

Aus der  
Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie  
Klinik der Universität München  
Direktor: Prof. Dr. Lars French

**Effektivität des serologischen HPV-16-Schnelltests Prevo-Check® im  
Primärscreening des Zervixkarzinoms**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Larissa Inge Margarete Ulbrecht

aus  
München

Jahr  
2024

---

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Markus Reinholz  
Mitberichterstatter: PD Dr. Alexander Burges  
PD Dr. Franziska Walter

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 21.11.2024

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>5</b>
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>7</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS</b> .....	<b>9</b>
<b>1. EINLEITUNG</b> .....	<b>11</b>
ZERVIXKARZINOM.....	11
<i>Epidemiologie</i> .....	11
<i>Pathologie</i> .....	12
<i>Risikofaktoren</i> .....	13
<i>Präinvasive Läsionen</i> .....	13
<i>Früherkennung des Zervixkarzinoms</i> .....	15
1) Zytologischer Abstrich.....	15
2) Kolposkopie.....	17
<i>Therapie präinvasiver Läsionen</i> .....	19
1) Indikation.....	19
2) Operationsverfahren.....	19
3) Komplikationen.....	20
HUMANE PAPILLOMAVIREN.....	20
<i>Struktur</i> .....	20
<i>Epidemiologie</i> .....	21
<i>Klassifikation</i> .....	23
<i>Lebenszyklus</i> .....	25
<i>Maligne Transformation</i> .....	27
<i>HPV-Analytik</i> .....	28
SCREENING.....	29
<i>Epidemiologie des Zervixkarzinoms nach der Einführung von Screening-Verfahren</i> .....	30
<i>Zytologiebasiertes Screening</i> .....	30
<i>Vergleich zytologiebasiertes mit HPV-basiertem Screening</i> .....	32
<i>Zervixkarzinom-Screening in Deutschland</i> .....	33
<i>Zervixkarzinom Screening in Entwicklungsländern</i> .....	33
ZIEL DER ARBEIT.....	35
<b>2. MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>37</b>
STUDIENVERLAUF UND PATIENTINNENKOLLEKTIV.....	37
MATERIALGEWINNUNG.....	37
1) <i>Zytologische Diagnostik</i> .....	37
2) <i>HPV-Diagnostik</i> .....	38
3) <i>Kolposkopie</i> .....	39
4) <i>Konisation</i> .....	39
5) <i>Prevo-Check®-Test</i> .....	40
Qualitative Auswertung.....	40
Quantitative Auswertung.....	41
STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	42
<b>3. ERGEBNISSE</b> .....	<b>43</b>
ALTERSSTRUKTUR DER STUDIENPOPULATION.....	43
ANAMNESE.....	43
PRÄVALENZ ZYTOLOGISCHER BEFUNDE.....	43
<i>Gesamtpopulation</i> .....	43
<i>cobas® 4800-Kohorten</i> .....	45
PRÄVALENZ HISTOLOGISCHER BEFUNDE.....	46
<i>Präoperative Histologie</i> .....	46
Gesamtpopulation.....	46
cobas 4800®-Kohorten.....	46

<i>Postoperative Histologie</i> .....	47
Gesamtpopulation.....	47
cobas® 4800-Kohorten.....	48
<i>Korrelation präoperativer mit postoperativen histologischen Ergebnissen</i> .....	48
HPV-DIAGNOSTIK.....	49
<i>Auswertung des cobas® 4800-Tests</i> .....	49
Gesamtpopulation.....	49
Altersverteilung.....	50
<i>Auswertung des Prevo-Check®-Tests</i> .....	52
Qualitative Auswertung.....	52
Quantitative Auswertung.....	52
<i>Vergleich der Ergebnisse des Prevo-Check®-Tests mit Ergebnissen des cobas® 4800-Tests</i> .....	58
EVALUIERUNG DER VALIDITÄTSPARAMETER.....	59
<i>Prevo-Check®-Test</i> .....	59
<i>cobas® 4800-Test</i> .....	61
<i>Zytologie</i> .....	61
KORRELATION DRH1®-ANTIKÖRPERKONZENTRATION MIT ALTER, ANAMNESE.....	62
PROBENART.....	62
HÄMOLYSE.....	64
<b>4. DISKUSSION</b> .....	<b>65</b>
ANFORDERUNG AN HPV-TESTVERFAHREN.....	65
AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE.....	66
ANALYSE DER METHODIK.....	69
ANALYSE DES PREVO-CHECK®-TESTS.....	72
WISSENSCHAFTLICHE EINORDNUNG.....	76
AUSBlick IN DIE ZUKUNFT.....	78
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG UND RELEVANZ DER ANALYSE</b> .....	<b>81</b>
<b>6. LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>83</b>
<b>7. DANKSAGUNG</b> .....	<b>94</b>
<b>8. EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG</b> .....	<b>95</b>

## Abkürzungsverzeichnis

ACIS	Adenocarcinoma in situ
AGC	Atypical Glandular endocervical Cells
AIS	Adenocarcinoma in situ
ASC-H	Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance cannot exclude HSIL
ASC-US	Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance
ASCCP	American Society for Colposcopy and Cervical Pathology
AUC	Area under the curve
ca.	circa
CIN	zervikale intraepitheliale Neoplasie
d.h.	das heißt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FDA	Food and Drug Administration
HC2	Hybrid Capture II
HDI	Human Development Index
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HNSCC	Head and Neck Squamous Cell Carcinoma
HP-Viren	Humane Papillomaviren
HPV	Humane Papillomaviren
HR	High-Risk
HSIL	High-grade Squamous Intraepithelial Lesion
IARC	International Agency for Research on Cancer
IFCPC	International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy
IQWiG	Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen
LBC	Liquid-based Cytology
LCR	Long Control Region
LEETZ	Large Loop Excision of the Transformation Zone
LMIC	Lower Middle-Income Countries
LMU	Ludwig-Maximilian-Universität
LR	Low-Risk
LSIL	Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion

mRNA	messenger-Ribonukleinsäure
NILM	Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy
NOS	Not Otherwise Specified
NPV	negativ prädiktiver Wert
OSCC	Oral Squamous Cell Carcinoma
Pap	Papanicolaou
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PE	Probenexzision
PLWH	People Living With HIV
PPV	positiv prädiktiver Wert
RLU	Relative Light Units
RNA	Ribonukleinsäure
ROC	Receiver-Operating-Characteristics
SA	Standardabweichung
SIL	Squamous Intraepithelial Lesion
STIKO	Ständige Impfkommision des Robert-Koch-Institutes
TMB	Tetramethylbenzidin
VLP	Virus-like Particles
WHO	World Health Organisation
WLWH	Women Living With HIV

## Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: weltweite altersstandardisierte Inzidenzrate des Zervixkarzinoms
- Abbildung 2: Klassifikation zervikaler Neoplasien
- Abbildung 3: Entwicklung zervikaler intraepithelialer Neoplasien
- Abbildung 4: Münchner Nomenklatur III
- Abbildung 5: Aufbau des HPV-Genoms
- Abbildung 6: weltweite HPV-Prävalenz
- Abbildung 7: weltweite altersspezifische HPV-Prävalenz
- Abbildung 8: globale Häufigkeit der 10 häufigsten HR-HPV-Typen in Abhängigkeit von zervikalen Veränderungen
- Abbildung 9: maligne Transformation des Zervixepithels
- Abbildung 10: Rate jemals im Leben gescreenter Frauen im Alter zwischen 25 und 65 im Jahr 2019
- Abbildung 11: typischer DRH1<sup>®</sup>-Antikörpertiterverlauf im Serum von TumorpatientInnen
- Abbildung 12: Auswertung des Prevo-Check<sup>®</sup>-Tests
- Abbildung 13: Altersverteilung der Studienpopulation
- Abbildung 14: Prävalenz interner Zytologiebefunde
- Abbildung 15: Prävalenz externer Zytologiebefunde
- Abbildung 16: Prävalenz zytologischer Ergebnisse in den cobas<sup>®</sup> 4800-Kohorten
- Abbildung 17: Prävalenz präoperativer histologischer Ergebnisse
- Abbildung 18: Prävalenz präoperativer histologischer Ergebnisse in den cobas<sup>®</sup>4800-Kohorten
- Abbildung 19: Prävalenz postoperativer histologischer Ergebnisse
- Abbildung 20: Prävalenz postoperativer histologischer Ergebnisse in den cobas<sup>®</sup>4800-Kohorten
- Abbildung 21: Korrelation präoperativer mit postoperativen histologischen Befunden
- Abbildung 22: Auswertung der cobas<sup>®</sup> 4800-Testergebnisse
- Abbildung 23: Altersverteilung in der HR-HPV-positiven Population
- Abbildung 24: Altersverteilung in der HPV-16-positiven Population
- Abbildung 25: Altersverteilung in der HPV-18-positiven Population
- Abbildung 26: Altersverteilung in der „HPV-other“-positiven Population
- Abbildung 27: Altersverteilung in der Prevo-Check<sup>®</sup>-positiven Population
- Abbildung 28: Verteilung der DRH1<sup>®</sup>-Antikörperkonzentration in der Studienpopulation
- Abbildung 29: Stratifikation der DRH1<sup>®</sup>-Mittelwerte nach CIN 3+-positiv/-negativ in der postoperativen Histologie als Boxplotdarstellung mit Anzeige des oberen und unteren Quartils, Median, Mittelwert sowie oberem und unterem Whisker ohne Ausreißer

- Abbildung 30: Stratifikation der DRH1<sup>®</sup>-Mittelwerte nach Ergebnis der postoperativen Histologie als Boxplotdarstellung mit Anzeige des oberen und unteren Quartils, Median, Mittelwert sowie oberem und unterem Whisker ohne Ausreißer
- Abbildung 31: Stratifikation der DRH1<sup>®</sup>-Mittelwerte nach HR-HPV Testergebnis als Boxplotdarstellung mit Anzeige des oberen und unteren Quartils, Median, Mittelwert sowie oberem und unterem Whisker ohne Ausreißer
- Abbildung 32: Stratifikation der DRH1<sup>®</sup>-Mittelwerte nach HPV-16-Testergebnis als Boxplotdarstellung mit Anzeige des oberen und unteren Quartils, Median, Mittelwert sowie oberem und unterem Whisker ohne Ausreißer
- Abbildung 33: Stratifikation der DRH1<sup>®</sup>-Mittelwerte nach CIN 3+ und HPV-16 Testergebnis als Boxplotdarstellung mit Anzeige des oberen und unteren Quartils, Median, Mittelwert sowie oberem und unterem Whisker ohne Ausreißer
- Abbildung 34: Stratifikation der DRH1<sup>®</sup>-Mittelwerte nach Alter als Boxplotdarstellung mit Anzeige des oberen und unteren Quartils, Median, Mittelwert sowie oberem und unterem Whisker ohne Ausreißer
- Abbildung 35: Anteil an CIN3+-positiven/negativen Ergebnissen in Abhängigkeit von DRH1<sup>®</sup>-Antikörperkonzentration
- Abbildung 36: ROC-Kurve für den mittels Prevo-Check<sup>®</sup>-Test durchgeführten serologischen Nachweis einer CIN 3+-Läsion
- Abbildung 37: altersstandardisierte Inzidenz und Mortalität HPV assoziierter Tumorentitäten, (a) weltweit und (b) Deutschland, Jahr 2018



## Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1: Klassifikation von HPV-Typen nach Karzinogenität
- Tabelle 2: von der FDA zugelassene HPV-Testverfahren
- Tabelle 3: Aufschlüsselung der cobas® 4800-Testergebnisse
- Tabelle 4: Korrelation interner mit externen zytologischen Befunden
- Tabelle 5: Korrelation präoperativer mit postoperativen histologischen Befunden
- Tabelle 6: Stratifikation der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentration nach CIN 3+-positiv/ negativ in der postoperativen Histologie
- Tabelle 7: Stratifikation der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentration nach Ergebnis der postoperativen Histologie
- Tabelle 8: Stratifikation der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentration nach cobas® 4800-Testergebnis
- Tabelle 9: Stratifikation der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentration nach CIN3+ und HPV-16 Testergebnis
- Tabelle 10: Stratifikation der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentration nach Alter
- Tabelle 11: Korrelation der Testergebnisse des cobas® 4800-Tests mit denen des Prevo-Check®-Tests bei einem cut-off-Wert von 1000 ng/ml
- Tabelle 12: Korrelation der Testergebnisse des cobas® 4800-Tests mit denen des Prevo-Check®-Tests bei einem cut-off-Wert von 640 ng/ml
- Tabelle 13: Korrelation der Testergebnisse des cobas® 4800-Tests mit denen des Prevo-Check®-Tests bei einem cut-off-Wert von 0 ng/ml
- Tabelle 14: Korrelation der Ergebnisse des Prevo-Check®-Tests mit denen des cobas® 4800-Tests
- Tabelle 15: Validitätsparameter des Prevo-Check®-Tests mit verschiedenen DRH1®- cut-off-Werten
- Tabelle 16: Validitätsparameter des cobas® 4800-Tests
- Tabelle 17: Validitätsparameter der Zytologie
- Tabelle 18: Probenart-spezifische Validität des Prevo-Check®-Tests bei einem DRH1®-cut-off-Wert von 1000 ng/ml
- Tabelle 19: Probenart-spezifische Validität des Prevo-Check®-Tests bei einem DRH1®-cut-off-Wert von 640 ng/ml
- Tabelle 20: Probenart-spezifische Validität des Prevo-Check®-Tests bei einem DRH1®-cut-off-Wert von 0 ng/ml
- Tabelle 21: Validitätsparameter des Prevo-Check®-Tests je nach Hämolyse bei einem DRH1®-cut-off-Wert von 1000 ng/ml

Tabelle 22: Validitätsparameter des Prevo-Check®-Tests je nach Hämolyse bei einem DRH1®-cut-off-Wert von 640 ng/ml

Tabelle 23: Validitätsparameter des Prevo-Check®-Tests je nach Hämolyse bei einem DRH1®-cut-off-Wert von 0 ng/ml

# 1. Einleitung

## Zervixkarzinom

### Epidemiologie

Im Jahr 2020 stellte das Zervixkarzinom weltweit mit geschätzt 604 000 neuen Fällen das vierthäufigste Karzinom sowie mit ca. 340 000 Todesfällen die vierthäufigste Todesursache dar. In der Altersgruppe der 15- bis 44-Jährigen war Gebärmutterhalskrebs das zweithäufigste Karzinom. International beträgt die geschätzte altersstandardisierte Neuerkrankungsrate 13,3 pro 100 000 Frauen [1].

Global weisen Inzidenz und Mortalität zwischen Industrie- und Entwicklungsländern große Unterschiede auf (siehe Abbildung 1). So wurden im Jahre 2012 85% der Neuerkrankungen und 80% der durch das Zervixkarzinom geforderten Leben in Entwicklungsländern registriert [2, 3]. In 23 Ländern ist das Zervixkarzinom das am häufigsten diagnostizierte Karzinom und in 36 Ländern die häufigste Todesursache. Besonders betroffene Regionen sind Subsahara-Afrika, Melanesien, Südamerika und Südostasien. Im Jahr 2018 konnten 21,7 % aller Krebstodesfälle in Subsahara-Afrika auf das Zervixkarzinom zurückgeführt werden [4]. Die höchsten Fallzahlen verzeichneten allen voran Swasiland und Malawi mit einer altersstandardisierten Neuerkrankungsrate von 84,5 pro 100 000 sowie respektive 67,9 pro 100 000 [1, 5].

Inzidenz und Mortalität stehen im Zusammenhang mit dem Index für humane Entwicklung („Human Development Index“, HDI), auch Wohlstandsindikator genannt, welcher auf Basis von durchschnittlichem Verdienst, Lebenserwartung und Bildungsstand der Bevölkerung berechnet wird [6]. So unterscheiden sich die Inzidenzen um das Dreifache und die Mortalitäten um das Achtfache zwischen Ländern mit hohem und niedrigem HDI [2].

In Europa erkrankten 2020 ca. 58 000 Frauen am Zervixkarzinom, während ca. 26 000 daran verstarben. Auch in Europa lässt sich je nach Region eine große Variabilität der Morbidität erkennen. Osteuropa verzeichnet eine fast vierfach so hohe Inzidenz im Vergleich zu Westeuropa. Das Land mit den niedrigsten Zahlen ist mit einer Neuerkrankungsrate von 3,4 pro 100 000 die Schweiz, wohingegen Montenegro europaweit die höchste Inzidenz mit 26,2 pro 100 000 registriert [1].

Deutschland liegt in Europa mit einer standardisierten Neuerkrankungsrate von 9,2 pro 100 000 Frauen im unteren Mittelfeld. Das Zervixkarzinom stellte 2019 mit 4575 Neuerkrankungen das vierzehnthäufigste Karzinom dar. Es verstarben 1597 Frauen, was 1,5% aller Krebssterbefälle ausmachte. Das mittlere Erkrankungsalter liegt in Deutschland bei 55 Jahren, das mittlere Sterbealter bei 65 Jahren. Das Lebenszeitrisko an einem Zervixkarzinom zu erkranken beträgt 0,8%, das daran zu versterben 0,3%. Die absolute 5-Jahres Überlebensrate liegt bei 62% [7].

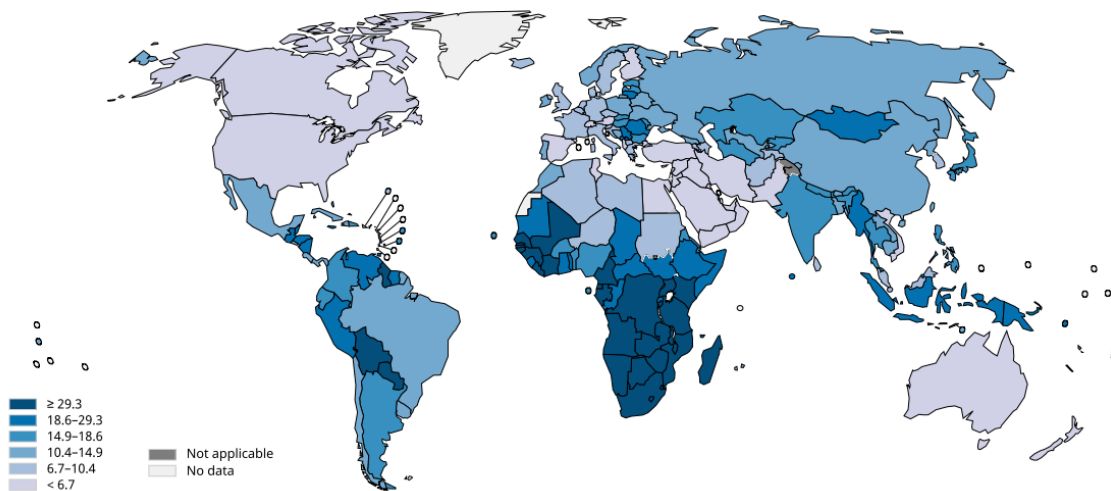


Abbildung 2: weltweite altersstandardisierte Inzidenzrate des Zervixkarzinoms [8]

## Pathologie

Die histologischen Tumortypen des Zervixkarzinoms werden gemäß der WHO-Klassifikation untergliedert [9].

Der mit 80% bis 90% häufigste histologische Subtyp ist das meist von der Ektozervix ausgehende Plattenepithelkarzinom. Deutlich seltener ist das sich von der Endozervix aus entwickelnde Adenokarzinom mit 5% bis 10% [6, 10]. Typischer Entstehungsort des Zervixkarzinoms und seiner Vorstufen ist die sogenannte Transformationszone. Dieser Bereich besteht aus dem Übergang von der mit Zylinderepithel bedeckten Zervix in die mit mehrschichtig unverhorntem Plattenepithel ausgekleidete Vagina. Die Lage der Transformationszone ist je nach Alter unterschiedlich. Bei jungen Frauen liegt sie physiologischerweise ektozervikal, während sie sich bei älteren Frauen nach endozervikal verlagert [11].

Andere Tumorentitäten wie das klarzellige, seröse und neuroendokrine Karzinom, welche prognostisch ungünstiger sind, kommen nur sehr selten vor [12, 13].

### Risikofaktoren

Größter Risikofaktor für die Entwicklung von Gebärmutterhalskrebs ist die persistierende Infektion mit humanen Papillomaviren (HPV) [12]. Nach ersten Hinweisen auf eine Assoziation zwischen HPV und der Entstehung von Karzinomen, konnten in den 1980er-Jahren erstmals HPV-Viren in Zervixkarzinom Biopsien nachgewiesen werden [14–17]. In den 1990er-Jahren konnte durch den Nachweis einer HPV-Prävalenz von 99,7% in zervikalen Tumoren der Zusammenhang zwischen einer persistierenden HPV-Infektion und der Entwicklung von Gebärmutterhalskrebs erhärtet werden [18]. Neuere Arbeiten gehen sogar von einer HPV-Prävalenz von 95% bis 100% aus [19, 20]. Eine HPV-Infektion stellt somit eine notwendige, allerdings nicht alleinige Ursache für die Tumorgenese dar. Für die endgültige Entwicklung eines Zervixkarzinoms bedarf es weiterer Kofaktoren [19, 21].

Weitere Risikofaktoren, die zur Entstehung eines Zervixkarzinoms beitragen, können entweder unabhängige Kofaktoren sein oder solche, die mit einer Erhöhung des Risikos für eine HPV-Infektion einhergehen [12, 22]. So sind frühe Kohabitarche, Anzahl an Sexualpartnern sowie das Sexualverhalten Faktoren, die mit einem höheren Risiko für eine HPV-Akquisition verbunden sind und darüber die Entwicklung eines Zervixkarzinoms begünstigen [6]. In Studien konnten als weitere unabhängige Kofaktoren Koinfektionen mit dem Herpes-simplex-2 Virus oder Chlamydia trachomatis nachgewiesen werden [23, 24].

Des Weiteren ist Nikotinabusus mit einem zweifach höheren Risiko und die Langzeiteinnahme von oralen Kontrazeptiva mit einem vierfach höheren Risiko für die Entwicklung von Gebärmutterhalskrebs verbunden [25, 26]. Auch Multiparität und Immunsuppression, wie eine Infektion mit dem humanen Immundefizienz-Virus (HIV), vergrößern das Risiko [10, 27].

### Präinvasive Läsionen

Die Genese des Zervixkarzinoms erfolgt sukzessiv, beginnend mit einzelnen Zellveränderungen bis hin zur Alteration von Gewebestrukturen, welche zervikale intraepitheliale Neoplasien (CIN) genannt werden [28]. Hierbei handelt es sich um unterschiedliche Stufen der gleichen neoplastischen Veränderungen des Plattenepithels [13].

Bei der CIN 1 handelt es sich um eine milde, bei der CIN 2 um eine moderate und bei der CIN 3 um eine schwere Dysplasie, die eine obligate Präkanzerose darstellt [28]. Die CIN-Nomenklatur basiert auf dem vom Untersucher eingeschätzten prozentualen Ersatz von differenzierten durch proliferierende Zellen, erfasst vom Stroma bis zur Epitheloberfläche. Bei der CIN 3 sind mindestens zwei Drittel des Epithels verändert, bei der CIN 2 zwischen einem und zwei Dritteln und bei der CIN 1 lediglich ein Drittel oder weniger (siehe Abbildung 3) [29]. Die 2014 veröffentlichte WHO-Klassifikation ersetzt die dreistufige CIN-Einteilung intraepithelialer Neoplasien durch eine zweistufige Einteilung in „low-grade“- und „high-grade“-Läsionen (siehe Abbildung 2). Die deutsche S3-Leitlinie empfiehlt allerdings weiterhin die Verwendung der dreistufigen CIN-Terminologie. Zu den glandulären präkanzerösen Vorläuferläsionen zählen die Vorstufen des selteneren Adenokarzinoms, die als Adenokarzinoma *in situ* (AIS) bezeichnet werden [12].

	WHO-Nomenklatur 2014 (Histologie)	III. Münchner Schema (Zytologie)	Bethesda-System (Zytologie/Histologie)
CIN 1	low-grade SIL <sup>a</sup>	Gruppe III D1	low-grade SIL <sup>a</sup>
CIN 2	high-grade SIL <sup>a</sup>	Gruppe III D2	high-grade SIL <sup>a</sup>
CIN 3	high-grade SIL <sup>a</sup>	Gruppe IVa-p	high-grade SIL <sup>a</sup>
AIS	AIS oder ACIS	Gruppe IVa-g	AIS

<sup>a</sup>SIL: squamous intraepithelial lesion

Abbildung 2: Klassifikation zervikaler Neoplasien [12]

Theoretisch kann sich ein Zervixkarzinom aus allen CIN-Stufen entwickeln, am häufigsten geschieht dies allerdings ausgehend von einer CIN 3-Läsion [22]. 60% der CIN 1-Läsionen sowie 55% der CIN 2 Läsionen bilden sich spontan innerhalb von 2 Jahren zurück und tragen ein kanzeröses Invasionsrisiko von unter 0,5% [30]. Im Gegensatz dazu besitzt die CIN 3-Läsion ein deutlich höheres onkogenes Potenzial. In einer Studie in den 1960er-Jahren konnte nachgewiesen werden, dass bei fehlender Behandlung eines CIN 3-Befundes ein bis zu 50%iges Risiko für die Entwicklung eines Zervixkarzinoms besteht [31]. Bei adäquater Behandlung einer CIN 3-Läsion verbleibt allerdings nichtsdestotrotz ein über zwölfprozentiges Progressionsrisiko [32, 33]. Sowohl Schweregrad als auch Persistenzdauer der Läsion korrelieren mit dem Risiko einer Progression [11]. Im Durchschnitt liegen zwischen einer Erstinfektion mit HPV und der Entstehung eines Karzinoms ca. 15 Jahre [12]. In 10% der Fälle kann die Dauer dieser Transition allerdings auch weniger als ein Jahr betragen [10].

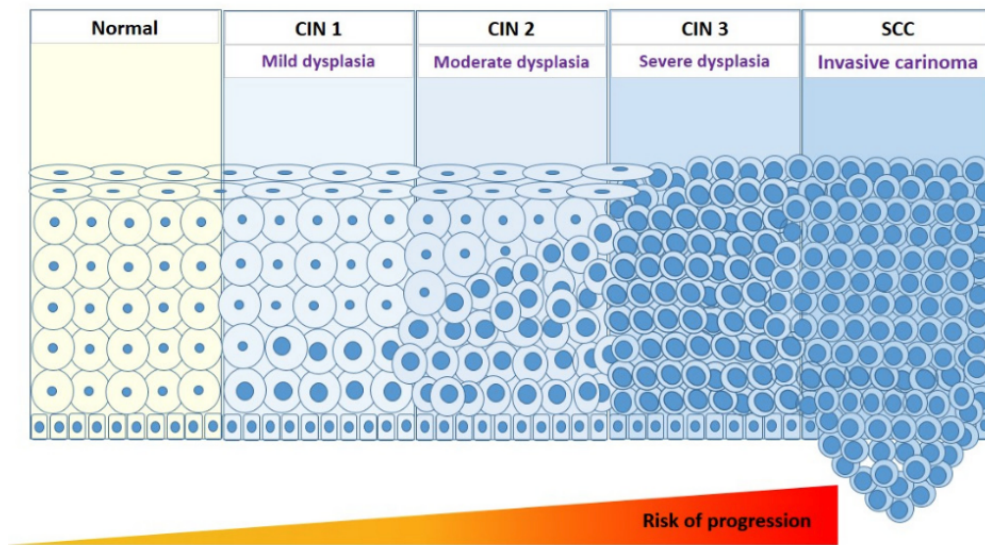


Abbildung 3: Entwicklung zervikaler intraepithelialer Neoplasien [34]

## Früherkennung des Zervixkarzinoms

Zur Früherkennung des Zervixkarzinoms stehen zwei diagnostische Verfahren zur Verfügung. Zum einen der zytologische Abstrich und zum anderen die Kolposkopie. Zur weiteren Risikostratifizierung können diese gegebenenfalls um eine HPV-Diagnostik erweitert werden. Diese Früherkennungsmaßnahmen dienen zur Erfassung zervikaler Neoplasien vor deren Invasion [11].

### 1) Zytologischer Abstrich

Ziel des zytologischen Abstriches ist es, bereits frühzeitig krankhaft veränderte Zellen der Zervix zu erkennen. Der Abstrich basiert auf der zytomorphologischen Beurteilung zervikaler Zellen zur Stratifizierung des Risikos für ein zugrunde liegendes Karzinom. Das zytologische Screening wurde im Jahr 1928 vom Münchner Mediziner Georg Papanicolaou vorgestellt und wird daher Pap-Abstrich genannt [35, 36].

Bei der Durchführung stehen zwei Verfahren zur Herstellung des Abstrichs zur Verfügung. Bei beiden werden zunächst mithilfe eines Spatels oder Bürstchens je nach Alter und entsprechender Lage der Transformationszone Exfoliativzellen von der Portiooberfläche beziehungsweise aus dem Zervikalkanal entnommen.

Bei der konventionellen Methode werden die gewonnenen Zellen auf einem Objektträger ausgestrichen, mit 96%igem Alkohol fixiert, gefärbt und im Anschluss vom zytologischen Labor beurteilt [37]. Bei der Dünnschicht-Zytologie, auch flüssigkeitsbasierte Zytologie („Liquid-based Cytologie“, LBC) genannt, werden die Zellen in ein Flüssigmedium überführt, um erst im zytologischen Labor gleichmäßig auf einen Objektträger übertragen, gefärbt und analysiert zu werden [38, 39]. Ein Vorteil letzteren Verfahrens ist die bessere Auswertbarkeit aufgrund fehlender Zellüberlagerungen und Vermeidung von Verunreinigungen mit Schleim oder Blut [39, 40]. Ein weiterer Vorteil ist die Möglichkeit, mit Hilfe der konservierten Flüssigkeit zusätzlich eine HPV-Diagnostik durchführen zu können [12]. Allerdings konnte in randomisiert kontrollierten Studien eine Überlegenheit der LBC gegenüber der konventionellen Methode im Nachweis höhergradiger Dysplasien nicht belegt werden [41, 42].

Die Abstriche selbst werden nach der Färbung vom zytologischen Labor anhand der Münchner Nomenklatur III ausgewertet [43]. Ein Abstrich der Gruppe I entspricht einem unauffälligen Befund, wohingegen die Gruppe V den Verdacht eines Zervixkarzinoms anzeigt. Ein Befund der Gruppe IIID1 entspricht dem Zellbild einer milden Dysplasie und somit einer CIN 1-Läsion, der der Gruppe IIID2 dem Zellbild einer moderaten Dysplasie und damit einer CIN 2-Läsion. Ein Befund der Gruppe IVa-p weist zytomorphologisch eine schwere Dysplasie nach und ist somit einer CIN 3-Läsion gleichzusetzen. Das AIS entspricht einem IVa-g Befund [35].

International wird die nordamerikanische Bethesda-Nomenklatur verwendet, welche weitgehend der Münchner Nomenklatur entspricht (siehe Abbildung 4) [12].



Gruppe	Definition	Bethesda-System <sup>a</sup>
<b>0</b>	<b>Unzureichendes Material</b>	Unsatisfactory for evaluation
<b>I</b>	<b>Unauffällige und unverdächtige Befunde</b>	NILM
II-a	Unauffällige Befunde bei auffälliger Anamnese	
<b>II</b>	<b>Befunde mit eingeschränkt protektivem Wert</b>	
II-p	Plattenepithelzellen mit geringergradigen Kernveränderungen als bei CIN 1	ASC-US
II-g	Zervikale Drüsenzellen mit Anomalien, die über das Spektrum reaktiver Veränderungen hinausreichen	AGC endocervical NOS
II-e	Endometriumzellen bei Frauen > 40. Lebensjahr in der 2. Zyklushälfte	Endometrial cells
<b>III</b>	<b>Unklare bzw. zweifelhafte Befunde</b>	
III-p	CIN 2/CIN 3/Plattenepithelkarzinom nicht auszuschließen	ASC-H
III-g	Ausgeprägte Atypien des Drüsenepithels, AIS/invasives Adenokarzinom nicht auszuschließen	AGC endocervical favor neoplastic
III-e	Abnorme endometriale Zellen (insbesondere postmenopausal)	AGC endometrial
III-x	Zweifelhafte Drüsenzellen ungewissen Ursprungs	AGC favor neoplastic
<b>IIID</b>	<b>Dysplasiebefunde mit größerer Regressionsneigung</b>	
IIID1	Zellbild einer leichten Dysplasie analog CIN 1	LSIL
IIID2	Zellbild einer mäßigen Dysplasie analog CIN 2	HSIL
<b>IV</b>	<b>Unmittelbare Vorstadien des Zervixkarzinoms</b>	
IVa-p	Zellbild einer schweren Dysplasie/eines CIS analog CIN 3	HSIL
IVa-g	Zellbild eines AIS	AIS
IVb-p	Zellbild einer CIN 3, Invasion nicht auszuschließen	HSIL with features suspicious for invasion
IVb-g	Zellbild eines AIS, Invasion nicht auszuschließen	AIS with features suspicious for invasion
<b>V</b>	<b>Malignome</b>	
V-p	Plattenepithelkarzinom	Squamous cell carcinoma
V-g	Endozervikales Adenokarzinom	Endocervical adenocarcinoma
V-e	Endometriales Adenokarzinom	Endometrial adenocarcinoma
V-x	Andere Malignome, auch unklaren Ursprungs	Other malignant neoplasms

Abbildung 4: Münchner Nomenklatur III mit Bezug zur Bethesda-Klassifikation [12]

## 2) Kolposkopie

Aufgrund mangelnder Sensitivität und Spezifität eignet sich die Kolposkopie nicht als primäres Screening-Instrument [38]. „Die Kolposkopie dient der differenzialdiagnostischen Abklärung auffälliger zytologischer Abstriche oder persistierender HPV-Infektionen, der Verlaufskontrolle bei CIN (insbesondere auch während der Schwangerschaft) und der präoperativen Abklärung bei CIN oder bei Verdacht auf ein (mikro)invasives Zervixkarzinom.“ [12]

Das Kolposkop ist ein Auflichtmikroskop, mit dem die Vagina und die Zervix binokular und dreidimensional in vier- bis dreißigfacher Vergrößerung dargestellt werden können [35, 38]. Zunächst wird die Portio mittels Spekulum eingestellt und Vagina sowie Endo- und Ektozervix nativ beurteilt [12]. Wichtige Voraussetzung für die Aussagekraft der Kolposkopie ist das mögliche Einsehen der Transformationszone als Entstehungsort der präneoplastischen Veränderungen [44]. Die Einsehbarkeit wird daraufhin in drei Typen klassifiziert. Typ 1 entspricht einer vollständigen Sichtbarkeit der Transformationszone, Typ 2 einer Einsehbarkeit bis nach endozervikal, gegebenenfalls nach Aufspreizen der Zervix. Beim Typ 3 ist die Transformationszone entweder nicht oder nur teilweise einsehbar [45].

Im Anschluss werden zwei sogenannte Funktionsproben mit 3% bis 5%iger Essigsäure sowie Lugolscher Lösung, einer 3% bis 10%igen Jod-Jodkaliumlösung, durchgeführt [38]. Durch das Auftupfen von Essigsäure erscheinen sowohl Neoplasien als auch Metaplasien als „essigweiße“ Areale, da Zellen mit einem verschobenen Kern-Plasma Verhältnis das Licht stärker reflektieren [13]. Das Jod der Lugolschen Lösung färbt das in den Plattenepithelien gespeicherte Glykogen an. Jod-negative Bereiche sind ein pathognomonisches Zeichen für dysplastische Zellveränderungen, da das Glykogen in neoplastischen Zellen aufgrund des erhöhten Zellumsatzes vermehrt verbraucht wird und somit nicht mehr angefärbt werden kann [11].

Nachfolgend werden unter kolposkopischer Sicht bei den Transformationszonentypen 1 und 2 Biopsien aus den suspekt erscheinenden Arealen entnommen. Beim Transformationszonentyp 3 sollte eine vorsichtige Kürettage der Endozervix erfolgen [38].

Die Befunde werden entsprechend der zuletzt 2011 überarbeiteten kolposkopischen IFCCP („International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy“)-Nomenklatur gemäß eines standardisierten Schemas beurteilt. Hierbei werden Qualität der Kolposkopie, Normalbefunde, abnorme Befunde inklusive Lokalisation und Schwere der Läsionen sowie nicht spezifische abnorme Befunde klassifiziert [45–48].

## Therapie präinvasiver Läsionen

### *1) Indikation*

Die Indikationsstellung zur Therapie präinvasiver Läsionen ist abhängig von deren Risiko einer Progression.

Aufgrund der geringen Progressionswahrscheinlichkeit einer CIN 1, kann in diesem Falle abgewartet und eine erneute Kontrolle nach sechs Monaten erfolgen. Auch eine CIN 2-Läsion birgt ein niedriges Progressionsrisiko, sodass hier ebenfalls nach sechs Monaten erneut kontrolliert werden kann. Erst nach einer Persistenz über 24 Monate besteht die Indikation zur Therapie. Aufgrund des hohen onkogenen Potenzials einer CIN 3-Läsion sollte bei histopathologischer Diagnosestellung, außer in der Schwangerschaft, immer die Entfernung erfolgen [32, 38].

### *2) Operationsverfahren*

Die Operationsmethode der Wahl ist die Konisation. Hierbei wird je nach Alter der Patientin (und somit Lage der Transformationszone) sowie Lokalisation der Epithelläsion ein zylindrischer bis konischer Keil entweder mit einem Skalpell, einem Laser oder einer Elektroschlinge aus der Zervix entfernt [11, 49]. Ziel ist es, das erkrankte Gewebe vollständig zu entfernen und gleichzeitig so viel gesundes Gewebe wie möglich zu erhalten [38]. Durch eine erfolgreiche Konisation kann das Risiko für die Entwicklung eines Zervixkarzinoms um 95% reduziert werden [50].

Bei der Konisation wird zwischen Exzisions- und Ablationsverfahren unterschieden. Bei den Exzisionsverfahren wird Gewebematerial entfernt und kann somit nachfolgend histopathologisch beurteilt werden. Im Gegensatz hierzu wird bei den Ablationsverfahren das Gewebe destruiert, wodurch keine pathologische Beurteilung erfolgen kann [12].

Die S3-Leitlinie empfiehlt als Standardtherapie präinvasiver Läsionen unter den Exzisionsverfahren die Elektroschlingenkonisation sowie die Laserexzision [12, 38]. Die Exzision mit dem Skalpell wird aufgrund eines erhöhten Komplikationsrisikos nur noch selten durchgeführt und wird laut S3-Leitlinie nur bei Vorliegen einer glandulären intraepithelialen Neoplasie empfohlen [32, 38]. Zu den Ablationsverfahren zählen unter anderem die Kryotherapie, Laserablation und Laservaporisation [51].

### 3) Komplikationen

Das Spektrum möglicher Komplikationen einer Konisation erstreckt sich von kreislaufwirksamen Nachblutungen und Infektionen bis hin zur Entwicklung von Zervikalkanalstenosen mit begleitender Hämatometra [35, 38].

Exzisionsverfahren sind vor allem mit einer Erhöhung der Schwangerschafts-assoziierten Morbidität verbunden. Vor allem die Messerkonisation führt zu einer signifikanten Erhöhung des Frühgeburtlichkeitsrisikos von 5% auf 14%. Zudem kommt es zu einem signifikanten Anstieg des Risikos für mikrosome Säuglinge von 7% auf 12%, sowie für Sectiones von 3% auf 9%. Ähnliche Risiken verursachen allerdings auch die Elektroschlingenkonisation und die Laserablation. Zudem sind Konisationen mit einer höheren Rate an Spätaborten im zweiten Trimenon (1,6% versus 0,4%) und Extrauteringraviditäten (1,6% versus 0,8%) verbunden, sodass bei jungen Frauen mit bestehendem Kinderwunsch die Indikation zur Konisation nur vorsichtig gestellt werden sollte [51–53].

### Humane Papillomaviren

Humane Papillomaviren zählen zur großen taxonomischen Familie der Papillomaviridae. Sie kommen zwar ubiquitär, dafür aber artspezifisch in höheren Vertebraten vor. Eine Übertragung von Mensch zu Tier ist nicht möglich [13, 54]. Infektionen mit HPV beschränken sich auf Epithelien der Schleimhäute und Haut und sind dort lokal begrenzt [35].

### Struktur

Humane Papillomaviren sind kleine, unbehüllte ca. 50-60 nm messende Viren, deren Genom aus einer zirkulären doppelsträngigen DNA besteht [55, 56]. Das ca. 8000 Basenpaare umfassende Genom lässt sich in drei Regionen untergliedern (siehe Abbildung 5) [57, 58].

Die erste Region ist die nicht kodierende „Long Control Region“ (LCR), welche Kontrollelemente zur Regulation der viralen Replikation und Genexpression enthält [13, 55].

Die beiden anderen Bereiche werden ihrem Expressionszeitpunkt zufolge in sechs frühe („Early“ - E1, E2, E4, E5, E6) und zwei späte („Late“ - L1, L2) Gene eingeteilt. Unter den frühen Genen befinden sich auch die beiden Onkogene E6 und E7, welche eine zentrale Bedeutung in der malignen Transformation infizierter Zellen spielen [12, 59, 60]. Die von der frühen Region kodierten Proteine steuern den Wirtszellzyklus und initiieren die

Zellzyklustransformation, wohingegen die späten Gene für virale Kapsidproteine kodieren [12, 28, 59].

Die ikosaedrisch geformte Hülle der Viren setzt sich zu 80% aus dem größeren Strukturprotein L1 und zu 20% aus dem kleineren Strukturprotein L2 zusammen [61].

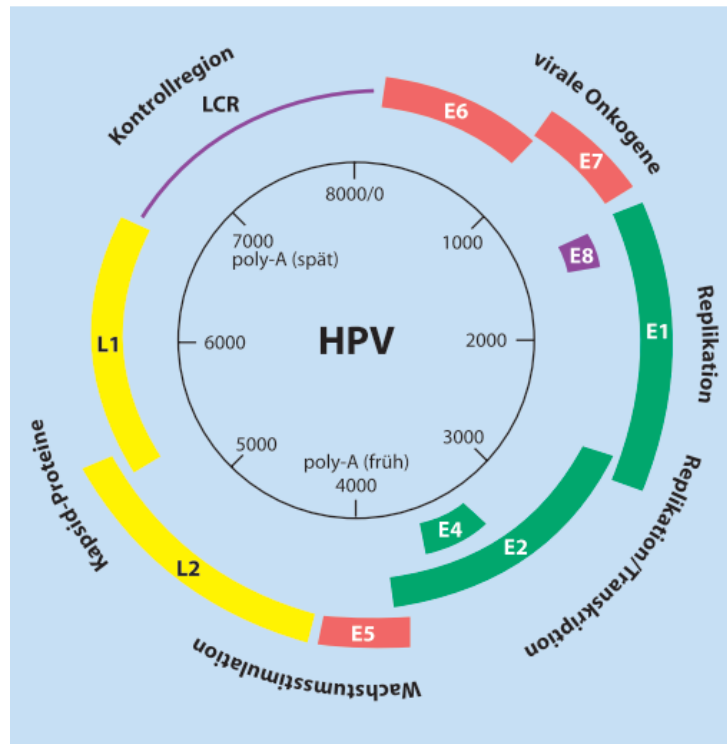


Abbildung 5: Aufbau des HPV-Genoms [13]

### Epidemiologie

Die weltweite HPV-Prävalenz beträgt 11,7% und weist ähnlich des Zervixkarzinoms große geografische Unterschiede auf (siehe Abbildung 6). Die höchsten Zahlen können in Subsahara-Afrika mit 24%, Osteuropa mit 21,4% und Lateinamerika mit 16,1% registriert werden [62]. Die niedrigsten Prävalenzen weisen Südeuropa und Südostasien mit 6% beziehungsweise 7% auf [56]. Die deutschlandweite HPV-Prävalenz in der Altersgruppe der über 30-Jährigen schwankt je nach Studie zwischen 4,8% und 7,8% [19, 63, 64].

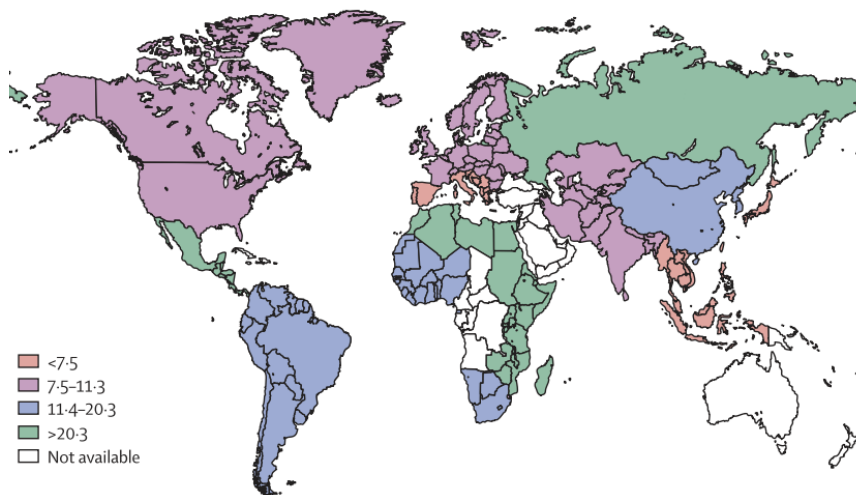


Abbildung 6: weltweite HPV-Prävalenz [65]

Eine Infektion mit HPV ist weltweit die häufigste sexuell übertragbare virale Erkrankung [66]. Für sexuell aktive Frauen beträgt das Risiko, sich innerhalb ihres Lebens mit HPV zu infizieren 84,6%, für Männer sogar 91,3%. So erwerben 80% der Bevölkerung das humane Papillomavirus bis zu einem Alter von 45 Jahren [67]. Neben dem häufigsten Modus der sexuellen Übertragung kann HPV auch über Haut-zu-Haut Kontakt oder vertikal bei der Geburt von der Mutter zum Kind übertragen werden [54, 56].

Die HPV-Prävalenz weist zudem eine hohe Altersabhängigkeit auf. Weltweit sind vor allem Frauen unter 25 Jahren betroffen, ein erneuter Anstieg der Prävalenz zeigt sich in Afrika, Amerika und Europa bei Frauen über 45 Jahren (siehe Abbildung 7) [62, 65]. So besteht für Frauen unter 25 ein bis zu 60%iges Risiko sich mit HPV zu infizieren mit einer jährliche Infektionsrate von 10% bis 15% [58, 68]. In Deutschland liegt die HPV-Prävalenz in der Altersgruppe der 10- bis 30-Jährigen bei 22,3% [19].

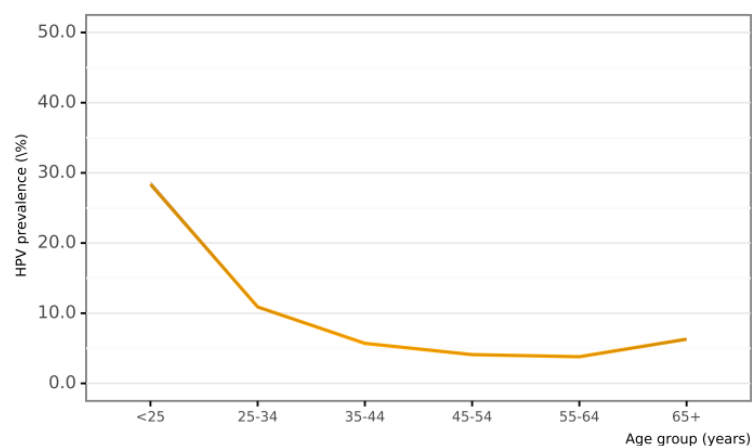


Abbildung 7: weltweite altersspezifische HPV-Prävalenz [19]

Bei jungen Frauen handelt es sich allerdings hauptsächlich um transiente Infektionen, welche effektiv durch eine zellvermittelte Immunantwort eliminiert werden [69, 70]. Die Infektionsdauer beträgt im Durchschnitt ein bis zwei Jahre, in 92% der Fälle lässt sich HPV nach fünf Jahren nicht mehr nachweisen. Lediglich bei 10% der Frauen persistiert eine HPV-Infektion [37, 71]. Im Allgemeinen wird von einer Viruspersistenz gesprochen, wenn ein positiver HPV-Nachweis in zwei oder mehreren aufeinander folgenden Tests im Abstand von sechs Monaten besteht [13, 28]. Persistierende Infektionen gehen mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung prämaligener Läsionen und nachfolgend Karzinomen einher [72]. So wies eine Studie bei einer Persistenz einer HPV-Infektion von über einem Jahr ein Dreijahresrisiko von 17% für die Entwicklung einer hochgradigen Zervixerkkrankung (CIN 2, CIN 3 oder Zervixkarzinom) nach [73].

Die CIN 1-Läsion wird als histopathologisches Korrelat einer akuten Infektion mit HPV erachtet, wohingegen eine CIN 3-Läsion eine persistierende Infektion widerspiegelt [36]. Dies ist auch der Grund, warum niedriggradige Dysplasien am häufigsten junge Frauen im Alter zwischen 20 und 24 betreffen, mittelgradige Dysplasien hingegen Frauen zwischen 25 und 30 und hochgradige Dysplasien Frauen zwischen 30 und 34 [35].

### Klassifikation

Weltweit wurden bereits über 200 HPV-Arten identifiziert [74]. Die Klassifikation der humanen Papillomaviren erfolgt anhand ihres Genotyps in 5 Genera ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\mu$ , und  $\nu$ ) [55, 61].

Das HPV-L1-Gen zeigt innerhalb des HPV-Genoms die höchste Konservierung und wird daher zur Gruppierung von HPV-Typen herangezogen. Ab einer Homologie von weniger als 90% wird von einem neuen Typ gesprochen [22, 75]. Die Gattungen unterscheiden sich hinsichtlich ihres Tropismus. So befallen HP-Viren der Beta-, Gamma-, My- und Ny-Genera hauptsächlich verhorntes Plattenepithel, wohingegen Alpha-Viren größtenteils Schleimhäute des Aerodigestiv- und Anogenitaltrakts infizieren [75–77]. Im Genitalbereich konnten bisher 40 Genotypen nachgewiesen werden [35].

Der mukotrope Alpha-Genus ist der mit Abstand am besten erforschte Typ [70]. Die zugehörigen Genotypen werden wiederum anhand ihres onkogenen Potenzials und ihrer Assoziation mit Karzinomen in „Low-Risk (LR)“- und „High-Risk (HR)“-Typen untergliedert [56, 59]. Die häufigsten LR-HPV-Typen sind Typ 6, 11 und 53 und verursachen 90% der anogenitalen Warzen, auch Condyloma acuminata genannt [61, 76]. Die selteneren

epidermotropen Alpha Typen bestehen aus den Typen 2, 3, 10 sowie 57 und verursachen in der Regel benigne Warzen an Händen und Füßen [39, 70].

Laut der „International Agency for Research on Cancer“ (IARC) zählen 13 HPV-Arten zu den Gruppe 1 karzinogenen HR-Typen. HPV-Typ 68 wird der Gruppe 2A zugeordnet und als wahrscheinlich karzinogen eingestuft. 11 weitere HPV-Typen werden als möglicherweise karzinogen bewertet und sind der Gruppe 2B zugehörig (siehe Tabelle 1) [56].

HPV-Typ	IARC-Klassifizierung
16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66	1 (karzinogen, high-risk)
68	2A (wahrscheinlich karzinogen)
26, 30, 34, 53, 67, 69, 70, 73, 82, 85, 97	2B (möglicherweise karzinogen)

*Tabelle 1: Klassifikation von HPV-Typen nach Karzinogenität [56]*

Persistierende Infektion mit diesen Typen sind im Anogentialbereich mit Karzinomen der Zervix, Vagina, Vulva, des Penis und des Analkanals, sowie im Kopf- und Halsbereich unter anderem mit Karzinomen des Oropharynx und des Larynx assoziiert [66, 76]. Global können ca. 4% aller Karzinome auf eine Infektion mit HPV zurückgeführt werden, bei Frauen sogar 50% aller infektionsbedingten Karzinome [14, 55].

Insgesamt werden weltweit HPV-Typ 16 (3,2%), HPV-Typ 18 (1,4%), HPV-Typ 52 (0,9%), HPV-Typ 31 (0,8%) und HPV-Typ 58 (0,7%) am häufigsten nachgewiesen [62].

HPV-Typ 16 und Typ 18 verursachen insgesamt 70% aller Zervixkarzinome weltweit [19]. Weitere mit dem Zervixkarzinom assoziierte Typen, die allerdings global seltener vorkommen, sind Typ 45 (2%-8%), 31 (2%-7%) und 33 (3%-5%) (siehe Abbildung 8) [78]. HPV-16 ist vor allem mit Plattenepithelkarzinomen und deren Vorstufen assoziiert, HPV-18 mit Adenokarzinomen [77]. HPV-16 und HPV-18 tragen ein besonders hohes onkogenes Potenzial. Bei einer Infektion mit diesen beiden Typen besteht ein 40% höheres Risiko für eine Progression zu einer zervikalen Neoplasie [39]. Eine Infektion mit HPV-16 allein birgt ein 20%iges Risiko, eine zervikale Neoplasie oder ein Zervixkarzinom über einen Zeitraum von fünf Jahren zu entwickeln [79].



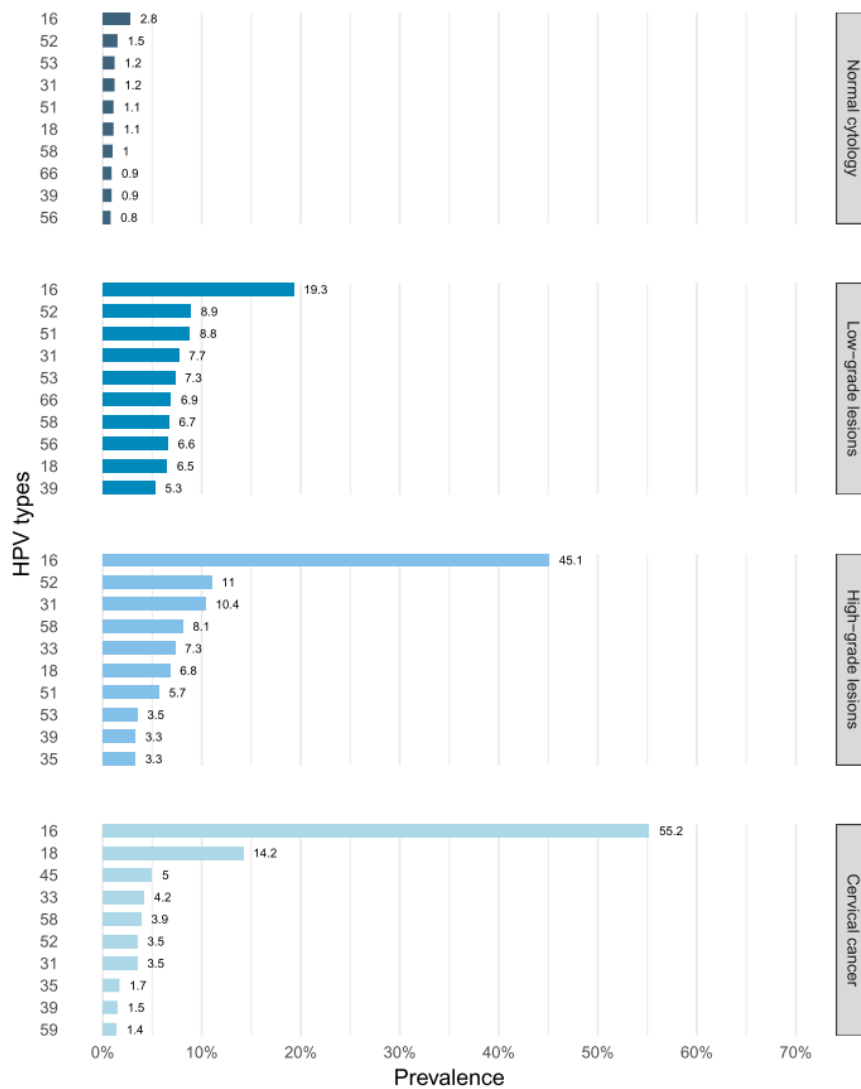


Abbildung 8: globale Häufigkeit der 10 häufigsten HR-HPV-Typen in Abhängigkeit von zervikalen Veränderungen [19]

### Lebenszyklus

Der Lebenszyklus humaner Papillomaviren kann grob in drei Stadien untergliedert werden: die beiden nicht-produktiven Phasen der Etablierung und Erhaltung des Virus in der Epithelzelle sowie die produktive Phase der Vervielfältigung und Freisetzung neuer Viren.

HPV infiziert, wie bereits beschrieben, Epithelzellen der Haut und Schleimhäute. Diese bestehen aus undifferenzierten, mitotisch aktiven Basalzellen sowie oberflächlichen Zellen, welche mit aufsteigender Schicht weiter ausdifferenzieren und sich nicht weiter teilen können [76]. Humane Papillomaviren enthalten keinen Replikationsapparat und sind daher auf eine replikationsaktive Wirtszelle angewiesen [55, 76].

Sie infizieren folglich die sich teilenden Basalzellen von Plattenepithelien [58]. Um Zugang zu diesen zu erhalten, ist eine Voraussetzung für die Infektion mit HPV eine Unterbrechung der Integrität der darüber liegenden Zellschichten. Dies können Mikroabrasionen durch Mikroverletzungen oder auch Haarfollikel sein [80]. Weitere Prädilektionsstellen sind Transformationszonen, welche durch den stufenweisen Ersatz eines Epitheltyps durch einen anderen Epitheltyp gekennzeichnet sind. Dieser Prozess wird auch Metaplasie genannt. Hierdurch entstehen natürlicherweise Lücken im Gewebe, wodurch HP-Viren Zugang zu den exponierten Basalzellen erhalten. Transformationszonen kommen in der Zervix, dem Anus und den Tonsillen vor. Hierdurch lässt sich die Assoziation von Karzinomen dieser Lokalisationen mit Infektionen mit HR-HPV-Typen erklären [13].

Nach Infektion der Basalzellen wird das virale Genom zunächst als autonom replizierendes Episom in den Wirtszellkern eingeschleust. In der ersten Phase der Etablierung des Virus kommt es zur viralen Transkription und Genamplifikation, sodass am Ende ca. 50-100 virale Plasmide im Zellkern vorliegen.

In der zweiten Phase wird eine konstante Anzahl an Episomen aufrechterhalten. Im Sinne einer persistierenden Infektion kann das HPV-Genom über Jahre bis Jahrzehnte hinweg in den Basalzellen verbleiben. In einem geringen Prozentsatz kann dies zur Entwicklung prämaligener Läsionen führen. In den meisten Fällen kommt es allerdings zur spontanen Abheilung [55, 76, 81].

In den ersten beiden Phasen werden ausschließlich frühe Gene, allen voran E1 und E2, exprimiert und die virale Genexpression einer strikten Kontrolle unterzogen. E2 fungiert hier als primärer Repressor der beiden onkogenen Proteine E6 und E7, sodass diese nur in minimalen Mengen produziert werden [55, 81].

Aufgrund unbekannter Mechanismen kommt es zum Übergang in die letzte, produktive Phase, welche in den differenzierenden suprabasalen Zellen abläuft. Es findet eine vermehrte, allerdings immer noch geringe Expression von E6 und E7 statt. Diese initiieren einen Wiedereintritt in die S-Phase der normalerweise mitotisch inaktiven Zellen. Zudem werden die späten Kapsidproteine L1 und L2 exprimiert, sodass die Viren assembliert und freigesetzt werden können [55, 76].

## Maligne Transformation

Wichtige Voraussetzung der malignen Transformation einer mit HPV infizierten Epithelzelle ist die Integration der normalerweise episomal persistierenden viralen DNA in das Wirtsgenom [28, 82]. In Studien konnte belegt werden, dass der Schweregrad zervikaler Neoplasien mit der Menge an integrierter viraler HPV-16 DNA positiv korreliert [83]. So lässt sich in CIN 1-Läsionen das virale Genom größtenteils als Plasmid nachweisen. In CIN 3-Läsionen oder Karzinomen hingegen, ist die virale DNA zumeist integriert [13].

Durch die Auflösung der episomalen Ringstruktur infolge der Integration ins Wirtsgenom kommt es zur Deletion des E2-Genabschnittes und damit zum Verlust der Repression der beiden Onkogene E6 und E7 [38, 59, 84]. Hauptaktivität der beiden Onkoproteine ist die Degradierung zellulärer Tumorsuppressorgene. So hemmt E6 p53, E7 interagiert hingegen mit den Retinoblastomproteinen [13, 81]. Die dadurch verursachten Veränderungen in zellulären Signaltransduktionskaskaden führen zum einen durch eine Hemmung der Apoptose zur Immortalisierung der Zelle und zum anderen zu vermehrter Zellproliferation [57, 59]. Des Weiteren erzeugen die Onkoproteine chromosomale Instabilitäten und führen damit zur Akkumulierung genetischer Mutationen [76, 76]. Ein weiterer wichtiger Wirkmechanismus von E6 und E7 ist die bereits oben genannte Stimulation der differenzierenden suprabasalen Epithelzellen zum Wiedereintritt in die Synthesephase der Zellteilung [70].

Die genannten Mechanismen führen zur malignen Entartung der Zelle und ultimativ zur Entwicklung von Karzinomen (siehe Abbildung 9).

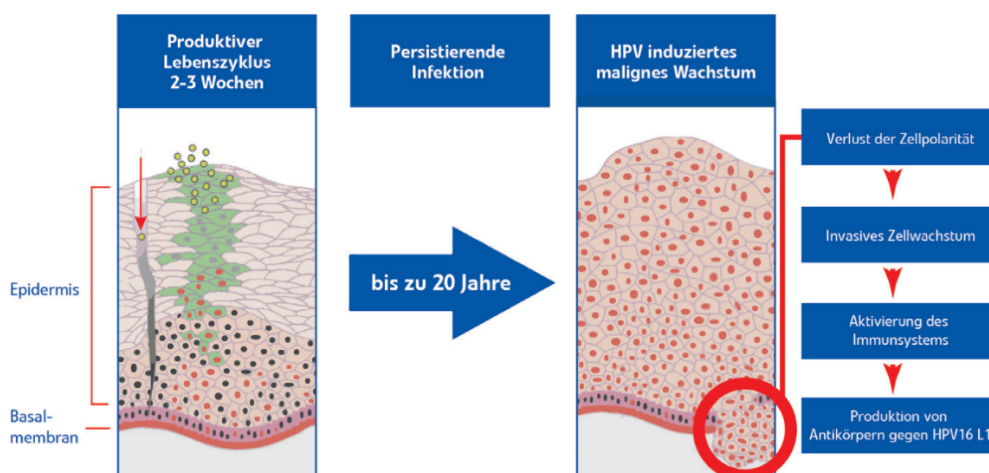


Abbildung 9: maligne Transformation des Zervixepithels [85]

## HPV-Analytik

HP-Viren lassen sich nicht kultivieren, sodass alle HPV-Testverfahren auf dem Nachweis viraler Nukleinsäuren beruhen [49, 77]. Am weitesten verbreitet sind DNA-Nachweismethoden [86]. Zur Gewinnung geeigneten Materials werden ähnlich wie bei der Zytologie Exfoliativzellen von der Endozervix gewonnen, in ein Transportmedium übertragen und anschließend getestet [87]. Verfügbare Testverfahren lassen sich drei unterschiedlichen Kategorien zuordnen: Eine Kategorie liefert Hinweise, ob prinzipiell eine Infektion mit HR-HP-Viren vorliegt. In der zweiten Kategorie erfolgt zusätzlich der Nachweis einer Infektion mit den HR-Typen 16 und 18. Testverfahren der letzten Kategorie können einzelne HPV-Typen der High-Risk-Gruppe identifizieren [88].

Die am häufigsten verwendeten Methoden zum Nachweis der viralen Nukleinsäuren sind Hybridisierungsverfahren mit Signalamplifikation oder Polymerase-Kettenreaktionen (PCR) [36]. Unter den Hybridisierungsverfahren ist das „Hybrid-Capture“-Verfahren das am häufigsten angewandte. Hierbei wird der Probe nach Denaturierung der DNA eine spezifische RNA-Sonde zugefügt, welche an die Ziel-DNA bindet und wodurch HPV-DNA-RNA-Hybride entstehen. Zur Signalamplifikation werden diese Hybride mithilfe eines Antikörpers auf einer Mikrotiterplatte gebunden, um daraufhin durch anti-DNA-RNA-Antikörper detektiert zu werden. Diese Antikörper sind mit dem Enzym Alkalische Phosphatase markiert. Im Anschluss werden alle nicht gebundenen Komponenten ausgewaschen. Den immobilisierten Komplexen wird im nächsten Schritt ein Luminogen-Substrat hinzugefügt, welches durch das in den anti-DNA-RNA-Antikörpern gebundene Enzym dephosphoryliert wird und wodurch ein Lichtsignal entsteht. Die Intensität des emittierten Chemolumineszenzsignals wird mithilfe eines Luminometers gemessen. Das Signal ist proportional zur Viruslast und wird in „Relative Light Units“ (RLU) angegeben [13, 89]. Goldstandard unter diesen Verfahren ist der sogenannte „Hybrid-Capture II“-Test (HC2) [86].

Bei den PCR-Verfahren werden Konsensus-Primer genutzt, welche zumeist das L1 oder E1 Gen amplifizieren. PCR-Methoden erlauben neben dem Nachweis von DNA auch den von mRNA. Hier wird zumeist mRNA der E6 und E7 Gene detektiert [88]. Das durch die PCR entstandene Produkt kann mit unterschiedlichen Verfahren, wie beispielsweise der reversen Hybridisierung, nachgewiesen werden [89].

Derzeit sind drei DNA- und ein RNA-Testverfahren von der amerikanischen „Food and Drug Administration“ (FDA) zum HPV-Screening zugelassen [49, 90]. Tabelle 2 gibt Aufschluss über diese Testverfahren.

Test	Hersteller	Ermittelte Genotypen	Methode	Testergebnisse
Hybrid Capture II	QIAGEN	HR: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 LR: 6, 11, 42, 43, 44	- DNA (nicht PCR-basiert) - Signalamplifikation: gesamtes Genom	HR-HPV: +/- LR-HPV: +/-
cobas	Roche	HPV 16/18 Genotypisierung + Detektion 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	- DNA (PCR) - Zielamplifikation: Gen L1	HR-HPV: +/- HPV-16: +/- HPV-18: +/- HPV-other: +/-
Cervista	Hologic	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	- DNA (nicht PCR-basiert) - Signalamplifikation: Gene E6, E7, L1	HR-HPV: +/-
APTIMA	Hologic	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	- mRNA (PCR) - Zielamplifikation: E6, E7	HR-HPV: +/-

Tabelle 2: von der FDA zugelassene HPV-Testverfahren [38]

## Screening

Unter einem Krebscreening versteht man eine „Reihenuntersuchung auf Krebsvorstufen oder -frühstadien [...], zu der eine große Bevölkerungsgruppe regelmäßig eingeladen wird.“ [91] Beim Zervixkarzinom-Screening sollen Frauen mit einem erhöhten Risiko identifiziert werden, um sie durch zusätzliche Tests einer weiteren Triagierung zu unterziehen und somit eine Therapiebedürftigkeit festzulegen [6].

Man unterscheidet zwischen einem opportunistischen und einem organisierten Screening. Beim organisierten Screening werden Frauen regelmäßig schriftlich eingeladen. Es existieren konkrete Verfahrensprotokolle mit Screening-Intervallen, Festlegung von Zielgruppen und Altersgrenzen, Vorgehen bei positiven Testergebnissen sowie Qualitätssicherungsmaßnahmen [92]. Im Gegensatz dazu erfolgt beim opportunistischen Screening kein populationsbasiertes Einladungsverfahren, sondern eine Terminvergabe auf

Wunsch der Patientinnen. Daten werden unzureichend dokumentiert, was eine Qualitätssicherung schwierig macht [37].

Ziel des Früherkennungsprogrammes ist es, Gebärmutterhalskrebs sowie dessen Vorstufen frühzeitig zu entdecken [37]. Um dies zu erreichen, ist eine Teilnahmerate von mindestens 80% erforderlich [38]. Derzeit existieren drei Methoden zum primären Screening des Zervixkarzinoms: die Zytologie, die HPV-Testung sowie die Kombination beider Verfahren. [6]

#### Epidemiologie des Zervixkarzinoms nach der Einführung von Screening-Verfahren

In den 1960er- und 1970er-Jahren vor der Einführung von Screening-Verfahren, waren Morbidität und Mortalität des Zervixkarzinoms in Ländern mit hohem HDI und Ländern mit niedrigem HDI ähnlich [93]. Insgesamt konnten weltweit nach der Implementierung von Krebsfrüherkennungsmaßnahmen Morbidität und Mortalität in den letzten 30 Jahren mehr als halbiert werden [94]. In Island konnte aufgrund der Einführung eines organisierten Screenings die Mortalität sogar um 80% gesenkt werden [95].

Bei der Betrachtung der Fallzahlen der letzten Jahre in Subsahara-Afrika lässt sich jedoch in sieben von acht Ländern bei fehlendem effektivem Screening ein signifikanter Anstieg der Inzidenz verzeichnen, mit maximal 7,9% jährlich in Malawi [4, 5]. Für das Jahr 2022 geht die WHO von einer 85%igen Zunahme der Neuerkrankungen in Afrika aus [96].

#### Zytologiebasiertes Screening

Studienergebnisse zur Einschätzung der Effektivität eines zytologiebasierten Screenings weisen global eine hohe Variabilität auf [97]. Eine Metaanalyse von 62 Studien ermittelte eine Sensitivität von 11% bis 99% und eine Spezifität von 14% bis 97% [98]. Allerdings geht die WHO international von einer Sensitivität von ca. 50% bis 60% und einer Spezifität von ca. 98% aus [37, 99]. In Deutschland liegt die Sensitivität zwischen 20% und 50% [40].

Grund für die niedrige Sensitivität ist das hohe Maß an Abhängigkeit der Ergebnisse von einer korrekten Durchführung der Zytologie. Der Pap-Abstrich ist allerdings sowohl seitens der gynäkologischen Praxis als auch seitens des zytologischen Labors sehr fehleranfällig.

Es wird geschätzt, dass zwei Drittel der Bestimmungsfehler durch Entnahmefehler der niedergelassenen GynäkologInnen entstehen [11]. So können schwierige anatomische Gegebenheiten wie beispielsweise Zervikalkanalstenosen oder veränderte Zervizes nach Konisationen vorliegen. Auch führt ein Status Mens oder eine Kolpitis aufgrund der Abnahme

von nicht repräsentativen Materials zu einer reduzierten Aussagekraft. Des Weiteren ist zu beachten, dass die Abstrichentnahme von der Transformationszone erfolgen sollte und diese sich im Laufe des Lebens verschiebt [100]. Überdies kann es durch fehlerhaftes Ausstreichen auf den Objektträgern oder durch zu langen Luftkontakt zu Qualitätsmängeln kommen [39].

Ein Drittel der Mängel, wie beispielsweise Fehler beim Färben oder bei der Interpretation, sind den zytologischen Laboren geschuldet [100]. Gerade die Interpretation der Abstriche stellt einen hochgradig fehleranfälligen Schritt dar, da in einem einzelnen Abstrich bis zu 300 000 Zellen beurteilt werden müssen [39].

Durch die stark subjektive Auswertung der Abstriche tritt eine hohe Rate an falschen Befunden auf [101]. In 20% bis 30% der Fälle kommt es zu falsch-negativen Befunden, was im schlimmsten Falle zur Entwicklung eines Zervixkarzinoms führen kann [39]. In einer Studie hatten 9% der Patientinnen mit einem diagnostizierten Zervixkarzinom regelmäßig an Krebsvorsorgeuntersuchungen teilgenommen und stellten somit „Screening-Versager“ dar [17]. Auch falsch-positive Befunde können schwerwiegende Folgen haben. So kann es zum einen zur Stigmatisierung und Angst der Patientinnen führen. Zum anderen kann eine Übertherapie mit unnötiger Konisation in zukünftigen Schwangerschaften ein erhöhtes Risiko geburtshilflicher Komplikationen nach sich ziehen [57]. In einer Studie konnte in 23% bis 28% der untersuchten Konisate keine zervikale Neoplasie nachgewiesen werden. In 12% bis 51% der Fälle erfolgte die Konisation auf der Grundlage falsch-positiver zytologischer Befunde [102].

Aufgrund der niedrigen Sensitivität müssen zur Detektion einer CIN 3-Läsion mehrere Screening-Runden durchgeführt werden, was wiederum zu einer höheren finanziellen Belastung des Gesundheitssystems führt [36].

## Vergleich zytologiebasiertes mit HPV-basiertem Screening

Zum Vergleich beider Verfahren erfolgten weltweit große randomisiert kontrollierte Studien. Insgesamt zeigte die HPV-Testung hinsichtlich der Sensitivität eine deutliche Überlegenheit gegenüber zytologiebasierten Screenings. Allerdings war die Zytologie im Hinblick auf die Spezifität dem HPV-Test geringgradig überlegen [103, 104].

In einer Übersichtsarbeit über europäische und nordamerikanische Studien erwies sich die HPV-Testung in der Entdeckung höhergradiger Zervixläsionen (CIN 2+) mit 96,1% gegenüber der Zytologie mit 52,0% als deutlich sensitiver, mit 90,7% gegenüber 96,3% jedoch als weniger spezifisch [101]. Die Daten einer Nachverfolgung von vier europäischen Studien belegten einen 60% bis 70% besseren Schutz gegen ein invasives Zervixkarzinom durch ein HPV-basiertes Screening im Gegensatz zu einem zytologiebasiertem Screening [105]. Des Weiteren konnte in mehreren Studien nachgewiesen werden, dass durch die Implementierung eines HPV-Screenings CIN 2+-Läsionen früher erkannt und somit prä-maligne Vorstufen vor deren Invasion behandelt werden können [106–108]. Aufgrund eines hohen negativen prädiktiven Wertes (NPV) lässt sich bei einem negativen Testergebnis das Risiko langfristig besser stratifizieren. So bietet ein negatives Testergebnis für fünf bis zehn Jahre Sicherheit keine CIN 3-Läsion und mit noch höherer Sicherheit kein invasives Karzinom zu entwickeln [36, 38]. In einer indischen Studie konnte nachgewiesen werden, dass eine einzige Screening-Runde mittels HPV-Testung zu einer signifikanten Reduktion der Inzidenz sowie Mortalität des Zervixkarzinoms führen kann [109].

Auch ökonomisch ist das HPV-basierte Screening dem zytologiebasierten Screening überlegen [110]. HPV-Tests bieten zudem die Möglichkeit zur Selbsttestung, was zum einen zu einer Zunahme der Teilnehmerate führt und andererseits hierdurch auch schwer zu erreichende Populationen gescreent werden können [99, 111].

Zusammenfassend legen die Ergebnisse eine Umstellung des zytologiebasierten Screenings auf ein primär HPV-basiertes Screening nahe. Eine sichere Erweiterung des Screening-Intervalls auf fünf Jahre ist zudem möglich [105, 112]. In Europa haben bereits Albanien, die Niederlande, England und Schottland ihr Früherkennungsprogramm auf ein primäres HPV-Screening-Programm umgestellt [19].



## Zervixkarzinom-Screening in Deutschland

Im Jahr 1971 wurde in Deutschland der jährliche Zervixabstrich für Frauen ab 20 Jahren gemäß eines opportunistischen Screenings zur Prävention von Gebärmutterhalskrebs implementiert [113]. Mit der Einführung des Krebsfrüherkennungs- und Registergesetzes durch den gemeinsamen Bundesausschuss im Jahr 2008 wurde das Früherkennungsprogramm in ein organisiertes Screening überführt [113]. Auch in Deutschland erfolgte die Evaluierung zur Nutzenbewertung des HPV-Tests als primäres Screening-Instrument. Laut Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG) konnte allerdings aufgrund der Heterogenität der berücksichtigten Studien keine Empfehlung für ein bestimmtes Verfahren abgegeben werden [91].

2018 erfolgte somit die Umstellung zu folgendem Verfahren: Bei Frauen über 35 Jahre wird dreijährliche eine Kombinationsuntersuchung aus zytologischem Abstrich und HPV-Test durchgeführt. Frauen zwischen 20 und 35 erhalten weiterhin den jährlichen zytologischen Abstrich [113, 114]. Nach einer sechsjährigen Übergangsphase soll das neue Screeningverfahren reevaluiert und gegebenenfalls angepasst werden [92].

## Zervixkarzinom Screening in Entwicklungsländern

Trotz der Zunahme der Morbidität und Mortalität von Gebärmutterhalskrebs in der Dritten Welt fehlt es in vielen Ländern weiterhin an einer effektiven Implementierung eines Screenings. In „Low Middle-Income Countries“ (LMIC) wurden lediglich 44% der Frauen jemals gescreent. Die niedrigste Rate an gescreenten Frauen findet sich in Subsahara-Afrika (siehe Abbildung 10). Hier haben im Durchschnitt lediglich 16,9% der weiblichen Bevölkerung jemals an einem Screening teilgenommen. Im Gegensatz hierzu liegt die Lebenszeit-Screeningrate in Industrienationen bei über 60% [5].

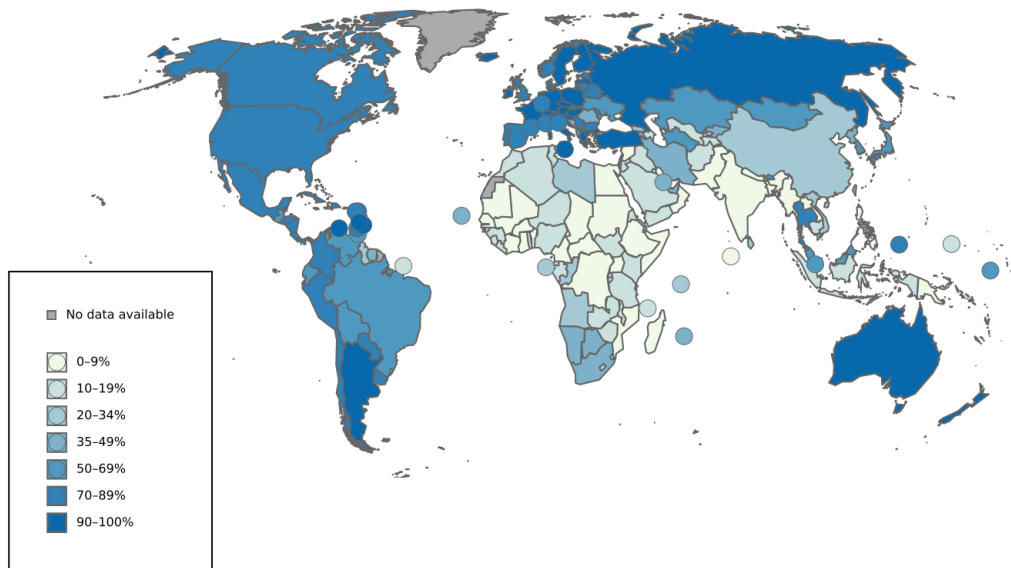


Abbildung 10: Rate jemals im Leben gescreenter Frauen im Alter zwischen 25 und 65 im Jahr 2019 [19]

Grund hierfür ist in einigen Regionen wie Subsahara-Afrika das fehlende Angebot an national organisierten Krebsfrüherkennungsprogrammen. Folglich wurden beispielsweise in Ghana lediglich 3% der weiblichen Bevölkerung jemals gescreent [115]. Eine weitere Ursache ist zum anderen die ineffiziente und mangelhafte Durchführung von Screening-Maßnahmen [3]. Fachkompetente Zytologen und hochqualitativ ausgestattete Labore sind wichtige Voraussetzungen für eine verlässliche Auswertung von Pap-Abstrichen [116]. Doch auch Einschränkungen, wie eine mangelnde Infrastruktur oder eine fehlende Versorgung mit Wasser oder Elektrizität, können Gründe für eine erfolglose Implementierung sein [117]. Weitere Schwierigkeiten sind in der weiblichen Bevölkerung zu suchen. Inadäquates Wissen, kulturelle Barrieren und Stigmatisierung hindern viele Frauen an der Teilnahme an Screening-Verfahren [97, 118]. Vor allem die gynäkologische Untersuchung ist in vielen afrikanischen Regionen bis heute stigmatisiert und schambehaftet und in bis zu 14,9% der Fälle ein Grund für eine Nichtteilnahme. Doch auch die häufig abgelegene geografische Lage des Wohnorts und mangelnde Zeit durch fehlende Kinderbetreuung stellen für viele Frauen ein Hindernis dar [119, 120].

Doch selbst in Industrienationen mit einem bestehenden Screening-Programm, wie beispielsweise Deutschland, ist die Teilnehmerate teilweise gering. So nahmen in der Altersgruppe der unter 65-Jährigen lediglich 24,9% einmal in drei Jahren an einem Screening teil [121]. In Bayern lag die Quote bei den über 70-Jährigen sogar nur bei 20% [122]. Dies zeigt die niedrige Akzeptanz gynäkologischer Screening-Untersuchungen unter der weiblichen Bevölkerung auch in Industrienationen.

Das klinische Management positiver Ergebnisse vor allem zytologiebasierter Screening-Verfahren stellt in Entwicklungsländern eine weitere Herausforderung dar. Es muss die personelle und finanzielle Kapazität zur Befundmitteilung und zum Follow-up mit gegebenenfalls erneuter Testung sowie nachfolgender Behandlung gegeben sein [123].

Eine ausreichende Bereitstellung von Infrastruktur, Materialien, Arbeitskräften sowie wiederholte Testungen und Behandlungen sind zudem mit erheblichen Kosten verbunden, welche von finanzschwachen Gesundheitssystemen häufig nicht getragen werden können [3].

Eine Folge unzureichender Screening-Programme in LMIC ist eine späte Diagnosestellung. So werden präinvasive Läsionen nur selten entdeckt und therapiert. Patientinnen stellen sich häufig erst mit fortgeschrittenen Befunden und folglich schlechten Überlebenschancen vor [124]. Im Gegensatz dazu werden in Deutschland ca. 46% der Zervixkarzinome bereits im Stadium I erkannt und lediglich 18% im metastasierten Stadium, welches mit einem relativen 5-Jahres-Überleben von nur 22% verbunden ist [7].

### Ziel der Arbeit

Der Prevo-Check®-Test (Abviris Deutschland GmbH, Ammersbek Deutschland) ist ein blutbasierter kompetitiver Immunoassay. Er weist als Schnelltest hoch-spezifisch im Blut zirkulierende Antikörper nach, welche gegen ein HPV-16-L1-spezifisches Epitop gerichtet sind (DRH1®) [125].

Dieser DRH1®-Tumormarker wird beim Übergang einer HPV-16-Infektion in eine Krebsvorstufe produziert (siehe Abbildung 11). „Dabei wird nicht das Virus-Genom und somit keine subklinische HPV-16-Infektion nachgewiesen, sondern vielmehr die Immunantwort, die im Falle eines Tumorwachstums auftritt. Ein positives Ergebnis liegt also nur dann vor, wenn das Virus bereits aktiv in die Zellteilung eingegriffen hat und abklärungsbedürftige Zellveränderungen beziehungsweise Präkanzerosen vorliegen.“ [126]

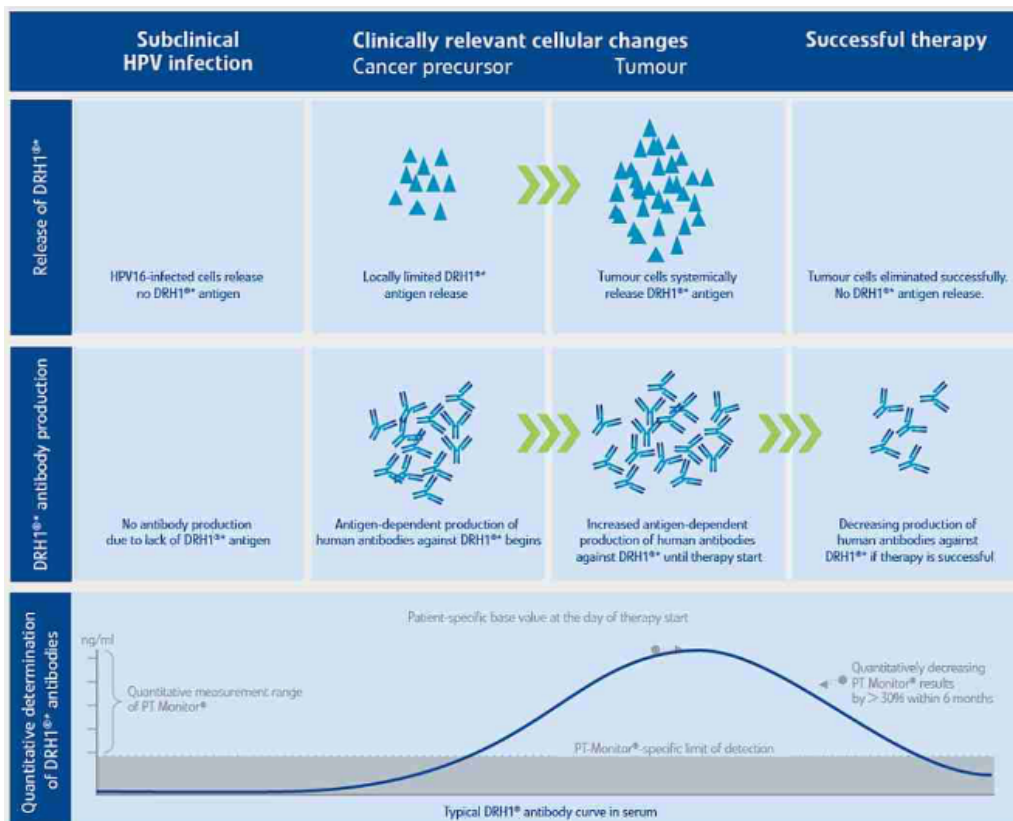


Abbildung 11: typischer DRH1®-Antikörpertiterverlauf im Serum von TumorpatientInnen [127]

Der Schnelltest hat bereits im Hautkrebs-Screening Einzug gefunden und sich in der Erkennung oropharyngealer Karzinome bewährt [85]. Er ist dabei einfach anzuwenden und kann sowohl in der Praxis als auch im Labor durchgeführt werden.

Im Rahmen dieser nicht-randomisierten prospektiven Querschnittstudie soll dessen Einsatz zur Unterstützung des Screenings für zervikale HPV-assoziierte Krebsarten untersucht und seine klinische Leistung geprüft werden. Es soll beurteilt werden, ob der Prevo-Check®-Test zum einen zusätzliche Hinweise auf ein klinisch relevantes Geschehen innerhalb der Kohorte liefert, um die bisherige Diagnostik sinnvoll zu ergänzen. Zum anderen soll evaluiert werden, ob der Schnelltest die gleichen Ergebnisse wie die bisherige Diagnostik liefert und diese perspektivisch ersetzen kann. Eine weitere zu prüfende Frage ist, ob sowohl Probenart als auch eine Hämolyse Einfluss auf das Testergebnis haben.

## 2. Material und Methoden

### Studienverlauf und Patientinnenkollektiv

Von Oktober 2018 bis August 2020 wurden 49 Probandinnen in die Querschnittstudie eingeschlossen. Die Rekrutierung erfolgte in der Dysplasie Sprechstunde der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe München, zu der die Patientinnen aufgrund pathologischer Pap-Abstriche von ihren niedergelassenen GynäkologInnen überwiesen wurden. Aufnahmekriterium war eine Indikation zur Konisation. Ausgeschlossen wurden lediglich minderjährige Patientinnen. Nach mündlicher Aufklärung erfolgte die schriftliche Einwilligung zur Teilnahme an der Studie.

Bei der Vorstellung zur Operationsvorbereitung zur Konisation wurden die routinemäßig abgenommenen Blutproben kodiert und das überschüssige Probenmaterial nach der Routinediagnostik bis zur weiteren Analyse bei -20 °C verwahrt. Bei dem Probenmaterial handelte es sich um 21 EDTA-, vier Serum- und 24 Plasmaproben. Den Probandinnen wurde somit kein zusätzliches Blut oder körpereigenes Material entnommen. Die Blutproben wurden mittels Prevo-Check®-Test zunächst qualitativ analysiert. Eine anschließende quantitative Bestimmung der DRH1®-Antikörperkonzentrationen wurde von der Firma Abviris Deutschland GmbH durchgeführt.

Die Studie entsprach der Deklaration von Helsinki und wurde vom Ethikkomitee der Ludwig-Maximilian-Universität (LMU) (München, Deutschland) genehmigt.

### Materialgewinnung

Bei der Vorstellung in der Dysplasie Sprechstunde erhielten alle Patientinnen eine standardisierte Diagnostik. Diese umfasste die kolposkopische Untersuchung mit Abnahme eines Pap-Abstrichs, einer HPV-Testung sowie die Entnahme histologischer Proben.

Die gewonnenen Blutproben wurden sowohl quantitativ als auch qualitativ auf HPV-16-L1-Antikörper analysiert. Therapeutisch wurden alle Patientinnen mit einer Konisation behandelt.

#### 1) Zytologische Diagnostik

Nach Einstellung der Portio mittels Spekulum erfolgte die Entnahme von Exfoliativzellen von der Endo- sowie Ektozervix mithilfe eines Wattestäbchens (NOBAMED Paul Danz AG, Wetter, Deutschland).

Im Anschluss wurden die Zellen auf Objektträgern (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Vereinigte Staaten) ausgestrichen, mit dem Fixierspray „M-FIX Spray fixation“ (Sigma-Aldrich® Lösungen, Darmstadt, Deutschland) fixiert und mit Deckgläsern eingedeckt. Die Färbung und Auswertung der Pap-Abstriche erfolgte im zytologischen Labor der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der LMU im Campus Großhadern.

## 2) HPV-Diagnostik

Zur HPV-DNA-Diagnostik erfolgte die Abnahme zervikaler Zellen von der Endozervix mittels Gynobrush Plus (Heinz Herenz Medizinalbedarf, Hamburg, Deutschland). Im Anschluss folgte die Überführung des Probenmaterials in das PreservCyt®-Medium (ThinPrep der Firma Hologic Inc., Marlborough, Vereinigte Staaten). Die Analyse erfolgte im Labor der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der LMU im Campus Großhadern.

Zur Auswertung der gewonnenen Proben wurde der „cobas® 4800-HPV-Test“ (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) verwendet.

Bei dem cobas® 4800-HPV-Test handelt es sich um einen quantitativen TaqMan-Echzeit-PCR-Test zum Nachweis von 14 HPV-Typen: 13 HR-HPV-Typen der Gruppe 1 (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66) sowie HPV 68 der Gruppe 2A. Die HPV-Typen 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 und 68 werden global ohne Differenzierung nachgewiesen. HPV-16 und HPV-18 hingegen werden jeweils individuell und spezifisch analysiert.

Mittels eines Pools aus HPV-Primern wird ein Abschnitt von ca. 200 Nukleotiden innerhalb der polymorphen L1-Region des HPV-Genoms aller oben genannten HPV-Typen amplifiziert. Die Amplifikationsreaktion enthält überdies markierte Proben für oben genannte HPV-Typen. Die Proben sind jeweils mit einem Quencher und einem Fluorophor markiert, wobei die Proben für die HPV-Typen 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 und 68 jeweils das gleiche Fluorophor tragen. Die Proben für HPV-16 und HPV-18 werden hingegen mit anderen und voneinander unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert. Die 5'-3'-Exonukleaseaktivität der zur Amplifikation verwendeten thermostabilen DNA-Polymerase verdaut die Proben, sodass die Quencher von den Fluorophoren getrennt werden und ein Fluoreszenzsignal entsteht, das für HPV-16, HPV-18 und die Gruppe HPV-31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 und 68 differenziell bestimmt werden kann.

Als interne Kontrolle wird  $\beta$ -Globin-DNA amplifiziert und durch eine Probe, die durch ein weiteres unterscheidbares Fluorophor-Quencher-Paar markiert ist, nachgewiesen. Zur Qualitätskontrolle wird jeweils eine Positiv- und eine niedrig-titrigte Negativkontrolle mitgeführt.

Der Test wurde entsprechend Herstellerangaben mit dem vollautomatischen cobas® 6800/8800 System, das aus einem Probenzufuhr-, einem Transfer-, einem Aufarbeitungs- und einem Analysemodul besteht, durchgeführt. Die zugehörige cobas® 6800/8800 Software analysiert die Testergebnisse und weist sie automatisch als „positiv“, „negativ“ oder „ungültig“ aus.

Die Ergebnisse geben Aufschluss darüber, ob eine Infektion mit einem der 14 HR-HPV-Typen vorliegt. Des Weiteren kann festgestellt werden, ob eine Infektion mit HPV-16 oder HPV-18 besteht. Die anderen 12 HR-HPV-Typen werden nicht differenziert angegeben. Über die Aufschlüsselung der cobas® 4800-Testergebnisse gibt Tabelle 3 Aufschluss.

Ergebnis	HR-HPV positiv	HPV-16 positiv	HPV-18 positiv	HPV-other positiv
HPV-Typ Nachweis	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	16	18	31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68

Tabelle 3: Aufschlüsselung der cobas® 4800-Testergebnisse

### 3) Kolposkopie

Die Kolposkopie erfolgte nach bereits im Kapitel „Früherkennung des Zervixkarzinoms“ beschriebenem Schema. Nach nativer Beurteilung der Zervix, Vagina und Vulva erfolgte je nach Transformationszonentyp und nach Durchführung der Funktionsproben die Entnahme histologischer Proben mit einer Schumacher Zange (B. Braun SE, Melsungen, Deutschland).

### 4) Konisation

Bei allen Patientinnen wurde als Operationsmethode die „Large Loop Excision of the Transformation Zone“ (LLETZ) eingesetzt. Hierbei handelt es sich um ein Exzisionsverfahren, bei dem mittels Elektroschlinge ein Konus ausgeschnitten wird. Die histopathologische Beurteilung der Probenexzisionen (PE) sowie der Konisate erfolgte durch das pathologische Institut des Klinikum Großhadern.

## 5) Prevo-Check<sup>®</sup>-Test

### *Qualitative Auswertung*

Der Prevo-Check<sup>®</sup>-Test von Abviris Deutschland GmbH ist ein kompetitiver Lateral-Flow-Immunoassay zum Nachweis von HPV-16-L1-spezifischen Antikörpern im Probenmaterial.

Bei dem Test wird Probenmaterial mit dem „HPV-Reagenz“ gemischt. Dieses besteht aus Komplexen des HPV-16-L1-Antigens mit anti-HPV-16-L1-Antikörpern. In der Probe enthaltene HPV-16-L1-Antikörper kompetieren mit den HPV-16-L1-Antikörpern des „HPV-Reagenz“ um Antigenbindung. Sind keine Antikörper in der Probe vorhanden, bleibt das Reagenz aktiv und bildet mit Gold-markierten Antikörpern in der Reaktionszone der Lateral-Flow-Vorrichtung einen sichtbaren Komplex. Dieser Komplex entsteht nicht, wenn HPV-16-L1-Antikörper der Probe den HPV-16-L1-Antikörper kompetitiv verdrängen.

Die Durchführung des Tests erfolgte nach Herstellerangaben. Kurz zusammengefasst, überschüssiges EDTA-, Serum- oder Plasmaprobenmaterial wurde auf Raumtemperatur gebracht. Hiervon wurde ein Tropfen (ca. 30 µl) EDTA-Blut oder je 25 µl Serum oder Plasma mit 120 µl des HPV-Reagenz durch Auf- und Abpipettieren und Schütteln des verschlossenen Reaktionsgefäßes vermischt. Nach 10-minütiger Inkubation wurden 4 Tropfen des Gemischs in die Probenöffnung (S) der Testkassette aufgetragen. Nach 10 Minuten wurde das Ergebnis ausgewertet (siehe Abbildung 11):

- Berücksichtigt wurden nur Ergebnisse, bei denen die Kontrollreaktion positiv war.
- Eine Probe wurde als HPV-16-L1-Antikörper positiv bewertet, wenn sich in der Reaktionszone keine rote Linie zeigte, d. h. wenn die Antikörper der Probe den Test-HPV-16-L1-Antikörper kompetitiv verdrängt hatten und das „HPV-Reagenz“ damit inaktiviert wurde.
- Eine Probe wurde entsprechend als HPV-16-L1-Antikörper negativ bewertet, wenn sich in der Reaktionszone eine rote Linie zeigte.



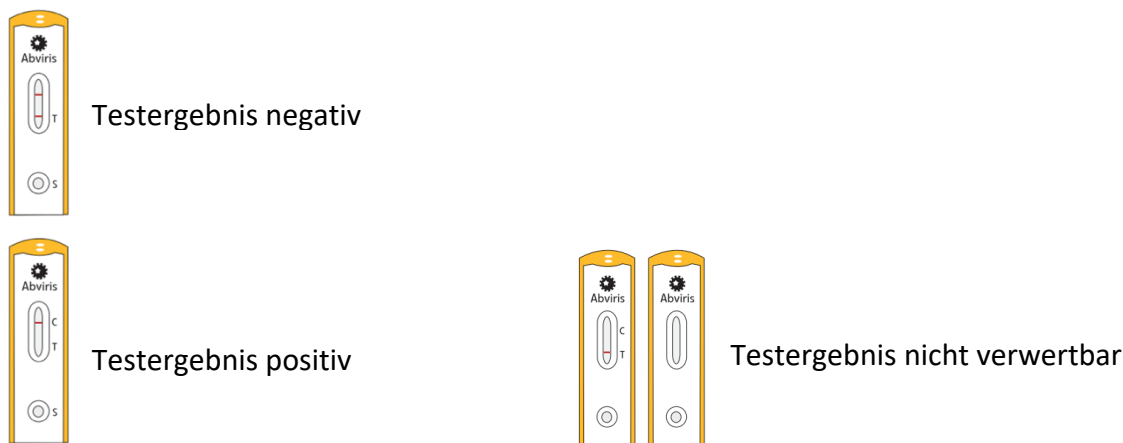


Abbildung 11: Auswertung des Prevo-Check®-Tests [127]

### Quantitative Auswertung

Der quantitative HPV-16-L1-Antikörperrnachweis wurde von der Firma Abviris Deutschland GmbH mittels eines eigens entwickelten, nicht kommerzialisierten kompetitiven ELISAs durchgeführt. Kurz zusammengefasst basiert der ELISA auf der Verdrängung eines gegen ein spezifisches HPV-16-L1-Epitop gerichteten HPV-16-L1-Antikörpers, der Peroxidase markiert ist. Dieser wird durch in der Probe enthaltene HPV-16-L1-Antikörper mit gleicher Spezifität (DRH1®-Antikörper) aus der Bindung an das auf dem Boden einer ELISA-Platte immobilisierte L1-Antigen verdrängt. Das Maß an verdrängtem markiertem Antikörpern ist proportional zur Menge der DRH1®-Antikörper im Probenmaterial.

Die Menge an gebundenen markierten Antikörpern wird durch einen Farbumsatz des Chromogens 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) durch die Peroxidase gemessen. Die Reaktion wird durch Zugabe von Schwefelsäure gestoppt und die resultierende Gelbfärbung bei 450 nm, mit einer Messung bei 620 nm als Referenz, photometrisch gemessen. Die Intensität der Gelbfärbung ist umgekehrt proportional zur Menge der HPV-L1-Antikörper in der Probe.

Zur Messung wurde der ELISA-Platten-Reader Infinite F50 der Firma Tecan Trading AG (Männedorf, Schweiz) verwendet und die Messdaten mit der zugehörigen Magellan™ Software (Tecan Trading AG, Männedorf, Schweiz) ausgewertet.

Zur Quantifizierung wurde eine Standardkurve mit verschiedenen festgelegten HPV-16-L1-Antikörpern-Konzentrationen ermittelt und die Messung der Testproben entsprechend kalibriert. Ab einer DRH1®-Konzentration von 1000 ng/ml wurde der Test als positiv gewertet.

## Statistische Auswertung

Mit Hilfe der Patientinnenakten wurden reproduktionsmedizinische sowie relevante Vorbefunde erhoben. So wurde dokumentiert, ob bei den Probandinnen in der Vorgeschichte bereits auffällige Pap-Abstriche, ein positiver HPV-Test, ein histologisch gesicherter Nachweis einer CIN-Läsion oder ein mikroinvasives Karzinom bestand und ob bereits eine Konisation durchgeführt worden war. Diese Vorbefunde wurden gemeinsam mit den ermittelten Daten in eine Excel Tabelle (Microsoft® Excel Version 16.73) aufgenommen. Die weitere Datenauswertung erfolgte durch den Diplomstatistiker Frederic Klein.

Es wurden Prävalenzen zytologischer und histologischer Befunde sowie HPV-Prävalenzen durch Auswertung des cobas® 4800-Tests berechnet. Des Weiteren erfolgte die Bestimmung der Validitätsparameter sowohl des Prevo-Check®-Tests, als auch des cobas® 4800-Tests und der Zytologie. So wurden für die drei genannten Screening Verfahren Sensitivität, Spezifität, negativ prädiktiver Wert (NPV), positiv prädiktiver Wert (PPV) sowie die Anzahl an falsch negativen und positiven Ergebnissen berechnet. Als primärer Endpunkt wurden hochgradige Zervixläsionen (nachfolgend CIN 3+ bezeichnet) in der postoperativen Histologie gewählt. Die Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen des Prevo-Check®-Tests und des cobas® 4800-Tests wurde anhand der Cohen's Kappa-Statistik berechnet. Ebenso wurden die Übereinstimmung zwischen der intern und der extern durchgeführten Zytologie sowie zwischen der prä- und postoperativen Histologie analysiert. Darüber hinaus wurden für die Verwendung des Prevo-Check®-Tests mit Hilfe des Youden-Index verschiedene cut-off-Werte der DRH1®-Antikörperkonzentrationen berechnet. Mittels „Area under the curve“ (AUC) der „Receiver Operating Characteristics“ (ROC)-Kurve wurde der Zusammenhang zwischen den getesteten Screening-Methoden und dem postoperativen Nachweis einer CIN3+-Läsion untersucht. Der Spearman-Korrelationskoeffizient wurde zur Identifizierung von Zusammenhängen verwendet. P-Werte  $\leq 0,05$  wurden als statistisch signifikant bezeichnet. Die statistischen Analysen wurden mit dem Programmpaket IBM SPSS Statistics 29.0 (SPSS Inc, Chicago, Vereinigte Staaten) durchgeführt.

### 3. Ergebnisse

#### Altersstruktur der Studienpopulation

Das durchschnittliche Alter der 49 eingeschlossenen Patientinnen betrug 35,5 Jahre ( $SA \pm 9,8$ ). Die Altersspanne erstreckte sich von 22 bis 72 Jahre. Die Altersverteilung lässt sich der Abbildung 13 entnehmen.

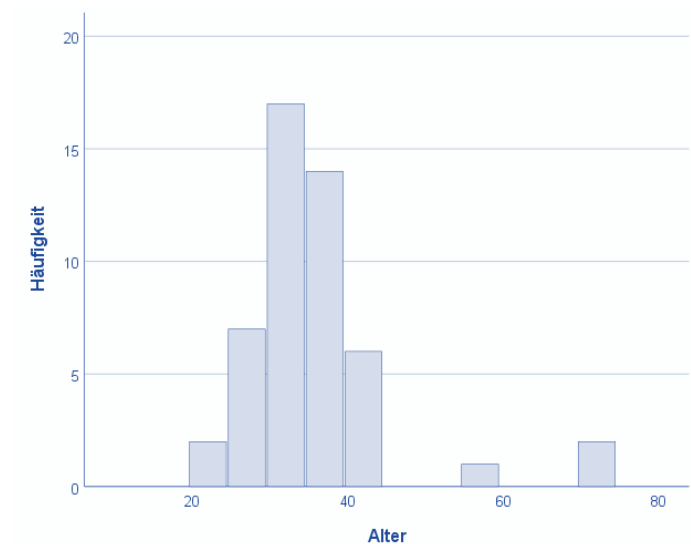


Abbildung 13: Altersverteilung der Studienpopulation

#### Anamnese

30 Patientinnen (61,2%) wiesen eine blande Anamnese bezüglich pathologischer zervikaler Befunde auf. Bei 16 Patientinnen (32,6%) hingegen konnten in der Vorgeschichte auffällige Zytologiebefunde verzeichnet werden. Bei 3 Patientinnen (6,12%) war in der Vergangenheit bereits ein positiver HPV-Nachweis erfolgt. In der Anamnese von 6 Probandinnen (32,7%) ließen sich zudem histologisch bestätigte zervikale Neoplasien dokumentieren. Eine Patientin (2%) wurde dahingehend bereits mit einer Konisation behandelt. Bei 2 Patientinnen (4,1%) ließ sich anamnestisch ein mikroinvasives Karzinom erheben.

#### Prävalenz zytologischer Befunde

##### Gesamtpopulation

Alle Patientinnen wurden mit einem bereits extern durchgeführten Pap-Abstrich vorstellig. Bei 40 Patientinnen (81,6%) erfolgte in der Dysplasiesprechstunde die erneute Abnahme einer Exfoliativzytologie.

In der intern durchgeführten Zytologie zeigte sich in 37 Fällen (92,5%) ein pathologischer Befund (nachfolgend Pap IIID+ bezeichnet). In 2 Fällen (4,1%) entsprach das Ergebnis dem Zellbild einer milden Dysplasie (Pap IIID1), in 12 Fällen (24,5%) dem einer moderaten (Pap IIID2) und in 23 Fällen (47%) dem einer schweren Dysplasie (Pap IVa-p).

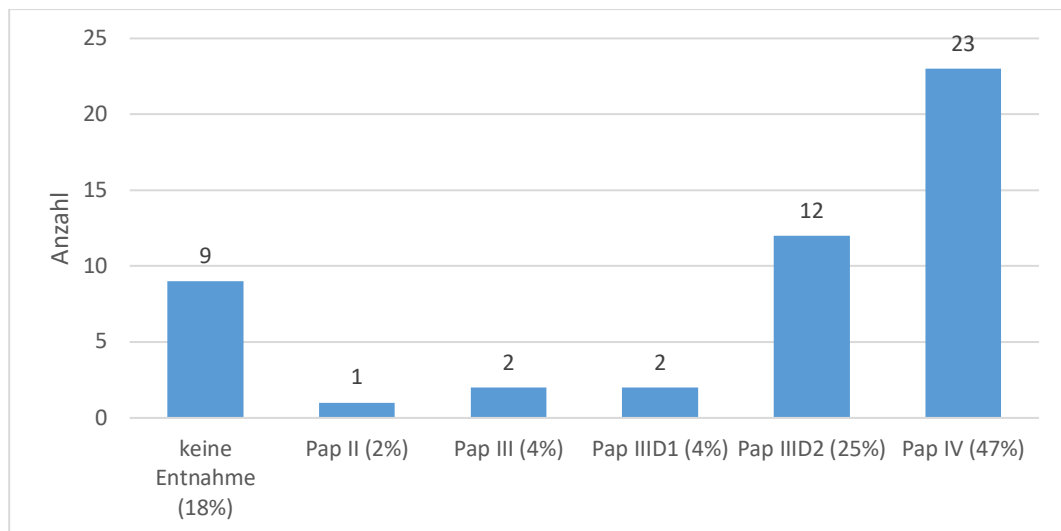


Abbildung 14: Prävalenz interner Zytologiebefunde

Im Gegensatz hierzu ließ sich in 48 Fällen in der externen Zytologie (98%) ein Pap IIID+ Befund dokumentieren. 2 Patientinnen (4,1%) zeigten im Abstrich eine milde, 14 Patientinnen (28,6%) eine mäßige und 32 Patientinnen (65,3%) eine schwere Dysplasie.

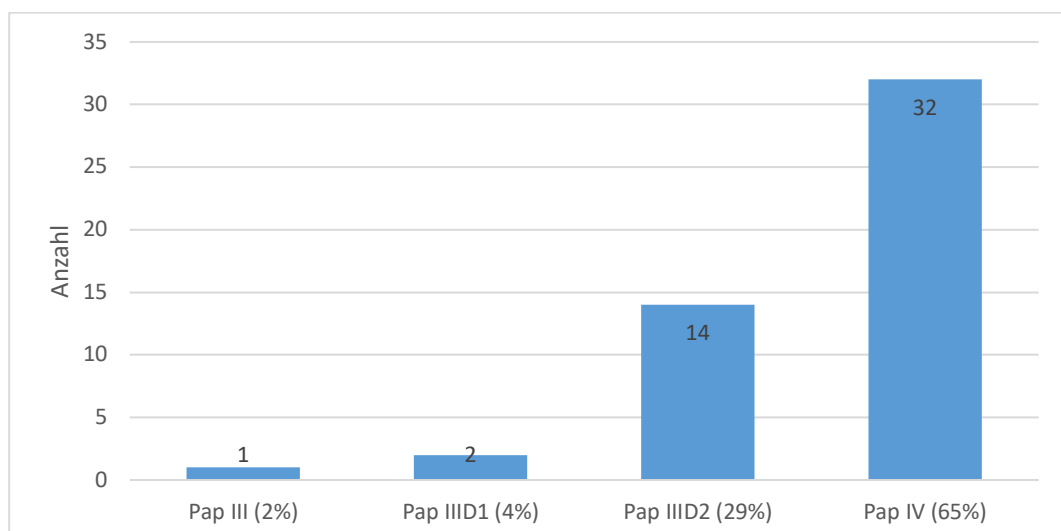


Abbildung 15: Prävalenz externer Zytologiebefunde

Bei Vergleich der Ergebnisse der intern mit den extern durchgeführten zytologischen Abstrichen zeigte sich mit einem Kappa-Wert von -0,02 eine mangelhafte Übereinstimmung. In lediglich 17 von 40 Fällen (42,5%) ergab der Abstrich das gleiche Ergebnis (siehe Tabelle 4).

		Zytologie intern					
Zytologie extern		Pap II	Pap III	Pap IIID	Pap IV	kein Ergebnis	Gesamt
	Pap II	0	0	0	0	0	0
	Pap III	0	0	0	0	1	1
	Pap IIID	0	1	5	9	1	16
	Pap IV	1	1	9	14	7	32
	Gesamt	1	2	14	23	9	49

Tabelle 4: Korrelation interner mit externen zytologischen Befunden

#### cobas® 4800-Kohorten

Bei den 9 Probandinnen, von denen intern nicht nochmals ein zytologischer Abstrich abgenommen wurde, wurde für die weitere Auswertung das Ergebnis der externen Zytologie verwendet.

In der cobas® 4800-HR-HPV-positiven Population (n= 47) zeigten 43 Probandinnen (91,5%) ein Pap IIID+-Ergebnis, wohingegen in der HPV-negativen Population (n= 2) 100% ein Pap IIID+-Ergebnis aufwiesen. Der höchste Prozentsatz (11%) unauffälliger Zytologien ist in der Gruppe der HPV-18-positiven zu finden, der höchste Prozentsatz auffälliger Zytologien in der Kohorte der „HPV-other“-positiven. Abbildung 16 zeigt die Verteilung der Zytologiebefunde in den jeweiligen HPV-Kohorten.

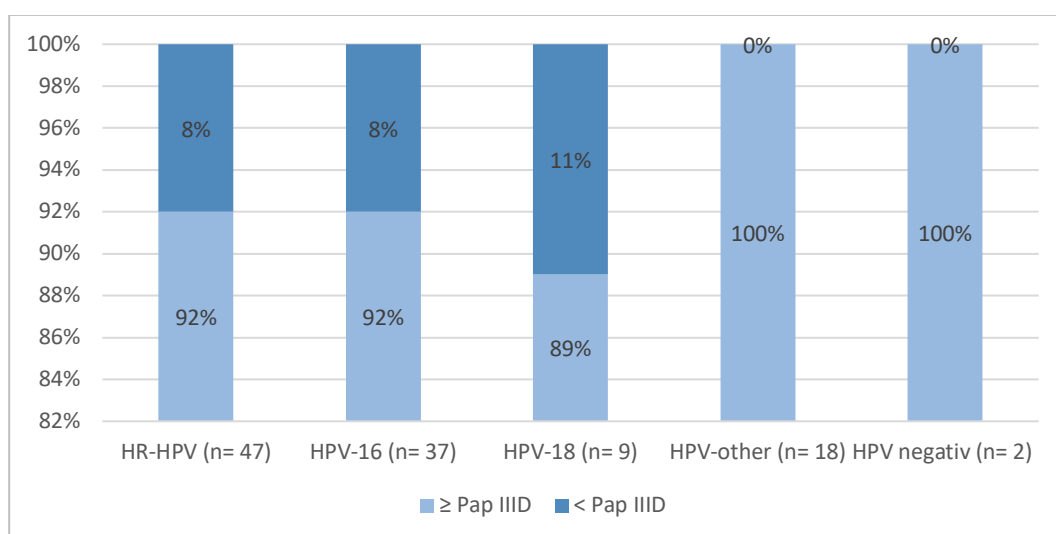


Abbildung 16: Prävalenz zytologischer Ergebnisse in den cobas® 4800-Kohorten

## Prävalenz histologischer Befunde

Ergab die histopathologische Begutachtung der Probenexzisionen den Befund mehrerer Dysplasie Schweregrade, so wurde zur weiteren Auswertung der hochgradigste verwendet.

### Präoperative Histologie

#### *Gesamtpopulation*

47 der kolposkopisch gewonnenen Probeexzisionen (96%) ergaben das histologische Bild einer Dysplasie, wovon 2 (4%) das einer milden, 3 (6%) das einer moderaten und 42 (86%) das einer schweren Dysplasie zeigten. 2 Biopsien (4%) erwiesen sich als unauffällig.

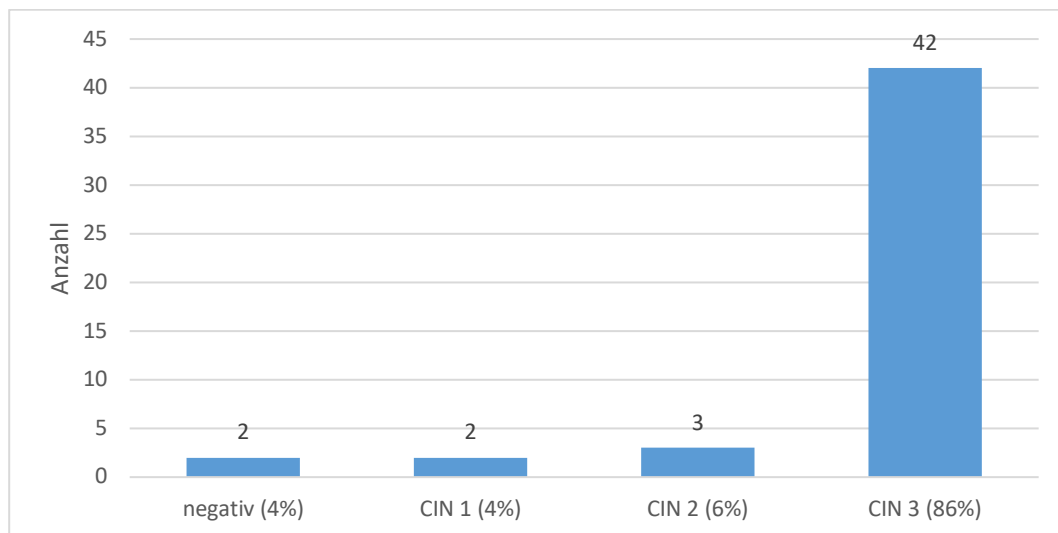


Abbildung 17: Prävalenz präoperativer histologischer Ergebnisse

#### *cobas 4800®-Kohorten*

In der cobas® 4800-HR-HPV-positiven Population (n= 47) ließ sich in 45 Exzidaten (95,7%) eine CIN und hiervon in 39 Exzidaten (85,1%) eine CIN 3+-Läsion nachweisen.

Der höchsten Anteil an CIN 3+-Läsionen ließ sich in der HPV-16-positiven Kohorte (n= 37) mit 33 Proben (89,2%) nachweisen. Die pathologische Begutachtung der Exzidate der HPV-18-positiven Probandinnen (n= 9) ergab ein ähnliches Ergebnis, so ließ sich in 8 Fällen (88,9%) eine CIN 3+-Läsion nachweisen. Im Gegensatz hierzu ließ sich bei positivem Nachweis der anderen HPV-Typen lediglich in 14 Fällen (77,8%) ein CIN 3+-Befund dokumentieren.

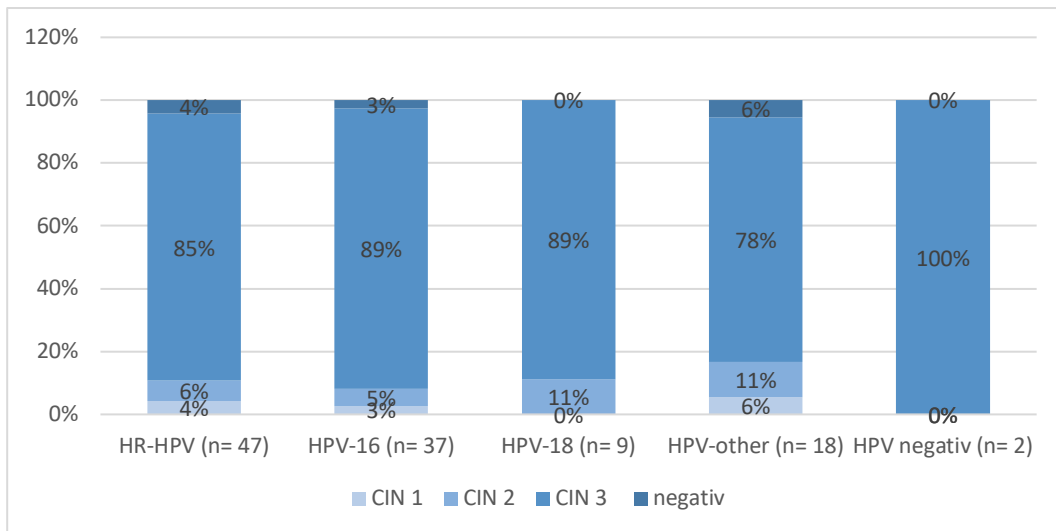


Abbildung 18: Prävalenz präoperativer histologischer Ergebnisse in den cobas®4800-Kohorten

## Postoperative Histologie

### Gesamtpopulation

In der Gesamtpopulation ergaben alle Konisate in der histopathologischen Begutachtung den Nachweis einer Dysplasie. In 42 Fällen (85,2%) lag der Befund einer CIN 3+-Läsion vor, hiervon in 39 Fällen (79,6%) der einer CIN 3-Läsion und in 3 Fällen (6,1%) der eines mikroinvasiven Karzinoms. In 5 postoperativen Histologien konnte eine CIN 1 (10,2%) und in 2 eine CIN 2 (4,1%) nachgewiesen werden.

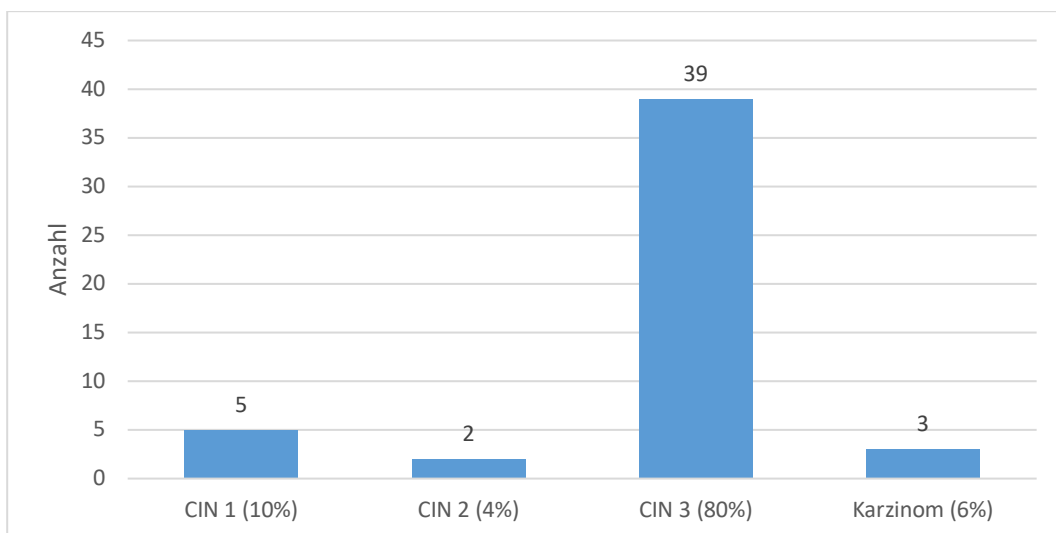


Abbildung 19: Prävalenz postoperativer histologischer Ergebnisse

### cobas® 4800-Kohorten

In der cobas® 4800-HR-HPV-positiven Population (n= 47) ergab sich in 40 Konisaten (85,1%) der Nachweis einer CIN 3+-Läsion, hierunter in 37 (78,7%) der einer CIN 3-Läsion und in 3 (8,1%) der eines mikroinvasiven Karzinoms. Im Gegensatz hierzu ließ sich in der HPV-negativen Population (n= 2) in 100% ein CIN 3+-Befund nachweisen. Den höchsten Anteil an CIN 3+-Befunden lässt sich in der Gruppe der „HPV-other“- (n= 18) sowie der HPV-18-positiven (n= 9) nachweisen. In diesen Populationen beträgt der Anteil 88,9%. In der Gruppe der HPV-16-positiven (n= 37) ist der Anteil mit 86,5% minimal geringer.

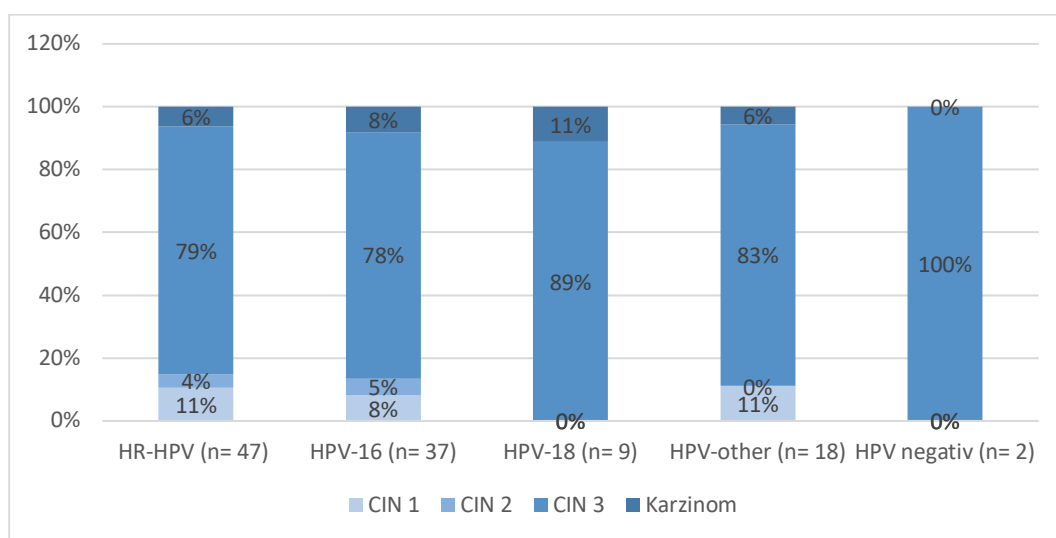


Abbildung 20: Prävalenz postoperativer histologischer Ergebnisse in den cobas®4800-Kohorten

### Korrelation präoperativer mit postoperativen histologischen Ergebnissen

Im Vergleich von prä- und postoperativer Histologie ließ sich in 4 Fällen (9,5%) die präoperative Diagnose einer CIN 3-Läsion postoperativ nicht bestätigen. Für Probandinnen mit dem präoperativen Nachweis einer CIN 3-Läsion betrug das relative Risiko für einen postoperativen CIN 3 Nachweis 1,59.

In 35 Fällen (71,2%) zeigten sich in der prä- und postoperativen Histologie das gleiche Ergebnis (siehe Tabelle 5). Mit einem Kappa-Wert von 0,08 ließ sich eine geringe Übereinstimmung zwischen Probeexzision und Konisat erkennen. Mit einem p-Wert von 0,13 konnte jedoch zwischen der prä- und postoperativen Histologie lediglich ein schwacher Zusammenhang belegt werden.



Präoperative Histologie						
Postoperative Histologie		Negativ	CIN 1	CIN 2	CIN 3	Gesamt
	Negativ	0	0	0	0	0
	CIN 1	1	0	1	3	5
	CIN 2	0	1	0	1	2
	CIN 3	1	1	2	35	39
	Karzinom	0	0	0	3	3
	Gesamt	2	2	3	42	49

Tabelle 5: Korrelation präoperativer mit postoperativen histologischen Befunden

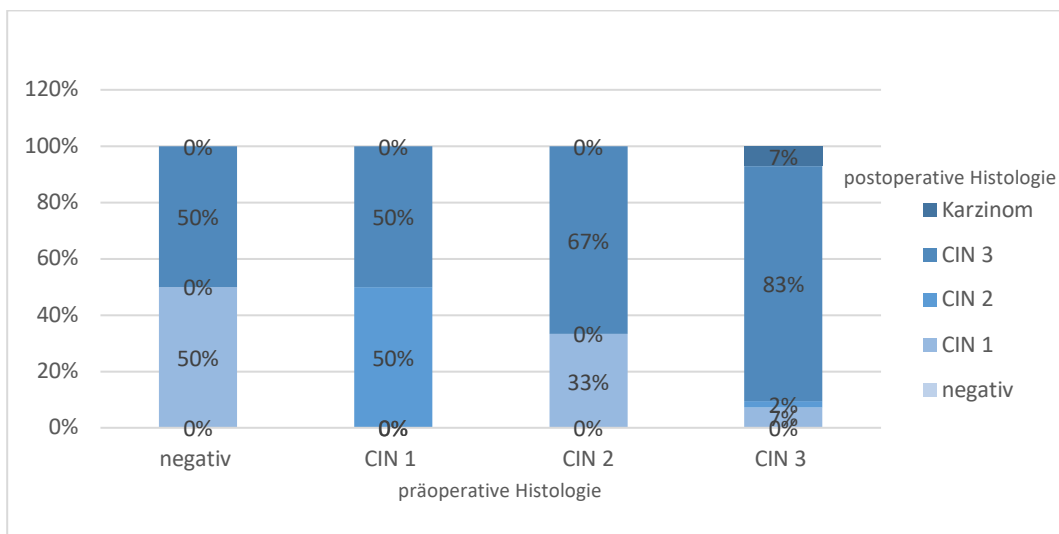


Abbildung 21: Korrelation präoperativer mit postoperativen histologischen Befunden

## HPV-Diagnostik

### Auswertung des cobas® 4800-Tests

#### Gesamtpopulation

In der Gesamtpopulation ließ sich in 47 Fällen (95,9%) eine HPV-Infektion mit HR-HP-Viren nachweisen. Bei nur 2 Patientinnen (4,1%) gab es keinen Hinweis auf eine HPV-Infektion. In der weiteren Differenzierung konnte bei 37 Probandinnen (75,5%) eine Infektion mit HPV-16 nachgewiesen werden. Eine Infektion mit HPV-18 kam deutlich seltener vor, nämlich bei nur 9 Probandinnen (18,4%). In 18 Fällen (36,7%) gab es einen positiven Nachweis der restlichen HR-HPV Typen.

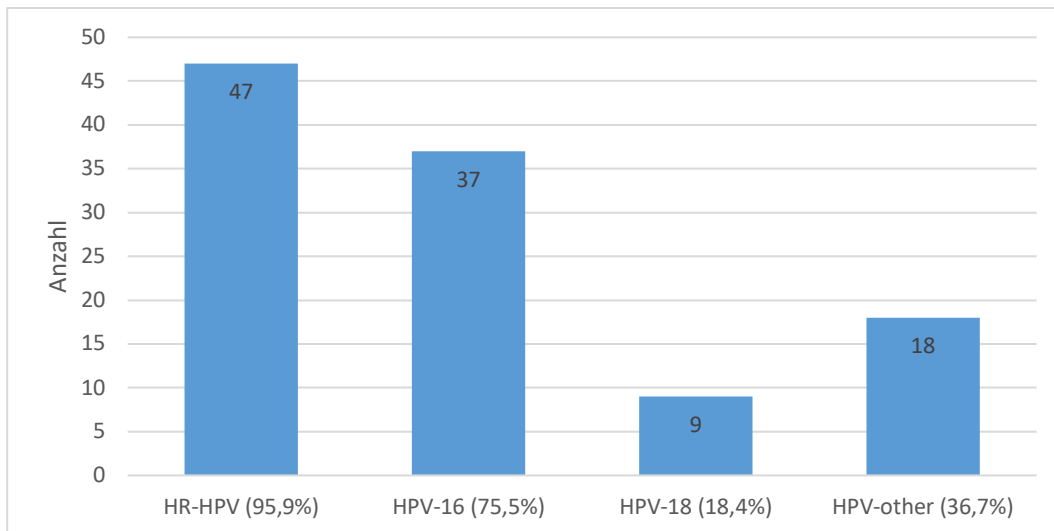


Abbildung 22: Auswertung der cobas® 4800-Testergebnisse

### Altersverteilung

Ein positiver HR-HPV Nachweis war in der Altersgruppe der 31- bis 40-Jährigen mit 46,8% am häufigsten zu verzeichnen. Dicht gefolgt ließen sich in der Altersgruppe der 21- bis 30-Jährigen in 40,4% der Fälle HR-HPV-Typen nachweisen. Hingegen war ein positiver HR-HPV Nachweis unter den älteren Patientinnen deutlich seltener. Das durchschnittliche Alter der HR-HPV-positiven Population (n= 47) betrug 35,2 Jahre (SA  $\pm$  9,6).

Ähnlich verhielt sich die Altersverteilung in der weiteren HPV-Differenzierung (siehe Abbildungen 23-26). Sowohl in der Gruppe der HPV-16- als auch „HPV-other“-positiven Gruppe war die Altersgruppe der 31- bis 40-Jährigen am häufigsten vertreten (48,6% beziehungsweise 55,6%). Der Altersdurchschnitt betrug unter den HPV-16-positiven Probandinnen 34 Jahre (SA  $\pm$  8,9), unter den „HPV-other“-positiven Patientinnen 35,9 Jahre (SA  $\pm$  10,5). Etwas jünger zeigte sich die Population der HPV-18-positiven. Hier betrug das Alter durchschnittlich 31 Jahre (SA  $\pm$  3,6). Die beiden HR-HPV-negativen Probandinnen waren 42 Jahre alt.

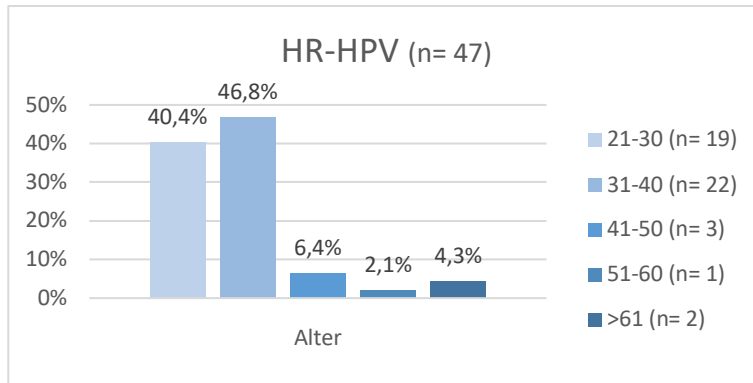


Abbildung 23: Altersverteilung in der HR-HPV-positiven Population

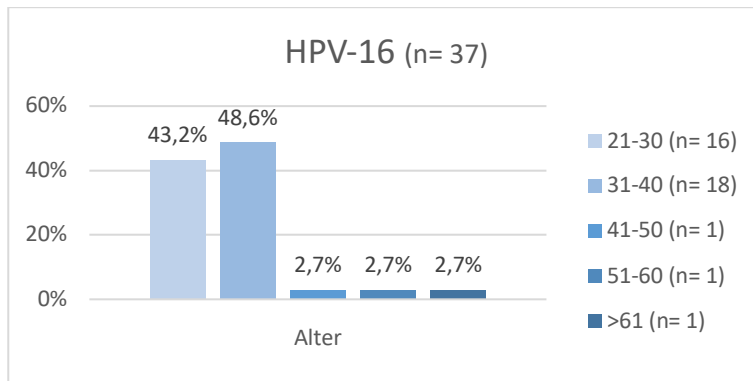


Abbildung 24: Altersverteilung in der HPV-16-positiven Population

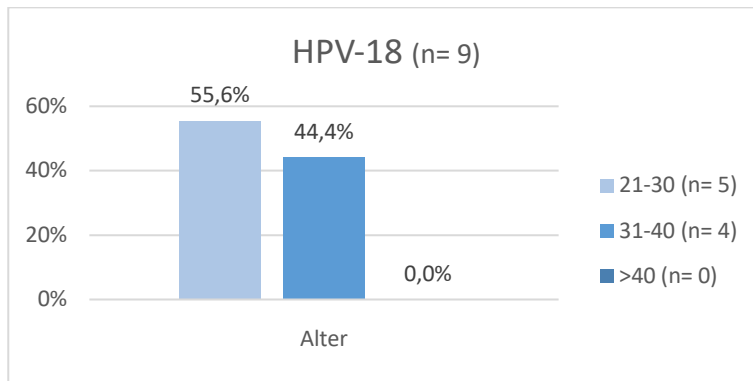


Abbildung 25: Altersverteilung in der HPV-18-positiven Population

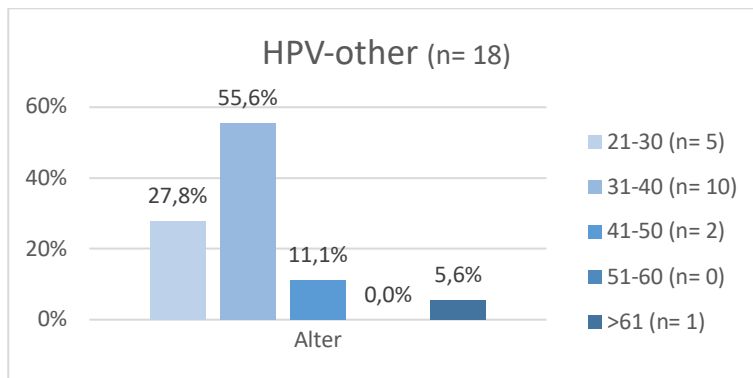


Abbildung 26: Altersverteilung in der „HPV-other“-positiven Population

## Auswertung des Prevo-Check®-Tests

### Qualitative Auswertung

Der Prevo-Check®-Test ergibt ab einer DRH1®-Antikörperkonzentration von 1000 ng/ml ein positives Ergebnis. So konnte in 16 Fällen (32,7%) ein positives und in 33 Fällen (67,3%) ein negatives Ergebnis verzeichnet werden. Das durchschnittliche Alter der Prevo-Check®-positiven Probandinnen betrug 35,2 Jahre ( $SA \pm 11,4$ ), das der Prevo-Check®-negativen Patientinnen 35,7 Jahre ( $SA \pm 9,0$ ). Der höchste Anteil mit einem positiven Prevo-Check®-Testergebnis ließ sich mit 44,4% in der Alterskohorte der unter 30-Jährigen verzeichnen. In der Altersgruppe der 31- bis 40-Jährigen befand sich mit 21,7% der geringste Anteil an Prevo-Check®-positiven Probandinnen.

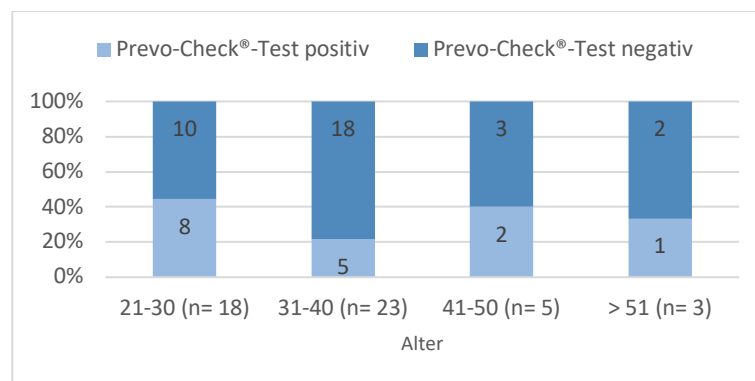


Abbildung 27: Altersverteilung in der Prevo-Check®-positiven Population

### Quantitative Auswertung

Die quantitative Auswertung des Prevo-Check®-Tests ergab DRH1®-Antikörperkonzentrationen zwischen 0 ng/ml und 47095 ng/ml mit einem Mittelwert von 2897 ng/ml ( $SA \pm 9446,8$  ng/ml) und einem Medianwert von 774 ng/ml. Aufgrund einer stark linkssteilen Verteilung kann nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden (siehe Abbildung 28). Dies wird ebenfalls durch den Shapiro-Test bestätigt ( $p < 0,001$ ).

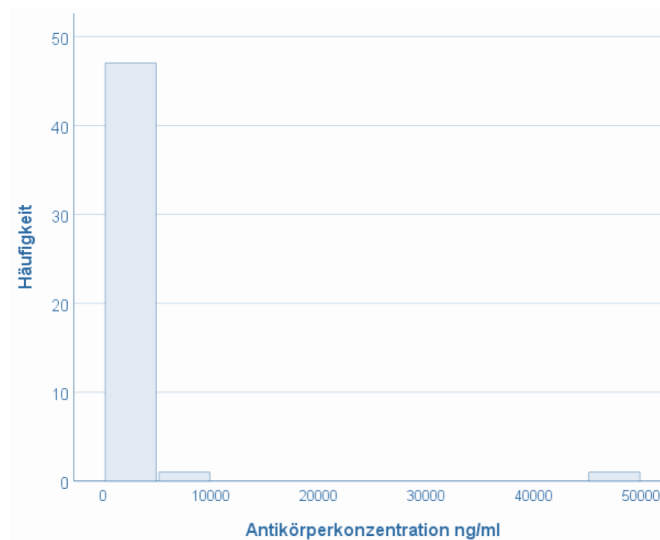


Abbildung 28: Verteilung der DRH1®-Antikörperkonzentration in der Studienpopulation

### Stratifikation nach postoperativer Histologie

Bei einer Stratifikation der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentration nach Befund der postoperativen Histologie, ließ sich in der Gruppe der CIN 3+-Negativen eine mittlere Konzentration von 681,3 ng/ml [95% KI 209,1; 1153,5] und in der Gruppe der CIN 3+-Positiven eine von 2187,2 ng/ml [95% KI -58,9; 4433,2] nachweisen (siehe Tabelle 6). Der mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests errechnete p-Wert von 0,304 wies allerdings auf keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen hin.

	mittlere DRH1®-Antikörperkonzentration [ng/ml]	95% KI
< CIN 3+ (n= 42)	681,3	209,1; 1153,5
CIN 3+ (n= 7)	2187,2	-58,9; 4433,2

Tabelle 6: Stratifikation der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentration nach CIN 3+-positiv/ negativ in der postoperativen Histologie

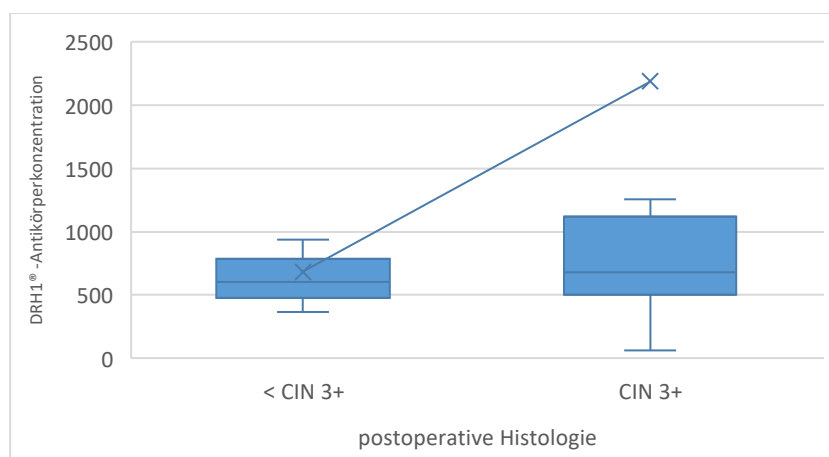


Abbildung 29: Stratifikation der DRH1®-Mittelwerte nach CIN 3+-positiv/-negativ in der postoperativen Histologie als Boxplotdarstellung mit Anzeige des oberen und unteren Quartils, Median, Mittelwert sowie oberem und unterem Whisker ohne Ausreißer

Die niedrigste mittlere DRH1®-Antikörperkonzentration ließ sich unter den Probandinnen mit postoperativ histologisch nachgewiesener CIN 1 mit 646,4 ng/ml [95% KI -110,8; 1403,64] dokumentieren. Im Gegensatz hierzu erwies sich die mittlere DRH1®-Antikörperkonzentration in der CIN 3-positiven Kohorte mit 2292,1 ng/ml [95% KI -131,3; 4715,5] am höchsten (siehe Tabelle 7). Ein signifikanter Unterschied zwischen den Konzentrationen konnte allerdings nicht belegt werden ( $p = 0,244$ ).

	mittlere DRH1®-Antikörperkonzentration [ng/ml]	95% KI
CIN 1 (n= 5)	646,4	-110,8; 1403,6
CIN 2 (n= 2)	768,5	-1347,1; 2884,1
CIN 3 (n= 39)	2292,1	-131,2; 4715,5
Karzinom (n= 3)	823,3	320; 1325,9

Tabelle 7: Stratifikation der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentration nach Ergebnis der postoperativen Histologie

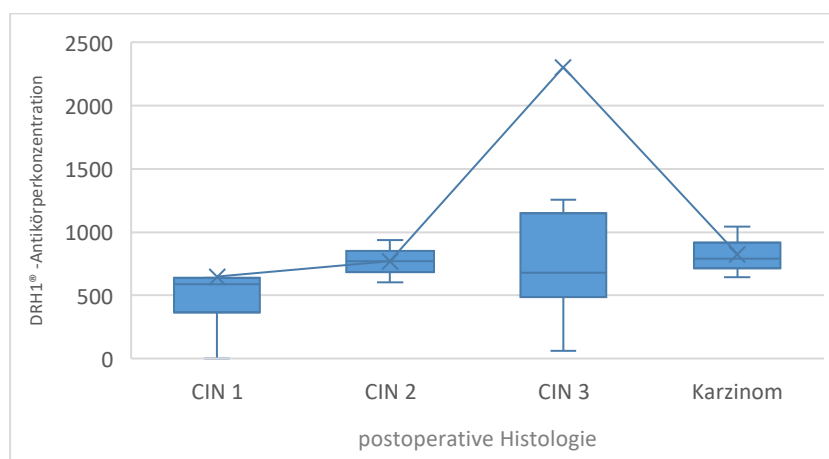


Abbildung 30: Stratifikation der DRH1®-Mittelwerte nach Ergebnis der postoperativen Histologie als Boxplotdarstellung mit Anzeige des oberen und unteren Quartils, Median, Mittelwert sowie oberem und unterem Whisker ohne Ausreißer

#### Stratifikation nach cobas® 4800-Testergebnis

Bei Vergleich der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentrationen zwischen der cobas® 4800-HR-HPV-positiven (1975,1 ng/ml [95%KI 0; 3978,6]) und cobas® 4800-HR-HPV-negativen (1901,5 ng/ml [95% KI 0; 17689,0]) Kohorte ließ sich lediglich ein marginaler Unterschied verzeichnen (siehe Tabelle 8). Ein  $p$ -Wert von 0,289 ergab keinen Hinweis auf einen signifikanten Unterschied der beiden Konzentrationen.

Im Gegensatz hierzu wies die Population der cobas® 4800-HPV-16-Positiven (2303,0 ng/ml [95% KI 0; 4861,2]) eine wesentlich höhere mittlere DHR1®-Antikörperkonzentration auf als

die Probandinnen mit einem HPV-16-negativen Testergebnis (951,5 ng/ml [95% KI 368,7; 1534,3]). Ein signifikanter Unterschied konnte allerdings auch zwischen diesen beiden Gruppen nicht belegt werden ( $p = 0,546$ ).

	mittlere DRH1®-Antikörperkonzentration [ng/ml]	95% KI
HR-HPV positiv (n= 47)	1975,1	0; 3978,6
HR-HPV negativ (n= 2)	1901,5	0; 17689,0
HPV-16 positiv (n= 37)	2303,0	0; 4861,2
HPV-16 negativ (n= 12)	951,5	368,7; 1534,3

Tabelle 8: Stratifikation der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentration nach cobas® 4800-Testergebnis

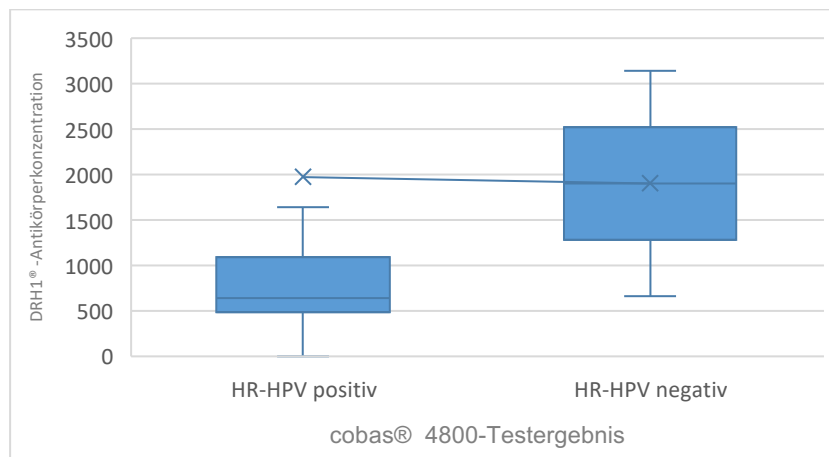


Abbildung 31: Stratifikation der DRH1®-Mittelwerte nach HR-HPV Testergebnis als Boxplotdarstellung mit Anzeige des oberen und unteren Quartils, Median, Mittelwert sowie oberem und unterem Whisker ohne Ausreißer

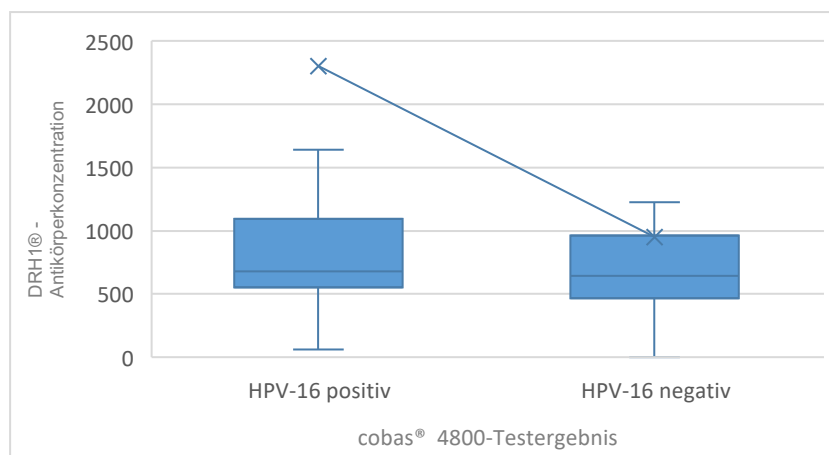


Abbildung 32: Stratifikation der DRH1®-Mittelwerte nach HPV-16-Testergebnis als Boxplotdarstellung mit Anzeige des oberen und unteren Quartils, Median, Mittelwert sowie oberem und unterem Whisker ohne Ausreißer

### Stratifikation nach cobas® 4800 Testergebnis und postoperativer Histologie

Es wurden ebenfalls die mittleren DRH1®-Antikörperkonzentrationen zwischen zwei CIN 3+-positiven Kohorten verglichen: der mit einem zusätzlich positiven HPV-16 Nachweis im cobas® 4800-Test und der mit einem negativen HPV-16 Nachweis. In der erst genannten Kohorte zeigte sich eine mittlere DRH1®-Antikörperkonzentration von 2525,3 ng/ml [95%KI 0; 5497,5], wohingegen diese in der zweiten Kohorte 1105,3 ng/ml [95%KI 440,7; 1769,9] betrug (siehe Tabelle 9). Ein signifikanter Unterschied der DRH1®-Konzentrationen zwischen den beiden Kohorten ließ sich allerdings nicht belegen ( $p= 0.813$ ).

	mittlere DRH1®-Antikörperkonzentration [ng/ml]	95% KI
HPV-16 positiv + CIN 3+ (n= 32)	2525,3	0; 5497,5
HPV-16 negativ + CIN 3+ (n= 10)	1105,3	440,7; 1769,9

Tabelle 9: Stratifikation der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentration nach CIN3+ und HPV-16 Testergebnis

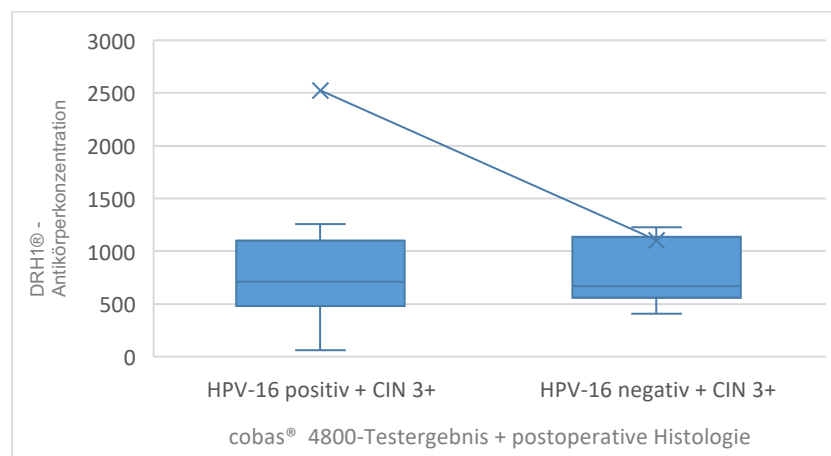


Abbildung 33: Stratifikation der DRH1®-Mittelwerte nach CIN3+ und HPV-16 Testergebnis als Boxplotdarstellung mit Anzeige des oberen und unteren Quartils, Median, Mittelwert sowie oberem und unterem Whisker ohne Ausreißer

### Stratifikation nach Alter

In den Altersgruppen der unter beziehungsweise über 30-Jährigen ließen sich ebenfalls unterschiedliche mittlere DRH1®-Konzentrationen nachweisen. In der Kohorte der unter 30-Jährigen betrug diese 681,3 ng/ml [95%KI 209,1; 1153,5], in der der über 30-Jährigen 2187,2 ng/ml [95%KI -58,9; 4433,2] (siehe Tabelle 10). Ein signifikanter Unterschied bestand allerdings nicht ( $p=0.202$ ).



Alter [Jahre]	mittlere DRH1®-Antikörperkonzentration [ng/ml]	95% KI
< 30 (n= 9)	681,3	209,1; 1153,5
≥ 30 (n= 40)	2187,2	-58,9; 4433,2

Tabelle 10: Stratifikation der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentration nach Alter

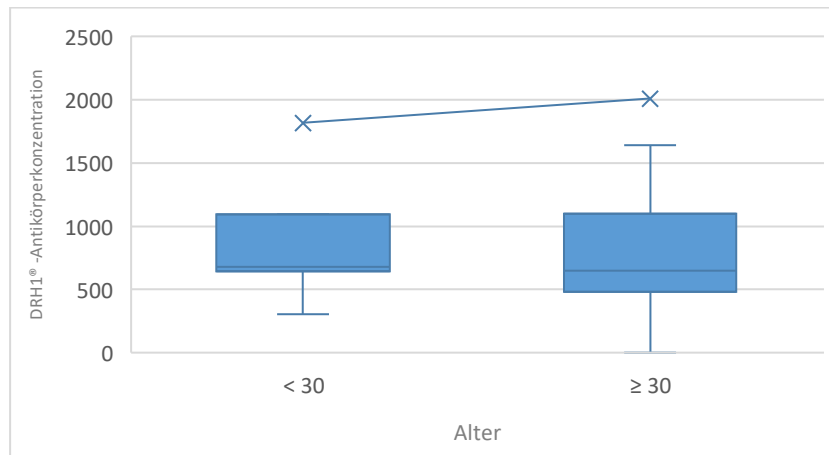


Abbildung 34: Stratifikation der DRH1®-Mittelwerte nach Alter als Boxplotdarstellung mit Anzeige des oberen und unteren Quartils, Median, Mittelwert sowie oberem und unterem Whisker ohne Ausreißer

#### Analyse verschiedener DRH1®-Antikörperkonzentration-cut-off-Werte

Mit Hilfe des Youden-Index konnte für eine optimale Sensitivität beziehungsweise Spezifität ein DRH1®-Antikörper-cut-off-Wert von 640 ng/ml berechnet werden. Eine maximale Spezifität für den postoperativen Nachweis einer CIN3+-Läsion wurde mit einem cut-off-Wert von 2031 ng/ml erreicht.

Mit einem cut-off-Wert von 1000 ng/ml konnten 35,7% aller CIN 3+-Läsionen erkannt werden, mit einem cut-off-Wert von 640 ng/ml 64,2%. 100% aller CIN 3+-Läsionen wurden mit einem cut-off von 0 ng/ml nachgewiesen.

Unter den 18 Patientinnen mit DRH1®-Antikörpertitern von über 1000 ng/ml hatten 94% postoperativ einen CIN 3+-Befund. Der Anteil mit postoperativem CIN 3+-Nachweis sank auf 92% bei Probandinnen mit Titern im Bereich von 640 ng/ml bis 1000 ng/ml und auf 76% bei Patientinnen mit DRH1®-Antikörperkonzentrationen von unter 640 ng/ml (siehe Abbildung 35).

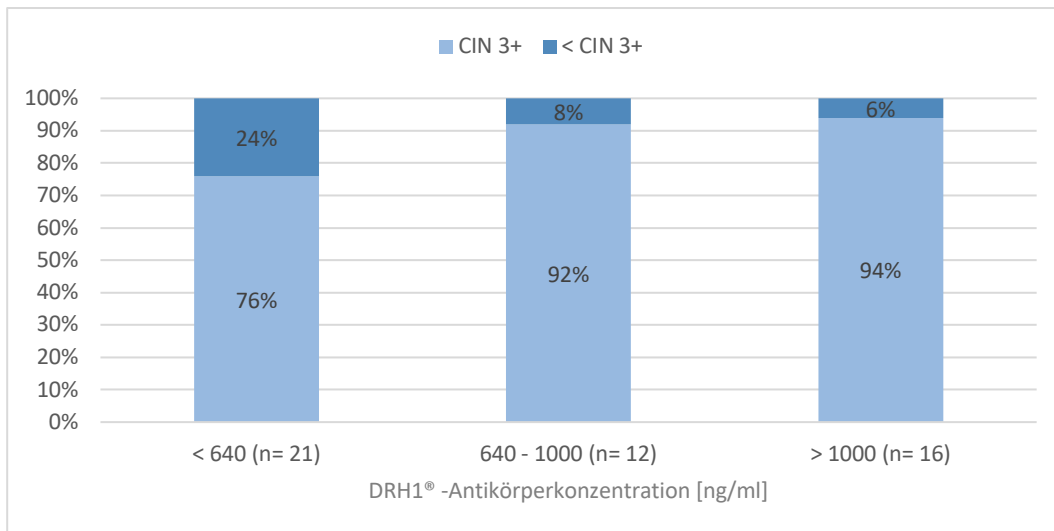


Abbildung 35: Anteil an CIN3+-positiven/negativen Ergebnissen in Abhängigkeit von DRH1®-Antikörperkonzentration

Vergleich der Ergebnisse des Prevo-Check®-Tests mit Ergebnissen des cobas® 4800-Tests

Bei Vergleich der Ergebnisse des cobas® 4800-Tests mit denen des Prevo-Check®-Tests gab es bei der Verwendung eines cut-off-Wertes von 0 ng/ml die größten Übereinstimmungen (siehe Tabelle 13). So zeigte sich in der HR-HPV-Gruppe eine Übereinstimmung von 97,9% (Kappa - 0,028) und in der HPV-16 Gruppe eine von 100% (Kappa 0,121). Mit einem cut-off-Wert von 640 ng/ml zeigte sich in der HR-HPV-Gruppe eine Übereinstimmung von 55,3% (Kappa -0,081) und in der HPV-16 Gruppe eine von 59,5% (Kappa 0,075) (siehe Tabelle 12). Die niedrigste Übereinstimmung ließ sich bei der Verwendung eines cut-off-Wertes von 1000 ng/ml nachweisen. So ergab sich in der HR-HPV-Gruppe eine Übereinstimmung von 31,9% (Kappa - 0,021) und in der HPV-16-Gruppe eine von 48,1% (Kappa 0,064) (siehe Tabelle 11).

Mit der Berechnung der p-Werte konnte kein Zusammenhang zwischen den Ergebnissen des Prevo-Check®-Tests und denen des cobas® 4800-Tests belegt werden (siehe Tabelle 14).

		Prevo-Check®: DRH1®-Antikörperkonzentration [ng/ml]		
		> 1000 (positiv)	≤ 1000 (negativ)	Gesamt
cobas®4800	HR-HPV positiv	15	32	47
	HR-HPV negativ	1	1	2
	HPV-16 positiv	13	14	27
	HPV-16 negativ	3	9	12
	Gesamt	16	33	49

Tabelle 11: Korrelation der Testergebnisse des cobas® 4800-Tests mit denen des Prevo-Check®-Tests bei einem cut-off-Wert von 1000 ng/ml

Prevo-Check®: DRH1®-Antikörperkonzentration [ng/ml]				
cobas® 4800		> 640 (positiv)	≤ 640 (negativ)	Gesamt
	HR-HPV positiv	26	21	47
	HR-HPV negativ	2	0	2
	HPV-16 positiv	22	15	37
	HPV-16 negativ	6	6	12
	<b>Gesamt</b>	28	21	49

Tabelle 12: Korrelation der Testergebnisse des cobas® 4800-Tests mit denen des Prevo-Check®-Tests bei einem cut-off-Wert von 640 ng/ml

Prevo-Check®: DRH1®-Antikörperkonzentration [ng/ml]				
cobas® 4800		> 0 (positiv)	0 (negativ)	Gesamt
	HR-HPV positiv	46	1	47
	HR-HPV negativ	2	0	2
	HPV-16 positiv	37	0	37
	HPV-16 negativ	11	1	12
	<b>Gesamt</b>	48	1	49

Tabelle 13: Korrelation der Testergebnisse des cobas® 4800-Tests mit denen des Prevo-Check®-Tests bei einem cut-off-Wert von 0 ng/ml

DRH1®-Antikörperkonzentration [ng/ml]	cobas® 4800-Testergebnis	Kappa-Wert	p-Wert
1000	HR-HPV-positiv	- 0,021	1
	HPV-16-positiv	0,064	0,726
640	HR-HPV-positiv	- 0,081	0,5
	HPV-16-positiv	0,075	0,739
0	HR-HPV-positiv	- 0,028	1
	HPV-16-positiv	0,121	0,245

Tabelle 14: Korrelation der Ergebnisse des Prevo-Check®-Tests mit denen des cobas® 4800-Tests

## Evaluierung der Validitätsparameter

### Prevo-Check®-Test

Bei der Berechnung der Validitätsparameter des Prevo-Check®-Tests wurden verschiedene DRH1®-Antikörperkonzentrationen verwendet. Zum einen erfolgte die Auswertung mit dem qualitativen Ergebnis des Schnelltests ( $\geq 1000$  ng/ml), zum anderen wurden die DRH1®-Antikörperkonzentrationen von 0 ng/ml und 640 ng/ml verwendet. Endpunkt der Auswertung war das postoperative histopathologische Korrelat einer CIN 3+-Läsion.

Sowohl die höchste Spezifität als auch die höchste Sensitivität für den Nachweis einer CIN 3+-Läsion ließ sich bei der Verwendung von 0 ng/ml als cut-off-Wert erreichen, allerdings mit dem schlechtesten NPV-Wert von 14,3% (siehe Tabelle 15). Bei der Verwendung des vom Hersteller empfohlenen cut-off-Wertes von 1000 ng/ml lag die Sensitivität bei 35,7% und die Spezifität bei 85,7%. Anhand der p-Werte ließ sich allerdings zwischen einem positiven Ergebnis des Prevo-Check®-Tests und einer postoperativen CIN3+-Läsion kein signifikanter Zusammenhang erkennen.

DRH1®-Konzentration [ng/ml]	Sensitivität [95%-KI]	Spezifität [95%-KI]	PPV [95%-KI]	NPV [95%-KI]	p-Wert	Falsch-negative	Falsch-positive
0/> 0	87,5 [74,6; 95,2]	100 [2,5; 100]	100 [91,6; 100]	14,3 [0,4; 57,9]	0,143	6	0
≤/> 640	61,9 [45,6; 76,4]	71,4 [29; 96,3]	92,9 [77,4; 98]	23,8 [8,2; 47,2]	0,122	16	2
≤/> 1000	35,7 [21,6; 52]	85,7 [42,1; 99,6]	93,8 [71,7; 98,9]	18,2 [7; 35,5]	0,402	27	1

Tabelle 15: Validitätsparameter des Prevo-Check®-Tests mit verschiedenen DRH1®-cut-off-Werten

Die Analyse der ROC-Kurve ergab mit einem AUC-Wert von 0,62 [95% KI 0.397; 0.848] lediglich einen schwachen Zusammenhang zwischen der Serologie und dem postoperativen Nachweis einer CIN 3+-Läsion (siehe Abbildung 36).

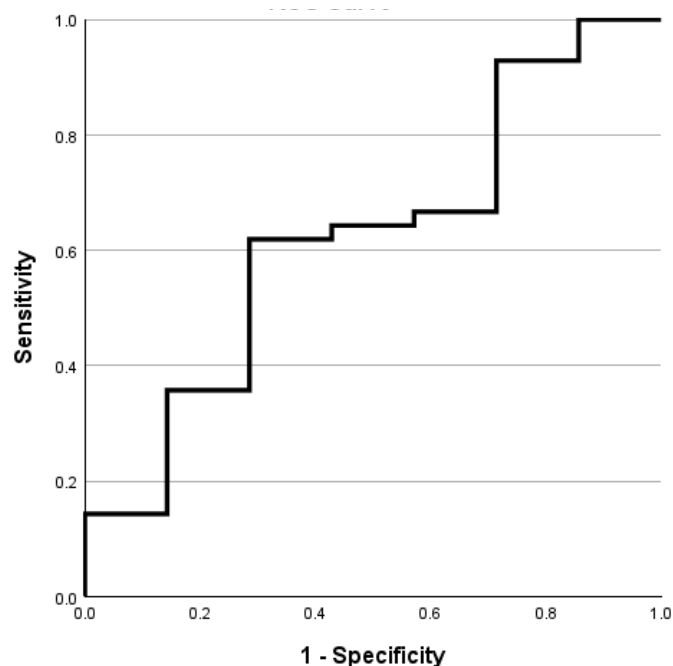


Abbildung 36: ROC-Kurve für den mittels Prevo-Check®-Test durchgeführten serologischen Nachweis einer CIN3+-Läsion

## cobas® 4800-Test

Die Validitätsparameter des cobas® 4800-Tests wurden sowohl für alle HR-HPV-Typen berechnet, als auch für die drei Untergruppen: HPV-18 positiv, HPV-16 positiv und „HPV-other“ positiv. In der statistischen Analyse der Gütekriterien wurde ebenfalls die postoperativ nachgewiesene CIN 3+-Läsion als Endpunkt gewählt.

Die höchste Sensitivität mit 95,2% zeigte der cobas® 4800-Test für alle HR-HPV-Typen, allerdings bei einer Spezifität und einem NPV von 0% (siehe Tabelle 16). Im Gegensatz hierzu zeigte die Genotypisierung des HPV-18-Typs mit 21,4% die geringste Sensitivität, jedoch mit 100% die höchste Spezifität. Der HPV-16 Nachweis zeigte im Vergleich eine mittlere Sensitivität (76,2%), bei jedoch geringer Spezifität (28,6%). Die Analyse der p-Werte ergab keinen signifikanten Zusammenhang zwischen einem positiven cobas® 4800-Testergebnis und dem postoperativen Nachweis einer CIN3+-Läsion.

	Sensitivität [95%-KI]	Spezifität [95%-KI]	PPV [95%-KI]	NPV [95%-KI]	p-Wert	Falsch- negative	Falsch- positive
HR-HPV	95,2 [83,8; 99,4]	0 [0; 41]	85,1 [72,3; 92,6]	0 [0; 84,2]	1	2	7
HPV-16	76,2 [60,5; 87,9]	28,6 [3,7; 71]	86,5 [72; 94,1]	16,7 [2,1; 48,4]	1	10	5
HPV-18	21,4 [10,3; 36,8]	100 [59; 100]	100 [70,1; 100]	17,5 [7,3; 32,8]	0,322	33	0
HPV-other	38,1 [23,6; 54,4]	71,4 [29; 96,3]	88,9 [67,2; 96,9]	16,1 [5,5; 33,7]	1	26	2

Tabelle 16: Validitätsparameter des cobas® 4800-Tests

## Zytologie

Zur Berechnung der Gütekriterien wurden die intern erhobenen zytologischen Ergebnisse verwendet. Bei den 9 Probandinnen ohne intern erhobenen Pap-Abstrich wurde das Ergebnis der extern durchgeführten Exfoliativzytologie verwendet.

Die Validitätsparameter wurden in zwei verschiedenen Ansätzen berechnet. Im ersten Ansatz wurden nur die Zytologien mit einem Pap IIID+-Befund untersucht, im zweiten nur die mit einem Pap IV-Befund. Bei der Auswertung wurde wiederum die postoperative CIN 3+-Läsion als Endpunkt verwendet.

Sowohl bei der Verwendung des Pap IIID+ als auch des Pap IV lässt sich eine hohe Sensitivität (95,2% beziehungsweise 90,5%) erreichen (siehe Tabelle 17). Eine höhere Spezifität ist bei der Analyse mit den Pap IV-Befunden möglich. Hierbei lässt sich auch ein signifikanter Zusammenhang zwischen einem zytologischen Pap IV-Befund und dem Nachweis einer CIN 3+-Läsion belegen.

	Sensitivität [95%-KI]	Spezifität [95%-KI]	PPV [95%-KI]	NPV [95%-KI]	p-Wert [95%-KI]	Falsch- negative	Falsch- positive
Pap IIID+	95,2 [83,8; 99,4]	28,6 [3,7; 71]	88,9 [76,5; 95,2]	50 [6,8; 93,2]	0,092	2	5
Pap IV	90,5 [77,4; 97,3]	57,1 [18,4; 90,1]	92,7 [80,6; 97,5]	50 [15,7; 84,3]	<0.001	4	3

Tabelle 17: Validitätsparameter der Zytologie

#### Korrelation DRH1®-Antikörperkonzentration mit Alter, Anamnese

Zur statistischen Auswertung, ob eine Korrelation zwischen der DRH1®-Antikörperkonzentration und dem Alter der Probandinnen besteht, wurde aufgrund der nicht normalverteilten Titer der nichtparametrische Spearman-Korrelationskoeffizient verwendet. Bei einem p-Wert von 0,72 bestand allerdings kein signifikanter Zusammenhang, sodass die Bestimmung von Korrelationskoeffizienten nicht sinnvoll war. Durch Verwendung des Mann-Whitney-Tests konnte zwischen der DRH1®-Antikörperkonzentration und einem pathologischen zervikalen Befund in der Anamnese mit einem p-Wert von 0,565 ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden.

#### Probenart

Zur Durchführung des Prevo-Check®-Tests lagen in 21 Fällen (42,9%) EDTA-Proben vor, in 4 Fällen (8,2%) Serumproben und in 24 Fällen (49%) Plasmaproben.

Für die Berechnung welche Probenart für die Verwendung des Prevo-Check®-Tests am besten geeignet ist, wurden die Gütekriterien für verschiedene cut-off-Werte für jede Probenart berechnet. Als primärer Endpunkt wurde hierfür die CIN 3+-Läsion in der postoperativen Histologie gewählt. Die errechneten Validitätsparameter sind in den Tabellen 18-20 zusammengefasst. Die errechneten p-Werte zeigten zwischen der Probenart und dem Nachweis einer CIN 3+-Läsion keinen signifikanten Zusammenhang.

### Cut-off DRH1®-Konzentration: 1000 ng/ml

	Sensitivität [95%-KI]	Spezifität [95%-KI]	PPV [95%-KI]	NPV [95%-KI]	p-Wert	Falsch- negative	Falsch- positive
EDTA	31,6 [12,6; 56,6]	100 [15,8; 100]	100 [61; 100]	13,3 [1,7; 40,5]	1	13	0
Serum	0 [0;70, 8]	100 [2,5; 100]	---	25 [0,6; 80,6]	---	3	0
Plasma	45 [23,1; 68,5]	75 [19,4; 99,4]	90 [59,6; 98,2]	21,4 [4,7; 50,8]	0,615	11	0

Tabelle 18: Probenart-spezifische Validität des Prevo-Check®-Tests bei einem DRH1®-cut-off-Wert von 1000 ng/ml

### Cut-off DRH1®-Konzentration: 640 ng/ml

	Sensitivität [95%-KI]	Spezifität [95%-KI]	PPV [95%-KI]	NPV [95%-KI]	p-Wert	Falsch- negative	Falsch- positive
EDTA	57,9 [33,5; 79,7]	50 [1,3; 98,7]	91,7 [64,6; 98,5]	11,1 [0,3; 48,2]	1	8	1
Serum	33,3 [0,8; 90,6]	100 [2,5; 100]	100 [20,7; 100]	33,3 [0,8; 90,6]	1	2	0
Plasma	70 [45,7; 88,1]	75 [19,4; 99,4]	9,3 [70,2; 98,8]	33,3 [7,5; 70,1]	0,130	6	1

Tabelle 19: Probenart-spezifische Validität des Prevo-Check®-Tests bei einem DRH1®-cut-off-Wert von 640 ng/ml

### Cut-off DRH1®-Konzentration: 0 ng/ml

	Sensitivität [95%-KI]	Spezifität [95%-KI]	PPV [95%-KI]	NPV [95%-KI]	p-Wert	Falsch- negative	Falsch- positive
EDTA	100 [82,4; 100]	0 [0; 84,2]	90,5 [71,1; 97,3]	---	---	0	2
Serum	100 [29,2; 100]	0 [0; 97,5]	75 [30,1; 95,4]	---	---	0	1
Plasma	100 [83,2; 100]	25 [0,6; 80,6]	87 [67,9; 95,5]	100 [2,5; 100]	0,167	0	3

Tabelle 20: Probenart-spezifische Validität des Prevo-Check®-Tests bei einem DRH1®-cut-off-Wert von 0 ng/ml

## Hämolyse

24 der 49 Proben (49%) waren hämolysiert, unter den EDTA-Proben 20 der 21 (95,2%) und unter den Serum Proben alle 4 (100%).

Für die Berechnung, ob eine Hämolyse Einfluss auf die Qualität des Prevo-Check®-Tests hat, wurden die Gütekriterien für verschiedene cut-off-Werte je nach Vorliegen einer Hämolyse errechnet. Als primärer Endpunkt wurde hierfür die CIN 3+-Läsion in der postoperativen Histologie gewählt. Bei p-Werten >0.05 konnte allerdings kein signifikanter Zusammenhang zwischen einer Hämolyse und einer CIN 3+ Läsion belegt werden (siehe Tabellen 21-23).

### Cut-off DRH1®-Konzentration: 1000 ng/ml

	Sensitivität [95%-KI]	Spezifität [95%-KI]	PPV [95%-KI]	NPV [95%-KI]	p-Wert	Falsch- negative	Falsch- positive
Hämolyse Nein	47,6 [25,7; 70,2]	75 [19,4; 99,4]	90,9 [62,3; 98,4]	21,4 [4,7; 50,8]	0,604	11	1
Hämolyse Ja	23,8 [8,2; 47,2]	100 [29,2; 100]	100 [56,6; 100]	15,8 [3,4; 39,6]	1	16	0

Tabelle 21: Validitätsparameter des Prevo-Check®-Tests je nach Hämolyse bei einem DRH1®-cut-off-Wert von 1000 ng/ml

### Cut-off DRH1®-Konzentration: 640 ng/ml

	Sensitivität [95%-KI]	Spezifität [95%-KI]	PPV [95%-KI]	NPV [95%-KI]	p-Wert	Falsch- negative	Falsch- positive
Hämolyse Nein	71,4 [47,8; 88,7]	75 [19,4; 99,4]	93,8 [71,7; 98,9]	33,3 [7,5; 70,1]	0,116	6	1
Hämolyse Ja	52,4 [29,8; 74,3]	66,7 [9,4; 99,2]	91,7 [64,6; 98,5]	16,7 [2,1; 48,4]	1	10	1

Tabelle 22: Validitätsparameter des Prevo-Check®-Tests je nach Hämolyse bei einem DRH1®-cut-off-Wert von 640 ng/ml

### Cut-off DRH1®-Konzentration: 0 ng/ml

	Sensitivität [95%-KI]	Spezifität [95%-KI]	PPV [95%-KI]	NPV [95%-KI]	p-Wert	Falsch- negative	Falsch- positive
Hämolyse Nein	100 [83,9; 100]	25 [0,6; 80,6]	87,5 [69; 95,7]	100 [2,5; 100]	0,160	0	3
Hämolyse Ja	100 [83,9; 100]	0 [0; 70,8]	87,5 [69; 95,7]	---	---	0	3

Tabelle 23: Validitätsparameter des Prevo-Check®-Tests je nach Hämolyse bei einem DRH1®-cut-off-Wert von 0 ng/ml



## 4. Diskussion

### Anforderung an HPV-Testverfahren

Ein Validationsprotokoll eines internationalen Konsortiums mit Kriterien, welche von HPV-Testverfahren zum Einsatz in der Sekundärprävention des Zervixkarzinoms erfüllt werden müssen, wurde von Meijer et. al publiziert [128]. Darüber hinaus wurden Empfehlungen entwickelt, in welchen Studien diese Nachweisverfahren evaluiert werden können. Als Bewertungsstandard wird der HC2-Test verwendet, da dieser sowohl von der FDA zugelassen und kommerziell verfügbar ist, als auch in zahlreichen kontrollierten Studien als valide bestätigt werden konnte [129, 130].

In der Auswertung von Gütekriterien wird von Meijer et. al in Anlehnung an die Bethesda-Klassifikation die CIN2+-Läsion als Endpunkt empfohlen. Die Bethesda-Klassifikation unterscheidet lediglich zwischen niedriggradigen und hochgradigen Dysplasien und nimmt somit keine Differenzierung zwischen CIN 2- und CIN 3-Läsionen vor. In der Richtlinie der ASCCP („American Society for Colposcopy and Cervical Pathology“) wird hingegen die CIN 3+-Läsion als Endpunkt empfohlen [131]. Die CIN 2-Läsion stellt eine heterogene Gruppe präinvasiver Läsionen dar, welche sowohl ein Risiko zur weiteren Progression tragen, als auch lediglich das histomorphologische Korrelat einer transienten HPV-Infektion darstellen können. Daher empfehlen europäische Richtlinien die Differenzierung zwischen der CIN 2 und der CIN 3 [132]. Deshalb wurde in dieser Studie ebenfalls die CIN 3+-Läsion als Endpunkt verwendet. Die zentrale Anforderung an HPV-Testverfahren ist die erfolgreiche Unterscheidung zwischen einer transienten und einer persistierenden Infektion und dem damit verbundenen erhöhten Risiko der Entwicklung eines Zervixkarzinoms. In der klinischen Effektivität der Nachweisverfahren erfordert dies eine Balance zwischen Sensitivität und Spezifität. Meijer et. al fordern für den Nachweis von CIN2+-Läsionen eine Sensitivität von mindestens 90% sowie eine Spezifität von mindestens 98% [128]. Die ASCCP hingegen empfiehlt für die Detektion von CIN 3+-Läsionen eine Sensitivität von 92% und eine Spezifität von 85% [131]. Eine weitere Anforderung an ein HPV-Testverfahren ist der mögliche Nachweis von mindestens 13 mit Gebärmutterhalskrebs verbundenen HR-HPV Typen (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66). Als weiteres Qualitätskriterium wird zudem in beiden Richtlinien die hohe interlaboratorische Reproduzierbarkeit genannt. Im Vergleich zu den Ergebnissen des HC2-Tests sollte mindestens eine moderate bis gute Übereinstimmung (Kappa 0,7) gewährleistet sein. In der deutschen S3-Leitlinie zur Prävention des Zervixkarzinoms wird zudem ein hoher

NPV ( $\geq 99\%$ ) sowie PPV ( $>10\%$ ) empfohlen [38]. Wenn Testverfahren im primären Screening eingesetzt werden, sollten sie nur eine sehr geringe Rate falsch negativer Befunde haben.

Da alle HPV-Nachweisverfahren quantitative Testmethoden sind, ist darüber hinaus ein geeigneter cut-off-Wert zu ermitteln, ab dem ein Ergebnis als positiv gewertet wird.

### Auswertung der Ergebnisse

In der vorliegenden Studie konnte mit dem qualitativen Ergebnis des Prevo-Check®-Tests (DRH1®-Antikörperkonzentration  $\geq 1000$  ng/ml) mit 85,7% zwar die von der ASCCP geforderte Spezifität, allerdings mit 35,7% nicht die geforderte Sensitivität erreicht werden. Auch der NPV erwies sich mit 18,2% als deutlich zu gering und der PPV war mit 93,8% gleichermaßen knapp zu niedrig. Mit dem für den Test eingestellten cut-off-Wert von 1000 ng/ml ergab sich mit 27 ebenfalls die höchste Anzahl an falsch negativen Ergebnissen.

Eine häufige Problematik bei diagnostischen *in vitro*-Testverfahren ist die Festlegung einer optimalen cut-off-Grenze, oberhalb derer das Testergebnis als positiv gewertet wird. Zur weiteren Evaluierung erfolgten daher weitere Analysen mit unterschiedlichen cut-off-Werten des DRH1®-Titers.

Bei einem cut-off-Wert von 0 ng/ml konnte die höchste, allerdings gleichermaßen nicht ausreichende Sensitivität (85,7%) bei exzellenter Spezifität (100%) erreicht werden, jedoch mit einem ebenfalls zu niedrigem NPV-Wert (14,3%). Die mittels Youden-Index ermittelte cut-off-DRH1®-Antikörperkonzentration von 640 ng/ml zeigte zwar den besten NPV-Wert (23,8%), allerdings ebenfalls eine zu geringe Sensitivität (61,9%) und Spezifität (71,4%). Mit einem cut-off-Wert von 640 ng/ml konnten ebenfalls 64,2% aller CIN 3+-Läsionen erkannt werden, wohingegen mit einem cut-off-Wert von 1000 ng/ml lediglich 35,7% der CIN 3+-Läsionen nachgewiesen werden konnten.

Bei einem Vergleich der Prevo-Check®-Testergebnisse bei verschiedenen cut-off-Werten mit den Ergebnissen des cobas® 4800-Tests konnte die erforderliche Übereinstimmung mit einem Kappa-Wert von 0,7 nicht erzielt werden. Die höchste Übereinstimmung zeigte sich bei der Verwendung des cut-off-Wertes von 0 ng/ml mit der cobas® 4800-HPV-16-positiven Kohorte mit einem Kappa-Wert von 0,1.

In einer Analyse der verschiedenen DRH1®-Titer zeigen niedrigere cut-off Werte eine bessere klinische Effektivität sowie eine größere Übereinstimmung mit den Testergebnissen des

cobas® 4800-Tests. Dies lässt vermuten, dass zum Nachweis von CIN 3+-Läsionen ein niedrigerer DRH1®-Titer als cut-off-Wert verwendet werden sollte.

Die mittels Fisher-Test errechneten p-Werte ergaben Hinweis darauf, dass zwischen den Ergebnissen des Prevo-Check®-Tests und dem Nachweis einer CIN 3+-Läsion in der postoperativen Histologie kein signifikanter Zusammenhang besteht.

Da mit dem Prevo-Check®-Test gleichermaßen lediglich der Nachweis von HPV-16 spezifischen Antikörpern möglich ist und nicht der Nachweis aller 13 HR-HPV-Typen, entspricht der Test in diesem Punkt ebenfalls nicht den in den Richtlinien geforderten Qualitätskriterien.

Zusammenfassend konnte mit dieser Studie somit eine Eignung des Prevo-Check®-Tests als primäres Screening-Instrument nicht belegt werden.

In einer Stratifikation der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentration je nach Ergebnis der postoperativen Histologie sowie nach Ergebnis des cobas® 4800-Tests ließ sich ein, wenn auch nicht signifikanter, aber deutlicher Trend erkennen.

So stieg die mittlere DRH1®-Antikörperkonzentration mit zunehmendem CIN-Schweregrad an. Auch bei Unterteilung in eine „< CIN 3+“- und CIN 3+-Kohorte zeigte sich in der CIN 3+-positiven Gruppe eine deutlich höhere mittlere DRH1®-Antikörperkonzentration. Des Weiteren erwies sich der mittlere DRH1®-Titer der cobas® 4800-HPV-16-positiven Probandinnen als deutlich höher als der der HPV-16-negativen. So konnte in ersterer Kohorte eine mittlere HPV-16-L1-Antikörperkonzentration von 2303 ng/ml [95% KI 0; 4861,2] berechnet werden. In der cobas® 4800-HPV-16 negativen Kohorte betrug diese lediglich 951,5 ng/ml [95% KI 368,7; 1543,3]. Ein signifikanter Unterschied bestand allerdings nicht.

Anders verhielt es sich bei der Stratifikation der Studienpopulation nach cobas® 4800-HR-HPV-Testergebnis. In beiden Gruppen ließ sich eine fast identische mittlere DRH1®-Antikörperkonzentration dokumentieren. Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass mit dem cobas® 4800-HR-HPV Nachweis nicht ausschließlich HPV-16, sondern auch 13 andere HR-HPV-Typen nachgewiesen werden.

In den Auswertungen, ob die Art der Probe oder eine Hämolyse der Proben einen Einfluss auf die Testergebnisse haben, ließ sich kein signifikanter Zusammenhang feststellen.

Bei der Anwendung einer cut-off-DRH1®-Antikörperkonzentrationen von 1000 ng/ml erwiesen sich die nicht hämolysierten Plasmaproben zur Durchführung des Prevo-Check®-

Tests als tendenziell am zuverlässigsten. Eine exzellente Sensitivität (100%) bei null falsch-negativen Ergebnissen ließ sich bei allen drei Probenarten mit der Verwendung des cut-off-Wertes von 0 ng/ml erzielen. Bei einem angewandten cut-off-Wert von 640 ng/ml zeigte sich der Prevo-Check®-Test mit der Plasmaprobe am effektivsten. Des Weiteren erwiesen sich die nicht hämolysierten Proben gegenüber den hämolysierten Proben bei allen cut-off-werten als sensitiver und, außer bei der Verwendung des cut-off-Wertes von 1000 ng/ml, als ebenfalls spezifischer. Tendenzial sollten daher zur Durchführung des Prevo-Check®-Tests nicht hämolysierte Plasmaproben verwendet werden.

Nebst des Prevo-Check®-Tests wiesen in vorliegender Studie allerdings sowohl der cobas® 4800-Test als auch die Zytologie deutliche Mängel in der klinischen Leistung als Screening-Verfahren auf. Mit der Verwendung des cobas® 4800-Tests konnte mit dem Nachweis aller 14 HR-HPV-Typen zwar eine Sensitivität von 95,2% erreicht werden, allerdings bei einer Spezifität und einem NPV-Wert von 0%. Auch mit der weiteren Genotypisierung ließen sich die von den Richtlinien geforderten Validitätsparameter nicht erreichen. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Ergebnissen des cobas®-Tests und einem postoperativen CIN3+-Befund ließ sich nicht belegen.

Der zytologische Abstrich wies in der klinischen Leistung ebenfalls deutliche Schwächen auf. So konnte zwar eine maximale Sensitivität von 95,2% erreicht werden, allerdings bei einer Spezifität von lediglich 28,6% und einem NPV von 50%. Allein beim Nachweis eines Pap IV-Abstrichs konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem zytologischen Abstrich und einer CIN 3+-Läsion nachgewiesen werden. Die erhobenen Daten belegten zudem ein weiteres Problem zytologischer Abstriche: Intern und extern durchgeführte Abstriche stimmten lediglich in 42,5% der Fälle überein und zeigten anhand eines Kappa-Wertes von nur -0,02 eine schlechte Konkordanz. Dies ist ein Hinweis auf die bereits in der Einleitung beschriebene Problematik der in hohem Maß subjektiven und fehleranfälligen Interpretation von Pap-Abstrichen.

Anhand des erhobenen Datensatzes konnte somit ebenfalls keine Eignung des cobas® 4800-Tests oder der Zytologie als valides Screening-Verfahren belegt werden.

## Analyse der Methodik

Für das mangelhafte Abschneiden aller drei Screeningverfahren lassen sich mehrere Gründe aufführen.

Zum einen mindert die fehlende negative Kontrollgruppe sowie die niedrige Anzahl an Probandinnen die Aussagekraft der Ergebnisse. Meijer et. al empfehlen zur Evaluation eines neuen HPV-Nachweisverfahrens die Testung von 60 HPV-positiven und 800 HPV-negativen Probandinnen, um dadurch eine Teststärke von 80% zu erreichen. Für eine Teststärke von 99% ist die Testung von 2500 Proben notwendig [128]. In der vorliegenden Studie umfasste das Patientinnenkollektiv lediglich 49 Probandinnen mit nur zwei cobas® 4800-HPV-negativen Ergebnissen und erreichte somit bei weitem nicht die erforderliche Teststärke. Aufgrund des kleinen Stichprobenumfanges kann zudem die fehlende Signifikanz der erhobenen Daten erklärt werden.

Des Weiteren wurde als Referenz für die Prevo-Check®-Testergebnisse nicht der geforderte HC2-Test, sondern der cobas® 4800-Test verwendet. Der cobas® 4800-Test erfüllt jedoch alle Kriterien des Meijer-Validationsprotokolls [133]. In weiteren Studien konnte zudem bewiesen werden, dass dieser Test als klinisch valider Screeningtest einsetzbar ist [134–136]. Nichtsdestotrotz ist der cobas® 4800-Test im Gegensatz zum HC2-Test erst seit einigen Jahren auf dem Markt. Obwohl der cobas® 4800 Test als diagnostischer Test etabliert ist, muss seine Validität als Screening-Instrument noch bewiesen werden. Darüber hinaus wurde bisher noch nicht untersucht, ob beispielsweise vaginaler Ausfluss oder die Benutzung von Tampons gegebenenfalls Einfluss auf die klinische Effektivität des cobas® 4800-Tests haben [137]. Somit sind die beiden Testverfahren nicht sicher als gleichwertig einzustufen. Anhand der gewonnenen Daten konnte eine ausreichende klinische Leistung des cobas® 4800-Tests in vorliegender Studie nicht belegt werden. Daher ist es fraglich, ob dieser als valides Maß zur Analyse der Effektivität des Prevo-Check®-Test herangezogen werden sollte.

Ein weiterer Grund für die nicht signifikanten Ergebnisse könnte die Auswahl der Patientinnenkohorte sein. Da den eingeschlossenen Probandinnen laut Ethikantrag kein zusätzliches Blut abgenommen werden durfte, und somit zur Testung lediglich das routinemäßig zur Operationsvorbereitung abgenommene Blut verwendet werden konnte, bestand folglich bei allen Patientinnen bereits eine Indikation zur Konisation. Es handelte sich

demzufolge um ein deutlich stratifiziertes Probandinnenkollektiv. Um valide Ergebnisse zu erzielen, ist es allerdings notwendig, eine populations-repräsentative Screening-Kohorte zu untersuchen. In der vorliegenden Studie ist dies nicht der Fall, da erst bei histopathologischem Nachweis einer CIN 3-Läsion oder Persistenz einer CIN 2-Läsion die Indikation zu Konisation gestellt wird und somit eine Vorselektion der Probandinnen stattfand. Dementsprechend ist in der vorliegenden Studienpopulation in der präoperativen Histologie eine CIN 3-Prävalenz von 86% und in der postoperativen Histologie von 85,2% zu beobachten. Aufgrund der hohen Assoziation einer CIN 3-Läsion mit einer HPV-Infektion entspricht die nachgewiesene HPV-Prävalenz von 95,9% ebenfalls bei weitem nicht der Prävalenz in der Normalbevölkerung. Das Testen von HPV in einer Population mit einer hohen HPV-Prävalenz führt folglich zu einer niedrigen Spezifität [138]. Des Weiteren sind sowohl der positive als auch der negative prädiktive Wert in hohem Maße von der HPV-Prävalenz des getesteten Probandinnenkollektivs abhängig [139].

Als weiterer Störfaktor kann das Altersspektrum der Kohorte identifiziert werden. Eine HPV-Infektion in der Altersgruppe der unter 30-Jährigen ist meist transient und nach ein bis zwei Jahren selbstlimitierend [37]. Folglich sollten Frauen unter 30 Jahren aufgrund mangelnder Aussagekraft nicht auf HPV gescreent werden und HPV-Testverfahren aufgrund niedriger Spezifität nicht an einer Studienpopulation unter 30 Jahren getestet werden [128, 140]. Um eine noch höhere Spezifität zu erreichen, sollte ein HPV-Testverfahren am besten erst an Frauen über 35 Jahren durchgeführt werden [69].

Das durchschnittliche Alter der untersuchten Probandinnen betrug allerdings 35,5 Jahre mit einem Anteil von 18,4% an unter 30-Jährigen und 53% an unter 35-Jährigen. Darüber hinaus ließ sich mit 44% der höchste Anteil an Prevo-Check®-positiven Probandinnen in der Kohorte der unter 30-Jährigen verzeichnen. Ob in dieser Gruppe mit dem Prevo-Check®-Test eine transiente oder persistierende und somit karzinogene Infektion nachgewiesen wurde, ist somit nicht zu eruieren.

In einer anderen Studie konnte mit der Durchführung eines anderen serologischen Assays nachgewiesen werden, dass L1-Antikörperkonzentrationen ebenfalls unabhängig von zervikalen dysplastischen Veränderungen mit dem Alter zunehmen [141].

Dies ließ sich auch in der vorliegenden Studie in einem Vergleich der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentration der beiden Altersgruppen der unter, beziehungsweise über 30-Jährigen erkennen. So ließ sich mit zunehmendem Alter eine deutliche Zunahme der mittleren DRH1®-Antikörperkonzentration von 681,3 ng/ml in der Alterskohorte der unter 30-Jährigen zu 2187,2 ng/ml in der Alterskohorte der über 30-Jährigen verzeichnen.

Als weiteres Problem der Studie ist zu nennen, dass eine HPV-Impfung kein Ausschlusskriterium darstellte.

Zur Primärprophylaxe des Zervixkarzinoms wird seit dem Jahr 2007 vom Robert-Koch-Institut die Impfung gegen die HR-HPV-Typen 16 und 18 empfohlen [142]. In Deutschland stehen hierzu zwei Totimpfstoffe zur Verfügung: Der bivalente Impfstoff Cervarix® zum Schutz vor den beiden HR-HPV-Typen 16 und 18 und der nonavalente Impfstoff Gardasil® 9, welcher darüber hinaus Schutz vor den HR-HPV Typen 31, 33, 45, 52 und 58 und den beiden LR-HPV-Typen 6 und 11 bietet [139]. Empfohlen wird die HPV-Impfung mit zwei Dosen in fünfmonatigem Abstand sowohl für Mädchen als auch für Jungen im Alter von neun bis 14 Jahren. Die Impfserie sollte vor dem ersten Geschlechtskontakt abgeschlossen sein [142].

Die zugelassenen Impfstoffe basieren auf rekombinant hergestellten „Virus-like Particles“ (VLP) [143]. Hierbei handelt es sich um nicht infektiöse Partikel, bestehend aus L1-Kapsidproteinen, welche sich spontan zu Proteinkapseln ohne viralen genomischen Inhalt aneinanderlagern. HPV-L1-VLPs sind mit nativen HP-Viren sowohl morphologisch als auch antigenisch nahezu identisch, sodass vom Immunsystem neutralisierende Antikörper gebildet werden [144, 145].

In Studien konnten in Seren geimpfter ProbandInnen im Vergleich zu ungeimpften ProbandInnen, die sich natürlich mit HPV-16 infiziert hatten, bis zu 133-fach höhere HPV-L1-Antikörpertiter nachgewiesen werden [146, 147]. In einer weiteren Studie wurde mittels quantitativer Auswertung des Prevo-Check® Tests die DRH1®-Antikörperkonzentrationen von Probandinnen vor und nach HPV-Impfung gemessen. Hierbei konnte ein bis zu 100-facher Anstieg, von durchschnittlich 364 ng/ml auf durchschnittlich 37500 ng/ml, nachgewiesen werden. Der höchste Anstieg konnte bei einer Patientin von 0 ng/ml vor Vakzination auf 237500 ng/ml nach Vakzination verzeichnet werden [148].

So sollte bei Seropositivität nicht ausschließlich auf tumorbedingte Antikörper geschlossen werden, sondern auch Antikörper nach sowohl natürlicher Infektion als auch HPV-Impfung in Betracht gezogen werden. Diese Möglichkeit wurde in vorliegender Studie nicht miterfasst. So wurde weder der HPV-Impfstatus berücksichtigt, noch wurden HPV-geimpfte Probandinnen aufgrund falsch positiver DRH1<sup>®</sup>-Antikörperkonzentrationen aus der Studie ausgeschlossen.

Bei Seropositivität wurde systematisch von einer HPV-Infektion und nicht von einer HPV-Impfung ausgegangen. In dem vorliegenden Patientinnenkollektiv lässt sich allerdings durch die starke Linksverteilung der Ergebnisse der quantitativen Prevo-Check<sup>®</sup>-Testauswertung vermuten, dass hohe DRH1<sup>®</sup>-Antikörperkonzentration wie beispielsweise von 47095 ng/ml eher auf eine Immunantwort nach einer HPV-Impfung als auf eine natürliche HPV-Infektion zurückzuführen sind, was zu verfälschten Ergebnissen der Auswertung geführt haben könnte.

#### Analyse des Prevo-Check<sup>®</sup>-Tests

Nicht nur die angewandte Methodik, sondern auch der Prevo-Check<sup>®</sup>-Test selbst muss kritisch betrachtet werden.

Mit dem Prevo-Check<sup>®</sup>-Test gelingt zwar durch den HPV-16 Nachweis der Nachweis des häufigsten HR-HPV-Typs, jedoch beträgt weltweit die HPV-16-Prävalenz im Zervixkarzinom selbst lediglich 55,1% und in hochgradigen zervikalen Dysplasien nur 45,1% [149]. Daher sollten, wie von der ASCCP gefordert, HPV-Testverfahren den Nachweis der für 95% der Zervixkarzinome und deren Vorstufen verantwortlichen 13 HR-HPV-Typen ermöglichen, um somit als valide Screeningtests in der Prävention von Gebärmutterhalskrebs eingesetzt werden zu können [131].

Zudem gilt es beim Einsatz des Prevo-Check<sup>®</sup>-Tests die Heterogenität der HPV-16-Prävalenz in verschiedenen Populationen zu bedenken [150]. So variiert die HPV-16-Prävalenz im Zervixkarzinom zwischen 49% in Afrika und 58,8% in Europa sowie in hochgradigen Dysplasien zwischen 27,1% in Afrika und 47,4% in Europa [149]. Folglich sollte bei der Verwendung des Prevo-Check<sup>®</sup>-Tests mit in Betracht gezogen werden, dass dieser eine regional unterschiedliche Sensitivität und Spezifität haben kann.



Ein weiteres Problem des Prevo-Check®-Tests ist der unspezifische globale Nachweis einer HPV-16-Infektion. Im Gegensatz zu den zum Zervixkarzinom-Screening verwendeten HPV-Testverfahren weist er als Bluttest keine lokale HPV-Infektion nach, sondern lediglich die unspezifische Immunantwort auf eine HPV-Infektion unabhängig von der Lokalisation dieser. Wie bereits beschrieben, ist die persistierende Infektion mit HPV nicht nur mit der Entwicklung von Gebärmutterhalskrebs assoziiert, sondern auch mit anderen Tumorentitäten wie Karzinomen des Aerodigestivtrakts und des Anogenitalbereichs (siehe Abbildung 37). So ist in oropharyngealen Karzinomen eine HPV-Prävalenz von 90,2%, in Mundhöhlenkarzinomen eine von 80% und in Analkarzinomen eine von bis zu 100% nachweisbar. Bei den genannten Tumorentitäten ist, ähnlich wie beim Zervixkarzinom, HPV-16 der am häufigsten nachweisbare HPV-Typ, beim Analkarzinom in bis zu 71,4% der Fälle [149].

Insbesondere die Früherkennung von Karzinomen im Kopf- und Halsbereich stellt aufgrund der möglichen multifokalen Lokalisationen von Tumoren und deren schlechter Einsehbarkeit eine Herausforderung dar [85]. Daher stellt ein serologischer Test wie der Prevo-Check®-Test zum Screening für diese Tumorlokalisationen eine gute Alternative dar. Im Gegensatz dazu existieren in der Prävention des Zervixkarzinoms bereits etablierte Verfahren, die sowohl suspekten Zellen als auch HPV-Infektionen am Ort der möglichen Tumorentstehung gezielt erfassen können. Damit ist unabhängig von den vorliegenden Daten die Eignung des Prevo-Check®-Tests als Screening-Instrument in der Sekundärprävention des Zervixkarzinoms infrage zu stellen.

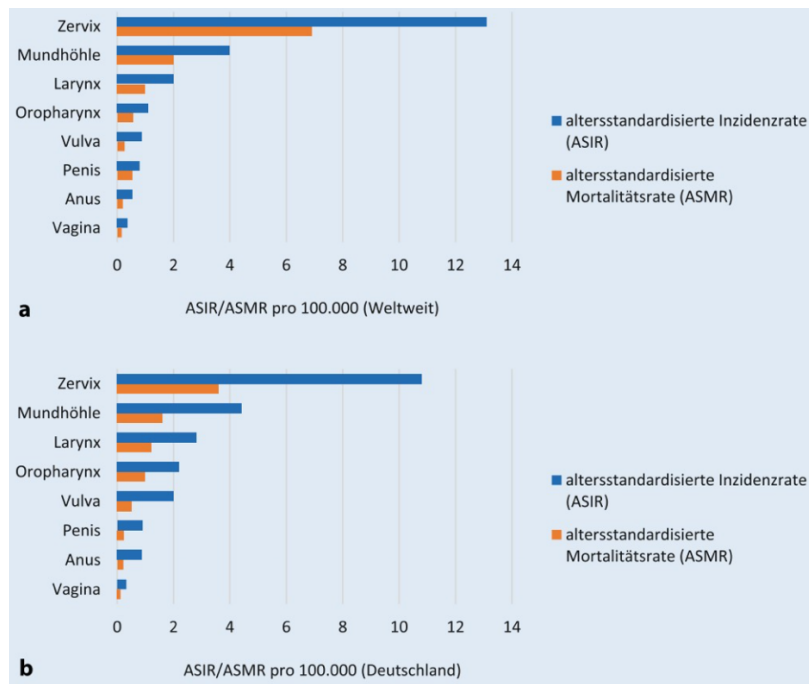


Abbildung 37: altersstandardisierte Inzidenz und Mortalität HPV-assoziiierter Tumorentitäten, (a) weltweit und (b) Deutschland, Jahr 2018 [151]

Schließlich muss die strittige Bedeutung sowohl des L1-Kapsidproteins als Marker in der Diagnose zervikaler Neoplasien, als auch die des Anti-L1-Antikörpers als Biomarker transformierender Infektionen diskutiert werden.

Bezüglich des L1-Kapsidproteins ist der aktuelle Stand des Wissens, dass L1 lediglich am Ende des viralen Zyklus von oberflächlichen, terminal differenzierten und somit nicht entarteten Epithelzellen produziert und freigesetzt wird. Da mit zunehmendem Schweregrad präinvasiver Läsionen zunehmend die Fähigkeit von Epithelzellen zur terminalen Differenzierung verloren geht, nimmt die Virusvermehrung und damit die L1-Expression von CIN 1-Läsionen zu CIN 3-Läsionen stark ab. Aus CIN 3-Läsionen sowie aus Zervixkarzinomen werden somit keine infektiösen Viren mehr freigesetzt [148, 152].

Darüber hinaus konnte in verschiedenen Studien durch immunhistochemische Färbung des L1-Kapsidproteins in Zervixbiopsien eine Assoziation der L1-Expression mit einer Regression von prädisplastischen Läsionen nachgewiesen werden [153–157]. So konnte in einer Studie in 100% der untersuchten Zervixkarzinombiopsien und in 96,7% der HPV-negativen Zervixbiopsien kein L1 nachgewiesen werden [29]. Somit wurde der immunzytochemische Nachweis von L1 bisher als Marker eines niedrigen Progressionsrisikos verstanden [12].

Unter diesen Annahmen führten Galgano et. al eine Studie zur Validierung des L1-Kapsidproteins als Biomarker in der Diagnostik zervikaler Neoplasien durch. Obwohl aufgrund der oben genannten Mechanismen der Nachweis von L1 mit einer produktiven viralen Infektion positiv korrelieren sollte, erwies sich der positive immunhistochemische Nachweis von L1 weder als spezifisch noch als sensitiv genug für den Nachweis von CIN 2+-Läsionen. Das L1-Kapsidprotein erwies sich somit als Biomarker für CIN 2+-Läsionen ungeeignet [29].

Diese Ergebnisse wurden jedoch in zwei anderen Studien infrage gestellt. So konnten Schmitt et. al in 43% der von ihnen untersuchten Zervixkarzinomproben L1-mRNA nachweisen [158]. Auch Weiland et. al konnten den immunhistochemischen Nachweis von L1 in Tumorzellen in Biopsien von Plattenepithelkarzinomen des Kopf- und Halsbereichs liefern [148].

Bezüglich der serologischen Immunantwort auf das L1-Kapsidprotein zeigten Studien, dass die L1-Antikörperreaktion sowohl mit dem Alter als auch mit der Anzahl an Sexualpartnern positiv assoziiert ist. L1-spezifische Antikörper sind daher Marker einer lebenslangen HPV-Exposition und können somit eher als Zeichen einer kumulativen statt einer aktiven oder gar transformierenden Infektion verstanden werden [141, 159–161].

Des Weiteren ist bei manchen Frauen eine ausbleibende Serokonversion trotz HPV-Infektion zu beobachten [160, 162]. So konnte in Studien erwiesen werden, dass lediglich ca. 50% der Frauen erst 18 Monate nach einem positiven HPV-DNA-Test L1-spezifische Antikörper bilden [141]. Bei dem gleichzeitigen Vorliegen einer hochgradigen zervikalen Läsion konnten in nur 75% der Probandinnen L1-spezifische Antikörper nachgewiesen werden [163]. In Probandinnen mit einem histologisch gesicherten Zervixkarzinom und positiven HPV-DNA Nachweis konnte in einer weiteren Studie lediglich in 48% der untersuchten Patientinnen eine Seropositivität nachgewiesen werden [162].

Jeong et. al erforschten die serologische Immunantwort auf HPV-16-L1-VLP und HPV-18-L1-VLP in Frauen mit hochgradigen zervikalen Neoplasien [164]. Sie konnten eine signifikant positive Korrelation zwischen Seropositivität und steigendem CIN-Schweregrad nachweisen. So wiesen Probandinnen mit anti-L1-VLP-Antikörpern ein 9-fach höheres Risiko für eine hochgradige präinvasive Läsion sowie ein 17-fach höheres Risiko für ein Zervixkarzinom auf.

Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese eines Zusammenhangs zwischen präinvasiven Läsionen und dem Vorhandensein von L1-Antikörpern.

In vorliegender Studie konnte analog hierzu ebenfalls eine, wenn auch nicht signifikante, Zunahme der mittleren DRH1<sup>®</sup>-Antikörperkonzentration mit steigendem CIN-Schweregrad verzeichnet werden. Allerdings konnte konträr hierzu eine deutliche Abnahme der mittleren DRH1<sup>®</sup>-Antikörperkonzentration in der Kohorte mit histologischem Nachweis eines mikroinvasiven Karzinoms dokumentiert werden. Dies würde wiederum die Annahme einer Zunahme der DRH1<sup>®</sup>-Antikörper im Rahmen einer transformierenden Infektion widerlegen.

Angesichts der widersprüchlichen Ergebnisse der diskutierten Studien muss noch geklärt werden, ob L1-spezifische Antikörper als Biomarker für transformierende Infektionen geeignet sind, und ob somit der Prevo-Check<sup>®</sup>-Test durch den Nachweis von anti-L1-Antikörpern als Zeichen einer onkogenen zervikalen HPV-Infektion zum Einsatz kommen kann.

#### Wissenschaftliche Einordnung

Eine ausgiebige Literaturrecherche in PubMed, Medline und Embase ergab keine vergleichbaren Studien zur Erforschung der Effektivität des Prevo-Check<sup>®</sup>-Tests als Screening-Instrument zur Früherkennung des Zervixkarzinoms. In drei Studien wurde die Effektivität des Prevo-Check<sup>®</sup>-Tests allerdings für andere Indikationen getestet.

Weiland et. al testeten die klinische Leistung des Prevo-Check<sup>®</sup>-Tests in verschiedenen Studienkohorten [148]. So wurden in dieser multizentrischen Studie Serumproben von insgesamt 1486 PatientInnen gewonnen und auf HPV-16-L1 spezifische Antikörper getestet: 301 PatientInnen mit Plattenepithelkarzinomen des Kopf- und Halsbereichs („Head and Neck Squamous Cell Carcinoma“, HNSCC), 12 HIV-positive PatientInnen mit Analkarzinomen, 80 HIV-positive, 29 mit Gardasil<sup>®</sup>9-Geimpfte sowie 1064 gesunde KontrollprobandInnen.

In der Studie konnte eine Sensitivität von 95% für HNSCC und von 90% für HIV-positive Analkarzinom nachgewiesen werden. Die diagnostische Spezifität betrug bei Männern über 30 Jahren 99,46%, bei Frauen über 30 Jahren 99,29%. Mit einer AUC von 0,96 konnte eine hohe Sensitivität und Spezifität in der Früherkennung HPV-16 assoziierter Neoplasien nachgewiesen werden. In der Nachbetreuung der HNSCC-PatientInnen konnte zudem

während der krankheitsfreien Überlebenszeit ein Abfall der DRH1<sup>®</sup>-Antikörperkonzentration von 30% bis 100% verzeichnet werden. Ein Anstieg der HPV-16-L1-spezifischen Antikörper von 2750 ng/ml auf 12000 ng/ml in der Nachsorge nach erfolgter Therapie zeigte ein Rezidiv an. Aus diesen Daten lässt sich schlussfolgern, dass der Prevo-Check<sup>®</sup>-Test mit dem Nachweis von DRH1<sup>®</sup>-Antikörpern nicht nur als Screening-Test in der sekundären Prävention von HNSCC und HIV-positiven Analkarzinomen geeignet ist, sondern auch als Marker in der Nachsorge nach erfolgter Therapie sowie als Frühmarker eines Rezidivs bei PatientInnen mit HNSCC und HIV-positiven Analkarzinomen.

Die beschriebenen Ergebnisse von Weiland et. al mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie zu vergleichen, ist aufgrund der unterschiedlichen Erkrankungen der zugrunde liegenden PatientInnenkollektive nicht möglich. Ob die größere Anzahl der ProbandInnen sowie die negative Kontrollgruppe allein Grund für die bessere klinische Leistung des Prevo-Check<sup>®</sup>-Tests bei Weiland et. al verantwortlich ist, oder ob der Prevo-Check<sup>®</sup>-Test lediglich im Screening von HNSCC und Analkarzinomen effektiv ist, lässt sich nicht ermitteln.

Ein weiterer Unterschied zwischen der vorliegenden Studie und der Studie von Weiland et. al ist das Alter der ProbandInnen. Die zur Berechnung der diagnostischen Spezifität von Weiland et. al eingeschlossenen PatientInnen waren mindestens 30 Jahre alt und erfüllten somit das von Meijer et. al geforderte Mindestalter zur Validierung von HPV-Testmethoden. Im Gegensatz hierzu konnte in der Altersgruppe der bis 19-Jährigen eine Spezifität von lediglich 73% und in der Altersgruppe der 20- bis 29-Jährigen eine von 79,5% von Weiland et. al nachgewiesen werden [148].

In einer weiteren Studie erforschten Ecke et. al den Zusammenhang zwischen mittels Prevo-Check<sup>®</sup>-Test ermittelter HPV-16-L1-Antikörperkonzentration und analer Zytologie bei HIV-positiven ProbandInnen („People Living With HIV“ – PLWH) [165]. In dieser Fall-Kontroll-Studie wurden 63 PLWH eingeschlossen, die zum routinemäßigen Analkarzinom-Screening vorstellig wurden. Es wurden sowohl anale zytologische Abstriche als auch Serumproben gewonnen, um letztere mittels Prevo-Check<sup>®</sup>-Test quantitativ und qualitativ auszuwerten.

Die gewonnenen Daten konnten einen signifikant positiven Zusammenhang zwischen DRH1<sup>®</sup>-Antikörpertitern und Schweregrad analer Zytologien nachweisen. Die quantitative Analyse ergab HPV-16-L1-Antikörperkonzentrationen zwischen 50 und 2900 ng/ml. Mit einem cut-off-Wert von 1000 ng/ml konnte für den Nachweis pathologischer analer Zytologien eine

Spezifität von 97,2% und ein PPV von 88% nachgewiesen werden. Mittels Youden-Index ließ sich ein optimaler cut-off-Wert von 200 ng/ml berechnen.

Eine weitere Studie zur Erforschung der Effektivität des Prevo-Check®-Tests wurde von Blatt et. al durchgeführt [166]. In dieser prospektiven Studie wurden 107 PatientInnen mit histologisch gesichertem oralem Plattenepithelkarzinom („Oral Squamous Cell Carcinoma“, OSCC) eingeschlossen. Von allen ProbandInnen wurden vor der chirurgischen Tumorexzision Serumproben entnommen, um diese mittels Prevo-Check®-Test qualitativ auszuwerten. Gewonnene Tumorexzidate wurden immunhistochemisch auf HPV-16 getestet. In der Studie konnte eine Sensitivität und Spezifität von jeweils 100% sowie ein NPV und PPV von 100% nachgewiesen werden.

Die sowohl von Ecke et. al als auch von Blatt et. al gewonnenen Daten sind, wie bereits erläutert, nicht mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie vergleichbar, da in beiden Studien der Prevo-Check®-Test nicht an Probandinnen mit pathologischer Zervikalzytologie getestet wurde. Ein besseres Abschneiden des Prevo-Check®-Tests in oben genannten Studien ist möglicherweise auf ein größeres PatientInnenkollektiv mit negativer Kontrollgruppe zurückzuführen. Ein weiterer Grund könnte die niedrigere HPV-16-Prävalenz in den beiden Studienpopulationen darstellen. So ließ sich in der Studie von Blatt et. al eine HPV-16-Prävalenz von 6,5% nachweisen, in der Studie von Ecke et. al eine von 12,7%. Zudem wurde in der Studie von Ecke et. al als Endpunkt lediglich der zytologische Befund einer hochgradigen analen Läsion gewählt und nicht der histologische und somit aussagekräftigere Nachweis.

### Ausblick in die Zukunft

In vorliegender Arbeit konnte die erhebliche Bedeutung von Zervixkarzinom Früherkennungsprogrammen vor allem in Entwicklungsländern und die mit der Implementierung verbundenen Herausforderungen, herausgearbeitet werden. Dem Großteil der LMIC ist es aufgrund fehlender finanzieller und personeller Ressourcen oder einer mangelnden Laborinfrastruktur nicht möglich, ein zytologiebasiertes Screening entweder zu initiieren oder aufrechtzuerhalten. Um eine Reduktion der Morbidität und Mortalität des Zervixkarzinoms in Entwicklungsländern zu erreichen, müssen Screening-Verfahren unter diesen speziellen Herausforderungen gewisse Anforderungen erfüllen.

Die generelle Überlegenheit einer HPV-Testung zur Detektion präinvasiver Läsionen konnte bereits erörtert werden. Zudem schneidet der HPV-Test in Bezug auf Kosteneffektivität in LMIC aufgrund der Notwendigkeit von weniger Screening-Runden am besten ab [167, 168]. Es bleibt allerdings zu bedenken, dass selbst HPV-Testverfahren, wie beispielsweise der HC2-Test, aufgrund der benötigten Gerätschaften, teuer sind. Eine Anforderung an ein Screening-Instrument für LMIC ist die einfache Durchführbarkeit, sodass kein spezifisch geschultes Personal benötigt wird [97]. Aufgrund der Stigmatisierung gynäkologischer Untersuchungen sind Testverfahren, die ohne diese auskommen, mit einer höheren Akzeptanz und nachfolgend gesteigerten Teilnahmeraten verbunden [97]. So sind vor allem Screening-Methoden mit der Möglichkeit einer Selbsttestung von Vorteil, da sie kosteneffektiver und mit einer besseren Akzeptanz in der Bevölkerung verbunden sind [169–172]. Aufgrund fehlender Kapazität und Ressourcen für häufiges Testen sollten Testverfahren zum einen eine hohe Sensitivität aufweisen und zum anderen schnell auswertbar sein, um somit eine Behandlung am selben Tag zu erlauben [3, 124, 173].

Ein möglichst sensitiver, schnell auswertbarer, kostengünstiger HPV-Selbsttest, welcher minimaler Einweisung bedarf, wäre somit der ideale Test für ein Zervixkarzinom-Screening in Entwicklungsländern [170, 174].

Diese Anforderungen erfüllt der Prevo-Check<sup>®</sup>-Test und würde daher einen idealen Screening-Test in der Prävention des Zervixkarzinoms in LMIC darstellen. In der vorliegenden Studie ließ sich allerdings keine ausreichende klinische Effektivität des Prevo-Check<sup>®</sup>-Tests zur Verwendung in der Sekundärprävention nachweisen. Verschiedene Gründe für das mangelhafte Abschneiden konnten bereits erörtert werden.

So sollte in weiterführenden Arbeiten die klinische Effektivität des Prevo-Check<sup>®</sup>-Tests vor allem im Kontext von LMIC weiter erforscht werden. Hierbei sollte ein größeres Patientinnenkollektiv mit einem Mindestalter von 30 Jahren inklusive einer HPV-negativen Kontrollgruppe untersucht und eine HPV-Impfung als Ausschlusskriterium gewählt werden. Darüber hinaus sollte in diesen Studien eine erneute Evaluierung eines geeigneten DRH1<sup>®</sup>-cut-off-Wertes erfolgen, ab dem der Prevo-Check<sup>®</sup>-Test in LMIC als positiv gewertet wird. Aufgrund der speziellen Anforderungen sollte der Test möglichst sensitiv sein, sodass ein niedrigerer cut-off Wert untersucht werden sollte.

In einer aktuell laufenden Kohortenstudie in Tansania sollen unter „Women Living With HIV“ (WLWH) neue Screening- und Behandlungsmethoden in der Prävention des Zervixkarzinoms erforscht werden [138]. Unter anderem soll die klinische Effektivität des Prevo-Check®-Tests an diesem Hochrisikokollektiv getestet werden. Die gewonnenen Daten stehen allerdings zum jetzigen Zeitpunkt noch aus.

Wenn sich der Prevo-Check®-Test in diesen Studien als Screening-Test zur Sekundärprävention des Zervixkarzinoms ebenfalls als ungeeignet erweist, wäre zu untersuchen, ob der Prevo-Check®-Test in anderen Anwendungsbereichen eingesetzt werden kann.

So könnte ergründet werden, ob der Prevo-Check®-Test zur weiteren Risikostratifizierung sowohl bei positivem Screening, als auch beispielsweise bei positivem HPV-Test, aber negativer Zytologie eingesetzt werden könnte. Ein weiterer möglicher Anwendungsbereich stellt die Nachsorge nach erfolgter Konisation dar. Probandinnen tragen langfristig, trotz R0-Resektion, ein bis zu fünffach erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines Zervixkarzinoms und in bis zu 10% der Fälle tritt ein Rezidiv einer CIN 2+ Läsion auf [50, 175]. So könnte ein Wiederanstieg des DRH1®-Titers als Zeichen eines Rezidivs und ein ausreichender Abfall des DRH1®-Titers als Therapieerfolg verstanden werden.

Diese Fragestellungen wären in zukünftigen Studien zu bearbeiten.



## 5. Zusammenfassung und Relevanz der Analyse

Das Zervixkarzinom zählt weltweit zu den häufigsten bösartigen Tumorerkrankungen der Frau. Hiervon besonders betroffen sind Entwicklungsländer, in denen das Zervixkarzinom 85% aller Tumorneuerkrankungen ausmacht [176]. In den 1990er-Jahren konnte durch umfangreiche Studien der Zusammenhang zwischen einer persistierenden Infektion mit humanen Papillomaviren (HPV) und der Entwicklung von Gebärmutterhalskrebs belegt werden [14, 18]. HPV infiziert lokal Epithelien der Haut und Schleimhäute und kann durch die Produktion der beiden Onkoproteine E6 und E7 zur malignen Transformation von Epithelzellen und ultimativ zur Entstehung eines Karzinoms führen [76]. Untern den bisher über 200 nachgewiesenen HPV-Arten werden jene 13 Typen mit einem erhöhten onkogenen Potenzial zu den „High-Risk“ (HR)-HPV-Typen gezählt [56, 74]. Hierunter verursachen HPV-16 und HPV-18 insgesamt 70% aller Zervixkarzinome weltweit [177]. Die häufigste pathologische Form des Zervixkarzinoms entwickelt sich stufenweise aus neoplastischen Veränderungen des Plattenepithels, genannt zervikale intraepitheliale Neoplasien (CIN). Diese werden anhand ihres Schweregrades in CIN 1 (milde Dysplasie), CIN 2 (moderate Dysplasie) und CIN 3 (schwere Dysplasie) eingeteilt [12]. Zur Früherkennung des Zervixkarzinoms steht der zytologische Abstrich zur Verfügung, dessen Einführung zu einem deutlichen Rückgang der Inzidenz des Zervixkarzinoms geführt hat [94]. Bei dieser Screening-Methode werden Exfoliativzellen von der Portiooberfläche beziehungsweise aus dem Zervikalkanal entnommen und nach Färbung zytomorphologisch beurteilt [38]. Die Auswertung erfolgt anhand der Münchner III Nomenklatur, welche das Risiko zugrunde liegender Dysplasien stratifiziert [43]. Der zytologische Abstrich stellt mit einer Sensitivität von 50% bis 60% und einer Spezifität von 98% allerdings ein fehleranfälliges Verfahren dar [37]. Im Gegensatz hierzu konnte in zahlreichen Studien die deutliche Überlegenheit des HPV-Tests mit einer Sensitivität von 96,1% bei lediglich minimal geringerer Spezifität von 96,3% belegt werden [101]. Aufgrund der hohen Morbidität und Mortalität des Zervixkarzinoms sowie der unzureichenden Effektivität des zytologiebasierten Screenings besteht ein Bedarf an einer verbesserten Diagnostik.

Der Prevo-Check®-Test (Abviris Deutschland GmbH, Ammersbek Deutschland) weist als Schnelltest hoch-spezifisch im Blut zirkulierende Antikörper nach, welche gegen ein HPV-16-L1-spezifisches Epitop gerichtet sind (DRH1®). Im Rahmen der vorgelegten Querschnittstudie sollte der Einsatz des Prevo-Check®-Tests zur Unterstützung des Screenings auf zervikale, HPV-assoziierte Krebsarten untersucht werden.

Hierbei wurde an einem Studienkollektiv von 49 Probandinnen mit Indikation zur operativen Sanierung einer zervikalen Läsion die Effektivität des Prevo-Check®-Tests als primäres Screening-Instrument untersucht. Hierzu wurden zur Operationsvorbereitung routinemäßig abgenommene Blutproben mittels Prevo-Check®-Test qualitativ und quantitativ analysiert und die Testergebnisse mit dem Endpunkt einer CIN 3+-Läsion (CIN 3 und Karzinom) in der postoperativen Histologie verknüpft. Präoperativ erhielten zudem alle Probandinnen eine standardisierte Diagnostik inklusive eines zytologischen Abstrichs, eines HPV-Tests sowie einer Entnahme histologischer Proben. Als HPV-Test wurde der cobas® 4800-Test verwendet, welcher auf dem Nachweis der DNA von 14 HR-HPV Typen beruht und bereits als valider HPV-Test etabliert ist [133, 136].

Die von einem internationalen Konsortium festgelegten Validitätskriterien an HPV-Testverfahren konnte der Prevo-Check®-Test in vorliegender Studie nicht erfüllen [128]. Auch mit der Analyse verschiedener DRH1®-Antikörperkonzentrationen, ab derer ein Testergebnis als positiv gewertet wird, konnte keine ausreichende klinische Leistung für den Nachweis von CIN3+-Läsionen erreicht werden. Doch auch die Zytologie und der cobas® 4800-Test schnitten in vorliegender Studie als Screening-Methoden unzureichend ab.

Zusammenfassend konnte bei einer zu geringen Sensitivität und Spezifität, einem zu niedrigen NPV und PPV, sowie einer nicht ausreichenden Übereinstimmung der gewonnenen Ergebnisse mit den Ergebnissen des cobas® 4800-Tests, eine Eignung des Prevo-Check®-Tests zum primären Zervixkarzinom-Screening nicht belegt werden.

In den vom Zervixkarzinom besonders betroffenen Entwicklungsländern gestaltet sich die Implementierung eines Zervixkarzinom-Screenings aufgrund fehlender finanzieller und personeller Ressourcen als besonders schwierig [3]. Um eine Reduktion der Mortalität und Morbidität zu erreichen, müssen dort eingesetzte Screening-Tests andere Anforderungen als in Industrienationen, wie beispielsweise eine schnelle Auswertbarkeit oder Kosteneffektivität, erfüllen [118]. Der Prevo-Check®-Test erreicht, wie in vorliegender Studie gezeigt, nicht die für ein Industrieland geforderten Validitätskriterien eines Screening-Tests. Da er jedoch die LMIC-spezifischen Anforderungen erfüllt, sollte seine klinische Effektivität unter den besonderen Bedingungen eines LMIC in weiteren Studien untersucht werden.

## 6. Literaturverzeichnis

- 1 *International Agency for Research on Cancer*. Cancer today, 2023. <https://gco.iarc.fr/today/home>, 2023-07-27
- 2 *Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R et al*. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer* 2015; 136(5): E359-E386
- 3 *Rengaswamy S, Atul M, Rajamanickam R*. Effective screening programmes for cervical cancer in low- and middle-income developing countries. *Bulletin of the World Health Organization* 2001; 79(10): 954 – 962
- 4 *Jedy-Agba E, Joko WY, Liu B et al*. Trends in cervical cancer incidence in sub-Saharan Africa. *British journal of cancer* 2020; 123(1): 148 – 154
- 5 *Sung H, Ferlay J, Siegel RL et al*. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians* 2021; 71(3): 209 – 249
- 6 *Wentzensen N*. Epidemiologie, Prävention und Früherkennung des Zervixkarzinoms. *Der Onkologe : Organ der Deutschen Krebsgesellschaft e.V* 2016; 22(10): 725 – 736
- 7 *Robert Koch Institut*. Krebs in Deutschland für 2017/2018. 13. Ausgabe. [https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs\\_in\\_Deutschland/ki\\_d\\_2021/krebs\\_in\\_deutschland\\_2021.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/ki_d_2021/krebs_in_deutschland_2021.pdf?__blob=publicationFile), 2023-05-13
- 8 *World Health Organization*. Cervix uteri fact sheet, 2021. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/23-Cervix-uteri-fact-sheet.pdf>, 2023-05-13
- 9 Female genital tumours. 5th edition Aufl. : International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, 2020
- 10 *Small W, Bacon MA, Bajaj A et al*. Cervical cancer: A global health crisis. *Cancer cytopathology* 2017; 123(13): 2404 – 2412
- 11 *Baltzer J*. Zervixkarzinom. Diagnostische Verfahren und Therapie der Früh- und Vorstadien. *Onkologe* 2001;(7): 827 – 841
- 12 *Gallwas J, Kolben M*. Zervixkarzinom: Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge: W Zuckschwerdt Verlag, 2020
- 13 *Iftner T*. HPV und Zervixkarzinom - Diagnostik und Prophylaxe Bremen: UNI-MED Verlag, 2008
- 14 *zur Hausen H*. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. *Virology* 2009; 384(2): 260 – 265
- 15 *Dürst M, Gissmann L, Ikenberg H, zur Hausen H*. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1983; 80
- 16 *Boshart M, Gissmann L, Ikenberg H, Kleinheinz A, Scheurlen W, zur Hausen H*. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. *The EMBO Journal* 1984; 3(5): 1151 – 1157
- 17 *zur Hausen H, Meinhof W, Scheiber W, Bornkamm GW*. Attempts to detect virus-specific DNA in human tumors. I. Nucleic acid hybridizations with complementary RNA of human wart virus. *International journal of cancer* 1974; 13(5): 650 – 656
- 18 *Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM et al*. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J. Pathol.* 1999; 189(1): 12 – 19

- 19 *ICO/IARC Information Centre of HPV and Cancer*. Human Papillomavirus and Related Diseases Report. World, 2023. <https://hpvcentre.net/statistics/reports/XWX.pdf>, 2023-07-05
- 20 *Bosch FX, Sanjosé S de*. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer--burden and assessment of causality. *Journal of the National Cancer Institute. Monographs* 2003;(31): 3 – 13
- 21 *Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJLM, Shah KV*. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *Journal of clinical pathology* 2002; 55: 244 – 265
- 22 *Dürst M, Backsch C, Kaufmann AM, Schneider A*. Ätiologie und Pathogenese des Zervixkarzinoms. *Gynäkologie* 2003; 36(4): 282 – 288
- 23 *Smith JS, Muñoz N, Herrero R et al*. Evidence for Chlamydia trachomatis as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *The Journal of infectious diseases* 2002; 185(3): 324 – 331
- 24 *Smith JS, Herrero R, Bosetti C et al*. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 2002; 94(21): 1604 – 1613
- 25 *Ylitalo N, Srensen P, Josefsson A et al*. Smoking and oral contraceptives as risk factors for cervical carcinoma in situ. *International journal of cancer* 1999; 81(3): 357 – 365
- 26 *Kjellberg L, Hallmans G, Johansson R et al*. Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *British journal of cancer* 2000; 82(7): 1332 – 1338
- 27 *Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C et al*. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet (London, England)* 2002; 359: 1093 – 1101
- 28 *Cavalari M, Beyer D*. Humane Papillomaviren. *Gynäkologie* 2016; 49(5): 311 – 318
- 29 *Galgano MT, Castle PE, Atkins KA, Brix WK, Nassau SR, Stoler MH*. Using biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies. *The American journal of surgical pathology* 2010; 34(8): 1077 – 1087
- 30 *Loopik DL, Bentley HA, Eijgenraam MN, IntHout J, Bekkers RLM, Bentley JR*. The Natural History of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grades 1, 2, and 3: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of lower genital tract disease* 2021; 25(3): 221 – 231
- 31 *McCredie MRE, Sharples KJ, Paul C et al*. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *The Lancet. Oncology* 2008; 9(5): 425 – 434
- 32 *Schmidmayr M, Kleinsorge F, Schnelzer A, Seifert-Klauss V, Kiechle M*. Therapie der Infektion mit humanen Papillomviren. *Gynäkologie* 2017; 50(9): 675 – 681
- 33 *Ostör AG*. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *International journal of gynecological pathology* 1993; 12(2): 186 – 192
- 34 *O'Leary JJ, White C, Spillane C et al*. Cervical screening: A new way forward (tests of risk and tests of disease). *HRB Open Research* 2018: 1 – 12
- 35 *Kleinsorge F, Schmidmayr M*. HPV infection in women : Diagnostics, treatment and the relevance of vaccination. *Der Urologe. Ausg. A* 2018; 57(12): 1445 – 1451
- 36 *Schiffman M, Wentzensen N, Wacholder S, Kinney W, Gage JC, Castle PE*. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 2011; 103(5): 368 – 383
- 37 *Seifert U, Klug SJ*. Früherkennung des Zervixkarzinoms in Deutschland : Evidenz und Umsetzung. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 2014; 57(3): 294 – 301

- 38 AWMF. S3-Leitlinie Prävention des Zervixkarzinoms. Langversion 1.1; 2020
- 39 *Burd EM*. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clinical microbiology reviews* 2003; 16(1): 1 – 17
- 40 *Harlfinger W*. Prävention – das wichtige Standbein der Frauenarztpraxis. *Frauenarzt* 2008;(9): 772 – 778
- 41 *Ronco G, Cuzick J, Pierotti P et al*. Accuracy of liquid based versus conventional cytology: overall results of new technologies for cervical cancer screening: randomised controlled trial. *BMJ (Clinical research ed.)* 2007; 335(7609): 1 – 7
- 42 *Cariaggi MP, Palma PD, Naldoni C et al*. Accuracy of liquid based versus conventional cytology: overall results of new technologies for cervical cancer screening: randomised controlled trial. *BMJ (Clinical research ed.)* 2007; 335(28): 1 – 7
- 43 *Griesser H, Marquardt K, Jordan B et al*. Gynäkologische Zytodiagnostik der Zervix - Münchner Nomenklatur III. *Frauenarzt* 2013; 54(11): 1042 – 1048
- 44 *Küppers V*. Klinisches Bild, Prognose und Verlauf bei Infektionen mit HPV. *Gynäkologe* 2017; 50(9): 665 – 674
- 45 *Küppers V, Reich O*. Revidierte kolposkopische und zytologische Nomenklaturen. *Gynäkologe* 2016; 49(5): 323 – 330
- 46 *Quaas J, Reich O, Frey Tirri B, Küppers V*. Explanation and Use of the Colposcopy Terminology of the IFCCP (International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy) Rio 2011. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 2013; 73(9): 904 – 907
- 47 *Girardi F, Frey Tirri B, Küppers V, Menton M, Quaas J, Reich O*. Neue kolposkopische IFCCP-Nomenklatur der Cervix uteri (Rio de Janeiro 2011). Approbierte Darstellung und Erläuterung für Deutschland, Österreich und die deutschsprachige Schweiz. *Frauenarzt* 2012; 53(11): 1064 – 1066
- 48 *Bornstein J, Bentley J, Bösze P et al*. 2011 Colposcopic Terminology of the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstetrics and gynecology* 2012; 120(1): 166 – 172
- 49 *Tsikouras P, Zervoudis S, Manav B et al*. Cervical cancer: screening, diagnosis and staging. *JBUON* 2016; 21(2): 320 – 325
- 50 *Soutter WP, Barros Lopes A de, Fletcher A et al*. Invasive cervical cancer after conservative therapy for cervical intraepithelial neoplasia. *Lancet (London, England)* 1997; 349(9057): 978 – 980
- 51 *Wright TC, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D*. 2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. *American journal of obstetrics and gynecology* 2007; 197(4): 340 – 345
- 52 *Kyrgiou M, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W, Paraskevaidis E*. Obstetric outcomes after conservative treatment for intraepithelial or early invasive cervical lesions: systematic review and meta-analysis. *Lancet (London, England)* 2006; 367(9509): 489 – 498
- 53 *Kyrgiou M, Mitra A, Arbyn M et al*. Fertility and early pregnancy outcomes after conservative treatment for cervical intraepithelial neoplasia. *The Cochrane database of systematic reviews* 2015;(9): 1-76
- 54 *Buysse L, Klug SJ*. Humane Papillomviren. *Gynäkologe* 2017; 50(9): 660 – 664
- 55 *Stanley M*. Pathology and epidemiology of HPV infection in females. *Gynecologic oncology* 2010; 117(2 Suppl): S5-10
- 56 *Biological Agents. Volume 100 B - A Review of Human Carcinogens* Lyon: IARC, 2012

- 57 *Sahasrabudde VV, Luhn P, Wentzensen N.* Human papillomavirus and cervical cancer: biomarkers for improved prevention efforts. *Future microbiology* 2011; 6(9): 1 – 25
- 58 *Doorbar J.* Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clinical science* 2006; 110(5): 525 – 541
- 59 *Oyervides-Muñoz MA, Pérez-Maya AA, Rodríguez-Gutiérrez HF et al.* Understanding the HPV integration and its progression to cervical cancer. *Infection, Genetics and Evolution* 2018; 61: 134 – 144
- 60 *zur Hausen H.* Host cell regulation of HPV transforming gene expression. *Princess Takamatsu symposia* 1989; 20: 207 – 219
- 61 *Brianti P, Flammineis E de, Mercuri SR.* Review of HPV-related diseases and cancers. *The new microbiologica* 2017; 40(2): 80 – 85
- 62 *Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, Sanjosé S de.* Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *The Journal of infectious diseases* 2010; 202(12): 1789 – 1799
- 63 *Petry K-U, Menton S, Menton M et al.* Inclusion of HPV testing in routine cervical cancer screening for women above 29 years in Germany: results for 8466 patients. *British journal of cancer* 2003; 88(10): 1570 – 1577
- 64 *Schneider A, Hoyer H, Lotz B et al.* Screening for high-grade cervical intra-epithelial neoplasia and cancer by testing for high-risk HPV, routine cytology or colposcopy. *International journal of cancer* 2000; 89(6): 529 – 534
- 65 *Sanjosé S de, Diaz M, Castellsagué X et al.* Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *The Lancet. Infectious diseases* 2007;(7): 453 – 459
- 66 *Crosbie EJ, Einstein MH, Franceschi S, Kitchener HC.* Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet (London, England)* 2013; 382(9895): 889 – 899
- 67 *Chesson HW, Dunne EF, Hariri S, Markowitz LE.* The estimated lifetime probability of acquiring human papillomavirus in the United States. *Sexually transmitted diseases* 2014; 41(11): 660 – 664
- 68 *Castellsagué X.* Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecologic oncology* 2008; 110(3 Suppl 2): S4-7
- 69 *Naucler P, Ryd W, Törnberg S et al.* Human Papillomavirus and Papanicolaou Tests to Screen for Cervical Cancer. *The New England journal of medicine* 2007; 357: 1589 – 1597
- 70 *Doorbar J, Quint W, Banks L et al.* The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine* 2012; 30(Supplement 5): F55-F70
- 71 *Elfgren K, Kalantari M, Moberger B, Hagmar B, Dillner J.* A population-based five-year follow-up study of cervical human papillomavirus infection. *American journal of obstetrics and gynecology* 2000; 183(3): 561 – 567
- 72 *Plummer M, Schiffman M, Castle PE, Maucort-Boulch D, Wheeler CM.* A 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. *The Journal of infectious diseases* 2007; 195(11): 1582 – 1589
- 73 *Castle PE, Rodríguez AC, Burk RD et al.* Short term persistence of human papillomavirus and risk of cervical precancer and cancer: population based cohort study. *BMJ (Clinical research ed.)* 2009; 339: 1-13
- 74 *Karolinska Institutet.* International Human Papillomavirus (HPV) Reference center, 2023. [https://www.hpvcenter.se/human\\_reference\\_clones/](https://www.hpvcenter.se/human_reference_clones/), 3/17/2023

- 75 Villiers E-M de, Fauquet C, Broker TR, Bernard H-U, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324: 17 – 27
- 76 Cosper PF, Bradley S, Luo L, Kimple RJ. Biology of HPV Mediated Carcinogenesis and Tumor Progression. *Seminars in Radiation Oncology* 2021; 31(4): 265-273
- 77 Brink AATP, Snijders PJF, Meijer CJLM. HPV detection methods. *Disease Markers* 2007; 23(4): 273 – 281
- 78 Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Muñoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *British journal of cancer* 2003; 88(1): 63 – 73
- 79 Schiffman M, Herrero R, Desalle R et al. The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. *Virology* 2005; 337(1): 76 – 84
- 80 Doorbar J. Papillomavirus life cycle organization and biomarker selection. *Disease Markers* 2007;(23): 297 – 313
- 81 zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nature reviews. Cancer* 2002; 2(5): 342 – 350
- 82 Hopman AHN, Smedts F, Dignef W et al. Transition of high-grade cervical intraepithelial neoplasia to micro-invasive carcinoma is characterized by integration of HPV 16/18 and numerical chromosome abnormalities. *The Journal of pathology* 2004; 202(1): 23 – 33
- 83 Wei W-F, Su G-D, Wu L-F et al. Study of integrated state of HPV-16 infection in cervical cancer and precancerous tissues. *Journal of Southern Medical University* 2015; 35(1): 47 – 50
- 84 zur Hausen H. Papillomavirus infections - a major cause of human cancers. *Biochimica et Biophysica Acta* 1996;(1288): F55-F78
- 85 *DermaMed Journal*. Erweiterung der Hautkrebsvorsorge um serologische Früherkennung mit Prevo-Check®.  
[https://www.bvdd.de/fileadmin/BVDD/DermaMed\\_EG/DermaMed\\_Journale/DermaMedJournal\\_Abviris\\_2021\\_3.pdf](https://www.bvdd.de/fileadmin/BVDD/DermaMed_EG/DermaMed_Journale/DermaMedJournal_Abviris_2021_3.pdf), 2023-05-29
- 86 Wentzensen N. Molekulare Diagnostik der HPV-Infektion. *Der Pathologe* 2011; 32(6): 461 – 466
- 87 Gelband H, Jha P, Sankaranarayanan R, Horton S (Hrsg). *Cancer Washington DC: The World Bank*, 2015
- 88 Kindermann T, Lier D, Iftner T. Kategorisierung von HPV-Tests. *Geburtshilfliche Frauenheilkunde* 2013; 73: 28 – 31
- 89 Hillemanns P, Mehlhorn G, Rinnau F, Soergel P, Beckmann M. HPV-Infektion: Impfung, Diagnostik und Therapie. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 2007; 67(1): R1-R28
- 90 Rajaram S, Gupta B. Screening for cervical cancer: Choices & dilemmas. *The Indian journal of medical research* 2021; 154(2): 210 – 220
- 91 Wilm J, Schüler-Toprak S, Ortman O. Krebsfrüherkennung des Zervix- und des Mammakarzinoms. *Gynäkologe* 2016; 49(7): 535 – 548
- 92 Bujan Rivera J, Klug SJ. Gebärmutterhalskrebscreening in Deutschland. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 2018; 61(12): 1528 – 1535
- 93 Gakidou E, Nordhagen S, Obermeyer Z. Coverage of Cervical Cancer Screening in 57 Countries: Low Average Levels and Large Inequalities. *PLoS Medicine* 2008; 5(6): 863 – 868
- 94 Cohen PA, Jhingran A, Oaknin A, Denny L. Cervical cancer. *Lancet (London, England)* 2019; 393(10167): 169 – 182

- 95 *Laara E, Day N, Hakama M.* Trends in Mortality from cervical cancer in the nordic countries: Association with organised screening programmes. *The Lancet* 1987; 1247 – 1248
- 96 *International Agency for Research on Cancer.* Cancer Tomorrow, 2022. <https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/bars?cancers=23&sexes=0&mode=population,12/29/2022>
- 97 *Zeferino LC, Derchain SF.* Cervical cancer in the developing world. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology* 2006; 20(3): 339 – 354
- 98 *Fahey MT, Irwig L, Macaskill P.* Meta-analysis of Pap Test Accuracy. *American Journal of Epidemiology*; 141(7): 680 – 689
- 99 *Wentzensen N, Klug SJ.* Cervical cancer control in the era of HPV vaccination and novel biomarkers. *Pathobiology : journal of immunopathology, molecular and cellular biology* 2009; 76(2): 82 – 89
- 100 *Marquardt K.* Zervixzytologie: Der repräsentative Abstrich. *Frauenarzt* 2011; 52(5): 484 – 488
- 101 *Cuzick J, Clavel C, Petry K-U et al.* Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *International journal of cancer* 2006; 119(5): 1095 – 1101
- 102 *Golbang P, Scurry J, Jong S de et al.* Investigation of 100 consecutive negative cone biopsies. *British journal of obstetrics and gynaecology* 1997; 104(1): 100 – 104
- 103 *Ronco G, Segnan N, Giorgi-Rossi P et al.* Human papillomavirus testing and liquid-based cytology: results at recruitment from the new technologies for cervical cancer randomized controlled trial. *Journal of the National Cancer Institute* 2006; 98(11): 765 – 774
- 104 *Cuzick J, Szarewski A, Cubie H et al.* Management of women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the HART study. *Lancet (London, England)* 2003; 362(9399): 1871 – 1876
- 105 *Ronco G, Dillner J, Elfström KM et al.* Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials. *Lancet (London, England)* 2014; 383(9916): 524 – 532
- 106 *Rijkaart DC, Berkhof J, Rozendaal L et al.* Human papillomavirus testing for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer: final results of the POBASCAM randomised controlled trial. *The Lancet. Oncology* 2012; 13(1): 78 – 88
- 107 *Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F et al.* Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. *The Lancet. Oncology* 2010; 11(3): 249 – 257
- 108 *Bulkmans NWJ, Berkhof J, Rozendaal L et al.* Human papillomavirus DNA testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial. *Lancet (London, England)* 2007; 370(9601): 1764 – 1772
- 109 *Sankaranarayanan R, Nene BM, Shastri SS et al.* HPV Screening for Cervical Cancer in Rural India. *The New England journal of medicine* 2009; 360(14): 1385 – 1394
- 110 *C Kitchener H, Canfell K, Gilham C et al.* The clinical effectiveness and cost-effectiveness of primary human papillomavirus cervical screening in England: extended follow-up of the ARTISTIC randomised trial cohort through three screening rounds. *Health technology assessment (Winchester, England)* 2014; 18(23): 1 – 196



- 111 *Fokom Domgue J, Valea FA*. Is It Relevant to Keep Advocating Visual Inspection of the Cervix With Acetic Acid for Primary Cervical Cancer Screening in Limited-Resource Settings? *Journal of global oncology* 2018; 4: 1 – 5
- 112 *Kitchener HC, Gilham C, Sargent A et al*. A comparison of HPV DNA testing and liquid based cytology over three rounds of primary cervical screening: extended follow up in the ARTISTIC trial. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* 2011; 47(6): 864 – 871
- 113 *Gemeinsamer Bundesausschuss*. Methodenbewertung Eckpunkte für zukünftiges Screening auf Gebärmutterhalskrebs geändert, 2016. [https://www.g-ba.de/downloads/34-215-641/38-2016-09-15\\_KFE-RL\\_Eckpunkte%20Zervix.pdf](https://www.g-ba.de/downloads/34-215-641/38-2016-09-15_KFE-RL_Eckpunkte%20Zervix.pdf), 2023-01-25
- 114 *Gemeinsamer Bundesausschuss*. Richtlinie für organisierte Krebsfrüherkennungsprogramme und Krebsfrüherkennungs-Richtlinie: Programm zur Früherkennung von Zervixkarzinomen - Gemeinsamer Bundesausschuss, 2023. <https://www.g-ba.de/beschluesse/3597/>, 1/19/2023
- 115 *World Health Organization*. Cervical cancer country profiles, 2021. [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/ncds/ncd-surveillance/cxca/cxca-profiles/cxca-profiles-en.pdf?sfvrsn=d65f786\\_23&download=true](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/ncds/ncd-surveillance/cxca/cxca-profiles/cxca-profiles-en.pdf?sfvrsn=d65f786_23&download=true), 2023-05-13
- 116 *Goldie S, Gaffikin L, Goldhaber-Fiebert JD et al*. Cost-effectiveness of cervical-cancer screening in five developing countries. *The New England journal of medicine* 2005; 353(20): 2158-2168
- 117 *Casas CPR, Albuquerque RCR de, Loureiro RB et al*. Cervical cancer screening in low- and middle-income countries: A systematic review of economic evaluation studies. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)* 2022; 77: 1 – 12
- 118 *Olson B, Gribble B, Dias J et al*. Cervical cancer screening programs and guidelines in low- and middle-income countries. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics* 2016; 134(3): 239 – 246
- 119 *Chaw L, Lee SHF, Ja'afar NIH, Lim E, Sharbawi R*. Reasons for non-attendance to cervical cancer screening and acceptability of HPV self-sampling among Bruneian women: A cross-sectional study. *PloS one* 2022; 17(3): 1-14
- 120 *Katz Ingrid T., Wright Alexi A*. Preventing Cervical Cancer in the Developing World. *The New England journal of medicine* 2006; 354(11): 1110
- 121 *Kerek-Bodden H, Altenhofen L, Brenner G, Franke A*. Vorläufiger Abschlussbericht. Durchführung einer versichertenbezogenen Untersuchung zur Inanspruchnahme der Früherkennung auf Zervixkarzinom in den Jahren 2002, 2003 und 2004 auf der Basis von Abrechnungsdaten, 2008. <https://www.ag-cpc.de/wp-content/uploads/2018/07/ZI-Abschlussbericht-080602.pdf>, 2023-04-26
- 122 *Rückinger S, Tauscher M, Redel R et al*. Participation in cervical cancer screening by age and region--a cohort study with a 3 1/2 year follow-up on 2,223,135 women in Bavaria. *Gesundheitswesen (Bundesverband der Ärzte des Öffentlichen Gesundheitsdienstes)* 2008; 70(6): e17-21
- 123 *Levin CE, Sellors J, Shi J-F et al*. Cost-effectiveness analysis of cervical cancer prevention based on a rapid human papillomavirus screening test in a high-risk region of China. *International journal of cancer* 2010; 127(6): 1404 – 1411
- 124 *Sankaranarayanan R, Boffetta P*. Research on cancer prevention, detection and management in low- and medium-income countries. *Annals of oncology* 2010; 21(10): 1935 – 1943

- 125 *Hilfrich R.* Hautkrebsvorsorge PLUS – Die Früherkennung von HPV-bedingten Plattenepithelkarzinomen in der dermatologischen Praxis. *Aktuelle Dermatologie* 2018; 44(04): 140 – 143
- 126 *mdm - Medien Dienste Medizin - Verlagsgesellschaft mbH.* HPV-Tumormarker: Neue Chancen für Früherkennung & Therapiekontrolle, 2020.  
<https://www.mdmverlag.com/hpv-induzierte-tumoren/hpv-tumormarker-neue-chancen-fuer-frueherkennung-therapiekontrolle/>, 5/29/2023
- 127 *Abrivis Deutschland GmbH.* Abviris | Früherkennung von HPV-induzierten Tumoren, 2023. <https://abviris.de/startseite/>, 6/3/2023
- 128 *Meijer CJLM, Berkhof J, Castle PE et al.* Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *International journal of cancer* 2009; 124(3): 516 – 520
- 129 *Arbyn M, Sasieni P, Meijer CJLM, Clavel C, Koliopoulos G, Dillner J.* Chapter 9: Clinical applications of HPV testing: a summary of meta-analyses. *Vaccine* 2006; 24 Suppl 3: S3/78-89
- 130 *Zhou F, Pulinthanathu R, Elgert P, Cangiarella J, Simsir A.* Sensitivity of high-risk HPV Hybrid Capture II (hrHPV HC2) test using SurePath(TM) specimens in the prediction of cervical high-grade squamous lesions. *Diagnostic cytopathology* 2015; 43(5): 381 – 387
- 131 *Stoler MH, Castle PE, Solomon D, Schiffman M.* The expanded use of HPV testing in gynecologic practice per ASCCP-guided management requires the use of well-validated assays. *American journal of clinical pathology* 2007; 127(3): 335 – 337
- 132 *Herbert A, Bergeron C, Wiener H et al.* European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening: recommendations for cervical cytology terminology. *Cytopathology* 2007; 18(4): 213 – 219
- 133 *Arbyn M, Snijders PJF, Meijer CJLM et al.* Which high-risk HPV assays fulfil criteria for use in primary cervical cancer screening? *Clinical microbiology and infection* 2015; 21(9): 817 – 826
- 134 *Stoler MH, Wright TC, Sharma A, Apple R, Gutekunst K, Wright TL.* High-risk human papillomavirus testing in women with ASC-US cytology: results from the ATHENA HPV study. *American journal of clinical pathology* 2011; 135(3): 468 – 475
- 135 *Lloveras B, Gomez S, Alameda F et al.* HPV testing by cobas HPV test in a population from Catalonia. *PloS one* 2013; 8(3): 1-5
- 136 *Heideman DAM, Hesselink AT, Berkhof J et al.* Clinical validation of the cobas 4800 HPV test for cervical screening purposes. *Journal of clinical microbiology* 2011; 49(11): 3983 – 3985
- 137 *Salazar KL, Duhon DJ, Olsen R, Thrall M.* A review of the FDA-approved molecular testing platforms for human papillomavirus. *Journal of the American Society of Cytopathology* 2019; 8(5): 284 – 292
- 138 *Di Salvo I, Mnzava D, Nicoletti GJ et al.* Upscaling cervical cancer screening and treatment for women living with HIV at a rural referral hospital in Tanzania: protocol of a before-and-after study exploring HPV testing and novel diagnostics. *BMC health services research* 2023; 23(1): 1 – 11
- 139 *AWMF.* Impfprävention HPV-assoziiierter Neoplasien. *Langfassung* 2020;
- 140 *Arbyn M, Anttila A, Jordan J et al.* European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Second edition--summary document. *Annals of oncology* 2010; 21(3): 448 – 458

- 141 *Robbins HA, Li Y, Porras C et al.* Glutathione S-transferase L1 multiplex serology as a measure of cumulative infection with human papillomavirus. *BMC infectious diseases* 2014; 14: 120
- 142 *Robert Koch Institut.* Schutzimpfung gegen Humane Papillomviren (HPV), 2023. <https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Impfen/ImpfungenAZ/HPV/HPV.html>, 7/12/2023
- 143 *Stronski Huwiler S, Spaar A.* HPV-Impfung. *Therapeutische Umschau. Revue therapeutique* 2016; 73(5): 241 – 246
- 144 *Hillemanns P, Kampers J, Hachenberg J, Jentschke M.* Impfung gegen humane Papillomviren. *Der Internist* 2021; 62(8): 816 – 826
- 145 *Stanley M, Lowy DR, Frazer I.* Chapter 12: Prophylactic HPV vaccines: underlying mechanisms. *Vaccine* 2006; 24(Suppl 3): 106-113
- 146 *Harper DM, Franco EL, Wheeler C et al.* Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. *Lancet (London, England)* 2004; 364(9447): 1757 – 1765
- 147 *Harper DM, Franco EL, Wheeler CM et al.* Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. *Lancet (London, England)* 2006; 367(9518): 1247 – 1255
- 148 *Weiland T, Eckert A, Tomazic PV et al.* DRH1 - a novel blood-based HPV tumour marker. *EBioMedicine* 2020; 56: 1 – 12
- 149 *ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer.* HPV Information Centre, 2023. <https://hvpcentre.net/datastatistics.php>, 2023-07-27
- 150 *Clifford GM, Gallus S, Herrero R et al.* Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet*; 366: 991 – 998
- 151 *Osmani V, Klug SJ.* HPV-Impfung zur Prävention von Genitalwarzen und Krebsvorstufen – Evidenzlage und Bewertung. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 2021; 64(5): 590 – 599
- 152 *Norman I, Hjerpe A, Andersson S.* High-risk HPV L1 capsid protein as a marker of cervical intraepithelial neoplasia in high-risk HPV-positive women with minor cytological abnormalities. *Oncology reports* 2013; 30(2): 695 – 700
- 153 *Choi YS, Kang WD, Kim SM et al.* Human papillomavirus L1 capsid protein and human papillomavirus type 16 as prognostic markers in cervical intraepithelial neoplasia 1. *International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society* 2010; 20(2): 288 – 293
- 154 *Hilfrich R, Hariri J.* Prognostic relevance of human papillomavirus L1 capsid protein detection within mild and moderate dysplastic lesions of the cervix uteri in combination with p16 biomarker. *Analytical and quantitative cytology and histology* 2008; 30(2): 78-82.
- 155 *Mehlhorn G, Obermann E, Negri G et al.* HPV L1 detection discriminates cervical precancer from transient HPV infection: a prospective international multicenter study. *Modern pathology* 2013; 26(7): 967 – 974
- 156 *Mehlhorn G, Hautmann SK, Koch MC et al.* HPV16-L1-specific antibody response is associated with clinical remission of high-risk HPV-positive early dysplastic lesions. *Anticancer research* 2014; 34(9): 5127 – 5132
- 157 *Griesser H, Sander H, Walczak C, Hilfrich RA.* HPV vaccine protein L1 predicts disease outcome of high-risk HPV+ early squamous dysplastic lesions. *American journal of clinical pathology* 2009; 132(6): 840 – 845

- 158 Schmitt M, Dalstein V, Waterboer T, Clavel C, Gissmann L, Pawlita M. Diagnosing cervical cancer and high-grade precursors by HPV16 transcription patterns. *Cancer research* 2010; 70(1): 249 – 256
- 159 Clifford GM, Shin H-R, Oh J-K et al. Serologic response to oncogenic human papillomavirus types in male and female university students in Busan, South Korea. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention* 2007; 16(9): 1874 – 1879
- 160 Viscidi RP, Kotloff KL, Clayman B, Russ K, Shapiro S, Shah KV. Prevalence of Antibodies to Human Papillomavirus (HPV) Type 16 Virus-Like Particles in Relation to Cervical HPV Infection among College Women. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 1997; 4: 122 – 126
- 161 Castle PE, Shields T, Kirnbauer R et al. Sexual Behavior, Human Papillomavirus Type 16 (HPV 16) Infection, and HPV 16 Seropositivity. *Sexually transmitted diseases* 2002; 29(3): 182 – 187
- 162 Combes J-D, Pawlita M, Waterboer T et al. Antibodies against high-risk human papillomavirus proteins as markers for invasive cervical cancer. *International journal of cancer* 2014; 135(10): 2453 – 2461
- 163 Kirnbauer R, Hubbert NL, Wheeler CM, Becker TM, Lowy DR, Schiller JT. A Virus-Like Particle Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Detects Serum Antibodies in a Majority of Women Infected With Human Papillomavirus Type 16. *Journal National Cancer Institute* 1994; 86(7): 494 – 499
- 164 Jeong N-H, Woo M-K, Lee N-W, Hur S-J, Choi K-S, Kim H-J. Human papillomavirus 16 and 18 L1 serology in Korean women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *Archives of pharmacal research* 2009; 32(7): 1013 – 1018
- 165 Ecke S, Huber A, Hilfrich R, French L, Reinholz M. Human Papillomavirus Type 16 L1 Serological Test Shows High Concordance with Anal Cytology in People Living with HIV. *JID innovations* 2022; 2(4): 1 – 4
- 166 Blatt S, Pabst A, Zimmer S, Walter C, Al-Nawas B, Krüger M. Clinical efficacy of an antibody-based detection system for human papilloma virus infection in oral squamous cell carcinoma. *Clinical oral investigations* 2021; 25(5): 2837 – 2843
- 167 Mezei AK, Armstrong HL, Pedersen HN et al. Cost-effectiveness of cervical cancer screening methods in low- and middle-income countries: A systematic review. *International journal of cancer* 2017; 141(3): 437 – 446
- 168 Pimple SA, Mishra GA. Optimizing high risk HPV-based primary screening for cervical cancer in low- and middle-income countries: opportunities and challenges. *Minerva ginecologica* 2019; 71(5): 365 – 371
- 169 Madzima TR, Vahabi M, Lofters A. Emerging role of HPV self-sampling in cervical cancer screening for hard-to-reach women: Focused literature review. *Canadian family physician Medecin de famille canadien* 2017; 63(8): 597 – 601
- 170 Cubie HA, Campbell C. Cervical cancer screening - The challenges of complete pathways of care in low-income countries: Focus on Malawi. *Women's health (London, England)* 2020; 16: 1-10
- 171 Galbraith KV, Gilkey MB, Smith JS, Richman AR, Barclay L, Brewer NT. Perceptions of mailed HPV self-testing among women at higher risk for cervical cancer. *Journal of community health* 2014; 39(5): 849 – 856
- 172 Di Gennaro G, Licata F, Trovato A, Bianco A. Does self-sampling for human papilloma virus testing have the potential to increase cervical cancer screening? An updated meta-analysis of observational studies and randomized clinical trials. *Frontiers in public health* 2022; 10: 1 – 37

- 173 Myers ER, McCrory DC, Subramanian S et al. Setting the target for a better cervical screening test: characteristics of a cost-effective test for cervical neoplasia screening. *Obstetrics and gynecology* 2000; 96(5 Pt. 1): 645 – 652
- 174 Toliman PJ, Kaldor JM, Tabrizi SN, Vallely AJ. Innovative approaches to cervical cancer screening in low- and middle-income countries. *Climacteric* 2018; 21(3): 235 – 238
- 175 Guido RS, Kreimer AR, Solomon D, Schiffman M, Jeronimo J, Wacholder S. Human Papillomavirus Testing Following Loop Electrosurgical Excision Procedure Identifies Women at Risk for Posttreatment Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2 or 3 Disease. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention* 2007; 15(5): 908 – 914
- 176 Arbyn M, Weiderpass E, Bruni L et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. *The Lancet. Global health* 2020; 8(2): e191-e203
- 177 Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, Snijders PJF, Clifford GM. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *International journal of cancer* 2011; 128(4): 927 – 935

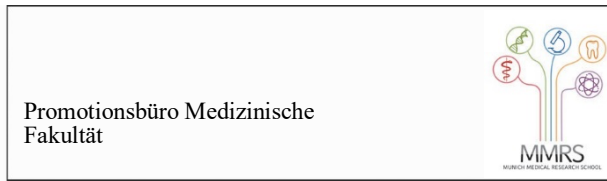
## 7. Danksagung

Allen voran möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Dr. Markus Reinholz für seine unendliche Geduld und Unterstützung danken. Es ist bei weitem nicht selbstverständlich, dass ich immer auf Ihre hervorragende und geduldige Betreuung zählen konnte. Vielen Dank dafür!

Außerdem möchte ich mich bei meinen liebevollen Eltern und Großmutter bedanken, die niemals aufgehört haben, mich zu bestärken und an mich zu glauben. Danke vor allem an meinen Vater, der mir in dem Prozess immer mit Rat und Tat zur Seite stand.

Mein Dank gilt außerdem meinem Freund Johannes, der es geschafft hat mich auf dem Weg stets zu motivieren. Zuletzt spreche ich meinen Freundinnen Felicitas und Josephin meinen Dank aus, dass sie mich immer ermutigt haben.

## 8. Eidesstattliche Versicherung



### Eidesstattliche Versicherung

Ulbrecht, Larissa

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

Effektivität des serologischen HPV-16-Schnelltests Prevo-Check® im Primärscreening des Zervixkarzinoms

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 24.11.2024

Ort, Datum

Larissa Ulbrecht

Unterschrift Doktorand/Doktorandin

Ort, Datum

Unterschrift Berichterstatter