

VIDENSKAB OG PRAKSIS | ORIGINAL MEDDELELSE

- previously healthy children in Germany: a 1-year survey. *Pediatrics* 2001; 108:e79.
11. Jackson MA, Burry F, Olson LC. Complications of varicella requiring hospitalisation in previously healthy children. *Pediatr Infect Dis J* 1992;11: 441-5.
 12. Guess HA, Broughton DD, Melton LJ et al. Population-based studies of varicella complications. *Pediatrics* 1986;78 (4 Pt 2):723-7.
 13. Fairley CK, Miller E. Varicella-zoster virus epidemiology – a changing scene? *J Infect Dis* 1996;174 (suppl 3):314-9.
 14. Preblud SR. Varicella: complications and costs. *Pediatrics* 1986;78 (4 Pt 2): 728-35.
 15. Meyer PA, Seward JF, Jumaan AO et al. Varicella mortality: trends before vaccine licensure in the United States, 1970-1994. *J Infect Dis* 2000; 182:383-90.
 16. Rawson H, Crampin A, Noah N. Deaths from chickenpox in England and Wales 1995-7: analysis of routine mortality data. *BMJ* 2001;323:1091-3.
 17. Prober CG, Gershon AA, Grose C et al. Consensus: Varicella-zoster infections in pregnancy and the perinatal period. *Pediatr Infect Dis J* 1990;9:865-9.
 18. Pastuszak AL, Levy M, Schick B et al. Outcome after maternal varicella infection in the first 20 weeks of pregnancy. *N Engl J Med* 1994;330:901-5.
 19. Recommendations for the use of live attenuated varicella vaccine. *Pediatrics* 1995;95:791-6.
 20. Wessey SJR, Chan CY, Kuter BJ et al. Childhood vaccination against varicella: persistence of antibody, duration of protection, and vaccine efficacy. *J Pediatr* 2001;139:297-304.
 21. Weibel RE, Neff BJ, Kuter BJ et al. Live attenuated varicella vaccine. *N Engl J Med* 1984;310:1409-15.
 22. Prevention of Varicella. Update recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 1999;48 (RR-6).
 23. Varicella-zoster infections. I: Pickering LK, ed. 2000 Red book: Report of the committee on infectious diseases. 25th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics, 2000:624-38.
 24. Seward JF, Watson BM, Peterson CL et al. Varicella disease after introduction of varicella vaccine in the United States, 1995-2000. *JAMA* 2002; 287:606-11.
 25. National, state and urban area vaccination coverage levels among children aged 19-35 months – United States, 2001. *MMWR* 2002;51:664-6.
 26. Brisson M, Gay NJ, Edmunds WJ et al. Exposure to varicella boosts immunity to herpes-zoster: implications for mass vaccination against chickenpox. *Vaccine* 2002;20:2500-7.
 27. Thomas SL, Wheeler JG, Hall AJ. Contacts with varicella or with children and protection against herpes zoster in adults: a case-control study. *Lancet* 2002;360:678-82.
 28. Lieu TA, Finkler LJ, Sorel ME et al. Cost effectiveness of varicella serotesting versus presumptive vaccination of school-age children and adolescents. *Pediatrics* 1995;95:632-8.
 29. Lieu TA, Cochi SL, Black SB et al. Cost effectiveness of a routine varicella vaccination program for US children. *JAMA* 1994;271:375-81.
 30. Beutels P, Clara R, Tormans G et al. Cost and benefits of routine varicella vaccination in German children. *J Infect Dis* 1996;174:335-41.
 31. Preblud SR, Orenstein WA, Koplan JP et al. A benefit-cost analysis of a childhood varicella vaccination programme. *Postgrad Med* 1985;61 (suppl 4):17-22.
 32. Huse DM, Meissner HC, Lacey MJ et al. Childhood vaccination against chickenpox: an analysis of benefits and costs. *J Pediatr* 1994;124:869-74.

Falsk negative cervixcytologiske prøver i et dansk materiale

Bioanalytiker Dorthe Ejersbo, Maj-Britt Dahl & Berit Hølund

Resumé

Introduktion: Formålet med screening for livmoderhalskræft er: 1) at nedsætte antallet af livmoderhalskræfttilfælde, 2) at diagnosticere livmoderhalskræftforstadier, der relativt let kan behandles, og 3) at anvende de forhåndenværende resurser bedst muligt. Hensigten med herværende arbejde har været dels at få et indtryk af falsk negativ-raten i Fyns Amt, dels at belyse årsagerne hertil og at komme med anbefalinger til, hvordan man kan reducere antallet af falsk negative prøver i fremtiden.

Materiale og metoder: Samtlige negative cervixcytologiske prøver fra den 1. april 1989 til den 31. december 1999 fra kvinder, der i perioden fra den 1. januar 1996 til den 31. december 2000 fik påvist mindst moderat dysplasi histologisk, blev revurderet.

Resultater: I alt 551 prøver blev rescreenet. 81% kunne opfattes som prøvetagningsfejl og de resterende som screenings- og fortolkningsfejl. Falsk negativ-raten blev for et enkelt år, 1991, opgjort til 22%. Falsk negativ-raten for fortolknings- og screeningsfejl blev opgjort til 4,6%.

Diskussion: Resultaterne er i overensstemmelse med andre undersøgelser. Vi beskriver tre karakteristiske cytologiske cellebilleder som årsag til de falsk negative prøver. Til forebyggelse mod falsk negative prøver er en grundig uddannelse og efteruddan-

nelse af personalet af stor betydning. Desuden vil overgang til væskebaseret cytologi højne kvaliteten både for selve prøven og også i screeningsproceduren.

I enhver screeningsaktivitet er der en indbygget usikkerhed, der er forbundet med den anvendte metodes validitet og sikkerhed, den pågældende sygdoms naturhistorie og fagspecialisternes færdigheder [1]. Testens validitet afhænger af faktorer fra både den præanalytiske (prøvetagning og præparation) og den analytiske fase (screening, fortolkning og svargivning). Disse faktorer kan opdeles i prøvematerialets kvalitet eller prøvetagningsfejl og screenings- og fortolkningsfejl.

Formålet med screening for livmoderhalskræft er: 1) at nedsætte antallet af livmoderhalskræfttilfælde, 2) at diagnosticere livmoderhalskræftforstadier, der relativt let kan behandles, og 3) at anvende de forhåndenværende resurser bedst muligt. Ved screening for livmoderhalskræft involveres raske kvinder, og uberettiget sygeliggørelse bør begrænses mest muligt.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | ORIGINAL MEDDELELSE

Tabel 1. Diagnosefordeling for alle reviderede cervixcytologiske prøver fordelt på årsag til prøvetagningen.

Årsag	Revideret diagnose				i alt
	uegnet	negativ	dysplasi/ CIS ^a	karcinom	
Screening	23	346	83	0	452
Kontrol ^b	7	72	19	1	99
I alt	30	418	102	1	551

a) Planocellulært carcinoma in situ.

b) Opfølgning efter tidligere uegnet prøve eller efter behandling af tidligere neoplasia.

Tabel 2. Diagnosefordeling for reviderede negative cervixcytologiske prøver fra 1991. n=113.

Negativ	Uegnet	Dysplasi/CIS ^a	Karcinom
87	7	19	0

a) Planocellulært carcinoma in situ.

Tabel 3. Positive cytologidiagnoser i perioden fra den 1. januar 1991 til den 31. december 1991 sammenholdt med den efterfølgende histologiske opfølgning. n=468 (1,2% af 38.110 prøver).

Histologi	Cytologi				
	dysplasi	CIS ^a	AIS ^b	planocellulært karcinom	adeno- karcinom
Negativ	50	10	0	0	0
Positiv	280	93	6	11	5
Ej fulgt op	13	0	0	0	0
I alt	343	103	6	11	5

a) Planocellulært carcinoma in situ.

b) Adenocarcinoma in situ.

Et screeningsprograms effektivitet angives ved sensitivitet og specificitet. Den diagnostiske sensitivitet angiver muligheden for at identificere de syge (positive) kvinder ved hjælp af undersøgelsen. En falsk negativ prøve er en prøve, der ikke påviser en tilstedeværende patologisk proces. Den diagnostiske specificitet angiver muligheden for at klassificere raske (negative) som raske. En falsk positiv prøve er en prøve fra en rask kvinde, der fejlagtigt kaldes positiv.

En falsk negativ cervixcytologisk prøve kan skyldes inadækvat eller teknisk dårligt materiale eller screenings-/fortolkningsfejl [2]. Antallet af falsk negative cervixcytologiske prøver på grund af fejldiagnosticering er vanskeligt at angive. I litteraturen angives falsk negativ-raten til 2-33% [3-6]. I enkelte arbejder har man vist en falsk negativ-rate på 18,5%, hvoraf de 11,1% skyldtes prøvetagningsfejl og 7,4% blev angivet som screeningsfejl [3]. Screeningen foretages manuelt af specialuddannede bioanalytikere. Identifikationen af abnorme celler afhænger af, hvordan disse optræder i udstrykningsmaterialet [5]. Abnorme cellefund konfereres af en patolog, der afgiver den endelige diagnose.

Inter- og intraobservatorvariation er et velkendt problem ved diagnosticering af cervixcytologiske prøver [7], da subjektiviteten i både screeningen og tolkningen af cellerne påvirker den diagnostiske reproducerbarhed. I Danmark får ca. 425 kvinder årligt diagnosticeret livmoderhalskræft, og ca. 200 dør årligt af denne sygdom. I Fyns Amt indførte man den 1. april 1989 en systematisk screening for livmoderhalskræft, hvor kvinder i alderen 23 år til 59 år tilbydes en cervixcytologisk undersøgelse hvert tredje år. I løbet af de første ti år er antallet af nydiagnosticerede livmoderhalskræfttilfælde reduceret med ca. 50% fra 65 til 30 nydiagnosticerede tilfælde årligt [8]. Antallet har været uændret i de seneste tre år.

Formålene med herværende arbejde har været dels at få et indtryk af falsk negativ-raten i Fyns Amt, dels at belyse årsagerne hertil og at komme med anbefalinger til, hvordan man kan reducere antallet af falsk negative prøver i fremtiden.

Materiale og metoder

Alle cervixcytologiske prøver i Fyns Amt undersøges på Patologisk Institut, Odense Universitetshospital. Der undersøges ca. 38.000 prøver årligt. Alle prøver er taget med spatel og cytobørste, udstrøget på objektglas, sprayfikseret og farvet a.m. Papanicolaou.

Alle oprindeligt negative prøver i perioden fra den 1. april 1989 til den 31. december 1999 fra kvinder, som fra den 1. januar 1996 til den 31. december 2000 havde fået påvist mindst moderat dysplasi histologisk, blev revurderet af to af forfatterne. Såvel den histologiske diagnose som tidsintervallet fra celleprøven til den påviste histologiske diagnose var ikke tilgængelige ved revurderingen. De cytologiske diagnoser blev klassificeret som: negativ, uegnet, dysplasi (let, moderat og svær), carcinoma in situ (CIS) og karcinom [2]. Diagnosen atypi [9] blev ikke anvendt ved revurderingen, da denne diagnose er vanskeligt reproducerbar, og da forandringerne, der er årsag hertil, ofte regredierer [2, 10]. Derudover blev årsagen til prøvetagningen registreret.

Falsk negativ-raten blev opgjort for 1991 og beregnet på følgende måde [2]: falsk negative/(sandt positive + falsk negative)×100. Antallet af sandt positive prøver blev opgjort ved at optælle antallet af positive celleprøver, der havde en positiv opfølgingsdiagnose [7]. Vi valgte 1991, dels fordi screeningsprogrammet på det tidspunkt var veletableret, og dels fordi kvinderne efterfølgende havde nået at være genindkaldt tre gange til screening, hvorved chancen for at fange en evt. tidligere overset dysplasi blev øget betydeligt [2, 10].

Resultater

Der blev fundet i alt 557 cervixcytologiske prøver, som oprindeligt var klassificeret som negative. Seks glas var ikke til rådighed i arkivet, og således blev 551 prøver revurderet. Som det ses af **Tabel 1** kan 81% (418+30) opfattes som utilstrækkeligt materiale eller prøvetagningsfejl, og den resterende del som screenings- eller fortolkningsfejl.

Der er stort set ikke forskel på, om indikationen for prøvetagningen er screening eller kontrol dvs. som opfølgning af en forudgående uegnet prøve, atypiske celleforandringer eller efter behandling af en tidligere neoplasi. Kontrolprøver udgør generelt ca. 18% af samtlige cervixcytologiske prøver i Fyns Amt (resultater ej vist).

I 1991 blev der i alt undersøgt 38.110 cervixcytologiske prøver med følgende diagnosefordeling: negative 89,3%, uegnede 5,4%, atypi 4,1% og neoplasi 1,2%. Fra samme år blev 113 negative prøver revurderet, og heraf var 19 falsk negative, da de ved revurdering fik diagnosen dysplasi/CIS (**Tabel 2**).

I **Tabel 3** vises, at ud af de 468 cervixcytologiske prøver, der i 1991 blev vurderet som positive (dysplasi, CIS eller carcinom), var der i alt 395 sandt positive prøver. Tres cytologiske prøver viste sig at være falsk positive, da den efterfølgende histologiske opfølgning viste normale forhold. Tretten prøver udgik pga. anden eller manglende opfølgning.

Den samlede falsk negativ-rate for 1991 er 22,2% ($113/[395+113] \times 100$) og den samlede sensitivitet kan beregnes til 77,8% ($395/[113+395] \times 100$). Falsk negativ-raten beregnet for fortolknings-/screeningsfejl var 4,6% ($19/[395+19] \times 100$) og sensitiviteten her var 95,4% ($395/[19+395] \times 100$).

Diskussion og konklusion

Det er almindeligt accepteret, at resultatet af en revurdering af negative *smears* giver en falsk negativ-rate på maksimum 5% i et effektivt screeningsprogram [6]. Dette skal ses på baggrund af: 1) den langsomme udvikling fra lette forstadier til livmoderhalskræft (mere end ti år), 2) at chancen for at finde forstadierne i de næste screeningsrunder er stor [11], 3) at ikke alle lette forandringer progredierer til kræft, 4) at behandling af forstadier ikke bør foretages før udviklingen har nået de sværere forstadier, og 5) at der skal tages hensyn til screeningsprogrammets samlede omkostninger.

Herværende arbejde viser en samlet falsk negativ-rate på 22,2%, hvilket er i overensstemmelse med resultaterne af andre undersøgelser [3-5]. Heraf kan to tredjedele opfattes som prøvetagningsfejl eller inadækvat materiale. Da tidsintervallet for udviklingen af livmoderhalskræft ikke kendes i de enkelte tilfælde [11], er det ikke muligt at afgøre, om nogle af disse prøver reelt er negative. På denne baggrund må resultatet opfattes som maksimale tal, da andelen af prøvetagningfejl formentlig er sat for højt.

Den foreliggende undersøgelse har flere svagheder, som vi dog mener stort set opvejer hinanden. Således har vi for 1991 ikke revurderet samtlige negative prøver, da en kvinde med en falsk negativ prøve ville være nået at komme ind i systemet enten med en cytologisk eller en histologisk prøve på grund af en opfølgningstid på ca. ti år, medmindre hun er fraflyttet amtet. At revurderingen er biased kan også opfattes som en optimering af den diagnostiske sikkerhed, da risikoen for en ny fejl-vurdering reduceres. Antallet af sandt positive resultater har vi fundet ved hjælp af det centrale elektroniske

patologisystem. Vi kunne have lavet en revurdering af samtlige positive prøver med negativ opfølgning, hvilket ville have resulteret i en mindre falsk negativ-rate. Dette ville også have været tilfældet, hvis vi blot havde taget samtlige positive cytologisvar som sandt positive.

Vores resultat for 1991 med en sensitivitet, der er beregnet for screening af de enkelte prøver, på 95% er samstemmende med resultatet fra den eneste anden danske undersøgelse af denne art [10]. Sensitiviteten for den cervixcytologiske prøve var 77,9%, og i forhold til angivelserne i litteraturen, der varierer fra 30% til 87% [12], er det acceptabelt. Til trods for dette angives en cervixcytologisk undersøgelse hvert tredje år at reducere incidensen af livmoderhalskræft med mere end 90% i aldersgruppen 35-64 år [13].

I forbindelse med screenings- og fortolkningsfejl er inter- og intraobservatorvariation et velkendt problem inden for patologi generelt på grund af den subjektive vurdering. Screeningsfejl kan skyldes manglende erfaring, træthed eller manglende koncentration hos cytobioanalytikeren. Fortolkningsfejl begås også af den konfererende patolog, hvorved en del af de falsk negative *smears* kan forklares. Disse fejl skyldes ofte, at patologen ikke har haft tilstrækkelig erfaring med cervixcytologi. For både cytobioanalytikere og patologer, der arbejder med cervixcytologi, er en grundig uddannelse i og en tilstrækkelig praktisk erfaring med cytodiagnostik meget afgørende for den diagnostiske kvalitet.

Som det også fremgår af adskillige udenlandske studier af falsk negative *smear*-prøver [14-17], tegner der sig i vores undersøgelse tre karakteristiske cellobilleder som årsager til screenings- eller tolkningsfejl: 1) præparater med få (<50) abnorme celler, der tenderer til at være spredt- og enkeltliggende, 2) præparater med små, abnorme celler af metaplastisk type med normo- eller hypokromatiske kerner (*pale* dyskaryose) og 3) præparater med abnorme kernetætte celleder (*hyperchromatic crowded cell groups*) eller mikrobiopsier, der repræsenterer en sværere forandring.

Intern kvalitetskontrol (f.eks. hurtigscreening) kan være med til at reducere antallet af falsk negative prøver [18]. Derudover kan screeningsfejl forebygges ved efteruddannelse, f.eks. jævnlige undervisningsmøder, hvor testsæt og cases gennemgås, ved konfrontation med egne falsk negative prøver og ved at gense positive *smear*-prøver sammen med de histologiske præparater.

Værdien af en cervixcytologisk undersøgelse afhænger i høj grad af prøvens kvalitet. Prøvetagningsfejl optræder: 1) når materialet ikke er repræsentativt, 2) når ikke alt materialet er strøget ud på glasset (op til 80% af prøvematerialet bortkastes efter et konventionelt *smear*), og 3) når materialet indeholder for få celler eller er af teknisk dårlig kvalitet [19]. For at opnå kvalitetsforbedringer af materialet må man i dialog med prøvetagerne. Ved at overgå til væskebaseret cytologi (LBC) overføres »alt« prøvematerialet til en fikseringsvæske, der fremsendes til laboratoriet. Her fremstilles et ma-

skinelt aftryk med et tyndt lag af repræsentative celler fra prøven. I Fyns Amt indførte man i juni 2001 væskebaseret cytologi (ThinPrep, Cytoc). Vore foreløbige resultater er samstemmende med en anden dansk undersøgelse, der viser, at der er en signifikant forbedret prøvekvalitet [10]. Den væskebaserede cervixcytologi reducerer både de tekniske problemer, der er relateret til prøvetagningen, f.eks. mangelfuld fiksering, og forbedrer samtidig den diagnostiske kvalitet [20]. Herudover giver LBC mulighed for at fremstille ekstra aftryk af restmaterialet til supplerende undersøgelser, såsom typebestemmelse af humant papillomvirus. Materialet vil også være velegnet til automatiseret screening i fremtiden. Men uanset hvilken teknologi, der anvendes, vil en falsk negativ-rate vedblive at være et uønsket, men også et uundgåeligt aspekt af det cervixcytologiske screeningsprogram.

Summary

Dorthe Ejersbo, Maj-Britt Dahl & Berit Hølund:

False negative Pap smears in a Danish material.

Ugeskr Læger 2003;165:2391-4.

Introduction: The aims of screening against cervical cancer are: 1) to reduce the number of cervical cancer cases, 2) to diagnose the cervical carcinoma precursor lesions of which treatment is quite simple and 3) to use the available resources in the best possible way. The purposes of this study were firstly to get an impression of the false negative rate in the County of Funen, secondly to illustrate some of the causes, and thirdly to recommend some ways to reduce the false negative cases in the future.

Material and methods: All previously negative Pap smears in the period from April 1, 1989 to December 31, 1999 from women who had shown at least moderate dysplasia histologically in the period from Jan 1, 1996 to December 31, 2000 were reevaluated.

Results: A total of 551 Pap smears were rescreened. Eighty-one per cent were sampling errors and the rest was regarded as interpretation and screening errors. The false negative rate for a single year, 1991, was assessed at 22%. The false negative rate of interpretation and screening errors was 4,6%.

Discussion: The results are in accordance with other studies. We describe three characteristic cytological cell patterns as the main causes of the false negative samples. To prevent false negative samples a very important factor is thorough training and further education of the staff. Furthermore, a change into liquid-based cytology will raise the quality both of the cell sample and of the screening procedure.

Reprints: Berit Hølund, Patologisk Institut, Odense Universitetshospital, DK-5000 Odense C.

Antaget den 7. marts 2003.

Odense Universitetshospital, Patologisk Institut.

Litteratur

- Olsen J. Screening. Ugeskr Læger 2002;164:148-52.
- Jensen ML, Hariri J, Nielsen K et al. Anbefalede retningslinjer for danske patologifdelinger vedrørende kvalitetssikring af screening mod livmoderhalskræft. København: Dansk Selskab for Patologisk Anatomi og Cytologi, 2000.
- Beilby JOW, Bourne R, Guillebaud J et al. Paired cervical smears: a method of reducing the false-negative rate in population screening. *Obstet Gynecol* 1982;60:46-8.
- Bartoo GT, Lee JSJ, Bartels PH et al. Automated prescreening of conventional prepared cervical smears: a feasibility study. *Lab Invest* 1992;66:116-22.
- Bosch MMC, Rietveld-Scheffer PEM, Boon M. Characteristics of false-negative smears tested in normal screening situation. *Acta Cytol* 1992;36:711-6.
- Renshaw AA. Déjà vu in pap testing: return of the 5% false negative fraction and the zero-error rate. *Diagn Cytopathology* 2002;266:343-4.
- O'Sullivan JP. Observer variation in gynaecological cytopathology. *Cytopathology* 1998;9:6-14.
- Hølund B, Grindsted P, Poulsen EF. Screening mod livmoderhalskræft i Fyns Amt. *Månedsskr Prakt Lægegern* 2000;78:256-62.
- Nielsen MN, Hølund B, Nielsen B et al. Cytologisk atypi i cervix uteri – konsekvens? *Ugeskr Læger* 1996;158:2985-6.
- Jensen ML, Fuursted PB, Svanholm H. Sammenligning af monolagsprøver og konventionelle »smear«. *Ugeskr Læger* 2001;163:1270-5.
- Bos AB, Ballegooijen M, van Oortmarssen G et al. Non-progression of cervical intraepithelial neoplasia estimated from population screening data. *Br J Cancer* 1997;75:124-30.
- Nanda K, McCrocy DC, Myers ER et al. Accuracy of the papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytological abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med* 2000;132:810-9.
- Ronco G, Montanari G, Aimone V et al. Estimating the sensitivity of cervical cytology: errors of interpretation and test limitations. *Cytopathology* 1996;7:151-8.
- Michell H, Medley G. Differences between papanicolaou smears with correct and incorrect diagnoses. *Cytopathology* 1995;6:368-75.
- DeMay RM. Common problems in Papanicolaou smear interpretation. *Arch Pathol Lab Med* 1997;121:229-38.
- DeMay RM. Cytopathology of false negatives preceding cervical carcinoma. *AM J Obstet Gynecol* 1996;175:4, part 2:1110-3.
- Dudding N, Williams D. False negative smears. *SCAN* 2000;1:12-6.
- Jensen ML, Fuursted PB, Svanholm H. Partiel rescreening af alle negative »smears«. *Ugeskr Læger* 2000;162:3024-7.
- Dahl M-B, Ejersbo D, Hølund B. Årsag til og opfølgning af uegnede cervixcytologiske prøver i Fyns Amt. *Ugeskr Læger* 2002;164:4280-3.
- Monsonego J, Autillo-Touati A, Bergeron C et al. Liquid based cytology for primary cervical cancer screening: a multi-centre study. *Br J Cancer* 2001;84:360-6.