

Uporaba testov HPV DNK za presejanje za raka materničnega vratu

Matejka Rebolj

Primarni presejalni testi so preventivni testi, ki niso bili opravljeni zaradi predhodnega pozitivnega citološkega ali histološkega testa. To so npr. tisti, ki jih ženske opravijo na podlagi osebnega vabila, če v prejšnjih 3 letih niso imele citološkega pregleda materničnega vratu.

Triažni testi so kontrolni testi pri posameznicah, ki so imele nedavno pozitivne presejalne teste s spremembami, vendar te niso bile dovolj hude, da bi žensko nemudoma napotili na kolposkopski pregled.

Izvleček

Okužba z onkogenimi tipi humanih papilomavirusov (HPV) je potreben pogoj za razvoj raka materničnega vratu. Zaradi dolgoletne uporabe citoloških brisov se je incidenca tega raka zmanjšala, a kljub temu bi bilo treba najti nov presejalni test, ki bi bil občutljivejši za progresivne predrakave spremembe, cervikalno intraepitelialno neoplazijo (CIN). Med te teste spadajo testi HPV DNK. V tem članku so opisane njihove značilnosti, kakor jih je mogoče presoditi na podlagi vseh 8 randomiziranih kontroliranih raziskav z objavljenimi podatki, ki so primerjale uporabo testov HPV s citološkimi brisi za primarno presejanje. Te raziskave so potrdile, da je mogoče na podlagi testov HPV diagnosticirati večje število $\geq$ CIN 3 kot na podlagi citoloških brisov, čeprav razlika v nekaterih od raziskav, tudi zaradi njihove velikosti, ni bila statistično značilna. Razveseljivo je, da večja občutljivost za $\geq$ CIN 3 verjetno pomeni tudi boljšo zaščito pred rakom materničnega vratu, čeprav ocena temelji na majhnem številu opazovanih primerov v vsaki izmed raziskav. Pri uporabi testov HPV bo večji izziv omejiti njihove neželene učinke. To so predvsem pogostejši napačno pozitivni testi (ki jih definiramo kot pozitivne presejalne teste brez diagnoze $\geq$ CIN 3 ali $\geq$ CIN 2) ter pogostejše diagnoze in morebitno zdravljenje manj nevarnih stopenj CIN (predvsem CIN 1, deloma tudi CIN 2). V tem članku so kritično ovrednoteni 3 pristopi k zmanjšanju bremena testov HPV v primerjavi s citološkimi brisi, in sicer uporaba triažnih testov pri ženskah s pozitivnimi presejalnimi testi HPV, omejitev uporabe testov HPV pri mlajših ženskah in sprememba mejne vrednosti, pri kateri se test HPV odčita kot pozitiven. Vsi ti pristopi imajo svoje prednosti in slabosti.

Uvod

Perzistentna okužba z onkogenimi tipi humanih papilomavirusov (HPV) je nujen pogoj za razvoj raka materničnega vratu (1). Presejanje oz. zgodnje odkrivanje na podlagi ugotavljanja citoloških sprememb materničnega vratu, povezanih z okužbami s HPV, je pripomoglo k zmanjšanju obremenitve prebivalstva s to boleznijo (2). Po pilotnih projektih v lju-bljanski (od leta 1998) in obalni regiji (od leta 2001) državni presejalni program Zora od leta 2003 na območju celotne

Slovenije aktivno vabi ženske, stare od 20 do 64 let, da pri osebnejem ginekologu na 3 leta opravijo bris materničnega vratu (3). Podatki kažejo, da je program uspešen, saj se je po dolgem obdobju neugodnih trendov število novih primerov raka materničnega vratu na leto občutno zmanjšalo – z 210 (20,6 na 100.000) leta 2003 je leta 2009 padlo na 129 (12,5 na 100.000) (4).

Presejalni programi za zgodnje odkrivanje raka materničnega vratu so v zadnjih desetletjih temeljili na citoloških brisih materničnega vratu. Ta metoda je subjektivna in njena občutljivost za cervikalno intraepitelialno neoplazijo (CIN) ni velika (5). Običajne ocenjene vrednosti za občutljivost za $\geq$ CIN 2 v razponu med 50 % in 75 % pomenijo, da 25 % do 50 % $\geq$ CIN 2 ostane neopazeno. Čeprav večina CIN 2 in CIN 3 ne napreduje do stopnje invazivnega raka (6–8), je razmeroma majhna občutljivost citologije problematična. Na podlagi podatkov, vključenih v metaanalizo, je imela okoli tretjina vseh bolnic z rakom materničnega vratu nedavno opravljen bris z negativnim rezultatom (9). Podoben je bil tudi odstotek pri slovenskih bolnicah (10), zato se pojavlja vprašanje, ali bi občutljivejši presejalni test pri teh ženskah lahko preprečil raka materničnega vratu.

Ta problem je bistven za razumevanje pomena testov HPV DNK v primarnem presejanju za raka materničnega vratu. V metaanalizi začetnih raziskav, v katerih so primerjali citološke brise s testom HPV, so ugotovili, da so v primarnem presejanju testi HPV za 32 % občutljivejši za $\geq$ CIN 3 kot citološki brisi; 95-odstotni interval zaupanja je 6- do 64-odstoten (5).

Namen tega članka je pregledati in kritično ovrednotiti najpomembnejše rezultate randomiziranih kontroliranih raziskav, ki so primerjale uporabo citoloških brisov in testov HPV v primarnem presejanju.

Opis randomiziranih kontroliranih raziskav

Znani so podatki 9 randomiziranih kontroliranih raziskav: po dve sta iz Italije (NTCC Phase 1 in NTCC Phase 2) in Kanade (CCCaST in HPV FOCAL), po ena pa iz Nizozemske (POBASCAM), Velike Britanije (ARTISTIC), Švedske (SWEDESCRE-EN), Finske in Indije (tabela) (11–18). Ker HPV FOCAL še ni končala rekrutacije žensk v raziskavo, se bomo osredotočili na preostalih 8 raziskav (tabela). Za 5 raziskav so avtorji že poročali rezultate drugega kroga presejanja, medtem ko so za 3 raziskave znani le podatki za prvi, izhodiščni krog.

Od 8 raziskav so 4 kot intervencijo ponudile test HPV skupaj s citološkim brisom, 4 pa le test HPV. Test HPV Hybrid Capture 2 (HC2) je uporabilo 6 raziskav, 2 raziskavi pa sta ponudili test HPV PCR GP5+/6+. Vse so v kontrolnem delu ponudile citološke teste, pri čemer so v 7 raziskavah uporabili klasično

citologijo, v eni pa tekočinsko. Razen kanadske raziskave CCCaST in indijske raziskave, v katerih so bile vse ženske s pozitivnimi testi (≥ 1 rlu/co na HC2 ali $\geq$ APC-N [atipične ploščate celice, neopredeljene] na citologiji) napotene na kolposkopski pregled, se je obravnava žensk s pozitivnimi testi HPV in/ali citološkimi testi razlikovala v vseh raziskavah (19). Preden so ženske z blažjimi spremembami na materničnem vratu, npr. z APC-N ali s pozitivnim testom HPV ob negativnem citološkem izvidu, napotili na kolposkopski pregled, so nekatere raziskave uporabile različne vrste triažnih testov ob različnih terminih (npr. 6, 12 ali 18 mesecev po pozitivnem presejalnem testu). Te dokaj zapletene sheme so bile natančneje opisane drugje (19, 20), zato jih ob tej priložnosti ne bomo podrobneje obravnavali.

Večja občutljivost testov HPV za $\geq$ CIN 3 v primerjavi s citološkimi testi

V izhodiščnem krogu presejanja, ko so bili testi HPV uporabljeni prvič, je bila v intervencijskih skupinah 3 raziskav statistično pogostejše postavljena diagnoza $\geq$ CIN 3 (tabela). V teh raziskavah se je presežek ugotovljenih $\geq$ CIN 3 gibal med +70 % v nizozemski raziskavi in +195 % v italijanski raziskavi Phase 2. V italijanski raziskavi Phase 1 in v švedski raziskavi so na podlagi presejanja s testom HPV prav tako našli več $\geq$ CIN 3, vendar razlika v primerjavi s presejanjem na podlagi citologije ni bila statistično značilna. V britanski raziskavi je bilo ugotovljenih približno enako število $\geq$ CIN 3 na podlagi testa HPV in na podlagi citologije, medtem ko za kanadsko in indijsko raziskavo število $\geq$ CIN 3 ni bilo posebej objavljeno. V nobeni od zadnjih dveh raziskav na podlagi testa HPV niso ugotovili statistično značilno več $\geq$ CIN 2, čeprav je vsaj za kanadsko raziskavo treba upoštevati, da je bilo v raziskavo vključenih razmeroma malo žensk.

Še pomembnejše kot število ugotovljenih $\geq$ CIN 3, med katerimi so tudi takšni, ki nikoli ne bodo ogrožali življenja (7, 8), je vprašanje, ali testi HPV ženske bolje zaščitijo pred

rakom materničnega vratu. Čeprav so bile randomizirane kontrolirane raziskave vsaka zase premajhne, da bi lahko nedvoumno odgovorile na to vprašanje, je vendarle znanih nekaj podatkov. Ti kažejo, da je bil do drugega kroga presejanja rak materničnega vratu ugotovljen pri manj ženskah, vključenih v intervencijske skupine, tj. pri tistih, pri katerih je bil v izhodiščnem krogu presejanja uporabljen test HPV, kot pri ženskah, pri katerih je bila v izhodiščnem krogu uporabljena samo citologija. V obeh italijanskih raziskavah skupaj se je rak razvil pri 9 ženskah, pri katerih so v izhodiščnem krogu uporabili citologijo, in pri nobeni izmed tistih, pri katerih so v izhodiščnem krogu uporabili test HPV (11). V nizozemski raziskavi je bilo to razmerje 7 proti 2 (17). Samo v britanski raziskavi je v intervencijski skupini več žensk, skupaj 3, zbolelo za rakom kot v kontrolni skupini, kjer ni zbolela nobena (16), vendar je ob tem treba poudariti, da je bilo v intervencijsko skupino vključenih trikrat več žensk kot v kontrolno skupino. Na podlagi teh sicer skromnih podatkov torej lahko sklepamo, da testi HPV ženske bolje zaščitijo pred rakom materničnega vratu. To pomeni, da bi lahko s testi HPV na varen način podaljšali presejalne intervale na več kot sedanja 3 leta s citologijo, s čimer bi ženskam olajšali breme pogostega presejanja skozi nekaj desetletij življenja. Možnost podaljšanja presejalnih intervalov potrjujejo tudi številne nerandomizirane raziskave (21, 22).

Precej zanimanja so vzbudili tudi podatki o umrljivosti zaradi raka materničnega vratu iz indijske raziskave. Raziskovalci so poročali, da je v 8 letih po uporabi presejalnega testa HPV zaradi raka materničnega vratu umrlo 34 žensk, po uporabi citološkega presejalnega testa pa 54. Relativna umrljivost zaradi raka materničnega vratu naj bi tako bila 0,59 (95-odstotni interval zaupanja: 0,38–0,90), kar bi glede na citološke teste lahko pomenilo statistično značilno zmanjšanje umrljivosti zaradi uporabe testa HPV. A pozoren pregled teh podatkov je razkril, da so bile v skupino, ki je bila presejana na podlagi testa HPV, vključene ženske, pri katerih je bilo v povprečju

Tabela. Rezultati randomiziranih kontroliranih raziskav, ki so v primarnem presejanju proti raku materničnega vratu primerjale teste HPV DNK s citologijo (30).

	Finska (18)	Indija (12)	Italija, Phase 1 (11, 32, 40)	Italija, Phase 2 (11, 41)	Kanada (15)	Nizozemska (17)	Švedska (14)	Velika Britanija (16, 42)
Starost (leta)	30–60	30–59	25–60	25–60	30–69	29–56	32–38	20–64
Kontrolna skupina								
Uporabljeni test	KC	KC	KC	KC	KC	KC	KC	TC
Število presejanih žensk	19.221	25.549	22.466	24.535	5.059	8.580	6.270	6.124
Intervencijska skupina								
Uporabljeni testi	HC2	HC2	HC2 in TC	HC2	HC2	PCR in KC	PCR in KC	HC2 in TC
Število presejanih žensk	19.449	27.192	22.708	24.661	5.095	8.575	6.257	18.386
Intervencijska skupina : kontrolna skupina (relativno tveganje), izhodiščni presejalni krog, s 95-odstotnimi intervali zaupanja								
$\geq$ CIN 3	1,77 (1,16–2,74)	0,87 (0,74–1,01)	1,42 (0,99–2,02)	2,95 (1,97–4,43)	1,57 (0,76–3,24)	1,70 (1,15–2,51)	1,31 (0,93–1,86)	0,97 (0,75–1,25)
Napačno pozitivni testi ^a	1,17 (1,08–1,27)	1,63 (1,53–1,73)	2,40 (2,21–2,60)	2,31 (2,13–2,51)	2,10 (1,72–2,56)	1,63 (1,37–1,94)	3,81 (3,05–4,76)	1,24 (1,15–1,34)

KC = klasična citologija, TC = tekočinska citologija, HC2 = test HPV DNK Hybrid Capture 2, PCR = Polymerase Chain Test HPV DNK Reaction GP5+/6+

^a Pozitivni presejalni testi, ki niso potrjeni z diagnozo $\geq$ CIN 3 ($\geq$ CIN 2 v indijski in kanadski raziskavi).

tveganje za nastanek raka materničnega vratu manjše (23). Poleg tega so imele bolnice s tem rakom v skupini HPV tudi znatno večje možnosti kot bolnice v citološki skupini, da rak preživijo (24). Obe razliki med skupinama bi lahko vplivali na to, da bi se testi HPV v primerjavi s citologijo zdeli zelo ugodni, čeprav med presejalnima testoma v resnici ne bi bilo nobene razlike pri preprečevanju umrljivosti. Če torej ocenjeno relativno umrljivost 0,59 popravimo le za razliko v preživetju med bolnicami, se relativna umrljivost že poveča na 0,78 s 95-odstotnim intervalom zaupanja 0,50–1,23 (25). Z drugimi besedami, manjše umrljivosti zaradi raka materničnega vratu v indijski raziskavi najverjetneje ne moremo pripisati zamenjavi presejalne citologije s testi HPV.

Manjša specifičnost testov HPV v primerjavi s citologijo

V randomiziranih raziskavah, kjer so uporabljali dokaj specifično citologijo, je imelo približno dvakrat več žensk pozitiven test HPV kot pozitiven citološki test (20). Zato so imele v teh raziskavah ženske, presejane s testi HPV, pogostejše napačno pozitivne teste (definirane kot pozitivne presejalne teste, ki niso potrjeni z diagnozo $\geq$ CIN 3, tabela). To pomeni, da sta specifičnost in pozitivna napovedna vrednost testa HPV manjši od vrednosti za citologijo (26). Napačno pozitivni testi povečujejo obseg dodatnega testiranja »trijaža«, ki se navadno opravi šele čez nekaj mesecev, med tem časom pa je ženska po nepotrebnem v negotovosti, ali je z njo kaj narobe. Večina žensk s pozitivnimi presejalnimi testi zavrača večmesečno čakanje na ponovno testiranje (27).

Na podlagi danskih podatkov, zbranih v državnih zdravstvenih registrih, smo ocenili, da se z uporabo citologije v primarnem presejanju zdravi 6 do 8 žensk zaradi CIN na vsako žensko s preprečenim rakom materničnega vratu (28). V primerjavi s citologijo testi HPV to število povečajo, vendar je ocenjeno povečanje odvisno od raziskave. Na vsako dodatno žensko, ki ji je bil v primerjavi s citologijo zaradi presejanja s testom HPV v obeh italijanskih raziskavah skupaj prihranjen rak (spomnimo, da je bilo vseh teh žensk 9), so na podlagi testa HPV zdravili dodatnih 26 žensk s CIN 2 ali CIN 3 (29). Ta velika številka je bila deloma posledica zelo agresivnega ravnanja z ženskami, ki so imele pozitivne teste HPV, saj so večino takoj napotili na kolposkopski pregled. V nasprotju z italijanskima raziskavama so v nizozemski morebitnim prevalentnim CIN 2 ali CIN 3 pri ženskah z manj izrazito pozitivnimi presejalnimi testi najprej dopustili, da spremembe izginejo same, in so ženske napotili na kolposkopski pregled šele, če so imele pozitivne teste še 6 do 18 mesecev pozneje »trijaža«. (Tudi) zato je bilo število dodatnih žensk, zdravljenih zaradi CIN 2 ali CIN 3 na podlagi testa HPV, na vsako dodatno žensko s prihranjenim rakom materničnega vratu v primerjavi s citologijo, manjše kot v italijanskih raziskavah, okoli 6 (30).

Kaj bi lahko storili, da bi zmanjšali breme dodatnega testiranja in dodatnega zdravljenja zaradi uporabe občutljivejših testov HPV? Nekateri raziskovalci so predlagali uporabo triažnih testov (31–33). Ti testi se pri ženskah s pozitivnimi presejalnimi testi uporabijo, da se zmanjša število tistih, ki so napotene na kolposkopski pregled, in s tem tudi na prehitro zdravljenje tistih CIN, ki bi sicer izginili sami od sebe. To pomeni, da pri ženskah s pozitivnim testom HPV opravimo dodaten test. V randomiziranih raziskavah je bila to največkrat citologija (20). Ženske, ki imajo poleg pozitivnega testa HPV tudi pozitiven citologijo, se lahko nemudoma napotijo na kolposkopski

pregled, saj je pozitivna napovedna vrednost za $\geq$ CIN 2 in $\geq$ CIN 3 pri tej kombinaciji testov dovolj velika. Nasprotno se pri ženskah s pozitivnim testom HPV in negativno citologijo ponovni pregled opravi šele čez nekaj mesecev in takrat se dokončno odloči, ali bodo ženske napotene na kolposkopski pregled ali pa se bodo lahko vrnile v rutinsko presejanje. Kot vidimo, lahko uporaba triažnih testov pomembno zmanjša obremenjenost žensk s kolposkopskimi pregledi in s prezgodnjim zdravljenjem regresivnih CIN. Ker pa vse ženske s pozitivnimi presejalnimi testi napotimo na dodatno testiranje, ostaja specifičnost testa HPV praktično enaka kot brez uporabe triažnega testa. Uporaba triažnih testov, najsi bo to citologija ali kateri od novejših testov, npr. $p^{16ink4a}$, torej ne zmanjšuje bremena napačno pozitivnih testov (26).

Pogosto se omenja možnost, da bi breme napačno pozitivnih testov HPV lahko omejili tako, da bi teste HPV uporabili le pri ženskah, starejših od 30 let. Ozadje tega predloga je v tem, da so okužbe z onkogenimi tipi HPV navadno zelo pogoste med ženskami pred 30. letom, kjer lahko prevalenca doseže tudi od 30 % do 40 % (16, 34), medtem ko se po 30. letu občutno zmanjša. To bi za seboj potegnilo tudi zmanjšanje števila pozitivnih testov HPV. Temu dejstvu ni mogoče oporekati, zaplete pa se, ko se vprašamo, ali to pomeni tudi, da se število pozitivnih testov HPV zmanjša na raven, kakršno poznamo pri citološkem presejanju. Nasprotno pa podatki iz randomiziranih kontroliranih raziskav žal kažejo, da število napačno pozitivnih testov HPV tudi pri ženskah, starejših od 30 let, ostaja približno dvakrat večje, kot je število pozitivnih citoloških testov. Prav tako ostaja povečano število diagnoz CIN 1 in CIN 2 (35), ki redko napredujejo do stopnje invazivnega raka materničnega vratu (6, 8). Omejitev uporabe presejalnih testov HPV na ženske po 30. letu torej zanje v primerjavi s citologijo ne izniči dodatnega bremena.

Tretji sklop možnih rešitev za ohranjanje velike specifičnosti presejanja je zmanjšanje števila pozitivnih testov HPV na podlagi spremembe mejne vrednosti, pri kateri se test odčita kot pozitiven. To je do neke mere kontroverzna rešitev, pri kateri bi breme napačno pozitivnih testov zmanjšali na račun majhnega zmanjšanja občutljivosti testa HPV za $\geq$ CIN3, s čimer pa bi se povečalo tveganje za nastanek intervalnih rakov materničnega vratu. Podatki iz randomiziranih kontroliranih raziskav kažejo, da če bi pri pogosto uporabljanem testu HC2 mejno vrednost s standardne ≥ 1 rlu/co povečali na ≥ 2 rlu/co, bi se občutljivost testa za $\geq$ CIN 2 in $\geq$ CIN 3 zmanjšala za 3 %. Pri mejni vrednosti okoli ≥ 4 rlu/co bi se zmanjšala za okoli 8 %, pri mejni vrednosti ≥ 10 rlu/co pa za okoli 9 %. Tako zmanjšanje občutljivosti, ki je še vedno v skladu s priporočili za presejalne teste HPV DNK (36), je bilo manj ugodno le v eni raziskavi. Ker CIN 2 in CIN 3 sama postopoma napredujejo do invazivne stopnje (7) in ker bi bili presejalni intervali tudi pri uporabi testov HPV še vedno znatno krajši od povprečne dolžine obdobja, v katerem progresivni CIN napreduje do stopnje raka materničnega vratu (21, 37, 38), lahko sklepamo, da bi se zaradi spremembe mejne vrednosti v razponu tudi do ≥ 10 rlu/co varnost žensk pred rakom materničnega vratu sicer zmanjšala pod maksimalno dosegljivo, vendar bi bila razlika (verjetno) majhna. Po drugi strani bi se z večanjem mejne vrednosti močno zmanjšalo število žensk z napačno pozitivnimi testi; zmanjšanje pri ženskah, starejših od 30 let, bi bilo pri mejni vrednosti ≥ 10 rlu/co približno polovično, pri mlajših ženskah pa tretjinsko (39).

Sklep

Uporaba testov HPV DNK v primarnem presejanju za zgodnje odkrivanje raka materničnega vratu bi lahko zmanjšala breme raka materničnega vratu med ženskami, ki se udeležujejo presejanja, vendar bo treba še ugotoviti, kako preprečiti čezmerno obremenjenost žensk z napačno pozitivnimi presejalnimi testi.

Viri

- Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189 (1): 12–19.
- IARC. IARC Handbooks of Cancer Prevention, Vol. 10: Cervix cancer screening. Lyon: International Agency for Research on Cancer Press, 2005.
- ZORA. Državni program ZORA: Zgodovinski mejniki. URL: http://zora.onko-i.si/?mod=mi_zgodovinskiMejniki, 5. september 2011.
- ZORA. Državni program ZORA. URL: <http://zora.onko-i.si/>, 5. september 2011
- Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, Tsu V, Ronco G, Mayrand MH et al. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine* 2008; 26 Suppl 10: K29–K41.
- Castle PE, Schiffman M, Wheeler CM, Solomon D. Evidence for frequent regression of cervical intraepithelial neoplasia-grade 2. *Obstet Gynecol* 2009; 113 (1): 18–25.
- McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, Baranay J, Medley G, Jones RW et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol* 2008; 9 (5): 425–434.
- Ostor AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 1993; 12 (2): 186–192.
- Spence AR, Goggin P, Franco EL. Process of care failures in invasive cervical cancer: systematic review and meta-analysis. *Prev Med* 2007; 45 (2–3): 93–106.
- Primic Žakelj M, Ivanuš U, Pogačnik A, Uršič-Vrščaj M. Poročilo o rezultatih državnega programa ZORA v letih 2007 in 2008. Ljubljana: Onkološki inštitut, 2009.
- Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, Del MA et al. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2010; 11 (3): 249–257.
- Sankaranarayanan R, Nene BM, Shastri SS, Jayant K, Muwonge R, Budukh AM et al. HPV screening for cervical cancer in rural India. *N Engl J Med* 2009; 360 (14): 1385–1394.
- Ogilvie GS, van Niekerk DJ, Krajden M, Martin RE, Ehlen TG, Ceballos K et al. A randomized controlled trial of Human Papillomavirus (HPV) testing for cervical cancer screening: trial design and preliminary results (HPV FOCAL Trial). *BMC Cancer* 2010; 10: 111.
- Naucle P, Ryd W, Tornberg S, Strand A, Wadell G, Elfgrén K et al. Human papillomavirus and Papanicolaou tests to screen for cervical cancer. *N Engl J Med* 2007; 357 (16): 1589–1597.
- Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A et al. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med* 2007; 357 (16): 1579–1588.
- Kitchener HC, Almonte M, Gilham C, Dowie R, Stoykova B, Sargent A et al. ARTISTIC: a randomised trial of human papillomavirus (HPV) testing in primary cervical screening. *Health Technol Assess* 2009; 13 (51): 1–150.
- Bulkman NW, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade FJ, Boeke AJ, Bulk S et al. Human papillomavirus testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial. *Lancet* 2007; 370 (9601): 1764–1772.
- Anttila A, Kotaniemi-Talonen L, Leinonen M, Hakama M, Laurila P, Tarkkanen J et al. Rate of cervical cancer, severe intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma in situ in primary HPV DNA screening with cytology triage: randomised study within organised screening programme. *BMJ* 2010; 340: c1804.
- Rebolj M, Lynge E. Incomplete follow-up of positive HPV tests: overview of randomised controlled trials on primary cervical screening. *Br J Cancer* 2010; 103 (3): 310–314.
- Lynge E, Rebolj M. Primary HPV screening for cervical cancer prevention: results from European trials. *Nat Rev Clin Oncol* 2009; 6 (12): 699–706.
- Dillner J, Rebolj M, Birembaut P, Petry KU, Szarewski A, Munk C et al. Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical cancer screening: joint European cohort study. *BMJ* 2008; 337 (25 Oct): 969–972.
- Schiffman M, Glass AG, Wentzensen N, Rush BB, Castle PE, Scott DR et al. A long-term prospective study of type-specific human papillomavirus infection and risk of cervical neoplasia among 20,000 women in the Portland Kaiser Cohort Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20 (7): 1398–1409.
- Miller AB. Cervical cancer in rural India. *Nat Rev Clin Oncol* 2009; 6(7):384–385.
- Suba EJ, Cibas ES, Raab SS. HPV screening for cervical cancer in rural India. *N Engl J Med* 2009; 361 (3): 304.
- Rebolj M, Lynge E. Has cytology become obsolete as a primary test in screening for cervical cancer? *J Med Screen* 2010; 17 (1): 1–2.
- Rebolj M, Pribac I, Lynge E. False-positive Human Papillomavirus DNA tests in cervical screening: It is all in a definition. *Eur J Cancer* 2011; 47 (2): 255–261.
- Frederiksen M, Lynge E, Rebolj M. What women want. Women's preferences for the management of low-grade abnormal cervical screening tests: a systematic review. *BJOG* (v tisku).
- Barken SS, Rebolj M, Sogaard AE, Lynge E. Frequency of cervical intraepithelial neoplasia treatment in a well-screened population. *Int J Cancer* (v tisku).
- Castle PE, Katki HA. Benefits and risks of HPV testing in cervical cancer screening. *Lancet Oncol* 2010; 11 (3): 214–215.
- Rebolj M, Lynge E, Bonde J. Human papillomavirus testing and genotyping in cervical screening. *Expert Rev Anticancer Ther* 2011; 11 (7): 1025–1033.
- Naucle P, Ryd W, Tornberg S, Strand A, Wadell G, Elfgrén K et al. Efficacy of HPV DNA testing with cytology triage and/or repeat HPV DNA testing in primary cervical cancer screening. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101 (2): 88–99.
- Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Dalla Palma P, Del Mistro A, De Marco L et al. Human papillomavirus testing and liquid-based cytology in primary screening of women younger than 35 years: results at recruitment for a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2006; 7 (7): 547–555.
- Leinonen M, Nieminen P, Kotaniemi-Talonen L, Malila N, Tarkkanen J, Laurila P et al. Age-specific evaluation of primary human papillomavirus screening vs conventional cytology in a randomized setting. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101 (23): 1612–1623.
- Kjaer SK, Breugelmans G, Munk C, Junge J, Watson M, Iftner T. Population-based prevalence, type- and age-specific distribution of HPV in women before introduction of an HPV-vaccination program in Denmark. *Int J Cancer* 2008; 123 (8): 1864–1870.
- Rebolj M, Njor S, Lynge E. Restriction of Human Papillomavirus DNA testing in primary cervical screening to women above age 30: systematic review. *Eur J Cancer Prev* (v tisku).
- Meijer CJ, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, Franco EL, Ronco G et al. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int J Cancer* 2009; 124 (3): 516–520.
- van Oortmarssen GJ, Habbema JD. Epidemiological evidence for age-dependent regression of pre-invasive cervical cancer. *Br J Cancer* 1991; 64 (3): 559–565.
- Berkhof J, Coupe VM, Bogaards JA, van Kemenade FJ, Helmerhorst TJ, Snijders PJ et al. The health and economic effects of HPV DNA screening in The Netherlands. *Int J Cancer* 2010.
- Rebolj M, Bonde J, Njor SH, Lynge E. Human papillomavirus testing in primary cervical screening and the cut-off level for hybrid capture 2 tests: systematic review. *BMJ* 2011; 342: d2757.
- Ronco G, Segnan N, Giorgi-Rossi P, Zappa M, Casadei GP, Carozzi F et al. Human papillomavirus testing and liquid-based cytology: results at recruitment from the new technologies for cervical cancer randomized controlled trial. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98 (11): 765–774.
- Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, Del Mistro A et al. Results at recruitment from a randomized controlled trial comparing human papillomavirus testing alone with conventional cytology as the primary cervical cancer screening test. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100 (7): 492–501.
- Kitchener HC, Almonte M, Thomson C, Wheeler P, Sargent A, Stoykova B et al. HPV testing in combination with liquid-based cytology in primary cervical screening (ARTISTIC): a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2009; 10 (7): 672–682.