

10023, 10007 og 10008

HPV-test som primær screeningmetode ved Nordlandssykehuset

Hovedoppgave i Bioingeniør

Veileder: Tove Havnegjerde, NTNU og Mikkel Fostervold,
Nordlandssykehuset

Mai 2019

Sammendrag

Livmorhalskreft er den fjerde største krefttypen som rammer kvinner på verdensbasis. Over 99 % av alle tilfeller av livmorhalskreft skyldes Humant papilloma virus (HPV). I Norge får hvert år 300 kvinner påvist livmorhalskreft og 70-80 kvinner dør av denne kreftsykdommen. Livmorhalskreft kan forebygges ved at celleforandringer (forstadier) blir oppdaget og behandlet før utvikling av invasiv kreftsykdom. Livmorhalsprogrammet har siden 1995 anbefalt kvinner i alderen 25-69 år å delta i screeningprogrammet.

Denne bacheloroppgaven tar for seg HPV-test som primær screeningmetode som ble innført 01.01.19 ved Nordlandssykehuset. I oppgaven sammenligner vi andel kvinner mellom 34-69 år i diagnosekategoriene fra primær HPV og primær cytologi fra 2019, i tillegg til diagnosekategorier før og etter innføringen av HPV-test som screeningmetode. Vi ser også på andel kvinner 34-69 år som må følges opp med nye prøver og andel kvinner som anbefales utredning med kolposkopi og biopsi, hos både primær HPV og primær cytologi.

Resultatene i denne oppgaven er hentet fra tidsperioden 2015 til 12.05.19 ved patologiavdelingen, Nordlandssykehuset. 50 % av alle kvinner i alderen 34-69 år, har fått HPV-test som primærscreening, mens de resterende kvinnene fortsatt får cytologisk undersøkelse som primærscreening i 2019. HPV-test skal i teorien være mer sensitiv, og cytologisk mikroskopi mer spesifikk.

Ved å sammenligne 2019 hvor begge metodene har blitt brukt, med tidligere år hvor bare cytologi som primærscreening ble brukt, ser vi at det har blitt detektert flere HSIL og færre uegnede prøver i 2019 i forhold til de tidligere årene. Erfaringer fra Nordlandssykehuset så langt i 2019 viser at flere kvinner med primær HPV må følges opp med nye prøver sammenlignet med primær cytologi, men færre kvinner med primær HPV har unormal celleprøve og færre blir utredet med kolposkopi og biopsi. Vi kan imidlertid ikke si noe om eventuelle forskjeller i sensitivitet for høygradige celleforandringer mellom de to metodene ettersom Nordlandssykehuset foreløpig ikke har mottatt nok biopsier. Det er også usikkert hvilken metode som finner flest kvinner med høygradige celleforandringer per år når screeningintervallet blir utvidet fra celleprøve hvert tredje år til HPV-test hvert femte år.

Forord

Bacheloroppgaven ble gitt av Nordlandssykehuset ved avdeling for patologi i forbindelse med en forespørsel under sommerjobb 2018 for avdelingen. Oppgaven ble utformet og fulgt opp av Mikkel Fostervold, avdelingsleder for patologiavdelingen ved Nordlandssykehuset.

Vi ønsker å takke personalet ved patologiavdelingen, personalet ved molekylærbiologisk enhet, og spesielt til vår faglige veileder Mikkel Fostervold. Han har gitt oss et unikt bilde på cytologi og alltid vært tilgjengelig for å veilede oss under hele perioden. Vi har tatt til oss mye kunnskap om fagområdet og er veldig takknemlig for den hjelpen vi har fått. Det har vært veldig spennende og lærerikt å jobbe med bacheloroppgaven ved Nordlandssykehuset. Vi vil også takke vår prosessveileder fra NTNU Ålesund, Tove Havnegjerde. Til slutt vil vi rette en stor takk til Sveinung Wergeland Sørbye, overlege ved avdeling for klinisk patologi ved Universitetssykehuset Nord-Norge, for å ha gitt oss en god forståelse rundt HPV og livmorhalskreft.



Ålesund, Mai 2019

Innholdsfortegnelse

1 Innledning	1
1.1 Problemstilling	1
2 Teori	2
2.1 Livmorhalskreft	3
2.2 Screeningprogrammet	4
2.3 HPV	5
2.4 Kreftutvikling	6
2.5 Celleforandringer	9
2.5.1 <i>Diagnosekategorier - unormale plateepitelceller</i>	11
2.5.2 <i>Diagnosekategorier - unormale sylinderepitelceller</i>	13
2.6 Cytologisk mikroskopi av cervixcytologi	14
2.7 HPV-test som primærscreening	15
2.8 Flytdiagram	16
2.8.1 <i>Cytologi</i>	16
2.8.2 <i>HPV-test</i>	17
2.9 Behandling av høygradige celleforandringer og kreft med kirurgi	19
2.9.1 <i>Kirurgi</i>	19
3 Materiale og metode	20
3.1 Væskebasert celleprøve	20
3.1.1 <i>Prøvetaking med endocervikal børste og plastikkspatel</i>	20
3.1.2 <i>Prøvetaking med kombinasjonsbørste.</i>	21
3.2 Papanicolaous fargemetode	23
3.3 Kolposkopi	24
3.4 Biopsi	25
3.5 Cobas 4800 HPV-test	26

3.5.1 Hovedprosesser	27
3.6 Behandling av rådata	29
3.6.1 Kjikkvadrat-test	30
3.6.2 Standardavvik	31
4 Resultat	33
4.1 Resultater for 2019 ved Nordlandssykehuset	33
4.1.1 Primær HPV-test, kvinner 34-69 år	33
4.1.2 Primær cytologi, kvinner 34-69 år	34
4.1.3 Primær HPV-test og primær cytologi, kvinner 34-69 år.	35
4.1.4 Oppfølging og biopsi for kvinner 34-69 år	38
4.2 Total antall diagnoser - kvinner 34-69 år	39
5 Diskusjon	43
6 Konklusjon	54
7 Referanser	56
8 Vedlegg	64

1 Innledning

Vår bacheloroppgave er utarbeidet gjennom et samarbeid mellom NTNU i Ålesund og patologi avdelingen ved Nordlandssykehuset (NLSH). Denne oppgaven er en sammenligning av diagnosekategorier fra primær HPV og primær cytologi hos kvinner 34-69 år i 2019, i tillegg til diagnosekategorier før og etter innføringen av HPV-test som primær screeningmetode. Ved NLSH ble denne nye metoden startet opp 01.01.2019 og er hovedfokuset i denne oppgaven.

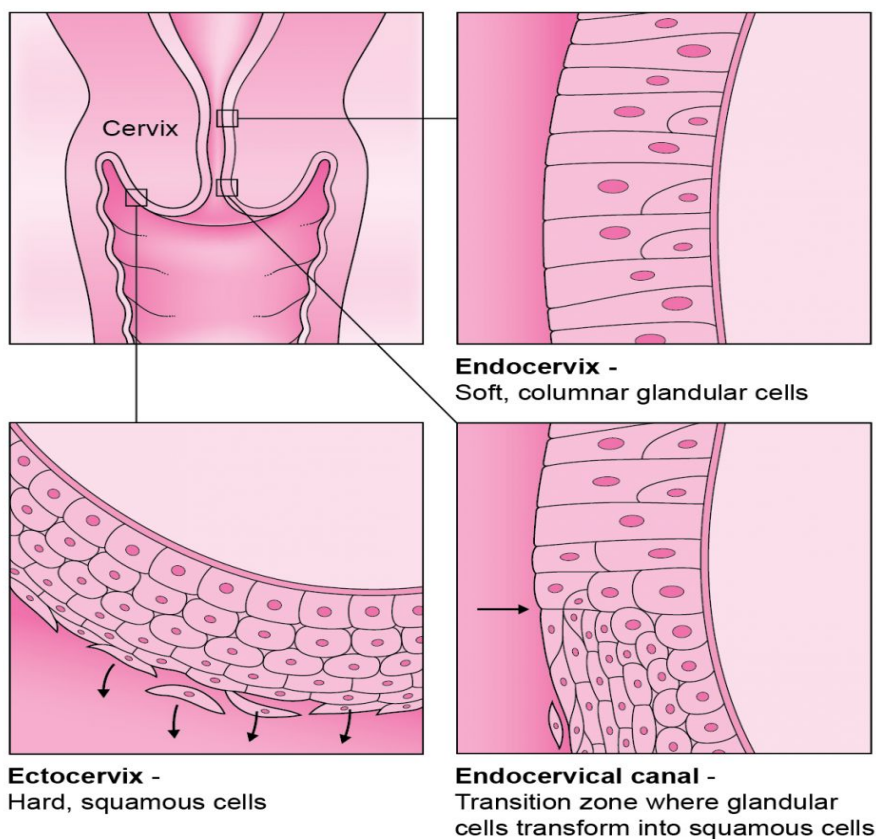
Den nye screeningmetoden er en HPV-test som primærscreening, og skal innen 2022 ta over for den tradisjonelle cytologiske screeningen for kvinner mellom 34-69 år. Kvinner i alderen 25-33 år vil fortsette med cytologisk mikroskopi som primærscreening. Vi valgte å ta denne oppgaven fordi innføring av primær HPV vil medføre en stor endring for fagområdet cytologi i hele landet, og vil utgjøre en betydelig forskjell for livmorhalsprogrammet, kvinnene som deltar og legene som skal følge opp kvinner med unormale funn. Det virket interessant for oss som bioingeniørstudenter å kartlegge om funn av celleforandringer og om andel kvinner som må følges opp vil endre seg ved innføring av primær HPV. I tillegg å kunne se om det er noen endring i antall kvinner diagnostisert med celleforandringer fra de to ulike screeningmetodene som nå brukes for å detektere celleforandringer og livmorhalskreft.

1.1 Problemstilling

Sammenligning av diagnoser hos kvinner i aldersgruppen 34-69 år før og etter innføring av HPV-test som primær screeningmetode av livmorhalskreft ved Nordlandssykehuset. Samt sammenligning av andel kvinner mellom 34-69 år i diagnosekategoriene fra primær HPV og primær cytologi fra 2019. Hvilke konsekvenser innføringen av primær HPV har for andel kvinner som må følges opp med nye prøver og som anbefales videre utredning.

2 Teori

Cervix uteri, livmorhalsen, er den nederste delen av livmoren og er en forbindelse mellom skjede og livmor. Den øverste delen av livmorhalsen kalles endocervix og består av sylinderepitel (columnar epithelium). Den nederste delen av livmorhalsen kalles ectocervix og består av flerlaget plateepitel (squamous epithelium). I livmorhalsen, nederst i livmorhalskanalen, er det et overgangsområde mellom de to typene av overflateepitel, som kalles squamo-columnar junction (SCJ). SCJ er dynamisk og beveger seg i tidlig ungdomsår og under første graviditet. Det dannes derfor en såkalt transformasjonssone (TZ) mellom den opprinnelige og den nye overgangen mellom plateepitel og sylinderepitel (1, 2).



© Jo's Cervical Cancer Trust

Figur 1. Cervix. De ulike epiteltypene som befinner seg i cervix, samt transformasjonssonen.¹

¹ Illustrasjon hentet fra hjemmeside til Jo's cervical cancer trust. <https://www.jostrust.org.uk/about-cervical-cancer/the-cervix>

Fra overflateepitelet i denne transformasjonssonen oppstår 85 % av all livmorhalskreft. Hos epitelet i denne sonen sees metaplasi, altså at modent sylinderepitel erstattes av umodent plateepitel. Området består derfor av et tynt metaplastisk epitel, noe som er mer mottakelig for sykdomsfremkallende påvirkninger i forhold til områder med modent plateepitel (3, 4).

2.1 Livmorhalskreft

85 % av alle tilfeller av livmorhalskreft oppstår fra epitellaget i transformasjonssonen, mens de resterende tilfellene utgår fra sylinderepitelet øverst i livmorhalsen (3). Utviklingen av livmorhalskreft tar lang tid, vanligvis minst 10-15 år. Noen kvinner har celleforandringer i 20-30 år før utvikling av kreft. På denne tiden går overflatecellene igjennom forstadier til kreft med varierende alvorlighetsgrad av celleforandringer (3). Selv om de fleste celleforandringene går over av seg selv, vil det uten utredning og eventuell behandling kunne føre til kreft hos 2-3 % av kvinner. Ved invasiv kreftsykdom er det risiko for spredning til lymfeknuter og videre til indre kjønnsorganer i livmorhulen og i skjeden (5).

På grunn av dette er det svært viktig å oppdage celleforandringer før det utvikles til kreft. Frem til 2019 har alle kvinner i alderen 25-69 fått tilbud om en forebyggende undersøkelse hvert tredje år, som en del av et screeningprogram som skal oppdage celleforandringer før utvikling til kreft. Ved et screeningintervall på tre år vil man samtidig unngå å oppdage forbigående HPV-infeksjoner og celleforandringer mellom de to screeningrundene. Livmorhalskreft er globalt den fjerde mest vanlige kreftformen blant kvinner (6).

I Norge blir det rapportert ca. 300 nye tilfeller av livmorhalskreft hvert år. Når diagnosen stilles er de fleste kvinnene i alderen 35-39 år, (vedlegg 1 tabell fra Nordcan) men alle kvinner har risiko for å utvikle livmorhalskreft. Hvert år dør rundt 70 kvinner i Norge av sykdommen, mens flere tusen kvinner får påvist lavgradige celleforandringer og rundt 6000 kvinner får behandling for høygradige forstadier hvert år (7, 8). Kvinner med lavgradige celleforandringer vil ikke bli behandlet med konisering, men vil følges opp ved å ta en cytologi prøve og HPV-test hver 12. måned. Oppfølgingsprøvene tas inntil celleforandringene har forsvunnet og HPV-testen gir negativt resultat, eller til kvinnen har fått utviklet høygradige celleforandringer som dermed trenger videre behandling.

2.2 Screeningprogrammet

Ved gjennomførelse av et screeningprogram blir det utført en systematisk undersøkelse av friske mennesker. Slike masseundersøkelser blir brukt for å oppdage forstadier tidlig eller sykdom før symptomer viser seg (9).

Kreftregisteret administrerer flere nasjonale screeningprogram, blant annet livmorhalsprogrammet og mammografiprogrammet (10). Livmorhalsprogrammet ble startet opp som det første nasjonale programmet i 1995 for kvinner i alderen 25-69 år. Livmorhalsprogrammet undersøker celleprøver fra kvinner og har som mål å redusere forekomst og dødelighet av livmorhalskreft. Siden 1950-tallet har livmorhalskreft i Norge blitt redusert med 40 %. Mortaliteten har blitt redusert med 50 % siden masseundersøkelsen mot livmorhalskreft ble innført i Norge i 1995 (8, 11).

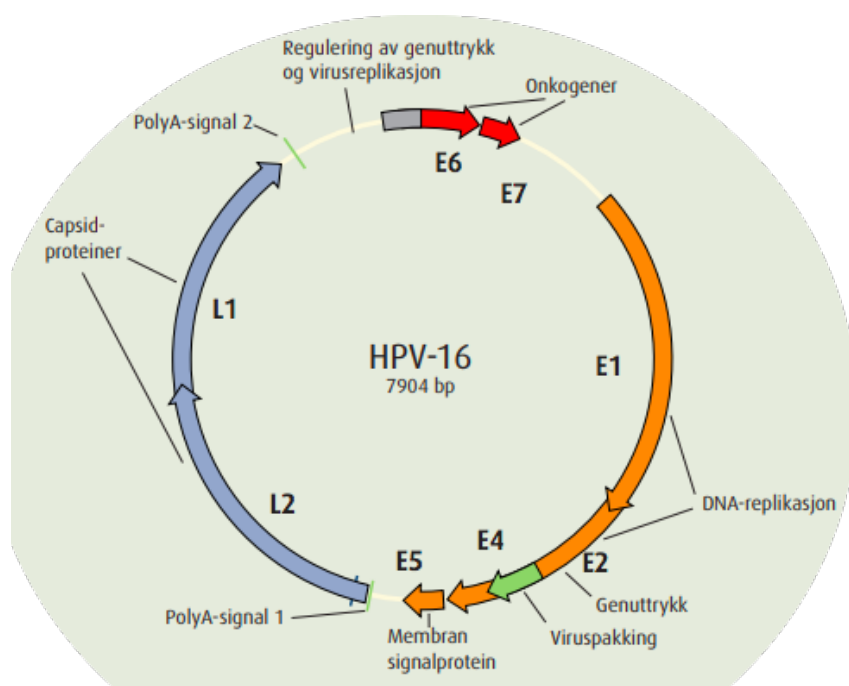
Dette programmet er et samarbeid mellom ulike ledd i helsetjenesten, blant annet mellom primær- og spesialisthelsetjenesten. Masseundersøkelsen sammenholder opplysninger fra forskjellige register, for eksempel cytologiregisteret, histologiregisteret og folkeregisteret, som gir grunnlag for utsendelse av brev til kvinner i den bestemte aldersgruppen. Kvinner som fyller 25 år vil motta et introduksjonsbrev med informasjon og oppfordring til å bli med i livmorhalsprogrammet. Kvinner i alderen 26-69 år mottar første påminnelse når det har gått to år og ti måneder siden sist registrerte prøve. Om det ikke blir registrert at en celleprøve er blitt tatt innen et år vil det bli sendt ut en ny påminnelse (12). Livmorhalsprogrammet er systematisert slik at kvinner som ikke har tatt ny celleprøve innen 7 år siden sist prøve, vil ha mottatt 3-4 brev med påminnelser om ny prøve. Dette har gjort en stor forskjell ved å få flere kvinner til å møte opp og delta i programmet (13).

Livmorhalsprogrammet er i stor endring. Innen 2022 skal det innføres en ny analysemetode av celleprøver for alle kvinner i alderen 34-69 år. Denne nye analysemetoden er en HPV-test som primærscreening. Kvinner i alderen 25-33 år vil fortsette å bruke væskebasert cytologisk mikroskopi som primærscreening (13, 14).

2.3 HPV

HPV står for humant papillomavirus (15). Papillomavirus er en gruppe små, sirkulære DNA-virus i familien papovaviridae. HPV består av en proteinkappe (kapsid) med 72 pentameriske kapsomerer rundt nukleinsyrekjernen. Viruset mangler en lipidmembran og kalles derfor for et nakent virus. Arvematerialet til viruset er dobbelttrådet DNA som består av rundt 8000 basepar, og på grunn av ulikheter i DNA-oppbygningen kan viruset deles inn i forskjellige genotyper (16).

Genomene hos alle HPV-typer inneholder omtrent åtte “open reading frames” (ORF), disse kan deles inn i tre funksjonelle deler. Den tidlige (E) regionen koder for proteiner (E1-E7) som er nødvendig for viral replikasjon. Den sene (L) regionen koder for strukturproteinene L1 og L2, disse er de virale kapsidproteinene som kreves for virion sammenstilling. Resten av genomene er en ikke-kodende del som kalles den lange kontrollregionen (LCR), som er nødvendig for replikasjon og transkripsjon av viralt DNA (16).



Figur 2. Oppbygningen av det sirkulære viruset, HPV 16.²

² Illustrasjon hentet fra kreftregisterets kvalitetsmanual.
<https://www.kreftregisteret.no/globalassets/kvalitetsmanual-lesevennlig-versjon-mai-2014.pdf>

HPV-viruset består av 200 ulike genotyper, rundt 40 av disse forekommer på slimhinnen i underlivet (17). De fleste virustypene er ufarlige, men noen av typene kan gi lette celleforandringer eller kjønnsvorter, som blant annet type 6 og 11. 12 av disse 40 virustypene er klassifisert som onkogene, også kalt høyrisiko HPV-typer (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 og 59). Det finnes 6 typer til, som klassifiseres som sannsynlig onkogene (HPV 26, 53, 66, 68, 73 og 82). Det er i hovedsak HPV-type 16 og 18 som står for celleforandringer som utvikler seg til livmorhalskreft, men også høyrisiko HPV-typene 45, 31, 33, 52, 58 og 35 er blant de vanligste HPV-typene assosiert med kreft (13).

HPV er i dag den mest vanlige seksuelt overførbare infeksjonen (17). Det er antatt at over 70 % av den norske befolkningen smittes med genital HPV-virus en eller flere ganger i løpet av livet, men en infeksjon forekommer ofte uten symptomer. I 90 % av tilfellene går infeksjonen over av seg selv i løpet av 6-24 måneder. 50 % av kvinnene som får positivt resultat på en primær HPV-test vil fremdeles teste positivt på en HPV-test etter 12 måneder. Dette skyldes delvis at det er uvisst hvor lenge kvinnen har hatt HPV-viruset ved den primære HPV-testen (18, 19). Kroppens naturlige immunrespons på HPV-viruset er svak, en av grunnene til dette er at infeksjonen finner sted lokalt i overflateepitel og infeksjonen fører heller ikke til viremi. Om en HPV-infeksjon har inntruffet vil det ved 50-70 % av tilfellene dannes antistoffer mot viruset (17).

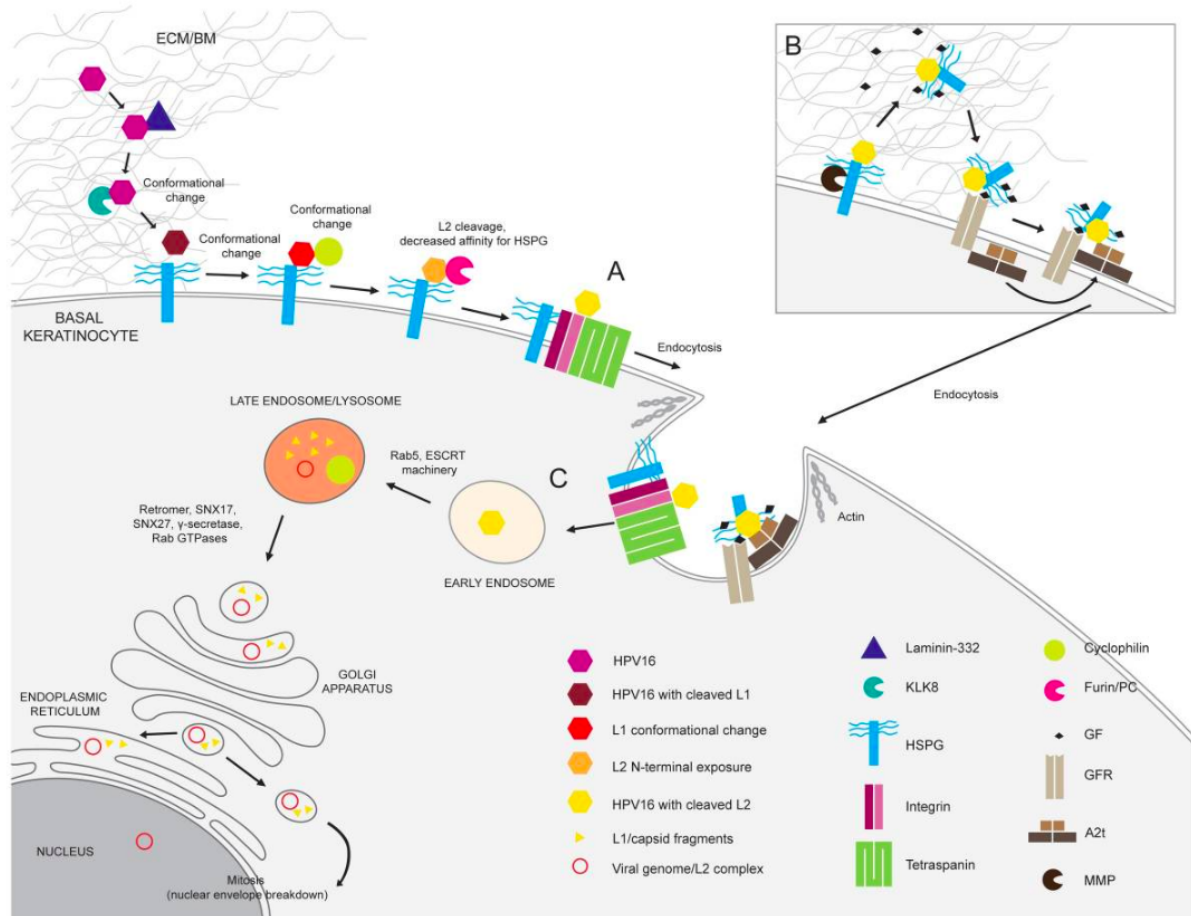
2.4 Kreftutvikling

HPV-viruset infiserer de basale epitelcellene i livmorhalsen og er avhengig av epitel celledifferensiering for replikasjon og vironproduksjon. En HPV-infeksjon forekommer ved at viruset infiserer de basale keratinocytene, som er de eneste epitelcellene som deler seg og dermed er mitotisk aktive. Viruset får lett tilgang til basallaget gjennom transformasjonssonen, eller gjennom små sår eller mikrotraumer på plateepitelet (20).

In vivo vil viruset først binde seg til basalmembranen, og deretter til celleoverflaten ved hjelp av en binding mellom det virale L1 proteinet og en reseptor på cellen kalt heparan sulfat proteoglycans (HSPG). For at viruset skal kunne trenge inn i cellen må det gjennom flere prosesser hvor det skjer en endring av kapsidet. Denne endringen skjer ved hjelp av proteaser,

i tillegg til reaksjoner mellom kapsidproteinene og forskjellige reseptorer. Til slutt blir viruset ført inn i cellen via en ikke-tradisjonell endocytosemekanisme (20).

Viruset går så gjennom det endosomale systemet som består av trans-golgi-nettverket (TGN), golgiapparatet og endoplasmatisk retikulum (ER), før det blir levert til cellekjernen hvor virus-DNAet replikerer (20).



Figur 3. Illustrasjon som viser hvordan HPV 16 trenger inn i en basal keratinocyt og hvordan det blir transportert frem til cellekjernen.³

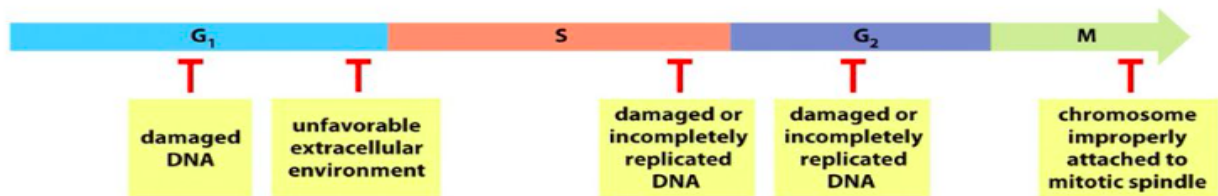
De basale keratinocytene går gjennom en cellyklus for å dele seg i et normalt og kontrollert tempo. Denne syklusen består av en interfase G1, G2 og S, og en mitose, M-fase. G1 er fasen hvor cellen forbereder seg til DNA-syntese og replikasjon. Deretter kommer S-fasen hvor det

³Illustrasjon som er hentet fra artikkelen "HPV entry into cells" publisert på PubMed.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5443120/>

skjer en syntese av DNA og genomet blir duplisert. G2-fasen kalles også post replikasjon, og cellen forbereder seg til M-fasen. Mitose, M-fasen, er selve celledelingen hvor to datterceller dannes (21).

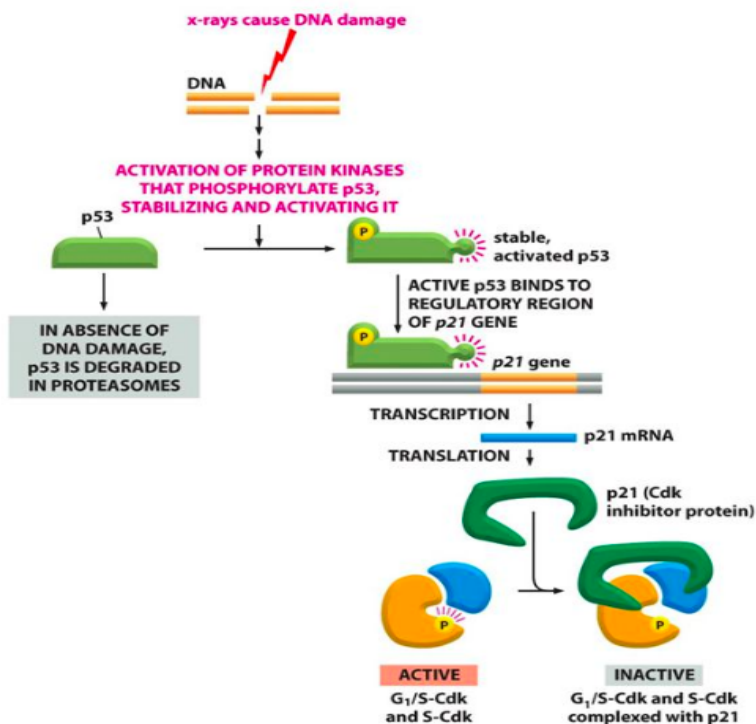
Cellene har såkalte tumor suppressor proteiner som skal hindre at en celle deler seg dersom den er mutert. Disse proteinene har ingen funksjon når en celle er frisk, men blir aktive når cellen blir utsatt for stress (22).

Før cellen går inn i S-fasen vil disse tumor suppressor proteinene sjekke om det er noe skade på cellens DNA. Dersom det har oppstått en slik mutasjon vil proteinene aktiveres og stopper cellen i G1-fasen, slik at DNAet kan repareres før cellyklusen fortsetter. Om skadene ikke kan repareres, vil tumor suppressor proteinene sørge for at det utløses apoptose. Om disse tumor suppressor proteinene blir inaktivert, vil cellen dele seg på tross av DNA-skaden. Dette vil øke hyppigheten av DNA-mutasjoner i cellen, og gener som kontrollerer celledeling vil også kunne bli rammet. Dette vil kunne føre til at cellen deler seg ukontrollert, og dermed omdannes til en kreftcelle (23).



Figur 4. Illustrasjon som viser cellyklusen og de ulike sjekkpunktene før celledeling.⁴

⁴ Illustrasjon hentet fra Essential Cell Biology (third edition) 2010. Figure 18-13 cellyklus.



Figur 5. Eksempel på hvordan et tumor suppressor protein (p53) reparerer skade på DNA, og setter cellesyklusen på vent.⁵

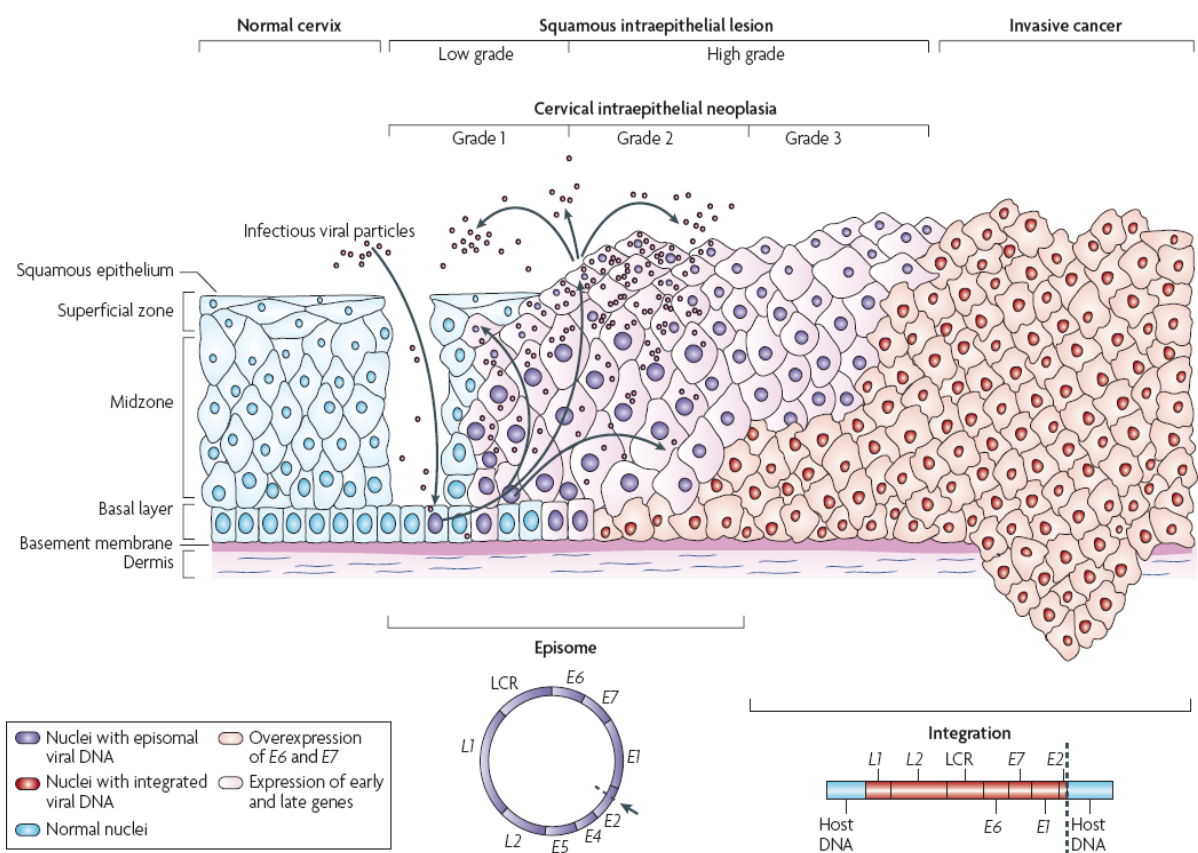
HPV-genomet danner onkoproteinene E6 og E7 når virus-DNAet replikeres. Disse onkoproteinene inaktiverer tumor suppressor proteiner, og er dermed nødvendige for ondartet konvertering av celler. E6-proteinet fra høyrisiko HPV-typer danner et kompleks sammen med tumor suppressor proteinet p53 og ubiquitinerings enzymet E6-AP, et enzym som merker proteiner for nedbryting. Dette fører til deaktivering av p53. Onkoproteinet E7 bindes til retinoblasma protein (Rb), som også er en tumor suppressor. E7 proteiner som er dannet av en høyrisiko HPV-type får en sterkere binding til Rb enn E7 proteinene som dannes av en lavrisiko HPV-type. Dette vil også føre til deaktivering av Rb. Om disse tumor suppressor proteinene Rb og p53 blir inaktivert vil cellen kunne omdannes til en kreftcelle, dersom det skulle oppstå en mutasjon i DNAet til cellen (24).

2.5 Celleforandringer

Celleforandringer kan klassifiseres som forstadier til kreft. Av kvinner med påviste celleforandringer vil kun 10-15 % utvikle livmorhalskreft (19).

⁵ Illustrasjon hentet fra Essential Cell Biology (third edition) 2010. Figure 18-16 p53 protein.

Det finnes forskjellige alvorlighetsgrader av celleforandringer som bestemmes ut i fra hvordan de unormale cellene ser ut. Det utføres da en vurdering av utseende til cellekjerner, cytoplasma mengde, farge og kerne/cytoplasma ratio (N/C-ratio), og hvordan cellene ligger i forhold til hverandre. Disse forandringene skal oppfylle forskjellige krav for å kunne bli klassifisert i ulike diagnosekategorier.



Figur 6. Illustrasjon av celleforandringer.⁶

Under beskrives klassifikasjonene ut i fra Bethesda 2014 modellen (25). Disse klassifikasjonene gjelder for cytologiprøver og sier noe om alvorlighetsgraden av de ulike

⁶ Illustrasjonen hentet fra artikkelen “HPV, celleforandringer og kreft” i bioingeniøren. <https://www.bioingenioren.no/contentassets/df8ea3359a614048ad3b2946a3b392ec/hpv-celleforandringer-og-kreft.pdf>

celleforandringene. Ut i fra hvilken diagnosekategori celleforandringene befinner seg i, vil man kunne utrede et behandlingsforløp for pasienten.

2.5.1 Diagnosekategorier - unormale plateepitelceller

ASC-US står for “Atypical squamous cells of undetermined significance”. Dette er irregulære plateepitelceller hvor forandringen er av usikker betydning, men som kan gi mistanke om lavgradige skvamøse intraepiteliale lesjoner (LSIL). ASC-US har noen av, men ikke alle kriteriene til LSIL. Her kan blant annet kjernen være to ganger forstørret i en metaplastisk celle, eller 2,5-3 ganger forstørret i en intermediær plateepitelcelle. Det vil være en lett økning i N/C-ratio, kjernene vil variere i form og størrelse og det kan være binukleære celler tilstede. Man vil også kunne se minimal nukleær hyperkromasi, samt irregularitet i kromatinfordeling eller kjerneform. Kjerneabnormiteter som assosieres med orangofilt cytoplasma er til stede, og cytoplasmaendringer som indikerer HPV cytoplastisk effekt kan sees (25).

ASC-H står for “Atypical squamous cells, cannot exclude HSIL”. Det er atypiske plateepitel celler som kan indikere høygradige skvamøse intraepiteliale lesjoner (HSIL), men oppfyller kun noen av kravene til diagnosekategorien HSIL. Normalt bør ASC-H utgjøre mindre enn ti prosent av alle ASC-prøver. For å definere en diagnose som ASC-H er man avhengig av at det finnes et aktuelt mønster, hvor de vanligste mønstrene er atypisk umoden metaplasi eller tette celleflak. Andre kriterier er at det som regel skal være få ASC-H celler. Det er ofte kjerneforandringer med uregelmessig kromatin og abnormale kjerneformer (25).

LSIL står for “Lavgradig skvamøs intraepitelial lesjon”. LSIL tilsvarer den histologiske diagnosen CIN 1. Ved lavgradige celleforandringer er det normalt at cellene ligger enkeltvis, i grupper eller flak. Forandringene er som oftest begrenset til modne intermediære- eller superficielle celler. De fleste cellene er store med godt avgrenset og modent cytoplasma. Kjernene kan være tre ganger så stor som en intermediær kjerne, noe som fører til en svak økning av N/C-ratio. Cellenes kjerner har varierende størrelse og form, konturen til kjernen kan variere fra å være glatt til å være uregelmessige med hakk. Ved denne typen celleforandring er det normalt å se binukleære eller multinukleære celler. Kjernene er normalt sett hyperkromatisk, men kan opptre som normokrome. I kjernen vil kromatinet ligge jevnt fordelt, og det kan være grovt granulert, degenerert eller utvasket.

Å se nukleoler ved denne type celleforandring er sjeldent, mens hvis de er til stede vil de være utydelige. Kjernemembranen er synlig og kan ha lette uregelmessigheter, eller være helt borte når kjernen har visket ut kromatingranuleringen. Perinukleær halo eller koilocytose med farget perifert cytoplasma er karakteristisk for denne type celleforandring, men det er ikke nødvendig. Abnorme kjerner må finnes. Celler som har økt keratinisering, og som har tett eosinofilt cytoplasma med eller uten litt koilocytose kan også ses (25).

HSIL står for “høygradig skvamøs intraepitelial lesjon”, det tilsvarer de histologiske diagnosene CIN2 og CIN3. Ved HSIL er cellene generelt mindre enn ved LSIL og viser mindre cytoplasmamodning. Cellene opptrer enkeltvis, i flak eller syncytielignende aggregat, noe som kan gi hyperkromatiske tette grupper av umodne celler. Kjerneforstørrelser er mer variabel og de forstørrede kjernene kan ha samme størrelse som ved LSIL, men med mindre mengde cytoplasma. Det fører til at ved HSIL er det høyere N/C-ratio enn ved LSIL. Kjernene er som oftest hyperkromatiske, men de kan også være normo- eller hypokromatiske. Kromatinet kan være fint eller grovt granulert, men som regel med en jevn fordeling. Kjernemembranen viser ofte innskrenkninger og er ganske uregelmessig. Cytoplasma har et variabelt utseende, noe som bidrar til ulike morfologiske varianter som ikke passer alle kriteriene til HSIL. Blant disse er metaplastisk type, storcellet/keratinisert HSIL, småcellet HSIL og hypokromatisk HSIL (25).

Plateepitelkarsinom er en malign infiltrerende epitelial tumor som består av plateepitelceller med ulike grader av differensiering. Disse ulikhetene beskrives som keratiniserte og ikke-keratiniserte karsinomer (25).

Ved keratinisert plateepitelkarsinom er det normalt å se atypiske/maligne celler som opptrer enkeltvis. Aggregater ses sjeldent. Celler varierer mye i størrelse og form, med tett oransjefarget cytoplasma. Ved keratinisert plateepitelkarsinom kan cellene være små, og se ut som spindelceller og “rumpetroll”. Som cellene, varierer også kjernene i størrelse og form. Kjernene vil inneholde grovt kromatin med ujevn fordeling og oppklaring. Både makronukleoler og tumordiathese kan observeres. Assosiert hyperkeratose eller parakeratose kan også sees ved keratinisert plateepitelkarsinom. HSIL - celler sees ofte i keratinisert plateepitelkarsinom (25).

Ved ikke-keratinisert plateepitelkarsinom ses atypiske/maligne celler som enten opptrer enkeltvis eller i syncytiale aggregat med dårlig definerte cellegrenser. Cellene er mindre enn de er ved høygradige celleforandringer, men de fleste cellene har HSIL kriterier. Cellekjernene har uregelmessig fordelt, grovt klumpet kromatin med oppklaring. Makronukleoler kan være fremtredende ved ikke-keratinisert plateepitelkarsinom. Tumordiathese er typisk, og sees ofte (25).

2.5.2 Diagnosekategorier - unormale sylinderepitelceller

AGUS er irregulært sylinderepitel av usikker opprinnelse. Det vil da kunne sees kjerneforandringer hos endocervikale celler eller endometrieceller. Kjerneforandringene vil da være større enn det som sees ved reparative eller reaktive forandringer, men vil mangle trekkene til ACIS eller infiltrerende karsinom. AGUS kan benyttes når en ikke kan stille en sikker adenokarsinom-diagnose (25).

Irregulære endocervikale celler vil opptre i flak og rader med noe kjerneoverlapping og man vil kunne se celletetthet. Kjernene er store, ofte 3-5 ganger større i forhold til en normal endocervikal cellekerne. Man kan se variasjon i kjernestørrelse og form, samt lett hyperkromasi. Det vil være mye cytoplasma og utydelige cellegrenser (25).

Irregulære endometrieceller vil finnes i små grupper på 5-10 celler per gruppe. I tillegg sees hyperkromasi med heterogent kromatin, lett forstørrede kjerner og utydelige cellegrenser. Endometriecellene vil ha lite cytoplasma som kan være vakuolisert (25).

ACIS står for adenokarsinoma in situ, og er høygradige forstadier i sylinderepitlet. Her vil man blant annet kunne se at de atypiske cellene opptrer i grupper og flak, samt rosetter med overlappende kjerner og tap av bikubemønster. Celler som ligger enkeltvis ser vanligvis normale ut, mens de atypiske cellene som opptrer i grupper ofte har en fjærstruktur. Kjernene er ofte forstørret og avlange i flere lag, men en kan også se variasjon i størrelse og form. En kan som regel se små nukleoler, mitoser og apoptoser. Det finnes normalt ikke thumordiathese (25).

Adenokarsinom er en malign infiltrerende tumor som har utgått fra sylinderepitelet. Kriteriene for at celleforandringene skal havne i denne kategorien er svært lik som ved ACIS, men celleforandringene skal være tydeligere og finnes hos flere celler. Her vil man i motsetning til ACIS se nekrotisk tumordiathese og at cytoplasma ofte er finvakuolisert. Cellene vil også ha forstørrede pleomorfe kjerner med uregelmessig kjernemembran og irregulær kromatinfordeling (25).



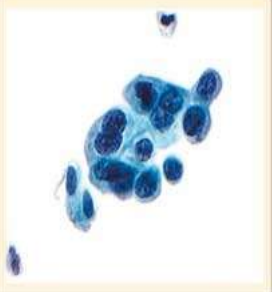

Epidemiologiske studier, studier om befolkningen, har vist en økende grad av adenokarsinomer. Grunnen til dette er at den cytologiske screeningen detekterer forstadier til plateepitelkarsinom bedre enn adenokarsinom (26, 27).

2.6 Cytologisk mikroskopi av cervixcytologi

Vanlig konvensjonell celleprøve av livmorhalsen oppstod allerede i 1928 da legen Georgios Papanicolaou foreslo at en kunne påvise forstadier til kreft i avskrap fra livmorhalsen. På 1950-tallet ble denne metoden tatt i alminnelig bruk. Cytologisk mikroskopi har blitt brukt som en del av screeningprogrammet for livmorhalskreft siden 1995, hvor kvinner tar en ny prøve hvert tredje år. Celleprøver med utstryk på glassplate, pap-smear, ble da tatt med spatel og børste, før det ble strøket ut på et glass og deretter ble glasset sprayfiksert (28). Fra 2006 har mange laboratorier byttet ut denne vanlige konvensjonelle celleprøven med en væskebasert prøve, enten ThinPrep eller Surepath. Leger og gynekologer har da endret prøvetakingsmetode ut i fra hvilket laboratorium prøvene sendes til. En væskebasert prøve tas enten med børste og spatel eller med en kombinasjonsbørste. Ved bruk av denne metoden vil cellene bli bedre bevart ettersom man tilsetter prøvematerialet i et egnet medium (28). Dette mediet består av 50 % metanol i en bufret løsning, og når prøvematerialet tilsettes i mediet blir det fiksert. Når prøvematerialet blir fiksert vil alle organiske prosesser stoppes slik at prøvematerialet ikke endres (29).

For at prøven skal være optimal er det svært viktig av at prøvetakeren følger riktig prosedyre, ettersom feil prøvetakningsteknikk er en hyppig årsak til uegnede celleprøver (29). En mikroskopisk vurdert celleprøve har høy spesifisitet, og i følge ATHENA studien varierer sensitiviteten for høygradige celleforandringer med 42-73 % fra laboratorium til laboratorium.

En negativ prøve kan altså ikke sikkert utelukke at der finnes forstadier til kreft (30). Refleks HPV-test ble innført som sekundærscreening ved utredning av celleforandringer i livmorhalsen den 01.07.2005, dette var for å redusere unødvendig oppfølging av kvinner med ASC-US og LSIL med negativ refleks HPV-test (31).

Kreftutvikling i plateepitelceller				
	Normale plateepitelceller	LSIL	HSIL	Plateepitelkreft
Eksempelbilder på cervixcytologi				
Kriterier for cytologisk vurdering	Modne celler med lav N/C ratio. Rund til oval kerne med fingranulert til utvisket, jevnt fordelt kromatin. Kjernestørrelse lik en granulocyt.	Modne celler med lett hyperkromatiske kjerner. Granulert til utvisket kromatin. Stor perinukleær halo. Kjernestørrelse > 3 x en granulocyt.	Umodne celler med høy N/C ratio. Hyperkromatiske kjerner med ujevn, bølget overflate. Grovgranulert kromatin. Kjernestørrelse > 2 - 4 x en granulocyt.	Modne til umodne celler med hyperkromatiske kjerner, som er oval til kantet til avlang. Kromatinstruktur er grovgranulert til utvisket og ujevnt fordelt. Blodig bakgrunn.

Figur 7. Illustrerer eksempler på kreftutvikling i plateepitelceller, og hvordan dette blir observert via et mikroskop og viser til kriteriene for cytologisk vurdering.⁷

2.7 HPV-test som primærscreening

I perioden 2019 til 2021 vil en ny primær screeningmetode bli gradvis innført på landsbasis. Cytologi som primærscreening vil innen 2022 bli erstattet med en HPV-test hos alle kvinner mellom 34-69 år. HPV-test vil bli brukt som primær screeningmetode ved denne aldersgruppen fordi det kun er 6,5 % som har en pågående HPV-infeksjon. I aldersgruppen 25-33 år er det 30 % som har en pågående HPV-infeksjon (32). Det er kun 11 % av kvinner med positiv HPV-test som vil få påvist høygradige celleforandringer ved 18 års oppfølging (33). Med en HPV-test som primærscreening vil livmorhalsprøven bli tatt på samme måte som ved væskebasert cytologisk mikroskopi, men videre arbeid på laboratoriet vil bli annerledes. Ny HPV-test vil bli tatt hvert femte år istedenfor hvert tredje år som er anbefalt ved tradisjonell cytologi (34). Dette er fordi en primær HPV-test har høyere sensitivitet i

⁷ Illustrasjon hentet fra artikkelen "cervixcytologi for dummies" hos bioingeniøren. <https://www.bioingenioren.no/fag/fag-i-praksis/2015/cervixcytologi-for-dummies/>

forhold til en primær cytologisk undersøkelse (35). Den nye primær screeningmetoden tester for høyrisiko humant papillomavirus (HPV).

01.02.15 ble HPV-test som primærscreening innført i fire fylker i Norge (Rogaland, Hordaland, Sør- og Nord-trøndelag) som en del av et pilotprosjekt. Dette var en randomisert innføring hvor kvinner som er født på partallsdager, får primær HPV-test med fem års intervall, og kvinner som er født på oddetallsdager får primær cytologisk mikroskopi med tre års intervall. Det er på samme måte HPV-test som primærscreening innføres i Bodø fra 01.01.19 (36).

Omfattende vitenskapelige studier viser at en HPV-test er et foretrukket alternativ som primærttest i screeningprogrammet. I følge disse studiene har en HPV-basert screening 23-43 % høyere sensitivitet for forstadier til livmorhalskreft i forhold til cytologibasert screening (35). I tillegg vil denne metoden kunne føre til at celleforandringer hos kvinner detekteres tidligere, slik at screeningintervallet for kvinner som testes negativt kan forlenges (37). Screeningintervallet for kvinner som går over til primær HPV vil øke fra tre til fem år, dette er en relativ økning på 67%. Det er antatt at en HPV-test hvert femte år kan forebygge minst like mange tilfeller av livmorhalskreft som en celleprøve hvert tredje år (34).

2.8 Flytdiagram

Etter innføring av HPV-test som primærscreening har flytdiagrammet blitt både mer omfattende og komplekst. Det nasjonale diagrammet deles nå inn i to hovedkategorier, en for cytologisk mikroskopi og en for HPV-test som primær screeningmetode. Flytdiagrammet gir en visuell oversikt over oppfølging av screeningprøver.

2.8.1 Cytologi

Ut i fra flytdiagrammet blir cytologisk mikroskopi gjennomført på alle kvinner i aldersgruppen 25-33 år. I tillegg blir alle kvinner mellom 34-69 år som er født på oddetallsdatoer, og bor i de fylkene som har startet innføringen av HPV-test som primærscreening i 2019, også testet med denne metoden. Blir den cytologiske screeningtesten normal vil det bli gitt ut innkalling til en ny cytologiprøve om tre år. Viser den cytologiske testen lavgradig cytologi, vil en refleks HPV-test bli tatt. Blir denne testen negativ, vil

kvinnen få ny innkalling etter tre år. Om refleks HPV-testen gir utslag for andre høyrisiko HPV-typer enn 16 og 18, vil det bli tatt en ny HPV-test som oppfølgingsprøve etter 12 måneder. Om denne blir negativ, blir neste innkalling om tre år. Blir testen positiv på noen av høyrisiko HPV-typene, blir kvinnen henvist til biopsi og kolposkopi. Viser den første cytologiske prøven høygradig celleforandring, blir kvinnen henvist direkte til biopsi og kolposkopi.

2.8.2 HPV-test

I fylkene fra pilotprosjektet skal HPV-test som primærscreening utføres på alle kvinner mellom 34 og 69 år fra 2019. I fylkene som innførte HPV-test som primærscreening i 2019 skal HPV-test som primærscreening utføres randomisert på kvinner mellom 34-69 år født på partallsdager. (38 s.7) Etterhvert skal dette innføres for alle kvinner i denne aldersgruppen.

Ut i fra flytdiagrammet vil kvinner med negativ primær HPV-test få innkalling til en ny HPV-test om fem år. Hvis primær HPV-testen blir positiv vil videre behandling avgjøres ut fra hvilken HPV-type kvinnen har. Om kvinnen har HPV-type 16 eller 18 vil det bli tatt en refleks cytologiprøve. Har cytologiprøven unormal/uegnet cytologi vil kvinnen bli henvist videre til kolposkopi og biopsi. Viser derimot prøven normal cytologi vil det bli tatt en ny HPV-test som oppfølging etter 12 måneder. Blir den nye HPV-testen positiv for virustypene 16, 18 eller andre høyrisiko HPV-typer vil det bli henvist til kolposkopi og biopsi. Ved negativ HPV-test blir kvinnen kalt inn til ny HPV-test etter fem år.

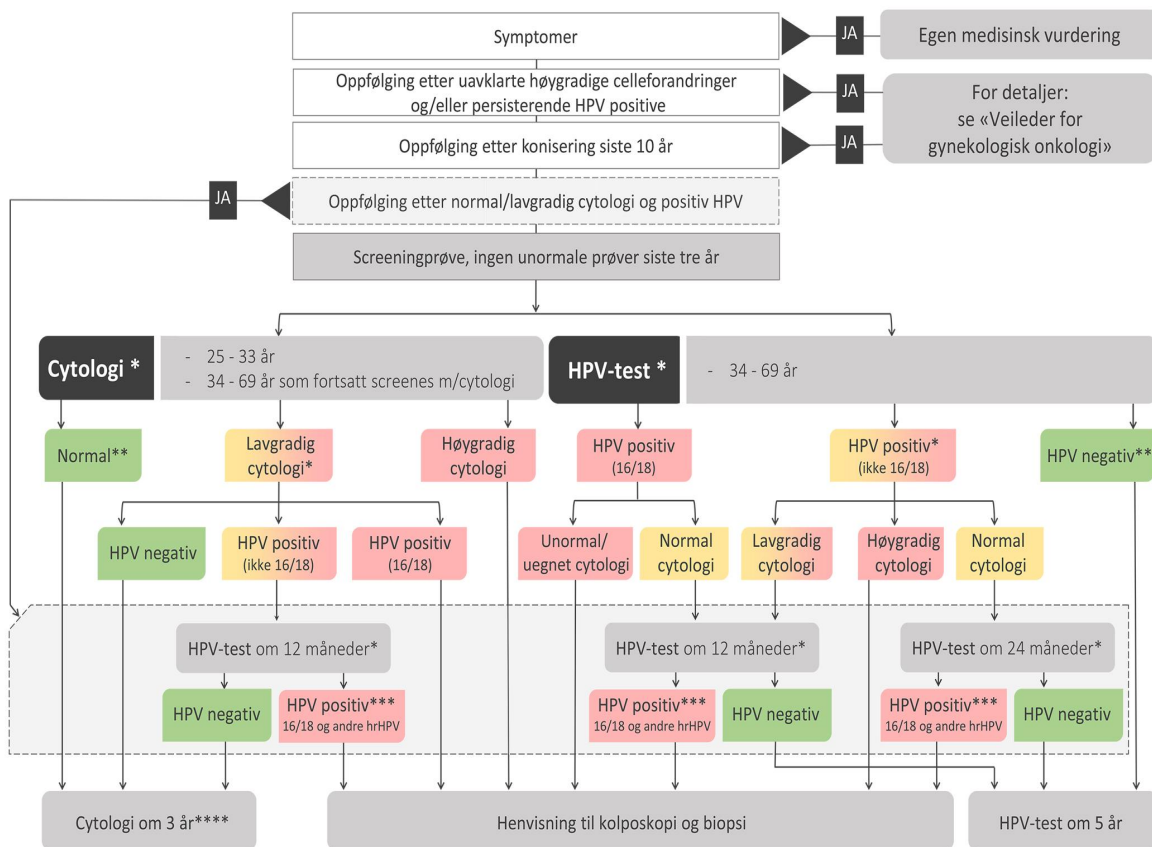
Om primær HPV-testen blir positiv men ikke for virustypene 16 eller 18 blir det også tatt en refleks cytologiprøve. Om prøven viser høygradig cytologi blir kvinnen henvist til kolposkopi og biopsi. Viser prøven normal cytologi vil det bli tatt en oppfølgings HPV-test når det har gått 24 måneder. Om testen da viser positiv for virustypene 16, 18 eller andre høyrisiko HPV-typer vil det henvises videre til kolposkopi og biopsi. Er oppfølgingsprøven negativ vil kvinnen bli kalt inn til en ny HPV-test etter fem år. Om prøven viser lavgradig cytologi vil det bli tatt en oppfølgings HPV-test når det har gått 12 måneder. Om testen blir positiv for HPV 16, 18 eller andre høyrisiko HPV- typer vil det henvises videre til kolposkopi og biopsi. Ved negativ HPV-test blir kvinnen kalt inn til ny HPV-test etter fem år.

Flytskjema

for vurdering av væskebaserte livmorhalsprøver

Hvorfor er livmorhalsprøven tatt?

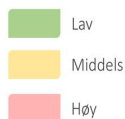
Prøvetaker må fylle ut årsak til prøve og opplysninger relevante for vurdering av prøven.



Figur- og begrepsforklaring



Risiko for alvorlige celleforandringer (CIN2+)



Fotnoter

- * Ved uegnet prøve (primær eller refleks), ny prøve innen 1-3 måneder. Ved uegnet cytologi andre gang, gjøres refleks-HPV.
- ** For kvinner over 34 år uten tidligere livmorhalsprøver, anbefales det å gjøre cytologi og HPV-test ved første livmorhalsprøve.
- *** For HPV positive prøver skal cytologi utføres, men prøvesvar vil ikke påvirke oppfølging. Resultatet brukes av gynekolog ved kolposkopisk undersøkelse.
- **** Ny HPV-test om 3 år dersom kvinnen ved tidspunkt for ny prøve er fylt 34 år og regionen har implementert HPV-screening i stedet for cytologi.

Lavgradig cytologi ASCUS (irregulær plateepitelceller med forandringer av usikker betydning)

LSIL (lavgradig skvamøs intraepitel lesjon)

Høygradig cytologi ASC-H (irregulære plateepitelceller med forandringer som kan gi mistanke om høygradig lesjon, men som ikke fyller kriteriene til diagnosen HSIL)

HSIL (høygradig skvamøs intraepitel lesjon)

AGUS (irregulært sylindrer/kjerteepitel av usikker opprinnelse og/eller signifikans)

ACIS (adenokarsinoma in situ)

Ca (alle typer cancer)

Unormal cytologi Lavgradig eller høygradig cytologi

hrHPV Høyrisiko humant papillomavirus

16/18 Genotype HPV16 og/eller HPV18

Figur 8. Flytdiagram.⁸

⁸ Illustrasjon hentet fra Kreftregisterets hjemmeside.

<https://www.kreftregisteret.no/globalassets/masseundersokelsen-mot-livmorhalskreft/flytdiagram/2018-09-ny-algoritme-1.jpg>

2.9 Behandling av høygradige celleforandringer og kreft med kirurgi

Hvert år blir rundt 6000 kvinner i Norge (6489 i 2016) behandlet med konisering på grunn av høygradige celleforandringer (38 s.11). Hvilken behandling kvinnen får, er avhengig av hvor alvorlige celleforandringer kvinnen har, og for kvinner med kreft vil behandling være avhengig av stadium og størrelse på tumor. Hvis celleforandringene har utviklet seg til kreft, vil det som regel være mulig å operere bort kreftsvulsten. For de kvinnene som ikke kan opereres, vil de få tilbud om strålebehandling i en eventuell kombinasjon med cellegift (39).

2.9.1 Kirurgi

Konisering er en type kirurgi som blir gjennomført når vevsprøven har vist høygradige celleforandringer på livmorhalsen. Konisering vil si å operere bort en liten bit av livmorhalsen. En kjegleformet bit fra livmortappen fjernes med en elektrisk varmeslynge eller laser. Noen ganger settes det noen sting etterpå for å hindre blødning, men disse stingene blir sydd med tråd som løses opp av seg selv. Selve operasjonen foregår med lokalbedøvelse på en operasjonsstue og tar 5-10 minutter (39). Dette inngrepet vil i 90 % av tilfellene fjerne alle celleforandringer og dermed redusere risiko for livmorhalskreft. Men i 10 % av tilfellene vil kvinnen utvikle nye celleforandringer. Alle kvinner bør derfor følges opp etter konisering (28).

Det vanligste kirurgiske inngrepet ved livmorhalskreft i Norge er Wertheims operasjon, som er aktuell når svulsten kun er lokalisert til livmorhalsen. Dette kirurgiske inngrepet går ut på å fjerne livmoren, livmorhalsen, øvre del av skjeden og støttevevet rundt livmorhalsen. Lymfeknuter i bekkenet blir også fjernet under dette inngrepet. Operasjonsresultatet avgjør om det blir aktuelt med strålebehandling i etterkant av inngrepet (39).

Det kan også bli brukt fertilitetsbevarende kirurgi, som er en operasjon som fører til at kvinner fremdeles kan få barn etter behandlingen. Denne operasjonen tilbys til unge kvinner hvor svulsten er begrenset til livmorhalsen og er mindre enn 2 cm. Lymfeknutene i bekkenet og det meste av livmorhalsen blir fjernet, og det blir satt på et slags bånd omkring gjenværende del av livmorhalsen. Hensikten med denne typen operasjon er at kvinnene skal bevare evnen til å bære fram et barn, men metoden gir en økt risiko for fødsel før termin og en eventuell graviditet etter dette inngrepet gjør at barnet må bli født med keisersnitt (39).

3 Materiale og metode

3.1 Væskebasert celleprøve

De fleste laboratoriene i Norge gjennomgikk en overgang til væskebasert cytologi i perioden 2005-2012. Ved Nordlandssykehuset brukes ThinPrep prøvebeholdere, men det finnes to ulike væskebaserte systemer som er i bruk i Norge, ThinPrep og SurePath. Begge disse metodene kan brukes som prøvemateriale til cytologi og HPV-testing. HPV-test er en supplerende undersøkelse ved cytologisk indikasjon. Protokollen for de to systemene er ulik ved overføring til prøvebeholdere, det samme gjelder for antall ganger ulike typer prøvetakingsbørster skal dreies rundt i livmormunnen. Det er viktig at rekvirent følger prosedyren for prøvetakning, ellers blir celleprøven ofte uegnet for vurdering i mikroskop. En uegnet primær cytologisk prøve kan imidlertid avklares ved hjelp av en HPV-test (40).

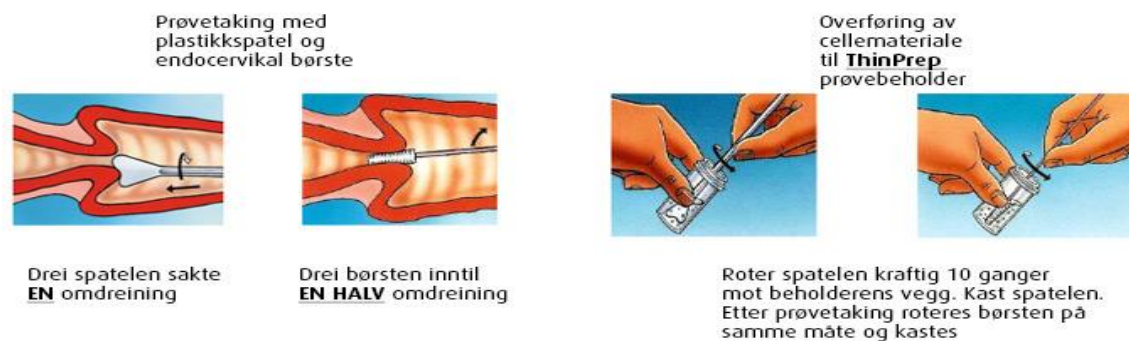
Celleprøver som er tatt med ThinPrep prøvebeholder skal oppbevares i romtemperatur og vil være holdbar i flere måneder ved behov for en HPV-test (40).

De fleste celleforandringer oppstår i transformasjonssonen. Derfor er det viktig å få med materiale fra transformasjonssonen under prøvetakingen. Å få tilstrekkelig med plateepitel under prøvetakingen er også viktig. Ved prøvetaking blir det enten brukt børste, spatel eller kombinasjonsbørste. At den ytre mormunn kan sees under prøvetaking er en forutsetning for å kunne si at materiale fra livmorhalsen er representativt. Ved økende alder vil transformasjonssonen trekke seg lengre opp i livmorhalsen, her vil bruk av plastikk børste øke sannsynligheten for å få med celler. Ved graviditet er spatel anbefalt under prøvetaking (40, 41).

3.1.1 Prøvetaking med endocervikal børste og plastikkspatel

For å ta en adekvat prøve fra ektocervix med spatel, føres den pekende enden av en plastikkspatel inn i livmormunnen og dreies rundt en omdreining, mens det holdes et jevnt trykk mot overflaten. Ved bruk av ThinPrep skal spatelen skylles umiddelbart i prøvebeholderen med PreservCyt Solution ved å rotere kraftig 10 ganger. PreservCyt Solution består av 50 % metanol i en bufret løsning. Spatelen kastes etter bruk.

Deretter brukes børste til å gjennomføre en ny prøvetaking. En endocervikal børste føres inn i livmormunnen, slik at kun den nederste delen av børsten synes. Børsten blir så dreid rolig en halv omdreining for å unngå blødninger. Børsten skylles umiddelbart i prøvebeholderen ved å rotere 10 ganger mot veggen og børsten vispes for å frigi restmateriale. Børsten kastes etter bruk. Lokket skrues på, og beholderen blir merket med pasientidentitet (41, 42).



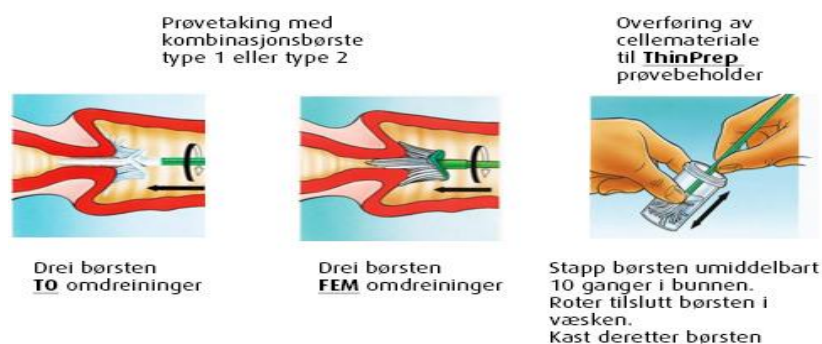
Figur 9. Illustrasjon av prøvetakning med ThinPrep.⁹

3.1.2 Prøvetaking med kombinasjonsbørste.

Når man skal ta en adekvat fra ekto- og endocervix med en kombinasjonsbørste, blir kombinasjonsbørsten ført inn i livmormunnen til de korteste bustene får god kontakt med ektocervix. Det skal da holdes et jevnt trykk mot overflaten mens kombinasjonsbørsten dreies rundt x antall omdreininger som anbefalt (40).

Ved ThinPrep skal børsten umiddelbart skylles i prøvebeholderen med PreservCyt Solution ved å trykke børsten 10 ganger mot bunnen, slik at alle bustene spres. Før børsten blir kastet er det viktig å vispe børsten kraftig, slik at eventuelt restmateriale blir frigitt. Børsten kastes og lokket blir skrudd på, beholderen blir merket med pasientidentitet (40, 41).

⁹ Illustrasjon hentet fra Kreftregisteret sin hjemmeside.
<https://www.kreftregisteret.no/screening/livmorhalsprogrammet/Helsepersonell/Faglig-Radgivningsgruppe/kvalitetsmanual2/3.-veiledning-for-provetaking/>



Figur 10. Illustrasjon av prøvetaking ved ThinPrep.¹⁰

ThinPrep metoden er basert på en filterteknikk som samler cellene fra livmorhalsen i et filter, en maskin henter så cellene og lager et avtrykk med celler i samme plan, det blir dermed enklere å vurdere de enkelte cellene. Denne filterteknikken gjør metoden svært sårbar for forurensning av blod, leukocytter, slim og/eller eksplorasjonskrem. Det som gjør denne metoden sårbar ved blodtilblending er når væsken suges opp gjennom en filtermembran og epitelcellene blir liggende på utsiden av membranen. Når prøven inneholder blod, kan det bli en konkurranse mellom epitelcellene og leukocytene om plassene, og hvis leukocytene tar alle plassene vil instrumentet fremdeles registrere dette som nok samlet celler. Resultatet vil da bli dårlig på grunn av for lite celler er blitt fremstilt og kan gi ekstra belastning for kvinnen, da hun må ta ny prøve og muligens biopsi hvis HPV 16/18 er positiv i HPV-armen. Det kan også gi belastning for prøvetaker og laboratoriet, da det vil være en økning i antall prøver som blir mottatt og i tillegg kan uegnede prøver være årsak til falske negative prøver. Prøver som blir tilblandet med blod kan prepareres på nytt, om lysering av blod blir gjennomført, men dette krever ekstra arbeid (41).

Andre årsaker til at uegnede prøver oppstår er at en ikke har fått tilstrekkelig materiale fra ektocervix. Om ikke celledmateriale har blitt overført fra plastikkspatel, endocervikal børste eller kombinasjonsbørste umiddelbart etter kontakt med PreservCyt Solution i prøvebeholderen kan det føre til begrenset mengde plateepitel som kan føre til at prøven blir vurdert som uegnet. Når disse prøvene blir tatt er det viktig at det gjøres riktig, slik at man unngår mest mulig uegnede prøver (40, 41).

¹⁰ Illustrasjon hentet fra Kreftregisterets hjemmeside.
<https://www.kreftregisteret.no/screening/livmorhalsprogrammet/Helsepersonell/Faglig-Radgivningsgruppe/kvalitetsmanual2/3.-veiledning-for-provetaking/>

3.2 Papanicolaous fargemetode

Rutinefargingen i cytologi er Papanicolaous fargemetode. Denne fargemetoden ble utviklet av Georgios Papanicolaou, og er en videreutvikling fra HES fargemetode som blir brukt i histologi. PAP-fargemetode er en oversiktsfarging, som gjør det mulig å vurdere cellenes morfologi, modenhet og metabolistiske aktivitet. Metoden består av fire trinn: en hydrering, hvor man fører preparatene til vann, en kjernefarging, en dehydrering, hvor vannet blir byttet ut med etanol og en cytoplasmafarging (43).

PAP-fargemetode bruker en kjernefarge og to cytoplasmafarger. Som kjernefarge blir hematoxylin brukt, som farger inaktivt DNA mørkeblått og aktivt DNA lyseblått. DNA er kveilet rundt proteiner, kalt histoner, og samlet kalles dette for kromatin. Det finnes to forskjellige måter å farge kjernene på, progressiv eller regressiv. Når man farger progressivt, farges preparatet inntil det ønskede fargerresultatet er oppnådd. Ved en regressiv farging blir preparatet overfarget, før det så blir satt i et differensieringsbad med syre som ekstraherer en del av kompleksfargestoffet. Cytoplasmafargene som blir brukt er EA50 og OG6. Disse farger cytoplasma i ulike nyanser av blågrønt i metabolsk aktive celler, mens mindre metabolsk aktive eller inaktive celler blir rosa til gult. Forskjellen i cytoplasmafarging skyldes dels cellemembranens forskjellige permeabilitet, men skyldes også av tilstedeværelse av ribosomale organeller, som finnes i de metabolsk aktive cellene. Når fargerresultatet er optimalt, vil cytoplasmafargingen vise et spektrum av farger fra gult, oransje, rødt, turkis, grønt og blått. Fargevariasjonen innenfor den enkelte celletype skyldes ofte en inflammatorisk påvirkning. Gjennomtrengeligheten av vevsstrukturen vil bidra til at fargemolekylene, avhengig av størrelse, vil i løpet av tid trenge dypere inn i cellene (43).

Før prøvematerialet blir farget, skal det være fiksert og tørt. Etter farging er det viktig at preparatet ikke oppbevares i 95 % alkohol lenger enn nødvendig, fordi fargene vil gradvis vaskes ut. For at det skal bli et bra fargerresultat er det viktig at fargetidene overholdes slik at cellene ikke overfarges, og alkoholbadene må skiftes ofte, slik at det ikke skjer videre farging av cellene. Badene med absolutt alkohol og tissue clear skal være helt rene og fri for vann, hvis ikke kan preparatene få en matt og grålig farge. Cellelagenes tykkelse har også betydning for opptak av farge og under fargeprosedyren skal preparatglassene behandles med forsiktighet for å unngå celletap (43).

PAP-farging utføres i dag maskinelt, slik at man oppnår et reproduserbart fargerresultat og sparer tid. Kvaliteten av fargingen har en stor betydning for den diagnostiske kvaliteten av den cervixcytologiske undersøkelsen (43).

3.3 Kolposkopi

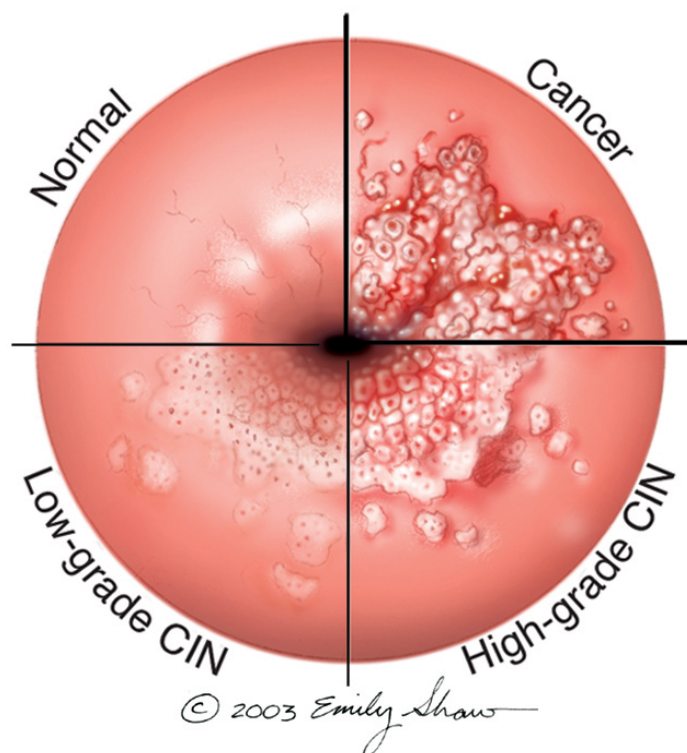
Kolposkopi gjennomføres ved høygradig cytologi (ASC-H / HSIL), ved lavgradig cytologi (ASC-US / LSIL) med positiv HPV-test for 16/18, eller av kvinner med gjentatt positiv HPV-test. Selve undersøkelsen blir gjort som en vanlig gynekologisk undersøkelse, hvor pasienten ligger på ryggen og et spekulum føres inn i skjeden for å skille veggene. På denne måten blir slimhinnene i skjeden og livmorhalsen synlig, slik at det kan undersøkes med et kolposkop (44).

Når det blir identifisert unormale områder under kolposkopi, blir diagnosen cervix dysplasi stilt ved hjelp av fem observasjoner. Intensitet av acetohvit, marginer og overflatekontur av acetohvite områder, vaskulære mønstre, størrelse av lesjon og fargeendringer etter pensling med jod (45).

Når man skal undersøke intensitet av acetohvit blir det penslet med 5 % eddik og observert under hvitt lys gjennom hele perioden eddiken virker. Effekten av eddiksyre utvikler seg gradvis i løpet av 1 minutt, og ny eddiksyre påføres hvert 2.-3. minutt siden eddiksyreeffekten forsvinner raskt. Jo høyere grad av dysplasi, desto raskere blir det acetohvitt, og desto tykkere blir forandringen og unormale blodkar fremtrer langsommere. Acetohvite forandringer vil forsvinne langsommere ved høygradige lesjoner. Høygradig CIN blir forbundet med tykke, tette, matte, ugjennomsiktig eller grå-hvite acetohvite områder med godt avgrensede, regelmessige marginer. Det kan være vanskelig å skille mellom lavgradig og normal cervix, så det er svært viktig å undersøke mange med normale celleprøver for å lære seg hvordan en normal cervix ser ut med acetohvitt (45).

Under en kolposkopi brukes det også pensling med jod. Dette brukes fordi jodløsningen blir tatt opp i modent epitel med glykogen, mens det modne plateepitelet farges mahognibrunt. Det dysplastiske epitelet farges ikke og blir derfor markert gult. Ved pensling med jod vil

spredte lesjoner litt lengre ut på cervix synliggjøres, noe som er lett å overse med eddik. Det er heller ikke alt som blir gult som er dysplasi, noe som er viktig å være oppmerksom på slik at det ikke blir fjernet mer vev enn nødvendig. Jod er svært nyttig til bruk i cervix, men det er viktig at det blir undersøkt med eddik først. Jod alene kan ikke brukes for å identifisere celleforandringer på grunn av forskjellige faktorer som spiller inn (45).



Figur 11. Illustrasjon om hvordan de forskjellige stadiene ser ut under en kolposkopi undersøkelse. ¹¹

Kolposkopi har lav sensitivitet, noe som gjør det viktig å prioritere skarpe biopsitenger for adekvat utredning med cervix dysplasi. Når det blir tatt tre til fire biopsier, øker sensitiviteten betraktelig (45).

3.4 Biopsi

Ved hjelpen av kolposkopi og penslingene som blir utført, vil man kunne få en bedre oversikt over hvor en vevsprøve skal tas. En biopsi er en vevsprøve som blir hentet ut for å undersøkes mikroskopisk med tanke på forandringer og vurdert opp mot WHO's CIN-klassifikasjonen.

¹¹ Illustrasjon hentet fra Indigo womens center sin hjemmeside. <https://indigowomenscenter.com/cervical-dysplasia-treatment/>

HPV-infeksjonen begynner oftest i SCJ. Det er svært viktig å ta biopsier der man ser de mest alvorlige forandringene og lesjoner. Som oftest er den høyeste graden av CIN i en lesjon nærmest SCJ. Biopsi blir anbefalt når det ligger til grunn bestemte sykdomssymptomer eller kliniske undersøkelser som gir mistanke om, eller ikke kan utelukke, alvorlige avvik i et organ. Ved cytologisk screening vil biopsi bli anbefalt ved funn av høygradige, unormale celleforandringer eller ved positiv HPV-test, og tatt i forbindelse med kolposkopi. Med HPV som primærscreening blir biopsi først anbefalt etter en unormal/uegnet cytologisk undersøkelse, høygradig cytologi, eller ved to positive HPV-tester tatt med 12 eller 24 måneders mellomrom (45, 46).

3.5 Cobas 4800 HPV-test

Metoden som blir brukt ved HPV primærscreening ved Nordlandssykehuset er Cobas 4800 HPV-test. Denne metoden er markedsledende innenfor feltet i resten av landet.

Prinsippet for denne testen er at Cobas 4800 HPV-test er en kvalitativ in vitro-test for deteksjon av HPV i prøver fra livmorhals. Prøvematerialet til denne testen er celleprøver som er samlet inn på ThinPrep-løsning. Cobas 4800 HPV-test bruker amplifisering av mål-DNA med PCR og nukleinsyrehybridisering for deteksjon av 14 HPV-typer. Testen kan bare identifisere HPV genotypene 16 og 18, men den detekterer også andre høyrisiko-typer som 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 og 68 ved klinisk relevante infeksjonsnivåer. Ved funn av disse genotypene blir resultatet angitt som HPV OTHER POSITIV (47, 48, 49, 50).

Tabell 1. Sammendrag av deteksjonsgrenser for høyrisikogenotyper av HPV for Cobas 4800.

HPV DNA-type	LOD (Kopier/ml)	Antall positive/testede	Treffrate	Nedre grense (95 % konf.)	Øvre grense (95 % konf.)
16	600	60/60	100 %	94 %	100 %
18	600	60/60	100 %	94 %	100 %
31	300	59/61	97 %	89 %	100 %
33	190	46/48	96 %	86 %	99 %

35	480	48/48	100 %	93 %	100 %
39	80	48/48	100 %	93 %	100 %
45	190	46/48	96 %	86 %	99 %
51	100	46/48	96 %	86 %	99 %
52	2400	48/48	100%	93 %	100 %
56	1400	48/48	100 %	93 %	100 %
58	480	47/48	98 %	89 %	100 %
59	190	46/48	96 %	86 %	99 %
66	640	48/48	100 %	93 %	100 %
68	450	48/48	100 %	93 %	100 %

¹²limit of detection viser hvor mange kopier av viruset som må være tilstede i prøven per milliliter, for at testen skal bli positiv. Tabellen viser også øvre og nedre grense med 95 % konfidensintervall.

3.5.1 Hovedprosesser

Denne testen har tre hovedprosesser:

1. Den første prosessen skjer på Cobas p480, som tar av og på korker. Denne maskinen kommuniserer ikke med de andre enhetene Cobas x480 og Cobas z480, men klargjør prøvene før de blir ført over manuelt til Cobas x480.
2. På Cobas x480 skjer det en automatisk prøvepreparering: ekstraksjon av HPV og cellulært DNA, samt at den pipetterer klar platen som skal til real-time PCR kjøring. Ved høye temperaturer opptas livmorhalsprøvene under denatureringsforhold, før det lyses under tilstedeværelse av kaotropisk reagens. Frigjorte HPV-nukleinsyrer, sammen med β -globin-DNA, som fungerer som internkontroll, blir renset ved

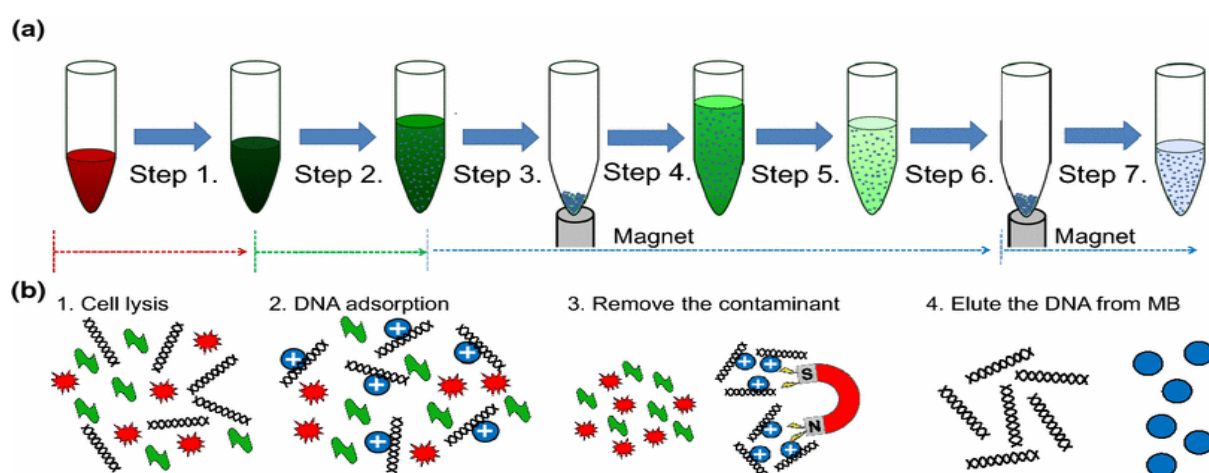
¹² Tabell hentet fra pakningsvedlegget til Cobas 4800.

absorpsjon til magnetiske glasspartikler, vasket og separert fra disse partiklene, slik at de er klargjorte for PCR-amplifikasjon og deteksjon.

3. PCR-amplifikasjon og deteksjon skjer på Cobas z480. PCR-amplifikasjon av mål-DNA-sekvenser ved bruk av både HPV og β -globinspesifikke komplementære primerpar og real-timedeteksjon av fluorescensmerkede HPV- og β -globinspesifikke oligonukleotid-deteksjonsprober. Primerene amplifiserer en sekvens på ca. 200 nukleotider innenfor den polymorfe L1-regionen av HPV-genomet. Det amplifiserte signalet fra de tolv høyrisiko HPV-typene detekteres ved hjelp av samme fluorofor, mens HPV16- HPV18- og β -globinsignalene detekteres med sine egne dedikerte fluoroforer (47, 48, 49, 50).

For å kunne kjøre PCR må DNAet være separert og isolert fra resten av cellen. I hovedprosess nr. 2 ved utførelse av Cobas 4800 HPV-test vil det skje en ekstraksjon av DNA.

Ekstraksjonen utføres ved tre grunnleggende steg, lysing av cellen, separasjon av DNA fra andre cellekomponenter og isolasjon av DNA. Cellemembranen ødelegges ved bruk av sodium dodecyl sulfat (SDS). Proteiner i cellen blir inaktivert ved bruk av enzymet proteinase K. Deretter tilsettes magnetiske partikler som binder DNA, og en magnet fører partiklene til bunnen av røret. Resten av de cellulære komponentene blir så vasket bort gjennom en vaskeprosedyre. Til slutt skilles det separerte DNAet fra de magnetiske partiklene ved hjelp av en elueringsbuffer (51).



Figur 12. Skjematisk fremstilling av DNA-ekstraksjon ved bruk av magnetiske partikler.¹³

¹³ Figur hentet fra artikkelen “Genomic DNA extraction from whole blood using a digital microfluidic (DMF) platform with magnetic beads”. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00542-015-2512-9>

Cobas 4800 har forskjellige mekanismer for å hindre feil prøveresultat, blant annet en intern kontroll og bruk av AmpErase-enzym. Den interne cellekontrollen β -globin er tilstede for å bidra til å forhindre falske negative prøver. HPV-negative prøver med negativt β -globin-resultat blir markert som ugyldig, og bidrar til å forhindre rapportering av falsk negative resultater. AmpErase-enzym er tilstede i hver reaksjon og reduserer risikoen for falsk positive resultater fra overføringskontaminering ved å differensiere amplifikasjon produkter fra målmolekyler (52).

3.6 Behandling av rådata

I denne oppgaven blir resultatet basert på datamaterialet som er hentet ut av Sympathy, dette er dataprogrammet patologiavdelingen ved NLSH bruker. I dette programmet ligger alle pasientopplysninger og prøveresultater, og fungerer som et elektronisk arkiv.

Alt av rådata som er blitt brukt i denne oppgaven er hentet ut ved å se på antall kvinner i de forskjellige p-kodene for årene 2015-2019. P-koder er et systematisk system som NLSH bruker for å kategorisere alle celleprøver som kommer inn til laboratoriet, og er et nytt system for å lettere kunne hente ut en bestemt kategori. P-kodene gis ut i fra hva som er årsaken til at prøven er tatt og blir plassert i PCYT, PHPV, PKONTROLL, PSYMPTOMER, PKONUS og PUKJENT. Disse forskjellige kategoriene har sin egen p-kode som blir tastet inn for å hente ut datamaterialet under hver kategori, for eksempel har PCYT p-koden P06000 og PHPV har P06001. Hver diagnosekategori har også egne koder for å hente ut antallet celleprøver i de forskjellige kategoriene, for eksempel for å hente ut antallet normale prøver under PHPV brukes koden E00040 i Sympathy.

Totalt antall diagnoser hos kvinner 34-69 år ble satt inn i et systematisk regneark med en tabell for hvert år, som viser hvor mange kvinner som har blitt diagnostert i løpet av det året. Alt av rådata fra Sympathy er hentet ut av avdelingslederen, Mikkel Fostervold, før de ble gitt videre til oss. Grunnen til at rådata ble hentet ut av avdelingsleder er at det ikke var tilstrekkelig med tid til å få opplæring i programmet og det er en tidkrevende prosess.

Totalt er det hentet 5510 prøveresultat fra Sympathy i 2019, dette inkluderer både primær HPV og primær cytologi, i tillegg til alle prøver kategorisert under kontroll ved symptomer, ved tidligere unormal prøve, etter konisering og ukjente kontroller. Tallene er sortert og fremstilt ved hjelp av forskjellige metoder, tabeller eller diagram ut i fra hvilken kategori de tilhører. Resultatene fra kontrollprøvene er ikke fremstilt detaljert, men er inkludert ved sammenligning av totale diagnoser før og etter innføring av HPV-test som primær screeningmetode. Det ble også hentet ut prøver for kvinner mellom 34-69 år fra tidligere år. Der ble det totalt hentet ut 12403 prøver fra 2018, 13015 prøver fra 2017, 12644 prøver fra 2016 og 14051 prøver fra 2015. Prøvene fra disse årene er ikke kategorisert i forskjellige p-koder, da det ikke var mulig.

Etter alt av rådata var hentet ut, oppdatert og fremstilt i tabeller i et regneark, startet videre arbeid med statistiske metoder og utregninger for å komme fram til et resultat som var relevant for problemstillingen i denne oppgaven.

Tallene i datamaterialet er kategoriske variabler hvor individer plasseres i kategorier. Ved å telle antall forekomster innen hver kategori, kan man kvantifisere kategoriske variabler, og dermed utføre kvantitative statistiske metoder på materialet. Ettersom variablene er kategoriske vil man uansett ikke forvente en normalfordeling av utvalget, og bør derfor velge ikke-parametriske statistiske tester.

3.6.1 Kjikvadrat-test

En kjikvadrat-test brukes til å sammenligne to forskjellige utvalg av kategoriske variabler. Kategoriske variabler kan være antall innen forskjellige kategorier. Ved bruk av en kjikvadrat-test vil man kunne undersøke om det er en signifikant forskjell mellom utvalgene. Prinsippet bygger på hypoteser, hvor det utformes en nullhypotese (H_0) som vanligvis sier at det ikke finnes noen forskjell mellom utvalgene, og en alternativ hypotese (H_1) som vil si det motsatte av nullhypotesen. For å kunne beregne en kji-verdi må en først beregne de forventede verdiene som ville vært observert om det ikke fantes noen forskjell mellom utvalgene (53).

Forventet verdi beregnes ved hjelp av formelen $F = \frac{(Nr * Nc)}{N}$ hvor "r" er totalen i et bestemt utvalg og presentert som totalen av raden i en tabell, mens "c" er totalen i en bestemt kategori og presentert som totalen av kolonnen. Kji-verdien for datamaterialet kan så beregnes ut i fra

formelen $X^2 = \sum \frac{(Or,c - Fr,c)^2}{Fr,c}$ hvor "O" er den observerte verdien. Men det er vanlig å regne ut kji-verdien for datamaterialet ved å først beregne kji-verdien for hver enkelt verdi, før man summerer disse og får den totale kji-verdien (53).

Kji-verdien viser hvor stor forskjell det er mellom de to utvalgene i datamaterialet, en lav verdi forteller oss at det er liten forskjell, mens en høy verdi indikerer en stor forskjell på utvalgene. For å bestemme om kji-verdien er høy nok til å si at det er en signifikant forskjell, må vi beregne den kritiske kji-verdien. For å beregne denne må signifikansnivået bestemmes, ved kliniske studier er signifikansnivået vanligvis 5 %. I tillegg må antall frihetsgrader bestemmes ved hjelp av formelen $DF = (r - 1) * (c - 1)$, hvor "r" er antall rader og "c" er antall kolonner. Ut i fra signifikansnivået og antall frihetsgrader kan man finne den kritiske kji-verdien. Om den beregnede kji-verdien er høyere enn den kritiske kji-verdien, vil man kunne forkaste H_0 og ta i bruk H_1 . Om den beregnede kji-verdien er lavere enn den kritiske kji-verdien vil man kunne beholde H_0 og forkaste H_1 (53).

3.6.2 Standardavvik

Standardavvik er et mål for spredning i et utvalg. Denne verdien forteller hvor langt de enkelte verdiene i utvalget ligger fra gjennomsnittsverdien. Standardavvik er kvadratroten av variansen til utvalget, derfor må denne verdien beregnes først. Ved å regne ut avstanden til gjennomsnittsverdien for hver av verdiene i utvalget, for så å kvadrere hver avstand, deretter summere alle kvadratene, og tilslutt dele summen på antall verdier, vil vi få variansen til utvalget. Tilslutt beregnes kvadratroten av variansen, og verdien man sitter igjen med er standardavviket. Å regne ut standardavviket på denne måten er både tungvint og tar mye tid. Å bruke Excel eller andre digitale verktøy er en god og enkel måte å beregne denne verdien på. Formelen som kan brukes i Excel er =STDAVP (54).

3.6.3 Konfidensintervall

Ved å beregne et konfidensintervall får vi to verdier som utgjør en øvre og nedre grenseverdi. Dette kan beregnes ut i fra et datamateriale ved å finne den forventede verdien. Den nedre grensen vil være den forventede verdien, minus standardavviket, mens den øvre grensen vil være den forventede verdien, pluss standardavviket. På denne måten vil man kunne se hvilke av verdiene i datamaterialet som havner utenfor konfidensintervallet. Størrelsen på intervallet er også et mål på hvor stor variasjon det er i datamaterialet (55).

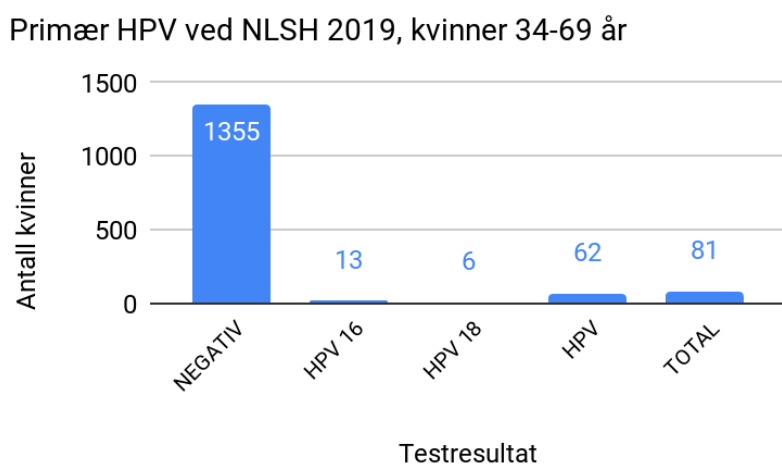
4 Resultat

I denne delen av oppgaven presenteres resultatene som er hentet ut av dataprogrammet Sympathy. Alle resultatene er fremstilt fra rådataen, se vedlegg 3 for rådata.

4.1 Resultater for 2019 ved Nordlandssykehuset

4.1.1 Primær HPV-test, kvinner 34-69 år

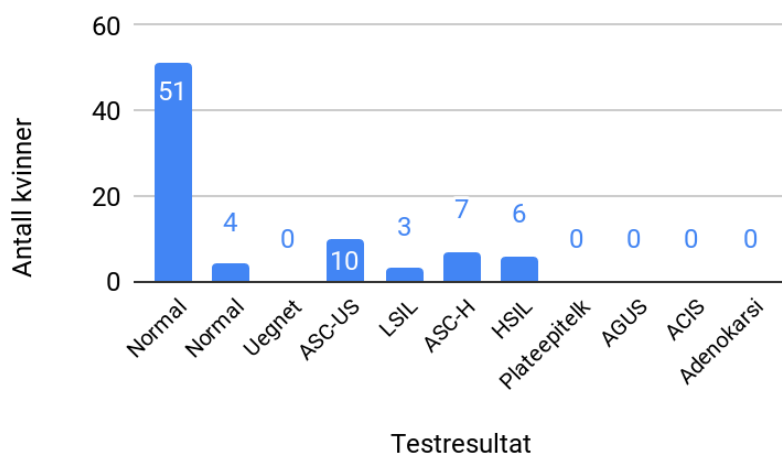
I figur 13 ser vi resultater for primær HPV-test for 2019 ved Nordlandssykehuset. Totalt er det blitt utført 1436 primær HPV-tester, 1355 (94,4 %) av disse testene ble negativ mens 81 prøver (5,6 %) ble positive. Av de 81 positive prøvene ble 13 genotypet som HPV 16, 6 som HPV 18 og 62 som HPV others.



Figur 13. Testresultater for primær HPV-test 2019 for kvinner 34-69 år ved NLSH.

Her ses testresultatet av refleks cytologi som ble utført på de positive primær HPV-testene. Av de totalt 81 HPV positive prøvene ble 51 av disse diagnostisert som normal og 4 som normal uten sylindere. Det er ingen uegnede prøver i testresultatet fra gjennomført refleks cytologi. 10 prøver ble diagnostisert som ASC-US, 3 prøver som LSIL, 7 prøver som ASC-H og 6 prøver som HSIL. Ved refleks cytologi hadde totalt 26 kvinner (1,8 %) unormal celleprøve. Av alle 1436 kvinner med primær HPV ble det diagnostisert 0,7 % ASC-US, 0,2 % LSIL, 0,5 % ASC-H og 0,4 % HSIL.

Diagnoser positiv primær HPV ved NLSH 2019

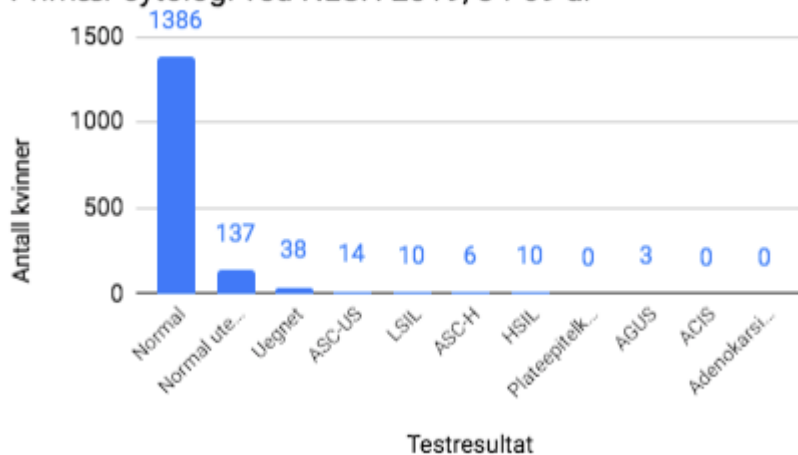


Figur 14. Testresultat ved refleks cytologi gjennomført for positive primær HPV-tester ved NLSH 2019.

4.1.2 Primær cytologi, kvinner 34-69 år

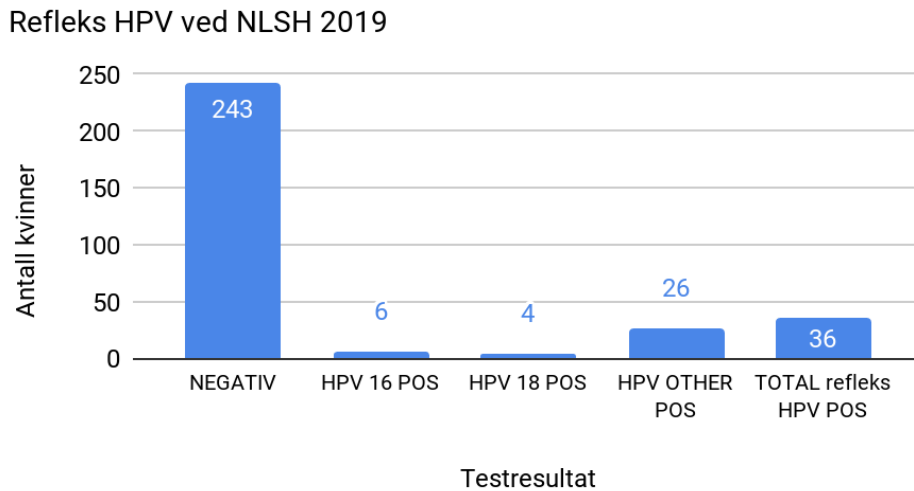
I figuren nedenfor ses testresultatet ved primær cytologi for 2019 hos Nordlandssykehuset, hos aldersgruppen 34-69 år. Totalt ble det utført 1604 primær cytologi tester, av det totale antallet ble 1523 (95,0 %) diagnostisert som normal eller normal u/sylinder, 38 prøver (2,3 %) ble diagnostisert som uegnet og 43 (2,7 %) av prøvene ble diagnostisert som unormal (ASC-US+). Av de 43 prøvene som ble diagnostisert som unormal var det 14 ASC-US, 10 LSIL, 6 ASC-H, 10 HSIL og 3 AGUS. Av det totale antallet 1604 utgjorde ASC-US 0,9 %, LSIL 0,6 %, ASC-H 0,4 %, HSIL 0,6 % og AGUS 0,2 %.

Primær cytologi ved NLSH 2019, 34-69 år



Figur 15. Testresultat for primær cytologi ved NLSH i 2019 for kvinner 34-69 år.

Figur 16 viser testresultatet på refleks HPV-test for 2019 ved Nordlandssykehuset av kvinner 34-69 år. Totalt ble det utført 279 refleks HPV-tester, av disse ble 243 analysert som negativ. Totalt ble det 36 positive prøver på refleks HPV-testen, 6 av prøvene ble genotypet som HPV 16, 4 av prøvene som HPV 18 og 26 prøver som HPV others. Av alle 1604 prøver med primær cytologi ble 15,2 % (243/1604) HPV negativ, totalt 2,2 % (36/1604) HPV positiv der 0,4 % (6/1604) er genotypet HPV 16, 0,3 % (4/1604) genotypet HPV 18 og 1,6 % (26/1604) som HPV others.



Figur 16. Testresultat ved refleks HPV-test etter primær cytologi i 2019 ved NLSH for kvinner 34-69 år.

4.1.3 Primær HPV-test og primær cytologi, kvinner 34-69 år.

Tabell 2 viser antall kvinner i de forskjellige diagnosekategoriene for kvinner 34-69 år, fordelt på hvilken primær screeningmetode prøven er analysert med. I denne tabellen har vi valgt å legge kvinner i diagnosekategoriene normal cytologi med positiv HPV-test, HPV-negativ, normal cytologi, uegnede prøver og normal uten sylinder sammen under total, for å få et tydelig bilde på diagnosekategoriene som kan indikere celleforandringer.

Tabell 2. Diagnosekategorier for primær HPV og primær cytologi for 2019 ved NLSH.

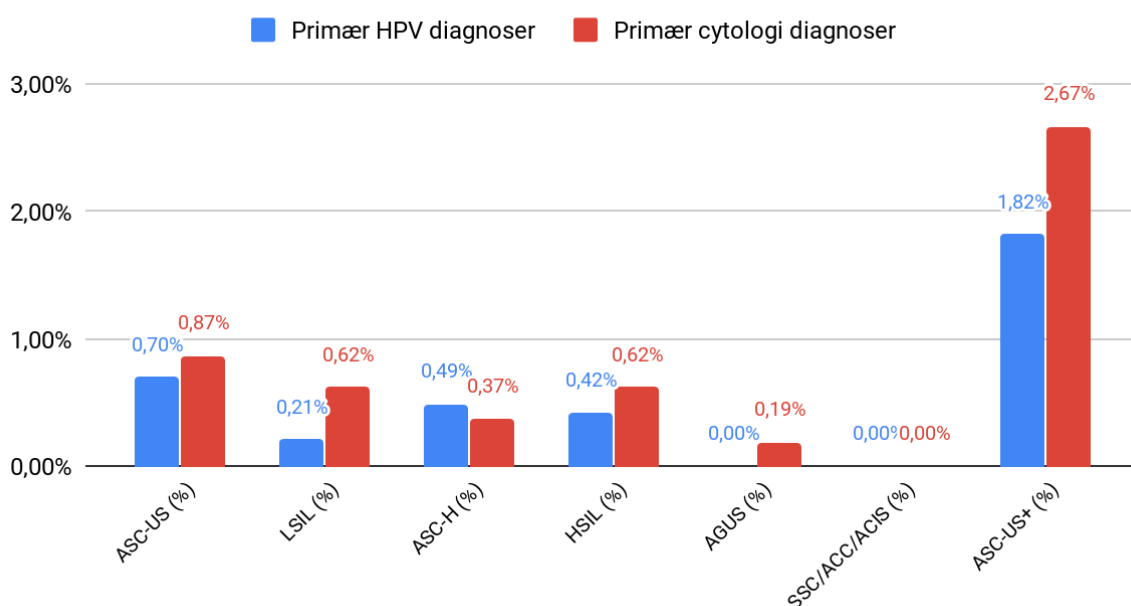
	Total	ASC-US (%)	LSIL (%)	ASC-H (%)	HSIL (%)	AGUS	ASC-

						(%)	US+ (%)
Primær HPV diagnoser	1436	10 (0,7)	3 (0,2)	7 (0,5)	6 (0,4)	0 (0,0)	26 (1,8)
Primær cytologi diagnoser	1604	14 (0,9)	10 (0,6)	6 (0,4)	10 (0,6)	3 (0,2)	43 (2,7)
Total	3040	24 (0,8)	13 (0,4)	13 (0,4)	16 (0,5)	3 (0,1)	69 (2,3)

I figur 17 presenteres prosentandelen av kvinner 34-69 år med de ulike diagnosekategoriene fordelt på de to ulike primær screeningmetodene, HPV-test og cytologi.

Totalt var det 1436 prøver som ble tatt ved primær HPV-test. Av det totale antallet viste 26 prøver (1,8 %) celleforandringer. I figur 17 har vi fremstilt prosentfordeling av tabell 2. De blå søylene viser hvordan fordelingen i prosent er fra det totale antallet (1436) ved HPV-test. Totalt var det 1604 prøver som ble tatt ved primær cytologi. Av det totale antallet viste 43 prøver (2,7 %) celleforandringer. De røde søylene viser fordelingen i prosent av totalt antall testede med primær cytologi (1604).

Atypiske diagnosekategorier - primær HPV og primær cytologi, kvinner 34-69 år



Figur 17. Diagnosekategorier i prosentfordeling for primær HPV og primær cytologi for 2019 ved NLSH.

En kjikvadrat-test ble brukt til å undersøke om det er en signifikant forskjell i antall positive prøvesvar med HPV-test som primærscreening og med cytologi som primærscreening hos kvinner mellom 34-69 år i 2019. Ved bruk av denne testen vil vi sammenligne den observerte verdien i hver av diagnosekategoriene, med en beregnet forventet verdi for hver kategori. Den forventede verdien ble rundet ned til nærmeste hele tall, og er antall kvinner som ville blitt observert om det ikke var noen variasjon i andel kvinner med positive prøvesvar mellom de to screeningmetodene. Testen vil kunne si om eventuelle forskjeller er innenfor tilfeldig variasjon mellom screeningmetodene, eller bekrefte at variasjonen er så stor at det må skyldes en systematisk skjevfordeling (f.eks at HPV-test som primær screeningmetode gir flere positive svar enn celleprøve). En kjikvadrat-test baseres på hypotesetesting, derfor må det utformes en nullhypotese og en alternativ hypotese.

H0: Det er en tilfeldig variasjon i andel kvinner med positive svar mellom de to screeningmetodene.

H1: Variasjonen er på grunn av flere positive svar ved bruk av den ene screeningmetoden.

Ved bruk av kjikvadrat formelen, ble det beregnet en χ^2 -verdi på 32,0 for primær HPV, og på 19,9 for primær cytologi. Den absolutte χ^2 -verdien ble da beregnet til 51,9. Den kritiske verdien for kjikvadratet er avhengig av valg av signifikansnivå, som ble satt til 5,0 %, og antall frihetsgrader som i dette tilfellet ble beregnet til 5. Ved hjelp disse beregningene og en tabell for kjikvadrat-test (se vedlegg 2) ble den kritiske χ^2 -verdien 11,1. Den beregnede χ^2 -verdien ble høyere enn den kritiske χ^2 -verdien, altså avvikene mellom den observerte fordelingen (O) og den forventede fordelingen (F) er derfor stor nok til å kunne si at variasjonen i antall kvinner er på grunn av flere positive prøver ved bruk av HPV-test som primær screeningmetode. Fordi signifikansnivået ble satt til 5,0 %, er det mindre enn 5,0 % sannsynlighet for at det er en tilfeldig variasjon i andel kvinner med positive svar mellom de to screeningmetodene. Vi kan dermed forkaste H0 og ta i bruk H1.

I tabellen sees fordelingen av diagnosekategorier for celleforandringer med primær HPV-test og med primær cytologi fremstilt i antall kvinner mellom 34-69 år. Negative primær HPV-tester, normal primær cytologi og uegnede prøver er kategorisert under “negativ”. Primær HPV positive prøver med normal refleks cytologi og normal primær cytologi med positiv refleks HPV-test er kategorisert under “HPV positiv normal cytologi”.

Tabell 3. Beregning av *kji*-verdi.

		<i>ASC-US</i>	<i>LSIL</i>	<i>ASC-H + AGUS</i>	<i>HSIL</i>	<i>HPV positiv Normal cytologi</i>	<i>Negativ HPV /normal cyt</i>	<i>Total</i>
<i>PHP</i>	<i>Observert</i>	10	3	7	6	55	1355	1436
	<i>Forventet</i>	14	10	7	10	29	1361	
	$(O-F)^2 / F$	1,14	4,90	0,00	1,60	23,31	0,03	31,98
<i>PCY</i>	<i>Observert</i>	14	10	6	10	9	1552	1604
	<i>Forventet</i>	16	11	8	12	33	1520	
	$(O-F)^2 / F$	0,25	0,09	0,13	0,33	17,45	0,67	19,93

4.1.4 Oppfølging og biopsi for kvinner 34-69 år

I tabell 4 fremstilles antall kvinner som har fått anbefalt oppfølging ved HPV-test som primær screeningmetode og cytologisk mikroskopi som primær screeningmetode i perioden 01.01.19 - 12.05.19. Antallet er kategorisert ut i fra hvilken anbefaling kvinnen har fått. Av totalt antall testede, 1604, er det 18 kvinner (1,1 %) som har fått anbefalt oppfølging etter cytologisk mikroskopi som primær screeningmetode, og 20 kvinner (1,2 %) som har fått anbefalt biopsi.

Ved HPV-test som primær screeningmetode er det 23 kvinner (1,6 %) av totalt antall testede, 1436, som har fått anbefalt oppfølging etter 12 måneder, 41 (2,9 %) etter 24 måneder og 15 kvinner (1,0 %) har fått anbefalt biopsi. Oppfølgingsprøve etter 24 måneder er ikke et alternativ ved primær cytologi. Summen av antall kvinner med anbefalt oppfølging og biopsi ved primær HPV er 79 stykker (5,5 %), mens summen av antall kvinner med positiv HPV-test er 81 stykker (se figur 13). Det er altså 2 kvinner med positiv primær HPV-test som ikke har fått anbefalt oppfølging.

Tabell 4. Oversikt over hvilken oppfølging kvinner får anbefalt, og hvilken primær screeningmetode prøven er kjørt på.

	Antall prøver	Oppfølgingsp røve etter 12 mnd (%)	Oppfølgingsp røve etter 24 mnd (%)	Biopsi (%)	Sum oppfølging (%)
Primær HPV	1436	23 (1,6)	41 (2,9)	15 (1,0)	79 (5,5)
Primær cytologi	1604	18 (1,1)	-	20 (1,2)	38 (2,4)
Totalt	3040	41 (1,3)	41 (1,3)	35 (1,1)	117 (3,8)

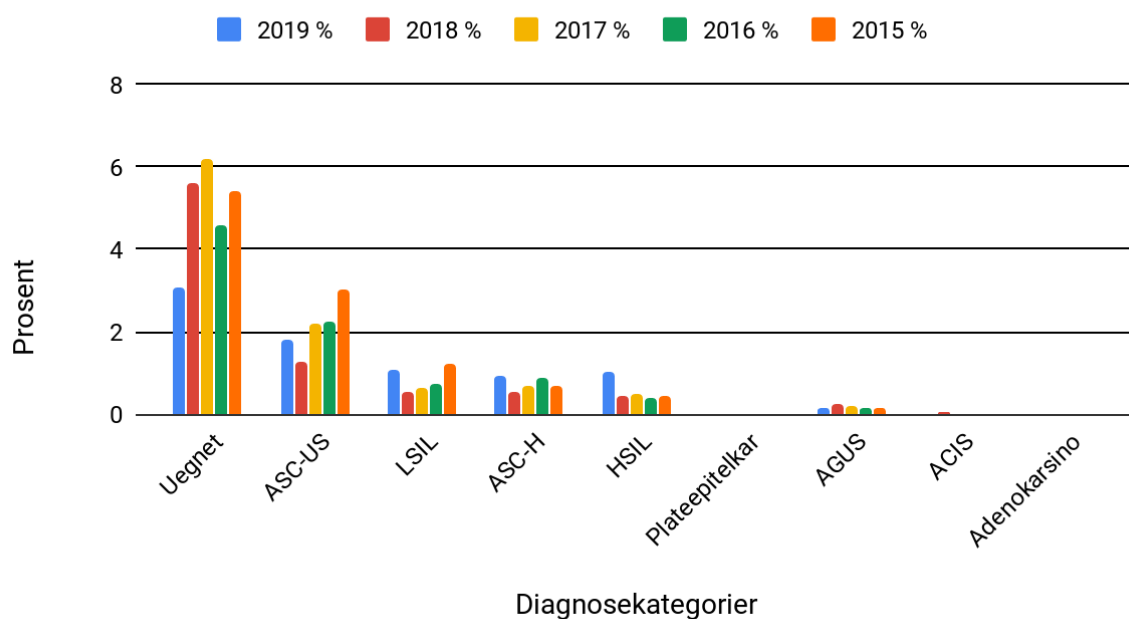
4.2 Total antall diagnoser - kvinner 34-69 år

Tallene i tabell 5 er en prosentvis fordeling av totalt antall diagnoser for 2015-2019. Tallene fra 2019 er fra tidsperioden 01.01.2019-12.05.2019, mens tallene fra tidligere år er fordelt prosentvis fra hele året. Total diagnoser er alle celleprøver som er kommet inn til patologiavdelingen ved NLSH, ikke bare primærscreening, men også alle prøver som er sendt inn på grunn av oppfølging, tegn på symptomer eller av ukjent årsak. Prøver fra primær HPV som har fått negativt resultat, er inkludert i total antall diagnoser. Det totale antallet diagnoser som er brukt for å regne prosent i 2019 er 2386.

Tabell 5. Fordeling av diagnosekategorier for kvinner 34-69 år fordelt på årene 2015-2019. Resultatene er presentert i prosent av total for hvert år.

	2019 %	2018 %	2017 %	2016 %	2015 %
Normal	83,57	83,48	81,70	82,96	81,33
Normal uten sylinder	8,38	7,78	7,91	7,99	7,64
Uegnet	3,06	5,60	6,19	4,58	5,43
ASC-US	1,8	1,26	2,22	2,26	3,03
LSIL	1,09	0,53	0,63	0,74	1,21
ASC-H	0,92	0,56	0,67	0,90	0,68
HSIL	1,01	0,46	0,48	0,40	0,47
Plateepitelkarsinom	0	0,02	0,00	0,00	0,01
AGUS	0,17	0,27	0,18	0,16	0,15
ACIS	0	0,04	0,02	0,01	0,01
Adenokarsinom	0	0,00	0,01	0,01	0,01

Antall diagnoser fra 2019, 2018, 2017, 2016 og 2015 i prosent ved NLSH



Figur 18. Diagram som viser fordelingen av diagnosekategoriene for celleforandringer fordelt på årene 2015-2019.

For de forskjellige diagnosekategoriene for kvinner mellom 34-69 år er det regnet ut standardavvik og forventet verdi, slik at det vil være mulig å se om noen av årene havner utenfor konfidensintervallet for hver diagnosekategori.

Antall kvinner i hver kategori fra hvert år er regnet ut i prosent, da det var veldig store forskjeller i tall ettersom vi bare har tall for 2019 frem til 12.05.19. Standardavviket er regnet ut med formelen for standardavvik, og forventet verdi er regnet ut som gjennomsnittet for hver kategori. Konfidensintervallet er forventet verdi pluss/minus standardavviket.

Etter denne utregningen ser vi at det er ulik fordeling mellom diagnosekategoriene, i 3 av kategoriene ligger 60 % av årene innenfor konfidensintervallet, i 2 av kategoriene ligger 80 % av årene innenfor og i de resterende 3 kategoriene ligger 100 % av årene innenfor.

Tabell 6. Standardavvik, konfidensintervall og prosentvis av årene som ligger innenfor konfidensintervallet.

	ASC-US %	LSIL %	ASC-H %	HSIL %	SCC %	AGUS %	ACIS %	ACC %
2019	1,80	1,09	0,92	1,01	0,00	0,17	0,00	0,00
2018	1,26	0,53	0,56	0,46	0,02	0,27	0,04	0,00
2017	2,22	0,63	0,67	0,48	0,00	0,18	0,02	0,01
2016	2,26	0,74	0,90	0,40	0,00	0,16	0,01	0,01
2015	3,03	1,21	0,68	0,47	0,01	0,15	0,01	0,01
Standarda vvik	0,65	0,30	0,16	0,25	0,01	0,05	0,02	0,01
Forventet	2,15	0,84	0,75	0,56	0,01	0,19	0,02	0,01

verdi								
Konfidensintervall	1,50- 2,80	0,54- 1,14	0,59-0,91	0,31-0,81	0,00- 0,02	0,14-0,24	0,00- 0,04	0,00- 0,02
Prosentvis innenfor konfidensintervallet	60 %	60 %	60 %	80 %	100 %	80 %	100 %	100 %

5 Diskusjon

HPV-test som primær screeningmetode ble startet 1. januar 2019 ved Nordlandssykehuset. Det blir brukt en såkalt 50/50 randomisering der kvinner mellom 34-69 år født på partallsdag får HPV-test som primær screeningmetode hvert femte år, mens kvinner født på oddetalls dag får cytologisk mikroskopi som primær screeningmetode hvert tredje år. Kvinner i aldersgruppen 25-33 år får fortsatt cytologisk mikroskopi som primær screeningmetode. I denne oppgaven har vi valgt å se på aldersgruppen 34-69 år for seg selv ved vurdering av metodene. Dette er fordi andel kvinner med celleforandringer varierer i ulike aldersgrupper. For å sammenligne diagnosekategorier før og etter innføring av primær HPV har vi valgt å slå sammen antall diagnoser fra primær HPV, primær cytologi og alle kontrollprøver innen hver diagnosekategori, og deretter sammenligne dette med tidligere år. Optimalt sett ville vi sammenlignet totale diagnoser i primær cytologi fra aldersgruppen 34-69 år fra tidligere år ved NLSH med totale diagnoser i primær cytologi og primær HPV i 2019, men det var ikke mulig å skille primær cytologi fra andre cytologisk mikroskopiske analyser tatt av spesielle årsaker, som symptomer eller kontrollanalyser, fra de tidligere årene.

Resultatene fra NLSH etter innføringen av primær HPV-test for tidsperioden 01.01.19-12.05.19 viser at de fleste prøvene som blir kjørt med HPV-test som primærscreening er negativ. Men det er flere kvinner i aldersgruppen 34-69 år som har fått positiv HPV-test ved primær HPV, 5,6 % (81/1436), enn kvinner med unormal celleprøve ved primær cytologi, 2,7 % (43/1604). Screeningprogrammet er en systematisk undersøkelse av friske mennesker og brukes for å oppdage forstadier tidlig, noe som fører til at overvekten av negative prøver er forventet. For at en prøve skal bli positiv og genotypet ved denne metoden, må det være et visst antall viruskopier av HPV-viruset i celleprøven. Hvis celleprøven ikke havner over disse deteksjonsnivåene som maskinen har, vil prøven bli kategorisert som negativ, selv om denne metoden er mer sensitiv enn cytologi som primærscreening. Cobas 4800 har interne kontroller som forhindrer at det skal bli gitt ut falske svar, både positive og negative. En prøve kan ikke bli kategorisert som uegnet, men kan bli merket som ugyldig, men dette skjer svært sjeldent da de fleste celleprøvene har nok DNA i seg til å bli kjørt gjennom maskinen og få riktig resultat. Det som skal til for at en prøve blir ugyldig ved HPV-test er hvis β -globin-resultatet er negativt. Da vil prøven bli merket som ugyldig og vil ikke få et resultat fra testen. Denne

internkontrollen minimerer sjansen for å gi ut falske negative svar.

Det var totalt 5,6 % (81/1436) positive prøver ved primær HPV-test for kvinner 34-69 år og som dermed gikk videre til cytologisk mikroskopisk undersøkelse, hvor 1,8 % (26/1436) fikk diagnosen unormal. 0,9 % (13/1436) prøver ble diagnostisert med lavgradig celleforandringer og 0,9 % (13/1436) ble diagnostisert med høygradig celleforandringer ved refleks cytologi. HPV-viruset smittes lett ved seksuell kontakt og celleforandringer kommer som regel av en HPV-infeksjon, men kan også forekomme av andre årsaker. HPV-testen detekterer høyrisiko HPV-typer som kan føre til celleforandringer, men det betyr ikke at kvinnene som tester positivt har eller kommer til å få celleforandringer, kun at det er HPV-virus tilstede i celleprøven. De fleste HPV-infeksjonene og lavgradige celleforandringer vil gå over av seg selv, så lenge kroppen sitt immunsystem klarer å bekjempe virusinfeksjonen. En negativ HPV-test etter 12 måneder kan utelukke en persisterende HPV-infeksjon, men en positiv HPV-test etter 12 måneder vil ikke utelukke en forbigående infeksjon. Dette er fordi pasienten kan ha blitt kvitt HPV-infeksjonen og blitt smittet på nytt i løpet av de 12 månedene, i tillegg til at en forbigående infeksjon kan vedvare i flere år for å deretter forsvinne av seg selv. Over tid vil en HPV-infeksjon vanligvis forsvinne eller utvikle høygradige celleforandringer. Dette er blant annet en av grunnene til at HPV-test foreløpig ikke er planlagt å bruke som primærscreening på kvinner mellom 25-33 år, da kvinner i dette aldersintervallet generelt er mer seksuelt aktiv, bytter partner oftere og kan ofte få forbigående HPV-infeksjoner. Erfaringer fra de fire forsøk fylkene i Norge viser at 6,5 % av kvinner mellom 34-69 år hadde positiv HPV-test. Internasjonale studier viser at 30 % av kvinner mellom 25-33 år vil ha positiv HPV-test. Primær HPV vil derfor være uegnet som screeningmetode hos unge kvinner fordi det er ressurskrevende og u hensiktsmessig å følge opp 30 % av screeningpopulasjonen.

Som ved primær HPV-test er det forventet at mesteparten av testresultatene ved primær cytologi også blir negative. 95,0 % (1523/1604) av prøvene ble diagnostisert som normal. 2,7 % prøver (43/1604) fikk positivt testresultat (ASC-US+). 1,5 % av kvinnene (24/1604) ble diagnostisert med lavgradige celleforandringer, mens 1,2 % av kvinnene (19/1604) ble diagnostisert med høygradige celleforandringer. Ved primær cytologi ser vi at 2,4 % av prøvene (38/1604) er blitt diagnostisert som uegnet. Om prøvetakingen ikke blir gjennomført

på riktig måte vil dette kunne føre til at prøven blir uegnet. Som nevnt i teorien er det flere faktorer som kan føre til at prøven ikke blir tatt korrekt.

Totalt ble refleks HPV-test utført på 17,4 % (279/1604) av prøvene ved primær cytologi. 15,2 % (243/1604) av disse ble diagnostisert som negativ mens 2,2 % (36/1604) ble diagnostisert som positiv hvorav 0,4 % (6/1604) ble genotypet HPV 16, 0,3 % (4/1604) ble genotypet HPV 18 og 1,6 % (26/1604) ble genotypet HPV others. Ved gjennomførelse av en refleks HPV-test kan man undersøke om pasienten har en pågående HPV-infeksjon, og hvilken genotype pasienten er infisert av. HPV 16 og 18 er de to HPV-typene som oftest utvikler seg til livmorhalskreft.

I tabell 2 ser man det totale antallet kvinner mellom 34-69 år i de ulike diagnosekategoriene tatt med primær cytologi og primær HPV i tidsperioden 01.01.19-12.05.19. Ut i fra diagrammet får man en oversikt over forskjellen mellom primær HPV og primær cytologi ved å se på antall kvinner i de ulike diagnosekategoriene i forhold til total antall kvinner testet i den korresponderende screeningmetoden. I diagrammet fremstilles også antall kvinner i diagnosekategoriene prosentvis fra totalt antall testede kvinner innenfor hver av screeningmetodene, altså 1436 prøver ved primær HPV og 1604 prøver ved primær cytologi.

Av de totalt 1604 prøvene som ble diagnostisert ved primær cytologi, ble 38 av prøvene kategorisert som uegnet, mens av de totalt 1436 prøvene som ble diagnostisert ved primær HPV, ble ingen av prøvene kategorisert som uegnet. Ut i fra våre resultater kan det se ut til at så langt i 2019 har cytologisk mikroskopi som primær screeningmetode detektert flere unormale celleprøver enn HPV-test som primær screeningmetode. Ved primær cytologi er det funnet 43 av 1604 unormale prøver (2,7 %), mens for primær HPV er det funnet 26 av 1436 unormale prøver (1,8 %). Prosentandelen for uegnede prøver som er tatt ved primær cytologisk screeningmetode er 2,4 % av 1604 prøver, som er relativt høy i forhold til primær HPV, som ikke hadde noen uegnede/ugyldige prøver. Som nevnt tidligere er grunnen til dette at cobas 4800 har en internkontroll som vil detektere og merke prøven som ugyldig, og det skal være veldig lite viruskopier tilstede i prøven for å få dette utfallet. Hvis en prøve blir ugyldig ved HPV-test, er det mulig å analysere prøven en gang til ved HPV-test, så langt har ingen prøver blitt ugyldig to ganger. Hvis prøven skulle bli ugyldig to ganger ved HPV-test,

er det mulig å vaske prøven, slik at den blir egnet for vurdering i mikroskopi. Noen ganger kan gel i prøven hemme PCR-reaksjonen slik at internkontrollen ikke kommer opp. Bruk av gel kan også redusere prøve kvaliteten ved undersøkelse i mikroskopi. Dersom rekvirent unngår å bruke gel på spekelet ved prøvetakning, vil flere prøver bli egnet / gyldig, og færre kvinner må innkalles for å ta ny prøve.

Vi ønsket å se om variasjonen av insidensen hos primær HPV og primær cytologi var tilfeldig eller om variasjonen skyldes flere positive prøvesvar ved bruk av den ene screeningmetoden. Ved å utføre en kjikvadrattest, hvor vi beregnet en forventet verdi som ville blitt observert om det ikke var noen variasjon i andel kvinner med positive prøvesvar mellom de to screeningmetodene, kunne vi undersøke om forskjellen på forventet og observert insidens var stor nok til å si at variasjonen er på grunn av flere positive svar ved bruk av den ene screeningmetoden. I kjikvadrattesten valgte vi å inkludere antall kvinner med normal cytologisk prøve med positivt resultat på HPV-test, både hos primær HPV og primær cytologi. Kjikvadrattesten viste at forskjellen på insidensen hos primær HPV og primær cytologi skyldes at HPV-test som primær screeningmetode gir flere positive prøvesvar. Kjikvadrattesten forteller oss om en observert skjevfordeling er innenfor tilfeldig variasjon eller ikke, den vil ikke fortelle oss noe om sensitiviteten mellom metodene, da det er histologisk bekreftet høygradige celleforandringer som brukes til å måle sensitivitet. På grunn av lite mottatte biopsier ved NLSH så langt i 2019, var det uaktuelt i denne oppgaven å teste sensitiviteten etter histologi.

Den største forskjellen mellom observert og forventet insidens var hos kvinner med normal cytologi og positiv HPV-test. Ved primær HPV ser vi at den observerte insidensen er høyere enn den forventede, og kji-verdien for akkurat denne kategorien er 20,92. Dette forteller oss at det er flere kvinner med normal cytologi og positiv HPV-test som ble oppdaget, enn om kvinnene hadde fått cytologisk mikroskopi som primær screening. Ved primær cytologi ser vi at den observerte insidensen er lavere enn den forventede, og kji-verdien her er på 17,45. Det vil altså være en del kvinner med normal cytologi, som også har en HPV-infeksjon, som ikke er detektert. HPV-infeksjonen ville blitt detektert om disse kvinnene hadde fått HPV-test som primær screeningmetode, og kvinnene ville dermed fått tilbud om et tettere oppfølgingsprogram. Om dette er av stor betydning er mer usikkert. Kvinner med normal

celleprøve og andre HPV-typer ved primær HPV skal vente i 24 måneder før ny oppfølgingsprøve. Kvinner med normal cytologi ved primær cytologi må vente i 36 måneder før ny celleprøve. Det er ikke sikkert at 24 måneder versus 36 måneder har veldig mye å si for kvinner med celleforandringer forårsaket av mindre onkogene HPV-typer når det gjennomsnittlig tar flere år fra HPV-smitte til påvisning av høygradige celleforandringer eller kreft. På en annen side vil kvinner med to positive HPV-tester med 24 måneders mellomrom undersøkes med kolposkopi og biopsi, mens kvinner med to normale celleprøver med 36 måneders mellomrom skal tilbake til screening om ytterligere 36 måneder.

Det er altså kategorien med normal cytologi og positiv HPV-test, som indikerer at primær HPV på sikt kan avdekke flere kvinner med høygradig celleforandringer enn primær cytologi fordi flere kvinner blir fulgt opp. Ved å oppdage flere kvinner som har en HPV-infeksjon, men ingen celleforandringer, vil disse kvinnene få en tett oppfølging for å kunne detektere eventuelle celleforandringer som kan oppstå på grunn av en vedvarende HPV-infeksjon. Ved cytologisk mikroskopi som primærscreening vil det være en del kvinner med normal cytologi, som har en udetektert HPV-infeksjon. Disse kvinnene vil fortsette med screening intervallet på 3 år uten å få påvist HPV-infeksjonen, før den eventuelt kan ha utviklet celleforandringer.

Internasjonale studier viser at HPV-test som primærscreening har 23-43 % høyere sensitivitet for høygradige celleforandringer enn cytologisk mikroskopi, som har en sensitivitet på 42-73 %. Selv om HPV-test har høyere sensitivitet, vil cytologi som primær screeningmetode finne flere tilfeller av høygradige celleforandringer i snitt per år, når metodene har forskjellig screeningintervall. Hvis screeningintervallet øker mer enn forskjellen i sensitivitet mellom metodene, vil den mest sensitive metoden likevel finne færre celleforandringer per år. Cytologisk mikroskopi har en høyere spesifisitet i forhold til en HPV-test. Derfor blir cytologisk mikroskopi (refleks cytologi) utført på kvinner i primær HPV med positiv HPV-test for å påvise eventuelle celleforandringer som kan være en konsekvens av HPV-infeksjonen.

Vi vet at HPV-testen er mer sensitiv og i teorien kan oppdage flere celleforandringer, men på grunn av at metoden er mindre spesifikk, er det vanskelig å utelukke forbigående HPV-infeksjoner på første prøve. Det kan kun bekreftes at en HPV-infeksjon er forbigående ved en oppfølgingsprøve hvor pasienten testes HPV negativ. Hensikten med primær HPV-test er

egentlig ikke å påvise HPV-virus, men å finne kvinner med høygradig celleforandringer som kan behandles før utvikling av kreft. En HPV-test vil være falsk positiv hos kvinner med forbigående HPV-infeksjoner som aldri utvikler seg til høygradig celleforandringer. En HPV-test kan være positiv i flere år før kvinnen har utviklet høygradig celleforandringer, og kvinnen må dermed følges opp med årlig HPV-test inntil HPV-infeksjonen har gått over eller det blir påvist høygradige celleforandringer. Siden HPV-test har lavere spesifisitet for høygradige celleforandringer enn cytologi, vil en større andel av kvinner med positiv HPV-test ha normal eller lavgradig biopsi enn kvinner med unormal celleprøve. Det som er bra med en HPV-test er at kvinner med negativ test har lavere risiko for å utvikle høygradig celleforandringer enn en kvinne med normal celleprøve, på grunn av at HPV-test har høyere sensitivitet. Dette gjør at screeningintervallet kan utvides fra 3 år til 5 år uten at antall tilfeller av livmorhalskreft øker. Det som er ulempen med HPV-test er at kvinner med positiv test har lavere risiko for høygradig celleforandringer enn kvinner med unormal celleprøve, på grunn av lavere spesifisitet ved HPV-test. Dette gjør at ikke alle kvinner med positiv HPV-test kan utredes hos gynekolog med kolposkopi og biopsi, men må ha refleks cytologi for å se hvilke kvinner med positiv HPV-test som må utredes nå og hvem som kan vente. En utfordring er at kvinner med normal celleprøve og positiv HPV-test også har lett forhøyet risiko for høygradig celleforandringer, slik at disse må følges opp med HPV-test inntil HPV-testen er negativ eller det blir påvist høygradige celleforandringer.

HPV-test som primær screeningmetode er dermed en svært sensitiv test ved primærundersøkelsen for å kunne detektere HPV-infeksjoner som kan indikere celleforandringer, eller risikoen for at celleforandringer kan oppstå senere. Ved den spesifikke, sekundære cytologiske undersøkelsen vil det da detekteres om det er celleforandringer i prøvematerialet. Om det ikke påvises celleforandringer, vil kvinnen få en tett oppfølgingsplan for å kunne detektere eventuelle celleforandringer som kan oppstå på grunn av HPV-infeksjonen. Å bruke refleks cytologi etter positiv HPV-test vil kunne redusere antall falsk positive prøver og unødvendig utredning med kolposkopi og biopsi hos kvinner i primær HPV. Samtidig må alle kvinner med positiv HPV-test følges opp, også ved normal celleprøve. Dette gjør at mange kvinner må møte til årlig HPV-test inntil HPV-testen er negativ. Dette gjelder også ved oppfølging etter negativ biopsi og etter behandling med konisering. Ved like screeningintervaller kan screening med primær HPV, med tett

oppfølging av alle HPV positive, føre til at det detekteres og behandles flere kvinner med celleforandringer enn screening med primær cytologi. Hvis intervallet mellom hver screening økes mer (67 %) enn forskjellen i sensitivitet (23-43 %) blir det funnet færre høygradige celleforandringer per år med primær HPV enn primær cytologi. Dette kan paradoksalt nok føre til at screening med den mest sensitive metoden (HPV) med fem års intervaller gjør at færre kvinner får behandling for celleforandringer enn med dagens screening (cytologi) med tre års intervaller. Det er positivt dersom primær HPV med fem års intervaller reduserer overbehandling, men negativt dersom færre behandlinger av forstadier fører til at flere kvinner utvikler livmorhalskreft.

I tabell 4 ser vi hvor mange kvinner i aldersgruppen 34-69 år som har fått anbefalt videre oppfølging etter primær HPV og primær cytologi. Totalt sett må 5,5 % (79/1436) følges opp etter primær HPV og 2,4 % (38/1604) følges opp etter primær cytologi. Det er 18 av 1604 kvinner (1,1 %) som har fått anbefalt en oppfølgingsprøve etter 12 mnd, og 20 av 1604 (1,2 %) kvinner som har fått anbefalt biopsi ved primær cytologi. 23 av 1436 kvinner (1,6 %) har fått anbefalt en oppfølgingsprøve etter 12 mnd, 41 av 1436 kvinner (2,9 %) etter 24 mnd og 15 av 1436 kvinner (1,0 %) har fått anbefalt biopsi etter primær HPV-test. Prosentvis av totale celleprøver som har gått gjennom de to primære screeningmetodene er det flere som har fått anbefalt videre oppfølging ved primær HPV enn ved primær cytologi, men vi ser også at det er flere som har fått anbefalt biopsi ved primær cytologi. Etersom primær HPV fører til en økning i antall oppfølgingsprøver, er det forventet at antall anbefalte biopsier etter primær HPV vil øke i løpet av de første årene, men på sikt kan antall biopsier per år bli lavere ved primær HPV hvert femte år sammenlignet med primær cytologi hvert tredje år.

Kvinner som er blitt henvist til gynekolog for kolposkopi og biopsi er kvinner som er blitt diagnostisert med høygradig cytologi. Det samme gjelder for kvinner med lavgradig cytologi ved primær cytologi og som har fått påvist at man er HPV-positiv med genotype 16 eller 18. Om kvinnen har lavgradig celleforandringer men en annen høyrisiko HPV-type vil det bli tatt en oppfølgingsprøve etter 12 måneder. Dette gjelder for 18 kvinner innenfor primær cytologi. Kvinner med ny positiv HPV-test ved oppfølging 12 mnd etter positiv HPV-test vil bli anbefalt biopsi.

Kvinner som får positivt testresultat ved gjennomførelse av primær HPV-test vil også bli testet med refleks cytologi. Det er 13 kvinner mellom 34-69 år som har fått anbefalt biopsi etter gjennomførelse av refleks cytologi. Disse 13 kvinnene har unormal/uegnet cytologi og positiv på HPV 16 eller 18 eller høygradig cytologi og positiv på andre høyrisiko HPV-typer. Det er 22 kvinner som har fått anbefalt oppfølgingsprøve etter 12 måneder. Disse kvinnene har normal cytologi og positiv HPV 16 eller 18, eller lavgradig cytologi og har positiv på andre høyrisiko HPV-typer. Om noen av disse kvinnene fortsatt er HPV positiv etter 12 måneder, uansett type, vil biopsi bli anbefalt. 42 kvinner har fått anbefalt oppfølgingsprøve etter 24 måneder, dette er kvinner som har normal cytologi og positiv på andre høyrisiko HPV-typer. Om noen av kvinnene fortsatt har positivt resultat på oppfølgingsprøven etter 24 måneder vil det bli anbefalt å ta en biopsi.

Som nevnt over vil kvinner som har høygradig cytologi, uegnet/unormal cytologi og positiv på HPV 16 eller 18, samt positiv på oppfølgingsprøve bli anbefalt å ta en biopsi. Biopsi blir tatt under en kolposkopi undersøkelse ved hjelp av pensling med eddik og jod. Penslingen ved kolposkopi er svært sentral for å kunne ta biopsi fra rett plass, da penslingen vil indikere hvor i cervix celleforandringene ligger. For å kunne bli diagnostisert riktig ved en histologisk undersøkelse, er det viktig at det blir tatt 3-4 biopsier, da kolposkopi har lav sensitivitet. Alle kvinner som får en cytologisk diagnose med atypiske celleforandringer blir anbefalt å gjennomføre en biopsi for å stille endelig diagnose.

Hovedforskjellen mellom de to primær screeningmetodene er at HPV-test vil oppdage en gruppe med kvinner som sjeldent oppdages ved primær cytologi. Dette er kvinner som har normal cytologi og positivt resultat på HPV-test. Ut fra nasjonale retningslinjer (flytdiagrammet) ville kvinnene i primær HPV med HPV 16/18 og normal cytologi, ikke fått anbefalt ny prøve etter 12 måneder om de hadde hatt mikroskopisk cytologi som primær screeningmetode. De ville da fått en ny cytologisk vurdering først etter tre år. Det samme gjelder kvinner med andre høyrisiko HPV-typer og normal cytologi, de ville da fått en ny cytologisk vurdering først etter 3 år, i stedet for en ny HPV-test etter 24 måneder. Det skal sies at for kvinner over 34 år ved første livmorhalsprøve i primær cytologi, er det anbefalt å ta en refleks HPV-test, på tross av normal cytologi.

HPV-test som primær screeningmetode har et mer omfattende oppfølgingsprogram enn primær cytologi. Om man har fått positivt testresultat på HPV-test som primær screeningmetode vil man enten få oppfølgingsprøve eller biopsi. Kvinner med positiv HPV-test vil da bli fulgt opp inntil HPV-test blir negativ, eller at man får eller har høygradige celleforandringer. Kvinner som er behandlet med konisering skal følges opp med både celleprøve og HPV-test etter et eget flytskjema. Konisering er den vanligste behandlingen av høygradige celleforandringer, og dette inngrepet reduserer risiko for livmorhalskreft med 90 %. Vaksinasjonsprogrammet mot HPV-viruset er et forebyggende tiltak for å få en nedgang i antall tilfeller av livmorhalskreft, men kan ikke fungere som en behandling.

Screeningprogrammet fører til at kvinner får detektert celleforandringer, men det er selve koniseringen som forebygger livmorhalskreft. Det hjelper ikke å oppdage kvinner med forstadier dersom de ikke får behandling før utvikling av kreft. Konisering er effektivt for å forebygge livmorhalskreft, men dette inngrepet kan øke risiko for senabort og prematur fødsel i senere svangerskap. Ved like screeningintervaller vil antall koniseringer øke med HPV-test som primær screeningmetode, fordi primær HPV med refleks cytologi av HPV positive vil oppdage flere celleforandringer enn primærcytologi. Men denne oppfølgingsprosessen kan også føre til unødvendig utredning, for eksempel dersom en kvinne har en forbigående HPV-infeksjon ved primær HPV-test og en ny forbigående HPV-infeksjon ved oppfølgingsprøven. Kvinnen vil da bli anbefalt en biopsi, selv om det nødvendigvis ikke er noen celleforandringer til stede. Det gjelder ikke bare for kvinner med to forbigående HPV-infeksjoner. Det er kun 11 % av kvinner med positiv HPV-test som vil få påvist høygradige celleforandringer ved 18 års oppfølging.

For å kunne si noe om forskjellen mellom diagnosekategoriene før og etter innføringen av HPV-test, har vi laget en oversikt over de ulike kategoriene fra de 5 siste årene ved NLSH. I denne oversikten er det hovedsakelig 2019 som er av interesse ettersom HPV-test som primær screeningmetode ble innført 1. januar 2019. Ved å sammenligne resultatene fra 2019 med tidligere år, vil vi kunne se om det har skjedd en endring i andel kvinner 34-69 år i de ulike diagnosekategoriene. Optimalt sett ville vi sammenlignet antall kvinner 34-69 år fra primær HPV og primær cytologi i 2019 med antall kvinner 34-69 år i primær cytologi (som var eneste primær screeningmetode før 2019) fra tidligere år. Men i dataprogrammet Sympathy var det ikke før i 2019 mulig å skille primærscreening fra andre prøver som er sendt inn på grunn av

oppfølging, symptomer eller andre årsaker, derfor valgte vi å inkludere disse tallene i oversikten over total diagnoser.

I tabell 5 kan man se den totale oversikten over diagnosekategorier fra årene 2015-2019. Når alle resultatene fra kategoriene blir vurdert i den store sammenhengen, er det ikke noen økninger eller nedganger som utmerker seg noe spesielt. Men på grunn av at totalen i antall kvinner innenfor de forskjellige kategoriene varierer ekstremt mye, kan en liten økning ha stor betydning og omvendt. For diagnosen normal, er antall kvinner i de forskjellige årene stabilt rundt 10 000, men i vår tabell har det skjedd en økning på 3,0 prosentpoeng fra 89,0 % i 2015 til 92,0 % 2019. Dette kan delvis forklares ut fra reduksjon i andel uegnet cytologi på 2,3 prosentpoeng fra 5,4 % i 2015 til 3,1 % i 2019.

Ved de mindre kategoriene, for eksempel HSIL, kan en økning ha større betydning fordi det totalt sett er færre kvinner som får denne diagnosen. Vi kan se at HSIL, som ligger ganske stabilt prosentvis ved 2015-2018, har fått en relativ økning på 119,6 % fra 2018 til 2019. I våre resultater fra 01.01.19-12.05.19 var det 1,01 % av 2386 prøver totalt som har fått diagnosen HSIL, mens i 2018 var det 0,46 % av 12403 prøver totalt med diagnosen HSIL. Dette viser at det har skjedd en økning i andel kvinner med cytologisk HSIL i 2019 sammenlignet med 2018, men dette kan ikke forklares ut fra innføringen av HPV-test som primær screeningmetode. Ut i fra våre resultater i 2019 har primær cytologi funnet flere HSIL (10 av 1604 prøver) enn primær HPV (6 av 1436 prøver) i aldersgruppen 34-69 år.

I kategorien uegnet har det skjedd en relativ nedgang på 83,0 % fra 2018 til 2019.

Prosentfordelingen på uegnede prøver har vært varierende de siste fem årene, men i 2019 har differansen fra de tidligere årene økt betydelig, noe som kan ha sammenheng med innføringen av HPV-test som primær screening for 50 % av kvinner i alderen 34-69 år. Dette er fordi ved primær HPV er det kun prøver som er positiv for HPV som går videre til refleks cytologi. Det vil da, i løpet av hele 2019, bli et lavere antall kvinner som blir undersøkt ved mikroskopisk cytologi, i forhold til de tidligere årene hvor alle celleprøvene gikk direkte til cytologisk undersøkelse ved mikroskopi. Denne nedgangen i antall uegnede prøver kan også være på grunn av at patologiavdelingen ved laboratoriet NLSH, i løpet av 2018 satt i gang flere tiltak for å redusere antall uegnede prøver. Ved våre resultater og sammenligninger ser vi at

tiltakene kan være grunnen til nedgangen i uegnede prøver, og at den nye screeningmetoden også kan være av betydning.

Standardavviket og forventet verdi ble brukt til å finne konfidensintervallet for de ulike diagnosekategoriene. Ut i fra tabellen ser vi at alle diagnosekategoriene for 2019, med unntak av HSIL, ligger innenfor det utregnede konfidensintervallet. Andel HSIL har økt fra 0,5 % i 2018 til 1,0 % i 2019. Når det gjelder fordeling av cytologiske diagnoser de siste fem årene, ligger 60 % av verdiene innenfor konfidensintervaller for diagnosekategoriene ASC-US, LSIL og ASC-H , 80 % av verdiene ligger innenfor ved HSIL og AGUS. SCC, ACIS og ACC ligger alle årene 100 % innenfor konfidensintervallene. Standardavviket for ASC-US er 0,65. Det er høyere spredning fra den forventede verdien for ASC-US enn for de andre diagnosekategoriene. Dette vil si at andelen kvinner som får diagnosen ASC-US varierer mer fra år til år enn for de andre diagnosekategoriene. Ved å beregne et 60 % konfidensintervall for ASC-US basert på perioden 2015-2019 kan vi se at andel ASC-US lå utenfor konfidensintervallet i 2015 (over) og i 2018 (under). Dette kan tyde på at diagnosen ASC-US er subjektiv, lite reproducerbar og varierer mye fra år til år, selv ved samme laboratorium.

6 Konklusjon

Etter gjennomgang og diskusjon av alle resultatene som er fremstilt i denne oppgaven, ser vi at det er en endring i diagnosekategoriene HSIL og uegnede etter innføring av HPV-test som primær screeningmetode.

Diagnosen HSIL har økt i forhold til tidligere år. Men ut i fra sammenligningen mellom primær cytologi og primær HPV ser vi at færre HSIL diagnoser har blitt detektert ved hjelp av HPV-test som primærscreening. Dette indikerer at økningen av HSIL diagnoser i 2019 foreløpig ikke er en konsekvens av innføringen av primær HPV. Men ettersom HPV-test som primærscreening bare har vært i bruk ved NLSH siden 01.01.19, har vi ikke tilstrekkelig med datamateriale for å kunne se en eventuell påvirkning i de forskjellige diagnosekategoriene. I 2019 ser vi også en endring i uegnede prøver sammenlignet med tidligere år. Det kan se ut til at nedgangen av uegnede prøver har en sammenheng med innføringen av HPV-test som primær screeningmetode, fordi en sensitiv PCR analyse krever mindre prøvemateriale enn en manuell vurdering av celler i mikroskop. Nedgangen i andel uegnede celleprøver er imidlertid større enn det som kan forklares av innføring av primær HPV-test alene. Nedgangen kan også være på grunn av tiltak som fokuserer på uegnede prøver, som ble satt i gang ved NLSH i 2018.

I teorien skal primær HPV være mer sensitiv og finne flere kvinner med celleforandringer enn primær cytologi. Resultatene så langt viser at primær HPV finner færre kvinner med unormal celleprøve 1,8 % (26/1436) enn ved primær cytologi 2,7 % (43/1604) for kvinner mellom 34-69 år. Ut i fra resultatet fra kjikvadrattesten er det en signifikant forskjell mellom metodene. Denne forskjellen utgjøres av en gruppe kvinner som sjeldent blir oppdaget ved primær cytologi. Disse kvinnene har normal cytologi, men positiv HPV-test. Denne gruppen er årsaken til at flere kvinner får anbefalt oppfølging ved primær HPV enn primær cytologi. Fra våre resultater ser vi at det er færre anbefalte biopsier blant kvinner som har fått primær HPV enn primær cytologi, men totalt antall oppfølginger er høyere for primær HPV. Færre biopsier etter primær HPV er et uventet funn sammenlignet med erfaringer fra de fire forsøksfylkene, men oppfølgingen av HPV-positive er blitt endret på grunn av alt for mange negative biopsier etter primær HPV.

Selv om vi har funnet en signifikant forskjell mellom metodene, og primær HPV gir flere screening positive kvinner enn primær cytologi, kan vi ved å se på antall diagnostiserte kvinner mellom 34-69 år i de to primære screeningmetodene, ikke si noe om primær HPV fører til flere funn av høygradige celleforandringer enn primær cytologi. I følge våre resultater kommer det frem at i perioden 01.01.19-12.05.19 har primær cytologi detektert flere tilfeller av cytologiske celleforandringer, enn primær HPV. Det er imidlertid mulig at flere kvinner med celleforandringer vil bli funnet når kvinner med normal celleprøve og positiv HPV-test skal følges opp etter 12 eller 24 måneder.

Erfaringene fra NLSH så langt er tilsvarende erfaringene fra andre laboratorier i Norge som har innført primær HPV. Det er usikkert om primær HPV hvert femte år vil forebygge flere tilfeller av livmorhalskreft enn primær cytologi hvert tredje år for kvinner 34-69 år. På grunn av tilgang til lite biopsier, kan vi ikke si noe om primær HPV finner flere høygradige celleforandringer enn primær cytologi. Siden primær HPV så langt har ført til færre anbefalinger om biopsi, må vi vente i minst 12 eller 24 måneder for å se hvilken metode som finner flest høygradige celleforandringer i første screeningrunde. Vi må dessuten vente i minst 5 år før vi kan se om det er forskjeller i funn per år med de to metodene. Om metodene fungerer optimalt sammen vil nok ikke kunne bli bestemt før hele Norge har tatt i bruk samme metode og brukt den i noen år, da det er prosedyrer og rutiner på laboratoriene som må endres og eventuelt forbedres.

Vi ville anbefalt videre arbeid med å gjøre denne typen undersøkelse og sammenligning når hele 2019 har passert, da det sannsynligvis vil være mer data og forhåpentligvis et mer sammenlignbart antall celleprøver som har gått igjennom laboratoriet og screeningprogrammet ved NLSH.

7 Referanser

1. Kolposkopiundersøkelse [Internett]. Bodø: Oncolex; 2019 [hentet 19-04-25].
Tilgjengelig fra: <http://oncolex.no/PROSEDYRER-ONCOLEX/DIAGNOSTIKK/Gyn-kolposkopi?procedureSearchText=livmorhals>
2. Hva er livmorhalskreft [Internett]. Bodø: Norsk Helseinformatikk; 18.01.2019 [hentet 19-04-25]. Tilgjengelig fra: <https://nhi.no/sykdommer/kreft/gynekologisk-kreft/livmorhalskreft/>
3. Livmorhalskreft [Internett]. Bodø: Oncolex; 23.03.2017 [hentet 19-04-25].
Tilgjengelig fra: <http://oncolex.no/GYN/Diagnoser/Livmorhals>
4. Roald, Borghild. Metaplasi. SML [elektronisk artikkel]. 2018 Feb [19-04-25]: 1(1):1. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/metaplasi>
5. Livmorhalskreft [Internett]. Bodø: Aleris [hentet 19-04-09]. Tilgjengelig fra: <https://www.aleris.no/medisinsk-senter/gynekolog/livmorhalskreft/>
6. Cervical cancer [Internett]. Bodø: World Health Organization; 2019 [hentet 19-05-02].
Tilgjengelig fra: <https://www.who.int/cancer/prevention/diagnosis-screening/cervical-cancer/en/>
7. Forekomst av livmorhalskreft [Internett]. Bodø: Norsk helseinformatikk; 18.01.2019 [hentet 19-04-09]. Tilgjengelig fra: <https://nhi.no/sykdommer/kreft/gynekologisk-kreft/livmorhalskreft/?page=2>
8. Livmorhalskreft [Internett]. Bodø: kreftregisteret; 29.10.18 [hentet 19-05-02].
Tilgjengelig fra: <https://www.kreftregisteret.no/Generelt/Fakta-om-kreft/Livmorhalskreft/>
9. Screening og masseundersøkelser [Internett]. Bodø: kreftforeningen; [hentet 19-04-25].
Tilgjengelig fra: <https://kreftforeningen.no/om-kreft/screening-->

[masseundersokelse/?gclid=CjwKCAjwYXmBRAOEiwAYsYl3OWgofNh9Z-aq6owbsZ58o6u6JiMAe8BarYIn9TEdDpge9cjVvQ6qhoCGe8QAvD_BwE](https://www.kreftregisteret.no/masseundersokelse/?gclid=CjwKCAjwYXmBRAOEiwAYsYl3OWgofNh9Z-aq6owbsZ58o6u6JiMAe8BarYIn9TEdDpge9cjVvQ6qhoCGe8QAvD_BwE)

10. Mammografiprogrammet [Internett]. Bodø: kreftregisteret; 19.03.19 [hentet 19-04-25]. Tilgjengelig fra: <https://www.kreftregisteret.no/screening/Mammografiprogrammet/>
11. Cytologisk prøve fra livmorhals [Internett]. Bodø: Oncolex; 23.03.17 [hentet 19-04-25]. Tilgjengelig fra: <http://oncolex.no/GYN/Diagnoser/Livmorhals/Prosedyrekatalog/DIAGNOSTIKK/Cytologisk-prove-fra-cervix?lg=procedure>
12. Kvalitetsmanual for Livmorhalsprogrammet [Internett]. Bodø: kreftregisteret; Revidert aug 2017, publisert 22.09.17 [hentet 19-05-02]. Tilgjengelig fra: <https://www.kreftregisteret.no/screening/livmorhalsprogrammet/Helsepersonell/Faglig-Radgivningsgruppe/kvalitetsmanual2/1.-livmorhalsprogrammet/>
13. Berland J, Bjørge T, Chen Y, Eide ML, Gjelseth A, Hagen B “et al”. Kvalitetsmanual, masseundersøkelsen mot livmorhalskreft [Internett]. Kreftregisteret; 2014 mai [hentet 19-04-30] Tilgjengelig fra: <https://www.kreftregisteret.no/globalassets/kvalitetsmanual-lesevennlig-versjon-mai-2014.pdf>
14. HPV, celleforandringer og kreft [Internett]. Bodø: Bioingeniøren; 20.10.17 [hentet 19-04-09]. Tilgjengelig fra: <https://www.bioingenioren.no/fag/fag-i-praksis/eldre-artikler/fagartikkel-hpv-celleforandringer-og-kreft/>
15. Hva er HPV [Internett]. Bodø: Kreftregisteret; [Hentet 19-04-09]. Tilgjengelig fra: <https://www.kreftregisteret.no/screening/livmorhalsprogrammet/ofte-stilte-sporsmal1/HPV1/>
16. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Human Papillomaviruses. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer; 2007.

(IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 90.) 1, Human Papillomavirus (HPV) Infection. [Hentet 19-04-30]. Tilgjengelig fra: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK321770/>

17. Humant papillomavirus (HPV), genitale infeksjoner - veileder for helsepersonell [Internett]. Bodø: Folkehelseinstituttet; 14.02.19 [Hentet 19-04-11]. Tilgjengelig fra: <https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/humant-papillomavirus-hpv-genitale-/>
18. Tønjum T. HPV. SML [elektronisk artikkel]. 2018 Jun [Hentet 19-05-01]: 1(1):1. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/HPV>
19. Celleforandringer i livmorhalsen [Internett]. Bodø: St. Olavs hospital universitetssykehuset i Trondheim; 06.12.2017 [Hentet 19-04-10]. Tilgjengelig fra: <https://stolav.no/behandlinger/celleforandringer-i-livmorhalsen>
20. Aksoy, P., Gottschalk, E. Y., & Meneses, P. I. (2016). HPV entry into cells. Mutation research. Reviews in mutation research. [Hentet 19-05-01]. Tilgjengelig fra: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5443120/>
21. Cellesyklus [Internett]. Bodø: Universitet i Oslo, institutt for biovitenskap; 27.09.18 [Hentet 19-05-01]. Tilgjengelig fra: <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/c/cellesy.html>
22. Ånensen N. Bakgrunn: Cellens øverste vokter [Internett]. Bodø: Forskning.no; 25.06.15 [Hentet 19-05-01]. Tilgjengelig fra: <https://forskning.no/kreftforeningen-bakgrunn-partner/bakgrunn-cellsens-overste-vokter/839789>
23. Fossum S. p53. SML [elektronisk artikkel]. 2009 Feb [Hentet 19-05-01]:1(1):1. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/p53>

24. Yim EK, Park JS. The role of HPV E6 and E7 oncoproteins in HPV-associated cervical carcinogenesis. *Cancer Res Treat.* 2005 desember; 37(6):319–324. [Hentet 19-05-03] Tilgjengelig fra: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2785934/>
25. Cytologi [Internett]. Bodø: Krefregisteret; 16.11.2017 [Hentet 19-04-11]. Tilgjengelig fra: <https://www.krefregisteret.no/screening/livmorhalsprogrammet/Helsepersonell/Faglig-Radgivningsgruppe/kvalitetsmanual2/8.-klassifikasjon-cytologi-histologi-og-hpv-tester/cytologi/>
26. Histologisk undersøkelse [Internett]. Bodø: Den norske legeförening; 26.04.16 [Hentet 19-04-25]. Tilgjengelig fra: <https://legeforeningen.no/Fagmed/Norsk-gynekologisk-forening/Veiledere/Veileder-gynekologisk-onkologi/Livmorhalskreft-Cervixcancer/14-Diagnostikk-og-utredning/142-Utredning/1423-Histologisk-undersokelse/>
27. Hva er epidemiologiske studier? [Internett]. Bodø: Norsk helseinformatikk; 28.04.11 [Hentet 19-04-25]. Tilgjengelig fra: <https://nhi.no/rettigheter-og-helsetjeneste/om-forskning/hva-er-epidemiologiske-studier/>
28. Sørbye SW, Halvorsen P, Kristiansen IS. Screening for livmorhalskreft - fastlegens viktigste screeningoppgave. *Utposten.* [Elektronisk artikkel] 2013 [Hentet 19-04-09];48(2):[34-37 s.]. Tilgjengelig fra <https://www.utposten.no/asset/2013/2013-nr-2.pdf>
29. Væskebasert celleprøvetaking fordeler og utfordringer [Internett]. Bodø: Krefregisteret; 25.03.14 [Hentet 19-04-29]. Tilgjengelig fra: <https://www.krefregisteret.no/contentassets/b59a5d4ab11349b492a1ba762325423d/1vaskebasert-cytologi---fordeler-og-utfordringer-mleide.pdf>

30. Wright TC, Stoler MH, Behrens CM, Sharma A , Sharma K, Apple R. (2014), Interlaboratory variation in the performance of liquid-based cytology: Insights from the ATHENA trial. *Int. J. Cancer*, 134: 1835-1843 Tilgjengelig fra <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.28514>
31. HPV - testing som sekundærskanning i Norge [Internett]. Bodø: Kreftregisteret; 24.04.2008 [Hentet 19-04-09]. Tilgjengelig fra: <https://www.kreftregisteret.no/Generelt/Nyheter/HPV-testing-som-sekundarskanning-i-Norge/>
32. Sannheten om HPV [Internett]. Bodø: Lommelegen; 22.01.19 [hentet 19-04-10]. Tilgjengelig fra: <https://www.lommelegen.no/infeksjoner/artikkel/sannheten-om-hpv/68927001>
33. Castle PE, Glass AG, Rush BB, Scott DR, Wentzensen N, Gage JC, et al. Clinical Human Papillomavirus Detection Forecasts Cervical Cancer Risk in Women Over 18 Years of Follow-Up. *Journal of Clinical Oncology* [elektronisk artikkel] 2012 september [hentet 19-04-10] Tilgjengelig fra: <https://ascopubs.org/doi/full/10.1200/JCO.2011.38.8389>
34. HPV i primærskanning [Internett]. Bodø: Kreftregisteret; 21.05.19 [hentet 19-04-09]. Tilgjengelig fra: <https://www.kreftregisteret.no/screening/livmorhalsprogrammet/Helsepersonell/screeningstrategi-og-nasjonale-retningslinjer/HPV-i-primarskanning/>
35. Earlier cervical cancer detection with DNA test [Internett]. Bodø: NHS; 04.10.07 [hentet 19-04-09]. Tilgjengelig fra: <https://www.nhs.uk/news/cancer/earlier-cervical-cancer-detection-with-dna-test/>
36. Andreassen T. HPV-test i primærskanning fire fylker. *Bioingeniøren* [elektronisk artikkel]. 15 Aug [hentet 19-04-09];43(6):[22-25 s.]. Tilgjengelig fra:

<https://www.bioingenioren.no/fag/fag-i-praksis/2015/hpv-test-i-primarscreening-i-fire-fylker/>

37. Dillner J, Rebolj M, Birembaut P, Petry KU, Szarewski A, MunkChristian, et al. Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical cancer screening: joint European cohort study. *Bmj* 2008; 337, a1754. [hentet 19-04-09] tilgjengelig fra: <https://www.bmj.com/content/337/bmj.a1754>
38. Skare GB, Bjørge T, Trope A. Årsrapport 2016: Masseundersøkelsen mot livmorhalskreft. Oslo: kreftregisteret; September 2018. [hentet 19-05-20] Tilgjengelig fra: https://www.kreftregisteret.no/globalassets/publikasjoner-og-rapporter/livmorhalskreft/arsrapport/aarsrapport-2016-livmorhalsprogrammet_1-4.pdf
39. Livmorhalskreft [Internett]. Bodø: Kreftforeningen; 29.04.19 [Hentet 19-04-29]. Tilgjengelig fra: <https://kreftforeningen.no/om-kreft/kreftformer/livmorhalskreft/>
40. Veiledning for prøvetaking [Internett]. Bodø: Kreftregisteret; 22.09.17 [Hentet 19-04-30]. Tilgjengelig fra: <https://www.kreftregisteret.no/screening/livmorhalsprogrammet/Helsepersonell/Faglig-Radgivningsgruppe/kvalitetsmanual2/3.-veiledning-for-provetaking/>
41. 2.2.1 Celleprøve fra livmorhalsen: Prøvetaking og forsendelse av væskebasert ThinPrep Pap Test prøve [Internett]. Bodø: Kreftregisteret; Sep 2015 [Hentet 19-04-10]. Tilgjengelig fra: <https://www.kreftregisteret.no/contentassets/9869151d43a1427e99d29561ba04710a/celleprove-fra-livmorhalsen---provetaking-og-forsendelse-av-vaskebasert-thinprep-pap-test-prove.pdf>
42. Væskebasert celleprøvetaking fordeler og utfordringer [Internett]. Bodø: Kreftregisteret; 25.03.14 [Hentet 19-04-29]. Tilgjengelig fra: <https://www.kreftregisteret.no/contentassets/b59a5d4ab11349b492a1ba762325423d/1>

[Ivaskebasert-cytologi---fordeler-og-utfordringer-mleide.pdf](#)

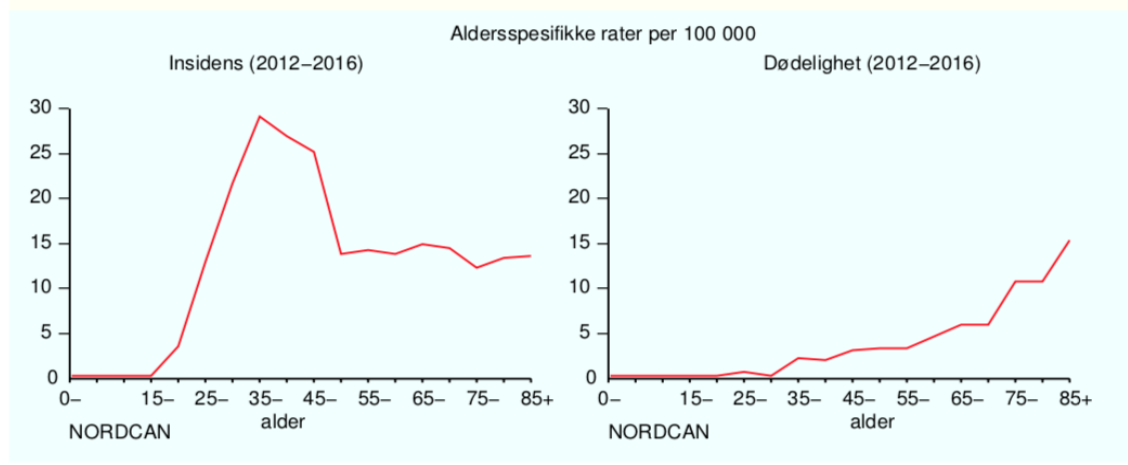
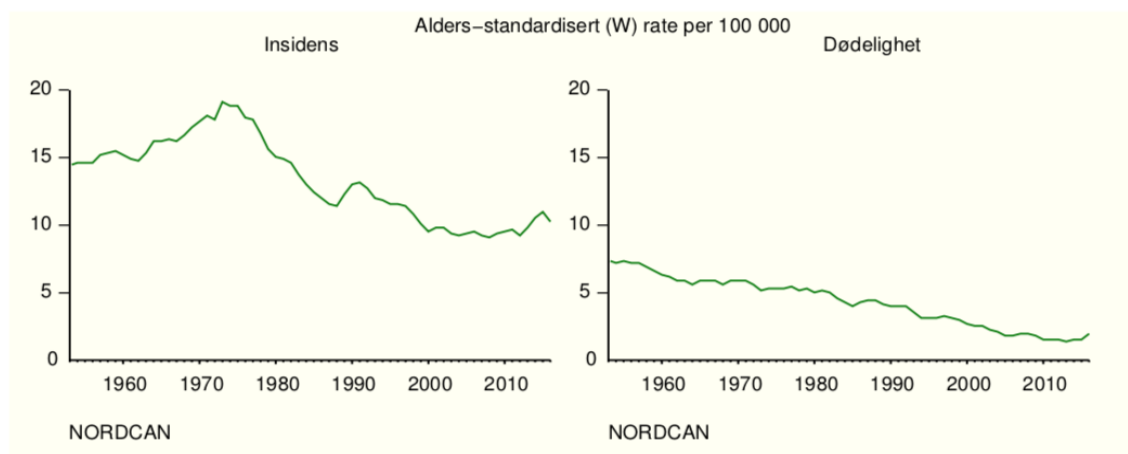
43. Fargeprosedyre for PAP-farging [Hentet fra Nordlandssykehuset sitt intranett, 19-04-29] Intern kilde:
<http://boo-hndcm-01.hn.helsenord.no/DocMapProd/page/doc/dmDocIndex.html>
Kompendium i fargeteori av Joan Fredriksen.
M.Bibbo;Comprehensive Cytopathology (889-900),
L.G.Koss;Diagn. Cytology (1474-1484)
44. Undersøkelse av livmorhalsen (kolposkopi) [Internett]. Bodø: Kreftforeningen; [Hentet 19-04-11]. Tilgjengelig fra: <https://kreftforeningen.no/om-kreft/undersokelse-ved-kreft/kolposkopi/>
45. Kolposkopiundersøkelse [Internett]. Bodø: Oncolex; [hentet 19-04-25]. Tilgjengelig fra: <http://oncolex.no/PROSEDYRER-ONCOLEX/DIAGNOSTIKK/Gyn-kolposkopi?procedureSearchText=livmorhals>
46. Roald B. Biopsi. SML [elektronisk artikkel]. 2018 Feb [hentet 19-04-11];1(1):1.
Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/biopsi>
47. Heideman D. A. M. *et.al*, 2011. Clinical Validation of the cobas 4800 HPV. Test for Cervical Screening Purposes. J. Clin. Microbiol. 49(11): 3983–3985 [hentet 19-04-11]
48. Rao A. *et.al* 2012, Comparison of cobas Human Papillomavirus Test. Results From Primary Versus Secondary Vials of PreservCyt Specimens and Evaluation of Potential Cross-Contamination. Cancer Cytopathology (Published online in Wiley Online Library) [hentet 19-04-11]
49. Pakningsvedlegg til Cobas 4800 HPV Test [hentet 19-04-11]

50. Livmorhalsprogrammet [Internett]. Bodø: Kreftregisteret; 09.02.18 [hentet 19-04-11]. Tilgjengelig fra: <https://www.kreftregisteret.no/screening/livmorhalsprogrammet/>
51. Elkins KM. DNA Extraction. Forensic DNA Biology. United States: Academic Press; 2013. s. 39-52. Tilgjengelig fra: <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/dna-extraction>
52. Delivering confidence with every result on **cobas**®4800/6800/8800 Systems [Internett]. Ålesund: Diagnostics Roche; 26.05.19 [hentet 19-05-19]. Tilgjengelig fra: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/params/cobas-hpv.html>
53. Chi-square statistic:how to calculate it/distribution [Internett]. Ålesund: Statistics how to; [hentet 19-05-19]. Tilgjengelig fra: <https://www.statisticshowto.datasciencecentral.com/probability-and-statistics/chi-square/>
54. Standardavvik [Internett]. Ålesund: Nasjonal digital læringsarena; 12.05.19 [hentet 19-05-19]. Tilgjengelig fra: <://ndla.no/subjects/subject:29/topic:1:164958/resource:1:91885>
55. Bjørnstad J. Konfidensintervall. SNL [elektronisk artikkel]. 2018 Jun [hentet 19-05-19];1(1):1. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/konfidensintervall>

8 Vedlegg

Vedlegg 1:

Kreftstatistikk fakta ark Norge – Livmorhals		
	Menn	Kvinner
Antall tilfeller per år (2012–2016)	–	335
Alders-standardisert (W) insidens rate (2012–2016)	–	10.4
Andel av alle kreftformer (%)	–	2.3
Andel av alle kreftformer unntatt hudkreft annet enn føflekkreft (%)	–	2.5
Insidens risiko før 75 års alder (%)	–	1.0
Trender i insidens: årlig endring (siste 10 år, %)	–	+2.2
Antall dødsfall per år (2012–2016)	–	75
Alders-standardisert (W) dødelighetsrate. (2012–2016)	–	1.6
Andel av alle kreftdødsfall (%)	–	1.5
Dødsrisiko før 75 års alder (%)	–	0.2
Trender i dødelighet: årlig endring (siste 10 år, %)	–	-2.3
Total prevalens (31–12–2016)	–	7283
Prevalens, befolkningsandel per 100 000	–	279.1
Relativ overlevelse (%) med [95% CI] (2012–2016)		
1-år	–	88 [86–90]
5-år	–	73 [70–75]



Vedlegg 2:

Chi-square Distribution Table

d.f.	.995	.99	.975	.95	.9	.1	.05	.025	.01
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	2.71	3.84	5.02	6.63
2	0.01	0.02	0.05	0.10	0.21	4.61	5.99	7.38	9.21
3	0.07	0.11	0.22	0.35	0.58	6.25	7.81	9.35	11.34
4	0.21	0.30	0.48	0.71	1.06	7.78	9.49	11.14	13.28
5	0.41	0.55	0.83	1.15	1.61	9.24	11.07	12.83	15.09
6	0.68	0.87	1.24	1.64	2.20	10.64	12.59	14.45	16.81
7	0.99	1.24	1.69	2.17	2.83	12.02	14.07	16.01	18.48
8	1.34	1.65	2.18	2.73	3.49	13.36	15.51	17.53	20.09
9	1.73	2.09	2.70	3.33	4.17	14.68	16.92	19.02	21.67
10	2.16	2.56	3.25	3.94	4.87	15.99	18.31	20.48	23.21
11	2.60	3.05	3.82	4.57	5.58	17.28	19.68	21.92	24.72
12	3.07	3.57	4.40	5.23	6.30	18.55	21.03	23.34	26.22
13	3.57	4.11	5.01	5.89	7.04	19.81	22.36	24.74	27.69
14	4.07	4.66	5.63	6.57	7.79	21.06	23.68	26.12	29.14
15	4.60	5.23	6.26	7.26	8.55	22.31	25.00	27.49	30.58
16	5.14	5.81	6.91	7.96	9.31	23.54	26.30	28.85	32.00
17	5.70	6.41	7.56	8.67	10.09	24.77	27.59	30.19	33.41
18	6.26	7.01	8.23	9.39	10.86	25.99	28.87	31.53	34.81
19	6.84	7.63	8.91	10.12	11.65	27.20	30.14	32.85	36.19
20	7.43	8.26	9.59	10.85	12.44	28.41	31.41	34.17	37.57
22	8.64	9.54	10.98	12.34	14.04	30.81	33.92	36.78	40.29
24	9.89	10.86	12.40	13.85	15.66	33.20	36.42	39.36	42.98
26	11.16	12.20	13.84	15.38	17.29	35.56	38.89	41.92	45.64
28	12.46	13.56	15.31	16.93	18.94	37.92	41.34	44.46	48.28
30	13.79	14.95	16.79	18.49	20.60	40.26	43.77	46.98	50.89
32	15.13	16.36	18.29	20.07	22.27	42.58	46.19	49.48	53.49
34	16.50	17.79	19.81	21.66	23.95	44.90	48.60	51.97	56.06
38	19.29	20.69	22.88	24.88	27.34	49.51	53.38	56.90	61.16
42	22.14	23.65	26.00	28.14	30.77	54.09	58.12	61.78	66.21
46	25.04	26.66	29.16	31.44	34.22	58.64	62.83	66.62	71.20
50	27.99	29.71	32.36	34.76	37.69	63.17	67.50	71.42	76.15
55	31.73	33.57	36.40	38.96	42.06	68.80	73.31	77.38	82.29
60	35.53	37.48	40.48	43.19	46.46	74.40	79.08	83.30	88.38
65	39.38	41.44	44.60	47.45	50.88	79.97	84.82	89.18	94.42
70	43.28	45.44	48.76	51.74	55.33	85.53	90.53	95.02	100.43
75	47.21	49.48	52.94	56.05	59.79	91.06	96.22	100.84	106.39
80	51.17	53.54	57.15	60.39	64.28	96.58	101.88	106.63	112.33
85	55.17	57.63	61.39	64.75	68.78	102.08	107.52	112.39	118.24
90	59.20	61.75	65.65	69.13	73.29	107.57	113.15	118.14	124.12
95	63.25	65.90	69.92	73.52	77.82	113.04	118.75	123.86	129.97
100	67.33	70.06	74.22	77.93	82.36	118.50	124.34	129.56	135.81

Vedlegg 3:

PRIMÆR HPV	P06001		
01.01.2019 - 12.05.2019			%
NEGATIV	E00040	1355	89,32
HPV 16 POS	E33416	13	0,86
HPV 18 POS	E33418	6	0,40
HPV OTHER POS	E33450	62	4,09
TOTAL PHPV POS		81	5,34
TOTALT ANTALL PHPV		1517	
DIAGNOSER POSITIV PHPV	P06001		
01.01.2019 - 12.05.2019			%
Normal	M00100	51	62,96
Normal uten sylinder	M00110	4	4,94
Uegnet	M09010	0	0,00
ASC-US	M69100	10	12,35
LSIL	M69701	3	3,70
ASC-H	M80701	7	8,64
HSIL	M80702	6	7,41
Plateepitelkarsinom	M80703	0	0,00
AGUS	M81401	0	0,00
ACIS	M81402	0	0,00
Adenokarsinom	M81403	0	0,00
Antall		81	

PRIMÆR CYTOLOGI	P06000		
01.01.2019 - 12.05.2019			%
Normal	M00100	1386	86,41
Normal uten sylinder	M00110	137	8,54
Uegnet	M09010	38	2,37
ASC-US	M69100	14	0,87
LSIL	M69701	10	0,62
ASC-H	M80701	6	0,37
HSIL	M80702	10	0,62
Plateepitelkarsinom	M80703	0	0,00
AGUS	M81401	3	0,19
ACIS	M81402	0	0,00
Adenokarsinom	M81403	0	0,00
Antall		1604	
KONTROLL SYMP	P01541		
01.01.2019 - 12.05.2019			%
Normal	M00100	331	82,13
Normal uten sylinder	M00110	30	7,44
Uegnet	M09010	26	6,45
ASC-US	M69100	7	1,74
LSIL	M69701	5	1,24
ASC-H	M80701	3	0,74
HSIL	M80702	1	0,25
Plateepitelkarsinom	M80703	0	0,00
AGUS	M81401	0	0,00
ACIS	M81402	0	0,00
Adenokarsinom	M81403	0	0,00
Antall		403	
KONTROLL UNORMAL	P01542		
01.01.2019 - 12.05.2019			%
Normal	M00100	60	63,16
Normal uten sylinder	M00110	3	3,16
Uegnet	M09010	3	3,16
ASC-US	M69100	11	11,58
LSIL	M69701	8	8,42
ASC-H	M80701	5	5,26
HSIL	M80702	4	4,21
Plateepitelkarsinom	M80703	0	0,00
AGUS	M81401	1	1,05
ACIS	M81402	0	0,00
Adenokarsinom	M81403	0	0,00
Antall		95	
KONTROLL KONUS	P01543		
01.01.2019 - 12.05.2019			%
Normal	M00100	156	80,83
Normal uten sylinder	M00110	26	13,47
Uegnet	M09010	6	3,11
ASC-US	M69100	1	0,52
LSIL	M69701	0	0,00
ASC-H	M80701	1	0,52
HSIL	M80702	3	1,55
Plateepitelkarsinom	M80703	0	0,00
AGUS	M81401	0	0,00
ACIS	M81402	0	0,00
Adenokarsinom	M81403	0	0,00
Antall		193	

KONTROLL UKJENT	P01544		
01.01.2019 - 12.05.2019			%
Normal	M00100	10	100,00
Normal uten sylinder	M00110	0	0,00
Uegnet	M09010	0	0,00
ASC-US	M69100	0	0,00
LSIL	M69701	0	0,00
ASC-H	M80701	0	0,00
HSIL	M80702	0	0,00
Plateepitelkarsinom	M80703	0	0,00
AGUS	M81401	0	0,00
ACIS	M81402	0	0,00
Adenokarsinom	M81403	0	0,00
Antall		10	
PCYT + PUKJENT	P06000 + P01544		
01.01.2019 - 12.05.2019			%
Normal	M00100	1396	86,49
Normal uten sylinder	M00110	137	8,49
Uegnet	M09010	38	2,35
ASC-US	M69100	14	0,87
LSIL	M69701	10	0,62
ASC-H	M80701	6	0,37
HSIL	M80702	10	0,62
Plateepitelkarsinom	M80703	0	0,00
AGUS	M81401	3	0,19
ACIS	M81402	0	0,00
Adenokarsinom	M81403	0	0,00
Antall		1614	

PUNOR+PSYMP+PKON			
01.01.2019 - 12.05.2019			
			%
Normal	M00100	547	79,16
Normal uten sylinder	M00110	59	8,54
Uegnet	M09010	35	5,07
ASC-US	M69100	19	2,75
LSIL	M69701	13	1,88
ASC-H	M80701	9	1,30
HSIL	M80702	8	1,16
Plateepitelkarsinom	M80703	0	0,00
AGUS	M81401	1	0,14
ACIS	M81402	0	0,00
Adenokarsinom	M81403	0	0,00
Antall		691	
Fordeling P-koder			
01.01.2019 - 12.05.2019			
		Antall	%
PCYT	P06000	1604	41,97
PHPV	P06001	1517	39,69
PSYMP	P01541	403	10,54
PUNOR	P01542	95	2,49
PKON	P01543	193	5,05
PUKJENT	P01544	10	0,26
Total		3822	

01.01.2019 - 12.05.2019									
		E00040	E33416	E33418	E33450				
HPV UTEN PHPV		NEG	16POS	18POS	OTHER POS	Antall POS	Totalt n HPV	Totalt n prøver	% POS
PCYT	P06000	243	6	4	26	36	279	1604	12,90
PSYMP	P01541	204	5	0	20	25	229	403	10,92
PUNOR	P01542	34	11	1	41	53	87	95	60,92
PKON	P01543	149	3	1	11	15	164	193	9,15
PUKJENT	P01544	0	0	0	0	0	0	10	#DIV/0!
Antall		630	25	6	98	129	759	2305	

	bc12	bc24	BB	
PCYT	18		20	38
PHPV	23	41	15	79
	41		35	

34-69 år					
TOTAL DIAGNOSER 2018			TOTAL DIAGNOSER 2017		
Normal	M00100	10354	Normal	M00100	10633
Normal uten s	M00110	965	Normal uten s	M00110	1029
Uegnet	M09010	694	Uegnet	M09010	806
ASC-US	M69100	156	ASC-US	M69100	289
LSIL	M69701	66	LSIL	M69701	82
ASC-H	M80701	70	ASC-H	M80701	87
HSIL	M80702	57	HSIL	M80702	62
Plateepitelkars	M80703	2	Plateepitelkars	M80703	0
AGUS	M81401	34	AGUS	M81401	24
ACIS	M81402	5	ACIS	M81402	2
Adenokarsino	M81403	0	Adenokarsino	M81403	1
Antall		12403	Antall		13015

TOTAL DIAGNOSER 2016			TOTAL DIAGNOSER 2015		
Normal	M00100	10489	Normal	M00100	11428
Normal uten s	M00110	1010	Normal uten s	M00110	1073
Uegnet	M09010	579	Uegnet	M09010	766
ASC-US	M69100	286	ASC-US	M69100	426
LSIL	M69701	93	LSIL	M69701	170
ASC-H	M80701	114	ASC-H	M80701	96
HSIL	M80702	51	HSIL	M80702	66
Plateepitelkars	M80703	0	Plateepitelkars	M80703	2
AGUS	M81401	20	AGUS	M81401	21
ACIS	M81402	1	ACIS	M81402	2
Adenokarsino	M81403	1	Adenokarsino	M81403	1
Antall		12644	Antall		14051

