualen som anbefaler kolposkopisk rettet biopsi for denne undergruppen kvinner ved oppfølging etter usikre (ASC-US) eller lavgradige (LSIL) forandringer i en tidligere celleprøve.

I gruppen med positiv HPV-test, men med normal cytologisk prøve ble det påvist sju høygradige lesjoner ved senere oppfølging av pasienten (tab 1 og 2). Dette utgjorde til sammen 14 % av de påviste høygradige lesjonene i denne gruppen kvinner. Det vil kun bli spekulasjon å anslå hvor mange av disse som eventuelt ikke ville ha blitt oppdaget uten bruk av HPV-test.

En interessant gruppe kvinner i det nye screeningopplegget er de som på nytt får påvist usikre (ASC-US) eller lavgradige (LSIL) celleforandring ved ny (kontroll)

cytologisk prøve, men der HPV-testen er negativ. I henhold til kvalitetsmanualen vil HPV-svaret i disse tilfeller overstyre svaret på cytologisk prøve slik at disse kvinner tilbakesendes til ordinær screening med rutineprøve hvert tredje år. I vår studie utgjorde denne gruppen 16 kvinner (tab 1 og 2). Det ble ikke påvist høygradige lesjoner blant disse, men observasjonstiden er for kort til en endelig vurdering av dette.

Gruppen med såkalt «dobbel negativ» prøve, dvs at både HPV-testen og samtidig (aktuell) cytologisk prøve var negativ, utgjorde samlet 42,6 % av alle funnene ved kontroll av usikre (ASC-US) eller lavgradige (LSIL) celleforandringer i tidligere cytologisk prøve (tab 1 og 2). En pasient i LSIL-gruppen hadde en sannsynlig CIN II ved biopsi (tab 2), men senere cytologisk kontroll viste normale funn, og det er så langt ikke utført kirurgisk behandling. Resultatene tyder på en meget lav sannsynlighet for høygradige lesjoner i denne gruppen, noe som også er påvist i flere internasjonale studier (9).

I en stor metaanalyse av en rekke publiserte internasjonale arbeider viste den rapporterte sensitivitet for påvisning av høygradig lesjon med Hybrid Capture II-testen fra 85,7 % til 100 % (10). I vårt materiale var sensitiviteten for hele materialet 92,9 %. Årsaken til at inntil 7–8 % av kvinner med høygradig lesjon hadde negativ HPV-test, kan være forskjellig. Den enkleste forklaring er at prøven(e) inneholdt for lite materiale fra det representative området av lesjonen i livmorhalsen. I en nylig publisert studie over falskt negative svar ved samme test antydes det at det i noen slike prøver kan være få, men tydelig høygradige celler til stede, og at virusmengden i slike celler kan være relativt lav (11). Andre årsaker til redusert mengde virus har vært knyttet til at infeksjonen er i tidlig fase slik at bare de øvre lagene i epitelet er infisert, eller at infeksjonen (lesjonen) er i en remisjonsfase (12). Falskt negative HPV-svar kan også skyldes tekniske forhold knyttet til selve analysen. Det er derfor viktig med kvalitetssikrede kontrollrutiner av testen.

Et viktig moment i den nye kvalitetsmanualen har vært å gjøre HPV-test kun etter indikasjon fra svar i en tidligere cytologisk prøve (8). Dette synes fornuftig da 21,5 % av prøvene fra kvinner med normale funn i tidligere og ny cytologisk prøve var positive for humant papillomvirus. Primær screening basert på HPV-test ville derfor føre til oppfølging av minst 20 % av kvinnene mot ca. 2,9–5,5 % ved screening basert på cytologisk analyse alene, basert på tall (2002) fra Avdeling for patologi, Haukeland Universitetssjukehus og fra Krefregisteret om dette. HPV-test brukt alene uten etter indikasjon fra en tidligere cytologisk prøve vil derfor lett lede til et betydelig økt klinisk kontrollarbeid og til at mange antatt friske kvinner ville bli unødige sykeliggjort.

Et moment, som muligens er noe undervur-

dert i den nye kvalitetsmanualen, er at en genital HPV-infeksjon i remisjon synes å «henge lenger i» når dette vurderes ut fra svar på HPV-test enn når dette vurderes ut fra svar på cytologisk prøve (tab 3). Spesielt for den gruppen kvinner som ved ny (kontroll) prøve etter seks måneder får påvist normale forhold ved cytologisk prøve, men som har positivt utslag på HPV-test, kan dette være et moment å være oppmerksom på. I kvalitetsmanualen skal disse pasientene nå henvises til kolposkopi med biopsi. Svaret på om denne gruppen kvinner eventuelt burde ha en noe lengre observasjonstid før intervensjon, må avventes til det foreligger en lengre observasjonstid og et større klinisk pasientmateriale.

Våre resultater gir så langt støtte til de nye, vedtatte retningslinjer for bruk av HPV-test i screeningprogrammet mot kreft i livmorhalsen og til at dette nøye integreres med cytologiske funn.

Oppgitte interessekonflikter: Ole Erik Iversen er nasjonalt ansvarlig for HPV-vaksinasjonsstudier for MSD og GlaxoSmithKline. Han har mottatt foredragshonorar eller reise støtte fra MSD, GlaxoSmithKline og DakoCytomation. De øvrige forfatterne har ingen oppgitte interessekonflikter.

Litteratur

1. Kreft i Norge 2003. Oslo: Krefregisteret, 2005.
2. zur Hausen H. Papillomavirusenes årsaker til kreft: evasjon fra host-celle kontroll i tidlige hendelser i carcinogenese. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 690–8.
3. Molden T, Kraus I, Karlsen F et al. Human papillomavirus E6/E7 mRNA expression in women younger than 30 years of age. *Gynecol Oncol* 2006; 100: 95–100.
4. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S et al. Epidemiological classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518–27.
5. Nygård JF, Nygård M, Skare GB et al. Screening histories of women with CIN 2/3 compared with women diagnosed with invasive cervical cancer: a retrospective analysis of the Norwegian Coordinated Cervical Cancer Screening Program. *Cancer Causes Control* 2005; 16: 463–74.
6. Solomon D, Schiffman M, Tarone R. 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; 93: 293–9.
7. Cuzick J, Clavel C, Ku P et al. Overview of the European and North American studies on HPV-testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 2006; 119: 1095–101.
8. Faglig rådgivingsgruppe. Kvalitetsmanual. Masseundersøkelsen mot livmorhalskreft. Oslo: Krefregisteret, 2005.
9. Brink AATP, Snijder PJF, Meijer CJLM et al. HPV-testing in cervical screening. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2006; 20: 253–66.
10. Arbyn M, Buntinx F, van Ranst M et al. Virologic versus cytologic triage of women with equivocal Pap smears: a meta-analysis of the accuracy to detect high-grade intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 280–93.
11. Jastania R, Geddie WR, Chapman W et al. Characteristics of apparently false-negative digene hybrid capture 2 high-risk HPV DNA testing. *Am J Clin Pathol* 2006; 125: 223–8.
12. Snijders PJF, van den Brule AJC, Meijer CJLM. The clinical relevance of human papillomavirus testing: relationship between analytical and clinical sensitivity. *J Pathol* 2003; 201: 1–6.

Manuskriptet ble mottatt 24.6. 2006 og godkjent 16.9. 2007. Medisinsk redaktør Preben Aavitsland.