

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000200203





ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΟΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Καθηγητής Ευάγγελος Παρασκευαΐδης

615
205

ΟΙ ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΣΤΗ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΟΓΚΟΛΟΓΙΑ:
Η ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΗΡΝ ΣΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ
ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

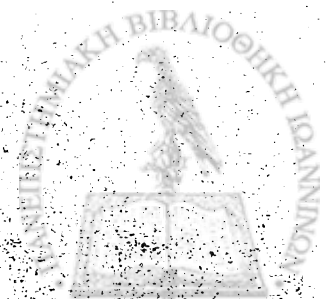
ΓΕΩΡΓΙΟΣ Κ. ΚΟΛΙΟΠΟΥΛΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΟΑΝΝΙΝΑ 2004



Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα. Ν 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2
(Νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)



Ημερομηνία αιτήσεως: 11.11.1999

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής: 399α / 29.02.2000

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων καθηγητής: Δημήτριος Λώλης, Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας

**Μέλη: Ευάγγελος Παρασκευαΐδης, Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας
Νικόλαος Δαλκαλίτσης, Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας**

Ημερομηνία Ορισμού του Θέματος: 25.06.2001

Ημερομηνία Καταθέσεως της Διδακτορικής Διατριβής: 7.12.2004

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Επαμεινώνδας Τσιάνος, Καθηγητής Παθολογίας

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

κ. Δημήτριος Λώλης, Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας
κα. Βασιλική Μαλάμου-Μήτση, Καθηγήτρια Κυτταρολογίας και Παθολογικής Ανατομικής
κ. Ευάγγελος Παρασκευαΐδης, Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας
κ. Νικόλαος Δαλκαλίτσης, Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας
κ. Ιωάννης Γεωργίου, Αναπληρωτής Καθηγητής Γενετικής στη Μαιευτική και Γυναικολογία
κα. Καλανταρίδου Σοφία, Επίκουρη Καθηγήτρια Μαιευτικής και Γυναικολογίας
κ. Μηνάς Πασχόπουλος, Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας

Η διδακτορική διατριβή έγινε αποδεκτή με το βαθμό «Άριστα»

Η Γραμματέας της Σχολής

ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΤΣΑΓΓΑΛΑ



Πρόλογος

Όταν το 1943 ο Γεώργιος Παπανικολάου ανακοίνωσε τη μονογραφία του "Diagnosis of the uterine cancer by the vaginal smear" οι ισχυρισμοί του έτυχαν έντονης αμφισβήτησης από τους συναδέλφους του. Ωστόσο η επίδραση του τεστ Παπανικολάου στη μείωση της θνησιμότητας από τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας ήταν καταλυτική, αν και οι περιορισμοί της εξέτασης αυτής έχουν πλέον αρχίσει να διαφαίνονται. Με αντίστοιχη επιφύλαξη, και όχι άδικα, αντιμετωπίζονται πολλές από τις ανακαλύψεις στο χώρο της ιατρικής. Μετά τη διαπίστωση ότι ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας έχει άμεση αιτιολογική σχέση με τη λοίμωξη από τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων, το ενδιαφέρον στον τομέα της πρόληψης στράφηκε στη χρήση του HPV τεστ.

Το θέμα της προσθήκης της εξέτασης αυτής στο πρόγραμμα μαζικού ελέγχου έχει προκαλέσει εκτενείς συζητήσεις και πλήθος μελετών. Έχουν εκφραστεί ανησυχίες για το κατά πόσον το HPV τεστ πληρεί τα κριτήρια του Παγκοσμίου Οργανισμού Υγείας (Wilson 1968) για τα προγράμματα μαζικού ελέγχου. Η προσθήκη του HPV τεστ στο πρόγραμμα μαζικού ελέγχου για την πρόληψη του καρκίνου της μήτρας πέρα από τις υγειονομικές αναμένεται να έχει και σημαντικές οικονομικές και κοινωνικές επιπτώσεις. Για την αποσαφήνιση του ζητήματος αυτού προχωρήσαμε σε μία συγκριτική πειραματική cross-sectional μελέτη της κυτταρολογικής εξέτασης κατά Παπανικολάου και της εξέτασης για τον HPV. Παράλληλα όμως ξεκίνησαν σχετικές μελέτες και σε άλλες χώρες και ως αποτέλεσμα με την ολοκλήρωση της μελέτης μας υπήρχαν συνολικά αρκετά εκτενή δεδομένα για το θέμα. Για το λόγο αυτό πραγματοποιήσαμε μία μετα-ανάλυση όλων των μελετών που έχουν δημοσιευτεί έως σήμερα, καθώς η μέθοδος της μετα-ανάλυσης παρέχει τα πιο



αξιόπιστα αποτελέσματα για την αξιολόγηση κάποιας διαγνωστικής ή θεραπευτικής τεχνικής, ανώτερα από οποιαδήποτε μεμονωμένη μελέτη.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους στάθηκαν αρωγοί στην προσπάθειά μου, όπως τον καθηγητή κύριο Δημήτριο Λώλη για ανάθεση της διατριβής αυτής και την ανεκτίμητη βοήθεια, που μου παρείχε στην αρχή της επιστημονικής μου καριέρας, τον αναπλ. καθηγητή κύριο Νικόλαο Δαλκαλίτση για τη συμπαράσταση στην ολοκλήρωση της μελέτης, και βέβαια τον καθηγητή κύριο Ευάγγελο Παρασκευαΐδη, ο οποίος αποτέλεσε για εμένα παράδειγμα και έρεισμα κατά τη διάρκεια της απαιτητικής πολυετούς εργασίας μου στη Μεγάλη Βρετανία, για τη πολύτιμη διδασκαλία του. Ωφείλω ακόμα να ευχαριστήσω τον κύριο Pierre Martin-Hirsch και τον κύριο Marc Arbyn για την εκπαίδευση, που μου πρόσφεραν στον τομέα των μετα-αναλύσεων και τις εύστοχες κριτικές τους. Δεν θα μπορούσα να ολοκληρώσω τον πρόλογο δίχως να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου για την υποστήριξη, την υπομονή αλλά και την παρακίνηση της συζύγου μου Έρης.

Επλίζω το παρόν σύγγραμμα να διευκολύνει την αποσαφήνιση της έως σήμερα κατάστασης στο σημαντικό αυτό θέμα. Θα μου προκαλέσει όμως ιδιαίτερη ικανοποίηση αν μέσω της διατριβής μου καταφέρω να μεταδώσω στους νεαρούς συναδέλφους αναγνώστες την ορθή μεθοδολογία αξιολόγησης της πληθώρας και συχνά αντικρουόμενης ιατρικής πληροφορίας, που τους παρέχεται καθημερινά στον γραπτό και κυρίως στον ηλεκτρονικό επιστημονικό τύπο.

*“It's possible to own too much.
A man with one watch knows what time it is;
a man with two watches is never quite sure.”*

Lee Segall 1971



ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Πρόλογος	σελ. 9
I. Γενικό Μέρος	σελ. 13
1. Μαζικός έλεγχος του πληθυσμού για την πρωτογενή πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας	σελ. 13
1.1 <i>Επιδημιολογία του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας</i>	σελ. 13
1.2 <i>Τρέχουσα πρακτική μαζικού ελέγχου</i>	σελ. 14
1.3 <i>Αποτελεσματικότητα των μεθόδων μαζικού ελέγχου με το τεστ κατά Παπανικολάου</i>	σελ. 16
2. Εξέταση ανίχνευσης του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV testing)	σελ. 20
2.1 <i>Βιολογία και φυσική ιστορία του HPV</i>	σελ. 20
2.2 <i>Επιδημιολογία του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων</i>	σελ. 22
2.3 <i>Μέθοδοι ανίχνευσης λοίμωξης από HPV</i>	σελ. 23
2.4 <i>Προβλήματα της εξέτασης ανίχνευσης του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων</i>	σελ. 25
3. Συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις	σελ. 27
II. Ειδικό Μέρος	σελ. 31
ΠΑ. Πειραματική Μελέτη	σελ. 25
1. Σκοπός της μελέτης	σελ. 25
2. Υλικό Μέθοδος	σελ. 27
2.1 <i>Συμμετέχοντες-Πρωτόκολλο</i>	σελ. 27
2.2 <i>Μέθοδος ανίχνευσης και τυποποίησης HPV</i>	σελ. 28
2.3 <i>Στατιστική μεθοδολογία</i>	σελ. 29
3. Αποτελέσματα	σελ. 31
4. Συζήτηση	σελ. 39



ΠΒ. Μετα-ανάλυση	σελ. 42
1. Σκοπός της μετα-ανάλυσης	σελ. 42
2. Μέθοδος	σελ. 44
2.1 Βασικές αρχές	σελ. 44
2.2 Τύποι μελετών	σελ. 44
2.3 Κριτήρια εισαγωγής στη συστηματική ανασκόπηση	σελ. 45
2.4 Στρατηγική έρευνας για την αναγνώριση των μελετών	σελ. 46
3. Αποτελέσματα	σελ. 48
4. Συζήτηση	σελ. 74
Περίληψη	σελ. 78
Summary	σελ. 82
Βιβλιογραφία	σελ. 86



ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Μαζικός έλεγχος του πληθυσμού για την πρωτογενή πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

1.1 Επιδημιολογία του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Παγκοσμίως παρατηρούνται περίπου 440.000 περιστατικά καρκίνου του τραχήλου της μήτρας ετησίως, αλλά 80% αυτών αφορούν τον αναπτυσσόμενο κόσμο. Ο αριθμός αυτός συνιστά το 10% όλων των καρκίνων που απαντούν στις γυναίκες, κατά συνέπεια ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας αποτελεί την τρίτη συχνότερη αιτία θανάτου από κακοήθεια στις γυναίκες μετά από τον καρκίνο του πνεύμονα και του μαστού [1,2]. Η συχνότητα εμφάνισης τραχηλικού καρκίνου ποικίλει όχι μόνο μεταξύ χωρών αλλά και μεταξύ πληθυσμών διαφορετικής προέλευσης στην ίδια χώρα. Για παράδειγμα η αθροιστική επίπτωση του τραχηλικού καρκίνου στο διάστημα 1988-92 ήταν 34/1000 στον πληθυσμό Μαορί της Νέας Ζηλανδία ενώ στις υπόλοιπες γυναίκες της ίδιας χώρας ήταν 12/1000. Στο Los Angeles η επίπτωση στις Ισπανόφωνες γυναίκες ήταν 18/1000 ενώ στις Ιαπωνικής καταγωγής γυναίκες 4/1000. Παγκοσμίως η υψηλότερη επίπτωση, περίπου 50/1000 παρατηρείται σε περιοχές της Λατινικής Αμερικής και στην Κεντρική Αφρική [3].

Στον ανεπτυγμένο κόσμο η επίπτωση φαίνεται να έχει καθοδική πορεία ιδίως σε χώρες όπου εφαρμόζονται συστηματικά προγράμματα μαζικού ελέγχου. Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας είναι ο τρίτος συχνότερος γυναικολογικός καρκίνος στη Μεγάλη Βρετανία ακολουθώντας τους καρκίνους ωοθήκης και ενδομητρίου, αν και πριν την εισαγωγή του προγράμματος μαζικού ελέγχου κατείχε την πρώτη θέση [4]. Ο θάνατος από τραχηλικό καρκίνο αντιπροσωπεύει το 2% των θανάτων από καρκίνο και 4% των θανάτων από κάθε αιτία στις γυναίκες στην Μεγάλη Βρετανία. Στις ΗΠΑ αποτελεί την ένατη κατά σειρά



συχνότητας αιτία θανάτου από καρκίνο στις γυναίκες. Η μόνη ηλικιακή ομάδα στην οποία η θνησιμότητα έχει παρουσιάσει άνοδο τα τελευταία 40 χρόνια είναι η ομάδα 25-34 ετών. Η μέγιστη συχνότητα εμφάνισης παλαιότερα ήταν στις ηλικίες 45-55 ετών, αλλά τώρα έχει μειωθεί σημαντικά σε αυτή την ομάδα γυναικών. Ως αποτέλεσμα η μεγαλύτερη συχνότητα πλέον παρατηρείται στις ηλικίες 70-79 έτη [4].

Η λοίμωξη του τραχήλου της μήτρας από τους υψηλού κινδύνου τύπους του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων (Human Papillomavirus-HPV) θεωρείται αναγκαία για την τραχηλική καρκινογένεση, αν και μόνη η λοίμωξη από τον HPV δεν αποτελεί ικανό παράγοντα για την πρόκληση του καρκίνου καθώς η πλειοψηφία των γυναικών με τέτοια λοίμωξη δεν θα εμφανίσει καρκίνο [5]. Άλλοι γνωστοί παράγοντες κινδύνου για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας (γενετήσια συμπεριφορά, αντισυλληπτικά δισκία, κάπνισμα, εγκυμοσύνες, περιτομή του συντρόφου) έχουν τροποποιητική επίδραση στη σχέση ανάμεσα στη λοίμωξη από HPV και την καρκινογένεση [6,7]. Ωστόσο υπάρχουν ενδείξεις μιας πιθανής ανεξάρτητης συσχέτισης μεταξύ τραχηλικής ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας (cervical intraepithelial neoplasia-CIN) και καπνίσματος [8]. Η ανοσοκαταστολή παίζει επίσης κάποιον ρόλο, πιθανώς αναστέλλοντας την ανοσολογική απάντηση ενάντια στα μολυσμένα από τον HPV κύτταρα.

1.2 Τρέχουσα πρακτική μαζικού ελέγχου

Ένα ικανοποιητικό τεστ μαζικού ελέγχου (screening) πρέπει να πληρεί τα κριτήρια που έχει θέσει ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) [9]. Στις ανεπτυγμένες χώρες ο μαζικός έλεγχος του γενικού πληθυσμού για την πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας γίνεται μέσω της κυτταρολογικής εξέτασης του τραχηλικού επιχρίσματος (τεστ



Παπανικολάου). Η γενικότερη ευρωπαϊκή πολιτική, αν και όχι επισήμως καθορισμένη, είναι να καλούνται οι γυναίκες ηλικίας 20-64 ετών για τεστ Παπανικολάου κάθε 3 περίπου χρόνια. Η εγκαθίδρυση ενός προγράμματος μαζικού ελέγχου για το γενικό πληθυσμό με το ιδεώδες μεσοδιάστημα επανελέγχου προϋποθέτει σημαντική υποδομή, έμψυχο δυναμικό και εξοπλισμό, το οποίο μπορεί να αποτελεί εμπόδιο για τις αναπτυσσόμενες χώρες. Ωστόσο στην περίπτωση του μαζικού ελέγχου για τον καρκίνο του τραχήλου έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει υγειονομικό όφελος ακόμα και αν το τεστ γίνει κάθε 10 χρόνια ή και έστω μία και μόνο φορά στη ζωή της γυναίκας..

Το πιο διαδεδομένο παγκοσμίως σύστημα αναφοράς τραχηλικών κυτταρολογικών διαγνώσεων είναι το Bethesda system. Σε αυτό το σύστημα τα επιχρίσματα κατατάσσονται σε κάποια από τις παρακάτω κατηγορίες: καλοήθεις κυτταρικές αλλοιώσεις (benign cellular changes), άτυπα πλακώδη κύτταρα αδιευκρίνιστης σημασίας (atypical squamous cells of undetermined significance-ASCUS), χαμηλόβαθμη πλακώδης ενδοεπιθηλιακή βλάβη (low grade squamous intraepithelial lesion-LSIL), υψηλόβαθμη πλακώδης ενδοεπιθηλιακή βλάβη (high grade squamous intraepithelial lesion-HSIL), καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων (squamous cell carcinoma), άτυπα αδενικά κύτταρα αδιευκρίνιστης σημασίας (atypical glandular cells of undetermined significance-AGUS), αδenoκαρκίνωμα. Τα κριτήρια παραπομπής για κολποσκόπηση είναι δύο συνεχόμενες διαγνώσεις ASCUS ή μία διάγνωση LSIL, HSIL, AGUS ή καρκινώματος [10].

Στη Μεγάλη Βρετανία, αντί του Bethesda system, η έκθεση της εξέτασης των τραχηλικών επιχρισμάτων γίνεται βάσει της ορολογίας της British Society of Cervical Cytopathology (BSCC), η οποία περιλαμβάνει τις ακόλουθες κατηγορίες: αρνητικό, ανεπαρκές, ήπια δυσκαρύωση, μέτρια δυσκαρύωση, σοβαρή δυσκαρύωση, πιθανός



διηθητικός καρκίνος, αδενική νεοπλασία, οριακές (borderline) αλλαγές. Σε αυτό το σύστημα ενδείξεις για κολποσκόπηση θεωρούνται τρία συνεχόμενα ανεπαρκή επιχρίσματα, δύο συνεχόμενα borderline, ή ένα επίχρισμα των κατηγοριών δυσκαρύωσης, πιθανού διηθητικού καρκίνου ή αδενικής νεοπλασίας. Το πρόγραμμα μαζικού ελέγχου για καρκίνο του τραχήλου της μήτρας κοστίζει στο Εθνικό Σύστημα Υγείας (NHS) της Μεγάλης Βρετανίας πάνω από 140 εκατομύρια λίρες ετησίως. Το προσωπικό των νοσοκομείων ασχολήθηκε με περισσότερα από 4.000.000 δείγματα κάθε χρόνο (4.371.561 από 3.250.700 γυναίκες το έτος 2002 [11]. Στη Μεγάλη Βρετανία περίπου 9% των δειγμάτων χαρακτηρίζονται ανεπαρκή και χρήζουν επανάληψης, 6% αναφέρονται ως οριακά ή με ήπιες αλλοιώσεις και χρειάζονται επανέλεγχο με κυτταρολογία η κολποσκόπηση και 1.5% παρουσιάζουν μέτρια η σοβαρή δυσκαρύωση απαιτώντας άμεση παραπομπή για κολποσκόπηση [11].

1.3 Αποτελεσματικότητα των μεθόδων μαζικού ελέγχου με το τεστ κατά Παπανικολάου

Το screening που βασίζεται στη μελέτη των αποφολιδωμένων κυττάρων του επιθηλίου του τραχήλου της μήτρας (τεστ Παπ) έχει αποδειχθεί αποτελεσματικό μειώνοντας την επίπτωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας εκεί όπου υπάρχουν οργανωμένα προγράμματα [12]. Η πρώτη ένδειξη της αποτελεσματικότητας του ήρθε από τις χώρες της Βόρειας Ευρώπης. Τα αθροιστικά ποσοστά θνησιμότητας σε συσχέτιση με την έκταση του προγράμματος μαζικού ελέγχου μελετήθηκαν σε πέντε χώρες κατά τα έτη 1965 και 1982 . Στην Ισλανδία όπου το εθνικό πρόγραμμα εφαρμόστηκε σε γυναίκες μεγαλύτερου εύρους ηλικιών η πτώση της θνησιμότητας ήταν μεγαλύτερη (80%). Στη Φινλανδία και τη Σουηδία που επίσης διέθεταν εθνικά προγράμματα η θνησιμότητα μειώθηκε κατά 50% και 34% αντίστοιχα. Στη Δανία όπου περίπου 40% του πληθυσμού καλύπτονταν από οργανωμένα



προγράμματα, η συνολική θνησιμότητα παρουσίασε πτώση κατά 25% ενώ στη Νορβηγία όπου μόνο 5% του πληθυσμού καλύπτονταν η θνησιμότητα μειώθηκε μόνο κατά 10% [13]. Στο Ηνωμένο Βασίλειο μετά την υιοθέτηση του εθνικού συστήματος κλήσης και ανάκλησης γυναικών (call-recall) το 1988 η επίπτωση μειώθηκε κατά 35% και η θνησιμότητα κατά 60%. Ειδικότερα στη Μεγάλη Βρετανία η επίπτωση του διηθητικού καρκίνου του τραχήλου παρουσίασε πτώση από 14-16/100.000 το 1971 σε 10/100.000 το 1995, παρόμοια η θνησιμότητα μειώθηκε από 11,2/100.000 το 1950 σε 6,1/100.000 το 1987 και 3,7/100.000 το 1997 [4]. Έχει υπολογιστεί ότι χωρίς την εξέταση κατά Παπανικολάου ο αριθμός των καρκίνων του τραχήλου ετησίως θα ήταν κατά 75% υψηλότερος. Στις Ηνωμένες Πολιτείες η επίπτωση έχει μειωθεί από 14,2/100.000 το 1973 σε 7,4/100.000 το 1994 [14].

Οι περισσότεροι θάνατοι συμβαίνουν σε γυναίκες που δεν έκαναν ποτέ έλεγχο τραχηλικού επιχρίσματος αλλά μερικοί συμβαίνουν σε γυναίκες που είχαν πρόσφατα αρνητικό αποτέλεσμα στο τεστ Pap. Μία μελέτη (audit) στη Μεγάλη Βρετανία αποκάλυψε ότι 47% των γυναικών ηλικίας κάτω των 70% που παρουσίασαν καρκίνο σταδίου IB ή σοβαρότερο είχαν συμμετάσχει κανονικά το πρόγραμμα μαζικού ελέγχου χωρίς να αναγνωριστούν προβλήματα [15]. Είναι δύσκολη η διάκριση μεταξύ ταχέως εξελισσόμενου καρκίνου που αναπτύχθηκε στο μεσοδιάστημα των τεστ και καρκίνου που προϋπήρχε αλλά δεν ανιχνεύτηκε στον τελευταίο έλεγχο, αλλά υποθέτουμε ότι συχνότερο είναι το δεύτερο. Μετά τις παραπάνω μελέτες και παρατηρήσεις αναδύθηκε η αμφισβήτηση της καταλληλότητας της κυτταρολογικής μελέτης του τραχηλικού επιχρίσματος ως μεθόδου μαζικού ελέγχου του πληθυσμού.

Η ακρίβεια της κυτταρολογικής εξέτασης για την εντόπιση μιας τραχηλικής βλάβης εξαρτάται από τον ουδό χαρακτηρισμού της κυτταρολογίας ως θετικής (Χαμηλός: ASCUS ή



Υψηλός: HSIL) και από τον ορισμό της τραχηλικής βλάβης (πχ CIN1 ή CIN3) που χρησιμοποιήθηκε. Αυτό απλοποιημένα σημαίνει ότι είναι πολύ ευκολότερο για ένα τεστ να ανιχνεύσει ασθένεια όταν ακόμη και η ελάχιστη αλλοίωση θεωρείται ότι θετικοποιεί το αποτέλεσμα του τεστ (χαμηλός ουδός κυτταρολογίας ASCUS) ή όταν αναζητούμε νόσο σε προχωρημένο στάδιο (CIN 3 αντί για CIN 1). Η ευαισθησία (η ικανότητα του τεστ να ανιχνεύει με ακρίβεια την υπάρχουσα ασθένεια) είναι υψηλότερη και η ειδικότητα (η ικανότητα του τεστ να ανιχνεύει τη μη ύπαρξη ασθένειας) είναι χαμηλότερη όταν χρησιμοποιείται χαμηλός κυτταρολογικός ουδός (πχ ASCUS ή LSIL) ή προχωρημένο στάδιο για τον ορισμό της νόσου (CIN 3). Αντιστρόφως αυξάνοντας τον κυτταρολογικό ουδό (HSIL) ή μειώνοντας τα κριτήρια για τον ορισμό της νόσου (CIN 1) βελτιώνεται η ειδικότητα σε βάρος της ευαισθησίας.

Μια συστηματική ανασκόπηση της ακρίβειας του τεστ Παπανικολάου υπολόγισε τη μέση ευαισθησία και ειδικότητα για διάφορους συνδυασμούς των παραπάνω ουδών [16]. Για ουδούς LSIL/CIN 2-3 η ευαισθησία είναι 83% και η ειδικότητα 66%. Για ουδούς HSIL/CIN 2-3 η ευαισθησία είναι χαμηλότερη (58%) και η ειδικότητα υψηλότερη (92%). Σε μια ανασκόπηση μελετών που αξιολογούν την επίδοση της κυτταρολογίας σε πληθυσμούς με χαμηλό επιπολασμό τραχηλικών αλλοιώσεων, αποδείχθηκε ότι το τεστ Παπανικολάου έχει χειρότερη απόδοση από πλευράς ευαισθησίας παρά από πλευράς ειδικότητας [17], που σημαίνει ότι δίνει υψηλό αριθμό ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων. Σε ένα screening τεστ τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα αποτελούν ένα πολύ πιο ανησυχητικό φαινόμενο από τα ψευδώς θετικά, επειδή οι γυναίκες αυτές θα παραμείνουν αδιάγνωστες και θα είναι σε κίνδυνο για εμφάνιση καρκίνου. Ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα μπορούν να οφείλονται είτε σε σφάλματα κατά τη διάρκεια της λήψης, είτε σε σφάλματα στην εξέταση του επιχρίσματος.



Έχουν επίσης εκφραστεί επιφυλάξεις σχετικά με την αναπαραγωγιμότητα του τεστ Παπ, καθώς παρατηρείται σημαντική διακύμανση στο χαρακτηρισμό των επιχρισμάτων μεταξύ κυτταρολόγων [18].

Είναι επομένως επιτακτική η ανάγκη εισαγωγής ενός καλύτερου screening τεστ για την πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και συγκεκριμένα να διερευνηθεί ο ρόλος του τεστ για την ανίχνευση DNA του HPV (HPV testing). Δύο πιθανές προσεγγίσεις έχουν προταθεί: Η χρήση του HPV testing παράλληλα με το τεστ Παπ ή η χρήση του ως αποκλειστικής μεθόδου screening αντικαθιστώντας το τεστ Παπ.



2. Εξέταση ανίχνευσης του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV testing)

2.1 Βιολογία και φυσική ιστορία του HPV

Οι ιοί των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV) είναι μικροί DNA ιοί αποτελούμενοι από 7900 ζεύγη βάσεων. Ανήκουν στην οικογένεια των Παροναϊών. Έχουν ανιχνευθεί πάνω από 100 τύποι HPV με βάση τις διαφορές τους ως προς το DNA. Μολύνουν το επιθήλιο και διακρίνονται σε δερματικούς και βλεννογονικούς τύπους. Οι βλεννογονικοί τύποι μπορούν να μολύνουν το γεννητικό σύστημα συμπεριλαμβανομένου του αιδοίου, του κόλπου, του τραχήλου και της περιεδρικής χώρας. Επιπλέον υποδιαιρούνται σε υψηλού, μέσου και χαμηλού κινδύνου ανάλογα με το είδος βλαβών που προκαλούν και τη συσχέτισή τους με νεοπλασίες. Η κλινική εικόνα της λοίμωξης από HPV περιλαμβάνει μεταξύ άλλων οξυτενή κονδυλώματα, τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (CIN), και διηθητικό καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, αν και οι πιο πολλές λοιμώξεις είναι ασυμπτωματικές. Δεκαπέντε τύποι υψηλού και μέσου κινδύνου (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82) έχουν συσχετιστεί με CIN και καρκίνο του τραχήλου εκ πλακώδους ή αδενικού επιθηλίου [19]. Χαμηλού κινδύνου τύποι (ιδίως οι τύποι 6, 11 αλλά και 42, 43, 44) συνήθως ανιχνεύονται στα κονδυλώματα των γεννητικών οργάνων.

Το γενετικό υλικό των HPV διαιρείται σε επτά πρώιμες περιοχές (early-E regions) και δύο όψιμες περιοχές (late-L regions). Οι L1 και L2 περιοχές κωδικοποιούν την πρωτεΐνη του καψιδίου του ιού, ενώ τα γονίδια της περιοχής E (E1-E7) εμπλέκονται στην αναπαραγωγή του ιού και την μεταμόρφωση των μολυσμένων κυττάρων. Όταν ο HPV σχετίζεται με μία καλοήγη βλάβη, το γένωμα του ιού αναπαράγεται ξεχωριστά από το DNA του κυττάρου ξενιστή. Αντίθετα σε κακοήθεις βλάβες το DNA ενσωματώνεται στα χρωμοσώματα του



κυττάρου ξενιστή. Μετά την ενσωμάτωση διάφορα γεγονότα οδηγούν στην απορρύθμιση των γονιδίων E6 και E7 του HPV. Τα προϊόντα των γονιδίων E6 και E7 απενεργοποιούν τους ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου του ξενιστή, τα ογκογονίδια p53 και pRB, ξεκινώντας μια διαδικασία μεταμόρφωσης των κυττάρων που οδηγεί σε άναρχο πολλαπλασιασμό και τελικά σε CIN και διηθητικό καρκίνο.

Το CIN αποτελεί μια συνεχή διαδικασία άτυπων προκαρκινικών κυτταρικών αλλαγών του τραχηλικού επιθηλίου που προοδευτικά επιδεινώνεται και τελικά σε μερικές περιπτώσεις εξελίσσεται σε διηθητικό καρκίνωμα. Στον τράχηλο η διαδικασία ξεκινά από τη ζώνη μετάπτωσης. Το CIN διαιρείται σε τρεις βαθμίδες : CIN1 (ήπια δυσπλασία) που μπορεί να υποστρέψει τελείως αλλά στο ένα τρίτο των περιπτώσεων μπορεί να εξελιχθεί σε CIN2 (μέτρια δυσπλασία). Το CIN2 σε ποσοστό έως και 50% μπορεί να εξελιχθεί σε CIN3 (σοβαρή δυσπλασία) το οποίο έχει πολύ μικρότερες πιθανότητες να υποστρέψει και είναι πρόδρομη κατάσταση του διηθητικού καρκίνου. Αναφορικά με την χρονική διάρκεια της τραχηλικής καρκινογένεσης έχουν δειχθεί τα εξής: Για τη μετάβαση από απλή HPV λοίμωξη σε CIN 3 έχει υπολογιστεί ότι απαιτούνται λιγότερο από έξι χρόνια. Περίπου 30% των CIN 3 θα εξελιχθεί σε καρκίνο μέσα σε δέκα χρόνια. Από φυσιολογική κυτταρολογία χρειάζεται να περάσουν τουλάχιστον δεκατρία χρόνια προκειμένου να αναπτυχθεί καρκίνος τραχήλου μήτρας [20]. Η λοίμωξη από HPV είναι παρούσα σε ποσοστό 70% των χαμηλού βαθμού CIN και πλέον των 90% των υψηλού βαθμού CIN [21]. DNA του ιού HPV έχει ανιχνευθεί σε ποσοστό έως και 99.7% των τραχηλικών καρκίνων [22] και οι καρκινογενετικές του ιδιότητες έχουν αποδειχθεί in vitro. Παρά ταύτα οι περισσότερες λοιμώξεις από HPV είναι παροδικές και καλοήθειες. Η επιμονή της λοίμωξης είναι αυτή που θέτει τη γυναίκα σε κίνδυνο ανάπτυξης CIN και την εμφάνιση τραχηλικού καρκίνου.



Καθώς οι περισσότερες υψηλού κινδύνου λοιμώξεις από HPV δεν καταλήγουν σε καρκίνο τραχήλου μήτρας οι ερευνητές προσπάθησαν να ανιχνεύσουν προδιαθεσικούς παράγοντες. Έχουν βρεθεί συσχετίσεις μεταξύ καρκινογένεσης τραχήλου και συγκεκριμένων αντιγόνων HLA [23,24,25] και πολυμορφισμό του ογκογονιδίου p53 [26]. Τόσο η μη ειδική ανοσία (φυσικά κυτταροκτόνα – natural killers) όσο και η ειδική ως προς αντιγόνα (Χυμική και Κυτταρική) ανοσία εμπλέκονται στην άμυνα έναντι του ιού HPV. Η IgG του ορού και η εκκριτική IgA εμποδίζουν την προσκόλληση του ιού στα επιθηλιακά κύτταρα. Εντούτοις εφόσον η λοίμωξη εγκατασταθεί, τα αντισώματα δεν μπορούν πάντα να εξολοθρεύσουν τον ιό. Η κυτταρική ανοσία είναι ουσιαστική σε αυτό το στάδιο καθώς τα CD4+ και CD8+ λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται, καταστρέφουν τα μολυσμένα κύτταρα και παράγουν κυτταροκίνες όπως ιντερφερόνες που έχουν αντικές ιδιότητες [27].

2.2 Επιδημιολογία του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων

Η συχνότητα της λοίμωξης από HPV ποικίλει ανάλογα με τον πληθυσμό που μελετήθηκε και την δοκιμασία εξέτασης που χρησιμοποιήθηκε. Περίπου 10% έως 20% των σεξουαλικά ενεργών ενηλίκων παρουσιάζουν ένδειξη σε μοριακό επίπεδο τρέχουσας λοίμωξης γεννητικών οργάνων από HPV και σε ποσοστό 50% έως 75% αυτών η λοίμωξη είναι από τους τύπους υψηλού κινδύνου. Με βάση ορολογικές εξετάσεις που έγιναν υποστηρίζεται ότι πάνω από 50% των σεξουαλικά ενεργών γυναικών είχαν στο παρελθόν τους λοίμωξη με ένα τουλάχιστον τύπο του ιού HPV. Το ποσοστό λοίμωξης από οποιοδήποτε τύπο του ιού HPV στις σεξουαλικά ενεργείς νεαρές γυναίκες σε διάστημα τριών ετών ήταν 44% όπως αποδείχθηκε σε πρόσφατη μελέτη [28]. Εντούτοις οι περισσότερες από αυτές τις λοιμώξεις είναι παροδικές. Γυναίκες ηλικίας κάτω των 25 -30 ετών παρουσιάζουν



υψηλότερα ποσοστά λοίμωξης αν και μία δεύτερη αιχμή έχει περιγραφεί στις γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση.

Η εξάπλωση της λοίμωξης από HPV γίνεται πρωτίστως μέσω σεξουαλικής επαφής. Παράγοντες κινδύνου αποτελούν ο μεγάλος αριθμός σεξουαλικών συντρόφων, η παρουσία κονδυλωμάτων γεννητικών οργάνων στους συντρόφους, το θετικό ιστορικό σεξουαλικά μεταδιδόμενων λοιμώξεων, το κάπνισμα, η χρήση από του στόματος αντισυλληπτικών, πολλαπλές κυήσεις και η ανοσοκαταστολή. Η υπολογιζόμενη συχνότητα των κονδυλωμάτων των γεννητικών οργάνων στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής είναι 1% και στην Ευρώπη ποικίλει μεταξύ 0,6% και 3%. Περίπου τρία με τέσσερα τοις εκατό των γυναικών του δυτικού κόσμου πάσχουν από CIN. Κατά προσέγγιση τα δύο τρίτα των αλλοιώσεων είναι χαμηλού βαθμού και το ένα τρίτο είναι υψηλού βαθμού [11, 27, 29].

2.3 Μέθοδοι ανίχνευσης λοίμωξης από HPV

Καθώς ο HPV δεν καλλιεργείται και καθώς μόνο μικρές ποσότητες αντιγόνων του βρίσκονται στα σωματικά υγρά, η διάγνωση της λοίμωξης από HPV γίνεται με ανίχνευση του ιικού DNA. Η ανίχνευση γίνεται χρησιμοποιώντας την τεχνολογία υβριδισμού του αναζητούμενου DNA με μικρά σεσημασμένα συμπληρωματικά του τμήματα νουκλεϊκών οξέων (probes). Οι διπλές έλικες DNA που εξετάζονται για την παρουσία αλληλουχιών DNA του HPV διαχωρίζονται σε απλές έλικες με φυσικά ή χημικά μέσα. Έπειτα προστίθενται τα probes και επάγεται η δημιουργία συμπληρωματικών αλυσίδων. Σε αυτό το σημείο τα σεσημασμένα probes ανταγωνίζονται για τη σύνδεση με τη συμπληρωματική τους αλυσίδα, αν αυτή υπάρχει, και το αποτέλεσμα της αντίδρασης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να



αποκαλύψει την παρουσία της αναζητούμενης αλληλουχίας DNA. Η διαδικασία της σύζευξης του probe με το στόχο καλείται υβριδισμός.

Τα Probe τεστ μπορούν να χωριστούν σε τρεις ευρείες κατηγορίες: μη ενισχυμένα τεστ (non-amplified πχ. in situ υβριδισμός), τεστ με ενίσχυση στόχου (target-amplified πχ. αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης - PCR), και τεστ με ενίσχυση σήματος (signal-amplified tests πχ. hybrid capture system - Digene corp, Gaithersburg, USA). Η μέθοδος in situ υβριδισμού ανιχνεύει το DNA του HPV μέσα στα κύτταρα σε τομές ιστών. Είναι η μοναδική μέθοδος που διατηρεί τη μορφολογία του ιστού. Η τυποποίηση καθώς και ο ποσοτικός προσδιορισμός του HPV είναι επίσης εφικτά με τη μέθοδο αυτή. Οι περιορισμοί της μεθόδου αυτής έγκεινται στη χαμηλή της ευαισθησία και στο γεγονός ότι απαιτεί έντονη εργασία. Το hybrid capture system είναι πιο ευαίσθητο και εύκολο στη χρήση. Είναι ημιοσοτική μέθοδος και μπορεί να ανιχνεύσει δεκατρείς υψηλού κινδύνου τύπους. Η τυποποίηση γίνεται με ειδικά για κάθε τύπο HPV probes, αλλά στο hybrid capture system που διατίθεται στο εμπόριο τα 13 probes είναι αναμεμιγμένα σε cocktail, με αποτέλεσμα η ακριβής διάκριση ανάμεσα σε καθένα από αυτούς τους τύπους να μην είναι κατά κανόνα εφικτή. Διατίθεται επίσης cocktail για χαμηλού κινδύνου τύπους. Η PCR είναι η πιο ευαίσθητη μέθοδος αλλά είναι πολυέξοδη και χρονοβόρα. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τυποποίηση και ποσοτικό προσδιορισμό. Η πολύ υψηλή του ευαισθησία την καθιστά πολύτιμη στον τομέα της έρευνας, αλλά περιορίζει το ρόλο της στην κλινική πράξη αφού μπορεί να ανιχνεύσει πολύ μικρά ποσά HPV DNA χωρίς ιδιαίτερη κλινική σημασία [30].

Ενα δυνητικό πλεονέκτημα της εξέτασης για πιθανή λοίμωξη από HPV είναι ότι το προς εξέταση δείγμα μπορεί να ληφθεί από την ίδια τη γυναίκα αποφεύγοντας έτσι την επίσκεψή της στο ιατρείο [31,32]. Αυτό μπορεί να φανεί χρήσιμο στον μαζικό έλεγχο



κάποιων γυναικών που δεν δέχονται άνετα τη γυναικολογική εξέταση και ως συνέπεια αποφεύγουν το τεστ Παπανικολάου.

2.4 Προβλήματα της εξέτασης ανίχνευσης του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων

Υπάρχουν ορισμένες επιφυλάξεις σχετικά με το αν η εξέταση για την παρουσία HPV, ως screening τεστ, πληρεί τα κριτήρια του Παγκοσμίου Οργανισμού Υγείας (WHO). Ερωτηματικά ανακύπτουν σχετικά με την ειδικότητα και συνεπώς και την θετική προγνωστική αξία του HPV testing ως μεθόδου μαζικού ελέγχου του πληθυσμού για καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Αυτό συμβαίνει επειδή η λοίμωξη από HPV είναι πολύ συχνή και συχνά παροδική στις νέες γυναίκες και η επιμονή της λοίμωξης είναι αυτή που θέτει τη γυναίκα σε κίνδυνο για τραχηλικό καρκίνο. Έτσι ένα και μόνο θετικό τεστ ανίχνευσης του DNA του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων θα μπορούσε να έχει χαμηλή θετική προγνωστική αξία οδηγώντας σε πολλές, χωρίς λόγο, παραπομπές.

Ένα άλλο θέμα που προκύπτει είναι αφορά την αποδοχή μιας εξέτασης που ανιχνεύει έναν σεξουαλικά μεταδιδόμενο ιο από τις γυναίκες και τους συντρόφους τους. Ένα θετικό αποτέλεσμα πέρα από το άγχος που μπορεί να προκαλέσει στις γυναίκες αυτές μπορεί και να τις στιγματίσει κοινωνικά. Αυτό κατ'επέκταση μπορεί να επιφέρει ένταση στη σχέση της γυναίκας με το σεξουαλικό της σύντροφο.

Ένα τελευταίο πρόβλημα που τίθεται είναι το κόστος της εξέτασης. Μέχρι στιγμής τα δεδομένα για τη σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας (cost-effectiveness) είναι ανεπαρκή και μελέτες modelling είναι σε εξέλιξη. Η σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας θα εξαρτηθεί αφενός από τον τρόπο ενσωμάτωσης του τεστ στο πρόγραμμα screening: (α) συνδυασμένα με το τεστ Παπανικολάου, (β) ως το μοναδικό screening τεστ, (γ) ως αρχικό τεστ



ακολουθούμενο από τεστ Παπανικολάου σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος, και αφετέρου από το όριο ηλικίας των γυναικών στις οποίες θα εφαρμόζεται το τεστ.



3. Συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-ανάλυσεις

Η συστηματική ανασκόπηση είναι μια αυστηρώς καθορισμένη μεθοδολογικά διαδικασία συνδυασμού των πληροφοριών που προκύπτουν από όλες τις μελέτες (δημοσιευθείσες και μη) που αφορούν ένα συγκεκριμένο υγειονομικό θέμα. Οι μελέτες αυτές είναι συνήθως πειραματικές και ιδεωδώς τυχαιοποιημένες με χρήση μαρτύρων. Συστηματικές ανασκοπήσεις μπορούν όμως να γίνουν και με απλούστερες μελέτες. Τα αποτελέσματα των συστηματικών ανασκοπήσεων έχουν θεμελιώδη θέση στην άσκηση της ιατρικής στη σύγχρονη εποχή (evidence based medicine) καθώς αποτελούν τα πιο βάσιμα στοιχεία για το υπό εξέταση θέμα (πχ. την αξιολόγηση μιας διαγνωστικής ή θεραπευτικής μεθόδου). Για το λόγο αυτό έχει δημιουργηθεί το Cochrane Collaboration, το οποίο είναι ένα δίκτυο ιατρών, επιδημιολόγων και πολιτών που σκοπό έχει τη διεξαγωγή και δημοσίευση συστηματικών ανασκοπήσεων.

Τα πλεονεκτήματα των συστηματικών ανασκοπήσεων είναι:

- Η σύμπτυξη ενός μεγάλου όγκου πληροφοριών σε ένα μικρότερο και εύχρηστο άρθρο.
- Η μεγαλύτερη ευκολία και το μικρότερο κόστος σε σχέση με μία καινούργια μελέτη. Μια συστηματική ανασκόπηση μπορεί να αποτρέψει την έναρξη περαιτέρω περιττών μελετών στο ίδιο θέμα και επιταχύνοντας κατά αυτόν τον τρόπο την εφαρμογή των νεωτέρων εξελίξεων στην ιατρική πράξη.
- Η γενίκευση των αποτελεσμάτων σε έναν ευρύτερο πληθυσμό από αυτόν της κάθε μεμονωμένης μελέτης
- Η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Με μια συστηματική ανασκόπηση αποσκοπούμε στον περιορισμό των σφαλμάτων σε σύγκριση με τις μεμονωμένες μελέτες.



- Η μεγαλύτερη ισχύς για την ανίχνευση μιας στατιστικώς σημαντικής διαφοράς σε σύγκριση με τις μεμονωμένες μελέτες.

Η μετα-ανάλυση είναι ένας ιδιαίτερος τύπος συστηματικής ανασκόπησης που εστιάζει σε αριθμητικά αποτελέσματα. Ο κύριος στόχος της μετα-ανάλυσης είναι ο συνδυασμός των αριθμητικών δεδομένων των επιμέρους μελετών σχετικά με την εξεταζόμενη παράμετρο (πχ. την ευαισθησία μιας διαγνωστικής μεθόδου ή τον σχετικό κίνδυνο για μια επιπλοκή) ώστε να υπολογιστεί ένα συνολικό αποτέλεσμα ή μέσος όρος.

Όσον αφορά τη στατιστική, η διεξαγωγή μιας μετα-ανάλυσης περιλαμβάνει τα κάτωθι στάδια:

- Καθορισμός της εξεταζόμενης παραμέτρου (πχ σχετικός κίνδυνος θανάτου από καρκίνο μετά τη χρήση κάποιας θεραπευτικής μεθόδου) και εξαγωγή των σχετικών δεδομένων (πχ αριθμός θανάτων από καρκίνο στους ασθενείς που χρησιμοποιήθηκε η συγκεκριμένη θεραπευτική μέθοδος) από την κάθε μελέτη.
- Υπολογισμός της στατιστικής ομοιογένειας ή ετερογένειας μεταξύ των αποτελεσμάτων των διαφόρων μελετών. Αν υπάρχει σημαντική ετερογένεια, πρέπει να αναζητηθούν οι αιτίες αυτής και η παρουσίαση των αποτελεσμάτων να γίνει με επιφύλαξη.
- Υπολογισμός του μέσου όρου του ζητούμενου μεγέθους με τα διαστήματα αξιοπιστίας (confidence intervals-CI).
- Επεξήγηση και παρουσίαση των αποτελεσμάτων. Τα αποτελέσματα κάθε μελέτης πρέπει να συνοψίζονται σε πίνακες. Ο πιο συνηθισμένος γραφικής παρουσίασης μιας μετα-ανάλυσης είναι το Forest plot.

Η μετα-ανάλυση έχει τα ίδια πλεονεκτήματα με τις συστηματικές ανασκοπήσεις. Ωστόσο η μη ορθολογική χρήση των προγραμμάτων μετα-ανάλυσης μπορεί να οδηγήσει σε



λανθασμένα συμπεράσματα. Τα παρακάτω δυνητικά προβλήματα πρέπει να ερευνηθούν και να λυθούν πριν την εκτέλεση μιας μετα-ανάλυσης.

- Συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης (publication bias). Υπάρχει η τάση να συμπεριλαμβάνονται στην ανάλυση μόνο τα αποτελέσματα από δημοσιευθείσες μελέτες, οι οποίες συνήθως δίνουν στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα.
- Κλινική ετερογένεια μελετών: διαφορές στον πληθυσμό, στα ζητούμενα μεγέθη, στους ορισμούς των μεταβλητών, στη διάρκεια της παρακολούθησης, κα.
- Ποιοτικές διαφορές μεταξύ μελετών στο σχεδιασμό και στην εκτέλεση των μελετών. Μία λύση στο πρόβλημα αυτό είναι να δίνεται μεγαλύτερο βάρος στις μελέτες καλύτερης ποιότητας αλλά η επιλογή αυτή μπορεί να είναι υποκειμενική.
- Εξάρτηση: όταν τα αποτελέσματα μιας δημοσιευμένης μελέτης συμπεριλαμβάνονται μερικώς ή ολικώς και σε άλλη δημοσίευση.



II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ: Α. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

1. Σκοπός της μελέτης

Ο σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να διερευνηθεί η υπόθεση ότι η προσθήκη του HPV testing στο μαζικό έλεγχο του ελληνικού πληθυσμού θα βελτίωνε το ποσοστό ανίχνευσης CIN. Η θνησιμότητα από τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας έχει μειωθεί κατά τις τελευταίες τρεις δεκαετίες ως αποτέλεσμα της εφαρμογής προγραμμάτων μαζικού ελέγχου. Τα προγράμματα αυτά χρησιμοποιούν ως επί το πλείστον την κυτταρολογική εξέταση του τραχηλικού επιχρίσματος (Τεστ Παπανικολάου) με σκοπό την αναγνώριση προκαρκινικών αλλοιώσεων με κυριώτερη την τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (CIN). Είναι πλέον ευρέως αποδεκτό ότι οι γυναίκες στις οποίες το Τεστ Παπανικολάου είναι ενδεικτικό πλακώδους ενδοεπιθηλιακής αλλοίωσης (SIL) θα πρέπει να παραπέμπονται για κολποσκόπηση [33,34] όπως και αυτές με επαναλαμβανόμενο αποτέλεσμα υποδηλωτικό άτυπων πλακωδών κυττάρων ακαθόριστης σημασίας (ASCUS). Οι περισσότερες κυτταρικές μορφολογικές αλλοιώσεις που σχετίζονται με τη λοίμωξη από τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV) εντάσσονται στην κατηγορία LSIL. Κάποια κύτταρα όμως μπορούν να ενταχθούν στην κατηγορία ASCUS ή αντιδραστικών κυτταρικών αλλαγών. Οι κατηγορίες αυτές δεν αποτελούν ένδειξη παραπομπής για κολποσκόπηση παρά το γεγονός ότι έχει βρεθεί πως όχι σπάνια υποκρύπτεται πιο σοβαρή αλλοίωση [35-37].

Καθώς η ευαισθησία της κυτταρολογίας φαίνεται ότι είναι περιορισμένη σε κάποιες μελέτες [58] θα ήταν επιθυμητό να αυξηθεί η ευαισθησία του προγράμματος μαζικού ελέγχου δίχως όμως να αυξηθεί δυσανάλογα ο αριθμός των παραπομπών για κολποσκόπηση. Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον στο μαζικό έλεγχο έχει εστιαστεί στο τεστ για την ανίχνευση DNA του HPV (HPV testing) και στον πιθανό ρόλο του στην ανίχνευση CIN είτε σε



συνδυασμό με το τεστ Παπανικολάου [58,38,39], είτε αντί αυτού [22,60]. Είναι πλέον βέβαιο ότι ορισμένοι τύποι HPV, οι λεγόμενοι υψηλού κινδύνου τύποι (16, 18, 31, 33, 45, 51, 56, 58) σχετίζονται με την τραχηλική καρκινογένεση και ανιχνεύονται σε άνω του 95% των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας [40,41]. Υπάρχει ωστόσο μια ασάφεια σχετικά με το ρόλο του HPV testing στο μαζικό έλεγχο, καθώς έχουν δημοσιευθεί μελέτες με αντικρουόμενα συμπεράσματα, στο σημείο που δύο ανασκοπήσεις της βιβλιογραφίας αμφισβητούν τη χρήση του [42], και προτείνουν τον περιορισμό της [43].

Η παρούσα πειραματική μελέτη αυτή δημοσιεύτηκε στο περιοδικό *Gynecologic Oncology* [44].



2. Υλικό - Μέθοδος

2.1 Συμμετέχοντες-Πρωτόκολλο

Μελετήθηκαν χίλιες συνεχόμενες γυναίκες χωρίς ιστορικό παθολογίας του τραχήλου, οι οποίες επισκέφθηκαν τα γυναικολογικά εξωτερικά ιατρεία του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων εντός διετίας σε μία crosssectional μελέτη. Από κάθε γυναίκα λήφθηκε ένα τεστ Παπανικολάου από τον εξω- και ενδοτράχηλο με τη χρήση ξύλινης σπάτουλας και βούρτσας αντίστοιχα. Μετά το άπλωμα του επιχρίσματος στην αντικειμενοφόρο πλάκα η σπάτουλα και η βούρτσα ξεπλένονταν ξεχωριστά και φυσιολογικό ορό ώστε να απελευθερώσουν υπολειμματικά κύτταρα για το HPV τεστ. Από κάθε γυναίκα της μελέτης ζητήθηκε η έγγραφη συγκατάθεσή τους πριν την συμμετοχή τους στη μελέτη.

Το κυτταρολογικό εργαστήριο και το εργαστήριο μοριακής βιολογίας δεν είχαν γνώση των αποτελεσμάτων αλλήλων. Οι γυναίκες παραπέμπονταν για κολποσκόπηση είτε όταν το αποτέλεσμα του τεστ Παπανικολάου ήταν παθολογικό, είτε όταν το HPV τεστ ήταν θετικό για υψηλού κινδύνου τύπους. Ως παθολογικό τεστ Παπανικολάου ορίστηκαν τα αποτελέσματα της κατηγορίας ASCUS ή σοβαρότερα (low grade SIL, high grade SIL, AGUS, αδενοκαρκίνωμα) βάσει του συστήματος Bethesda ανάφορας κυτταρολογικών αλλοιώσεων, αλλά ακόμα και κυτταρικές μορφολογικές αλλοιώσεις που πιθανώς σχετίζονται με τη λοίμωξη από τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV) που δεν εντάσσονται πάντα σε κάποια από τις παραπάνω κατηγορίες αλλά στην κατηγορία αντιδραστικών κυτταρικών αλλαγών [10] (ήπια κοιλοκυττάρωση, ήπια δυσκεράτωση, υπερχρωματικοί πυρήνες, διύρηνα κύτταρα, και διαυγές κυτταρόπλασμα) [45]. Ως θετική κολποσκόπηση ορίστηκε κάθε περίπτωση λευκού επιθηλίου μετά από εφαρμογή οξεικού οξέος που υποδηλώνει



τουλάχιστον CIN 1. Γυναίκες με αχνή λεύκανση του επιθηλίου που υποδήλωνε απλή λοίμωξη από HPV μη χρήζουσα θεραπείας, θεωρούνταν ως περιπτώσεις αρνητικής κολποσκόπησης.

Η τακτική της αντιμετώπισης των τραχηλικών αλλοιώσεων ήταν επιλεκτική “see and treat”, δηλαδή η διάγνωση και η θεραπεία ολοκληρώνονταν στην ίδια επίσκεψη δίχως τη λήψη βιοψιών. Όταν το τεστ Παπ ήταν παθολογικό και η κολποσκόπηση υποδήλωνε CIN, η γυναίκα υποβαλλόταν σε διαηλεκτροδιαθερμικής αγκύλης εκτομή της ζώνης μετάπτωσης (large loop excision of the transformation zone - LLETZ), ανεξαρτήτως του αποτελέσματος του HPV τεστ. LLETZ γινόταν επίσης στις περιπτώσεις όπου το αποτέλεσμα της κυτταρολογίας ήταν high grade SIL αλλά το άνω όριο της ζώνης μετάπτωσης δεν ήταν ορατό κατά την κολποσκόπηση καθιστώντας την μη ικανοποιητική. Στις περιπτώσεις όπου το HPV τεστ ήταν θετικό και η κολποσκόπηση υποδήλωνε CIN, ακόμα και απουσία παθολογικού τεστ Παπ, η γυναίκα υποβαλλόταν σε μία αβαθή διαθερμική εκτομή της ζώνης μετάπτωσης, ώστε να υπάρξει ιστολογική απάντηση. Τέλος όταν η κολποσκόπηση ήταν ικανοποιητική και φυσιολογική ανεξαρτήτως του αποτελέσματος του τεστ Παπ (εξαίρεση η παρουσία κακοηθών κυττάρων) και του HPV τεστ, η γυναίκα προγραμματιζόταν για δεύτερη κολποσκόπηση εντός εξαμήνου.

2.2 Μέθοδος ανίχνευσης και τυποποίησης HPV

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν προϊόν της Digene (Sharp Signal System) και περιελάμβανε δύο στάδια. Το πρώτο στάδιο εστιάζεται στην ανίχνευση των περισσότερων στελεχών του ιού με τη μέθοδο αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης PCR και το δεύτερο στην τυποποίηση των στελεχών σε δύο ομάδες: υψηλού κινδύνου και χαμηλού κινδύνου με τη μέθοδο ELISA. Η εξαγωγή του DNA από τα τραχηλικά επιχρίσματα έγινε με τη μέθοδο



εξαγωγής άλατος, και τα δείγματα DNA ομαλοποιούνταν στο επίπεδο του ενός μικρογραμμάριου πριν από την PCR. Για την ανίχνευση HPV DNA στα δείγματα χρησιμοποιήθηκε PCR με τα εναρκτήρια τμήματα (primers) MY09 (χωρίς βιοτίνη)/MY11 (σεσημασμένο με βιοτίνη στο 5' άκρο) που αντιστοιχούν στην περιοχή του γονιδίου L1 του γενώματος του HPV. Το DNA των κυττάρων προστίθεται σε διάλυμα που περιέχει τριφωσφορικά νουκλεοτίδια, τα primers και DNA πολυμεράση. Η θέρμανση του διαλύματος στους 94°C προκαλεί διαχωρισμό των δύο αλυσίδων του DNA ενώ η πτώση της θερμοκρασίας στους 42° C επανασύνδεση των συμπληρωματικών τμημάτων των νουκλεϊκών οξέων. Η μέθοδος αυτή πολλαπλασιάζει ένα τμήμα DNA μεγέθους 450 ζευγών βάσεων από το γονιδίωμα του HPV ανεξαρτήτως τύπου. Μετά από πολλαπλούς κύκλους θέρμανσης και ψήξης το προϊόν της PCR μεταφέρεται σε πλάκες καλυπτόμενες από στρεπταβιδίνη. Λόγω της συνάφειας της στρεπταβιδίνης με τη βιοτίνη που βρίσκεται στα primers, το DNA του HPV δεσμεύεται στις πλάκες. Η δεσμευμένη διπλή έλικα του DNA χωρίζεται και πάλι σε δύο μονές έλικες και προστίθενται τα ειδικά για κάθε τύπο HPV probes, τα οποία είναι μικρές μονήρης άλυστοι RNA σεσημασμένες με φθορίζουσα ουσία (fluorescein).

Ακολουθούσε η ELISA για την ανίχνευση των στελεχών υψηλού (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58) και χαμηλού (6,11,42,43,44) κινδύνου σε κάθε σειρά της οποίας οι αντιδράσεις γίνονταν με θετικά controls, αρνητικά controls και blanks (χωρίς DNA). Στις πλάκες με το δεσμευμένο HPV DNA προστίθενταν διάλυμα αντισωμάτων έναντι της χρωστικής συζευγμένα με αλκαλική φωσφατάση. Το αποτέλεσμα ήταν η έκλυση χρωματομετρικής αντίδρασης. Η χρωματομετρική αντίδραση ποσοτικοποιήθηκε με φασματοφωτομετρία σε οπτική πυκνότητα (optical density OD) 405 nm. Θετικά θεωρούσαμε τα δείγματα στα οποία η απορρόφηση στα 405 nm ήταν τρεις φορές μεγαλύτερη από αυτή



των αρνητικών controls. Τα αποτελέσματα της ELISA έδιναν και ημιποσοτικά αποτελέσματα για τον HPV που ανιχνεύθηκε ή τυποποιήθηκε.

2.3 Στατιστική μεθοδολογία

Η διαγνωστική αξία του τεστ Παπ και του HPV τεστ κρίνονταν σε σχέση με την τελική διάγνωση παρουσίας ή όχι τραχηλικής αλλοίωσης που δίνονταν από την κολποσκόπηση και την ιστολογική εξέταση (gold standard method). Η απόλυτη ευαισθησία και ειδικότητα του τεστ Παπ και του HPV τεστ δεν ήταν εφικτό να υπολογιστεί, καθώς αυτό θα προϋπόθετε την ύπαρξη αξιόπιστης τελικής διάγνωσης και επομένως εκτέλεσης κολποσκόπησης (gold standard method) σε κάθε γυναίκα της μελέτης, ακόμα και σε αυτές με αρνητικά screening τεστ (Παπ και HPV). Συνεπώς η ευαισθησία και η ειδικότητα που αναφέρονται στη μελέτη αποτελούν σχετικά μεγέθη. Το πρόβλημα αυτό δεν αφορά την θετική προγνωστική αξία των τεστ. Για τον υπολογισμό των δεικτών αυτών ορίστηκε ως νόσος το ιστολογικό αποτέλεσμα μεγαλύτερο ή ίσο του CIN 2 και όχι το CIN 1 λόγω της αμφισβητούμενης κλινικής του σημασίας. Τα Likelihood ratios υπολογίστηκαν για θετικό και αρνητικό αποτέλεσμα. Αυτά τα μεγέθη μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση της πιθανότητας «μετά το τεστ» (post-test probabilities) ανάλογα με τον επιπολασμό της νόσου (pre-test probability). Οι τύποι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: Negative likelihood ratio = $1 - \text{sensitivity}/\text{specificity}$, Positive likelihood ratio = $\text{sensitivity}/1 - \text{specificity}$.



3. Αποτελέσματα

Χίλιες γυναίκες συμπεριλήφθησαν αρχικά στη μελέτη. Η μέση ηλικία ήταν 38 ± 16 SD (εύρος: 17-79). Εξ' αυτών 385 ήταν μετεμμηνόπαυσιακές. Τα αποτελέσματα του Παπ τεστ ήταν ASCUS σε 52 (5.2%), αντιδραστικές κυτταρικές αλλαγές σχετιζόμενες με τη λοίμωξη από HPV σε 160 (16%), low-grade SIL (LSIL) σε 32 (3.2%), και high-grade SIL (HSIL) σε 18 (1.8%) γυναίκες. Από τις 262 παραπάνω γυναίκες με παθολογικό τεστ Παπ η PCR ήταν θετική για υψηλού κινδύνου HPV σε 191 (73%). Δεκαεννέα από τις 262 δεν επέστρεψαν για την κολποσκόπηση και επομένως αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Οι υπόλοιπες 243 γυναίκες παρουσιάστηκαν για κολποσκόπηση και τελικά 64 υποβλήθηκαν σε LLETZ λόγω παθολογικών κολποσκοπικών ευρημάτων. Τα αποτελέσματα της ιστολογικής εξέτασης του αφαιρεθέντος τεμαχίου ήταν απλή HPV λοίμωξη μόνο σε τρεις περιπτώσεις, CIN 1 σε 34, CIN 2-3 σε 26, και μικροδιηθητικό καρκίνωμα σε μία περίπτωση. Από τις 179 γυναίκες με αρνητική κολποσκόπηση, 93 είχαν ευρήματα απλής λοίμωξης από HPV, και 86 είχαν τελείως φυσιολογικά ευρήματα. Σε 165 από τις 179 επαναλήφθηκε η κολποσκόπηση εντός εξαμήνου και σε αυτές τις γυναίκες δεν ανιχνεύθηκε κανένα περιστατικό CIN.

Από τις 738 γυναίκες με φυσιολογικό τεστ Παπ, 47 (6%) είχαν θετικό HPV τεστ. Εξ' αυτών 45 παρουσιάστηκαν για κολποσκόπηση, η οποία υποδήλωνε CIN σε 13 (13/45: 29%). Έντεκα από τις 13 έδωσαν τη συγκατάθεσή τους για να υποβληθούν σε αβαθή LLETZ. Η ιστολογική απάντηση ήταν απλή HPV λοίμωξη σε έξι περιπτώσεις, CIN 1 σε τέσσερις, και CIN 2-3 in μία, προεμμηνόπαυσιακή γυναίκα. Από τις 32 γυναίκες με αρνητική κολποσκόπηση, οκτώ είχαν κολποσκοπικά ευρήματα συμβατά με HPV λοίμωξη και 24 είχαν τελείως φυσιολογικά ευρήματα. Σε επτά από τις οκτώ γυναίκες με κολποσκοπικά ευρήματα



HPV λοίμωξης η κολποσκόπηση επαναλήφθηκε εντός εξαμήνου, χωρίς να ανιχνευθεί κάποιο άλλο περιστατικό CIN.

Ο ολικός αριθμός των γυναικών που τελικώς συμπεριλήφθησαν στη μελέτη μετά τον αποκλεισμό των γυναικών που δεν προσήλθαν για κολποσκόπηση (21), ή δεν συγκατατέθηκαν για LLETZ(2) ήταν 977. Το HPV test ήταν θετικό σε 178 από τις 615 (29%) προεμμηνοπαυσιακές και σε 60 από τις 385 (16%) μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες συμπεριλαμβανομένων αυτών που εξαιρέθηκαν.

Από τις 38 γυναίκες με ιστολογική διάγνωση CIN 1, οι 34 (89%) ανιχνεύθηκαν με το Παπ τεστ και τέσσερεις επιπλέον με το HPV τεστ. Το τεστ Παπ απέτυχε να ανιχνεύσει μία από τις 28 (3.6%) περιπτώσεις υψηλόβαθμων αλλοιώσεων (\geq CIN 2), η οποία ανιχνεύθηκε από το HPV τεστ, ενώ αντιστοίχως το HPV τεστ ήταν αρνητικό σε τρεις (10.7%) αποδεδειγμένες υψηλόβαθμες αλλοιώσεις.

Αν μόνο κυτταρολογικά επιχρίσματα ενδεικτικά LSIL ή χειρότερα αποτελούσαν ένδειξη για κολποσκόπηση, θα είχαν ανιχνευθεί 22 από τις 38 περιπτώσεις CIN 1, και 25 από τις 28 περιπτώσεις $>$ CIN 2. Η προσθήκη των γυναικών με ASCUS συνεισέφερε επιπλέον τέσσερεις περιπτώσεις CIN 1 και δύο περιπτώσεις CIN 2-3. Οκτώ περαιτέρω περιπτώσεις CIN 1 ανιχνεύθηκαν στην ομάδα των γυναικών με αντιδραστικές κυτταρικές αλλαγές σχετιζόμενες με τη λοίμωξη από HPV στο Παπ τεστ. Καμμία υψηλόβαθμη αλλοίωση δεν διαγνώστηκε σε αυτή την ομάδα (Πίνακας 1). Από τις 28 περιπτώσεις υψηλόβαθμης αλλοίωσης, οι 15 είχαν αποτέλεσμα Παπ τεστ HSIL, ενώ οι υπόλοιπες είχαν αποτέλεσμα ενδεικτικό βλάβης χαμηλότερου βαθμού.

Οι διαγνωστικοί δείκτες του HPV test, του Παπ τεστ και των συνδυασμών τους για ιστολογικό αποτέλεσμα \geq CIN 2 φαίνονται στον πίνακα 2. Οι διαγνωστικοί δείκτες του Παπ



τεστ εξαρτώνται από το αποτέλεσμα εκείνο που θα θεωρηθεί ικανό για παραπομπή για κολποσκόπηση (ουδός παραπομπής). Για τον ουδό \geq ASCUS η σχετική ευαισθησία, ειδικότητα και θετική προγνωστική αξία του Παπ τεστ ήταν 96.4%, 92.4%, 27.3% αντιστοίχως. Για τον χαμηλότερο ουδό « \geq Αντιδραστικές κυτταρικές αλλοιώσεις πιθανώς σχετιζόμενες με HPV», τα παραπάνω μεγέθη ήταν 96.4%, 77.2%, 11.1%. Επομένως χαμηλώνοντας τον ουδό κάτω από την κατηγορία ASCUS δεν επιτυγχάνεται αύξηση της ευαισθησίας της μεθόδου, αλλά αντιθέτως μειώνεται η ειδικότητα και αναπότρεπτα και η συνολική διαγνωστική της αξία όπως υποδηλώνει και η πτώση του LR+/LR- ratio. Για το HPV τεστ η σχετική ευαισθησία, ειδικότητα και θετική προγνωστική αξία ήταν 89.3%, 79.3% , 11.3% αντιστοίχως, συνεπώς χαμηλότερα των δεικτών του τεστ Παπ για τον ουδό ASCUS. Το HPV τεστ ήταν η μόνη μέθοδος screening με LR+/LR- ratio μικρότερο του ικανοποιητικού ορίου 50. Ωστόσο την καλύτερη ευαισθησία (100%) και LR+/LR- ratio χωρίς δραματική πτώση της ειδικότητας (78.1%) είχε ο συνδυασμός του HPV τεστ με το Παπ τεστ με ουδό ASCUS (Παραπομπή είτε με HPV θετικό είτε με Παπ τεστ \geq ASCUS). Την υψηλότερη ειδικότητα (97.5%) είχε το τεστ Παπ για ουδό LSIL.



Πίνακας 1. Συσχέτιση αποτελεσμάτων του HPV τεστ, του Παπ τεστ και της ιστολογικής εξέτασης

Αποτελεσμα screening τεστ	Αρχικός πληθυσμός	Τελικός πληθυσμός	Παθολογική κολποσκόπηση	HPV στην ιστολογία	CIN 1 στην ιστολογία	CIN 2-3 στην ιστολογία	Μικροδιηθητικό καρκίνωμα
ASCUS	52 (40)*	50 (38)	6 (5)	0	4 (4)	2 (1)	0
HPV αλλαγές	160 (104)	144 (94)	10 (8)	2 (1)	8 (7)	0	0
LSIL	32 (30)	32 (30)	31 (29)	1 (1)	20 (19)	10 (9)	0
HSIL	18 (17)	17 (16)	17 (16)	0	2 (2)	14 (13)	1 (1)
Φυσιολογικό τεστ Παπ με θετικό HPV τεστ	47 (47)	43 (43)	11 (11)	6 (6)	4 (4)	1 (1)	0
Φυσιολογικό τεστ Παπ με αρνητικό HPV τεστ	691	691	-	-	-	-	-
Σύνολο	1000	977	-	9 (8)	38 (36)	27 (24)	1 (1)

*Ο αριθμός των γυναικών με θετικό HPV τεστ σε κάθε κελί του πίνακα αναφέρεται στην παρένθεση.



Πίνακας 2. Διαγνωστικοί δείκτες των δύο μεθόδων σε διάφορους συνδυασμούς

Τεστ	Συχνότητα παραπομπής	Σχετική ευσαιθησία	Σχετική ειδικότητα	Θετική προγνωστική αξία	Positive likelihood ratio	Negative likelihood ratio	LR+/LR-
Πατ ≥ Αντιδρ. Αλλ.	243/977	96,4%	77,2%	11,1%	4,2	0,047	89,4
Πατ ≥ ASCUS	99/977	96,4%	92,4%	27,3%	12,7	0,039	325,6
Πατ ≥ LSIL	49/977	89,3%	97,5%	51%	35,7	0,11	324,5
HPV Θετικό	221/977	89,3%	79,3%	11,3%	4,3	0,135	31,9
HPV + ASCUS	236/977	100%	78,1%	11,9%	4,6	0	Άπειρο
HPV + LSIL	224/977	96,4%	79,2%	12,1%	4,6	0,045	102,2

Σε δεκαεπτά από τις 25 (68%) υψηλόβαθμες αλλοιώσεις που είχαν θετικό HPV τεστ, οι τύποι που ανιχνεύθηκαν ήταν ο 16 ή ο 31. Στον πίνακα 3 φαίνεται η κατανομή των διαφόρων τύπων HPV .

Πίνακας 3. Κατανομή των τύπων HPV ανάλογα με το αποτέλεσμα της κολποσκόπησης και της βιοψίας

HPV τύπος	Φυσιολογική Κολποσκόπηση	Παθολογική Κολποσκόπηση	HPV ιστολογία	CIN 1 ιστολογία	≥ CIN 2 ιστολογία
16 n = 67	42	25	1	14	10
18 n = 13	7	6	1	3	2
31 n = 56	38	18	0	11	7
33 n = 17	9	8	2	2	4
35 n = 7	5	2	1	1	0
39 n = 9	9	0	0	0	0
45 n = 10	7	3	1	1	1
51 n = 5	4	1	0	1	0
52 n = 3	3	0	0	0	0
56 n = 9	7	2	1	1	0
58 n = 6	5	1	1	0	0
Πολλαπλοί n = 19	16	3	0	2	1
Σύνολο n = 221	152	69	8	36	25



4. Συζήτηση

Υπάρχει ομοφωνία ότι οι κυτταρολογικές ενδείξεις παραπομπής για κολποσκόπηση είναι ένα αποτέλεσμα \geq LSIL στο τεστ Παπ ή δύο αποτελέσματα ASCUS εντός έξι μηνών [33-34]. Προηγούμενες μελέτες είχαν υποστηρίξει ότι το HPV τεστ έχει μεγαλύτερη ευαισθησία από την κυτταρολογία με τις παραπάνω ενδείξεις παραπομπής και ότι ένας σημαντικός αριθμός υψηλόβαθμων αλλοιώσεων διαφεύγει του τεστ Παπ αλλά ανιχνεύονται από το HPV τεστ [58,46,39]. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δεν επιβεβαιώνουν αυτή την αντίληψη, αφού για τα κλασσικά κριτήρια παραπομπής για κολποσκόπηση (\geq ASCUS) η ευαισθησία και η ειδικότητα του τεστ Παπ ήταν ανώτερη του HPV test. Βάσει των δεδομένων αυτών δεν συνιστάται η αντικατάσταση του τεστ Παπ από το HPV τεστ στον μαζικό έλεγχο του γενικού πληθυσμού. Βεβαίως υπάρχουν άλλες μελέτες στις οποίες χρησιμοποιείται το Hybrid Capture II test για την ανίχνευση του HPV αντί για την PCR, του οποίου η αποτελεσματικότητα μπορεί να είναι διαφορετική. Το θέμα αυτό εξετάζεται στο τρίτο μέρος αυτής της διατριβής.

Η περαιτέρω διεύρυνση του κυτταρολογικού ουδού για κολποσκόπηση ώστε να συμπεριληφθεί και η κατηγορία κυτταρικών μορφολογικών αλλοιώσεων που πιθανώς σχετίζονται με τη λοίμωξη από τον HPV, δεν προσέδωσε αύξηση στη διαγνωστική αξία του Παπ τεστ, αλλά αντιθέτως μείωσε την ειδικότητα του όσον αφορά την ανίχνευση αλλοιώσεων \geq CIN 2. Βεβαίως ανιχνεύθηκαν περισσότερες βλαβες CIN 1, αλλά αυτό δεν αποτελεί ιδιαίτερο πλεονέκτημα, καθώς η κλινική σημασία του CIN 1 είναι αμφίβολη λόγω της αυξημένης συχνότητας υποστροφής του. Όπως φάνηκε από τη μελέτη η κατηγορία κυτταρικών μορφολογικών αλλοιώσεων που πιθανώς σχετίζονται με τη λοίμωξη από τον HPV δεν είναι ειδική της λοίμωξης από τον ιό, αφού η PCR τον ανίχνευσε μόνο σε 104 από



τα 160 επιχρίσματα αυτής της κατηγορίας. Συνεπώς τα ευρήματα αυτά μπορεί πολύ συχνά να υποδηλώνουν την παρουσία μιας μη ειδικής φλεγμονής ή ατροφίας. Επιπλέον υπάρχει αξιοσημείωτη απόκλιση μεταξύ κυτταρολόγων στην διάγνωση της σχετικά ασαφούς αυτής κατηγορίας. Για τους παραπάνω λόγους δεν προτείνεται η επέκταση των κριτηρίων παραπομπής για κολποσκόπηση στην κατηγορία αυτή. Αν υπάρχουν κυτταρολογικές ενδείξεις HPV λοίμωξης θα πρέπει να αποτελούν κριτήριο παραπομπής μόνο αν εμπύπτουν στην κατηγορία ASCUS ή LSIL.

Ο συνδυασμός του HPV τεστ με την κυτταρολογία (παραπέμποντας για κολποσκόπηση όποια γυναίκα έχει έστω ένα από τα δύο τεστ θετικό), ειδικά χρησιμοποιώντας τον ουδό ASCUS είχε την μεγαλύτερη ευαισθησία και γενικότερη διαγνωστική αξία. Η μικρή αύξηση της ευαισθησίας που επιτυγχάνεται με την προσθήκη του HPV τεστ θα πρέπει να εξεταστεί υπό το πρίσμα της αύξησης που θα προκαλούσε στο κόστος του μαζικού ελέγχου. Η ευαισθησία του συνδυασμού κυτταρολογίας και HPV test είναι πλασματικά στο επίπεδο του 100%. Αν γινόταν κολποσκόπηση και βιοψία στις γυναίκες με αρνητικά screening τεστ πιθανά θα ανευρίσκονταν περισσότερες περιπτώσεις CIN 2-3 και οι τιμές της ευαισθησίας θα έπεφταν αναλογικά σε όλους τους συνδυασμούς των δύο τεστ, χωρίς όμως να επηρεάζεται η σχετική τους θέση στη σειρά.

Οι λόγοι για τους οποίους δεν έγινε κολποσκόπηση σε όλες τις γυναίκες της μελέτης, ήταν κατ'αρχήν η αύξηση που θα προσέδιδε στο κόστος της μελέτης και εν συνεχεία οι δυσκολίες που θα υπήρχαν στη λήψη της συγκατάθεσης από τις γυναίκες. Για να μειωθεί σε κάποιο βαθμό αυτή η πιθανότητα συστηματικού σφάλματος (verification bias) οι γυναίκες με παθολογικό τεστ Παπ ή θετικό HPV τεστ αλλά φυσιολογική κολποσκόπηση ενενεξετάστηκαν



μετά από έξι μήνες χωρίς να ανιχνευθεί καμία επιπλέον περίπτωση υψηλόβαθμης αλλοίωσης.

Η μελέτη μας παρουσιάζει υψηλότερα ποσοστά ευαισθησίας για το τεστ Παπ από άλλες μελέτες. Το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να αποδοθεί κατά ένα μέρος στο υψηλό επίπεδο δειγματοληψίας και εξέτασης του τραχηλικού επιχρίσματος. Καθώς ο κύριος στόχος ενός προγράμματος μαζικού ελέγχου είναι η μείωση της επίπτωσης και της θνησιμότητας από τη συγκεκριμένη νόσο, μελλοντικές έρευνες θα πρέπει να αποδείξουν αν το HPV τεστ, μόνο ή σε συνδυασμό με την κυτταρολογία μπορούν να ανιχνεύσουν ένα μεγαλύτερο ποσοστό προκαρκινικών βλαβών και τελικώς να μειώσουν τη θνησιμότητα από τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.



II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ: Β. ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ

1. Σκοπός της μετα-ανάλυσης

Ο σκοπός της μετα-ανάλυσης ήταν να καθοριστεί ο ρόλος του HPV τεστ μέσα σε ένα πρόγραμμα μαζικού ελέγχου του γενικού πληθυσμού για την πρωτογενή πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και να συγκριθεί με την τρέχουσα πρακτική του κυτταρολογικού ελέγχου. Η εξέταση για τον HPV αξιολογήθηκε με βάση δύο από τα κριτήρια του WHO για ένα screening τεστ: α) την ακρίβεια στην ανίχνευση προκαρκινικών μορφών και β) την αποδοχή από τον πληθυσμό. Δευτερεύων στόχος αυτής της συστηματικής ανασκόπησης είναι η εξέταση της αποτελεσματικότητας των διαφόρων μεθόδων ανίχνευσης HPV στον πρωτογενή μαζικό έλεγχο.

Υπάρχουν διάφοροι λόγοι για τους οποίους παρά την ολοκλήρωση της πειραματικής μελέτης προχωρήσαμε στη διεξαγωγή αυτής της συστηματικής ανασκόπησης στο ίδιο θέμα:

- Κατά τη διάρκεια της πειραματικής μελέτης διεξήχθησαν αντίστοιχες μελέτες σε άλλες χώρες με αποτέλεσμα να υπάρχει μεγάλος αριθμός δεδομένων.
- Προσφάτως εμφανίστηκε μία καινούργια μέθοδος ανίχνευσης του HPV, το Hybrid Capture II test, η οποία αναφέρεται ότι πλεονεκτεί της μεθόδου που χρησιμοποιήσαμε εμείς.
- Μία συστηματική ανασκόπηση συνοψίζει όλες τις σχετικές μελέτες και επομένως παρέχει τα πιο αξιόπιστα δεδομένα για την αξιολόγηση κάποιας διαγνωστικής ή θεραπευτικής μεθόδου, ανώτερα από οποιαδήποτε μεμονωμένη μελέτη.

Ωστόσο η πειραματική μας μελέτη παραμένει η μοναδική μελέτη που έχει γίνει στον Ελλάδα. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία καθώς η αξία μιας εξέτασης εξαρτάται από τον χώρο



στον οποίο γίνεται λόγω βιολογικών διαφορών των πληθυσμών αλλά και διαφορών στην υποδομή της χώρας (πχ ποιότητα κυτταρολογικών εργαστηρίων).

Αυτή η συστηματική ανασκόπηση δεν καλύπτει άλλες πιθανές εφαρμογές του HPV testing. Η χρήση του HPV τεστ στη διαλογή γυναικών με ελαφρές αλλοιώσεις στο τεστ Παπανικολάου (borderline, ASCUS) έχει εξεταστεί από τους Arbyn et al [47], και στην παρακολούθηση μετά από θεραπεία για CIN από τους Παρασκευαΐδη et al [48].

Αναζητήσαμε τυχόν προηγήθησες συστηματικές ανασκοπήσεις στις εξείς διεθνείς τράπεζες πληροφοριών: Cochrane Database of Systematic Reviews, the Database of Abstracts of Reviews of Effects, the Health Technology Assessment Database και στο MEDLINE. Βρέθηκε μία προγενέστερη συστηματική ανασκόπηση που να αφορά το ρόλο της εξέτασης ανίχνευσης του ιού HPV ως screening για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Είχε δημοσιευτεί από την Επιτροπή Αξιολόγησης της Τεχνολογίας για την Υγεία της Μεγάλης Βρετανίας (Health Technology assessment committee) το έτος 1999. Βασίζονταν σε μια ενδελεχή βιβλιογραφική έρευνα. Εντούτοις κατά το χρόνο της διεξαγωγής της δεν υπήρχαν καθόλου τυχαιοποιημένες έρευνες που να αφορούν το συγκεκριμένο θέμα και η ανασκόπηση βασίστηκε σε περιορισμένα δεδομένα χαμηλής κυρίως αξίας [49]. Πολυάριθμες έρευνες για την εξέταση ανίχνευσης του ιού HPV έχουν καρποφορήσει στο μεσοδιάστημα που ακολούθησε και ένας σημαντικός αριθμός μελετών έχουν δημοσιευτεί.



2. Μέθοδος

2.1 Βασικές αρχές

Η μεθοδολογία αυτής της συστηματικής ανασκόπησης υπαγορεύθηκε από το Cochrane Reviewer's Handbook [50] καθώς διεξήχθη εκ μέρους του Cochrane Gynaecological Cancer Review Group (CGCRG). Όλη η διαδικασία έγινε υπό την εποπτεία του CGCRG και το πρωτόκολλό της πέρασε από επιτροπή πέντε ειδικών κριτών. Το πρωτόκολλο της παρούσας συστηματικής ανακόπησης έχει δημοσιευτεί στο Cochrane Library [51].

2.2 Τύποι μελετών

Παρά το γεγονός ότι οι ανασκοπήσεις του Cochrane Collaboration συνήθως περιλαμβάνουν μόνο τυχαιοποιημένες μελέτες (RCTs), η παρούσα ανασκόπηση περιέλαβε και μη τυχαιοποιημένες μελέτες αφού ήταν εξ αρχής γνωστό ότι τα στοιχεία από RCTs στο θέμα ήταν πολύ περιορισμένα. Οι τύποι μη τυχαιοποιημένων μελετών που συμπεριλήφθηκαν επιλέχθηκαν με βάση τις οδηγίες που εξέδωσε το Non Randomized Studies Methods Group [52]. Σε αυτές υπάγονται οι παρακάτω τύποι: pseudo-randomized comparative trials of effectiveness, controlled trials with concurrent controls, historically controlled trials, prospective comparative cohort μελέτες. Εξαιρέθηκαν case-series και case-controlled μελέτες βάσει των παραπάνω οδηγιών.



2.3 Κριτήρια εισαγωγής στη συστηματική ανασκόπηση

Για να συμπεριληφθεί μία μελέτη στη συστηματική ανασκόπηση θα έπρεπε να πληρεί τα παρακάτω κριτήρια:

- Πληθυσμός της μελέτης: Γυναίκες ηλικίας 18-70 ετών που συμμετέχουν σε ένα πρόγραμμα μαζικού ελέγχου για πρωτογενή πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας χωρίς πρόσφατο παθολογικό τεστ Παπανικολάου.
- Είδη παρεμβάσεων στον πληθυσμό: Μη τυχαιοποιημένες μελέτες που χρησιμοποιούν τεστ Παπανικολάου και ταυτόχρονα HPV testing, τυχαιοποιημένη μελέτη που συγκρίνει το τεστ Παπανικολάου με το HPV testing, τυχαιοποιημένη μελέτη που συγκρίνει το τεστ Παπανικολάου με το συνδυασμό HPV testing και τεστ Παπανικολάου.
- Είδη υπό εξέταση μεγεθών: α) μεγέθη σχετιζόμενα με την επίδοση του τεστ : μείωση της επίπτωσης του τραχηλικού καρκίνου ή του CIN3, μείωση της θνησιμότητας από καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, ευαισθησία και ειδικότητα της μεθόδου ανίχνευσης του CIN.
β) μεγέθη σχετιζόμενα με την αποδοχή του τεστ από τον πληθυσμό: συμμετοχή, ικανοποίηση.
- Συστηματικό σφάλμα εξακρίβωσης (Verification bias): Εφαρμογή μεθόδου αναφοράς (gold standard) τουλάχιστον στις γυναίκες με οποιοδήποτε από τα screening τεστ θετικό ή κατά προτίμηση και σε ένα δείγμα γυναικών με αρνητικά τεστ ή ακόμα και σε όλες τις γυναίκες ανεξαρτήτως αποτελέσματος του τεστ.

Μετά την αρχική επιλογή των μελετών κρίνονταν η εγκυρότητά τους (η πιθανότητα συστηματικού σφάλματος επιλογής-selection, επίδοσης-performance, απώλειας-attribution, ανίχνευσης-detection) χρησιμοποιώντας μία σειρά από προκαθορισμένα κριτήρια.



- Σφάλμα επιλογής-Selection Bias: Τυχαία τοποθέτηση των συμμετεχόντων στις τυχαιοποιημένες μελέτες, ρύθμιση για συγχυτικούς παράγοντες στις μη τυχαιοποιημένες μελέτες, πλήρης περιγραφή δημογραφικών χαρακτηριστικών, παρουσίαση των αποτελεσμάτων διαφόρων υποομάδων, πλήρης περιγραφή της διαδικασίας παραπομπής.
- Σφάλμα επίδοσης-Performance Bias: Απόκρυψη της τοποθέτησης της γυναίκας στις τυχαιοποιημένες μελέτες από τους εξεταστές και την ίδια τη γυναίκα, πλήρης περιγραφή των μεθόδων έρευνας και των τεστ, σαφής καθορισμός των θετικών και των αρνητικών αποτελεσμάτων.
- Σφάλμα απώλειας-Attrition Bias: Συμπλήρωση του χρονικού διαστήματος παρακολούθησης, διάρκεια παρακολούθησης, παρόμοιος αριθμός απωλειών από όλες τις ομάδες.
- Σφάλμα ανίχνευσης-Detection bias: Αναφορά των συνολικών αποτελεσμάτων (για όλους τους συμμετέχοντες), απόκρυψη της ομάδας στην οποία τοποθετήθηκε η γυναίκα από τους ερευνητές στις τυχαιοποιημένες μελέτες.

2.4 Στρατηγική έρευνας για την αναγνώριση των μελετών

Έγινε βιβλιογραφική έρευνα στις παρακάτω τράπεζες πληροφοριών:

- Specialized Register of the Cochrane Gynaecological Cancer Group
- Non-trials database of the Cochrane Gynaecological Cancer Group
- CENTRAL on the Cochrane Library
- The Health Technology Assessment Database
- MEDLINE
- EMBASE



- LILACS

Η έρευνα δεν περιορίστηκε σε άρθρα γραμμένα στην αγγλική γλώσσα. Έγινε ενδελεχής έλεγχος των παραπομπών των άρθρων με σκοπό την ανεύρεση και άλλων σχετικών άρθρων. Επικοινωνήσαμε με συγγραφείς άρθρων που αφορούσαν το θέμα μας, ζητώντας στοιχεία που έλλειπαν, και ερωτήθηκαν αν γνώριζαν κάποιες άλλες σχετικές έρευνες δημοσιευμένες και μη. Όσον αφορά τη επιλογή άρθρων από τις αποθήκες πληροφοριών MEDLINE και EMBASE εφαρμόστηκε λεπτομερής στρατηγική έρευνας (topic only) ώστε να έχει τη μεγαλύτερη δυνατή ευαισθησία. [53]. Χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω ελεύθεροι (free text) ή ελεγχόμενοι όροι (controlled text terms):

- Ιός ανθρώπινων θηλωμάτων (Papillomavirus Human)
- Λοιμώξεις από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (Papillomavirus infections)
- Εξέταση για τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV testing)
- Διάγνωση μέσω κυτταρολογικής μελέτης (Cytodiagnosis)
- Κολποσκόπηση (Colposcopy)
- Επιχρίσματα μήτρας (Vaginal smears)
- Μαζικός έλεγχος πληθυσμού (Mass screening)
- Μαζικός έλεγχος σχετικά με τον τράχηλο (cervical screening)
- Καρκίνος τραχήλου μήτρας (Cervical cancer)
- Τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (Cervical intraepithelial neoplasia)
- Νεοπλάσματα τραχήλου (Cervix neoplasms)
- Τράχηλος μήτρας (Cervix uteri)
- Δυσπλασία τραχήλου (Cervix dysplasia)
- Αποδοχή της ιατρικής φροντίδας από τον ασθενή (Patient acceptance of health care)



3. Αποτελέσματα

Επιλέχθηκαν είκοσι εργασίες τελικά που πληρούσαν τα κριτήρια που θέσαμε [44, 54-71]. Σε μία από αυτές υπήρχαν ελάχιστες πληροφορίες διαθέσιμες καθώς αποτελούσε προφορική παρουσίαση των εισαγωγικών δεδομένων από μία τυχαιοποιημένη μελέτη με μάρτυρες (RCT) [76]. Με την εξαίρεση της μικρής αυτής αναφοράς από τους Nene et al δεν ανευρέθησαν RCTs και κατά συνέπεια δεν ερευνήθηκε η επίδραση των δύο τεστ στην επίπτωση και στη θνησιμότητα από διηθητικό καρκίνο. Μίας μόνο μελέτης ο σχεδιασμός είναι experimental longitudinal [69]. Στη μελέτη αυτή οι γυναίκες υποβλήθηκαν σε ένα αρχικό τεστ κατά Παπανικολάου και σε εξέταση για HPV και εν συνεχεία παρακολούθηθηκαν για την ανάπτυξη CIN επί δεκαετία (Sherman et al). Σε όλες τις άλλες μελέτες (18 από τις 19) ο σχεδιασμός ήταν experimental crosssectional. Στις μελέτες αυτές μετά σύγχρονη χρήση του τεστ Παπανικολάου και της εξέτασης για HPV σε κάθε γυναίκα γινόταν σύγκριση της ευαισθησίας και της ειδικότητας των δύο αυτών μεθόδων χρησιμοποιώντας την κολποσκόπηση και τη βιοψία ως μέθοδο αναφοράς (gold standard). Σε κάποιες μελέτες η μέθοδος αναφοράς δεν εφαρμόστηκε σε όλες τις γυναίκες εκθέτοντας τις μελέτες αυτές σε συστηματικό σφάλμα εξακρίβωσης (verification bias). Ειδικότερα σε 4 μελέτες (Pan et al, Blumenthal et al, Cremoux et al, Costa et al) έγινε κολποσκόπηση σε κάθε γυναίκα ανεξάρτητα με τα αποτελέσματα των εξετάσεων screening που χρησιμοποιήθηκαν. Σε 5 μελέτες (Schiffman et al, Petry et al, Kulasingam et al, Ratnam et al, Cuzick et al 2003) έγινε κολποσκόπηση μόνο στις γυναίκες με θετικό screening test (τεστ Παπανικολάου, εξέταση για HPV, ή τραχηλογραφία σε μερικές μελέτες) και σε ένα τυχαίο δείγμα των γυναικών με αρνητικά αποτελέσματα στα screening τεστ (2-10% διορθωτικό δείγμα). Στις υπόλοιπες 10 μελέτες δεν υπήρξε διορθωτικό δείγμα και η κολποσκόπηση ως μέθοδος αναφοράς εφαρμόστηκε μόνο σε γυναίκες με θετικά screening τεστ.



Εχουν βρεθεί ωστόσο 5 ακόμη RCTs σε εξέλιξη, μία στη Σουηδία (10,000 γυναίκες), μία στην Ολλανδία (POBASCAM study 44,000 γυναίκες), μία στο Manchester (ARTISTIC study 25,000 γυναίκες), μία στην Ιταλία (50,000 γυναίκες) και μία στον Καναδά (12,000 γυναίκες) χωρίς περισσότερες πληροφορίες ούτε καν προκαταρκτικά στοιχεία [72].

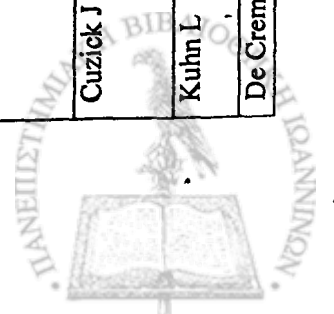
Ο τύπος της εξέτασης για HPV που χρησιμοποιήθηκε στις 19 μελέτες που απέμειναν ήταν το Hybrid Capture Test σε 5, Hybrid Capture II σε 14, και PCR σε 6 μελέτες. Σε 6 μελέτες χρησιμοποιήθηκαν περισσότερες από μία εξετάσεις ανίχνευσης του ιού HPV αν και σε 5 από αυτές δεν υπήρχαν επαρκείς πληροφορίες σχετικά με το δεύτερο τεστ που χρησιμοποιήθηκε. Τα επιμέρους χαρακτηριστικά των μελετών αυτών φαίνονται στον πίνακα 1.



Πίνακας 4. Χαρακτηριστικά του πληθυσμού των μελετών

Συγγραφέας	Έτος	Χώρα	Περιοχή	Πληθυσμός και κριτήρια εισαγωγής	Κριτήρια εξαιρέσης	Μέγεθος	Ηλικία	Είδος δημοσίευσης
Costa S	2000	Ιταλία	Bologna	Γυναίκες προσερχόμενες για τεστ Παπ ρουτίνας ή γυναικολογική εξέταση	Υστερεκτομή Προηγούμενη θεραπεία CIN HIV ανοσοκαταστολή Κύηση Εμμηνόρροια Πρόσφατη κολπική πάθηση Μη ικανοποιητικό Παπ τεστ ή τραχηλογραφία	992	16-70 median: 34 sd 9	Δημοσίευση
Schiffman M	2000	Κόστα Ρίκα	Guanacaste	Τυχαίο δείγμα γυναικών του γενικού πληθυσμού ≥ 18 ετών, κάτοικοι της περιοχής και πνευματικά υγιείς	Υστερεκτομή Παρθένες, Κύηση	8554	18-90 median: 37	Δημοσίευση
Paraskevaidis E	2001	Ελλάδα	Ιωάννινα	Αυτόβουλη παραπομπή για Παπ τεστ ρουτίνας	Προηγούμενο ιστορικό παθολογίας τραχήλου Δεν αναφέρονται	977	Mean 38 SD 16 (17-79)	Δημοσίευση
Syrjanen S	2002	Ρωσία Λευκορωσία Λεττονία	Moscow Novgorod Minsk Riga	1. Γυναίκες συμμετέχουσες σε πρόγραμμα ελέγχου 2. Γυναίκες που παρουσιάστηκαν σε γυναικολογικά ιατρεία για διαφορούς λόγους 3. Γυναίκες που παρουσιάστηκαν σε ιατρεία σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων	Δεν αναφέρονται	3175	Mean 32.7 SD 10.9 (15-85)	Δημοσίευση
Petry K	2003	Γερμανία	Tubingen	Γυναίκες ηλικίας >30	Υστερεκτομή,	8101	Mean	Δημοσίευση

					προσερχόμενες για ετήσιο Παπ τεστ ρουτίνας	Hannover				προηγούμενο παθολογικό Παπ τεστ, CIN ή θεραπεία για τραχηλική νόσο κατά το τελευταίο έτος, κύηση		42.7	
Clavel C	2001	Γαλλία	Reims	Γυναίκες συμμετέχουσες σε διετές-τριετές screening	Γυναίκες ηλικίας 18-70 που επισκέφθηκαν ιδιώτες γυναικολόγους για screening				Πρόσφατο Παθολογικό τεστ Παπ ή μη θεραπευθείσα τραχηλική βλάβη κατά τα τελευταία δύο έτη, κύηση, AIDS	7932	Median 34 (15-76)	Δημοσίευση	
Schneider A	2000	Γερμανία	East Thuringia	Γυναίκες ηλικίας > 16 συμμετέχουσες σε screening	Γυναίκες ηλικίας > 16 συμμετέχουσες σε screening Ικανοποιητικά baseline Παπ τεστ, δείγμα κατάλληλο για HPV testing				Κύηση, Κωνοειδής εκτομή, υστερεκτομή, CIN, παθολογικό τεστ Παπ τον τελευταίο χρόνο	5455	Median 35	Δημοσίευση	
Sherman M	2003	ΗΠΑ	Kaiser Permanente-Portland	Γυναίκες > 35 ετών προσερχόμενες για Παπ τεστ ρουτίνας	Γυναίκες προσερχόμενες για Παπ τεστ ρουτίνας				Υστερεκτομή	20810	Mean 35.9 (16-94)	Δημοσίευση	
Cuzick J	1995	Μεγάλη Βρετανία	London	Γυναίκες > 35 ετών προσερχόμενες για Παπ τεστ ρουτίνας	Γυναίκες προσερχόμενες για Παπ τεστ ρουτίνας				Προηγούμενη θεραπεία CIN, Παθολογικό τεστ Παπ τα τελευταία 3 έτη	1985	Median 29 (93%: 20-45)	Δημοσίευση	
Cuzick J	1999	Μεγάλη Βρετανία	London	Γυναίκες 35-65 ετών που δεν είχαν κάνει Παπ τεστ	Γυναίκες 35-65 ετών που δεν είχαν κάνει Παπ τεστ				Δεν αναφέρονται	2988	Mean 46 (34-70)	Δημοσίευση	
Kuhn L	2000	Νότια Αφρική	Khayelitsha Cape Town	Γυναίκες > 18 ετών	Γυναίκες > 18 ετών				Δεν αναφέρονται	2861	35-65	Δημοσίευση	
De Cremoux P	2003	Γαλλία							Κύηση, Ιστορικό	• 1323	Mean	Δημοσίευση	



Blumenthal P	2001	Ζιμπάμπουε	Harare	<p>προσερχόμενες για Παπ τεστ ρουτίνας.</p> <ul style="list-style-type: none"> Γυναίκες που παραπέμφθηκαν για κολποσκόπηση λόγω παθολογικού Παπ τεστ <p>Έγγραφο συγκατάθεση, ορατός τράχηλος</p> <p>Γυναίκες ηλικίας 25-55 που προσέρχονταν σε ιατρεία πρωτογενούς περίθαλψης και επαθυμούσαν να υποβληθούν σε screening</p>	<p>επέμβασις ή laser στον τράχηλο</p>	<ul style="list-style-type: none"> 462 	34.5 Sd: 11.5	Δημοσίευση
Pan Q	2003	Κίνα	Xiangyuan-Shanxi	Γυναίκες 35-45 ετών που δεν είχαν κάνει Παπ τεστ	Δεν αναφέρονται	1993	35-45	Δημοσίευση
Kulasingham S	2002	ΗΠΑ	Washington State	Γυναίκες ηλικίας 18-50 προσερχόμενες για επίσημη εξέταση σε ιατρεία οικογενειακού προγραμματισμού	Υστερεκτομή, ανοσοκαταστολή Θεραπεία για CIN	4075	Mean 25 sd: 5.7	Δημοσίευση
Oh Y	2001	Νότια Κορέα		Γυναίκες προσερχόμενες σε κέντρα υγείας για Παπ τεστ ρουτίνας	Δεν αναφέρονται	1305	Mean 45 (23-72)	Δημοσίευση
Ratnam S	2000	Καναδάς	Newfoundland	Γυναίκες ηλικίας 18-69 προσερχόμενες για Παπ τεστ ρουτίνας	Δεν αναφέρονται	2098	Mean 30	Δημοσίευση
Salmeron J	2003	Μεξικό	Morelos	Γυναίκες συμμετέχουσες σε screening	Ιστορικό CIN 2, Υστερεκτομή, κύηση	7868	Mean 42.5	Δημοσίευση
Cuzick J	2003	Μεγάλη Βρετανία	Birmingham Edinburgh London Manchester Mansfield	Γυναίκες 30-60 ετών συμμετέχουσες σε screening	Παθολογικό τεστ Παπ τα τελευταία 3 έτη Θεραπεία για CIN	10358	Mean 42 sd: 8.6	Δημοσίευση
Nene B	2002	Ινδία	Maharashtra State Osmanabad	Ηλικία 30-59		160000		Προφορική ανακοίνωση

Πίνακας 5. Σχεδιασμός μελετών

Μελέτη	Σχεδιασμός μελέτης	Περίοδος	Τεστ
Costa S	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ, HPV τεστ και τραχηλογραφία	Δεν αναφέρεται	Συμβατική κυτταρολογία, HCT, τραχηλογραφία
Schiffman M	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ, HPV τεστ και τραχηλογραφία	1993-4	Συμβατική κυτταρολογία, PAPANET, Thinprep, τραχηλογραφία, HCT, HCII (σε 1119 γυναίκες) Το HCII μέρος της μελέτης εξαιρέθηκε λόγω υψηλής πιθανότητας συστηματικού σφάλματος.
Paraskevaïdis E	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ & HPV τεστ	1997-9	Συμβατική κυτταρολογία, PCR (MY09/MY11)
Syrjanen S	Experimental crosssectional and cohort με ταυτόχρονο τεστ Παπ & HPV τεστ	1998-2000	Συμβατική κυτταρολογία, HCII, PCR
Petry KU	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ & HPV τεστ	Δεκέμβριος 1998-Δεκέμβριος 2000	Συμβατική κυτταρολογία, HCII
Clavel C	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ & HPV τεστ	Αύγουστος 1997-Φεβρουάριος 2001	Συμβατική κυτταρολογία ή Thinprep, HCII
Schneider A	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ, HPV τεστ και screening κολποσκόπηση	Ιανουάριος 1996-Οκτώβριος 1998	Συμβατική κυτταρολογία, PCR, screening κολποσκόπηση
Sherman ME	Experimental longitudinal με baseline τεστ Παπ & HPV τεστ	Απρίλιος 1989-Ιούνιος 1999	Συμβατική κυτταρολογία, HCII
Cuzick J	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ & HPV τεστ	Σεπτέμβριος 1992-Μάρτιος 1994	Συμβατική κυτταρολογία, PCR
Cuzick J	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ & HPV τεστ	Δεν αναφέρεται	Συμβατική κυτταρολογία, PCR, HCT ή HCII (στις θετικές και σε δείγμα των αρνητικών) Το HCII και HCT μέρος της μελέτης εξαιρέθηκε λόγω υψηλής πιθανότητας συστηματικού σφάλματος.
Kuhn L	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ & HPV τεστ	Δεν αναφέρεται	Συμβατική κυτταρολογία, επισκόπηση (VIA), τραχηλογραφία, HCT, HCII (σε όλες τις περιπτώσεις ιστολογικά διαγνωσμένων \geq CINI και σε 10% των υπολοίπων) Το HCII μέρος της μελέτης εξαιρέθηκε λόγω

De Cremoux P	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ, HPV τεστ και κολποσκοπήση	Σεπτέμβριος 1999-Μάιος 2000	υψηλής πιθανότητας συστηματικού σφάλματος. Συμβατική κυτταρολογία, Υγρού μέσου κυτταρολογία, HCII, colposcopy
Blumenthal P	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ, HPV τεστ και κολποσκοπήση	Οκτώβριος 1995-Αύγουστος 1997	Συμβατική κυτταρολογία, HCII, VIA, colposcopy
Pan Q	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ, HPV τεστ, κολποσκοπήση και βιοψίες	Ιούνιος 1999	HCII, ThinPrep, VIA, fluorescent spectroscopy, Self HPV test, κολποσκοπήση, βιοψία
Kulasingham S	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ & HPV τεστ	Δεκέμβριος 1997-Οκτώβριος 2000	Thinprep, PCR, HCII σε 1862 γυναίκες Το HCII μέρος της μελέτης εξαιρέθηκε λόγω υψηλής πιθανότητας συστηματικού σφάλματος
Oh Y	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ & HPV τεστ	Ιανουάριος 1996-Δεκέμβριος 1996	Συμβατική κυτταρολογία, PCR
Ratnam S	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ & HPV τεστ	November 1996-August 1998	Conventional cytology, HCT or HCII
Salmeron J	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ & HPV τεστ	Μάιος 1999-Οκτώβριος 1999	Συμβατική κυτταρολογία, HCII (ένα clinician και ένα self-collected δείγμα για κάθε γυναίκα)
Cuzick J	Experimental crosssectional με ταυτόχρονο τεστ Παπ & HPV τεστ RCT της αντιμετώπισης ελαχίστων αλλοιώσεων	Αύγουστος 1998-Νοέμβριος 2001	Συμβατική κυτταρολογία, HCII
Nene B	Randomised controlled trial	Μελέτη υπό εξέλιξη	VIA ή Συμβατική κυτταρολογία ή HPV testing

Πίνακας 6. Μέθοδος αναφοράς – Gold standard μελετών

Συγγραφέας	Έτος	Μέθοδος Αναφοράς – Gold standard	Κριτήρια για την εφαρμογή της μεθόδου αναφοράς	Απόκρυψη από τους εξεταστές	Διορθωτικό δείγμα	Διαγνωστικές Κατηγορίες της Μεθόδου Αναφοράς
Costa S	2000	Κολποσκόπηση Βιοψία επί θετικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση σε όλες	Θετική κολποσκόπηση Θετικό pap test Θετικό HPV test Θετική τραχηλογραφία	Παθολογοανατόμοι και κυτταρολόγοι υπό τυφλές συνθήκες	Δεν απαιτείται	Negative HPV-CIN1 CIN 2-3 Carcinoma
Schiffman M	2000	Συνδυασμός κολποσκόπησης, βιοψίας και αποτελεσμάτων των screening test (Pap test, PAPANET, Thinprep, cervicography εκτός του HPV) (119/128 HG βλάβες επιβεβαιώθηκαν με βιοψία, ενώ για 9 υπήρχε συμφωνία σε $\geq 2/3$ κυτταρολογικές διαγνώσεις) Κολποσκόπηση όχι σε όλες	Υποπιπτη κλινική εξέταση Τεστ Παπ \geq ASCUS Θετική τραχηλογραφία Το HCT δεν ήταν κριτήριο	Άγνοια του αποτελέσματος του HPV τεστ	Ναι 2% των αρνητικών παραπέμπονταν για κολποσκόπηση. Δεν βρέθηκαν HG αλλοιώσεις.	Disease (cancer & High grade lesion) Low grade lesion Equivocal Negative
Paraskevaidis E	2001	Κολποσκόπηση Βιοψία επί θετικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση όχι σε όλες	Θετικό HPV Τεστ Παπ \geq ASCUS	Εργαστήρια κυτταρολογίας και μοριακής βιολογίας δεν είχαν γνώση των αποτελεσμάτων αλληλίων	Όχι	Normal HPV CIN I CIN II/III Microinvasion
Sytjanen S	2002	Κολποσκόπηση Βιοψία επί θετικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση όχι σε όλες	Θετικό HPV Τεστ Παπ \geq class 3 (LSIL) ή επανειλημμένο class 2 (ASCUS)	Δεν αναφέρονται	Όχι	Normal HPV HPV-CIN1 HPV-CIN2 HPV-CIN3 Invasive cancer
Petry KU	2003	Κολποσκόπηση Βιοψία επί θετικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση όχι σε όλες	Θετικό HPV Τεστ Παπ \geq class 2w (ASCUS)	Το κυτταρολογικό εργαστήριο δεν είχε γνώση της μελέτης. Η ιστολογική εξέταση έγινε από 2-3 τυφλούς εξεταστές.	Ναι 5% των αρνητικών (3.4% μετά την εξείραση αυτών που δεν παρουσιάστ.	Cases (\geq CIN 2) Non cases (< CIN 2, VIN, VAIN)

Clavel C	2001	Κολποσκόπηση Βιοψία επί θετικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση όχι σε όλες	Τεστ Παπ \geq ASCUS* Θετικό HPV (σε 2 ή 3 συνεχόμενα δείγματα με διαφορά 6 μηνών)	Κυτταρολόγοι και παθολογοανατόμοι δεν γνώριζαν τα αποτελέσματα του HPV τεστ. Θετικά Παπ τεστ και βιοψίες επανεξετάζονταν από 2 ανεξάρτητους παθολογοανατόμους	Όχι	HGSIL No HGSIL
Schneider A	2000	Βιοψία ανεξαρτήτως τελικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση (screening) σε όλες	Θετικό HPV Παπ τεστ \geq class 3 (LSIL) Θετική screening κολποσκόπηση (\geq CIN1)	Το κυτταρολογικό εργαστήριο δεν είχε γνώση της μελέτης. Η ιστολογική εξέταση έγινε από 2-3 τυφλούς εξεταστές.	Όχι	No CIN CIN1 CIN2 CIN3 Cx Ca
Sherman ME	2003	Ιστολογία Κολποσκόπηση όχι σε όλες	Standard practice guidelines (? \geq LSIL ή επανελημένα ASCUS) Θετικό HPV τεστ δεν ήταν κριτήριο	Άγνοια του αποτελέσματος του HPV τεστ	Όχι	Cases (\geq CIN 3 incl adenocarcinoma) Non cases (< CIN 3)
Cuzick J	1995	Κολποσκόπηση Βιοψία επί θετικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση όχι σε όλες	Θετικό HPV Παπ τεστ με οποιοδήποτε βαθμό δυσκαρρύωσης	Η ιστολογική εξέταση έγινε από 2 παθολογοανατόμους που δεν γνώριζαν τα αποτελέσματα του Παπ και HPV τεστ.	Όχι	<CIN1 CIN1 CIN2 CIN3
Cuzick J	1999	Κολποσκόπηση Βιοψία επί θετικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση όχι σε όλες	Θετικό HPV Παπ τεστ \geq borderline	Η ιστολογική εξέταση έγινε από 2 παθολογοανατόμους που δεν γνώριζαν τα αποτελέσματα του Παπ και HPV τεστ.	Όχι	Negative Borderline/CIN1 CIN1 CIN2 CIN3 Adeno in situ
Kuhn L	2000	Κολποσκόπηση Βιοψία επί θετικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση όχι σε όλες	Θετικό HPV Παπ τεστ \geq LSIL Θετική τραχηλογραφία	Κάθε εργαστηριακή εξέταση έγινε χωρίς γνώση των αποτελεσμάτων των υπολοίπων	Όχι	No disease Low grade SIL High grade SIL Cancer

De Crepoux	2003	Κολποσκόπηση Βιοψία επί θετικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση σε όλες	Κολποσκόπηση σε όλες Βιοψία επί παθολογικής	Όλες οι κυτταρολογικές και παθολογοανατομικές εξετάσεις έγιναν υπό τυφλές συνθήκες. Σε περίπτωση αντικρουόμενων αποτελεσμάτων γινόταν συμφωνία.	Δεν απαιτείται	Normal colposcopy or negative biopsy CIN I II III Invasive carcinoma
Blumenthal P	2001	Κολποσκόπηση Βιοψία επί θετικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση σε όλες	Κολποσκόπηση σε όλες Βιοψία επί παθολογικής	Κάθε εργαστηριακή εξέταση έγινε χωρίς γνώση των αποτελεσμάτων των υπολοίπων εξετάσεων εκτός της τέλικής ιστολογικής διάγνωσης.	Δεν απαιτείται	No disease (<CIN 2) Disease (\geq CIN 2)
Pan Q	2003	Κολποσκοπικά κατευθυνόμενες βιοψίες σε όλες, ακόμα και επί αρνητικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση & βιοψίες σε όλες	Κολποσκόπηση και βιοψίες σε όλες. Επί αρνητικής κολποσκόπησης λαμβάνονταν 4 βιοψίες και ενδοτραχηλική απόξεση	Κάθε εργαστηριακή εξέταση έγινε χωρίς γνώση των αποτελεσμάτων των υπολοίπων εξετάσεων.	Δεν απαιτείται	Negative CIN1 CIN 2 CIN 3 SCC
Kulasingam S	2002	Κολποσκοπικά κατευθυνόμενες βιοψίες σε όλες, ακόμα και επί αρνητικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση όχι σε όλες	Παπ τεστ \geq ASCUS Θετικό HPV Επί αρνητικής κολποσκόπησης λαμβάνονταν 1βιοψία και ενδοτραχηλική απόξεση	Όλες οι κυτταρολογικές και παθολογοανατομικές εξετάσεις έγιναν υπό τυφλές συνθήκες.	Ναι (202 από 2631 γυναίκες με αρνητικά αποτελέσματα)	No Disease (<CIN3) Disease (\geq CIN3)
Oh Y	2001	Βιοψία (δεν γίνεται λόγος για κολποσκόπηση στην εργασία)	Παπ τεστ $>$ ASCUS Θετικό HPV τεστ	Δεν αναφέρονται	Όχι	Benign ASCUS LSIL HSIL SCC

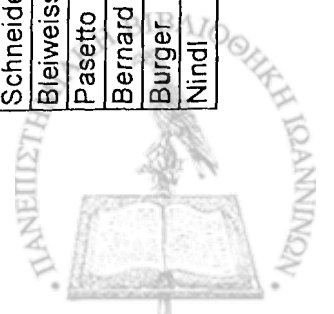


Ratnam S	2000	Κολποσκόπηση με ή χωρίς βιοψία. Κολποσκόπηση όχι σε όλες	Παπ τεστ ≥ ASCUS Θετικό HPV τεστ	Παπ και HPV τεστ γίνονταν ανεξάρτητα.	Ναι 10% των αρνητικών	Negative CIN I CIN 2 or worse
Salmeron J	2003	Κολποσκόπηση Βιοψία επί θετικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση όχι σε όλες	Θετικό HPV είτε στο clinician είτε self collected δείγμα Παπ τεστ ≥ ASCUS	Παπ και HPV τεστ γίνονταν ανεξάρτητα. Οι κολποσκόπιοι γνώριζαν τα αποτελέσματα, οι παθολογοανατόμοι όχι.	Όχι	Normal CIN I CIN II CIN III Cancer
Cuzick J	2003	Κολποσκόπηση Βιοψία επί θετικής κολποσκόπησης Κολποσκόπηση όχι σε όλες	<ul style="list-style-type: none"> • ≥ ήπια δυσκαρύωση, άμεση κολποσκόπηση • Borderline είτε άμεση κολποσκόπηση είτε σε 12 μήνες • HPV θετικό με αρνητικό Παπ τεστ είτε άμεση κολποσκόπηση είτε σε 12 μήνες 	Οι κολποσκόπιοι δεν είχαν τα αποτελέσματα του HPV τεστ. Η ιστολογία επανελεγχόταν από έναν ακόμα παθολογοανατόμο.	Ναι (283 αρνητικές)	No disease (<CIN 2) Disease (≥CIN 2)
Nene B	2002	Δεν αναφέρονται	Δεν αναφέρονται	Δεν αναφέρονται	Δεν αναφέρονται	Δεν αναφέρονται



Πίνακας 7. Μελέτες που εξαιρέθηκαν από τη μετα-ανάλυση

Συγγραφέας	Περιοδικό	Έτος	T	Σελίδες	Λόγος εξαιρέσεως
Poka R	Clin Exp Obstet Gynecol	1994	21	203-6	Παλαιά μέθοδος ανίχνευσης HPV
Rozenaal L	Int J Cancer	1996	68	766-9	Μέθοδος αναφοράς μόνο σε γυναίκες με παθολογικό Pap τεστ
Kotloff KL	Sex Transm Dis	1998	25	243-50	Μέθοδος αναφοράς μόνο σε γυναίκες με παθολογικό Pap τεστ
Nobbenhuis MA	Lancet	1999	354	20-25	Πληθυσμός με παθολογικά Pap τεστ
Riethmuller D	Diagn Mol Pathol	1999	8	157-64	Δεν υπάρχει μέθοδος αναφοράς, ο πληθυσμός περιλαμβάνει γυναίκες με προηγούμενα παθολογικά Pap τεστ
Birner P	Wien Klin Wochenschr	2000	112	761-6	Πληθυσμός υψηλού κινδύνου
Ekalaksananan T	J Obstet Gynaecol Res	2001	27	117-24	Μέθοδος αναφοράς μόνο σε γυναίκες με παθολογικό Pap τεστ
Woodman CB	Lancet	2001	357	1831-6	Γυναίκες νεαρής ηλικίας, Μέθοδος αναφοράς μόνο σε γυναίκες με παθολογικό Pap τεστ
Kjaer S	BMJ	2002	325	572-8	Μέθοδος αναφοράς μόνο σε γυναίκες με παθολογικό Pap τεστ
Vassiliakos P	Br J Cancer	2002	86	382-8	HPV τεστ δεν εφαρμόστηκε σε όλες τις γυναίκες
An HJ	Cancer	2003	97	1672-80	Δεν έγινε σε όλες τις HPV θετικές. Ο πληθυσμός της μελέτης δεν είναι δείγμα του γενικού πληθυσμού. Υψηλός επιπολασμός υψηλόβαθμων αλλοιώσεων (201/1983).
Carvalho M	Braz J Infect Dis	2003	7	121-5	Δεν υπάρχει μέθοδος αναφοράς
Ferreccio C	Cancer Epidemiol Biomarkers Prev	2003	12	815-23	Διπλότυπο υλικό (βλ. Schiffman et al)
Garcia F	Obstet Gynecol	2003	102	266-72	Πληθυσμός υψηλού κινδύνου (ιστρεία κολποσκοπήσης)
Masumoto N	Br J Cancer	2003	88	1883-8	Δεν εφαρμόστηκε HPV σε όλες, ο πληθυσμός περιλαμβάνει γυναίκες με προηγούμενα παθολογικά Pap τεστ
Schlecht NF	Int J Cancer	2003	103	519-24	Δεν υπάρχει μέθοδος αναφοράς
Ratnam S	Cancer Epidemiol Biomarkers Prev	2000	9	945-51	Δεν δίνονται ξεχωριστά αποτελέσματα για HCl και HClII
Nieminen P	BJOG	2004	111	842-8	Το HClII δεν ήταν κριτήριο παραπομπής
De Cremoux P	Am J Clin Pathol	2003	120	492-9	Διπλότυπο υλικό (βλ. Coste et al)
Schneider A	Am J Obstet Gynecol	1996	174	1534-41	Το HCT δεν ήταν κριτήριο παραπομπής
Bleiweiss	J Reprod Med	1992	37	151-6	Το HPV test έγινε σε παθολογικές τραχηλικές βιοψίες
Pasetto	Gynecol Oncol	1992	46	33-6	Υψηλή επίπτωση της νόσου, επιλεγμένος πληθυσμός
Bernard	J Infect Dis	1994	170	1077-85	Ανακάλυψη νέων τύπων HPV
Burger	BMJ	1995	310	94-5	Μελετήθηκαν μόνο ασθενείς με παθολογικό τεστ Pap
Nindl	Int J Gynecol Pathol	1997	16	197-204	Σύγκριση HCT και PCR σε επιλεγμένα δείγματα

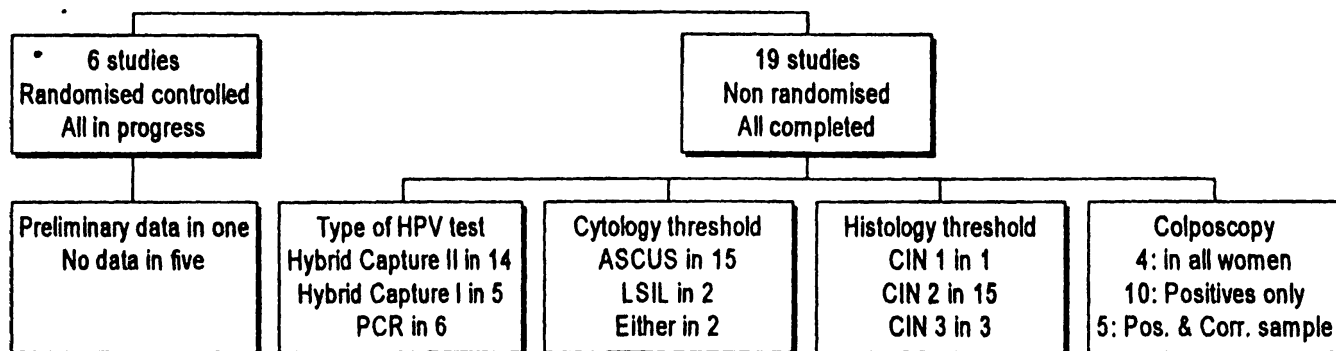


Sherman	Cancer	1997	81	89-97	Υποπληθυσμός της μελέτης Costa Rica Schiffman 2000
Clavel C	Int J Cancer	1998	75	525-8	Υποπληθυσμός της μελέτης Reims Clavel 2001
Clavel C	J Clin Pathol	1998	51	737-40	Επιλεγμένος πληθυσμός υψηλού κινδύνου
Matsuura	Acta Cytol	1998	42	625-30	Μελετήθηκαν μόνο ασθενείς με LGCIN
Clavel C	Br J Cancer	1999	80	1306-11	Το HPV test έγινε σε παθολογικές τραχηλικές βιοψίες
Hillemanns	Lancet	1999	354	1970	Πληθυσμός υψηλού κινδύνου
Merkelbach-Bruse	Diagn Mol Pathol	1999	8	32-8	Το HPV test έγινε σε παθολογικές τραχηλικές βιοψίες
Petry	Gynecol Oncol	1999	75	427-31	HIV θετικές γυναίκες
Womack	Int J Cancer	2000	85	206-10	Υποπληθυσμός της μελέτης Zimbabwe Blumenthal 2001
Womack	BJOG	2000	107	33-8	Υποπληθυσμός της μελέτης Zimbabwe Blumenthal 2001
Infantolino	Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol	2000	93	71-5	Μελετήθηκαν μόνο γυναίκες με παθολογικό Pap τεστ
Sellors	CMAJ	2000	163	503-8	Δεν υπάρχουν αποτελέσματα μεθόδου αναφοράς, το HPV δεν ήταν ένδειξη για κολποσκόπηση
Wright	JAMA	2000	263	81-6	Υποπληθυσμός της μελέτης South Africa Kuhn 2000, self collected specimens
Belinson	Gynecol Oncol	2001	83	439-44	Διπλότυπο υλικό (βλ. Pan 2003)
Wright	N Engl J Med	2003	348	489-90	Editorial
Bulkmans	Int J Cancer	2004	110	94-101	Προκαταρκτικά δεδομένα RCT
Kuhn L	J Natl Cancer Inst	2000	92	818-25	Διπλότυπο υλικό (βλ. Kuhn 2000)



Οι παράμετροι που προκαλούν σημαντική κλινική ετερογένεια μεταξύ των μελετών είναι οι ακόλουθες:

- Ο τύπος της κυτταρολογικής μελέτης που χρησιμοποιήθηκε (συμβατικός σε 15, liquid based σε 2, και οι δύο παραπάνω σε 2 μελέτες)
- Ο ουδός της κυτταρολογίας που τέθηκε για το χαρακτηρισμό των επιχρισμάτων ως παθολογικά (ASCUS ή οριακά σε 15, LSIL σε 2, οποιοδήποτε από τα παραπάνω σε 2 μελέτες)
- Ο ουδός χαρακτηρισμού ως θετικού του HPV τεστ χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Hybrid Capture (1pg/ml σε 7, 10pg/ml σε 3, πολλαπλοί σε 1, άγνωστο σε 2 μελέτες)
- Ουδός ιστολογίας για τον χαρακτηρισμό της ασθένειας (CIN1 σε 1, CIN2 σε 15, CIN3 σε 3 μελέτες)



Το μέγεθος του πληθυσμού των μελετών ποικίλει από 977 (Paraskevaïdis et al) μέχρι 20810 (Sherman et al) γυναίκες. Στις περισσότερες μελέτες ο πληθυσμός αποτελούνταν από γυναίκες που παρακολουθούνταν με έλεγχο τραχηλικού επιχρίσματος ρουτίνας είτε στα πλαίσια οργανωμένου προγράμματος screening είτε με δική τους πρωτοβουλία εκεί όπου δεν υπάρχουν οργανωμένα προγράμματα μαζικού ελέγχου. Σε δύο μελέτες οι γυναίκες δεν είχαν παρακολουθηθεί ποτέ στο παρελθόν (Kuhn et al and Pan et al). Σε μία μελέτη από τους De



Cremoux et al ένα μέρος του υπό μελέτη πληθυσμού περιλάμβανε γυναίκες που παραπέμφθηκαν για κολποσκόπηση εξαιτίας παθολογικών επιχρισμάτων. Τα αποτελέσματα αυτού του τμήματος εξαιρέθηκαν από την ανασκόπηση.

Η ευαισθησία του HPV τεστ ήταν μεγαλύτερη σε σύγκριση με το τεστ Παπανικολάου στις περισσότερες μελέτες. (12/19) (Εικόνα 1). Σε 13 μελέτες με ουδό κυτταρολογικής μελέτης το ASCUS και ουδό ιστολογικής αξιολόγησης το CIN2, που είναι μάλιστα εκείνες που βρίσκονται πιο κοντά στην κλινική πράξη τουλάχιστον για τον αναπτυσσόμενο κόσμο, η ευαισθησία της εξέτασης για HPV ήταν υψηλότερη στις 8 και κυμαίνονταν μεταξύ 63.7-100%, ενώ εκείνη του τεστ Pap ήταν 26.3-94%. Αν από τις 13 αυτές μελέτες λάβουμε υπόψη μόνο τις 6 στις οποίες χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος HCII τότε η ευαισθησία του HPV testing είναι σαφώς υψηλότερη σε σχέση με εκείνη του τεστ Παπανικολάου. Παρόμοια είναι τα ευρήματα που αφορούν την αρνητική προγνωστική αξία (ΑΠΑ) του τεστ. Ειδικά για 6 μελέτες που χρησιμοποίησαν τη μέθοδο HCII με ουδό τα ASCUS και CIN2, η ΑΠΑ της εξέτασης για ανίχνευση του HPV είναι ομοιόμορφα υψηλότερη σε σύγκριση με εκείνη του τεστ Pap (99.1-100% έναντι 98-99.8% αντίστοιχα).

Η ειδικότητα του τεστ για HPV από την άλλη πλευρά είναι χαμηλότερη αυτής του τεστ Παπανικολάου σε 15 από τις 19 μελέτες (με εύρος 15.9-99.1% έναντι 76.6-99.9% αντίστοιχα). Αν λάβουμε υπόψη μόνο τις 8 μελέτες που χρησιμοποίησαν τη μέθοδο HCII ανίχνευσης του HPV με ουδό θετικότητας το 1 pg/ml, ουδό κυτταρολογίας το ASCUS και ουδό ιστολογίας το CIN 2 ή CIN 3, τότε το τεστ για τον HPV έχει χαμηλότερη ειδικότητα σε σχέση με το τεστ Pap σε 7/8 μελέτες. Η θετική προγνωστική αξία (ΘΠΑ) του HPV testing είναι χαμηλότερη αυτής του τεστ Παπανικολάου σε 10 από τις 17 μελέτες που είχαμε διαθέσιμα αποτελέσματα. Αν ληφθούν υπόψη μόνο 8 μελέτες που χρησιμοποίησαν τη μέθοδο

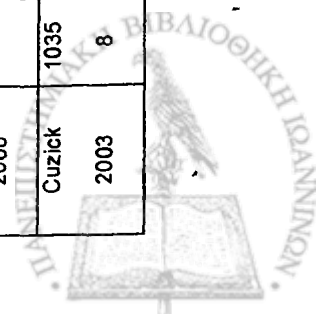


ΗCII για ανίχνευση του HPV με ουδό θετικότητας το1 pg/ml, ουδό κυτταρολογίας το ASCUS και ουδό ιστολογίας το CIN2 ή 3, η ΘΠΑ της εξέτασης για HPV είναι χαμηλότερη αυτής του τεστ Παπανικολάου σε 6/8 εργασίες (με εύρος τιμών: 3.7-24.2% έναντι 9-36.1% αντίστοιχα)..



Πίνακας 8. Διαγνωστικοί δείκτες των screening τεστ σε κάθε μελέτη

Μελέτες με Hybrid Capture II test στο 1 pg/ml, Ουδό κυτταρολογίας ASCUS, Ουδό ιστολογίας CIN 2 ή 3														
Αρθρο	N	Ουδός HPV	Τύπος τεστ Παπ	Ουδός τεστ Παπ	Ουδός ιστολογίας	Επιπολασµός	Ευαισθησία HPV	Ευαισθησία τεστ Παπ	Ειδικότητα HPV	Ειδικότητα τεστ Παπ	ΑΠΑ HPV	ΑΠΑ Pap	ΘΠΑ HPV	ΘΠΑ Pap
Syrjanen 2002	3175	1 or 2 pg/ml	Conventi onal	Pap 2 (Ascus)	CIN 3	0,01	93,5	83,9 / 68			96,8	94,9	15,1	33,3
Petry 2003	7908	1 pg/ml	Conventi onal	Pap 2w (Ascus)	CIN 2	0,006	97,8	43,5	95,3	98	100	98	10,9	11,4
Clavel 2001	2198	1 pg/ml	Conventi onal	Ascus	HGSIL	0,02	100	68,1	89,8	96,1	100	99,3	17,7	27,6
Clavel 2001	5288	1 pg/ml	LBC	Ascus	HGSIL	0,015	100	87,8	90,7	93,7	100	99,8	14,5	18
Sherman 2003	2081	1 pg/ml	Conventi onal	Ascus	CIN 3	0,008	64,3	34,5	86,1	97,1	99,7	99,4	3,7	9
Pan 2003	1836	? pg/ml	LBC	Ascus	CIN 2	0,045	95,2	94	85,8	76,9	99,7	99,6	24,2	16,1
Salmeron 2003	7589	1 pg/ml	conventio nal	Ascus	CIN 2	0,013	93,1	59,4	92,8	98,6	99,9	99,4	14,8	36,1
Rainam 2000	2098	? pg/ml	conventio nal	Ascus	CIN 2		68,1	40,2	90,6	91,6	99,1	98,4	15,4	10,7
Cuzick 2003	1035	1 pg/ml	conventio nal	Borderline	CIN 2	0,009	96,7	83,3	93,2	94,4	100	99,8	11,1	11,6



Μελέτες με Hybrid Capture II test με άλλους ουδούς

Αρθρο	N	Ουδός HPV	Τύπος test Πακ	Ουδός test Πακ	Ουδός ιστολογίας	Επιπολασι ός	Ευαισθησία HPV	Ευαισθησία test Πακ	Ειδικότητα HPV	Ειδικότητα test Πακ	ΑΠΑ HPV	ΑΠΑ Cytol	ΘΠΑ HPV	ΘΠΑ Cytol
Syjanen 2002	3175	5 or 10 pg/ml	Conventi onal	Pap 3 (LSIL)	CIN 3	0,01	90,3	74,2/64	15,9	76,6	97,4	94,8	19,4	44,4
Blumenthal 2001	2199	1 pg/ml	Conventi onal	LSIL	CIN 2	0,095	80,8	46,6	63,8	91,5	96,9	94,3	18,9	36,5
De Cremoux 2003	1323	1 pg/ml	Conventi onal	Ascus	CIN 1		64	74	86	91				
De Cremoux 2003	1323	1 pg/ml	LBC	Ascus	CIN 1		64	73	86	90				



Μελέτες με Hybrid Capture test

Αρθρο	N	Ουδός HPV	Τύπος τεστ Παπ	Ουδός τεστ Παπ	Ουδός ιστολογίας	Επιπολασ μός	Ευαισθησία HPV	Ευαισθησία τεστ Παπ	Ειδικότητα HPV	Ειδικότητα τεστ Παπ	ΑΠΑ HPV	ΑΠΑ Cytol	ΘΠΑ HPV	ΘΠΑ Cytol
Costa 2000	813	10 pg/ml	Conventio nal	Ascus	CIN 2	0,11	63,7	82,4	90,4	85,5	95,2	97,5	45,7	41,7
Schiffman 2000	8554	10 pg/ml	Conventio nal	Ascus	CIN 2	0,016	74,8	77,7	93,4	94,2				
Kuhn 2000	2861	10 pg/ml	Conventio nal	LSIL	CIN 2	0,002	73,3	78,3	86	96,8			23,5	31,9
Kuhn 2000	2861	100 pg/ml	Conventio nal	LSIL	CIN 2	0,002	50		95,4					



Μελέτες με PCR, Ουδό κυτταρολογίας ASCUS, Ουδό ιστολογίας CIN 2 ή 3

Αρθρο	N	Primer	Τύπος τεστ Παπ	Ουδός τεστ Παπ	Ουδός ιστολογίας	Επιπολασ μός	Ευσαιθήςια HPV	Ευσαιθήςια τεστ Παπ	Ειδικότητα HPV	Ειδικότητα τεστ Παπ	ΑΠΑ HPV	ΑΠΑ Cytol	ΑΠΑ HPV	ΑΠΑ Cytol
Paraskeval dis 2001	977	MY09/ MY11	Conventi onal	Ascus	CIN 2	0,029	89,3	96,4	79,1	92,5	99,6	99,9	11,2	27,6
Schneider 2000	4761	GP5/ GP6	Conventi onal	Ascus	CIN 2	0,024	94,7	26,3	98,3					
Cuzick 1995	1985		Conventi onal	Borderline	CIN 2	0,04	75,3	55,6	95,5	95,6	98,9	98,1	41,8	35,1
Cuzick 1999	2988	MY09/ MY11	Conventi onal	Borderline	CIN 2	0,014	64,3	85,7	98,6	95,6	99,5	99,8	40,3	21,7
Oh 2001	1286		conventi onal	Ascus	HGSIL	0,038	78	94	99,1	92,2	99,1	99,7	7,8	32,6
Kulasingam 2002	3448	MY09/ MY11	LBC	Ascus	CIN 3	0,025	88,5	74,7	86,3	86,5	99,7	99,2	14,4	12,6

Άλλες μελέτες με PCR

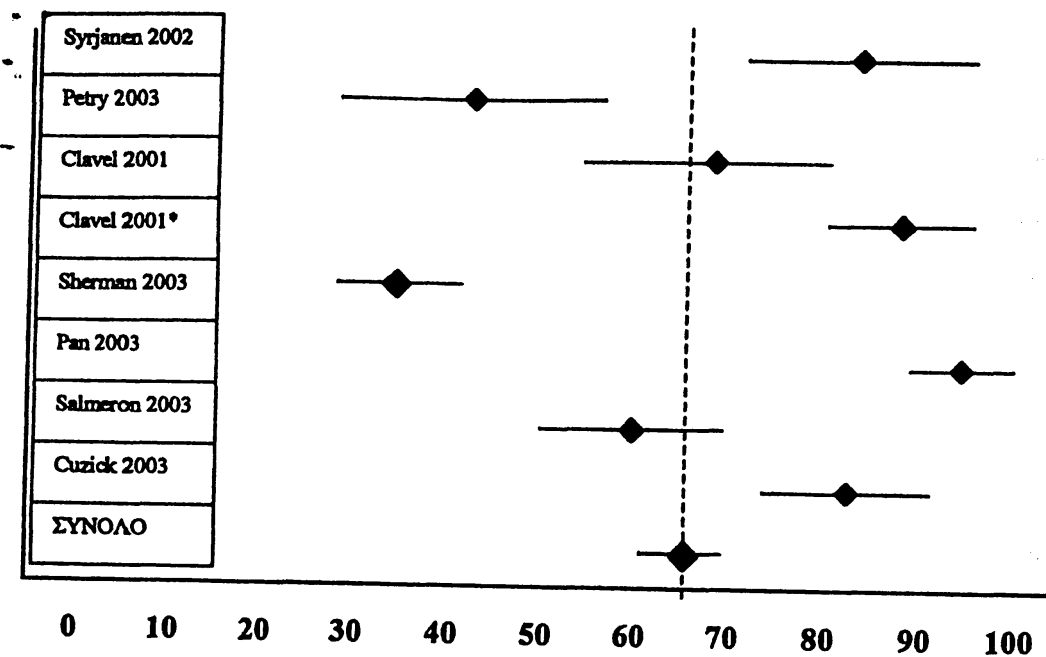
Αρθρο	N	Primer	Τύπος τεστ Παπ	Ουδός τεστ Παπ	Ουδός ιστολογίας	Επιπολασ μός	Ευσαιθήςια HPV	Ευσαιθήςια τεστ Παπ	Ειδικότητα HPV	Ειδικότητα τεστ Παπ	ΑΠΑ HPV	ΑΠΑ Cytol	ΑΠΑ HPV	ΑΠΑ Cytol
Schneider 2000	4761		Conventi onal	Pap 3 (LSIL)	CIN 2	0,024	94,7	18,4	98,3	99,9	99,9	98	30,3	80,8



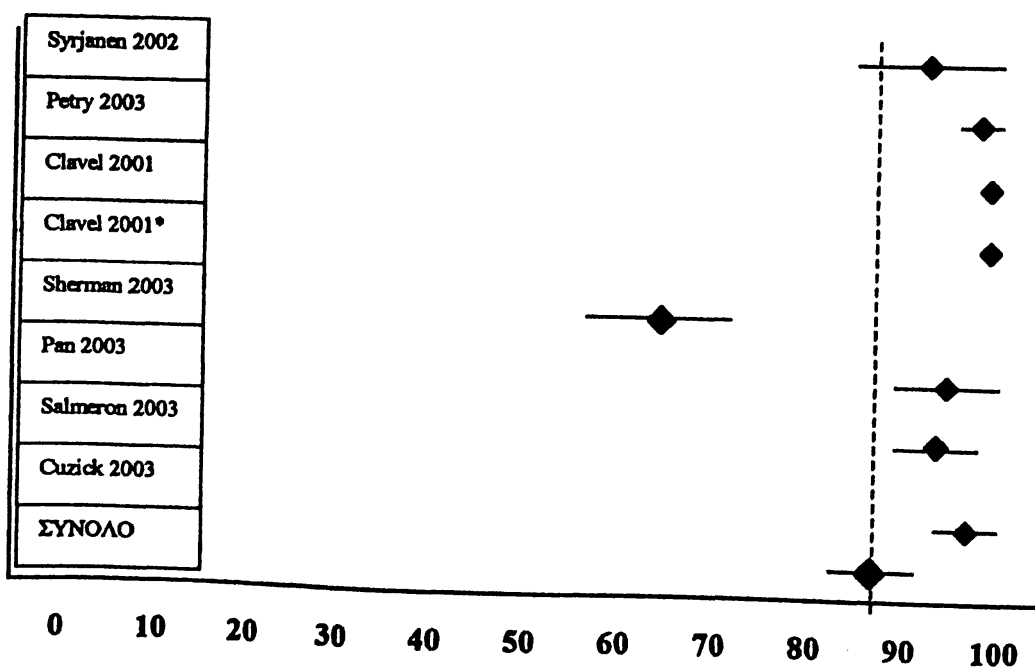
Στα σχεδιαγράμματα 1 - 8 φαίνονται τα forest plots για εργασίες που χρησιμοποιούν το HCII, τον κυτταρολογικό ουδό ASCUS και τον ιστολογικό ουδό CIN 2 ή 3. Η συνολική ευαισθησία του HPV τεστ (88% - CI 95%: 85.5-90.5%) είναι στατιστικώς σημαντικά ($P < 0.05$) υψηλότερη του τεστ Παπανικολάου (64,8% - CI 95%: 61,1-68,5%) . Αντιθέτως η συνολική ειδικότητα του HPV τεστ (90,2% - CI 95%: 90-90,4%) είναι στατιστικώς σημαντικά χαμηλότερη του τεστ Παπανικολάου (95,9% - CI 95%: 95,7-96,1%) αλλά η διαφορά είναι λιγότερο εμφανής. Στα σχεδιαγράμματα 9-10 φαίνεται το πηλίκο της ευαισθησίας ή της ειδικότητας του HPV τεστ προς την ευαισθησία ή ειδικότητα του τεστ Παπανικολάου. Αποτέλεσμα μεγαλύτερο της μονάδας υποδηλώνει ανωτερότητα του HPV τεστ, ενώ μικρότερο της μονάδας ανωτερότητα του τεστ Παπανικολάου.



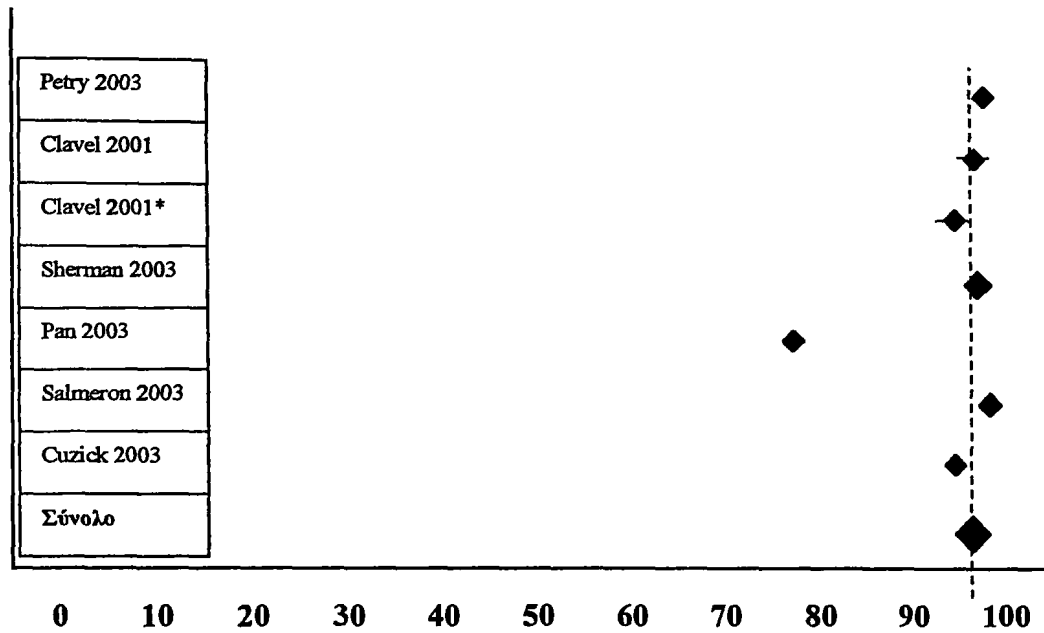
Σχεδιάγραμμα 1. Forest plot για την ευαισθησία του τεστ Παπανικολάου



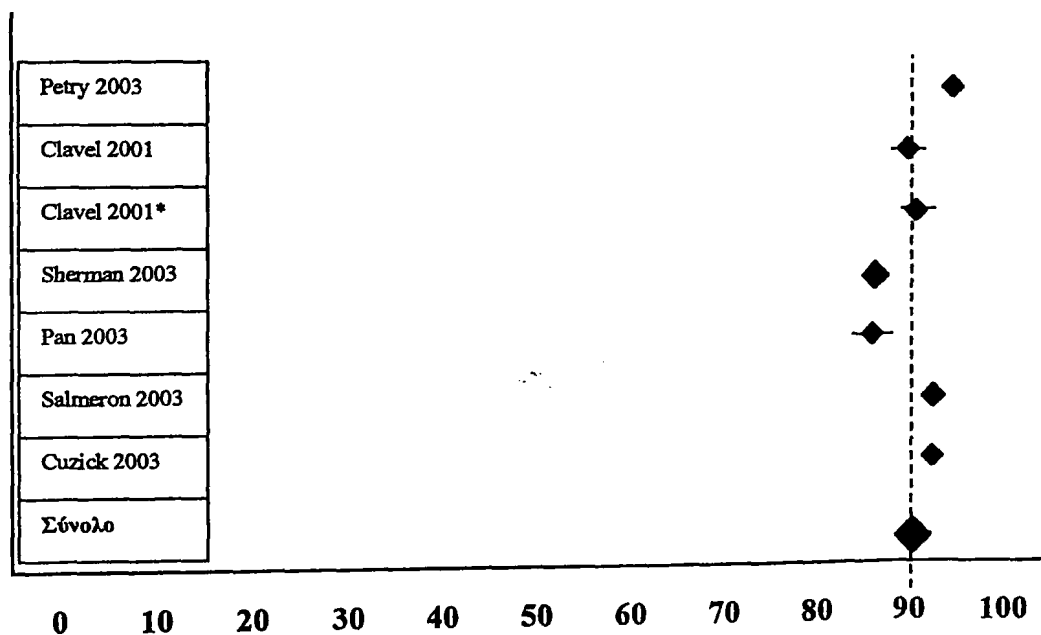
Σχεδιάγραμμα 2. Forest plot για την ευαισθησία του HPV τεστ



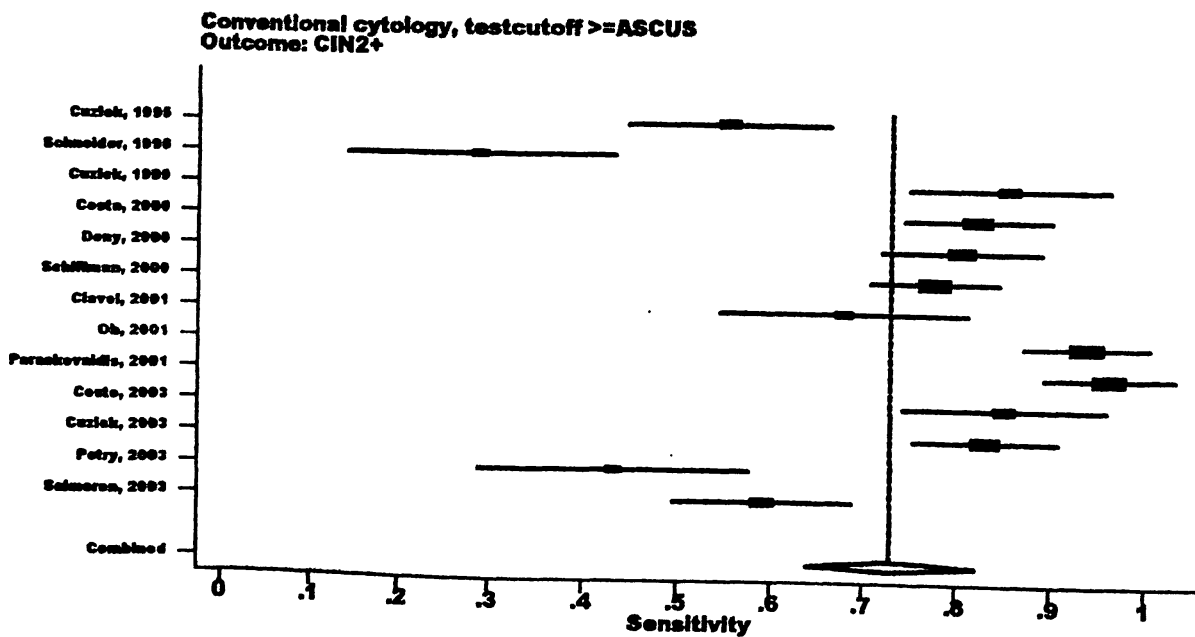
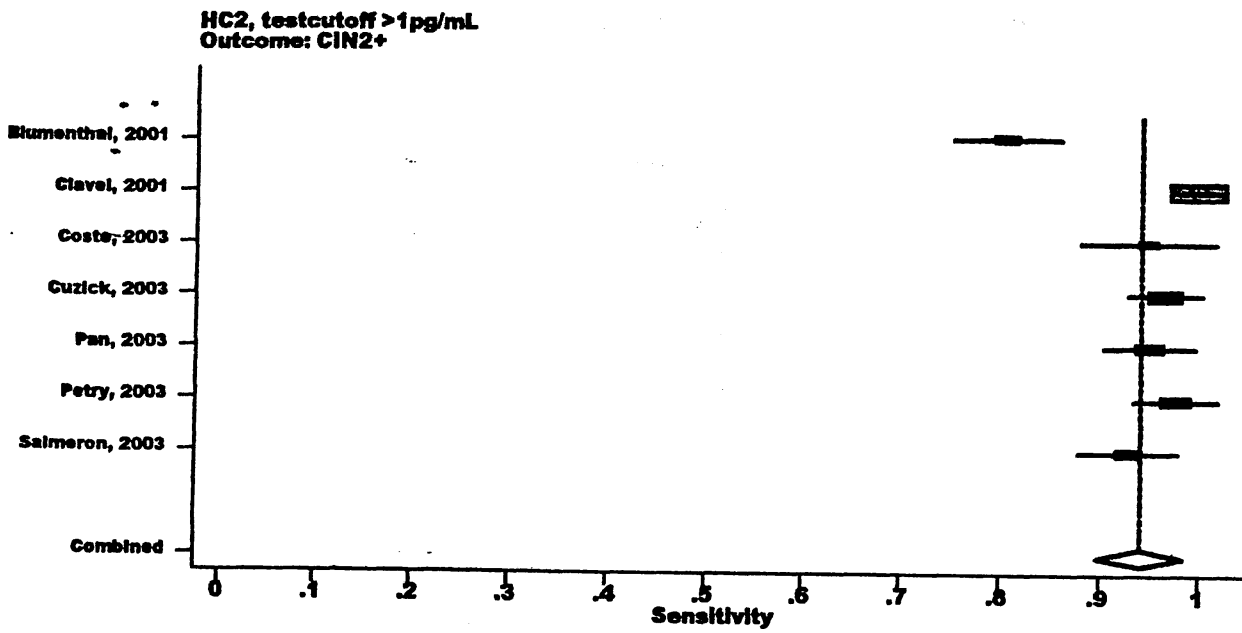
Σχεδιάγραμμα 3. Forest plot για την ειδικότητα του τεστ Παπανικολάου



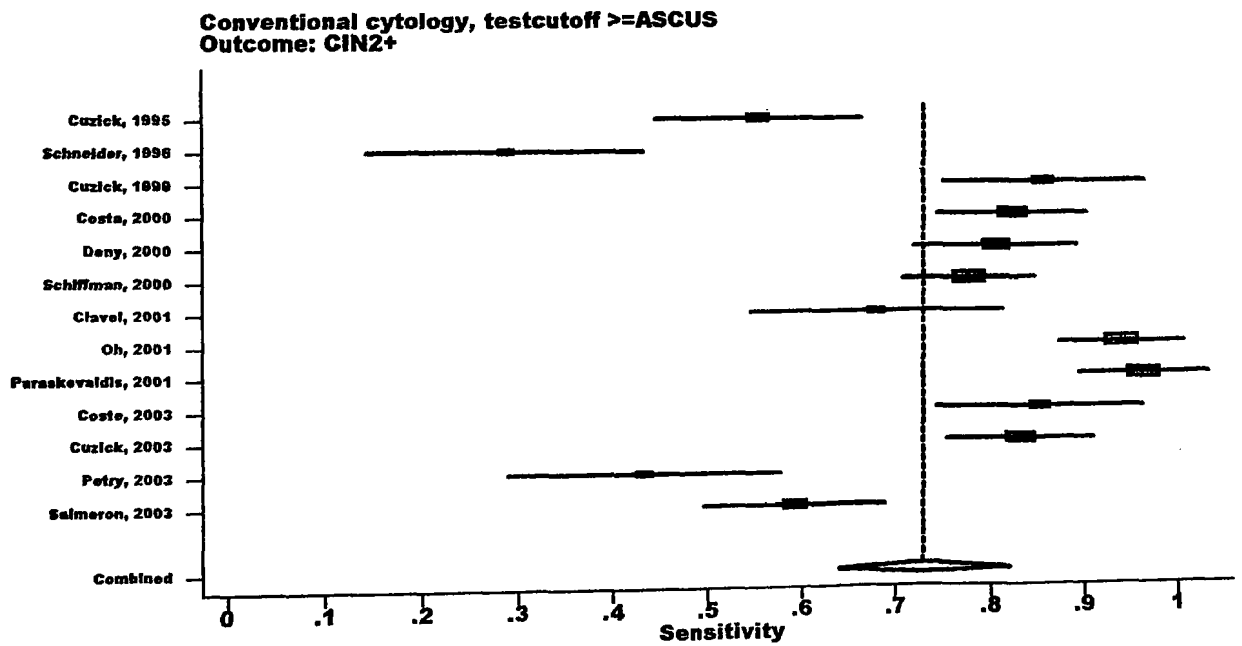
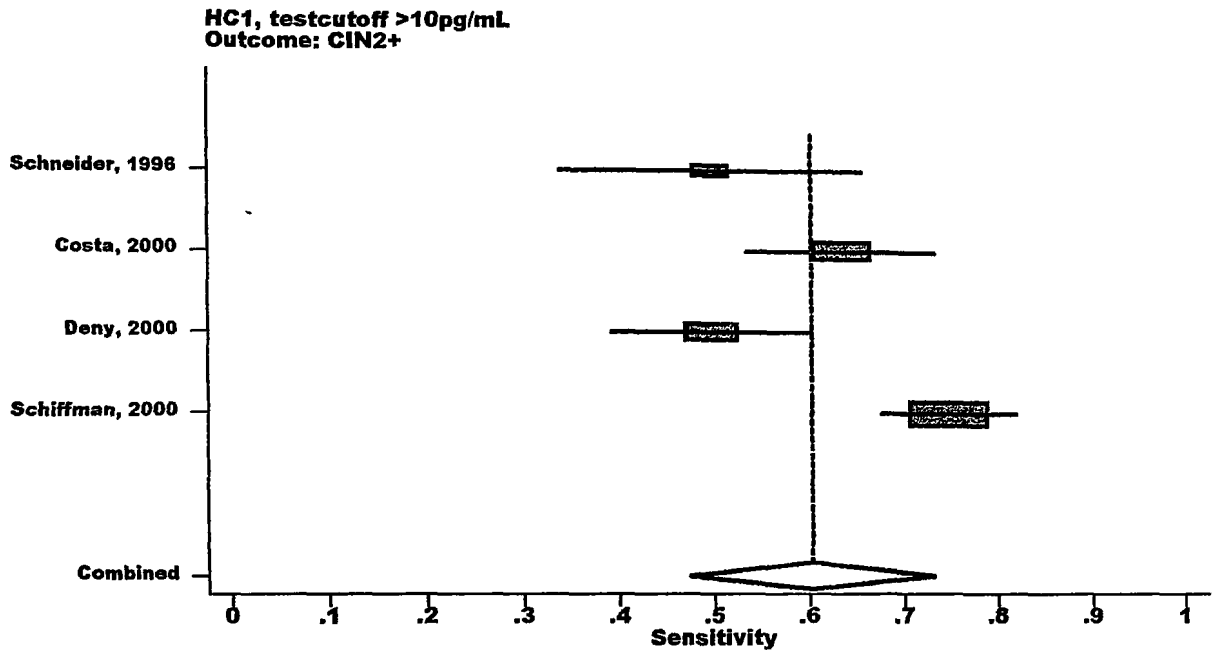
Σχεδιάγραμμα 4. Forest plot για την ειδικότητα του HPV test



Σχεδιαγράμματα 5&6

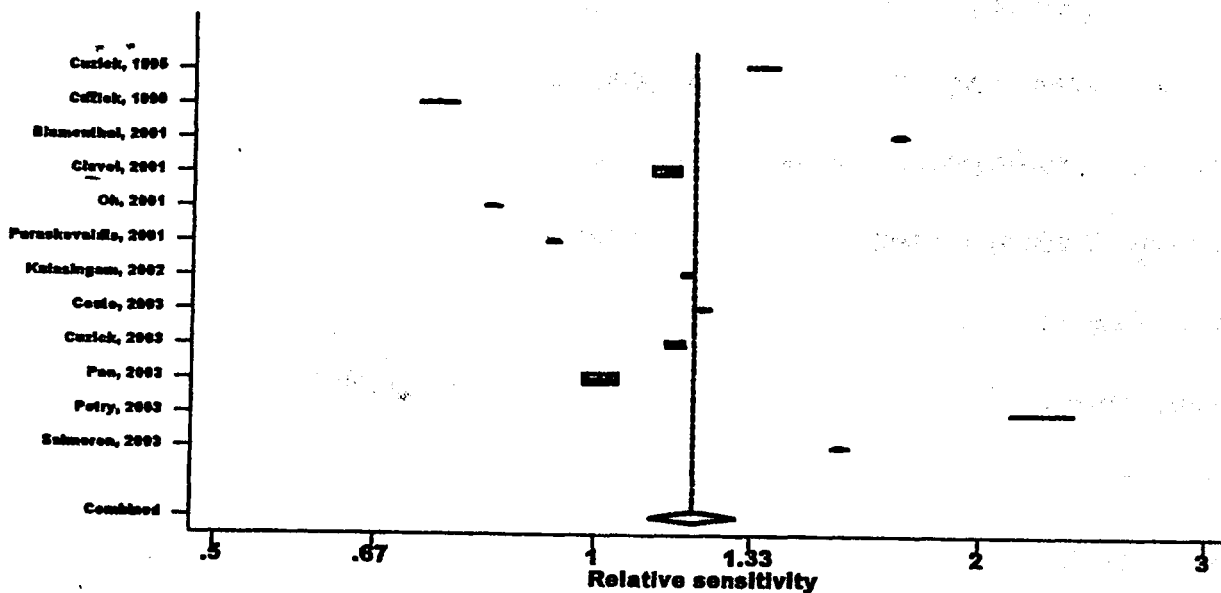


Σχεδιαγράμματα 7&8

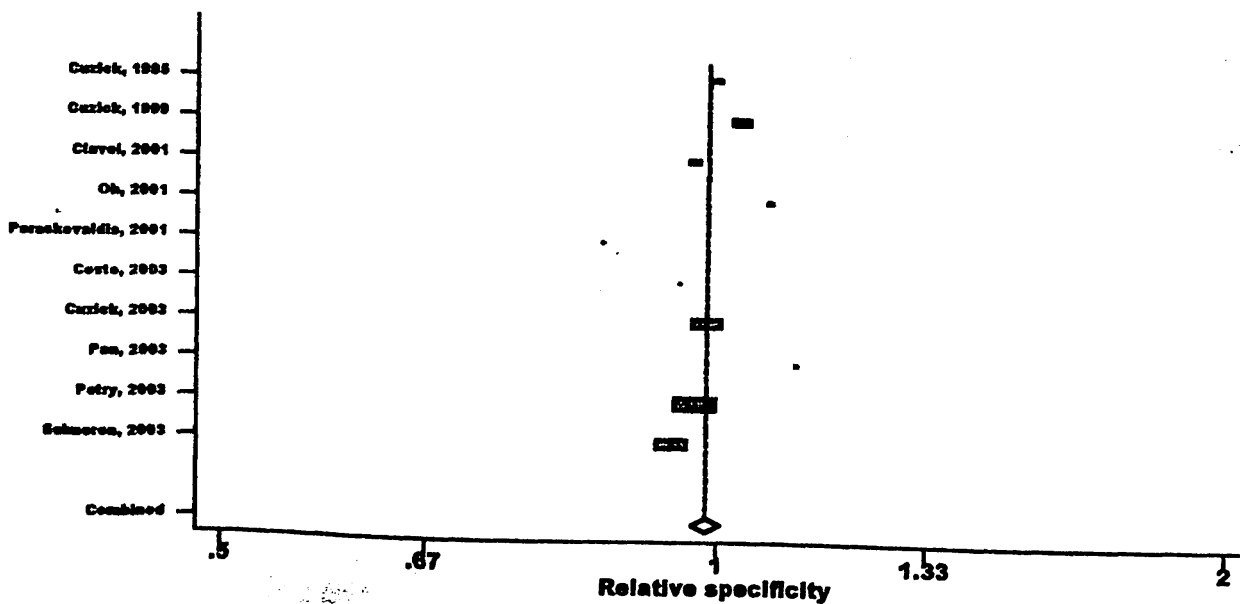


Σχεδιαγράμματα 9&10

HC2 at >1pg/mL or PCR/Cytology, Cytology at testcuttoff >=ASCUS
Outcome: CIN2+



HC2 at >1pg/mL or PCR/Cytology, at testcuttoff >=ASCUS
Outcome: CIN2+



Οι διαγνωστικοί δείκτες του συνδυασμού του HPV test και του τεστ Παπανικολάου μπορούν να υπολογιστούν αξιόπιστα μόνο στις μελέτες στις οποίες η διαγνωστική μέθοδος αναφοράς (gold standard κολποσκόπηση) εφαρμόστηκε σε όλες τις γυναίκες ακόμα και τις αρνητικές ή τουλάχιστον σε ένα διορθωτικό δείγμα των αρνητικών. Από τις 9 τέτοιες μελέτες υπήρχαν διαθέσιμα στοιχεία για το συνδυασμό σε 6. Η ευαισθησία του συνδυασμού κυμαινόταν μεταξύ 76.3 και 100%, η οποία ήταν κατά 12.1-56.5% ανώτερη της κυτταρολογίας. Η ΑΠΑ του συνδυασμού κυμαινόταν μεταξύ 97.1 και 100%, κατά 0.2-2.8% ανώτερη της κυτταρολογίας. Ωστόσο η ειδικότητα και η ΘΠΑ του συνδυασμού ήταν χαμηλότερες της κυτταρολογίας. Η ειδικότητα του συνδυασμού είχε εύρος μεταξύ 63.4-93.8%, χαμηλότερη κατά 3.5-28.1% του τεστ Παπ. Η ΘΠΑ του συνδυασμού ήταν μεταξύ 6.5-39.8%, η οποία ήταν από 1.3% ανώτερη έως 17.6% χαμηλότερη του τεστ Παπ.



4. Συζήτηση

Στην παρούσα ανασκόπηση η ευαισθησία της κυτταρολογικής εξέτασης κατά Παπανικολάου είναι αρκετά χαμηλή, χαμηλότερη ακόμη και από αυτή που αναφέρεται στη μετα-ανάλυση της διαγνωστικής ακρίβειας του τεστ Pap από τους Nanda et al [16]. Το εύρημα αυτό σε συνδυασμό με την παρατήρηση απωλειών περιπτώσεων καρκίνου γυναικών που παρακολουθούνταν με τεστ Παπανικολάου επιβεβαιώνουν την ανάγκη αλλαγής της στρατηγικής μαζικού ελέγχου για την πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Μία πιθανή πηγή συστηματικού σφάλματος για την παρούσα συστηματική ανασκόπηση είναι ότι πολλές μελέτες υπόκεινται σε συστηματικό σφάλμα εξακρίβωσης (verification bias) αφού η διαγνωστική μέθοδος αναφοράς - gold standard (κολποσκόπηση και βιοψία) δεν εφαρμόστηκε σε όλες τις γυναίκες με την εξαίρεση των μελετών από τους Costa et al, Blumenthal et al, De Cremoux et al, και Pan et al. Το γεγονός αυτό μπορεί να προκαλέσει υπερέτιμηση της ευαισθησίας του HPV τεστ και του τεστ Pap, αλλά δεν επηρεάζει τις σχετικές τους διαφορές. Επιπλέον σε μερικές μελέτες έγινε κολποσκόπηση και σε ένα διορθωτικό δείγμα γυναικών με αρνητικά αποτελέσματα και στα δύο τεστ και βρέθηκαν ελάχιστες περιπτώσεις υψηλόβαθμων αλλοιώσεων, κάτι που ελαχιστοποιεί την επιρροή του συστηματικού σφάλματος εξακρίβωσης. Ένα άλλο πρόβλημα με τις μελέτες αυτής της ανασκόπησης είναι ότι δεν εξετάζουν την επίδραση του HPV testing στον τελικό στόχο του προγράμματος μαζικού ελέγχου, που είναι η μείωση της επίπτωσης και της θνησιμότητας από καρκίνο του τραχήλου. Αυτό μπορεί να εξεταστεί από τις υπό εξέλιξη τυχαιοποιημένες μελέτες.

Από τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης διαπιστώνεται ότι η ειδικότητα και η θετική προγνωστική αξία του HPV τεστ είναι γενικά χαμηλότερη από του τεστ Παπανικολάου.



Ωστόσο οι συνήγοροι του HPV testing υποστηρίζουν ότι πολλές από τις γυναίκες με θετικό τεστ για HPV χωρίς όμως αλλοιώσεις στην κολποσκόπηση, οι οποίες θεωρούνται ψευδώς θετικές στις crosssectional μελέτες, θα εμφανίσουν υψηλόβαθμες αλλοιώσεις αν παρακολουθηθούν για ένα χρονικό διάστημα. Πράγματι οι Kjaer et al έδειξαν ότι γυναίκες με αρνητική κυτταρολογία και θετικό τεστ για υψηλού κινδύνου τύπο HPV έχουν σχετικό κίνδυνο για εμφάνιση υψηλόβαθμων αλλοιώσεων εντός διετίας 25.8 συγκρινόμενες με αρνητικές για HPV γυναίκες [73]. Κατά αυτόν τον τρόπο αναγνωρίζεται μια ομάδα γυναικών υψηλού κινδύνου που χρήζει στενής παρακολούθησης.

Ένα ευνοϊκό αποτέλεσμα της μετα-ανάλυσης για το HPV testing είναι ότι η ευαισθησία και η ΑΠΑ του είναι υψηλότερες από του τεστ Παπανικολάου στις μελέτες που χρησιμοποιήθηκε το Hybrid Capture II, μειώνοντας έτσι τον αριθμό των ψευδώς αρνητικών. Σε ένα πρόγραμμα μαζικού ελέγχου τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα αποτελούν ένα πιο ανησυχητικό στοιχείο από τα ψευδώς θετικά, επειδή οι γυναίκες με ψευδώς αρνητικά τεστ δεν θα ανιχνευθούν και θα παραμείνουν σε κίνδυνο για την ανάπτυξη καρκίνου. Αυτή η βελτιωμένη επίδοση δεν παρατηρείται σταθερά σε όλες τις μελέτες και με όλα τα είδη HPV testing. Επομένως το πλεονέκτημα αυτό θα πρέπει να θεωρείται αποκλειστικό της μεθόδου Hybrid Capture II method, η οποία είναι διαθέσιμη στο εμπόριο και αρκετά εύκολη στη χρήση.

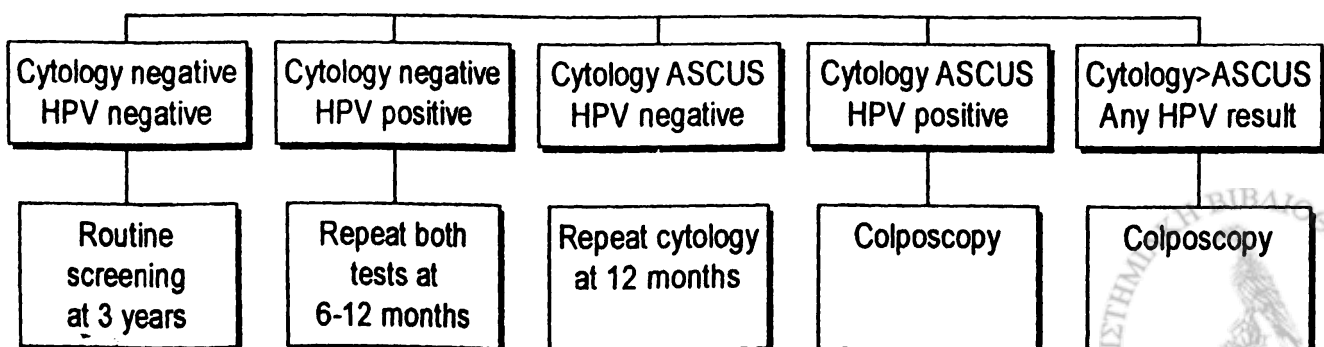
Ο συνδυασμός του τεστ Παπανικολάου με το HPV τεστ πρόσφερε μια επιπλέον αύξηση στην ευαισθησία με μια μικρότερη αναλογικά μείωση της ειδικότητας υποδηλώνοντας ότι αυτός μπορεί να είναι και ο καλύτερος τρόπος να βελτιωθεί η αποτελεσματικότητα του προγράμματος μαζικού ελέγχου για την πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Μια συγκεκριμένη πρόταση για την εφαρμογή του συνδυασμού είναι η



εξής: οι γυναίκες θα υποβάλλονται ταυτόχρονα σε τεστ Παπανικολάου και HPV τεστ κάθε τριετία. Όσες έχουν ένα τουλάχιστον από τα δύο τεστ θετικά θα παραπέμπονται για κολποσκόπηση. Αν η κολποσκόπηση και το τεστ Παπανικολάου είναι αρνητικά αλλά το HPV τεστ θετικό, οι γυναίκες θα πρέπει να επανεξετάζονται με τεστ Παπανικολάου και HPV τεστ μετά ένα έτος καθώς παραμένουν σε κίνδυνο εμφάνισης υψηλόβαθμων αλλοιώσεων.

Ένα σημαντικό θέμα που θα επηρεάσει την απόφαση για την εφαρμογή του HPV τεστ είναι το κόστος του. Οι Merea et al υπολόγισαν ότι για 20.000 HPV τεστ ετησίως το κάθε Hybrid Capture II τεστ θα κόστιζε 23.4 δολάρια ενώ το κόστος του συμβατικού τεστ Παπανικολάου υπολογίζεται σε 11.5 δολάρια [74]. Μέχρι στιγμής τα δεδομένα για τη σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας (cost-effectiveness) είναι ανεπαρκή και μελέτες modelling είναι σε εξέλιξη. Σε μια τέτοια μελέτη το μέγιστο όφελος από πλευράς υγείας του πληθυσμού (quality adjusted life years) επετεύχθη με συνδυασμένο έλεγχο με τεστ Παπανικολάου και HPV τεστ κάθε δύο χρόνια μέχρι το θάνατο. Το κόστος μειώνεται με διακοπή του ελέγχου νωρίτερα (πχ. Στην ηλικία των 75 ετών) με ταυτόχρονη απώλεια ενός ποσοστού του οφέλους υγείας (2.2% στην περίπτωση διακοπής στην ηλικία των 75) [75].

Η American Society of colposcopy and cervical pathology έχει ήδη εκδώσει οδηγίες για τη χρήση του HPV testing (Hybrid Capture II) στο μαζικό έλεγχο [77], όπου προτείνεται η χρήση του σε γυναίκες άνω των 30 ετών σε συνδυασμό με την κυτταρολογία σύμφωνα με τον παρακάτω αλγόριθμο.



Εν κατακλείδι από τη μετα-ανάλυση αυτή διαφαίνεται ότι η εξέταση για τον HPV προσφέρει καλύτερη ευαισθησία από το τεστ Παπανικολάου αλλά χαμηλότερη ειδικότητα. Εντούτοις το αποτέλεσμα αυτό δεν παρατηρήθηκε σταθερά σε όλες τις μελέτες και φαίνεται ότι αφορά ιδιαίτερα τη μέθοδο Hybrid Capture II. Ο συνδυασμός της μελέτης των κυττάρων του τραχηλικού επιχρίσματος και της εξέτασης ανίχνευσης του ιού HPV με σκοπό την πρόληψη του καρκίνου της μήτρας προσφέρει περαιτέρω άνοδο της ευαισθησίας. Τα παραπάνω δεδομένα αφορούν τη διαγνωστική ακρίβεια του HPV τεστ σε μία χρονική στιγμή (crosssectional) και όχι τη συνολική επίδοσή του στο μαζικό έλεγχο καθώς προς το παρόν δεν υπάρχουν στοιχεία για τη επίδρασή του στην επίπτωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Για την εξαγωγή τελικών συμπερασμάτων θα χρειαστούν τα αποτελέσματα των υπό εξέλιξη τυχαιοποιημένων μελετών.



Περίληψη

Στις ανεπτυγμένες χώρες ο μαζικός έλεγχος του γενικού πληθυσμού για την πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας γίνεται μέσω της κυτταρολογικής εξέτασης του τραχηλικού επιχρίσματος (τεστ Παπανικολάου). Η γενικότερη ευρωπαϊκή πολιτική, αν και όχι επισήμως καθορισμένη, είναι να καλούνται οι γυναίκες ηλικίας 20-64 ετών για τεστ Παπανικολάου κάθε 3 περίπου χρόνια. Η χρήση της κυτταρολογίας οδήγησε σε δραστική μείωση της επίπτωσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας στις χώρες που υιοθέτησαν ένα οργανωμένο πρόγραμμα ελέγχου. Στις χώρες όπου ο έλεγχος είναι ευκαιριακός δεν υπήρξε αισθητό όφελος. Παρόλη την επιτυχία του προγράμματος ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας αποτελεί την τρίτη συχνότερη αιτία θανάτου από κακοήθεια στις γυναίκες μετά από τον καρκίνο του πνεύμονα και του μαστού (Parkin 2001). Επιπλέον σε μια ανασκόπηση των περιστατικών διηθητικού καρκίνου στη Μεγάλη Βρετανία βρέθηκε ότι το 47% των γυναικών κάτω των 70 ετών με καρκίνο σταδίου IB ή μεγαλύτερο είχαν συμμετάσχει κανονικά στο πρόγραμμα μαζικού ελέγχου και είχαν φυσιολογικά αποτελέσματα (Sasieni 1996).

Για τους παραπάνω λόγους υπάρχει έντονη πίεση για την επινόηση μιας καλύτερης μεθόδου ελέγχου του μαζικού πληθυσμού. Το ενδιαφέρον στράφηκε στην ανίχνευση του DNA του Human Papillomavirus (HPV testing). Ο HPV είναι ένας μικρός DNA ιός με περισσότερους από 100 τύπους. Οι τύποι ομαδοποιούνται σε χαμηλού, ενδιάμεσου και υψηλού κινδύνου. Το HPV testing μπορεί να γίνει με διάφορες μεθόδους (in situ hybridization, Polymerase chain reaction, Hybrid capture test κ.α.), αλλά η πιο βολική μέθοδος για κλινική χρήση είναι το Hybrid Capture II (HCII). Το HPV testing μπορεί να



ληφθεί και από την ίδια τη γυναίκα με τη χρήση ενός στυλεού αποφεύγοντας κατά αυτόν τον τρόπο την επίσκεψη στο ιατρείο.

Η βασική παρατήρηση στην οποία βασίστηκε η εφαρμογή του HPV testing στον μαζικό έλεγχο ήταν ότι η λοίμωξη από κάποιον υψηλού κινδύνου τύπο HPV εμφανίζεται σε 99,7% των καρκίνων του τραχήλου (Walboomers 1999). Εν συνεχεία μοριακές και επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι ο HPV αποτελεί αναγκαίο, αν και όχι ικανό, παράγοντα για την καρκινογένεση στον τράχηλο της μήτρας. Ωστόσο η λοίμωξη από HPV είναι πολύ συχνή. Ο επιπολασμός ενεργού παρούσης λοίμωξης υπολογίζεται σε 10-20% των σεξουαλικά ενεργών ενηλίκων και παρελθούσης λοίμωξης σε 50%. Οι περισσότερες όμως λοιμώξεις από HPV είναι ασυμπτωματικές και παροδικές. Επομένως το HPV testing θεωρητικά θα μπορούσε να εντοπίσει σχεδόν όλες τις γυναίκες υψηλού κινδύνου (υψηλή ευαισθησία), δίδοντας όμως πολύ μεγάλο αριθμό θετικών αποτελεσμάτων από γυναίκες στις οποίες η λοίμωξη θα ήταν απλά παροδική (χαμηλή ειδικότητα).

Για να διερευνηθεί η επίδοση του HPV testing στην κλινική πράξη προχωρήσαμε σε μια πειραματική crossectional μελέτη 977 γυναικών χωρίς ιστορικό παθολογίας τραχήλου που προσήλθαν για τεστ Παπανικολάου. Οι γυναίκες αυτές υποβλήθηκαν ταυτόχρονα σε τεστ Παπ και HPV τεστ με PCR και παραπέμπονταν για κολποσκόπηση αν ένα τουλάχιστον από τα δύο τεστ ήταν θετικά. Υπολογίστηκαν οι σχετικοί διαγνωστικοί δείκτες (ευαισθησία, ειδικότητα, θετική και αρνητική προγνωστική αξία και likelihood ratios) για την ανίχνευση CIN για κάθε μία από τις δύο εξετάσεις καθώς και για το συνδυασμό τους.

Για την ανίχνευση υψηλόβαθμων αλλοιώσεων (\geq CIN2) το HPV testing είχε χαμηλότερη ευαισθησία (89%) και ειδικότητα (79%) από την κυτταρολογία στο όριο \geq ASCUS (96% και 92% αντίστοιχα). Χαμηλώνοντας τον κυτταρολογικό ουδό κάτω από την



κατηγορία ASCUS δεν επιτυγχάνεται αύξηση της ευαισθησίας της μεθόδου, αλλά αντιθέτως μειώνεται η ειδικότητα και το LR+/LR- ratio Την καλύτερη ευαισθησία (100%) και LR+/LR-ratio χωρίς δραματική πτώση της ειδικότητας (78.1%) είχε ο συνδυασμός του HPV τεστ με το Παπ τεστ με ουδό ASCUS.

Βάσει των αποτελεσμάτων της μελέτης αυτής η μείωση του κυτταρολογικού ουδού ώστε να παραπέμπονται για κολποσκόπηση και γυναίκες με κυτταρικές μορφολογικές αλλοιώσεις που πιθανώς σχετίζονται με τη λοίμωξη από HPV στο τεστ Παπανικολάου δεν συνιστάται καθώς μειώνει τη διαγνωστική αξία της εξέτασης. Η αύξηση της ευαισθησίας του μαζικού ελέγχου που επετεύχθη με την συμπληρωματική χρήση του HPV τεστ ήταν μικρή.

Λόγω της παράλληλης διεξαγωγής αντιστοιχών μελετών σε άλλες χώρες και της εμφάνισης μιας καινούργιας μεθόδου ανίχνευσης του HPV, το Hybrid Capture II test προχωρήσαμε σε μία μετα-ανάλυση των εργασιών που συγκρίνουν το HPV testing με το τεστ Παπανικολάου στον μαζικό έλεγχο. Η μετα-ανάλυση είναι μια στατιστική τεχνική, η οποία συνοψίζοντας όλες τις σχετικές μελέτες, παρέχει τα πιο αξιόπιστα δεδομένα για την αξιολόγηση κάποιας διαγνωστικής ή θεραπευτικής μεθόδου. Η μεθοδολογία της μετα-ανάλυσης ακολούθησε τις αρχές του οργανισμού Cochrane Collaboration. Βρέθηκαν 19 εργασίες που να έχουν μικρή πιθανότητα συστηματικού σφάλματος (bias). Η ευαισθησία του HPV testing (63.7-100%) φαίνεται να είναι μεγαλύτερη της κυτταρολογίας (18.4-96.4%), και η ειδικότητα μικρότερη (63.8-99.1% και 76.9-99.9% αντιστοίχως). Υπάρχει μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών αυτών ως προς τη μεθοδολογία τους που δυσχεραίνει την εξαγωγή σαφών συμπερασμάτων. Επίσης δεν υπάρχουν ολοκληρωμένες τυχαιοποιημένες μελέτες αν και τουλάχιστον 5 βρίσκονται σε εξέλιξη. Στις 7 εργασίες που χρησιμοποιούν το HCII, τον κυτταρολογικό ουδό ASCUS και τον ιστολογικό ουδό CIN 2 ή 3 η συνολική



ευαισθησία του HPV τεστ (88% - CI 95%: 85,5-90,5%) είναι στατιστικώς σημαντικά ($P<0.05$) υψηλότερη του τεστ Παπανικολάου (64,8% - CI 95%: 61,1-68,5%) . Αντιθέτως η συνολική ειδικότητα του HPV τεστ (90,2% - CI 95%: 90-90,4%) είναι στατιστικώς σημαντικά ($P<0.05$) χαμηλότερη του τεστ Παπανικολάου (95,9% - CI 95%: 95,7-96,1%) αλλά η διαφορά είναι λιγότερο εμφανής. Ακόμα διακρίνεται μία περαιτέρω βελτίωση της ευαισθησίας με πολύ μικρή πτώση της ειδικότητας με την ταυτόχρονη χρήση και των δύο μεθόδων, που υποδηλώνει ότι τα δύο τεστ θα μπορούσαν να χρησιμοποιούνται συμπληρωματικά.

Με τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης, ο ρόλος του HPV testing στο μαζικό έλεγχο φαίνεται να αποσαφηνίζεται. Για να υποστηριχθεί όμως η χρήση του σε εθνικό επίπεδο θα χρειαστούν πιο ισχυρά στοιχεία, που ίσως μας προσφερθούν από τις εν εξελίξει τυχαιοποιημένες μελέτες. Το ζήτημα της πιθανής εισαγωγής του HPV testing πρέπει να εξεταστεί και υπό το πρίσμα του αύξημένου κόστους που θα επιφέρει καθώς και της αναμενόμενης επιφυλακτικότητας στην αποδοχή του από τον πληθυσμό.



Meta-analyses in Gynaecologic Oncology:

The detection of HPV in the prevention of cervical cancer

George C Koliopoulos MRCOG MD

Summary

Currently in the developed world screening for cervical cancer is done by means of cytology examination of a cervical smear (Papanicolaou test). The European (including the UK NHS) executive policy is that women between the ages of 20 and 64 are invited to have a cervical smear test every three to five years. Cervical cytology screening has been proven to be effective in reducing the incidence of cervical cancer where comprehensive programmes exist. In countries where screening is opportunistic there was no demonstrable benefit. Despite the success of the screening programme cervical cancer remains the third leading cause of death from malignancy in women after lung and breast cancer (Parkin 2001). An audit of the UK programme found that 47% of women under the age of 70 with stage IB cancer or worse occurred in individuals with an apparent adequate screening history (Sasiemi 1996).

There is therefore considerable pressure to develop a better screening test for cervical cancer prevention and in particular to exploit the role of HPV DNA detection (HPV testing). Human Papillomaviruses are small double stranded DNA viruses. More than 100 types have been detected and can be divided to high, intermediate and low risk types depending on the type of lesions they produce and their association with malignancy. There are various methods of HPV testing (in situ hybridization, Polymerase chain reaction, Hybrid capture test etc) but the most convenient method for clinical use is the Hybrid Capture II (HCII). The



HPV test can be performed on self collected vaginal samples by the women thereby avoiding a clinic visit.

The application of HPV testing in screening was based on the observation that the infection from a high-risk HPV type is present in 99.7% of cervical cancer (Walboomers 1999). Furthermore molecular and epidemiological studies showed that the infection with the high-risk types of Human Papillomavirus is a necessary but insufficient condition for the development of cervical cancer. However HPV infection is very common. About 10% to 20% of sexually active adults exhibit molecular evidence of current genital HPV infection and 50% of sexually active women have had a past infection with at least one HPV type. Despite all this most HPV infections are transient and benign. Consequently HPV testing could in theory detect all women at risk (high sensitivity), at the cost however, of producing many positive results in women in whom the infection would only be transient (low specificity).

In order to investigate the performance of HPV testing in clinical practice we proceeded to an experimental crosssectional study 977 women without prior history of cervical pathology who were attended for a cervical smear. HPV testing with PCR was performed alongside the Pap test to all women, who would then be referred for colposcopy if at least one of the two test was positive. The relative diagnostic indices (sensitivity, specificity, positive and negative predictive value and likelihood ratios) for the detection of CIN were calculated for each of the two methods as well as their combination.

HPV testing had lower sensitivity (89%) and specificity (79%) for the detection of high-grade disease (\geq CIN2) than cytology at the threshold \geq ASCUS (96% and 92% respectively). By lowering the cytological threshold below ASCUS an increase in the sensitivity is not achieved; on the contrary the specificity and the LR+/LR- ratio fall. The



highest relative sensitivity (100%) and LR+/LR- ratio without a considerable fall in specificity (78.1%) was accomplished with the combination of HPV testing and Pap test at the ASCUS threshold.

Based on the results of this study a change in the cytological threshold for referral to colposcopy to include women with mild HPV associated morphological changes that do not fall in the LSIL or ASCUS category, is not recommended as it lowers the accuracy of cytology. Only a small increase in the sensitivity of screening was achieved with the addition of HPV testing to cytology.

Because of the simultaneous conduction of relevant studies in other countries and because of the introduction of a newer method of HPV detection, the Hybrid Capture II system, we performed a systematic review and meta-analysis of the studies that compare HPV testing with the Pap test in primary screening. The meta-analysis is a statistical method, which combines all relevant studies and as such provides the highest level of evidence for the evaluation of a diagnostic or therapeutic technique. The methodology of the meta-analysis followed the principles of Cochrane Collaboration. We found 19 studies at low risk of bias. The sensitivity of HPV testing (63.7-100%) seems to be higher than that of cytology (18.4-96.4%), and the specificity seems to be lower (63.8-99.1% and 76.9-99.9% respectively). There is considerable clinical heterogeneity between the studies. There are not any completed randomised controlled trials although at least five are under way. In the 7 studies that use HCII, the cytological threshold of ASCUS and the histological threshold of CIN 2 or 3, the mean sensitivity of HPV test (88% - CI 95%: 85.5-90.5%) is statistically significantly ($P < 0.05$) higher than of Pap test test (64.8% - CI 95%: 61.1-68.5%) . On the other hand the mean specificity of HPV testing (90.2% - CI 95%: 90-90.4%) is statistically significantly



($P < 0.05$) lower than of Pap test (95.9% - CI 95%: 95.7-96.1%), but the difference seems less evident. The combination of both cytology and HPV testing offered an increase in sensitivity with a smaller in proportion decrease in specificity, suggesting that this could be the way to optimize the performance of the cervical screening programme.

With the encouraging results of the meta-analysis the role of HPV testing in primary screening seems clearer. In order to support the use of HPV testing on national level, stronger evidence will be required, which might be provided by the RCTs in progress. When a possible introduction of HPV testing in primary screening is considered, one should take into account both the increase in the costs that it would cause, and the difficulties in making this test for a sexually transmitted infection acceptable to the population.



Βιβλιογραφία

1. Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncology* 2001;2: 533-43
2. Globocan 2002. Webpage address <http://www-dep.iarc.fr/>
3. Parkin DM, Muir CS, Whelan SL. Age specific and standardized incidence rates. In: World Health Organization International Agency for Research on Cancer, Cancer Incidence in Five Continents. Vol. VII IARC scientific publications No 143, Lyon: IARC scientific publications, 1997.
4. Quinn M, Babb P, Jones J, Allen E. Effect of screening on incidence of and mortality from cancer of cervix in England: evaluation based on routinely collected statistics. *BMJ* 1999; 318: 904-8
5. Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *Journal of Clinical Pathology* 2002; 55: 244-65
6. Ylitalo N, Sorensen P, Josefsson A, Frisch M, Sparen P, Ponten J. Smoking and oral contraceptives as risk factors for cervical carcinoma in situ. *International Journal of Cancer* 1999; 81: 357-65
7. Kjellberg L, Hallmans G, Ahren AM, Johansson R, Bergman F, Wadell G. Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *British Journal of Cancer* 2000;82: 1332-8
8. Szarewski A, Jarvis MJ, Sasieni P, Anderson M, Edwards R, Steele SJ. Effect of smoking cessation on cervical lesion size. *Lancet* 1996; 347: 941-3
9. Wilson JMG, Jungner G. Principles and practice of screening for disease. *Public Health Papers* 1968. Vol. 34, Geneva: World Health Organization, 1968.



10. Kurman RJ, Solomon D. The Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. New York: Springer-Verlag, 1994
11. NHS Cervical Screening Programme, England 2001-02, Department of Health, prepared by the Government Statistical Service. UK Department of Health.
12. Day NE. The epidemiological basis for evaluating different screening policies. IARC scientific publications 1986; 76: 199-212
13. Laara E, Day NE, Hakarna M. Trends in mortality from cervical cancer in the Nordic countries: association with organised screening programmes. Lancet 1987; 1: 1247-9
14. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics. CA: a cancer journal for clinicians 1999; 49: 8-31
15. Sasieni PD, Cuzick J, Lynch-Farmery E. Estimating the efficacy of screening by auditing smear histories of women with and without cervical cancer. The National Co-ordinating Network for Cervical Screening Working Group. British Journal of Cancer 1996; 73: 1001-5
16. Nanda K, McCrory D, Myers E, Bastian L, Hasselblad V, Hickey J, Matchar D. Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. Annals of Internal Medicine 2000; 132: 810-9
17. Martin-Hirsch PL, Koliopoulos G, Paraskevaidis E. Is it now time to evaluate the true accuracy of cervical cytology screening? A review of the literature. European Journal of Gynecological Oncology 2002;23: 363-5
18. Stoler MH, Schiffman M; Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance-Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study (ALTS) Group. Interobserver



reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *JAMA* 2001; 285: 1500-5

19. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *BMJ* 2003; 348: 518-27
20. Teale G. The prevention of cervical intraepithelial neoplasia. *The Obstetrician & Gynaecologist* 2003;5: 21-7
21. Walboomers JMM, de Roda Husman AM, van den Brule AJC, Snijders PJF, Meijer CJLM. Detection of genital human papillomavirus infections. Critical review of methods and prevalence studies in relation to cervical cancer. In: Stern PL, editor. *Human papillomavirus and cervical cancer*. Oxford: Oxford University Press, 1994: 41-71.
22. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch X, Kummer A, Shah KV et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *Journal of Pathology* 1999;189: 12-9
23. Hildesheim A, Wang SS. Host and viral genetics and risk of cervical cancer: a review. *Virus Research* 2002;89: 229-40
24. Madeleine MM, Brumback B, Cushing-Haugen KL, Schwartz SM, Daling JR, Smith AG. Human leukocyte antigen class II and cervical cancer risk: a population-based study. *Journal of Infectious Diseases* 2002;186: 1565-74
25. Wang SS, Hildesheim A, Gao X, Schiffman M, Herrero R, Bratti MC et al. Comprehensive analysis of human leukocyte antigen class I alleles and cervical neoplasia in 3 epidemiologic studies. *Journal of Infectious Diseases* 2002;186: 598-605



26. Storey A, Thomas M, Kalita A, Harwood C, Gardiol D, Mantovani F et al. Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. *Nature* 1998;393: 229-34
27. Sanclemente G, Gill DK. Human Papillomavirus molecular biology and pathogenesis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 2002;16: 231-40
28. Woodman CB, Collins S, Winter H, Bailey A, Ellis J, Prior P et al. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* 2001;357: 1831-6
29. Mougín C, Dalstein V, Pretet JL, Gay C, Schaal JP, Riethmüller D. Epidemiology of cervical papillomavirus infections. Recent knowledge. *Presse Medicale* 2001;30: 1017-23
30. Lorincz AT. Molecular methods for the detection of human papillomavirus infection. *Obstetrics and Gynecology clinics of North America* 1996;23: 707-27
31. Sellors JW, Lorincz AT, Mahony JB, Mielzynska I, Lytwyn A, Roth P et al. Comparison of self-collected vaginal, vulvar and urine samples with physician-collected cervical samples for human papillomavirus testing to detect high-grade squamous intraepithelial lesions. *Canadian Medical Association Journal* 2000;163: 513-8
32. Wright TC Jr, Denny L, Kuhn L, Pollack A, Lorincz A. HPV DNA testing of self-collected vaginal samples compared with cytologic screening to detect cervical cancer. *JAMA* 2002; 283: 81-6
33. Blake P, Lambert H, Crawford R. *Gynaecological Oncology. A guide to clinical management.* New York: Oxford University Press, 1998.



34. Osias J, Trimble E. Cervical intraepithelial neoplasia. In: NC Lambrou, AN Morse, EE Wallach, editors. *The Johns Hopkins Manual of Gynecology and Obstetrics*, 1st ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999: 329-34.
35. Margolis KL, Carson LF, Setness PA, Stanley MW, Henry-Stanley MJ, Beneke J, Linzie B, McGlennen RC. Are benign cellular changes on a Papanikolaou smear really benign? A prospective cohort study. *Arch Fam Med* 1999;8:433-9.
36. Usman F, Hammond R. Cervical screening: management of patients referred for colposcopy with smear abnormalities less than severe dyskaryosis. *Cytopathology* 1998;9:100-6.
37. Swinker M, Cutlip AC, Ogle D. A comparison of uterine cervical cytology and biopsy results: indications and outcomes for colposcopy. *J Fam Pract* 1994;38:40-4.
38. Herrington CS, Evans MF, Hallam NF, Charnock FM, Gray W, McGee JD. Human papillomavirus status in the prediction of high-grade cervical intraepithelial neoplasia in patient with persistent low-grade cervical cytological abnormalities. *Br J Cancer* 1995;71:206-9.
39. Walboomers JM, Husman AM, Snijders PJ, Stel HV, Risse EK, Helmerhorst TJ et al. Human papillomavirus in false negative archival cervical smears: implications for screening for cervical cancer. *J Clin Pathol* 1995;48:728-32.
40. Laimins LA. The biology of human papillomaviruses: from warts to cancer. *Infect Agents Dis* 1993;2:74-86.
41. van Muyden RC, ter Harmsel BW, Smedts FM, Hermans J, Kuijpers JC et al. Detection and typing of human papillomavirus in cervical carcinomas in Russian women: a prognostic study. *Cancer* 1999;85:2011-6



42. Goodman A. Role of routine Human Papillomavirus subtyping in cervical screening. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2000;12:11-4.
43. Kaufman RH, Adam E. Is papillomavirus testing of value in clinical practice? *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:1049-53.
44. Paraskevaïdis E, Malamou-Mitsi V, Koliopoulos G, Pappa L, Lolis E, Georgiou I, Agnantis NJ. Expanded cytological referral criteria for colposcopy in cervical screening: comparison with human papillomavirus testing. *Gynecol Oncol* 2001;82: 355-9
45. Schneider A, Meinhardt G, de Villiers EM, Gissmann L. Sensitivity of the cytologic diagnosis of cervical condyloma in comparison with HPV-DNA hybridization studies. *Diagn Cytopathol* 1987;3:250-5.
46. Clavel C, Masure M, Bory J-P, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M et al. Hybrid capture II-based human papillomavirus detection, a sensitive test to detect routine high-grade cervical lesions: A preliminary study on 1518 women. *Br J Cancer* 1999;80:1306-11.
47. Arbyn M, Buntinx F, Van Ranst M, Paraskevaïdis E, Martin-Hirsch P. Cytologic Versus virologic triage of women with equivocal Pap smears: A meta-analysis of the accuracy to detect high-grade intraepithelial neoplasia. *Journal of the National Cancer Institute* 2004; in press
48. Paraskevaïdis E, Arbyn M, Sotiriadis A, Diakomanolis E, Martin-Hirsch P, Koliopoulos G et al. The role of HPV testing in the follow up period after treatment for CIN: a systematic review of the literature. *Cancer treatment reviews* 2004; in press



49. Cuzick J, Sasieni P, Davies P, Adams J, Normand C, Frater A et al. A systematic review of the role of human papillomavirus testing within a cervical programme. *Health Technology Assessment* 1999;3:1-196
50. *Cochrane Reviewer's Handbook* version 4.1.5. The Cochrane Collaboration, 2002.
51. Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Paraskevaïdis E, Arbyn M. HPV testing versus cervical cytology for screening for cancer of the uterine cervix (Protocol for a Cochrane Review). In: *The Cochrane Library*, Issue 2, 2004. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
52. Olsen O. Types of study design. *The NRSMSG guidelines 2000*. Chapter 2
53. Gotzsche PC, Harden A. Searching for non randomized studies. *The NRSMSG guidelines 2000*. Chapter 3
54. Blumenthal PD, Gaffikin L, Chirenje ZM, McGrath J, Womack S, Shah K. Adjunctive testing for cervical cancer in low resource settings with visual inspection, HPV, and the Pap smear. *Int J Gynaecol Obstet* 2001;72: 47-53
55. Clavel C, Masure M, Bory JP, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M, Nazeyrollas P, Gabriel R, Quereux C, Birembaut P. Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women. *Br J Cancer* 2001;84: 1616-23
56. Costa S, Sideri M, Syrjanen K, Terzano P, De Nuzzo M, De Simone P, Cristiani P, Finarelli AC, Bovicelli A, Zamparelli A, Bovicelli L. Combined Pap smear, cervicography and HPV DNA testing in the detection of cervical intraepithelial neoplasia and cancer. *Acta Cytol* 2000;44: 310-8
57. Coste J, Cochand-Priollet B, de Cremoux P, Le Gales C, Cartier I, Molinie V, Labbe S, Vacher-Lavenu MC, Vielh P; French Society of Clinical Cytology Study Group. Cross



sectional study of conventional cervical smear, monolayer cytology, and human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening. *BMJ* 2003;326:733

58. Cuzick J, Szarewski A, Terry G, Ho L, Hanby A, Maddox P, Anderson M, Kocjan G, Steele ST, Guillebaud J. Human papillomavirus testing in primary cervical screening. *Lancet* 1995;345: 1533-6
59. Cuzick J, Beverley E, Ho L, Terry G, Sapper H, Mielzynska I, Lorincz A, Chan WK, Krausz T, Soutter P. HPV testing in primary screening of older women. *Br J Cancer* 1999;81: 554-8
60. Kuhn L, Denny L, Pollack A, Lorincz A, Richart RM, Wright TC. Human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening in low-resource settings. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:818-25
61. Kulasingam SL, Hughes JP, Kiviat NB, Mao C, Weiss NS, Kuypers JM, Koutsky LA. Evaluation of human papillomavirus testing in primary screening for cervical abnormalities: comparison of sensitivity, specificity, and frequency of referral. *JAMA* 2002;288: 1749-57
62. Oh YL, Shin KJ, Han J, Kim DS. Significance of high-risk human papillomavirus detection by polymerase chain reaction in primary cervical cancer screening. *Cytopathology* 2001;12: 75-83
63. Pan Q, Belinson JL, Li L, Pretorius RG, Qiao YL, Zhang WH, Zhang X, Wu LY, Rong SD, Sun YT. A thin-layer, liquid-based pap test for mass screening in an area of China with a high incidence of cervical carcinoma. A cross-sectional, comparative study. *Acta Cytol* 2003;47: 45-50



64. Petry KU, Menton S, Menton M, van Loenen-Frosch F, de Carvalho Gomes H, Holz B, Schopp B, Garbrecht-Buettner S, Davies P, Boehmer G, van den Akker E, Ifner T. Inclusion of HPV testing in routine cervical cancer screening for women above 29 years in Germany: results for 8466 patients. *Br J Cancer* 2003;88: 1570-7
65. Ratnam S, Franco EL, Ferenczy A. Human papillomavirus testing for primary screening of cervical cancer precursors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9: 945-51
66. Salmeron J, Lazcano-Ponce E, Lorincz A, Hernandez M, Hernandez P, Leyva A, Uribe M, Manzanares H, Antunez A, Carmona E, Ronnett BM, Sherman ME, Bishai D, Ferris D, Flores Y, Yunes E, Shah KV. Comparison of HPV-based assays with Papanicolaou smears for cervical cancer screening in Morelos State, Mexico. *Cancer Causes Control* 2003;14: 505-12
67. Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Sherman ME, Bratti M, Wacholder S, Alfaro M, Hutchinson M, Morales J, Greenberg MD, Lorincz AT. HPV DNA testing in cervical cancer screening: results from women in a high-risk province of Costa Rica. *JAMA*. 2000;283:87-93
68. Schneider A, Hoyer H, Lotz B, Leistritz S, Kuhne-Heid R, Nindl I, Muller B, Haerting J, Durst M. Screening for high-grade cervical intra-epithelial neoplasia and cancer by testing for high-risk HPV, routine cytology or colposcopy. *Int J Cancer* 2000;89: 529-34
69. Sherman ME, Lorincz AT, Scott DR, Wacholder S, Castle PE, Glass AG, Mielzynska-Lohnas I, Rush BB, Schiffman M. Baseline cytology, human papillomavirus testing, and risk for cervical neoplasia: a 10-year cohort analysis. *J Natl Cancer Inst* 2003;95: 46-52
70. Syrjaenen S, Shabalova I. Human papillomavirus testing and conventional pap smear cytology as optional screening tools of women at different risks for cervical cancer in the



countries of the former Soviet Union. *Journal of Lower Genital Tract Disease* 2002;6: 97-110

71. Cuzick J, Swarewski A, Cubie H, Hulman G, Kitchener H, Luesley D et al. Management of women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the HART study. *The Lancet* 2003;362:1871-1876.
72. Kitchener HC. The value of human papillomavirus testing. *The Obstetrician & Gynaecologist* 2003;5:10-3
73. Kjaer 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 as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: Population based prospective follow up study. *BMJ* 2002;325: 572-8
74. Meera E, Le Gales C, Cochand-Priollet B, Cartier I, de Cremoux P, Vacher-Lavenu MC, Vielh P, Coste J. Cost of screening for cancerous and precancerous lesions of the cervix. *Diagn Cytopathol* 2002;27:251-7.
75. Mandelblatt JS, Lawrence WF, Womack SM, Jacobson D, Yi B, Hwang YT, Gold K, Barter J, Shah K. Benefits and costs of using HPV testing to screen for cervical cancer. *JAMA* 2002;287: 2372-81
76. Nene B, Sankaranarayanan R, Dinshaw KA et al. Comparative efficacy of visual inspection with acetic acid, HPV testing and conventional cytology in cervical cancer screening: a randomised intervention trial in Maharashtra State, India. *Int J Cancer* 2004;Suppl 13:98



77. Wright TC, Schiffman M, Solomon D, Cox JT Garcia F et al. Interim guidance for the use of Human Papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. *Obstet Gynecol* 2004;103:304-9

