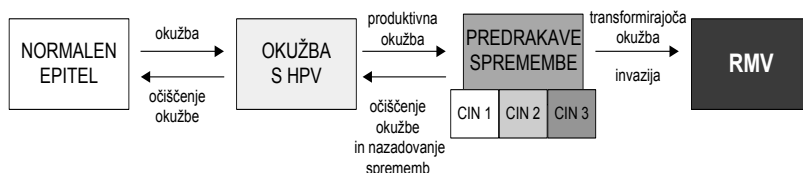


Vloga triažnega testa HPV in kolposkopije v programu ZORA

Urška Ivanuš, Maja Primic Žakelj

Naravni potek okužbe s HPV in nastanek RMV

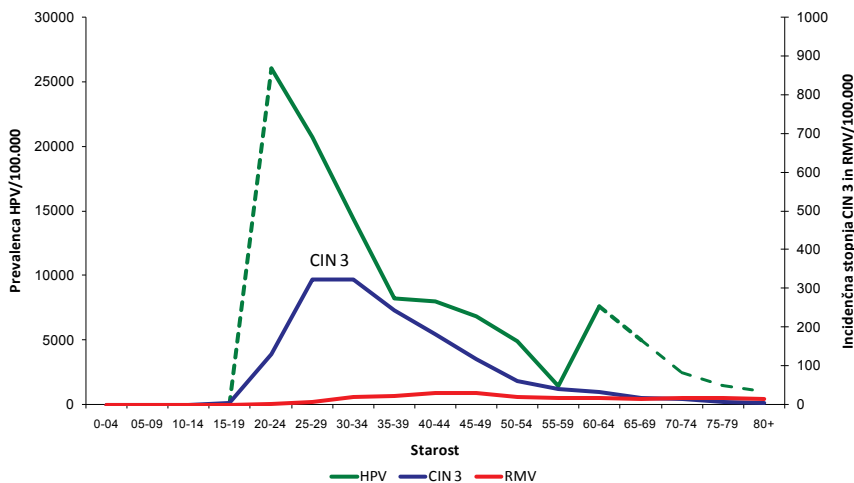
Ukrepi za preprečevanje raka materničnega vratu (RMV) temeljijo na poznavanju zakonitosti naravnega poteka okužbe s humanimi papilomskimi virusi (HPV) in razvoja bolezni. RMV se razvija postopoma, preko predrakavih sprememb (CIN) do raka. Proces je dolgotrajen, v povprečju traja 10 ali več let. Začne se z okužbo anogenitalnega področja z onkogenimi HPV (okužba s HPV), ki vztraja (dolgotrajna okužba) ter sčasoma povzroči predrakave spremembe v celicah materničnega vratu, ki postopoma preko predrakavih sprememb nizke (CIN 1) in nato visoke stopnje (CIN 2, CIN 3) napredujejo v RMV (slika 1) (1, 2). Okužbo s HPV- testi z visoko analitično občutljivostjo (PCR) potrdijo pri okoli 99 % RMV (3). Ko se okužba očisti, praviloma nazaduje tudi CIN, ki ga je okužba povzročila. Nazaduje (odvisno od starosti ženske) okoli 90 % CIN 1, 30–70 % CIN 2 in okoli 20–30 % CIN 3 (4).



Slika 1: Tri stopnje razvoja RMV: akutna okužba s HPV, vztrajanje okužbe ter razvoj predrakavih sprememb in invazija, ki je značilna za RMV. Slika je prilagojena po (5).

S HPV so pogosteje okužene mlajše kot starejše ženske (slika 2). Prevalenca okužbe s HPV je največja okoli 20. leta, nato pa se s starostjo zmanjšuje. V nekaterih državah in tudi pri nas opazamo ponovno prehodno povečanje prevalence HPV pri starejših ženskah (5, 6). Z nekajletnim zamikom se v populaciji pojavi vrh incidence CIN 3, v Sloveniji pri ženskah okoli 30. leta

starosti. Z zamikom 10 in več let pa se v populaciji pojavi še vrh incidence RMV, v Sloveniji pri ženskah, starih 40–50 let. (7).



Slika 2. Prevalenca okužb z onkogenimi humanimi papilomavirusi (zeleno črta, leva os) in incidenca CIN 3 (modra črta, desna os) in raka materničnega vratu (rdeča črta, desna os) v Sloveniji, po starostnih skupinah žensk (obdobje 2005–2009). Črtkana črta predstavlja ekstrapolirane podatke iz tujih raziskav, ker slovenskih podatkov v teh starostnih skupinah ni (6, 7).

Tovrsten naravni potek okužbe s HPV in RMV omogoča različne načine preprečevanja in zgodnjega odkrivanja RMV, ki so komplementarni. To so predvsem:

- **zdrav življenjski slog, vključno z zdravo in varno spolnostjo;**
- **cepljenje proti okužbi s HPV;**
- **zgodnje odkrivanje in zdravljenje predrakavih in začetnih rakavih sprememb** materničnega vratu v okviru organiziranih populacijskih presejalnih programov, kot je slovenski državni program ZORA.

Zakaj so pomembni organizirani populacijski presejalni programi za raka materničnega vratu?

RMV je pogost rak, zbolevalo tudi mlade ženske

Rak materničnega vratu (RMV) je v svetu **četrti najpogostejši ženski rak**, večina bolnic (okrog 85 %) pa je iz manj razvitih svetovnih področij (8). V Evropi, zlasti v državah, ki so uspešne pri njegovem obvladovanju, je bistve-

no redkejša bolezen. Javnozdravstveno je pomembna, saj prizadene mlajše ženske, ki so še delovno aktivne in morajo skrbeti za družino.

Z organiziranimi populacijskimi presejalnimi programi je možno preprečiti do 80 % RMV

Čeprav je RMV v svetu pogost, pa je eden redkih rakov, ki ga je mogoče preprečiti s pravočasnim odkrivanjem in zdravljenjem predrakavih sprememb. Zato je **v državah z dolgoletno tradicijo organiziranih presejalnih programov incidenca RMV praviloma majhna**. Kakovostno organizirani populacijski presejalni programi, ki temeljijo na rednih, tri do petletnih citoloških pregledih brisov materničnega vratu (BMV), omogočajo **zmanjšati incidenco RMV do 80 %** (9). Zmanjšanje incidence, umrljivosti in stroškovna učinkovitost programov se med državami zelo razlikujejo, najboljše rezultate dosegajo organizirani, populacijski presejalni programi (10). Bistveno za uspeh programov sta visoka udeležba ciljne skupine žensk in kakovost vseh postopkov, kar je mogoče doseči le z organiziranimi populacijskimi programi. Povsod tam, kjer nista bila izpolnjena oba ali vsaj eden od teh pogojev, do bistvenega zmanjšanja incidence raka materničnega vratu ni prišlo, kljub razširjenemu priložnostnem, spontanem presejanju (9).

Jasna mednarodna priporočila in smernice

Prve presejalne programe so v šestdesetih letih prejšnjega stoletja začeli na Finskem, v delu Norveške in na Nizozemskem (9). Leta 2003 je Svet Evropske zveze sprejel **Priporočila o presejanju za raka v Evropski zvezi** (11). Ugotovili so, da je dovolj znanstvenih dokazov, da lahko državam članicam priporočijo, naj vzpostavijo organizirane presejalne programe za raka materničnega vratu in dojk pri ženskah in za raka debelega črevesa in danke pri obeh spolih. Programi naj bodo organizirani v skladu z evropskimi smernicami za zagotavljanje in nadziranje kakovosti. Kot presejalni test za raka materničnega vratu so priporočili citološki bris (test PAP), ki naj ga začno uporabljati pri ženskah, starih od 20–30 let, ponavljajo pa naj ga na 3–5 let do 60. ali 65. leta starosti. Poudarili so, da je na vseh ravneh presejanja treba zagotoviti čim večjo kakovost, kar je mogoče udejaniti le v organiziranih populacijskih programih; priložnostno presejanje naj bi čim bolj omejili. Zagotoviti je treba tudi spremljanje posameznih žensk in njihovih izvidov, ki nastanejo pri presejanju, v diagnostiki in zdravljenju. Zbirajo naj se v centralnem presejalnem registru zato, da se sproti ugotavlja, ali program dosegata zastavljene kratkoročne in dolgoročne cilje. Leta 2008 so izšle prenovljene

Evropske smernice za zagotavljanje kakovosti v presejanju za raka materničnega vratu (12). Te ponovno poudarjajo, da sta na populacijski ravni za uspeh presejalnega programa pomembni visoka udeležba ciljne skupine žensk, kakovost vseh postopkov in redno spremljanje, kar je mogoče doseči le z organiziranim programom.

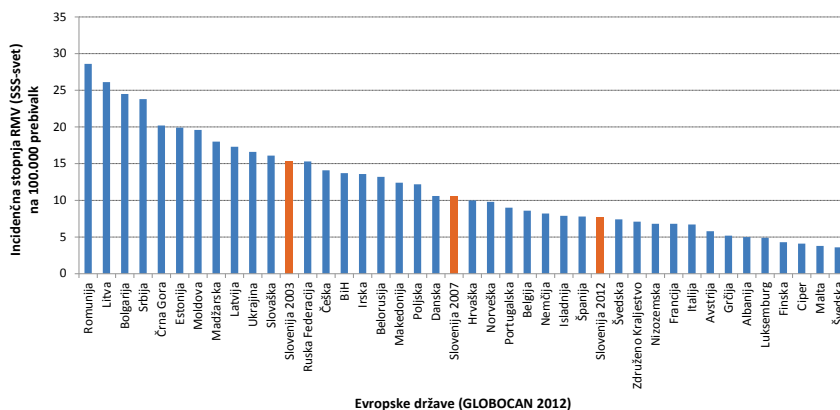
Uspehi evropskih držav

Leta 2008 je izšlo prvo poročilo o tem, kako države članice upoštevajo Priporočila o presejanju za raka v Evropski zvezi (13). Ugotovili so, da organizirani populacijski programi za raka materničnega vratu tečejo v 7 državah (Danska, Finska, Nizozemska, Madžarska, Slovenija, Švedska in Velika Britanija), v 8 so jih vzpostavljali, v ostalih državah pa je bilo presejanje priložnostno. Mednarodna raziskava objavljena leta 2015 je pokazala, da organizirani populacijski programi tečejo v 16 državah (Danska, Estonija, Finska, Francija, Irska, Italija, Litva, Latvija, Madžarska, Nizozemska, Norveška, Poljska, Romunija, Slovenija, Švedska in Velika Britanija) (10). Države se med seboj razlikujejo glede na starost ob začetku in zaključku presejanja in trajanje intervala med presejalnimi pregledi. Tako ponekod prično s presejanjem že pred 20. letom, drugod pri ženskah starih 30 let, zaključijo pa pri 60 ali 64 letih; ponekod zgornje starostne omejitve nimajo. Intervali med pregledi so od enega do dveh let pri priložnostnem presejanju, 3–5 let pa v organiziranih programih; ponekod intervale spremenijo glede na starost in so po 50. letu starosti daljši kot pri mlajših. Pregledanost ciljne populacije se med državami zelo razlikuje, okoli 10 % je na Madžarskem in v Franciji, več kot 70 % pa na Danskem, v Veliki Britaniji, na Irskem, Finskem, na Islandiji, v Italiji, na Švedskem in tudi v Sloveniji. Pričakovano se države razlikujejo tudi v največji incidenčni stopnji RMV, kadarkoli zabeleženi v posamezni državi. Največje stopnje RMV na 100.000 žensk so v preteklosti zabeležili v Romuniji, Nemčiji, na Danskem in v Sloveniji (25–35), najmanjše pa v Španiji, Belgiji, na Nizozemskem in na Malti (7–8). Največje zmanjšanje incidenčne stopnje RMV v državah z organiziranim populacijskim presejalnim programom glede na zgodovinsko največjo stopnjo RMV smo zabeležili na Danskem (–17,7) in v Sloveniji (–15,7) (10).

Uspehi Slovenije

Slovenija je ena izmed redkih držav v Evropski Zvezi, ki ima organizirano populacijsko presejanje za RMV v skladu s Priporočilom sveta Evropske zveze in Evropskih smernic. Državni presejalni program za zgodnje odkriva-

nje predrakavih in rakavih sprememb materničnega vratu ZORA (program ZORA) je namenjen ženskam med 20. in 64. letom starosti, ki naj bi se vsake tri leta udeležile rednega presejalnega pregleda z odvzemom BMV pri svojem izbranem ginekologu (14, 15). S 117 primeri RMV v letu 2012 se je incidenca RMV v primerjavi z največjo zabeleženo incidenco v Registru raka RS leta 1962 (286 novih primerov) zmanjšala za okoli 60 %, v primerjavi z incidenco RMV ob uvedbi programa ZORA na državni ravni leta 2003 (211 novih primerov) pa za okoli 45 %. To je odličen rezultat, tako za Slovenijo, kot tudi v primerjavi z dobro organiziranimi presejalnimi programi iz tujine (12). Če preračunamo te podatke na 100.000 prebivalk Slovenije, se je groba incidenčna stopnja zmanjšala s 33,4 leta 1962, na 20,7 leta 2003 in 11,3 leta 2012. Pripadajoče starostno standardizirane incidenčne stopnje na 100.000 prebivalk Slovenije (svetovni standard) so 27,5 (leta 1962), 15,3 (leta 2003) in 7,6 (leta 2012). V primerjavi z drugimi evropskimi državami se s temi vrednostmi sedaj Slovenija že uvršča med države z nižjimi vrednostmi starostno standardiziranih stopenj RMV (slika 3) (16). Če primerjamo slovenske podatke s podatki, kot jih poroča mednarodna podatkovna zbirka GLOBOCAN 2012, se s podatki iz leta 2012 Slovenija umešča takoj za Združeno kraljestvo in Švedsko, ki imata že več desetletij let dobro organizirane presejalne programe; uvrstili bi se pred Norveško in Dansko, a še vedno za Finsko in Nizozemsko ter tudi sosednjima Italijo in Avstrijo (slika 3). Leta 2003, ko je bil vzpostavljen program ZORA, pa bi se umestili še med države z največjo starostno standardizirano incidenčno stopnjo RMV kot so npr. Rusija, Češka, Ukrajina in Slovaška, torej med države brez organiziranega presejanja.



Slika 3. Starostno standardizirana (svetovni standard) incidenčna stopnja RMV na 100.000 prebivalc v evropskih državah. Podatki za Slovenijo so prikazani za leta 2003, 2007 in 2012. Vir: GLOBOCAN 2012 in Register raka RS.

Problem neodzivnic

Izkušnje po svetu in pri nas kažejo, da se 25 do 30 odstotkov žensk na vabila za presejalni pregled in odvzem BMV ne odzove (neodzivnice) (12, 17). Neodzivnice so bolj ogrožene z RMV kot ženske, ki se presejalnih pregledov udeležujejo redno. Večina novih primerov RMV se namreč pojavlja prav v tej manjši skupini žensk. V najbolj uspešnih organiziranih presejalnih programih za RMV je delež neodzivnic med vsemi ženskami z novo odkritim RMV okoli 40–60 % (18). Nedavna analiza novih primerov RMV v Sloveniji s pomočjo podatkov Registra raka RS in Registra ZORA je pokazala, da se več kot polovica (54,7 % in 60,8 %) žensk, ki so zbolele za RMV v letih 2008–2009 in 2010–2011, ni udeleževala pregledov v priporočenih intervalih (17). Pri ženskah brez presejalnega izvida v Registru ZORA je bila bolezen najpogosteje odkrita v razširjeni ali razsejani obliki (FIGO II+ pri 75,3 % in 80,2 % neodzivnic). Pri ženskah, ki so se redno udeleževale presejalnih pregledov, je bila bolezen najpogosteje odkrita v mikroinvazivni (FIGO Ia pri 42,2 % in 50,5 % odzivnic) ali omejeni obliki (FIGO Ib pri 43,0 % in 36,2 % odzivnic). Ti rezultati so primerljivi rezultatom v državah z dobro organiziranimi presejalnimi programi. Ženske, ki se DP ZORA ne udeležujejo redno, so bolj ogrožene z RMV. Pri njih je bolezen pogosteje odkrita v razširjeni obliki, ki narekuje obsežno zdravljenje, prognoza pa je slabša.

Državni presejalni program ZORA

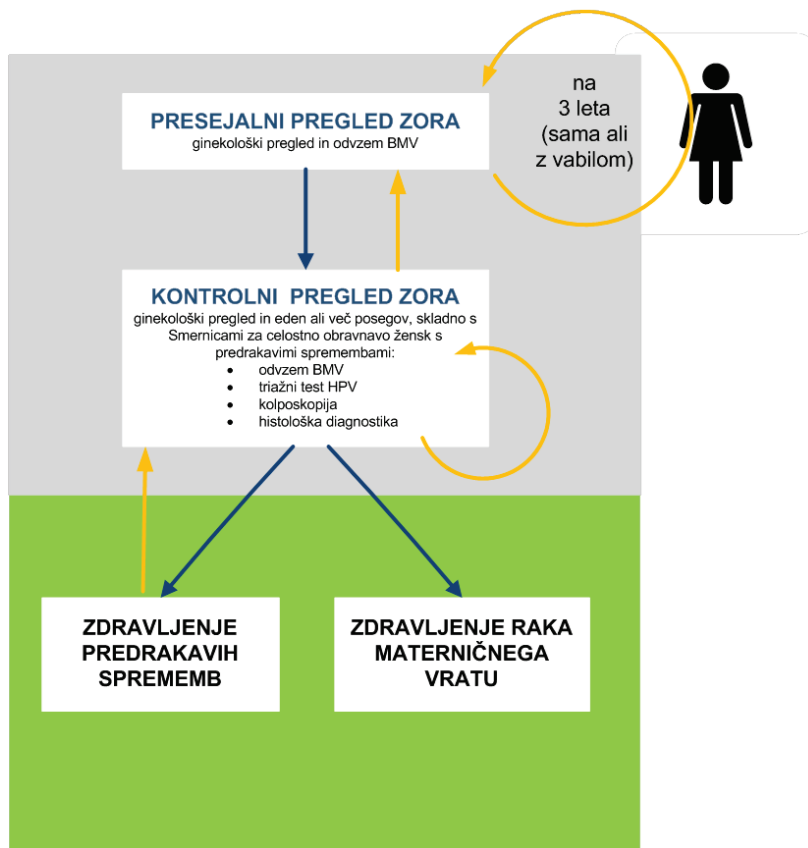
Vzpostavitev in vodenje DP ZORA

Redno spremljanje podatkov Registra raka Republike Slovenije (RRRS) o incidenci raka materničnega vratu, tj. številu novih primerov te bolezni pri nas, je omogočilo spoznanje, da se je število novih primerov konec devetdesetih v Sloveniji vztrajno večalo in da smo bili po incidenci v zgornji tretjini lestvice evropskih držav. To je bila spodbuda, da smo na Onkološkem inštitutu Ljubljana v sodelovanju z Ministrstvom za zdravje in Zavodom za zdravstveno zavarovanje pred skoraj 15 leti načrtali organizirani presejalni program in ga začeli preverjati s pilotsko študijo. Izkušnje drugih in številne raziskave so dokazovale, da le tak pristop lahko zveča učinkovitost dotlej priložnostnega presejanja, uveljavljenega pri nas več desetletij. Z uvedbo presejalnega programa na državni ravni leta 2003 je bil na Onkološkem inštitutu Ljubljana vzpostavljen tudi koordinacijski center s centralnim informacijskim sistemom, Register ZORA. V Registru ZORA se iz citoloških in histoloških laboratorijev mesečno zbirajo podatki o izvidih brisov materničnega vratu (BMV) in o izvidih histoloških preiskav zaradi cervikalne patologije, od leta 2010 tudi izvidi trižnega testa HPV (19).

Pot ženske skozi program ZORA

Povezava izvidov BMV s Centralnim registrom prebivalstva (CRP) in Registrom prostorskih enot omogoča spremljanje stopnje pregledanosti ciljne skupine (ženske stare 20 do 64 let) ter identifikacijo tistih, ki v zadnjih štirih letih nimajo zabeleženega izvida BMV. Tem pošljemo na naslov stalnega prebivališča vabilo na preventivni ginekološki pregled z odvzemom BMV. Letno tako iz Registra ZORA pošljemo okrog 70.000 vabil, manj kot en odstotek vabil se zaradi neustreznega podatka o stalnem prebivališču ali vitalnem stanju v CRP vrne. Zaradi posebnosti primarnega zdravstvenega varstva ženk pri nas (izbrani ginekolog), se ženske namreč na presejalne preglede v določenih intervalih lahko naročijo tudi same oz. jih je po 3 letih od zadnjega pregleda dolžan povabiti izbrani ginekolog (19). Presejalni interval je drugačen za vstopnice v program (mlada dekleta po 20. letu) in ponovne vstopnice (ženske, ki vsaj 5 let ali več niso imele pregledanega BMV) – le te morajo opraviti ob (ponovnem) vstopu v program dva BMV v razmaku enega leta, šele po dveh zaporednih BMV z negativnim izvidom se lahko vključijo v redni, 3-letni presejalni interval. S tovrstnim načinom vabljenja dosegamo v Sloveniji dobro 3-tetno pregledanost ciljne populacije, ki je

večja od 70 % (17). Ženska nadaljuje pot v programu ZORA glede na presejalni izvid in v skladu s sodobnimi strokovnimi smernicami (slika 4). Malo ogrožene ženske se vrnejo v 3-letni presejalni interval, srednje ogrožene so povabljene na kontrolni pregled z odvzemom BMV in/ali triažnim testom HPV, visoko ogrožene pa so napotene na takojšnjo kolposkopijo.



Slika 4. Pot ženske skozi program ZORA.

Zagotavljanje in nadzor kakovosti v programu ZORA

Pomembna naloga koordinacijskega centra od vsega začetka je tudi priprava in izdajanje strokovnih smernic v sodelovanju s strokovnjaki za posamezna področja (15, 20, 21). V začetku je bilo največ pozornosti posvečene ureditvi citopatološke dejavnosti. Citologija je tisto področje v programu ZORA, ki ima najbolj dodelan sistem za zagotavljanje in nadzor kakovosti. Elementi tega sistema so enotna citološka napotnica in izvid s poenoteno terminologi-

jo, centralna registracija podatkov v Registru ZORA, standardi in navodila za delo v citopatoloških laboratorijih, vsakoletna revizija brisov materničnega vratu žensk, ki so na novo zbolele za RMV in redna, sistematična izobraževanja. Uvedba teh elementov je nujna tudi na drugih področjih delovanja programa ZORA, kot sta npr. kolposkopija in histopatologija, katerih kakovost je skupaj z uvedbo triažnega testa HPV v obravnavo žensk s predrakavimi spremembami pomembna za to, da lezije ne bodo ostale neprepoznane in da bo nepotrebne invazivne diagnostike čim manj. Glede na to, da mora posameznim spremembam slediti tudi pravilno ukrepanje ginekologa, so bile v času delovanja programa večkrat posodobljene smernice za obravnavo žensk s predrakavimi spremembami, zadnjič leta 2011 (20). Prenovljene smernice priporočajo triažni test HPV, ki je z dodatnimi indikacijami v letu 2011 postal del diagnostičnega postopka pri ženskah z izbranimi indikacijami. Poleg tega pa nove Smernice že vključujejo dodatne celične spremembe v brisu, kot jih vsebuje klasifikacija po Bethesda.

Klasifikacija izvidov presejalnega testa – BMV

Na področju ginekološke citopatologije je bila leta 2006 opuščena stara klasifikacija izvida po Papanicolaou in uvedena nova, ki se je približala klasifikaciji Bethesda. Glavna sprememba je bila razdelitev izvida v dve kategoriji: negativen bris in patološki bris. Negativen bris vsebuje samo normalne celične elemente, brez neoplastičnih sprememb, ali pa neneoplastične spremembe, ki so benigne narave in lahko nastanejo iz različnih vzrokov (pri vnetjih, vstavljenem materničnem vložku, po obsevanjih in kot posledica drugih nespecifičnih povzročiteljev). V letu 2011 je bila v citologiji dokončno sprejeta izvorna klasifikacija po Bethesda 2001 (21). Tako je po novem uporabnost brisa razdeljena le v dve skupini, in sicer na uporabni in neuporabni bris. Med patološkimi spremembami ploščatih celic je nova skupina APC-VS (atipične ploščate celice, pri katerih ni mogoče zanesljivo izključiti ploščatocelične intraepitelijske lezije visoke stopnje – PIL-VS). Pri žleznihih spremembah je nova delitev atipičnih žleznihih sprememb na AŽC-N (atipične žlezne celice, neopredeljene) in na AŽC-VN (atipične žlezne celice, verjetno neoplastične). Vse nove skupine citoloških izvidov spadajo med patološke spremembe visoke stopnje, ki zahtevajo kolposkopski pregled (20).

Vloga triažnega testa HPV v programu ZORA

V Sloveniji se test HPV uporablja kot pomoč pri odločitvi, ali ženska potrebuje kolposkopski pregled ali ne (triažni test HPV) in ali se lahko varno vrne

v presejanje. Strokovna skupina za pripravo Smernic za celostno obravnavo žensk s predrakavimi spremembami materničnega vratu je po obsežnem pregledu literature v letu 2011 pripravila nove algoritme za obravnavo žensk s patološkim presejalnim izvidom, ki temeljijo na sodobnih znanstvenih spoznanjih (20). Indikacije za uporabo triažnega testa HPV v skladu s Smernicami iz leta 2011 so:

- atipične ploščate celice, neopredeljene (APC-N);
- ploščatocelična intraepitelijska neoplazija nizke stopnje (PIL-NS \geq 35 let), pri ženskah starih 35 let ali več;
- atipične žlezne celice, neopredeljene (AŽC-N),
- spremljanje žensk s CIN 1;
- **CIN - po zdravljenju.**

Test HPV ima ob navedenih indikacijah in ob upoštevanju priporočenih časovnih intervalov za testiranje naslednje **prednosti pred kontrolnim BMV** (22, 23):

- je bolj občutljiv kot BMV (z njim prepoznamo več žensk ki že imajo ali bodo v prihodnosti imele CIN 2+);
- ima večjo negativno napovedno vrednost kot BMV (verjetnost, da ženska z negativnim izvidom nima bolezni ali da v kratkem ne bo zbolela);
- ima primerljivo specifičnost (z njim prepoznamo enak delež žensk, ki ne potrebujejo zdravljenja kot z BMV);
- izvid testa HPV je bolj ponovljiv (primerljiv med različnimi laboratoriji), razlike med laboratoriji so manjše kot pri ocenjevanju BMV;
- delež neuporabnih vzorcev je (lahko) manjši kot pri BMV (ni pa nujno).

Nedavno je bila narejena kakovostna metaanaliza, v katero je bilo vključenih 175.000 žensk starih 20–64 let iz štirih velikih evropskih randomiziranih raziskav, ki so primerjale presejanje z BMV in testom HPV (24). Rezultati so pokazali, da je bila detekcija RMV v obdobju 2,5 let po presejalnem testu v obeh skupinah žensk primerljiva, po tem pa je bila značilno in pomembno manjša pri ženskah, ki so bile presejane s testom HPV. Izračunali so, da presejanje s testom HPV omogoča za 60–70 % večjo zaščito pred RMV kot presejanje z BMV.

Ženska z negativnim izvidom testa HPV (hc2) ima izjemno majhno tveganje RMV, ne glede na starost in ne glede na izvid BMV (25). Tveganje RMV po

negativnem izvidu testa HPV je veliko manjše kot je tveganje po negativnem BMV ali negativni kolposkopiji, prav tako je izjemno majhno tveganje RMV v obdobju 15 ali več let po negativnem testu HPV (26). Kljub temu negativen izvid testa HPV ni 100-odstotno zagotovilo, da ženska nima ali ne bo zbolela z RMV v prihodnosti. Čeprav so taki primeri redki, se dogajajo (27). Dejstvo je, da ne poznamo metode, s katero bi bilo mogoče pri udeleženkah presejalnih programov pravočasno odkriti vse predrakave spremembe na materničnem vratu in 100 % preprečiti nastanek raka. Tako kot pri drugih rakah, tudi pri RMV obstajajo taki, ki jih ni mogoče preprečiti. To so najpogostejše zelo agresivni raki, ki se izognejo počasnemu naravnemu poteku, pogosti pa so prav pri mladih ženskah (28).

Kljub pomembnim in znanim prednostim testa HPV pa nekritična uporaba testa HPV lahko naredi več škode kot koristi za zdravje žensk. Glavna **omejitev testiranja na HPV** je, da je okužba s HPV veliko pogostejša kot predrakave spremembe ali rak materničnega vratu.

Test HPV ima zato majhno klinično specifičnost (preveč pozitivnih izvidov testa HPV pri ženskah, ki nikoli ne bodo zbolele z RMV) kadar ga ne uporabljamo pri priporočenih indikacijah, predvsem pri malo ogroženih ženskah z veliko prevalenco okužb z onkogenimi HPV, ki pa so povečini prehodne. To so predvsem mlade ženske. V starostni skupini 20–25 let je HPV-pozitivnih kar okoli 25 % Slovenk (6). Uporaba testa HPV kot primarne metode presejanja pri mladih ženskah zato ni priporočena, saj je delež žensk, ki bi bil zaradi pozitivnega presejalnega testa podvržene dodatni diagnostiki in spremljanju, prevelik.

Druga glavna omejitev uporabe testa HPV pri mladih ženskah je posledica njegove velike klinične občutljivosti za odkrivanja CIN 2+ in hkrati velike stopnje nazadovanja CIN 2 in tudi CIN 3. Obstaja nevarnost, da bi z uporabo testa HPV pri mladih ženskah zaznali in zdravili tudi več prehodnega CIN 2 in CIN 3, ki bi brez zdravljenja, po očiščenju okužbe, spontano izzveneli.

Prav tako predstavljajo poseben problem pri uporabi testa HPV tudi HPV-negativne ženske s patološkim BMV visoke stopnje oz. CIN 2 ali CIN 3. Ženske s CIN 2 in CIN 3 v skladu z obstoječimi smernicami sicer potrebujejo zdravljenje, čeprav doprinos zdravljenja teh žensk k zmanjšanju incidence RMV ni jasen. Možno je, da je okužba pri njih že izzvenela in da bi CIN nazadoval brez zdravljenja.

Vloga kolposkopije v programu ZORA

Na podlagi izvidov in v skladu s sodobnimi strokovnimi smernicami iz leta 2011 lahko ženske v programu ZORA v grobem razvrstimo v tri skupine glede na tveganje, da že imajo ali da bodo v obdobju do treh let (še pred naslednjim presejalnim pregledom) zbolele za CIN 2+ in zato rabile zdravljenje (ženske z majhnim, srednjim in velikim tveganjem). Glede na tveganje so v novih smernicah v grobem priporočeni trije različni ukrepi (vrnitev ženske v redno presejanje, kontrolni pregled čez 6–12 mesecev ali takojšnja kolposkopija) (20).

Ženske z majhnim tveganjem se lahko varno vrnejo v 3-letni presejalni interval. Sem sodijo ženske:

- z *negativnim izvidom presejalnega BMV* (normalen izvid ali neneoplastične spremembe z izjemo hiper/parakeratoze);
- z *negativnim izvidom triažnega testa HPV* po presejalni diagnozi APC-N in PIL-NS 35+ in negativnim ali APC-N izvidom kontrolnega BMV.
- Pozor, ženske z diagnozo CIN 1, po zdravljenju CIN in ženske s presejalno diagnozo AŽC-N (ki so imele triažni test HPV) morajo imeti dva zaporedna negativna izvida triažnega testa HPV in/ali BMV, da se lahko varno vrnejo v 3-letno presejanje.

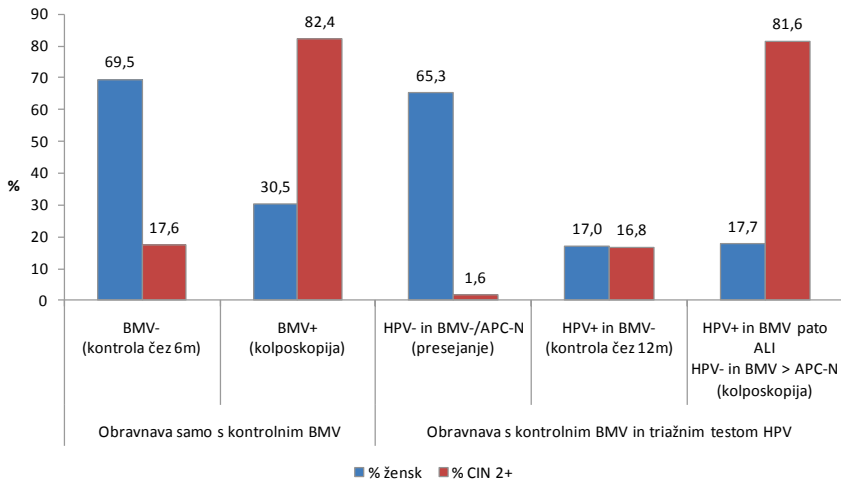
Ženske s srednjim tveganjem so povabljene na kontrolni pregled čez 6–12 mesecev. V to skupino spadajo ženske, pri katerih je verjetnost, da že imajo CIN 2+ sicer majhna, obstaja pa večje tveganje, da bodo zbolele še pred naslednjim presejalnim pregledom. Zato je pri teh ženskah priporočena predčasna kontrola pri ginekologu. V skladu s slovenskimi smernicami so to ženske:

- s *presejalno diagnozo APC-N ali PIL-NS*;
- s *presejalno diagnozo neneoplastična sprememba* – hiperkeratoza ali parakeratoza;
- s *CIN 1*;
- *po zdravljenju CIN*;
- s *pozitivnim izvidom triažnega testa HPV* po presejalni diagnozi APC-N ali PIL-NS 35+ in negativnim izvidom kontrolnega BMV ali ali APC-N izvidom kontrolnega BMV (samo pri presejalni diagnozi PIL-NS 35+).

Ženske z velikim tveganjem so povabljene na takojšnjo kolposkopijo. Pri ženskah, pri katerih obstaja dovolj velika verjetnost, da že imajo CIN 2+, je indicirana takojšnja kolposkopija. To so ženske, ki imajo:

- *v presejalnem brisu patološke spremembe celic visoke stopnje: APC-VS, PIL-VS, kakršne koli patološke spremembe žleznihi celici (vključno z AŽC-N) ali karcinomske celice v BMV (P-CA, A-CA);*
- *pozitiven izvid triažnega testa HPV vsaj 6 mesecev po presejalni diagnozi APC-N ali PIL-NS 35+, če imajo ob tem tudi patološki izvid kontrolnega BMV (APC-N oziroma PIL-NS ali več); po presejalni diagnozi AŽC-N in negativnem histološkem izvidu; vsaj 12 mesecev po diagnozi CIN 1; vsaj 12 mesecev po zdravljenju CIN (ali patološki izvid kontrolnega BMV kadarkoli na kontrolnem pregledu); kadarkoli dva zaporedna pozitivna izvida testa HPV v razmaku vsaj 6 mesecev;*
- *negativen izvid triažnega testa HPV, a patološki izvid kontrolnega BMV (APC-N ali več pri ženskah po zdravljenju CIN; PIL-NS ali več pri ženskah s presejalno diagnozo APC-N ali PIL-NS 35+.);*
- *dva zaporedna neuporabna izvida BMV.*

Po uvedbi triaže s testom HPV pri ženskah s patološkimi BMV nizke stopnje, je na kolposkopijo napotenih manj žensk iz te skupine, so pa te bolj ogrožene. Rezultati analize podatkov registra ZORA pri ženskah s presejalno diagnozo APC-N (slika 5) kažejo, da je v skladu s priporočili novih smernic na takojšnjo kolposkopijo po prvem kontrolnem pregledu napotenih skoraj polovica žensk manj kot v skladu s starimi smernicami (17,7 % žensk v primerjavi s 30,5 %), vendar se pri njih odkrije približno enako CIN 2+ (81,6 % v primerjavi z 82,4 %) (29).



Slika 5: Ženske s presejalno diagnozo APC-N, izvidi na prvem kontrolnem pregledu čez 4-8 mesecev. Izvidi so prikazani ločeno za obravnavo v skladu s starimi smernicami iz leta 2006 (obravnavajo samo s kontrolnim BMV) in obravnavo v skladu z novimi smernicami iz leta 2011 (obravnavajo s kontrolnim BMV in triažnim testom HPV). Prikazan je delež žensk (% , modra) s posameznim izvidom in delež CIN 2+ (% , rdeča) odkritih pri ženskah s temi izvidi. Povzeto po viru (29).

Uvedba triažnega testa HPV v spremljanje žensk po zdravljenju CIN je po eni strani skrajšala čas spremljanja večine žensk z 10 let (kontrolni BMV vsako leto) na 2 leti (dvakrat negativen izvid triažnega testa HPV in hkrati BMV), po drugi strani pa povečala verjetnost kolposkopskega pregleda v prvih dveh letih po zdravljenju (ženska v skladu s smernicami rabi kolposkopijo tudi če je kontrolni BMV negativen, a je triažni test HPV pozitiven).

Poseben problem pri uporabi testa HPV predstavljajo HPV-pozitivne ženske z negativnim izvidom BMV in brez CIN 2+. Čeprav imajo HPV-pozitivne ženske z negativnim BMV veliko manjše tveganje, da imajo ali bodo v prihodnjih nekaj letih zbolele za RMV kot ženske z obema pozitivnima testoma (5-letno kumulativno tveganje za CIN 3+ je okoli 6 % in 12 %), je to tveganje še vedno preveliko, da bi te ženske lahko varno vrnili v presejanje (25). Še posebej je težavna obravnavo žensk z dolgotrajno okužbo brez CIN. Dolgotrajna okužba je praviloma sicer produktivna, vendar bo okoli 2-3 % žensk s to okužbo tudi po sedmih letih vztrajanja okužbe še vedno imela normalne citološke in histološke izvide (30). To vnaša v obravnavo ženske v kolposkopski ambulantni velike težave, saj se lahko zgodi, čeprav redko, da

ima ženska več zaporedno pozitivnih testov HPV, pri tem pa nima patološkega izvida BMV in tudi kolposkopski izvid je normalen. Obravnava takih žensk je težavna in le dobra kolposkopska diagnostika lahko prepreči prekomerno diagnostiko in zdravljenje pri teh ženskah. V različnih državah te ženske različno obravnavajo; na Finskem in na Danskem žensk ne vrnejo v presejanje, dokler se okužba s HPV ne očisti, medtem ko v Angliji tako žensko vrnejo v 3-letni presejalni krog. Za vrnitev ženske z dolgotrajno okužbo v presejanje je ključnega pomena zelo kakovostna kolposkopska diagnostika z visoko negativno napovedno vrednostjo. V Sloveniji se ženske ne vrnejo v presejanje, dokler se okužba s HPV ne očisti. V praksi dva zaporedno pozitivna testa HPV pri isti ženski še ne pomenita, da gre za dolgotrajno okužbo, saj gre lahko za novo okužbo z drugim ali istim genotipom. Ni redko, da si partnerja »podajata« okužbo in znano je, da okužbe, ki se hitro očistijo, pogosto ne povzročijo imunosti na okužbo z istim genotipom, zato se lahko ženska večkrat okuži z istim genotipom HPV, vendar gre pri tem za večkratne prehodne okužbe in ne vztrajanje ene same okužbe.

V Sloveniji na tovrstno kombinacijo izvidov naletimo praviloma pri ženskah, ki že imajo patološke spremembe nizke stopnje (npr. APC-N ali PIL-NS \geq 35 let) in je bil zato pri njih opravljen triažni test HPV, ali pa ženske po zdravljenju CIN. S posebno analizo smo v registru ZORA preverili, ali smo z uvedbo triažnega testa HPV v obravnavo žensk s presejalno diagnozo APC-N omogočili učinkovito prepoznavo tistih žensk, ki so kljub negativnemu izvidu kontrolnega BMV bolj (HPV-pozitivne) oziroma manj (HPV-negativne) ogrožene s CIN 2+ (slika 5). Analiza izvidov žensk s presejalno diagnozo APC-N je pokazala naslednje (29):

- 17 % žensk je imelo pozitiven izvid triažnega testa HPV in negativen izvid kontrolnega BMV (priporočilo za ponoven kontrolni pregled čez eno leto), pri njih je bilo odkritih okoli 16,8 % vsega CIN 2+ (slika 5); tveganje CIN 2+ in CIN 3+ je bilo srednje veliko (5,4 % in 2,3 %);
- 65 % žensk je imelo negativen izvid testa HPV ob negativnem ali APC-N izvidu kontrolnega BMV (priporočilo za vrnitev v presejanje), pri njih je bilo odkritega 1,6 % vseh CIN 2+ (slika 5); tveganje CIN 2+ in CIN 3+ je bilo pri njih izjemno majhno (0,1 % in 0,07 %);
- preostalih 18 % žensk bi bilo po prvem kontrolnem pregledu v skladu s smernicami napotenih na takojšnjo kolposkopijo, pri njih

so odkrili 81,6 % vsega CIN 2+ (slika 5); tveganje CIN 2+ in CIN 3+ je bilo pri njih veliko (25,3 % in 10,7 %).

Na podlagi teh rezultatov lahko sklepamo, da so v sodobnih smernicah ženske s presejalno diagnozo APC-N glede na izvide prvega kontrolnega pregleda ustrezno razvrščene v skupine z manjšim, srednjim in večjim tveganjem. HPV-pozitivne ženske z negativnim izvidom kontrolnega BMV sodijo v skupino s srednjim tveganjem, za katero je priporočen predčasen kontrolni pregled, kar se zdi ustrezno. Prav tako rezultati analize kažejo, da je večina žensk z negativnim izvidom kontrolnega BMV, ki imajo kljub temu CIN 2+ (pri njih odkrijemo 17,6 % vsega CIN 2+), HPV-pozitivna (16,8 % vsega CIN 2+) (slika 5), kar kaže, da triažni test HPV pri ženskah z negativnim kontrolnim izvidom BMV dobro loči bolj in manj ogrožene. Ker ima tako kombinacijo kontrolnih izvidov slaba petina vseh žensk s presejalno diagnozo APC-N in ker je njihovo tveganje sicer povečano, a še vedno manjše kot pri ženskah, ki so po smernicah napotene na takojšnjo kolposkopijo, je te ženske smiselno v skladu smernicami napotiti na kontrolni pregled, saj v letu dni lahko okužba bodisi izzveni, ali pa napreduje v CIN, ki ga na pregledu tudi odkrijemo. S tem lahko preprečimo nepotrebno prekomerno diagnostiko (kolposkopsko in histološko) v času čakanja, da se nastane CIN ali okužba izzveni, hkrati pa se zdi, da je čakanje varno, saj pri ženskah v raziskavi ni bilo odkritega nobenega RMV.

Čakanje pa je za ženske stresno in je lahko tudi zelo dolgotrajno, saj lahko od okužbe do CIN visoke stopnje mine tudi več let, celo 10 in več. Ta problem HPV-pozitivnih žensk z negativnim BMV je prisoten tako v primarnem presejanju s HPV kot v triaži. Strokovnjaki zato iščejo nove možnosti za triažo HPV-pozitivnih žensk z negativnim izvidom BMV na tiste z večjim (dolgotrajna okužba) in manjšim tveganjem (prehodna okužba). Najbolj raziskana metoda je uporaba genotipizacije, ki je namenjena prepoznavi žensk, okuženih s HPV 16 in 18, ter bolj intenzivni obravnavi v tem primeru (31). Vendar niti genotipizacija ne reši problema potrebe po dodatni obravnavi HPV-pozitivnih žensk, saj se ženske, ki niso okužene s HPV 16 ali 18, temveč z enim od preostalih onkogenih genotipov HPV, ne morejo varno vrniti v presejanje, ker je tveganje pri njih kljub vsemu večje (23, 24). V zadnjem času se je razmahnilo raziskovanje novih triažnih metod, ki naj bi med HPV-pozitivnimi ženskami prepoznale tiste z dolgotrajno in/ali transformirajočo okužbo. Kot najbolj obetavne tovrstne metode se kažejo analiza metilacije virusne ali človeške DNK in imunohistokemično barvanje p16INK4a. Strokovnjaki upajo, da bodo te metode omogočile učinkovito

trijažo HPV-pozitivnih žensk na tiste, ki rabijo takojšnjo kolposkopsko diagnostiko, in tiste, ki se lahko varno vrnejo v presejanje.

Zaključek

Spoznanje o tem, da je dolgotrajna okužba s HPV nujni (ne pa zadosten) vzrok za nastanek raka materničnega vratu, odpira nove možnosti za primarno in sekundarno preventivo raka materničnega vratu. Preprečevanje nastanka raka s cepljenjem in uporaba testa HPV v triaži, pri spremljanju žensk po zdravljenju CIN in v primarnem presejanju so novi izzivi za javno zdravje in nalagajo državam resen razmislek o primarni preventivi raka materničnega vratu in nadaljnji organiziranosti presejalnih programov (33).

Po uvedbi cepljenja proti HPV se bo v cepljenih generacijah breme okužb s HPV zmanjšalo, s tem pa tudi ogroženost s predrakavimi spremembami in z rakom materničnega vratu, zato se bo spremenila tudi učinkovitost presejalnih metod. Države z dobro organiziranimi presejalnimi programi, kamor sodi tudi Slovenija, iščejo nove pristope k presejanju cepljenih generacij. Najučinkovitejši se kaže test HPV v primernih, ne prekratkih intervalih (33). V več evropskih državah (npr. v Italiji, na Švedskem, v Veliki Britaniji in na Nizozemskem) že tečejo raziskave primarnega presejanja s testom HPV. Predvidevajo, da bodo v teh državah že v naslednjih 5 letih privzeli ta način presejanja, ker je bolj občutljiv za spremembe visoke stopnje. Samoodvzem bo v začetku verjetno metoda izbora za neodzivnice, morda pa ga bodo kasneje lahko izbrale vse ženske. Do takrat pa bodo potrebne raziskave, ki bodo pokazale najprimernejše metode za neposredno molekularno triažo. Pomembno raziskovalno vprašanje ostaja, kakšen je najprimernejši način za triažo žensk s pozitivnim testom HPV. V praksi se največ uporablja BMV in/ali genotipizacija, najbolj obetavni novi triažni metodi pa sta imunohistocitokemično barvanje p16/Ki-67 in molekularna diagnostika metilacije človeške in/ali virusne DNK. Nekatere teh metod je mogoče napraviti tudi na samoodvzetih vzorcih, kar odpira nove možnosti tudi na področju presejanja s testom HPV doma.

Zadostna udeležba ostaja še vedno eden od najpomembnejših dejavnikov, ki vpliva na uspeh presejanja, zato veliko obeta možnost, da ženske opravijo odvzem brisa same doma. Prav tako bo ta metoda učinkovita tam, kjer nimajo na razpolago dovolj osebja za presejalne preglede.

Uvedba cepljenja proti HPV in testov HPV prinaša poseben izziv tudi na področje organizacije citologije, ki je v organiziranih presejalnih programih,

tudi v Sloveniji, v šestdesetih letih razvoja dosegla zelo dobro kakovost. Pred morebitnimi spremembami presejalne metode je treba razmisliti o novi vlogi, ki jo bodo imeli citološki laboratoriji po taki spremembi. Število BMV se bo občutno zmanjšalo, vendar se bo hkrati povečala težavnost ocenjevanja BMV. Rabili bomo manj citopatologov in presejalcev, ki pa bodo morali biti izjemno dobro izobraženi in izurjeni. Ker se odpirajo nove diagnostične metode za natančnejše določanje tveganja predrakavih in rakavih sprememb materničnega vratu (na primer p16/Ki-67), v tujini del osebja v citoloških laboratorijih že preusmerjajo v uporabo teh novih metod. V tujih strokovnih krogih je pogosta tema razprav, ali je v času, ko imamo na voljo več različnih metod za določanje tveganja raka materničnega vratu, ki so komplementarne in se lahko uporabljajo v različnih kombinacijah, morda smiselno preiti iz algoritemske obravnave ženske na obravnavo glede na tveganje raka. V praksi bi to pomenilo, da bi v laboratoriju po ugotovitvi presejalnega izvida po potrebi in v skladu z vnaprej določenim protokolom opravili še druge analize (kot na primer pregled BMV, genotipizacijo, p16-Ki67, metilacijo DNK) ter izvide združili v enotno oceno ogroženosti ženske. Na podlagi te ocene bi potem ginekolog žensko bodisi vrnil v presejanje ali pri njej opravil kolposkopijo. Število kontrolnih pregledov, ki s čakanjem in strahom obremenjujejo ženske ter z dodatnim delom ginekološke ambulante in zdravstveno blagajno, naj bi se z razvojem sodobne tehnologije čim bolj zmanjšalo.

Kolposkopija še naprej ostaja zelo pomemben del presejalnih programov. Zaradi uvedbe novih pristopov v primarni in sekundani preventivi RMV se že in se bo tudi v bodoče spreminjala potreba po kolposkopiji, spreminjala pa se bo tudi ogroženost žensk, ki bodo napotene na kolposkopski pregled. Sodobni ukrepi v presejalnih programih so usmerjeni v čim boljše triažo žensk že pred napotitvijo v kolposkopsko ambulanto, zaradi česar lahko pričakujemo, da bodo v prihodnje v kolposkopsko ambulanto napotene po eni strani ženske z večjim tveganjem za predrakavo ali rakavo spremembo materničnega vratu kot v preteklosti, po drugi strani pa bodo lezije, ki jih bodo odkrivali kolposkopisti čedalje manjše (34). Zaradi tega lahko pričakujemo, da se bo tudi v bližnji prihodnosti zahtevnost kolposkopije večala, kar pomeni, da se bo še povečala potreba po zagotavljanju in nadzoru nad kakovostjo kolposkopije v organiziranih presejalnih programih.

Literatura

1. Bosch FX, LorinczA, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papilloma virus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55: 244–65.

2. McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, Baranyai J, Medley G, Jones RW, et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *The lancet oncology*. 2008;9(5):425-34.
3. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *The Journal of pathology*. 1999;189(1):12-9.
4. Moscicki AB, Schiffman M, Burchell A, Albero G, Giuliano AR, Goodman MT, et al. Updating the natural history of human papillomavirus and anogenital cancers. *Vaccine*. 2012;30 Suppl 5:F24-33.
5. Schiffman M, Wentzensen N, Wacholder S, Kinney W, Gage JC, Castle PE. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2011;103(5):368-83.
6. Ucakar V, Poljak M, Klavs I. Pre-vaccination prevalence and distribution of high-risk human papillomavirus (HPV) types in Slovenian women: a cervical cancer screening based study. *Vaccine*. 2012;30(2):116-20.
7. Zadnik V, Primic Žakelj M. SLORA: Slovenija in rak. www.slora.si: Epidemiologija in register raka. Onkološki inštitut Ljubljana [citirano 28.3.2013].
8. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Dostopno na: <http://globocan.iarc.fr>.
9. International Agency for Research on Cancer. Cervix cancer screening. IARC handbooks of cancer prevention. Vol. 10. Lyon, France: IARC Press; 2005: 1–302.
10. Elfström KM, Arnheim-Dahlström L, von Karsa L, Dillner J. Cervical cancer screening in Europe: Quality assurance and organisation of programmes. *Eur J Cancer*. 2015;51(8):950-68.
11. Council of the European Union. Council Recommendation of 2 December on Cancer Screening. *Off J Eur Union* 2003; 878: 34–8.
12. Arbyn M, Anttila A, Jordan J et al. eds. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening, 2nd ed. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2008.
13. von Karsa L, Anttila A, Ronco G et al. Cancer screening in the European Union. Report on the Implementation of the Council Recommendation on cancer screening – First Report. Luxembourg: European Commission 2008; 1–136.

14. Pravilnik za izvajanje preventivnega zdravstvenega varstva na primarni ravni (Ur. l. RS, št. 19/1998, 47/1998, 26/2000, 67/2001, 33/2002, 37/2003, 117/2004, 31/2005, 83/2007 in 22/2009).
15. Primic Žakelj M, Uršič Vrščaj M, Pogačnik A, Ivanuš U, editors. Navodila ginekologom za delo v programu ZORA. Posodobitev 2011: Onkološki inštitut Ljubljana; 2011.
16. GLOBOCAN 2008. International Agency for Research on Cancer. World Health Organisation; [20. november 2013] Dostopno na: <http://globocan.iarc.fr/>
17. Primic Žakelj M, Ivanuš U. 10 let delovanja programa ZORA. Zbornik 4 izobraževalnega dne programa ZORA; 2013 26. april 2013; Brdo pri Kranju: Onkološki inštitut Ljubljana.
18. Weller DP, Patnick J, McIntosh HM, Dietrich AJ. Uptake in cancer screening programmes. *Lancet Oncol.* 2009;10(7):693-9.
19. Primic-Žakelj M, Zadnik V, Pogačnik A, Uršič-Vrščaj M. Presejanje za raka materničnega vratu v Sloveniji in državni program ZORA. *Radiol Oncol* 2006; 40, Suppl. 1: S143–S148.
20. Uršič Vrščaj M, Možina A, Kobal B, Takač I, Deisinger D, Zore A. Smernice za celostno obravnavo žensk s predrakavimi spremembami materničnega vratu. Posodobitev 2011. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2011.
21. Pogačnik A, Strojman Fležar M, Repše-Fokter A, Snoj V, Kirbiš Srebotnik I, Primic-Žakelj M. Navodila za citološke izvide brisov materničnega vratu–klasifikacija po Bethesda. Posodobitev 2011. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2011.
22. Arbyn M, Roelens J, Simoons C, Buntinx F, Paraskevaidis E, Martin-Hirsch PP, et al. Human papillomavirus testing versus repeat cytology for triage of minor cytological cervical lesions. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;3:CD008054.
23. Arbyn M, Ronco G, Anttila A, Meijer CJ, Poljak M, Ogilvie G, et al. Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer. *Vaccine.* 2012;30 Suppl 5:F88-99.
24. Ronco G, Dillner J, Elfstrom KM, Tunesi S, Snijders PJ, Arbyn M, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials. *Lancet.* 2014;383(9916):524-32.
25. Katki HA, Kinney WK, Fetterman B, Lorey T, Poitras NE, Cheung L, et al. Cervical cancer risk for women undergoing concurrent testing for human papillomavirus and cervical cytology: a population-based study in routine clinical practice. *The lancet oncology.* 2011;12(7):663-72.

26. Chen HC, Schiffman M, Lin CY, Pan MH, You SL, Chuang LC, et al. Persistence of type-specific human papillomavirus infection and increased long-term risk of cervical cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2011;103(18):1387-96.
27. Castle PE, Rodriguez AC, Burk RD, Herrero R, Hildesheim A, Solomon D, et al. Neither one-time negative screening tests nor negative colposcopy provides absolute reassurance against cervical cancer. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2009;125(7):1649-56.
28. Moscicki AB, Cox JT. Practice improvement in cervical screening and management (PICSM): symposium on management of cervical abnormalities in adolescents and young women. *Journal of lower genital tract disease*. 2010;14(1):73-80.
29. Ivanuš U. Uvedba trižnega testa HPV v program ZORA: ocena prednosti in slabosti javnozdravstvene intervencije. Specialistična naloga. Onkološki inštitut Ljubljana 2013.
30. Rodriguez AC, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, et al. Longitudinal study of human papillomavirus persistence and cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3: critical role of duration of infection. *Journal of the National Cancer Institute*. 2010;102(5):315-24.
31. Cuzick J, Bergeron C, von Knebel Doeberitz M, Gravitt P, Jeronimo J, Lorincz AT, et al. New technologies and procedures for cervical cancer screening. *Vaccine*. 2012;30 Suppl 5:F107-16.
32. Sundstrom K, Eloranta S, Sparen P, Arnheim Dahlstrom L, Gunnell A, Lindgren A, et al. Prospective study of human papillomavirus (HPV) types, HPV persistence, and risk of squamous cell carcinoma of the cervix. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2010;19(10):2469-78.
33. Bosch FX, Broker TR, Forman D et al. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine* 2012; 30, Suppl 5: G1–G31.
34. Mlinarič M. Kolposkopija v dobi HPV. Zbornik obnovitvenega kolposkopskega tečaja; 21. marec 2014; Ljubljana: Ginekološka klinika UKC Ljubljana.