

## HPV ТЕСТ КАО ПРИМАРНИ ТЕСТ СКРИНИНГА У ПРЕВЕНЦИЈИ ЦЕРВИКАЛНОГ КАРЦИНОМА У РЕПУБЛИЦИ ХРВАТСКОЈ

Јасмина Вранеш<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Наставни завод за јавно здравство „Др Андрија Штампар”, Загреб, Хрватска

<sup>2</sup> Медицински факултет, Универзитет у Загребу, Загреб, Хрватска

## HPV TEST AS A PRIMARY SCREENING TEST IN THE PREVENTION OF CERVICAL CARCINOMA IN THE REPUBLIC OF CROATIA

Jasmina Vraneš<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Teaching Institute of Public Health „Dr. Andrija Štampar“, Zagreb, Croatia

<sup>2</sup> Medical School, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

### Сажетак

Сазнање да је перзистентна инфекција хуманим папилома вирусом (HPV) неопходни узрок карцинома глифа материце довела је до промена у стратегијама превенције и ране детекције овог рака које имају за циљ његово искорењивање. Примарна превенција употребом вакцина које спречавају HPV инфекцију спроводи се од 2006. године, док је секундарна превенција рака глифа материце знатно побољшана увођењем HPV теста, било као једине методе примарног скрининга или у комбинацији с Папа тестом. Скрининг заснован на Папа тесту био је несумњиво успешан у смањењу инциденце и морталитета у прошлом веку. У новије време дошло је до постепених промена у употреби HPV теста, од његове употребе као рефлексног теста након детекције благих цитолошких аномалности, преко котестирања, до употребе HPV теста као јединог теста у примарном скринингу захваљујући доказима прикупљеним употребом великих, рандомизованих истраживања и метаанализа. Предности употребе HPV теста у односу на Папа тест укључују вишу осетљивост у откривању премалигних лезија, вишу негативну предиктивну вредност тестирања и безбедно продужење временског интервала између скрининга. Ипак, увођење HPV теста као примарног теста скрининга није тако једноставно и захтева строгу контролу квалитета тестирања и разрађене смернице како би се осигурала оптимална стратегија и спречило додатно оптерећење здравственог система. У овом прегледу приказан је национални програм скрининга цервикалног карцинома у Републици Хрватској, проблеми који су онемогућили започињање пилот пројекта у једној хрватској жупанији одабраној за увођење HPV теста као теста примарног скрининга у превенцији цервикалног карцинома, као и задаци који предстоје у наредном периоду како би се осигурало несметано спровођење пилот пројекта и имплементирао HPV тест као примарни тест скрининга у Хрватској. На основу резултата пилот пројекта неопходно је прецизно дефинисати: старост у којој треба започети и у којој се зауставља примарно тестирање на HPV у програму скрининга на рак глифа материце, интервал прегледа након негативног примарног HPV теста, даље поступке са женама с позитивним примарним HPV тестом, поступке спровођења рефлексног цитолошког тестирања и даље поступање са пациенткињом у складу с тим налазом, могућности и оправданост увођења самоузорковања у склопу програма скрининга на карцином глифа материце базираног на HPV тесту као примарном тесту скрининга, и коначно врсту најпогоднијег HPV теста за примарни скрининг у Хрватској.

### Abstract

The knowledge that persistent infection with the human papillomavirus (HPV) is a necessary cause of cervical cancer has led to changes in strategies for the prevention and early detection of this cancer, with aim to eradicate it. Primary prevention through the use of vaccines that prevent HPV infection has been implemented since 2006, while secondary prevention of cervical cancer has been significantly improved by the introduction of the HPV test, either as the only method of primary screening or in combination with the Pap test. Screening based on the Pap smear has been unquestionably successful in reducing incidence and mortality in the last century. More recently, there have been gradual changes in the use of the HPV test, from its use as a reflex test after the detection of mild cytological abnormalities, through co-testing, to the use of the HPV test as the only test in primary screening thanks to the evidence gathered from the use of large, randomized research and meta-analysis. The advantages of using the HPV test over the Pap test include a higher sensitivity in detecting premalignant lesions, a higher negative predictive value of the test, and a safe extension of the time interval between screenings. However, the introduction of the HPV test as a primary screening test is not so simple and requires strict testing quality control and elaborate guidelines to ensure an optimal strategy and prevent additional burden on the healthcare system. This review presents the national cervical cancer screening program in the Republic of Croatia, the problems that prevented the start of a pilot project in one Croatian county selected for the introduction of the HPV test as a primary screening test in the prevention of cervical carcinoma, and the tasks ahead in the next period which would ensure the smooth implementation of the pilot project and implement the HPV test as the primary screening test in Croatia. Based on the results of the pilot project, it is necessary to precisely define: the age at which primary HPV testing should start and stop in the cervical cancer screening program, the examination interval after a negative primary HPV test, further procedures with women with a positive primary HPV test, the procedures for conducting reflex cytological testing and further treatment of the patient in accordance with the findings, the possibilities and justification of introducing self-sampling as part of the cervical cancer screening program based on the HPV test as the primary screening test, and finally the type of HPV test that is most suitable for the primary screening in Croatia.

**Кључне речи:** програм скрининга рака глифа материце, примарни тест скрининга, HPV тест, смернице

## Увод

Све већи број земаља бира HPV тест за примарни тест скрининга цервикалног карцинома. Основни циљ скрининга је правовремено откривање преканцерозних лезија на грлићу материце као и повећаног ризика за настанак карцинома, а скрининг заснован на HPV тестирању се, у односу на скрининг базиран на цитоморфологији (Папа тести или новијем побољшању – тести текчне цитологије, енгл. *liquid based cytology*, LBC), показао учинковитијим у постизању смањења инциденце и морталитета [1–4]. Кључно је, међутим, одабрати за ту сврху прикладан HPV тест и обезбедити квалитет спровођења скрининг програма како би увођење HPV теста уместо Папа теста резултовало не само смањењем инциденце и морталитета карцинома цервикса, него се и показало финансијски прихватљивим и рационалним приступом у превенцији овог у потпуности превентабилног карцинома.

У овом прегледу укратко је приказан национални програм скрининга цервикалног карцинома у Републици Хрватској (РХ), проблеми који су онемогућили започињање пилот пројекта у једној хрватској жупанији одабраној за увођење HPV теста као теста примарног скрининга у превенцији цервикалног карцинома, као и задаци који предстоје у наредном периоду како би се обезбедило несметано спровођење пилот пројекта и имплементирао HPV тест као примарни тест скрининга у Хрватској.

## Епидемиологија карцинома цервикса и национални програм скрининга у Хрватској

У последњих неколико деценија се број оболелих од малигних неоплазми грлића материце/рака грлића материце у развијеним земљама, па тако и у Хрватској, смањује. Ипак, цервикални карцином је још увек у свету релативно честа и смртоносна болест у женској популацији, са 570.000 новооболелих и више од 311.000 умрлих жена годишње. Према проценама GLOBOCAN-а за 2020. годину цервикални рак је на високом четвртом месту по учсталости и смртности код жена широм света [5]. Инциденца и посебно смртност од ове болести битно се разликује између развијених земаља с вишом приходима и вишом социоекономским статусом у односу на земље низих прихода и низег социоекономског статуса. Највећи удео нових случајева (70%) и смрти (85%) забележен је у земљама ниског или средњег степена развоја [5, 6].

Хрватска као чланица Европске уније (ЕУ) припада групи земаља с низом инциденцом и смртношћу од цер-

## Introduction

An increasing number of countries are choosing the HPV test as the primary screening test for cervical cancer. The basic goal of screening is the timely detection of precancerous lesions on the cervix and the increased risk of cancer, and screening based on HPV testing, compared to screening based on cytromorphology (Pap test or a more recent improvement - the liquid based cytology, LBC test), has proven to be more effective in reducing incidence and mortality [1–4]. However, it is crucial to choose an appropriate HPV test for this purpose and to ensure the quality of the implementation of the screening program so that the introduction of the HPV test instead of the Pap test not only results in a reduction in the incidence and mortality of cervical cancer, but also proves to be a financially acceptable and rational approach to the prevention of this fully preventable cancer.

This review briefly presents the national cervical cancer screening program in the Republic of Croatia (croat. Republika Hrvatska, RH), the problems that prevented the start of a pilot project in one Croatian county selected for the introduction of the HPV test as a primary screening test in the prevention of cervical cancer, and the tasks ahead in the next period in order to ensure the smooth implementation of the pilot project and the HPV test as the primary screening test in Croatia.

## Cervical cancer epidemiology and national screening program in Croatia

In the last few decades, the number of patients with malignant neoplasm of the cervix/cervical cancer in developed countries, including in Croatia, has been decreasing. However, cervical cancer is still a relatively common and deadly disease in the female population worldwide, with 570,000 newly diagnosed cases and more than 311,000 female deaths per year. According to GLOBOCAN estimates for the year 2020, it ranks fourth in frequency and mortality among women worldwide [5]. The incidence and especially mortality from this disease differ significantly between developed countries with higher income and higher socioeconomic status compared to countries with lower income and lower socioeconomic status. The highest proportion of new cases (70%) and deaths (85%) were recorded in countries with a low or medium level of development. [5, 6].

As a member of the European Union (EU), Croatia belongs to the group of countries with lower incidence and mortality from cervical cancer. According to the data from the cancer registry of the Croatian Institute of Public Health (croat. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, HZJZ), in Croatia, an

викалног карцинома. Према подацима Регистра за рак Хрватског завода за јавно здравље (Х3Ј3) у Хрватској од цервикалног карцинома просечно годишње оболи око 300 жена, а умире их око 100 [7]. Од инвазивног карцинома грлића материце у Хрватској су у 2018. години оболеле 274 жене што чини стопу од 13,0 на 100.000 становника (старосно-стандардизована стопа 12,4), а према Извештају о умрлим особама исте године је умрло 125 жена од последица те болести што чини стопу од 5,9 на 100.000 становника (старосно-стандардизована стопа 5,4). Ипак, достигнуте стопе инциденце и смртности не задовољавају савремене могућности и стандарде и још увек нису упоредиве са земљама у којима су исте изразито ниске, као што су скандинавске земље. На пример, у Финској која има сличан број становника стопа инциденце је 4,3 на 100.000, а стопа смртности од цервикалног карцинома је 1,0 на 100.000 [6–9].

Од увођења опортуног скрининга 1950-их година, у Хрватској је, као и у развијеним земљама у свету, тренд стопа цервикалног карцинома у континуираном опадању. У последњих десет година у Хрватској се бележи тренд пада стандардизоване стопе инциденце, док је морталитет стабилан [7]. Ипак, иако морталитет показује стабилно кретање на ниском нивоу, у последње две деценије није забележено смањење (слика 1). Према проценама Европске комисије за 2020. годину, Хрватска се налази на 11. месту од 27 земаља Европске уније по старосно-стандардизованим стопама инциденце и морталитета од цервикалног карцинома. Иако је према подацима Регистра за рак Х3Ј3 у Хрватској рак тела материце на четвртом месту по учесталости оболевања од свих случајева карцинома код жена, рак грлића материце у последњих неколико година више није међу десет најучесталијих врста рака код жена. Ипак, он је код жена старости од 30 до 39 година трећи најчешћи рак (иза рака дојке и штитњаче), а четврти код жена старости од 40 до 49 година (иза рака дојке, штитњаче и јајника) [6, 7].

Након више деценија спровођења опортуног скрининга у Хрватској, у складу са препорукама Савета ЕУ, препозната је потреба увођења организованог скрининга карцинома цервикаса. Препознавши јавноздравствену важност спречавања појаве нових случајева рака грлића материце, смањења смртности од те болести и унапређења резултата опортуног скрининга, Министарство здравља РХ је покренуло израду Националног програма раног откривања рака грлића материце који је Влада РХ усвојила на седници у јулу 2010. године [6]. Крајем 2012. започело је спровођење националног програма организованог скрининга заснованог на цито-

average of 300 women get cervical cancer every year, and about 100 of them die [7]. In 2018, 274 women were diagnosed with invasive cervical cancer in Croatia, which is a rate of 13.0 per 100,000 inhabitants (age-standardized rate 12.4), and according to the Report on Deaths in the same year, 125 women died as a result of the disease, which makes a rate of 5.9 per 100,000 inhabitants (age-standardized rate 5.4). However, the achieved incidence and mortality rates do not meet modern possibilities and standards and are still not comparable to countries where they are extremely low, such as Scandinavian countries. For example, in Finland which has a similar number of inhabitants, the incidence rate is 4.3 per 100,000, and the mortality rate from cervical cancer is 1.0 per 100,000 [6–9].

Since the introduction of opportunistic screening in the 1950s, in Croatia, as well as in developed countries in the world, the trend of cervical cancer rates has been in continuous decline. In the last ten years, there has been a downward trend in the standardized incidence rate in Croatia, while mortality is stable [7]. Nevertheless, although mortality shows a stable movement at a low level, no reduction has been recorded in the last two decades (Figure 1). According to the estimates of the European Commission for the year 2020, Croatia ranks 11th out of 27 countries of the European Union in terms of age-standardized incidence and mortality rates from cervical cancer. Although according to the data of the HZJZ cancer registry in Croatia, cancer of the uterine body ranks fourth in terms of frequency of all cancer cases in women, cervical cancer is no longer among the ten most common cancers in women in the last few years. However, it is the third most common cancer in women aged 30 to 39 (behind breast and thyroid cancer), and the fourth most common in women aged 40–49 (behind breast, thyroid and ovarian cancer) [6, 7].

After several decades of opportunistic screening in Croatia, in accordance with the recommendations of the EU Council, the need to introduce organized cervical cancer screening was recognized. Recognizing the public health importance of preventing the occurrence of new cases of cervical cancer, reducing mortality from this disease, and improving the results of opportunistic screening, the Ministry of Health of the Republic of Croatia initiated the development of the National Program for the Early Detection of Cervical Cancer, which was adopted by the Government of the Republic of Croatia at a session in July 2010 [6]. At the end of 2012, the implementation of the national program of organized screening based on cytology on the target population of women between the ages of 25 and 64 began under the professional coordination of HZJZ. After the first round of calls ended in 2016, the National Cervical Cancer Early Detection Program was temporarily suspended

логији на циљној популацији жена старости између 25 и 64 године под стручном координацијом X3J3. Након првог круга позива који је завршен 2016, национални програм раног откривања рака грлића материце је привремено обустављен ради техничких и инфраструктурних побољшања. У јануару 2018. започело је планирање и припрема унапређења програма гинеколошког скрининга и регионалне имплементације прве фазе реорганизованог програма раног откривања рака грлића материце у једној жупанији (пилот пројекат у Вировитичко-подравској жупанији), с новим приступом који уз Папа тест укључује и имплементацију HPV теста као примарног теста скрининга за жене старије од 30 година. Пилот пројекат је требало да почне 2020. године, али појавом пандемије COVID-19 (енгл. *coronavirus diseases 2019*) активности имплементације пилот пројекта су привремено обустављене (слика 2) [6].

У Хрватској су доступни сви потребни начини превенције и лечења према светским и европским стандардима, но потребно је ојачати поједине интервенције као што је поновно успостављање организованог скрининга рака грлића материце у оквиру националног програма који је привремено обустављен, прво због уочених информатичко-технолошких проблема, а касније и због пандемије COVID-19 [6].

### **Смернице за скрининг рака грлића материце**

Смернице за скрининг се значајно разликују од земље до земље, па премда од 139 земаља које имају скрининг програм њих 48 (35%) у својим смерницама за скрининг рака грлића материце препоручује примарни скрининг базиран на HPV тестирању, чак 109 земаља (78%) још увек скрининг базира на цитологији [10].

Светска здравствена организација (СЗО) је крајем 2020. покренула глобалну иницијативу за елиминацију карцинома цервикса, с имплементацијом стратегије која обједињује три мере интервенције до 2030. године: вакцинација бар 90% девојака у узрасту до 15 година HPV вакцином, скрининг 70% жена HPV тестом до старости од 35 година и поново још једном до старости од 45 година, и лечење бар 90% свих откривених премалигних лезија и инвазивних карцинома [11]. СЗО је за скрининг препоручила HPV тест због доказа о супериорности HPV теста у односу на Папа тест, прикупљених употребом бројних рандомизованих истраживања и метаанализа [1-4]. Предности употребе HPV теста у односу на Папа тест између осталог укључују вишу осетљивост у откривању премалигних лезија, вишу негативну предиктивну вредност тестирања и безбедно продужење временског интервала између скрининга.

for technical and infrastructural improvements. In January 2018, the planning and preparation of the improvement of the gynecological screening program and the regional implementation of the first phase of the reorganized cervical cancer early detection program in one county (pilot project in the Virovitica-Podravina County) began with a new approach that, in addition to the Pap test, also includes the implementation of the HPV test as primary screening test for women over 30 years of age. The pilot project was supposed to start in 2020, but due to the emergence of the COVID-19 pandemic (coronavirus diseases 2019), the implementation activities of the pilot project were temporarily suspended (Figure 2) [6].

In Croatia, all the necessary methods of prevention and treatment according to world and European standards are available, but it is necessary to strengthen certain interventions, such as the re-establishment of organized cervical cancer screening within the framework of the national program that was temporarily suspended, first due to observed information technology problems and later due to the COVID-19 pandemic [6].

### **Cervical cancer screening guidelines**

Screening guidelines vary greatly from country to country, so although out of 139 countries that have a screening program, 48 of them (35%) recommend primary screening based on HPV testing in their cervical cancer screening guidelines, as many as 109 countries (78%) still implements screening based on cytology [10].

At the end of 2020, the World Health Organization (WHO) launched a global initiative to eliminate cervical cancer, with the implementation of a strategy that combines three intervention measures until 2030: vaccination of at least 90% of girls under the age of 15 with the HPV vaccine, screening of 70% of women with HPV test until the age of 35 and again until the age of 45, and treatment of at least 90% of all detected premalignant lesions and invasive cancers [11]. The WHO recommended the HPV test for screening because of the evidence of superiority of the HPV test compared to the Pap test, collected using numerous randomized trials and meta-analyses [1-4]. The advantages of using the HPV test compared to the Pap test include, among other things, a higher sensitivity in detecting premalignant lesions, a higher negative predictive value of the test and a safe extension of the time interval between screenings. However, the implementation of the HPV test as a primary screening test encounters numerous barriers worldwide, from those caused by the lack of technical infrastructure and the poor availability of validated HPV tests in certain countries, to those caused by the

Међутим, имплементација HPV теста као примарног теста скрининга наилази на бројне баријере широм света, од оних које су узроковане недостатком техничке инфраструктуре и слабом доступношћу валидираних HPV тестова у појединим земљама, до оних које су узроковане мишљењем законодавца и постојећом инфраструктуром базираном на цитологији.

Као илустрација може послужити ситуација у Сједињеним Америчким Државама (САД). Нове Америчке препоруке (усаглашено донете од стране три мериторна америчка стручна друштва у априлу 2021. године) на воде употребу HPV тестирања за све жене старости 30 година и старије (од 30 до 65 година), са интервалом скрининга од пет година, уз услов употребе валидиреног HPV теста који је одобрен од америчке Агенције за храну и лекове (FDA, *Food and Drug Administration*) [12–14]. Међутим, нове смернице истовремено за ту старосну групу предвиђају и могућност употребе цитоморфологије у сврху скрининга у интервалима од три године, као и котестирање односно употребу комбинације HPV теста и цитологије сваких пет година. То образлажу лимитираним могућностима употребе валидираних HPV тестова у појединим подручјима, посебно у руралним подручјима и онима нижег социоекономског степена развоја, као и малим бројем до сада одобрених HPV тестова за примарни скрининг, док је број доступних HPV тестова за које је FDA дао одобрење и који су валидирани за котестирање ипак већи, будући да САД има традицију котестирања.

Док се Америчке и Европске смернице слажу у препорукама за младе жене до 30 година, где би употреба HPV теста резултовала детекцијом у тој доби најчешће пролазне HPV инфекције, па се зато препоручује скрининг заснован на цитиологији а тек се рефлексно тестирање (тријажа позитивних младих жена) спроводи HPV тестом, Европске смернице из 2015. године не препоручују котестирање ни у једној старосној групи [15]. Те смернице нису обавезујуће за земље ЕУ, оне су донете на нивоу препорука али не и законодавства, па свака земља у зависности од својих специфичности, могућности и инфраструктуре доноси своје смернице. Стога су и у ЕУ, као у САД, присутне разлике у програмима скрининга појединих земаља.

Земља која је у Европи најуспешније трансформисала свој програм скрининга цервикалног карцинома, од оног базираног на цитологији у скрининг базиран на HPV тестирању, је Холандија [16]. Од почетка 2017. програм се у овој земљи спроводи тако да узорке узима лекар опште праксе или се узорак прикупља самоузорковањем ако се жена није одазвала на претходни

opinion of legislators and the existing infrastructure based on cytology.

The situation in the United States of America (USA) can serve as an illustration. New American recommendations (consensually adopted by three meritorious American professional societies in April 2021) recommend the use of HPV testing for all women aged 30 years and older (from 30 to 65 years), with a screening interval of five years, with the condition of using a validated HPV test approved by the US Food and Drug Administration (FDA) [12-14]. However, for that age group, the new guidelines at the same time foresee the possibility of using cytomorphology for the purpose of screening at intervals of three years, and co-testing, i.e. the use of a combination of HPV test and cytology every five years. This is explained by the limited possibilities of using validated HPV tests in certain areas, especially in rural areas and those with a lower socioeconomic level of development, and the small number of HPV tests approved so far for primary screening, while the number of available HPV tests approved by the FDA and which are validated for co-testing is still higher, since the USA has a tradition of co-testing.

While the American and European guidelines agree in the recommendations for young women up to 30 years of age, where the use of the HPV test would result in the detection of the most common transient HPV infection at that age, therefore screening based on cytology is recommended and only reflex testing (triage of positive young women) should be performed with the HPV test, European guidelines from 2015 do not recommend co-testing in any age group [15]. EU countries are not obliged to apply these guidelines, they were adopted at the level of recommendations but not legislation, so each country, depending on its specificities, possibilities and infrastructure, adopts its own guidelines, and therefore there are differences in the screening programs in the EU as well as in the USA between countries.

The country that most successfully transformed its cervical cancer screening program in Europe, from one based on cytology to one based on HPV testing, is the Netherlands [16]. Since the beginning of 2017, the HPV-based program has been implemented in this country so that the samples are taken by a general practitioner or the sample is collected by self-sampling if the woman did not respond to the previous call. Cytology is used in women older than 29 years as a triage test after a positive HPV test (immediately and after 6-12 months). Only five laboratories in the Netherlands are accredited for HPV-testing, with the requirement that they have a minimum of 450 HPV tests per day (in contrast to the previous 40 laboratories when

позив. Цитологија се употребљава код жена старијих од 29 година као тријажни тест након позитивног HPV тесла (одмах и након 6–12 месеци). Само пет лабораторија у Холандији је акредитовано за HPV тестирање и дневно морају имати минимално 450 узорака (за разлику од пређашњих 40 лабораторија када је скрининг био базиран на цитологији), а набавка теста и потрошног материјала за самоузорковање је централизована, објављује се годишњи национални тендер чиме се постиже једнака цена потрошног материјала у свих пет овлашћених лабораторија, али обезбеђује и употреба истог валидираног HPV тесла у читавој земљи [16, 17].

У Хрватској су смернице за скрининг на цервикалне интраепителне лезије Хрватског друштва за гинекологију и акушерство и других сродних друштава Хрватског лекарског друштва донете још 2012. године и предвиђају употребу HPV тесла у сврху примарног скрининга, али су алгоритми у смерницама направљени према скринингу базираном на цитологији [18]. Биће потребно да се у новим смерницама узме у обзир напредак у молекуларној дијагностици и употреби HPV теслова нове генерације који су већ од 2009. године присутни у клиничкој пракси у Хрватској, а стратификују ризик за настанак премалигне лезије и инвазивног карцинома цервикса јер детектују генотипове са највишим онкогеним потенцијалом засебно, издвојено из групе високоризичних генотипова HPV-а. Организовани скрининг је обустављен и спроводиће се поново након анализе резултата пилот пројекта у Вировитичко-подравској жупанији. ХЗЗО је израдио опсежан приручник за реализаторе пилот пројекта у коме се између осталог наводе и нови алгоритми скрининга у зависности од старосних група, и уводи се скрининг базиран на HPV тестирању [6]. У циљу обезбеђења квалитета као реализација HPV тестирања пилот пројекта предвиђен је Наставни завод за јавно здравље „Др Андрија Штампар”, као до сада једина акредитована лабораторија за HPV тестирање у РХ са уведеним системом квалитета по стандарду ISO 15189:2012, са капацитетима обраде > 450 теслова дневно.

### **Пилот пројект у Вировитичко-подравској жупанији**

Спровођење пилот пројекта је одложено због пандемије COVID-19, јер су сви дијагностички ресурси били потребни у пандемији. Међутим, пандемија COVID-19 имала је и позитиван учинак на инфраструктурне капаците и значајно је повећала технолошке могућности свих лабораторија клиничке микробиологије у земљи. Захваљујући уређајима високе проточности, који су набављени због пандемије, организација HPV тестирања у оквиру спровођења националног програма скрининга

screening was based on cytology), and the procurement of the test and consumables for self-sampling is centralized, an annual national tender is published which achieves the same price of consumables in all five authorized laboratories, but also ensures the use of the same validated HPV test throughout the country [16, 17].

In Croatia, the guidelines for screening for cervical intraepithelial lesions of the Croatian Society of Gynecology and Obstetrics and other related societies of the Croatian Medical Association were adopted in 2012 and foresee the use of the HPV test for the purpose of primary screening, but the algorithms in the guidelines are based on screening based on cytology [18]. The new guidelines will need to take into account progress in molecular diagnostics and the use of new generation HPV tests, which have been present in clinical practice in Croatia since 2009, and stratify the risk for the occurrence of premalignant lesions and invasive cervical cancer because they detect and report the genotypes with the highest oncogenic potential separately from the group of high-risk HPV genotypes. The organized screening has been suspended and will be carried out again after the analysis of the results of the pilot project in Virovitica-Podravina County. HZZO created an extensive manual for the implementers of the pilot project, which, among other things, lists new screening algorithms depending on age groups, and introduces screening based on HPV testing [6]. In order to ensure quality, the Teaching Institute for Public Health "Dr. Andrija Štampar", as so far the only accredited laboratory for HPV testing in the Republic of Croatia with an introduced quality system according to the ISO 15189:2012 standard, with the processing capacity of > 450 tests per day, was selected.

### **Pilot study in Virovitica-Podravina County**

Implementation of the pilot project was postponed due to the COVID-19 pandemic, as all diagnostic resources were needed during the pandemic. However, the COVID-19 pandemic also had positive effects on infrastructural capacities and significantly increased the technological capabilities of all clinical microbiology laboratories in the country. Thanks to the high-throughput devices, which were acquired due to the pandemic, the organization of HPV testing within the implementation of the national screening program and the transformation of screening based on cytology into screening based on HPV testing will be much easier.

Before the introduction of new guidelines for cervical cancer screening, the following should be well defined: the age at which primary HPV testing should be started and stopped in cervical cancer screening program, the examination interval after a negative primary HPV test, further

и трансформација скрининга базираног на цитологији у скрининг базиран на HPV тестирању биће знатно лакша.

ПРЕ УВОЂЕЊА НОВИХ СМЕРНИЦА И ЗАПОЧИЊАЊА ОРГАНИЗОВАНОГ СКРИНИНГА ЗА РАК ГРЛИЋА МАТЕРИЦЕ БАЗИРАНОГ НА HPV ТЕСТИРАЊУ У ХРВАТСКОЈ, НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ПИЛОТ ПРОЈЕКТА НЕОПХОДНО јЕ ПРЕЦИЗНО ДЕФИНИСАТИ: СТАРОСТ У КОЈОЈ ТРЕБА ЗАПОЧЕТИ И У КОЈОЈ СЕ ЗАУСТАВЉА ПРИМАРНО ТЕСТИРАЊЕ НА HPV У ПРОГРАМУ СКРИНИНГА ЦЕРВИКАЛНОГ КАРЦИНОМА, ИНТЕРВАЛ ПРЕГЛЕДА НАКОН НЕГАТИВНОГ ПРИМАРНОГ HPV ТЕСТА, РЕФЛЕКСНО ЦИТОЛОШКО ТЕСТИРАЊЕ И ДАЉЕ ПОСТУПАЊЕ СА ПАЦИЈЕНТКИЊОМ У СКЛАДУ С ТИМ НАЛАЗОМ, МОГУЋНОСТ И ПОТРЕБУ УВОЂЕЊА САМОУЗОРКОВАЊА У СКЛОПУ ПРОГРАМА СКРИНИНГА ПОМОЋУ ПРИМАРНОГ HPV ТЕСТИРАЊА И НА КРАЈУ ИЗБОР HPV ТЕСТА КОЈИ јЕ НАЈПОГОДНИЈИ ЗА ПРИМАРНИ СКРИНИНГ РАКА ГРЛИЋА МАТЕРИЦЕ И НАЧИН ЊЕГОВЕ ПРИМЕНЕ НА ТЕРЕНУ.

### Избор HPV теста у сврху примарног скрининга

Данас доступни HPV тестови заснивају се на молекуларној технологији, а најчешће се користи реакција ланчаном полимеразом (енгл. *polymerase chain reaction*, PCR), а као циљна секвенца користи се одсечак ДНК гена за L1 и/или E6/E7. Мањи део тестова користи за циљну секвенцу PHK E6/E7 и друге врсте молекуларне технологије (нпр. амплификацију сигнала након хибридизације). Иако данас на тржишту постоји више од 250 доступних различитих HPV тестова, само је мали део њих (мање од 10%) прошао аналитичку и/или клиничку евалуацију са резултатима објављеним у рецензираној литератури [19]. Како HPV тестови не би требало да пролазе протоколе валидације базиране на великим клиничким истраживањима, 2009. године је група међународних експерата поставила смернице (тзв. Мејјерови захтеви) за валидацију HPV тестова који се могу користити у скринингу рака грлића материце [20]. Неколико година касније покренута је и VALGENT (*VALidation of HPV GENotyping Tests*) иницијатива, која осим што омогућава валидацију тестова за HPV генотипизацију, знатно олакшава и прикупљање потребног броја узорака коришћењем VALGENT панела [21]. Свега десетак HPV тестова задовољава ове постављене клиничке захтеве, па би се само они смели користити као тестови за скрининг рака грлића материце [22, 23]. Већина ових валидираних тестова омогућава ограничenu генотипизацију (засебна типизација само за типове с највишим онкогеним потенцијалом – HPV 16/18 или HPV 16/18/45, док се за остале високоризичне генотипове добије групни резултат), а само неколико њих омогућава проширену или чак потпуну генотипизацију (појединачна генотипизација свих високоризичних HPV

procedures with women in whom a positive primary HPV test was detected, reflex cytological testing and further treatment of the patient in accordance with the findings, the possibilities and justification of introducing self-sampling as part of the cervical cancer screening program based on the HPV test as the primary screening test, and finally the type of HPV test that is most suitable for the primary screening in Croatia and the method of its application in the field.

### Choosing an HPV test for primary screening purposes

The HPV tests available today are based on molecular technology, and the polymerase chain reaction (PCR) is most often used, and the target sequence is a section of the DNA gene for L1 and/or E6/E7. A smaller part of the tests uses the E6/E7 RNA target sequence and other types of molecular technology (e.g. signal amplification after hybridization). Although there are more than 250 different HPV tests available on the market today, only a small fraction of them (less than 10%) have undergone analytical and/or clinical evaluation with results published in the peer-reviewed literature [19]. Since HPV tests should not undergo validation protocols based on large clinical research, in 2009 a group of international experts set guidelines (so-called Meijer's requirements) for the validation of HPV tests that can be used in cervical cancer screening [20]. A few years later, the VALGENT (VALidation of HPV GENotyping Tests) initiative was launched, which, in addition to enabling the validation of HPV genotyping tests, significantly facilitates the collection of the required number of samples using the VALGENT panel [21]. Only a dozen of HPV tests meet these clinical requirements, and only they should be used as cervical cancer screening tests [22, 23]. Most of these validated tests allow limited genotyping (separate typing only for types with the highest oncogenic potential - HPV 16/18 or HPV 16/18/45, while for other high-risk genotypes a collective result is obtained), and only a few of them allow extended or even complete genotyping (individual genotyping of all high-risk HPV genotypes).

There are only a few HPV tests that have so far received the approval of the US Food and Drug Administration (FDA) for cervical cancer screening in co-testing with cytology [1. Digene Hybrid Capture 2 (HC2) High-Risk HPV DNA Test, Qiagene, Inc.; 2. Cervista HPV HR with reflex test Cervista HPV 16/18, Hologic, Inc.; 3. COBAS 4800 HPV Test, Roche Molecular Systems, Inc.; 4. APTIMA HPV Reflex Assay APTIMA HPV 16 18/45 Genotype Assay, Gen-Probe/Hologic, Inc.; 5. BD ONCLARITY HPV ASSAY, Becton, Dickinson and Co. and 6. COBAS 6800/8800 HPV test, Roche Molecular Systems, Inc.], while only three have FDA approval to be used as a primary test in cervical cancer screening [1. COBAS 4800 HPV Test, Roche Molecular Systems, Inc.; 2. BD ONCLARITY HPV ASSAY,

генотипова).

Свега је неколико HPV тестова до сада добило одобрење Америчке агенције за храну и лекове (FDA) за скрининг рака грила материце у котестирању с цитологијом [1. *Digene Hybrid Capture 2 (HC2) High-Risk HPV DNA Test, Qiagene, Inc.*; 2. *Cervista HPV HR* с refleksnim testом *Cervista HPV 16/18, Hologic, Inc.*; 3. *COBAS 4800 HPV Test, Roche Molecular Systems, Inc.*; 4. *APTIMA HPV Assay* с refleksним testом *APTIMA HPV 16 18/45 Genotype Assay, Gen-Probe/Hologic, Inc.*; 5. *BD ONCLARITY HPV ASSAY, Becton, Dickinson and Co.* i 6. *COBAS 6800/8800 HPV test, Roche Molecular Systems, Inc.*], док их само три поседује и FDA одобрење да се у скринингу карцинома грила материце користе као примарни тест [1. *COBAS 4800 HPV Test, Roche Molecular Systems, Inc.*; 2. *BD ONCLARITY HPV ASSAY, Becton, Dickinson and Co.* i 3. *COBAS 6800/8800 HPV Test, Roche Molecular Systems, Inc.*].

Европске смернице из 2015. године и Европска комисија захтевају да се код скрининга HPV тестирањем употребљава валидирани тест и то у акредитованој лабораторији (са уведеним системом квалитета по стандарду ISO 15189:2012) која изводи најмање 10.000 HPV тестирања годишње [15].

## Закључак

Опортуни скрининг даје лошије резултате у превенцији рака грила материце него организовани скрининг, а без обзира на стратегију скрининга која се употребљава у националном програму кључна је његова конзистентна примена. При томе су и обухват и контрола квалитета једнако важни и представљају главне изазове на путу елиминације карцинома грила материце. Неопходно је што скорије започети планирани пилот програм у Хрватској и поновно започети организовани скрининг настављањем националног програма започетог 2012. године, након доношења нових смерница скрининга базираних на HPV тесту као примарном тесту скрининга.

Пред HPV заједницом даљи велики изазови укључују дефинисање и испуњење захтева за валидацијом HPV тестова намењених узорцима добијеним самоузорковањем, као и оних намењених другим индикацијама (осим за скрининг цервикалног карцинома), те сходно томе другим врстама узорака (узорци прикупљени из орофарингеалне, аналне и перианалне регије, итд).

Becton, Dickinson and Co. and 3. COBAS 6800/8800 HPV Test, Roche Molecular Systems, Inc.].

The European guidelines from 2015 and the European Commission require that a validated test be used for HPV testing in an accredited laboratory (with an introduced quality system according to ISO 15189:2012) that conducts at least 10,000 HPV tests per year [15].

## Conclusion

Opportunistic screening produces inferior results in the prevention of cervical cancer in comparison to organized screening, and regardless of the screening strategy used in the national program, its consistent application is essential. At the same time, coverage and quality control are equally important, and represent the main challenges on the way to eliminating cervical cancer. It is necessary to start the planned pilot program in Croatia as soon as possible and start organized screening again by continuing the national program started in 2012, after the adoption of new screening guidelines based on the HPV test as the primary screening test.

Further major challenges facing the HPV community include defining and fulfilling the requirements for the validation of HPV tests intended for samples obtained by self-sampling, as well as those intended for other indications (except for cervical cancer screening), and accordingly for other types of samples (samples collected from the oropharyngeal, anal and perianal region, etc.).

## Литература / References

1. Mayrand M-H, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter S, Hanley J, Ferenczy A, et al.. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med* 2007; 357: 1579-88. doi: 10.1056/NEJMoa071430. Available at: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa071430>. Retrieved: August 27, 2022.
2. Ronco G, Dillner J, Elfstrom KM, Tunesi S, Snijders PJ, Arbyn M, Kitchener H, et al. G. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials. *Lancet* 2014; 383: 524-532. doi: 10.1016/S0140-6736(13)62218-7. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0140673613622187>. Retrieved: August 27, 2022.
3. Wright TC, Stoler MH, Behrens CM, Sharma A, Zhang G, Wright TL. Primary cervical cancer screening with human papillomavirus: end of study results from the ATHENA study using HPV as the first-line screening test. *Gynecol Oncol* 2015; 136: 189-97. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.11.076. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0090825814015492>. Retrieved: August 27, 2022.
4. Veijalainen O, Kares S, Kujala P, Vuento R, Osuala V, Tirkkonen M, et al. Implementation of HPV-based cervical cancer screening in an organised regional screening programme: 3 years of experience. *Cytopathology* 2019; 30: 150-6. doi: 10.1111/cyt.12652. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/cyt.12652?src=getftr>. Retrieved: August 27, 2022.
5. Sung H, Ferlay JF, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *Ca Cancer Clin* 2021; 71: 209-49. Available at: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21660>. Retrieved: August 27, 2022.
6. Nemet Blažić T, ur. Prevencija raka vrata maternice u provedbi programa ranog otkrivanja raka vrata maternice. Priručnik za provoditelje i ostale suradnike za rad u ginekološkim programima probira. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, HZJZ. Zagreb, 2021. Available at: [https://necurak.hzjz.hr/wp-content/uploads/2020/11/Prirucnik-prevencija-raka-vrata-maternice\\_web.pdf](https://necurak.hzjz.hr/wp-content/uploads/2020/11/Prirucnik-prevencija-raka-vrata-maternice_web.pdf). Retrieved: August 27, 2022.
7. Registar za rak. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, HZJZ. Available at: <https://www.hzjz.hr/tag/registar-za-rak/> Retreived: August 27, 2022.
8. Arbyn M, Gultekin M, Morice P, Nieminen P, Cruickshank M, Poortmans P, et al. The European response to the WHO call to eliminate cervical cancer as a public health problem. *Int J Cancer* 2021; 148: 277-84. doi: 10.1002/ijc.33189. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ijc.33189>. Retrieved: August 27, 2022.
9. Cervical cancer burden in EU-27. European Commission, 2021. Available at: [https://ecis.jrc.ec.europa.eu/pdf/factsheets/cervical\\_cancer\\_en-Nov\\_2021.pdf](https://ecis.jrc.ec.europa.eu/pdf/factsheets/cervical_cancer_en-Nov_2021.pdf). Retrieved: August 27, 2022.
10. Bruni L, Serrano B, Roura E, Alemany L, Cowan M, Herrero R, et al. Cervical cancer screening programmes and age-specific coverage estimates for 202 countries and territories worldwide: a review and synthetic analysis. *Lancet Glob Health* 2022; 10: e1115-27. doi: 10.1016/S2214-109X(22)00241-8. Available at: [https://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X\(22\)00241-8/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X(22)00241-8/fulltext). Retrieved: August 27, 2022.
11. World Health Organization. WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention, second edition. WHO 2021. Available at: <https://www.who.int/publications/item/9789240030824>. Retrieved: August 27, 2022.
12. Fontham ET, Wolf AM, Church TR, Etzioni R, Flowers CR, Herzig A, et al. Cervical cancer screening for individuals at average risk: 2020 guideline update from the American Cancer Society. *CA Cancer J Clin* 2020; 70: 321-46. Available at: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21628>. Retrieved: August 27, 2022.
13. Updated cervical cancer screening guidelines. Practice Advisory, The American College of Obstetricians and Gynecologists, ACOG. April 2021. Available at: <https://www.acog.org/clinical/clinical-guidance/practice-advisory/articles/2021/04/updated-cervical-cancer-screening-guidelines>. Retrieved: August 27, 2022.

14. Curry SJ, Krist AH, Owens DK, Barry MJ, Caughey AB, Davidson KW, et al. Screening for cervical cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. U.S. Preventive Services Task Force. JAMA 2018; 320: 674–86. Available at: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2697704>. Retrieved: August 27, 2022.
15. von Karsa I, Arbyn M, De Vuyst H, Dillner J, Franceschi S, Patnick J, et al. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Summary of the supplements on HPV screening and vaccination. Papillomavirus Res 2015; 1: 22-32. doi: 10.1016/j.pvr.2015.06.006. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405852115000129> Retrieved: August 27, 2022.
16. Polman NJ, Snijders PJF, Kenter GG, Berkhof J, Meijer CJLM. HPV-based cervical screening: rationale, expectations and future perspectives of the new Dutch screening programme. Prev Med 2019; 119: 108-117. doi: 10.1016/j.ypmed.2018.12.021. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091743518304006>. Retrieved: August 27, 2022.
17. Wang W, Arca E, Sinha A, Hartl K, Houwing N, Kothari S. Cervical cancer screening guidelines and screening practices in 11 countries: A systematic literature review. Prev Med Reports 2022; 28: 101813. doi: 10.1016/j.pmedr.2022.101813. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211335522001206>. Retrieved: August 27, 2022.
18. Cervikalne intraepitelne lezije - S3 stručne smjernice za dijagnostiku i lijeчењe cervikalne intraepitelnih lezija. Zagreb: Hrvatski liječnički zbor, Hrvatsko društvo za ginekologiju i opstetriciju, studeni 2012. Available at: <https://www.hdgo.hr/Default.aspx?sifraStranica=642>. Retrieved: August 27, 2022.
19. Poljak M, Kocjan BJ, Oštrbenk A, Seme A. Commercially available molecular tests for human papillomaviruses (HPV): 2015 update. J Clin Virol 2016; 76 (Suppl 1): S3-S13. doi: 10.1016/j.jcv.2015.10.023. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1386653215007283>. Retrieved: August 27, 2022.
20. Meijer CJ, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, Franco EL, Ronco G, et al. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. Int J Cancer 2009; 124: 516-20. doi: 10.1002/ijc.24010. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ijc.24010?src=getftr>. Retrieved: August 27, 2022.
21. Arbyn M, Depuydt C, Benoy I, Bogers J, Cuschieri K, Schmitt M, et al. VALGENT: a protocol for clinical validation of human papillomavirus assays. J Clin Virol 2016; 76 (Suppl 1): S14-S21. doi: 10.1016/j.jcv.2015.09.014. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1386653215006836>. Retrieved: August 27, 2022.
22. Maver PJ, Poljak M. Primary HPV-based cervical cancer screening in Europe: implementation status, challenges, and future plans. Clin Microbiol Infect 2020; 26: 579-83. doi: 10.1016/jcmi.2019.09.006. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X19304914>. Retrieved: August 27, 2022.
23. Arbyn M, Simon M, Peeters E, Xu L, Meijer CJLM, Berkhof J, et al. 2020 list of human papillomavirus assays suitable for primary cervical cancer screening. Clin Microbiol Infect 2021; 27: 1083-95. doi: 10.1016/j.cmi.2021.04.031. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X21002196>. Retrieved: August 27, 2022.



#### Кореспонденција / Correspondence

Јасмина Вранеш - Jasmina Vraneš  
[jasmina.vrane@stampar.hr](mailto:jasmina.vrane@stampar.hr)