

การตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกทันยุค (An update on cervical cancer screening)

พิชญ์กัญญา สว่างแสง พ.บ.

Pitkanya Sawangsang M.D.

โรงพยาบาลจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่

Chomthong Hospital, Chiang Mai Province

บทนำ

อุบัติการณ์ของมะเร็งปากมดลูกทั่วโลกสูงเกือบ 500,000 รายต่อปี และมีผู้ป่วยเสียชีวิตมากกว่า 270,000 รายต่อปี¹ หรือทุกๆ 2 นาทีจะมีสตรีเสียชีวิตจากมะเร็งนี้ หลายปีที่ผ่านมาประเทศที่พัฒนาแล้วอุบัติการณ์ของมะเร็งปากมดลูกลดลงอย่างมาก เป็นผลจากการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกเพื่อหาความผิดปกติของปากมดลูกระยะก่อนมะเร็ง และรักษาแต่เนิ่นๆ ทำให้ลดการเกิดมะเร็งปากมดลูกได้มาก² มะเร็งปากมดลูกเป็นมะเร็งที่พบบ่อยที่สุดของสตรีไทย มีอุบัติการณ์ปรับมาตรฐานตามอายุ (age standardized rate) 19.8 ต่อประชากร 100,000 คนต่อปี และ The International Agency for Research on Cancer (IARC) รายงานว่าประเทศไทยพบมะเร็งปากมดลูกใหม่ปีละ 6,243 ราย และเสียชีวิต 2,620 ราย¹ หรือ ทุกวันมีสตรีไทยเสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งปากมดลูกถึง 7 คน

ข้อกำหนดการคัดกรองที่มีประสิทธิภาพ³

1. โรคนั้นมีอันตรายสูงเหมาะที่จะทำการคัดกรอง
2. มีวิธีการรักษาที่มีประสิทธิภาพเมื่อคัดกรองได้ในระยะแรกเริ่ม
3. มีวิธีการคัดกรองที่มีประสิทธิภาพ
4. วิธีการคัดกรองราคาไม่แพง
5. มีจำนวนประชากรในการคัดกรองที่เพียงพอเพื่อความคุ้มค่า

ร้อยละ 50⁴⁻⁶ และ 94⁴⁻⁸ ตามลำดับ อีกนัยหนึ่งก็คือ การตรวจด้วยวิธีนี้มีผลลบลงค่อนข้างสูง

2. Liquid-based cytology (LBC)

การศึกษาส่วนใหญ่รายงานว่า liquid-based cytology มีความไวดีกว่า conventional Pap smear ทำให้ตรวจพบรอยโรคขั้นสูง (high grade lesion) ที่ปากมดลูกได้มากขึ้น รวมทั้งสามารถลดผลลบลงของการตรวจลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ⁹

การตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกด้วยเซลล์วิทยา

1. Conventional Pap smear

มีรายงานมากมายที่ประเมินประสิทธิภาพของการตรวจพบว่า ความไว(sensitivity) ของการตรวจด้วย conventional Pap smear ค่อนข้างต่ำ จากรายงานเพื่อหาความแม่นยำของ conventional Pap smear ในการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกพบว่า ค่าเฉลี่ยของความไวและความจำเพาะ(specificity)ของ conventional Pap smear เท่ากับ

ค.ศ. 1996 liquid-based cytology (ThinPrep method) ได้รับการยอมรับโดยองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกาในการนำมาใช้ตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูก มีการนำวิธีนี้มาใช้แทนการตรวจด้วย conventional Pap smear อย่างแพร่หลายในประเทศสหรัฐอเมริกา¹⁰ และหลายประเทศในยุโรป^{11, 12} ค.ศ. 1999 U.S. Agency for Health Care Policy and Research ประเมินประสิทธิภาพและความคุ้มค่า (cost-effectiveness) ของการใช้ liquid-



based cytology ในการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูก โดยวิเคราะห์จากรายงานแบบ meta-analysis ของการศึกษาต่างๆ และสรุปว่า การตรวจด้วย liquid-based cytology (ThinPrep method) มีความคุ้มค่าในการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูก¹³

3. การตรวจหาเชื้อ HPV

การตรวจหา DNA ของเชื้อ HPV จากสิ่งส่งตรวจทางนรีเวชทำได้โดยใช้วิธีการทาง microbiology ซึ่งมี 2 วิธีหลัก คือ Hybridization-based assays และ Polymerase chain reaction-based technology¹⁴⁻¹⁶ จากข้อมูลทางด้านระบาดวิทยา และธรรมชาติของเชื้อ HPV ในการก่อมะเร็งปากมดลูก ตลอดจนการตรวจพบเชื้อ HPV ในชิ้นเนื้อปากมดลูกของผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก ทำให้ได้ข้อสรุปดังต่อไปนี้¹⁷⁻²²

1. พบเชื้อ HPV สายพันธุ์ที่มีความเสี่ยงสูงมากกว่าร้อยละ 99 ของผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก
2. Persistent infection ของเชื้อ HPV สายพันธุ์ที่มีความเสี่ยงสูงมีความจำเป็นต่อการพัฒนาไปเป็นมะเร็งปากมดลูก

3. คุ้มค่าในการทำนายผลลบ (negative predictive value) ของการตรวจเชื้อ HPV สายพันธุ์ที่มีความเสี่ยงสูงมากโดยเฉพาะเมื่อใช้ร่วมกับการตรวจทางเซลล์วิทยา โดยมีคุณค่าในการทำนายผลลบของการตรวจทั้ง 2 วิธีมากกว่าร้อยละ 99

4. การตรวจหาเชื้อ HPV สายพันธุ์ที่มีความเสี่ยงสูงมีความไวในการวินิจฉัยมะเร็งปากมดลูก

4. การตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกโดยการตรวจ HPV DNA ร่วมกับการตรวจเซลล์วิทยา

ประเทศสหราชอาณาจักรศึกษาการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกแบบ randomized controlled trial โดยใช้การตรวจ HPV DNA ร่วมกับการตรวจด้วยเซลล์

วิทยา ได้แก่ The HART study (HPV in Addition to Routine Testing) ศึกษาการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกในสตรี 11,085 รายในสหราชอาณาจักร จากการศึกษายืนยันว่าการตรวจ HPV DNA มีความไวมากกว่า conventional Pap smear ในการตรวจหาโรคมะเร็งปากมดลูก (ร้อยละ 97.1 เทียบกับ ร้อยละ 76.6) แต่ความจำเพาะของการตรวจ HPV DNA ต่ำกว่า conventional Pap smear (ร้อยละ 93.3 เทียบกับ ร้อยละ 95.8) และ คุ้มค่าในการทำนายผลบวกก็ต่ำกว่า conventional Pap smear (ร้อยละ 12.8 เทียบกับ ร้อยละ 15.8) ถ้าใช้การตรวจ HPV DNA ร่วมกับการตรวจเซลล์วิทยาจะมีความไวร้อยละ 100 ในการตรวจหาโรคมะเร็งปากมดลูกทุก 5 ปี²³

แนวทางการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูก

ACS guidelines for cervical cancer screening, 2009²⁴: A review of current American Cancer Society guidelines and issues in cancer screening

1. การเริ่มตรวจคัดกรอง

- แนะนำให้เริ่มตรวจคัดกรองหลังมีเพศสัมพันธ์ครั้งแรกประมาณ 3 ปี และเริ่มตรวจครั้งแรกไม่เกินอายุ 21 ปี

2. การหยุดตรวจ

- สตรีที่อายุ 70 ปี หรือมากกว่าและยังมีปากมดลูกอยู่ ถ้าผลตรวจเซลล์วิทยาปากมดลูกปกติ 3 ครั้งติดต่อกัน และไม่มีผลผิดปกติในช่วง 10 ปี ก่อนอายุ 70 ปี อาจจะเลือกหยุดการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกได้
- ถ้าไม่เคยตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกมาก่อน ไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับการตรวจคัดกรองโรค หรือไม่น่าจะเคยตรวจคัดกรองมาก่อน หรือมีประวัติเป็นมะเร็ง



ปากมดลูก การสัมผัสยา DES และ/หรือ ภูมิคุ้มกัน
เสื่อม เช่น HIV infection ควรรับการตรวจคัดกรองโรค
ต่อไป ถ้ายังมีสุขภาพแข็งแรงและไม่มีโรคเรื้อรัง

- สตรีที่อายุ 70 ปีหรือมากกว่า ถ้าผลการตรวจ HPV
DNA ให้ผลบวกควรรับการตรวจคัดกรองโรค
ตามดุลพินิจของแพทย์

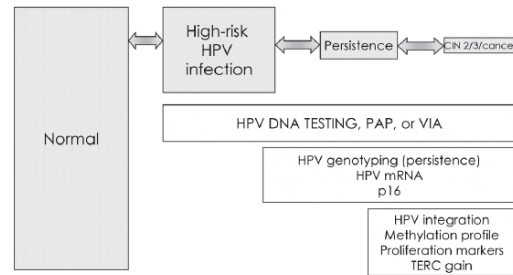
3. ระยะห่างของการตรวจคัดกรอง

- หลังการตรวจคัดกรองครั้งแรกควรตรวจทุก 1 ปี
ด้วยการทดสอบแปปสามัญ หรือทุก 2 ปีด้วยการ
ทดสอบแปปแบบแผ่นบาง
- เมื่ออายุ 30 ปีหรือมากกว่า ถ้าผลการทดสอบแปป
น่าพอใจและปกติ 3 ครั้งติดต่อกัน อาจจะตรวจ
ทุก 2 หรือ 3 ปี ยกเว้นมีประวัติสัมผัสยา DES
, HIV infection, ภูมิคุ้มกันเสื่อมจากการปลูกถ่าย
อวัยวะ ได้รับยาเคมีบำบัดหรือสเตียรอยด์เป็นเวลานาน

4. การตรวจคัดกรองหลังตัดมดลูกออกแล้ว

- ถ้าตัดมดลูกออกด้วยโรคทางนรีเวชที่ไม่ใช่มะเร็ง
ไม่ต้องตรวจคัดกรองโรคมะเร็งที่ผนังช่องคลอด
ส่วนบน
- ถ้าตัดมดลูกออกไม่หมด ยังเหลือปากมดลูกอยู่
ควรคัดกรองปากมดลูกตามคำแนะนำข้างต้น
- สตรีที่เคยมีประวัติเป็นรอยโรคภายในเยื่อโพรงสูง
หรือไม่สามารถตรวจสอบได้ว่าไม่มีรอยโรค
ดังกล่าวมาก่อนผ่าตัด หรือตัดมดลูกออกด้วยข้อ
บ่งชี้ดังกล่าว ควรรับการทดสอบแปปจนกระทั่ง
ได้ผลน่าพอใจ และปกติ 3 ครั้งติดต่อกัน และไม่มี
ผลผิดปกติในช่วง 10 ปี
- สตรีที่มีประวัติสัมผัสยา DES ในมดลูก หรือมี
ประวัติการเป็นมะเร็งปากมดลูก ควรรับการ
ตรวจคัดโรคหลังการตัดมดลูกออกแล้ว

New Technologies in Cervical Cancer Screening



รูปภาพแสดง: Targeted spectrum of infection/disease in a screened population by standard and novel screening technologies. CIN: Cervical Intraepithelial Neoplasia; PAP: Papanicolaou; TERC: Telomerase RNA Component; VIA: Visual Inspection with Acetic Acid

ปัจจุบันการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ HPV มีการพัฒนาไปถึงขั้นที่สามารถระบุสายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งปากมดลูกได้

1. HPV genotyping

Polymerase Chain Reaction เฉพาะสายพันธุ์ และหลายสายพันธุ์ (Type specific PCR and Broad-spectrum PCR): Type specific PCR: เป็นการเพิ่มสารพันธุกรรมของเชื้อ HPV สายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่ง โดยออกแบบ primer ให้มีความจำเพาะกับสายพันธุ์นั้น วิธีนี้มีข้อจำกัดที่ ค่าใช้จ่ายสูงเพราะต้องออกแบบ primer ให้จำเพาะกับแต่ละสายพันธุ์ และทำการตรวจหาแต่ละสายพันธุ์โดยทำปฏิกิริยาแยกชุดกัน Broad-spectrum PCR: ปัจจุบันขั้นตอนการเพิ่มจำนวน DNA ของเชื้อ HPV นิยมใช้ PCR ที่ครอบคลุมเชื้อ HPV ได้หลายสายพันธุ์ โดยออกแบบ primer ให้ครอบคลุมเชื้อ HPV หลายสายพันธุ์ เมื่อต้องการระบุสายพันธุ์จะนำผลผลิตของ PCR ที่ได้ไปทำการทดสอบเพิ่มเติม จากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า HPV16 มีศักยภาพในการก่อมะเร็งปากมดลูกสูงที่สุดรองลงมา คือ HPV 18 เชื้อ HPV สายพันธุ์อื่นมีศักยภาพในการก่อมะเร็งค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับเชื้อ HPV



16 และ 18 ดังนั้น การตรวจหาสายพันธุ์ของ HPV ทุกสายพันธุ์ยังไม่เหมาะสมในทางปฏิบัติ การศึกษาประโยชน์ทางคลินิกของการตรวจหาสายพันธุ์ของเชื้อ HPV ในสตรีที่ HPV test ให้ผลบวก ในปัจจุบันให้ความสำคัญของการตรวจหาเชื้อ HPV 16 และ HPV 18 เป็นหลัก

2. HPV mRNA

เมื่อเข้าสู่เซลล์เชื้อ HPV จะทวีจำนวนมากขึ้น และมีการสร้างโปรตีนเข้าจับกับสารพันธุกรรมของเซลล์ที่ติดเชื้อ ได้แก่ โปรตีน E6 และ E7 โดย ส่งผลให้เซลล์ไม่เกิด apoptosis ตามกำหนดและมีการแบ่งตัวไม่จำกัด (proliferation) เนื่องจากการแสดงออกของยีน E6 และ E7 ของเชื้อ HPV เป็นปัจจัยสำคัญทำให้เกิดการกลายรูปและการมีชีวิตยืนยาวของเซลล์ติดเชื้อ ดังนั้นถ้าตรวจพบ mRNA ของ E6 และ E7 ปริมาณสูงสามารถทำนายความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งปากมดลูกได้ Reverse transcriptase PCR (RT-PCR): เป็นวิธี PCR ที่ตรวจหา messenger RNA (mRNA) โดยเปลี่ยน mRNA ของเชื้อ HPV เป็น complementary DNA (cDNA) ด้วยปฏิกิริยา Reverse transcription จากนั้นจึงทำการเพิ่มจำนวน DNA ให้มากขึ้นด้วยหลักการ PCR ทั่วไป

3. HPV viral load

มีการศึกษาพบว่า ปริมาณไวรัส (viral load) ในปากมดลูกมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของรอยโรคภายในเยื่อปากมดลูก ดังนั้นอาจใช้เป็นปัจจัยที่ช่วยพยากรณ์การเกิดมะเร็งปากมดลูกได้^{25,26} เทคนิค PCR ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัย และการตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ เทคนิคนี้ใช้สำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลองได้หลายเท่า ทำให้สามารถตรวจสอบตัวอย่างที่มีดีเอ็นเอปริมาณน้อยได้ อย่างไรก็ตามเทคนิค PCR แบบดั้งเดิม (Conventional PCR) ยังมีข้อจำกัดหลายประการ Real-Time PCR: ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อแก้ไขข้อจำกัด

ต่างๆ ที่ได้กล่าวมาข้างต้นของ conventional PCR โดยใช้การติดฉลากด้วยสารเรืองแสงประเภท Fluorochrome ทำให้สามารถวัดปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายตั้งแต่ต้นจากสิ่งส่งตรวจได้และวัดปริมาณ DNA ที่เพิ่มขึ้นมาได้เกือบจะทันทีโดยไม่จำเป็นต้องรอให้กระบวนการเสร็จสิ้นก่อน และ Real-Time PCR ยังทำในระบบปิดทำให้สามารถป้องกันการปนเปื้อน (ทั้งจากกระบวนการ PCR และ Gel Electrophoresis) ซึ่งเป็นปัญหาหลักของการทำ PCR ได้

4. HPV integration

เมื่อ genome ของเชื้อ HPV ผสมเข้ากับ DNA ของนิวเคลียส จะมีการเพิ่มจำนวน (replication) ของเชื้อ HPV จำนวนมากในนิวเคลียส และมีการกระตุ้นให้เซลล์แบ่งตัวเพิ่มจำนวน (proliferation) ด้วย พบว่า HPV-16 integration ตรวจพบใน high-grade CIN และ invasive cervical cancer²⁷ ข้อจำกัดของการตรวจ HPV viral load และ HPV integration คือ ความซับซ้อน และค่าใช้จ่ายสูง²⁸⁻³⁰

5. p16 enzyme linked immunosorbent assay

ระบบควบคุมที่เรียกว่า p16/CDK4-cyclinD1/pRb cascade เป็นศูนย์กลางการควบคุมที่สำคัญในการเปลี่ยนจาก G1 เข้าสู่ S phase ของ cell cycle เนื่องจากการติดเชื้อ HPV เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดมะเร็งปากมดลูก oncogenic HPV มีการแสดงออกของ E6 และ E7 oncoprotein ซึ่งจะยับยั้ง tumor suppressor protein ชนิด p53 และ pRb ตามลำดับ³¹ ดังนั้นเซลล์ติดเชื้อ high risk HPV อาจมีการเปลี่ยนแปลงหรือสูญเสียการควบคุม cell cycle ของระบบ p16 CDK-cyclin pRb cascade โดยการจับของ E7 oncoprotein กับ pRb เมื่อเกิด inactivated pRb จะมีผลกระตุ้นการแสดงออกของโปรตีน p16 มากขึ้น

6. Methylation markers

มีการศึกษาพบว่าการเกิด DNA methylation ของยีน E2 ใน HPV16 มีลักษณะหลากหลาย และเกี่ยวข้องกับ





การศึกษาดของ DNA ที่เกิดขึ้นเองภายในเซลล์ และจากการศึกษาของ Dray และคณะ³² โดยตรวจ cervical swab หรือ ปัสสาวะในอาสาสมัครที่มาตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกโดยวิธีตรวจ 1-3 methylated gene targets (DRPK1, RARB, and TWIST1 gene) พบว่ามีความจำเพาะต่อ CIN 3 และ cervical cancer ถึง 95-96% แต่ถ้าวการทดสอบให้ผลเป็นบวกเพียง gene เดียว พบว่าค่าความไวและความจำเพาะต่อ CIN3 และ cervical cancer ต่ำกว่าการตรวจ HPV DNA

7. Chromosome abnormalities

จากการศึกษาการตรวจความผิดปกติของโครโมโซมโดยวิธี hybridization พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ Telomerase gene RNA component (TERC) มากกว่า 2 copies บน แขนยาวของโครโมโซมคู่ที่ 3 ซึ่งพบความผิดปกตินี้สูงถึงร้อยละ 77 ในผู้ป่วย invasive cervical cancer³³ TERC FISH (Fluorescence in situ hybridization assays (FISH) targeting the TERC gene) ได้ถูกพัฒนาเพื่อนำมาใช้ในการตรวจร่วมกับ thin-layer หรือ conventional Pap smear จากการศึกษพบว่า TERC FISH สามารถทำนายการเปลี่ยนแปลงจาก CIN/2 เป็น CIN3 และ invasive cervical cancer ได้ โดยมีความไวสูงถึงร้อยละ 100 และความจำเพาะร้อยละ 70 ซึ่งจากการศึกษานี้พบว่า TERC FISH อาจมีประโยชน์ในการติดตามในรายที่ให้ผลบวกในการตรวจ Low grade HPV แต่วิธีการนี้มีข้อจำกัดเนื่องจากขาดเครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่ช่วยในการแปลผล TERC FISH slides

ผลกระทบของ HPV vaccine ต่อโครงการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก

เนื่องจาก HPV 16/18 vaccine ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อ HPV สายพันธุ์ที่เป็นสาเหตุของมะเร็งปากมดลูกได้ทั้งหมด การตรวจคัดกรองโรคจึงมีความจำเป็นอยู่เพื่อตรวจหาโรคที่เกิดจาก HPV ที่เหลืออีกร้อยละ 30 ในอนาคตการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูก

อาจจะเปลี่ยนจากการตรวจทางเซลล์วิทยาเป็นการตรวจหา HPV DNA ที่ปากมดลูกโดยตรง การตรวจคัดกรองโรคอาจจะต้องมีการปรับเปลี่ยนโดยคำนึงถึงความคุ้มค่ามากขึ้น ผลของการฉีด HPV 16/18 vaccine ต่อการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกในอนาคตคาดว่า การตรวจทางเซลล์วิทยาจะมีความไวลดลง ความผิดปกติทางเซลล์วิทยาที่เกิดจากเชื้อ HPV สายพันธุ์อื่นไม่ค่อยน่ากลัวเพราะไม่ค่อยรุนแรง การตรวจหาเชื้อ หรือสายพันธุ์ (Genotype) ของเชื้อ HPV จะเข้ามามีบทบาทมากขึ้นในการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูก

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณนายแพทย์สมอาจ วงศ์สวัสดิ์ ผู้อำนวยการโรงพยาบาลจอมทอง และศาสตราจารย์ นายแพทย์จุฑพล ศรีสมบูรณ์ ที่ช่วยสนับสนุน และให้คำแนะนำในการเขียนบทความครั้งนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM: Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. In: GLOBOCAN 2002, Version 2.0. IARC Cancer Base No. 5. Lyon: IARC Press; 2004. <http://www.dep.iarc.fr/globocan/globocan.htm>.
2. Nieminen P, Kallio M, Hakama M. The effect of mass screening on incidence and mortality of squamous and adenocarcinoma of cervix uteri. Obstet Gynecol 1995; 85: 1017-1021.
3. Warner EE, Mulshine JL. Lung cancer screening with spiral CT: toward a working strategy. Oncology (Williston Park) 2004; 18: 564Y75.





4. Fahey MT, Irwig L & Macaskill P. Meta-analysis of Pap test accuracy. *Am J Epidemiol* 1995; 141: 680-689.
5. McCrory DC, Matchar DB, Bastian L *et al.*. Evaluation of Cervical Cytology. Evidence Report/Technology Assessment no. 5 (Prepared by Duke University under Contract no. 290-97-0014). AHCPR Publication no. 99-E010. Rockville, MD: Agency for Health Care Policy and Research; 1999.
6. Nanda K, McCrory DC, Myers ER *et al.*. Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med* 2000; 132: 810-819
7. Cronje HS, Cooreman BF, Beyer E *et al.*. Screening for cervical neoplasia in a developing country utilizing cytology, cervicography and the acetic acid test. *Int J Gynecol Obstet* 2001; 72: 151-157.
8. Cronje HS, Parham GP, Cooreman BF *et al.*. A comparison of four screening methods for cervical neoplasia in a developing country. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188: 395-400.
9. Bernstein SJ, Sanchez-Ramos L, Ndubisi B. Liquid-based cervical cytologic smear study and conventional Papanicolaou smears: a meta-analysis of prospective studies comparing cytologic sample diagnosis, sample adequacy. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185: 308-17.
10. Guidos BJ, Selvaggi SM. Use of the ThinPrep test in clinical practice. *Diagn Cytopathol* 1999; 20: 70-3.
11. Scottish Cervical Screening Programme. Steering group report on the feasibility of introducing liquid-based cytology (monograph online) Edinburgh: Scottish Cervical Screening Programme, 2002. Available online at <http://www.omni.ac.uk/browse/mesh/detail/C0010818L0010818.html>.
12. National Institute for Clinical Excellence. Final appraisal consultation document: guidance on the use of liquid-based cytology for cervical screening (review of existing guidance Number 5) (monograph online). London: NICE, 2003. Available online at <http://www.nice.org.uk/Docref.asp?d=82877>.
13. Agency for Health Care Policy and Research. Evaluation of cervical cytology: evidence report/technology assessment (no. 5) Rockville, MD: AHCPR, January 1999. Online monograph: <http://www.ahcpr.gov/clinic/epcsums/cervsumm.htm>.
14. Molijn A, Kleter B, Quint W, van Doorn L. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virology* 2005; 32S: S43-S51.
15. Lorincz AT. Hybrid Capture method for detection of human papillomavirus DNA in clinical specimens: a tool for clinical management of equivocal Pap smears and for population screening. *J Obstet Gynaecol Res* 1996; 22: 629-36.
16. Bozzetti M, Nonnenmacher B, Mielzinska I, Villa L, Lorincz A, Breitenbach V, *et al.*. Comparison between Hybrid Capture II and polymerase chain reaction results among women at low-risk for cervical cancer. *Ann Epidemiol* 2000; 10: 466.
17. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, *et al.*. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12-9.





18. Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55: 244-65.
19. Clavel C, Masue M, Bory JP, Putaud I, Mageonjean C, Lorenzato F, *et al.* Human papillomavirus in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women. *Br J Cancer* 2001; 89: 1616-23.
20. Petry KU, Menton S, Menton M, van Loenen-Frosch F, de Carvalho Gomes H, Holz B, *et al.* Inclusion of HPV testing in routine cervical cancer screening for women above 29 years in Germany: results for 8466 patients. *Br J Cancer* 2003; 88: 1570-7.
21. Kulasingam SL, Hughes JP, Kinat NB, Mao C, Weiss NS, Kuypers JM, *et al.* Evaluation of HPV testing in primary screening for cervical abnormalities: comparison of sensitivity, specificity, and frequency of referral. *JAMA* 2002; 288: 1749-55.
22. Meijer CLM, Rozendaal L, vander Linden JC. Human papillomavirus testing for primary cervical screening. In: Franco E, Monsonego J, eds. *New developments in cervical cancer screening and prevention*. Oxford: Blackwell Science, 1997: 338-47.
23. Cuzick J, Szarewski A, Cubie H, Hulman G, Kitchener H, Luesley D, *et al.* Management of women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the HART study. *Lancet* 2003; 362: 1871-6.
24. Robert A. Smith, Vilma Cokkinides and Otis W. Brawley. Cancer screening in the United States, 2009: A review of current American Cancer Society guidelines and issues in cancer screening. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 27-41.
25. Moberg M, Gustavsson I, Gyllenten U. Type-specific association of human papillomavirus load with risk of developing cervical carcinoma in situ. *Int J Cancer* 2004; 112: 854-9.
26. Gravitt PE, Kovacic MB, Herrero R, Schiffman M, Bratti C, Hildesheim A, *et al.* High load for most high risk human papillomavirus genotypes is associated with prevalent cervical cancer precursors but only HPV16 load predicts the development of incident disease. *Int J Cancer* 2007; 121(12): 2787-93.
27. Pett M, Coleman N. Integration of high-risk human papillomavirus: a key event in cervical carcinogenesis? *J Pathol* 2007; 212(4): 356-67.
28. Klaes R, Woerner SM, Ridder R, Wentzensen N, Duerst M, Schneider A, *et al.* Detection of high-risk cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer by amplification of transcripts derived from integrated papillomavirus oncogenes. *Cancer Res* 1999; 59(24): 6132-6.
29. Luft F, Klaes R, Nees M, Durst M, Heilmann V, Melsheimer P, *et al.* Detection of integrated papillomavirus sequences by ligation-mediated PCR (DIPSPCR) and molecular characterization in cervical cancer cells. *Int J Cancer* 2001; 92(1): 9-17.
30. Peitsaro P, Johansson B, Syrjanen S. Integrated human papillomavirus type16 is frequently found in cervical cancer precursors as demonstrated by a novel quantitative real-time PCR technique. *J Clin Microbiol* 2002; 40(3): 886-91.





31. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, Ridder R, Rudy W, Petry U, *et al.*. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer* 2001; 92(2): 276–84.
32. Dray M, Russell P, Dalrymple C, Wallman N, Angus G, Leong A, *et al.*. p16(INK4a) as a complementary marker of high-grade intraepithelial lesions of the uterine cervix. I: Experience with squamous lesions in 189 consecutive cervical biopsies. *Pathology* 2005; 37(2): 112–24.
33. Heselmeyer K, Macville M, Schrock E, Blegen H, Hellstrom AC, Shah K, *et al.*. Advanced-stage cervical carcinomas are defined by a recurrent pattern of chromosomal aberrations revealing high genetic instability and a consistent gain of chromosome arm 3q. *Genes Chromosomes Cancer* 1997; 19(4): 233–40.

