

Nutzen der partiellen HPV-Genotypisierung nach Konisation zervikaler Dysplasien

The Value of Partial HPV Genotyping After Conization of Cervical Dysplasias

Autoren

Kristin Friebe, Rüdiger Klappdor, Peter Hillemanns, Matthias Jentschke

Institut

Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe,
Medizinische Hochschule Hannover, Hannover

Schlüsselwörter

Konisation, humanes Papillomvirus, zervikale intraepitheliale Neoplasie, HPV-Genotypisierung

Key words

conization, human papilloma virus, cervical intraepithelial neoplasia, HPV-genotyping

eingereicht 12.3.2017

revidiert 31.5.2017

akzeptiert 29.6.2017

Bibliografie

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0043-115395>
Geburtsh Frauenheilk 2017; 77: 887–893 © Georg Thieme
Verlag KG Stuttgart · New York | ISSN 0016-5751

Korrespondenzadresse

Dr. med. Matthias Jentschke
Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe,
Medizinische Hochschule Hannover
Carl-Neuberg-Straße 1, 30625 Hannover
Jentschke.Matthias@mh-hannover.de

ZUSAMMENFASSUNG

Einleitung In dieser retrospektiven Studie wurde die partielle Genotypisierung humaner Papillomviren (HPV) mithilfe des Abbott RealTime HighRisk HPV Tests (RealTime) verglichen mit dem einfachen HPV-Nachweis (Qiagen Hybrid Capture 2 Test; hc2) zur Vorhersage eines Rezidivs in der 1. Follow-up-Untersuchung nach Konisation bei zervikaler intraepithelialer Neoplasie (CIN).

Methodik Es wurden 144 Frauen eingeschlossen, die im Zeitraum von Januar 2007 bis Dezember 2013 aufgrund einer CIN einer Konisation unterzogen wurden. Der HPV-Status wurde präoperativ, sowie zur 1. Follow-up-Untersuchung bei 103 Frauen mit hc2 und bei 41 Frauen mit RealTime ermittelt.

Von einem Rezidiv bzw. einer persistierenden CIN wurde ausgegangen bei histologisch gesicherter CIN2+ oder vergleichbarem zytologischem Befund.

Ergebnisse Von 144 Frauen mit vollständigen Daten hatten 12 (8,3%) ein Rezidiv nach Konisation. Eine HPV-Persistenz im Follow-up korrelierte signifikant mit einem Rezidiv (hc2: $p = 0,003$ bzw. RealTime: $p = 0,003$) bei hoher Sensitivität bzw. Spezifität (hc2 = 100 bzw. 78,4%; RealTime = 75,0 bzw. 83,9%). Während der positiv prädiktive Wert der alleinigen HPV-Testung für ein Rezidiv relativ niedrig lag (hc2 16%; RealTime 54,5%), stieg dieser bei HPV-16-Nachweis im Follow-up auf 80% an.

Schlussfolgerung Im Follow-up nach Konisation einer CIN liefert eine Kombination aus Hochrisiko-HPV-Nachweis und partieller Genotypisierung von HPV 16 sehr gute Testgütekriterien für ein Rezidiv bzw. eine Persistenz der CIN.

ABSTRACT

Introduction In this retrospective study partial genotyping of human papilloma viruses (HPV) using the Abbott RealTime HighRisk HPV Test (RealTime) was compared with simple HPV detection (Qiagen Hybrid Capture 2 Test; hc2) for recurrence prediction at the first follow-up examination after conization of cervical intraepithelial neoplasia (CIN).

Methods 144 women who had undergone conization for CIN between January 2007 and December 2013 were included. HPV status was determined preoperatively and at first follow-up using hc2 in 103 women and RealTime in 41 women. Recurrent or persistent CIN was assumed when CIN2+ was confirmed histologically or on comparable cytology findings.

Results Of the 144 women with complete data 12 (8.3%) had a recurrence after conization. HPV persistence at follow-up correlated significantly with recurrence (hc2: $p = 0.003$; RealTime: $p = 0.003$) and both sensitivity and specificity were high (hc2 = 100 and 78.4% respectively; RealTime = 75.0 and 83.9%). Whereas isolated HPV testing had a relatively low positive predictive value for recurrence (hc2 16%; RealTime 54.5%), this rose to 80% with HPV 16 detection at follow-up.

Conclusion At follow-up after conization of CIN the combination of high risk HPV detection and partial genotyping of HPV 16 constitutes excellent diagnostic criteria for recurrence/persistence of CIN.

Einleitung

In über 99% der Fälle sind hochgradige zervikale intraepitheliale Neoplasien (CIN) und Zervixkarzinome (CC) mit einer Infektion durch Hochrisikotypen der humanen Papillomviren (hr-HPV) assoziiert. Die International Agency for Research on Cancer (IARC) ordnet 12 (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 und 59) der 150 HPV-Typen in Klasse-1-Karzinogene ein. Die Genotypen 16 und 18 zählen zu den häufigsten weltweit und werden in über 70% der Plattenepithelkarzinome (85% der CC) sowie in über 80% der Adenokarzinome und adenosquamösen Karzinome (15% der CC) vorgefunden [1–4].

Die Präkanzerosen des Zervixkarzinoms, CIN und Adenocarcinoma in situ (AIS), können effektiv mittels verschiedener chirurgischer Interventionen bzw. Laserablationen (ektozervikale CIN) behandelt werden [5–7]. Die Schlingenexzision ist das am häufigsten genutzte Verfahren und ermöglicht gegenüber beispielsweise der Laserablation zusätzlich die Gewinnung eines Konisats und damit die histologische Aufarbeitung des Gewebes sowie die Beurteilung des Resektionsrands endo- sowie ektozervikal [8, 9].

Trotz der chirurgischen Intervention treten Residuen bzw. Rezidive in 5 bis 25% der Fälle nach Konisation einer CIN-3-Läsion auf. Dies wird zum einen auf eine Non-in-sano-Resektion und zum anderen auf eine persistierende oder neuerworbene HPV-Infektion zurückgeführt [10].

Daher sind Follow-up-Untersuchungen essenziell und es werden Nachweisverfahren mit hoher Sensitivität und Spezifität für ein Rezidiv benötigt. Die derzeitige Empfehlung der American Society for Colposcopy and Cervical Pathology (ASCCP) ist die kombinierte Testung von Zytologie und HPV-Status (sog. Co-Testing) 12 und 24 Monate nach Konisation bei CIN2+ [11]. Laut der aktuellen deutschen S3-Leitlinie (Konsultationsfassung) sollte 6, 12 und 24 Monate nach Konisation ein Co-Testing durchgeführt werden. Sofern diese 3 Co-Testings negativ ausfallen, kann zum Routinescreening zurückgekehrt werden. Bei positivem Co-Testing hingegen sollte eine differenzierte Kolposkopie erfolgen [12].

Zur Detektion des HPV-Status war der Hybrid Capture 2 HPV DNA Test (hc2; Qiagen, Hilden, Deutschland) in der vergangenen Dekade der weltweit am häufigsten klinisch eingesetzte HPV-Test und auch in Studien meist das primäre Verfahren zur hr-HPV-Detektion [13–15]. Außerdem fungiert der hc2 als Standard-HPV-Test zur Evaluierung neuer HPV-Testverfahren, deren jeweilige Tauglichkeit durch eine Nichtunterlegenheit u. a. in klinischer Sensitivität und Spezifität gegenüber des hc2 bewiesen werden muss [15, 16].

Diese Nichtunterlegenheit des Abbott RealTime High Risk HPV Tests (RealTime; Abbott, Wiesbaden, Deutschland), ein PCR-basiertes HPV-Nachweisverfahren, wurde u. a. in den Studien von Poljak et al. [17] und Carozzi et al. [18] gezeigt.

Das Ziel dieser retrospektiven Studie war die Evaluierung beider oben genannter Testverfahren im Hinblick auf die Vorhersage eines Rezidivs einer CIN nach Konisation. Wir prüften in diesem Zusammenhang speziell den partiellen Infektionsverlauf von HPV 16, d. h. die Persistenz, die mittels RealTime nachgewiesen wurde, hinsichtlich der Rezidivvorhersage. Des Weiteren betrachteten wir das Potenzial des Co-Testings von Zytologie und HPV-Infektionsverlauf bezüglich der Vorhersage eines Rezidivs.

Material und Methoden

Studienpopulation

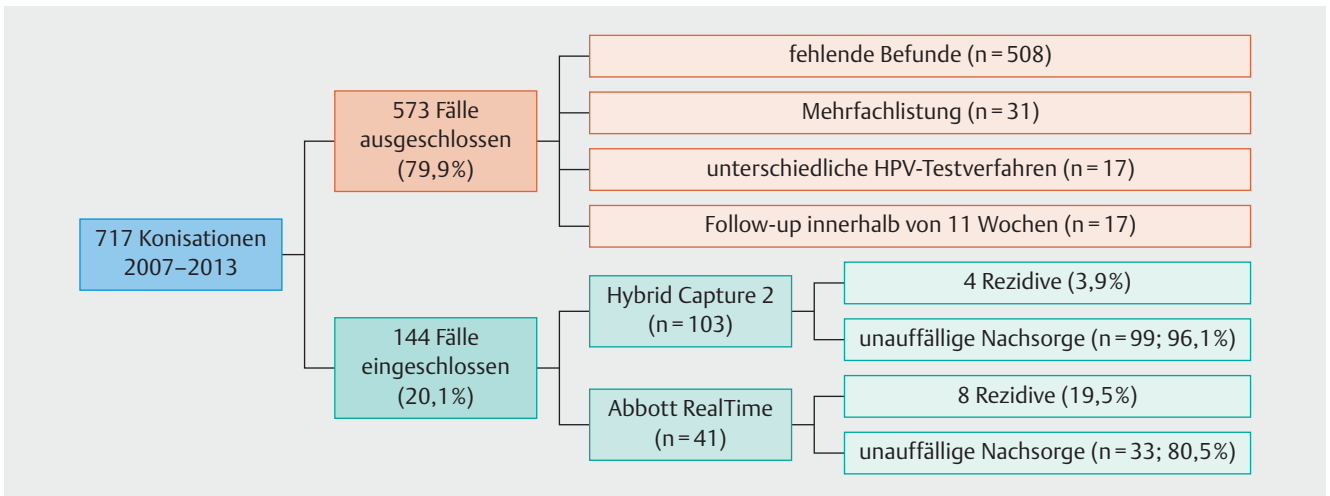
Im Zeitraum von Januar 2007 bis Dezember 2013 wurde bei insgesamt 717 Patientinnen in der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Medizinischen Hochschule Hannover eine Konisation durchgeführt, meist bei bekannter CIN, AIS oder mikroinvasivem Zervixkarzinom (siehe auch [19]). Die meisten dieser Patientinnen wurden präoperativ im Rahmen der Dysplasiesprechstunde untersucht. Viele wurden auch zum Follow-up wieder überwiesen. Im Rahmen der Kolposkopie erfolgte dann immer auch ein erneuter zytologischer Abstrich (meist Flüssigzytologie; ThinPrep, Hologic, Wiesbaden) in Kombination mit einem HPV-Test. Die klinikinterne HPV-Diagnostik wurde 2011 von hc2 auf RealTime umgestellt, sodass sich hierdurch 2 Patientinnengruppen ergaben, die miteinander verglichen werden konnten. Da in dieser Arbeit die Aussagekraft einer prä- und postoperativen Untersuchung mit dem gleichen HPV-Testverfahren untersucht werden sollte, konnten 573 Patientinnen (79,9%) nicht in die Studie eingeschlossen werden (► **Abb. 1**).

Datenerhebung

Die Daten wurden aus Patientenangaben, Untersuchungsbefunden, Operationsberichten und Befunden der pathologischen Abteilung erhoben. Die zytologische Befundung erfolgte analog zur Münchener Nomenklatur II, da diese bis 12/2013 noch galt. Für diese Studie wurde zusätzlich die Bethesda-Klassifikation angewandt und in 2 Gruppen gegliedert (\leq low grade squamous intraepithelial lesions [\leq LSIL] bzw. high grade squamous intraepithelial lesions [\geq HSIL]). Histologisch wurde anhand der CIN-Klassifikation befundet (CIN1–3, AIS, Zervixkarzinom).

Eine Persistenz oder ein Rezidiv wurden definiert als histologisch gesicherte CIN2+ und/oder als zytologischer Befund von \geq HSIL während der Nachsorge, wobei immer der höhergradige Befund maßgeblich war. In den Fällen, bei denen keine Histologie vorlag und aufgrund der Zytologie der Verdacht auf ein Rezidiv bestand, wurde anhand des weiteren dokumentierten Verlaufs überprüft, ob der Befund zu einer erneuten hochgradigen Dysplasie fortgeschritten ist. Sofern dies der Fall war, wurde der Befund als Rezidiv klassifiziert. Andernfalls, bei Normalisierung der Befunde im weiteren Verlauf, wurden diese zunächst zytologisch verdächtigen Befunde nicht als Rezidiv gewertet.

Die HPV-Genotypisierung erfolgte bei 41 Patientinnen (28,5%) mittels RealTime, während die übrigen 103 (71,5%) mittels hc2 auf HPV-Positivität getestet wurden. Die Aussagekraft von HPV-Status (hc2 vs. RealTime), HPV-Persistenz (hc2 vs. RealTime) und partieller HPV-Genotypisierung beim Follow-up für die Vorhersage eines Rezidivs wurde untersucht, indem jeweils unterschiedliche Kohorten gebildet wurden, für welche die jeweiligen Kriterien zutrafen. Beispielsweise wurden bei Betrachtung der HPV-16-Persistenz lediglich die Fälle analysiert, die nachweislich vor Konisation und im Follow-up ca. 6 Monate später HPV-16-positiv waren. Für diese jeweiligen Kohorten wurden dann die entsprechenden Testgüteparameter berechnet.



► **Abb. 1** Darstellung der ein- und ausgeschlossenen Fälle.

HPV-Testverfahren

RealTime ist ein qualitativer Multiplex-Test, der auf Real-time PCR basiert und für die Erkennung von 14 hr-HPV Genotypen (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, und 68) verwendet wird mit gleichzeitiger Genotypisierung von HPV-Typ 16 und 18. Hc2 ist ein In-vitro-Nukleinsäure-Hybridisierungsassay für den qualitativen Nachweis von 13 hr-HPV Genotypen (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, und 68). Die Durchführung der Tests erfolgte jeweils entsprechend den Herstellerangaben (detaillierte Darstellung bei [20]).

Neben dem HPV-Status und der Zytologie wurden auch Konusshöhe (Kategorisierung nach Kliemann et al. [21]) und -gewicht (Kategorisierung in 2 gleich große Untergruppen), Resektionsränder, die Entnahme eines endozervikalen Nachresektats sowie der Menopausenstatus und die Transformationszone bezüglich der Korrelation mit dem Auftreten eines Rezidivs evaluiert.

Die gesamten Daten wurden mit Excel Version 2007 (Microsoft) sowie mit IBM SPSS Statistics 22 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) gesammelt und ausgewertet. Die Signifikanztestung wurde mittels des Fisher's Exact Test durchgeführt. Ein p-Wert < 0,05 wurde als signifikant gewertet.

Ergebnisse

Patientendaten

Das Alter der in die Studie eingeschlossenen 144 Patientinnen betrug im Mittel $36,1 \pm 8,7$ Jahre (Bereich: 21,8–68,5), 90,3% waren prämenopausal. Die Histologie aus der Konisation ist in ► **Tab. 1** dargestellt. Bei den beiden Fällen mit invasivem Karzinom handelte es sich um mikroinvasive Karzinome, die erst durch die Konisationen diagnostiziert wurden. In beiden Fällen war keine weitere Operation notwendig und in der Nachuntersuchung bestand kein Anhalt für ein Rezidiv.

Die 1. Follow-up-Untersuchung erfolgte nach 6,4 Monaten $\pm 2,8$ (Bereich: 2,8–17,2). Hierbei zeigten 123 Patientinnen

► **Tab. 1** Histologie der Konisationen.

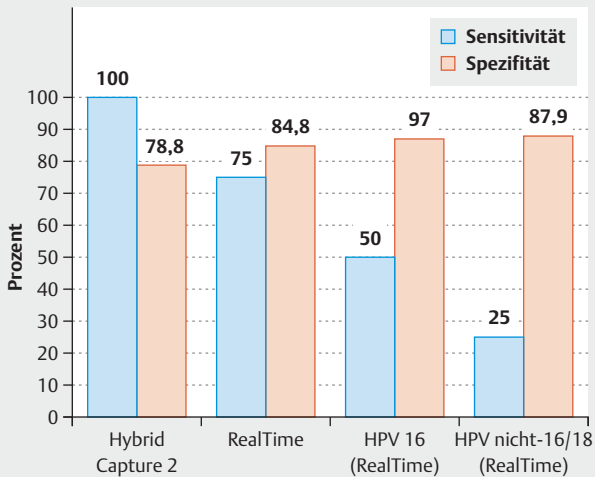
Histologie (Konisation)	hc2	RealTime	gesamt
keine Dysplasie	3	1	4
CIN1	8	3	11
CIN2	21	11	32
CIN3	69	23	92
AIS	1	2	3
CC	1	1	2
gesamt	103	41	144

CIN: zervikale intraepitheliale Neoplasie; AIS: Adenocarcinoma in situ; CA: Zervixkarzinom

(85,4%) einen „unauffälligen Befund“ (Histologie \leq CIN1 bzw. Zytologie \leq LSIL). Bei weiteren 9 Patientinnen mit ausschließlich auffälliger Zytologie in der 1. Follow-up-Untersuchung konnte im weiteren Verlauf ein Rezidiv ausgeschlossen werden, sodass insgesamt 132 Patientinnen (91,7%) ohne Rezidiv in die Auswertung eingeschlossen wurden. Im Gegensatz dazu wurden insgesamt 12 Rezidive bzw. Persistenzen (8,3%) diagnostiziert, definiert als CIN2+ im 1. Follow-up (7 Patientinnen, 4,9%) und/oder zunächst auffälliger Zytologie (\geq HSIL) und histologischem Nachweis einer erneuten hochgradigen Dysplasie im weiteren Verlauf (5 Patientinnen, 3,5%). In der hc2-Gruppe traten 4 Rezidive auf (4/103; 3,9%), während in der RealTime-Gruppe 8 Fälle festgestellt wurden (8/41; 19,5%).

Prädiktoren eines Rezidivs in der 1. Follow-up-Untersuchung nach Konisation

Präoperativ zeigten 140 (97,2%) Patientinnen einen positiven HPV-Befund, während nach dem operativen Eingriff noch 36 Frauen (25,0%) eine HPV-Infektion aufwiesen und 104 (72,2%) negativ getestet wurden. Vier Patientinnen (2,8%) zeigten prä- und post-



► **Abb. 2** Sensitivität und Spezifität des postoperativen HPV-Status in der Vorhersage eines Rezidivs, n = 144, Angaben in Prozent (%).

operativ keine HPV-Infektion. Bei den 41 Patientinnen (28,5%), die prä- und postoperativ mit RealTime getestet wurden, lagen in 9 Fällen (22,0%) Mehrfachinfektionen vor (► **Tab. 2**). Die Testgütekriterien für die verschiedenen HPV-Konstellationen sind in ► **Abb. 2** und **Tab. 3** dargestellt.

Bei der HPV-Testung mittels RealTime während der 1. Follow-up-Untersuchung ergab sich in 2 Fällen ein falsch negatives Ergebnis im Hinblick auf ein Rezidiv. In einem der 2 falsch negativen Er-

► **Tab. 2** Multiple HPV-Infektionen und deren Verlauf detektiert mittels RealTime (n = 41).

HPV-Genotypen	präoperativ	Follow-up
HPV 16	14	5
HPV 18	1	0
HPV 18 + 16	1	0
HPV 18 + nicht-16/18	1	0
nicht-16/18	15	6
nicht-16/18 + 16	7	0
HPV negativ	2	2

gebnisse wurde das Rezidiv primär nur durch einen pathologischen Zytologiebefund identifiziert. In diesem Fall konnte im weiteren Verlauf jedoch eine CIN2 (p16-Immunhistochemie negativ) gesichert werden. Das 2. HPV-negative Rezidiv war ein im Follow-up erstmals und lediglich per Biopsie gesichertes AIS nach vorheriger HPV-positiver CIN3.

Als positives Co-Testing galt das Vorhandensein entweder eines positiven HPV-Befundes, eines zytologischen Befundes von \geq LSIL oder die Kombination aus beiden Parametern. Sowohl ein positives Co-Testing von hc2 und Zytologie als auch mittels RealTime und Zytologie korrelierten signifikant mit der Erkennung eines Rezidivs (► **Tab. 4**).

Bei der Betrachtung einer Konushöhe von < 11 mm, < 13 mm, < 20 mm sowie einem Konusgewicht von ≤ 1 g bei Konisation konnte keine Korrelation zu einer erhöhten Rezidivgefahr fest-

► **Tab. 3** HPV Testverfahren in der Vorhersage eines Rezidivs.

Kohorte	n	Rezidiv	Test positiv	Test negativ	Sens. %	Spez. %	PPW %	NPW %	p-Wert																																																																																				
hc2 – Status (1. Follow-up)	103	ja	4	0	100	78,8	16	100	0,003																																																																																				
		nein	21	78						RealTime – Status (1. Follow-up)	41	ja	6	2	75	84,8	54,5	93,3	0,002	nein	5	28	hc2 – Persistenz	101	ja	4	0	100	78,4	16	100	0,003	nein	21	76	RealTime – Persistenz	39	ja	6	2	75	83,9	54,5	92,9	0,003	nein	5	26	HPV 16 – Status (1. Follow-up)	41	ja	4	4	50	97	80	88,9	0,003	nein	1	32	HPV 16 – Persistenz	22	ja	4	0	100	94,4	80	100	0,001	nein	1	17	HPV nicht-16/18 – Status (1. Follow-up)	41	ja	2	6	25	87,9	33,3	82,9	0,578	nein	4	29	HPV nicht-16/18 – Persistenz	23	ja	2	3	40
RealTime – Status (1. Follow-up)	41	ja	6	2	75	84,8	54,5	93,3	0,002																																																																																				
		nein	5	28						hc2 – Persistenz	101	ja	4	0	100	78,4	16	100	0,003	nein	21	76	RealTime – Persistenz	39	ja	6	2	75	83,9	54,5	92,9	0,003	nein	5	26	HPV 16 – Status (1. Follow-up)	41	ja	4	4	50	97	80	88,9	0,003	nein	1	32	HPV 16 – Persistenz	22	ja	4	0	100	94,4	80	100	0,001	nein	1	17	HPV nicht-16/18 – Status (1. Follow-up)	41	ja	2	6	25	87,9	33,3	82,9	0,578	nein	4	29	HPV nicht-16/18 – Persistenz	23	ja	2	3	40	88,9	50	84,2	0,194	nein	2	16						
hc2 – Persistenz	101	ja	4	0	100	78,4	16	100	0,003																																																																																				
		nein	21	76						RealTime – Persistenz	39	ja	6	2	75	83,9	54,5	92,9	0,003	nein	5	26	HPV 16 – Status (1. Follow-up)	41	ja	4	4	50	97	80	88,9	0,003	nein	1	32	HPV 16 – Persistenz	22	ja	4	0	100	94,4	80	100	0,001	nein	1	17	HPV nicht-16/18 – Status (1. Follow-up)	41	ja	2	6	25	87,9	33,3	82,9	0,578	nein	4	29	HPV nicht-16/18 – Persistenz	23	ja	2	3	40	88,9	50	84,2	0,194	nein	2	16																			
RealTime – Persistenz	39	ja	6	2	75	83,9	54,5	92,9	0,003																																																																																				
		nein	5	26						HPV 16 – Status (1. Follow-up)	41	ja	4	4	50	97	80	88,9	0,003	nein	1	32	HPV 16 – Persistenz	22	ja	4	0	100	94,4	80	100	0,001	nein	1	17	HPV nicht-16/18 – Status (1. Follow-up)	41	ja	2	6	25	87,9	33,3	82,9	0,578	nein	4	29	HPV nicht-16/18 – Persistenz	23	ja	2	3	40	88,9	50	84,2	0,194	nein	2	16																																
HPV 16 – Status (1. Follow-up)	41	ja	4	4	50	97	80	88,9	0,003																																																																																				
		nein	1	32						HPV 16 – Persistenz	22	ja	4	0	100	94,4	80	100	0,001	nein	1	17	HPV nicht-16/18 – Status (1. Follow-up)	41	ja	2	6	25	87,9	33,3	82,9	0,578	nein	4	29	HPV nicht-16/18 – Persistenz	23	ja	2	3	40	88,9	50	84,2	0,194	nein	2	16																																													
HPV 16 – Persistenz	22	ja	4	0	100	94,4	80	100	0,001																																																																																				
		nein	1	17						HPV nicht-16/18 – Status (1. Follow-up)	41	ja	2	6	25	87,9	33,3	82,9	0,578	nein	4	29	HPV nicht-16/18 – Persistenz	23	ja	2	3	40	88,9	50	84,2	0,194	nein	2	16																																																										
HPV nicht-16/18 – Status (1. Follow-up)	41	ja	2	6	25	87,9	33,3	82,9	0,578																																																																																				
		nein	4	29						HPV nicht-16/18 – Persistenz	23	ja	2	3	40	88,9	50	84,2	0,194	nein	2	16																																																																							
HPV nicht-16/18 – Persistenz	23	ja	2	3	40	88,9	50	84,2	0,194																																																																																				
		nein	2	16																																																																																									

n: Anzahl; hc2: Hybrid Capture 2 Assay; RealTime: Abbott RealTime Assay; PPW: positiv prädiktiver Wert; NPW: negativ prädiktiver Wert

► **Tab. 4** Co-Testingverfahren in der Vorhersage eines Rezidivs.

	n	Rezidiv	Test positiv	Test negativ	Sens. %	Spez. %	PPW %	NPW %	p-Wert
Zytologie + hc2	103	ja	4	0	100	78,8	16	100	0,003
		nein	21	78					
Zytologie + RealTime	41	ja	8	0	100	78,8	53,3	100	< 0,001
		nein	7	26					
Zytologie + HPV 16 – Persistenz	22	ja	4	0	100	88,9	66,7	100	0,002
		nein	2	16					

PPW: positiv prädiktiver Wert; NPW: negativ prädiktiver Wert; hc2: Hybrid Capture 2 Assay; RealTime: Abbott RealTime Assay; HPV: humanes Papillomvirus

gestellt werden gegenüber größeren bzw. schwereren Konisaten (Konushöhe 11 mm: $p = 0,732$; 13 mm: $p = 1,000$; 20 mm: $p = 1,000$; Konusgewicht $p = 1,000$). Auch die Transformationszone, erhoben während der präoperativen Diagnostik und während des Follow-ups, zeigte jeweils keine Signifikanz in der Vorhersage eines Rezidivs (präoperativ: $p = 0,147$; Follow-up: $p = 0,702$).

Bei der Konisation wurde in 65,3% der Fälle (94 Patientinnen) zusätzlich zum Konisat ein endozervikales Nachresektat entnommen (7/94 Rezidive; 7,4%), in den übrigen Fällen wurde darauf verzichtet (4/49 Rezidive; 8,2%). Eine Entnahme dieses Nachresektats zeigte in dieser Studie keinen Mehrnutzen bezogen auf das verminderte Auftreten eines Rezidivs ($p = 1,000$).

Des Weiteren erfolgte die Evaluation des Vorhersagewertes des Status des Resektionsrandes bei Konisation. 19 Fälle (13,2%) wurden bei unklarem Befund ausgeschlossen. Ein R1-Status, d. h. eine Non-in-sano-Resektion, lag in 13 Fällen (9%) vor. Dabei wiesen 5 dieser 13 Patientinnen (38,5%) ein Rezidiv auf, während bei 6 der 112 Patientinnen (5,4%) mit histologischem R0-Zustand ein Rezidiv detektiert wurde ($p = 0,002$; ► **Tab. 5**).

Diskussion

HPV-Status

Zur aktuell empfohlenen Standard-Follow-up-Untersuchung nach Konisation einer hochgradigen zervikalen Dysplasie zählt die Bestimmung des HPV-Status (einfacher hr-HPV-Nachweis ohne Genotypisierung) [11, 12]. Die 2 in unserer Studie evaluierten Testverfahren hc2 und RealTime erzielten bezüglich der Vorhersage eines Rezidivs mit einer klinischen Sensitivität und Spezifität von 100% und 78,8% (hc2), respektive 84,8% (Spezifität RealTime), Werte, die mit vergleichbaren Studien korrelieren (hc2: Sensitivität 97,4% [94,7–100%], Spezifität 87,9% [83,3–92,6%], RealTime: Spezifität 89,4% [86,4–92,3%] [17, 18, 22]). In diesen Studien fand sich zudem die tendenziell höhere Spezifität von RealTime gegenüber hc2, bei klinisch höherer Sensitivität von hc2, was sich ebenfalls mit unseren Ergebnissen deckt.

Was nicht mit den genannten Studien korreliert, ist die in unserer Studie erhobene geringere Sensitivität von RealTime (75,0 vs. 96,7% [95,5–98,2%]). Zwei der 8 Patientinnen (25,0%) mit einem Rezidiv wiesen im Follow-up ein negatives RealTime-HPV-Testergebnis auf. Die RealTime-Sensitivität ist jedoch bei nur 8 Rezi-

► **Tab. 5** Resektionsrandstatus in der Vorhersage eines Rezidivs.

	R0	R1	gesamt	p-Wert
kein Residuum/Rezidiv	106	8	114	
Residuum/Rezidiv	6	5	11	0,002
gesamt	112	13	125	
Rezidivrate	5,4%	38,5%	8,8%	

PPV: positiv prädiktiver Wert; NPV: negativ prädiktiver Wert

divfällen in der RealTime-Gruppe von begrenzter Aussagekraft. Zudem ist es fraglich, ob es sich bei den 2 Fällen um „wirkliche Rezidive“ handelt. In einem Fall wurde im Follow-up eine CIN2 nachgewiesen, die immunhistochemisch negativ für p16 war und somit wahrscheinlich nicht durch hr-HPV verursacht wurde, sondern vielleicht durch Low-risk HPV. Im 2. Fall mit negativem RealTime-HPV-Befund wurde im Follow-up nach CIN3 per Biopsie ein AIS gesichert. In der anschließenden Re-Konisation ergab sich dann jedoch ein unauffälliger Befund. Aufgrund der zu Beginn definierten Einschlusskriterien wurden diese beiden Fälle dennoch als Rezidive behandelt. Ohne diese beiden Fälle läge die RealTime-Sensitivität ebenfalls bei 100%. Somit kann ein gewisser Selection Bias hier nicht ausgeschlossen werden.

Auch die mit 19,5% (8/41 Fälle) deutlich höhere Rezidivrate der RealTime-Gruppe im Vergleich zum hc2-Kollektiv (3,9%; 4/103 Fälle) lässt sich durch diese 2 besonderen Fälle und die kleine Fallzahl erklären.

Eine weitere Limitation dieser Studie sind die insgesamt relativ kleine Fallzahl mit unterschiedlich großen Gruppen, die mit hc2 (103 Patientinnen) und RealTime (41 Patientinnen) getestet wurden. HPV 16 konnte somit nur bei 22 Patientinnen evaluiert werden. Dies liegt daran, dass nur Patientinnen eingeschlossen wurden, die sowohl präoperativ als auch im Follow-up mit dem gleichen HPV-Testverfahren untersucht wurden.

Die Studie von Kaliterna et al. [23] umfasste mit 108 Patientinnen eine ähnlich große Studienpopulation zu den 103 in unserer Studie mit hc2 getesteten Patientinnen und zeigte ähnliche Werte für Sensitivität und Spezifität (Kaliterna: 88,2 und 79% vs. hc2: 100 und 78,8%) für diesen HPV-Test.

Strand et al. [24] wiesen in ihrer Studie auf den potenziell guten prädiktiven Wert einer HPV-Genotypisierung für das Vorliegen eines CIN2+-Rezidivs hin. Wir evaluierten den HPV-Infektionsverlauf mittels hc2 und RealTime in unserer Studie. RealTime werten wir zunächst nicht genotypspezifisch aus, sondern lediglich gepoolt nach HPV-Positivität sowie -Negativität. Hierbei zeigte sich, dass die HPV-Verlaufsbetrachtung mit hc2 und RealTime (gepoolt) hinsichtlich Sensitivität und Spezifität (hc2: Sensitivität 100%, Spezifität 78,4%; RealTime: Sensitivität 75,0%, Spezifität 83,9%) keine bessere Rezidivvorhersage ergab als der HPV-Status, der nur in der 1. Follow-up-Untersuchung nach Konisation mittels hc2 und RealTime erhoben wurde (hc2: Sensitivität 100%, Spezifität 78,8%; RealTime: Sensitivität 75,0%, Spezifität 84,8%) (► **Abb. 2**).

Dies war auch nicht zu erwarten, da bei beiden Testverfahren (gepoolter HPV-Status) die HPV-Persistenz zahlenmäßig der HPV-Positivität in der 1. Follow-up-Untersuchung entsprach. Ebenso deckte sich jeweils die Anzahl der HPV-Eradikationen mit der HPV-Negativität nach Konisation.

Genotypisierung

Mittels RealTime ist die Beurteilung des genotypspezifischen Verlaufs einer Infektion mit HPV 16 und 18 möglich. Postoperativ zeigte die alleinige Betrachtung von HPV 16 unabhängig vom präoperativen Befund eine Sensitivität und Spezifität von 50,0% bzw. 97,0% für die Detektion einer CIN2+. Damit erzielte die Testung dieses speziellen HPV-Typs die höchste Spezifität aller in dieser Studie betrachteten Parameter (1. Follow-up: HPV 16 97,0%, hc2 78,8%, RealTime – gesamt 84,8%, nicht-16/18 hr-HPV 87,9%). Auch in der Studie von Heymans et al. [25] zeigte die HPV-Genotypisierung eine klar höhere Spezifität gegenüber der unspezifischen hr-HPV-Detektion.

In unserer Studie fand sich jedoch eine deutlich niedrige Sensitivität für CIN2+ im Follow-up für die alleinige Bestimmung von HPV 16 mit 50,0% (hc2 100%, RealTime gepoolt 75,0%). Grund dafür sind wieder die 2 oben bereits beschriebenen HPV-negativen Rezidive sowie 2 Fälle mit Rezidiv durch nicht-16/18-hr-HPV-Genotypen bei negativem HPV-16-Befund.

Vier der 5 Patientinnen mit einer HPV-16-Persistenz wiesen ein Rezidiv auf (PPW 80,0%). Diese Ergebnisse ähneln der norwegischen Studie von Vintermyr et al. [26], in der 94,8% der Patientinnen mit einem Rezidiv eine persistente hr-HPV-Infektion aufwiesen, wovon wiederum 70,9% Genotyp 16/18 waren. Die Studie beschreibt zudem, dass die Prävalenz von HPV 16 vor und nach Konisation gleich blieb, was wir in unserer Studie jedoch nicht bestätigen konnten. Nur 5 der initial 22 positiv getesteten Patientinnen (22,7%) wiesen postoperativ noch eine HPV-16-Infektion auf (► **Tab. 5**).

Diese Ergebnisse bestätigen, dass eine partielle HPV-Genotypisierung vielversprechend ist. Vor allem der PPW von 80% bei einer HPV-16-Persistenz ermöglicht eine relativ sichere Identifizierung von Frauen mit drohendem Rezidiv. Der PPW der alleinigen hc2-Testung im Follow-up liegt dagegen nur bei 16%.

Die alleinige Verwendung von nicht-16/18-hr-HPV-Genotypen, getestet in der 1. Follow-up-Untersuchung, sowie die Persistenz nach Konisation ist mit einer Sensitivität von 25,0%, respektive 40,0% nicht aussagekräftig als ein Verlaufparameter in

der Nachsorge nach Konisation. Vermutlich hat der Nachweis einer persistierenden typspezifischen Infektion mit einzelnen nicht-16/18-hr-HPV-Genotypen ebenfalls einen recht hohen PPW. Diese Frage kann jedoch nur mittels kompletter HPV-Genotypisierung geklärt werden.

HPV 18 konnte weder bezüglich des postoperativen Status noch des Verlaufs ausgewertet werden, da präoperativ nur 3 Patientinnen mit diesem Genotyp infiziert waren und dieser nach Konisation in allen Fällen nicht mehr nachweisbar war.

Co-Testing

Beim positiven Co-Testing (positiver HPV-Befund und/oder \geq LSIL) von hc2 und Zytologie zeigte sich gegenüber der alleinigen hc2-Testung keine Verbesserung der Sensitivität und Spezifität ($n = 103$; 100 und 78,8%). Die Korrelation zum Auftreten eines Rezidivs bei positivem Co-Testing-Befund blieb signifikant ($p = 0,003$).

Die kombinierte Testung von RealTime mit der Zytologie verzeichnete einen Anstieg der Sensitivität auf 100% bei positivem Co-Testing gegenüber der alleinigen HPV-Testung (75,0%) bei nahezu gleichbleibender Spezifität ($n = 41$; 78,8 vs. 84,8%).

Andere Parameter

Bezüglich der Konushöhe ergab sich keine Signifikanz bezüglich der Vorhersage eines Rezidivs. Es zeigte sich jedoch bei einer Konushöhe von 11 mm zu 92,6%, bei 13 mm zu 94,4% sowie bei 20 mm zu 100% ein freier Schnittrand. Diese Ergebnisse decken sich mit der Studie von Kliemann et al. [21] (11 mm = 90%, 13 mm = 95%, 20 mm = 100%).

Die Auswertung des Resektionsrandes ist in dieser Studie nur bedingt möglich, da nur die Beteiligung des Resektionsrandes (R1) gesammelt erhoben und nicht in endo- und ektozervikal unterschieden wurde. Bei histologischer R0-Resektion wiesen 6 der 112 Patientinnen (5,4%) ein Rezidiv auf, während 5 der 13 R1-Resektionen (38,5%) ein Rezidiv hatten ($p = 0,002$).

Johnson et al. [27] zeigten in ihrer Studie jedoch, dass nur die Beteiligung des endozervikalen Resektionsrandes als prädiktiv für ein Rezidiv verwendet werden kann und bestätigte damit vorangegangene Studienergebnisse [28, 29].

Die Entnahme eines endozervikalen Nachresektats zeigte keine Signifikanz bezüglich des Auftretens eines Rezidivs ($p = 1,000$). Von 94 Patientinnen (65,7%), bei denen eine Entnahme eines Nachresektats erfolgte, wiesen 7 (7,4%) ein Rezidiv auf. Bei den 49 Patientinnen (34,3%), denen kein Nachresektat bei Konisation entnommen wurde, zeigte sich bei 4 (8,2%) ein Rezidiv und damit ein ähnlicher Anteil an Rezidiven wie bei erfolgter Nachresektatentnahme. Unsere Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass auf eine Entnahme eines endozervikalen Nachresektats verzichtet werden und somit die zusätzliche Verkürzung der Zervix vermieden werden könnte.

Schlussfolgerung

Der postoperativ erhobene HPV-Status zeigte sich mit beiden Testverfahren, Hybrid Capture 2 und RealTime, hochspezifisch für das Nichtauftreten eines Rezidivs. Während die Sensitivität der gepoolten HPV-Bestimmung für ein Rezidiv sehr hoch ist, ist

der PPW des hc2 mit 16% extrem niedrig. Hier bietet die partielle HPV-Genotypisierung deutliche Vorteile. Vor allem bei (erneutem) Nachweis von HPV 16 nach Konisation muss bei einem PPW von 80% mit einem Rezidiv gerechnet werden. Somit kann die Kombination aus gepoolter HPV-Testung (hohe Sensitivität und NPW) und partieller Genotypisierung von HPV 16 (hoher PPW) das Management im Follow-up nach Konisation erleichtern.

Es müssen jedoch weitere prospektive Studien mit systematischer Entnahme von Biopsien nach Konisation zur weiteren Evaluation der in dieser Studie vielversprechenden Verlaufsbeurteilung der genotypspezifischen Beurteilung von HPV 16 im Vergleich zur Beurteilung mittels gepoolter HPV-Testverfahren durchgeführt werden.

Interessenkonflikt

P. Hillemanns erhielt Forschungsstipendien von GSK und Abbott sowie Vortragshonorare von SPMSD, Roche und Hologic. M. Jentschke erhielt Vortragshonorar und Reise- und Kongresskostenunterstützung von Abbott Molecular, Wiesbaden.

Literatur

- [1] Bosch FX, Burchell AN, Schiffman M et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine* 2008; 26 (Suppl. 10): K1–K16
- [2] Bouvard V, Baan R, Straif K et al. A review of human carcinogens—Part B: biological agents. *Lancet Oncol* 2009; 10: 321–322
- [3] de Sanjose S, Quint WG, Alemany L et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol* 2010; 11: 1048–1056
- [4] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12–19
- [5] Kalliala I, Nieminen P, Dyba T et al. Cancer free survival after CIN treatment: comparisons of treatment methods and histology. *Gynecol Oncol* 2007; 105: 228–233
- [6] Kyrgiou M, Tsoumpou I, Vrekoussis T et al. The up-to-date evidence on colposcopy practice and treatment of cervical intraepithelial neoplasia: the Cochrane colposcopy & cervical cytopathology collaborative group (C5 group) approach. *Cancer Treat Rev* 2006; 32: 516–523
- [7] Nuovo J, Melnikow J, Willan AR et al. Treatment outcomes for squamous intraepithelial lesions. *Int J Gynaecol Obstet* 2000; 68: 25–33
- [8] Martin-Hirsch PP, Paraskevaidis E, Bryant A et al. Surgery for cervical intraepithelial neoplasia. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; (12): CD001318
- [9] Stasinou SM, Valasoulis G, Kyrgiou M et al. Large loop excision of the transformation zone and cervical intraepithelial neoplasia: a 22-year experience. *Anticancer Res* 2012; 32: 4141–4145
- [10] Zielinski GD, Bais AG, Helmerhorst TJ et al. HPV testing and monitoring of women after treatment of CIN 3: review of the literature and meta-analysis. *Obstet Gynecol Surv* 2004; 59: 543–553
- [11] Massad LS, Einstein MH, Huh WK et al. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *J Low Genit Tract Dis* 2013; 17: S1–S27
- [12] Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft DK, AWMF). Konsultationsfassung: Prävention des Zervixkarzinoms, Langversion. AWMF Registernummer: 015/027OL. 2016. Online: <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/zervixkarzinom-praevention>; Stand: 01.02.2017
- [13] Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R et al. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine* 2008; 26 (Suppl. 10): K29–K41
- [14] Cuzick J, Clavel C, Petry KU et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 2006; 119: 1095–1101
- [15] Meijer CJ, Berkhof J, Castle PE 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: 516–520
- [16] Arbyn M, Snijders PJ, Meijer CJ et al. Which high-risk HPV assays fulfil criteria for use in primary cervical cancer screening? *Clin Microbiol Infect* 2015; 21: 817–826
- [17] Poljak M, Ostrbenk A, Seme K et al. Comparison of clinical and analytical performance of the Abbott RealTime High Risk HPV Test to the performance of Hybrid Capture 2 in population-based cervical cancer screening. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 1721–1729
- [18] Carozzi FM, Burroni E, Bisanzio S et al. Comparison of clinical performance of Abbott RealTime High Risk HPV test with that of hybrid capture 2 assay in a screening setting. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 1446–1451
- [19] Müller K, Soergel P, Hillemanns P et al. Accuracy of colposcopically guided diagnostic methods for the detection of cervical intraepithelial neoplasia. *Geburtsh Frauenheilk* 2016; 76: 182–187
- [20] Jentschke M, Soergel P, Lange V et al. Evaluation of a new multiplex real-time polymerase chain reaction assay for the detection of human papillomavirus infections in a referral population. *Int J Gynecol Cancer* 2012; 22: 1050–1056
- [21] Kliemann LM, Silva M, Reinheimer M et al. Minimal cold knife conization height for high-grade cervical squamous intraepithelial lesion treatment. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012; 165: 342–346
- [22] Chung HS, Hahm C, Lee M. Comparison of the clinical performances of the AdvanSure HPV Screening Real-Time PCR, the Abbott Real-Time High-Risk HPV Test, and the Hybrid Capture High-Risk HPV DNA Test for Cervical Cancer Screening. *J Virol Methods* 2014; 205: 57–60
- [23] Kaliterna V, Lepej SZ, Vince A. Comparison between the Abbott Real-Time High Risk HPV assay and the Hybrid Capture 2 assay for detecting high-risk human papillomavirus DNA in cervical specimens. *J Med Microbiol* 2009; 58: 1662–1663
- [24] Soderlund-Strand A, Kjellberg L, Dillner J. Human papillomavirus type-specific persistence and recurrence after treatment for cervical dysplasia. *J Med Virol* 2014; 86: 634–641
- [25] Heymans J, Benoy IH, Poppe W et al. Type-specific HPV geno-typing improves detection of recurrent high-grade cervical neoplasia after conisation. *Int J Cancer* 2011; 129: 903–909
- [26] Vintermyr OK, Iversen O, Thoresen S et al. Recurrent high-grade cervical lesion after primary conization is associated with persistent human papillomavirus infection in Norway. *Gynecol Oncol* 2014; 133: 159–166
- [27] Johnson N, Khalili M, Hirschowitz L et al. Predicting residual disease after excision of cervical dysplasia. *BJOG* 2003; 110: 952–955
- [28] Baldauf JJ, Dreyfus M, Ritter J et al. Risk of cervical stenosis after large loop excision or laser conization. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 933–938
- [29] Flannelly G, Bolger B, Fawzi H et al. Follow up after LLETZ: could schedules be modified according to risk of recurrence? *BJOG* 2001; 108: 1025–1030