

Human Papillomavirus Genotype Detection and Cytology Using a New Self-Sampling Method

Hiromi Yabusaki*, Midori Ono, Natsuko Shiina, Yoshio Shiina

Abstract

目的: 乾式自己採取腔検体を用いたハイリスクHPV (hrHPV) 検査は、検診受診率の向上により世界的に普及しつつある。しかし、hrHPV陽性の女性のトリアージには、一般開業医を受診して細胞診を受ける必要がある。本研究では、細胞診も可能な湿式自己採取法であるCellSoft®のhrHPV検出能を評価することを目的とした。**方法:** 20歳以上の女性38人を対象とした。女性たちはEvalyn® Brushを使用した後、CellSoft®を用いて自己採取を行った。両方の検体についてPCRベースのHPV遺伝子型検出を行い、両器具のhrHPV検出結果を比較した。さらに、CellSoft®の検体について細胞診を行った。**結果:** CellSoft®とEvalyn® BrushのhrHPV検出における自己検体採取器具間の全体的な一致は、97.4% (37/38人) で観察された。Evalyn® Brushでは、CellSoft®よりも多くのhrHPV遺伝子型が検出された。22例のCellSoft®のhrHPV陽性症例のうち、11例 (47.6%) はASCUS以上であった。**結論:** CellSoft®のhrHPV遺伝子型の検出結果は、Evalyn® Brushの結果とよく一致した。CellSoft®はHPV検査および細胞診判定に十分な細胞量を提供した。

Keywords: Self-sampled device- CellSoft- Evalyn® Brush- High-risk Human Papillomavirus (hrHPV)

Asian Pac J Cancer Prev, 25 (5), 1673-1679

Introduction

高リスク型HPV (hrHPV) 検査は、子宮頸がん検診の主要な方法である[1, 2]。しかし、検診受診率の低さの問題を解決することは依然として困難である。日本では、子宮頸がん検診の受診率は40%と低い[3]。女性が検診に参加することを躊躇させる要因は多い。その要因とは、婦人科検診を受けるのが恥ずかしい、痛みや結果に対する恐怖、時間的制約などである[4]。そのため、hrHPV検査のための腔自己採取法が、女性にスクリーニング検査を受けるよう促す追加的な戦略として提案されている[5-7]。

自己採取器具であるEvalyn® Brushは、郵送に適していること（採取後に装置を乾燥させることができるため）、性能が高いこと、また患者に受け入れられていることから、世界中で広く使用されている[8, 9]。これらの自己採取検体におけるhrHPVおよび子宮頸部上皮内新生物 (CIN) 2+の検出率は、医師が採取した検体と同等であることを示唆するエビデンスが蓄積されている[10-12]。したがって、一次スクリーニング検査数を増加させるために、自己採取検体を好ましい選択肢とすることは可能である。

自己採取検体でhrHPV陽性と判明した後に細胞診トリアージを受ける患者の割合が低いことが懸念される[13]。一次検診後の細胞診トリアージは、がん罹患率や不必要なコルポスコピー検査を減少させるので[13, 14]、次の課題は、hrHPV陽性の女性が一般開業医による細胞診を受ける割合を改善することである。

最近日本で開発されたCellSoftは、加藤の細胞診用自己採取装置[15-18]を改良したhrHPV検査用自己採取装置であり、特に東アジアの女性に高い受容率を得ている。これはタンポンのような器具で、他の自己採取器具よりも細胞採取スポンジが広く、十分な数の細胞を採取することができる[16]。その結果、この自己採取法と医師による採取法との間には、検体の適切性および細胞診判定の点で、100%の一致が報告されている[18]。さらに、乾燥させずに郵送できるため、HPV検査と細胞診検査の両方に適している。

本研究では、CellSoftとEvalyn® Brush間のPCRベースのHPV遺伝子型検出結果の比較と併せて、CellSoftでパパニコロウ (PAP) 検査を実施し、CellSoftの性能を評価することを目的とした。

ILABO Cyto STD Laboratory, Inc, 560-6 Shimoonkata, Hachioji-shi, 192-0154 Tokyo, Japan.

*For Correspondence: hiromi_yabusaki@ilabo-cyto-std.com

Materials and Methods

臨床検体の収集

2022年5月から2022年6月にかけて、東京近郊の20歳以上の商業性風俗従事者（CSW）30名とフクイ産婦人科クリニックの女性従業員（FE）8名の計38名の女性から臨床検体を採取した。インフォームド・コンセントを受けた後、女性たちはEvalyn® Brush（Rovers Medical Devices B.V., Netherlands）を用いて膣検体を自己採取した。その後、CellSoft（大成化工株式会社、大阪、日本；図1および図2）を用いて、図3に示す手順で追加検体を採取した。すべての検体は室温でILABOCyto STD Laboratory（東京、日本）に運ばれ、HPV検査と細胞診（CellSoftのみ）が行われた。各検体には匿名化した患者コードが割り当てられた。

HPV遺伝子型検出

CellSoftスポンジを50%エタノールを含む固定液5mlで洗浄し、スポンジを絞って付着細胞を懸濁した。細胞懸濁液1mlを3,000rpmで5分間遠心し、細胞ペレットを得た。細胞ペレットからDNAを熱水酸化ナトリウム法で単離した[19]。細胞ペレットを50 μLのアルカリ溶解液（25mM NaOHおよび0.2mMエチレンジアミン四酢酸[EDTA]；pH, 12.0）で95°C30

分間溶解した。溶解した細胞は、0.04 M Tris-HCl（pH 5.0）で中和し、13,200 rpmで1分間遠心分離した後、PCR増幅用のDNA鋳型として直接使用した。Evalyn Brushについては、アルカリ溶解液の1mLの細胞溶解液に直接ブラシを入れ、細胞を溶解した。HPV遺伝子型検出は、ユニプレックスE6/E7 PCR法[20]として知られる高感度PCRベースのHPV遺伝子型検出法を用いて実施した。この方法は、わずか100コピーのウイルスから39種類のHPV遺伝子型を検出でき、すべてのHPV遺伝子型に対して交差反応性はない。偽陽性の原因となるDNAコンタミネーションがないことを確認するため、PCRの各ラウンドは、DNaseフリーの水を用いた陰性対照で行われた。

細胞診

細胞懸濁液を3,000rpmで5分間遠心した後、上清を捨て、沈殿物を1-2滴スライドグラスに滴下した。その後、すり合わせ法で沈殿物を2枚のスライドグラスの間にまいた。塗り広げられたスライドは、95%エタノールで固定する前にまず完全に乾燥させ、次にパピニコロウ染色で染色した。Pap塗抹標本は以下の項目について評価された：1. 検体の適切性（スライド評価で満足または不満足と判定）、2. 移行帯成分の有無（少なくとも10個の子宮頸管円柱上皮細胞または化生細胞を必要とする）、3. Bethesda system [21]に従った細胞診判定。



Figure 1. Appearance of Cellsoft. The device is shown with the sponge extruded for scraping

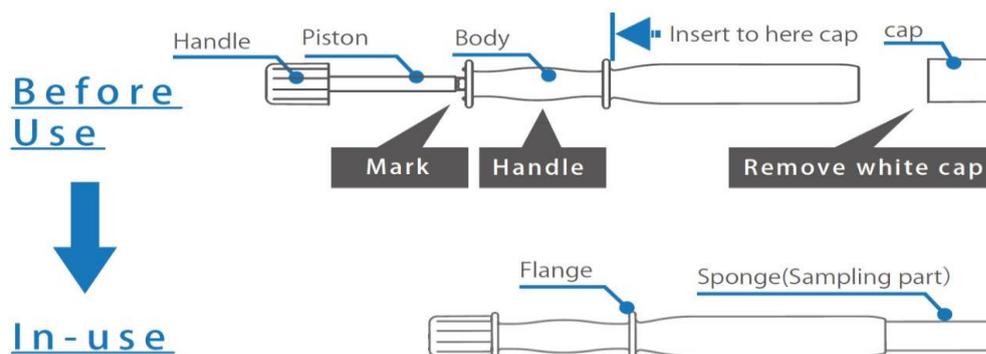


Figure 2. Structure of the Cellsoft Device

Table 1. CellSoft and Evalyn Brush hrHPV Genotype Detection and Papanicolaou Test Results

	hrHPV genotype	CellSoft			Evalyn Brush
		Specimen adequacy	Transformation zone component #	Cytological interpretation	hrHPV genotype
Commercial sex workers					
1	31,58	Satisfactory	Absent	NILM	31,51,58,59
2	58	Satisfactory	Absent	NILM	58
3	39,51	Satisfactory	Absent	NILM	39,51,58
4	58	Satisfactory	Present	NILM	Negative
5	Negative	Satisfactory	Present	NILM	Negative
6	58	Satisfactory	Present	NILM	58
7	52,58	Satisfactory	Present	NILM	52,58
8	51	Satisfactory	Present	NILM	51,58,59
9	Negative	Satisfactory	Present	NILM	Negative
10	Negative	Satisfactory	Present	NILM	Negative
11	52	Satisfactory	Present	NILM	52
12	39,59	Satisfactory	Absent	NILM	39,59
13	39	Satisfactory	Present	NILM	39
14	52,58	Satisfactory	Absent	NILM	39,52,58
15	Negative	Satisfactory	Absent	NILM	Negative
16	52,56	Satisfactory	Present	NILM	56
17	Negative	Satisfactory	Absent	NILM	Negative
18	Negative	Satisfactory	Present	NILM	Negative
19	51,52,58,59	Satisfactory	Absent	ASC-US	51,52,56,58,59
20	Negative	Satisfactory	Absent	ASC-US	Negative
21	18,51	Satisfactory	Absent	ASC-US	18,51,58
22	52,58,59	Satisfactory	Absent	ASC-US	16,33,52,58,59
23	58	Satisfactory	Absent	ASC-US	58
24	31,33,39,51,52, 56,58,59	Satisfactory	Absent	LSIL	31,33,39,51,52, 56,58,59
25	Negative*	Satisfactory	Absent	LSIL	Negative*
26	51, 56,58,68	Satisfactory	Present	LSIL	51,56,58,68
27	51,56,59	Satisfactory	Present	LSIL	51,56,59
28	Negative*	Satisfactory	Present	LSIL	Negative*
29	45,56,58	Satisfactory	Present	ASC-H	45,56,58
30	16	Satisfactory	Present	HSIL	16
Female employees					
31	Negative	Satisfactory	Present	NILM	Negative
32	Negative	Satisfactory	Absent	NILM	Negative
33	Negative	Satisfactory	Absent	NILM	Negative
34	Negative	Satisfactory	Absent	NILM	Negative
35	Negative	Satisfactory	Present	NILM	Negative
36	Negative	Satisfactory	Absent	NILM	Negative
37	Negative	Satisfactory	Absent	NILM	Negative
38	Negative	Satisfactory	Absent	NILM	Negative

* hrHPV was negative but HPV53 was positive. #Presence of more than 10 endocervical or squamous metaplastic cells. hrHPV, high-risk type human papillomavirus; NILM, negative for intraepithelial lesions or malignancy; ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion; ASC-H, atypical squamous cells that cannot exclude a high-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesion

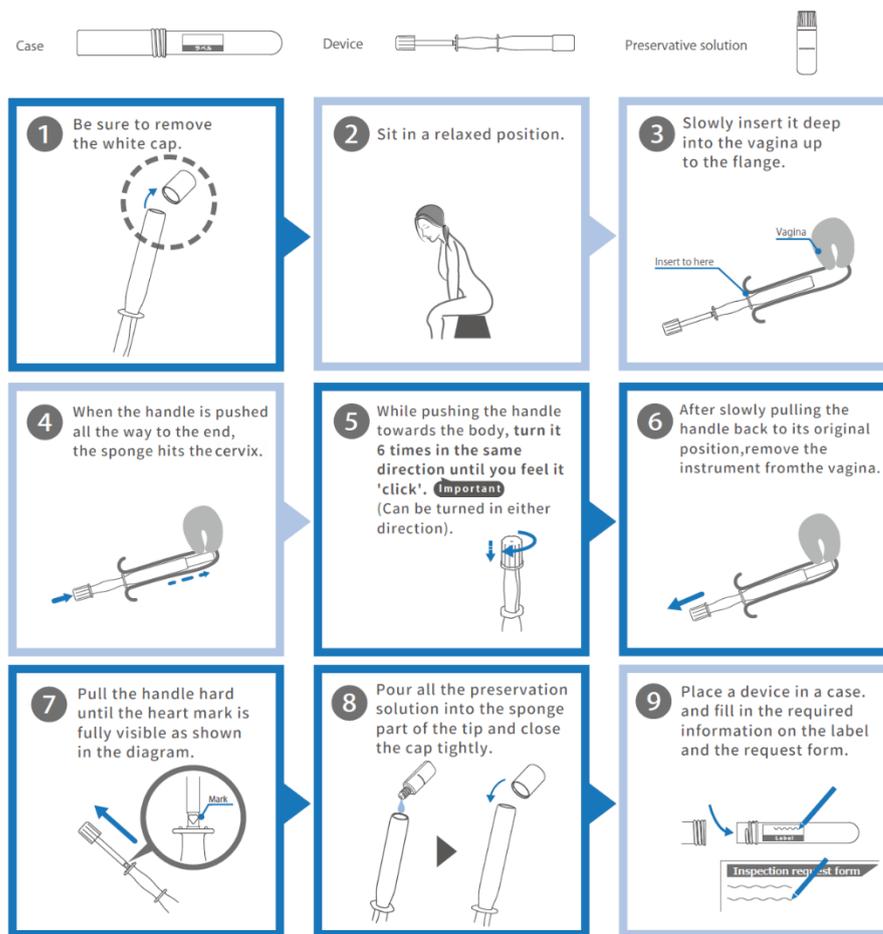


Figure 3. Female Self-Collection Procedure

Results

CellSoft, Evalyn BrushによるhrHPV遺伝子型検出結果、およびCellSoftによるパパニコロウ検査結果を表1に示す。CellSoftによるhrHPV検出率は58.9% (22/38例)、Evalyn Brushによる検出率は55.3% (21/38例)であった。CSWのhrHPV陽性率はCellSoftで73.3% (22/30)、Evalyn Brushで70.0% (21/30)であった。FEから採取した検体からは、いずれの器具でもhrHPVは検出されなかった。hrHPVの検出に関する両採取器具間の全体的な一致は、97.4% (37/38)の症例で観察された ($\kappa = 0.946$; $P < 0.0001$)。CellSoftとEvalyn Brushの両方でHPV陽性であった22例のうち、7例 (31.8%)ではCellSoftよりもEvalyn Brushで検出されたHPV遺伝子型の方が多かった。

CellSoftによって採取されたPapスメアの評価では、すべて診断に十分な細胞量で適切であった。また、45% (17/38人)の参加者に移行帯成分が認められた。細胞診判定では、31.6% (12/38人)がASC-USまたはそれ以上であり、その割合はCSWのみに限定すると40% (12/30人)であった。CellSoftのhrHPV陽性22例のうち、11例 (47.6%)がASC-US以上であった。

Discussion

日本で子宮頸がん検診を受けていない女性は、ワクチン接種を受けていないため、子宮頸がんになるリスクが高いままである。子宮頸がん検診の受診率を高めることは、子宮頸がんの発生率を低下させる重要な方法である。自己採取法は、このような未検査集団に手を差し伸べるのに役立つ[5-7]。最近開発されたCellSoftはタンポンのような自己採取器である。欧米の女性とは異なり、日本人女性はタンポンや膣剤を使用した経験がほとんどないため、膣内に異物を挿入することに抵抗を感じるかもしれない。しかし、Hanleyら[9]による日本人女性を対象とした研究では、医師が採取する検査と比較して、女性は自己採取を有意に痛みや恥ずかしさが少ないと感じており、子宮頸がんスクリーニング検査においてストレスの少ない環境を作り出していることが明らかになった。また、タンポンの使用歴は、自己検診を再び受ける意欲の障害にはならないこともわかった。このように、CellSoftによるhrHPV検査のための自己採取は、日本でも広く受け入れられることが期待される。

本研究では、広範囲のHPVを高感度で検出することが検証されているPCRベースのHPV検査[20]を用いて、同一女性におけるhrHPVの検出における2つの自己採取器具の性能を直接比較した。検出されたhrHPV遺伝子型の

種類を比較すると、Evalyn Brushの方がCellSoftよりも多くの遺伝子型が検出された。これは、CellSoftで採取された腔検体が、Evalyn Brushによる自己採取後に採取されたためと考えられる。しかしhrHPVの検出に関しては、CellSoftとEvalyn Brushの検体間に良好な一致がみられた。CellSoftは、その開発を通じて十分なhrHPVを採取できることが示されている。CellSoftは他の自己採取法と比較して、不適正な検体が少なく、上皮内病変に対する感度が非常に高い[16, 18]。本研究では、評価されたすべてのPapスメアにおいて細胞量が適切であり、その45%が移行帯の細胞が見られた。このことは、CellSoftが子宮頸部を含む腔の広い範囲から細胞を採取できることを示している。1症例はEvalyn BrushでhrHPV陰性、CellSoftでhrHPV陽性であった。hrHPVは子宮頸部の扁平上皮接合部(SCJ)に優先的に感染することが知られているため[22, 23]、CellSoftの方がSCJに近い部位に接触しやすいことが示唆された。しかし、多くの子宮頸部細胞は自然に剥離し、腔内に浮遊するため[24]、CellSoftが浮遊したhrHPV感染細胞を捕捉した可能性がある。

自己検診でhrHPV陽性の女性の追跡調査遵守率を報告した20件のメタアナリシスでは平均80.6% (95%CI : 67.0%-91.5%) であった [13]。したがって、hrHPV陽性の女性が婦人科を受診し、細胞診で十分にトリージされなければ、子宮頸がん検診率の全体的な改善は部分的に損なわれる可能性がある。細胞診の精度が低いため、自己採取検体を細胞診に使用することは推奨されないが[25]、hrHPV陽性女性の自己採取検体を用いた細胞診によるトリージの価値は不明である。最近のプロスペクティブコホート研究において、Loopikら[26]は、hrHPV陽性の自己検体を用いた細胞診が適用可能であり、コルポスコピーへの直接的なトリージ検査としての付加価値があることを示した。Wiersmaら[27]はまた、自己採取検体を用いた細胞診で異常のあった女性の35%以上が、追加的なPapスメアを必要とせず、コルポスコピーに直接紹介できることを明らかにした。Evalyn Brushは輸送用に乾燥されているため、自己採取細胞診には使用できないが、CellSoftはもともと自己採取細胞診用に設計されており、医師が採取したものと同程度の質と量の細胞を採取することができる[18]。したがって、最初は自己採取検体をhrHPV検査に使用し、後日必要に応じて細胞診を行うことができる。

実際、本研究のhrHPV陽性女性はすべてCSWであり、陽性率は約70%であった。CSWのhrHPV陽性率は8%~100%と報告されており[28]、これは一般女性集団のそれよりも数倍高いため、特にこの集団では、より多くの女性をトリージして細胞診検査を実施すべきである。このことを強調するために、本研究のHPV陽性女性の約半数は、CellSoft

を用いた細胞診検査でASC-US以上と判定された。したがって、1回の自己採取検査により、これらの女性は医師による追加の細胞診検査を回避し、直接コルポスコピーに紹介することができた。自己検体による細胞診は、医師による採取細胞診に取って代わることはできないが、もし自己検体による細胞診で異型細胞に関する情報を提供するならば、患者の満足度を向上させ、その結果、診断の遅れや経過観察の機会を減らすことができるかもしれない。したがって、hrHPV陽性女性における細胞診のトリージを改善するための魅力的な選択肢として、湿式の自己採取法を再考すべきであると考えられる。

しかしながら、この研究にはいくつかの限界がある。本研究に含まれるサンプル数が限られているため、統計と推論が制限された。残念ながら、本研究では医師が採取した細胞検体は使用されていないため、CellSoftは医師が採取した検体と比較して細胞診を評価することができなかった。したがって、この自己採取法の性能を評価するためには、さらなる研究が必要である。CellSoftは、hrHPVの検出結果において、自己採取器具として高い性能と患者受容性で知られるEvalyn Brushと良い一致を示した。さらに、セルソフトは、再度採取することなく細胞診を提供することにより、追跡調査不能率を減少させるという付加価値を提供する。

Author Contribution Statement

Conceptualization, Y.S.; methodology, H.Y. and M.O.; validation, Y.S. and H.Y.; formal analysis, M.O.; investigation, Y.S.; re-sources, Y.S.; data curation, Y.S.; writing-original draft preparation, Y.S.; writing-review and editing, Y.S.; visualization, M.O.; project administration, Y.S., All authors have read and agreed to the final version of the manuscript.

Acknowledgements

General

Mitsuaki Okodo for assisting with the necessary equipment. The authors also thank Enago (www.enago.jp) for the English language review.

Funding Statement

This study was supported by Taisei Medical Co. Ltd.

Ethical Declaration

Informed consent was obtained from all study participants before their inclusion in the study. The study protocol was approved by the ILABO Cyto STD Laboratory Research Ethics Committee and was conducted according to approved guidelines.

Data Availability

The data and materials that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Conflict of Interest Statement

Yoshio Shiina received support from Taisei Medical Co. Ltd for providing English proofreading. The other authors have no conflict of interests related to this publication.

References

1. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, et al. American cancer society, american society for colposcopy and cervical pathology, and american society for clinical pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA Cancer J Clin.* 2012;62(3):147-72. <https://doi.org/10.3322/caac.21139>.
2. Wright TC, Stoler MH, Behrens CM, Sharma A, Zhang G, Wright TL. Primary cervical cancer screening with human papillomavirus: End of study results from the athena study using hpv as the first-line screening test. *Gynecol Oncol.* 2015;136(2):189-97. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2014.11.076>.
3. Aoki ES, Yin R, Li K, Bhatla N, Singhal S, Ocviyanti D, et al. National screening programs for cervical cancer in asian countries. *J Gynecol Oncol.* 2020;31(3):e55. <https://doi.org/10.3802/jgo.2020.31.e55>.
4. Waller J, Bartoszek M, Marlow L, Wardle J. Barriers to cervical cancer screening attendance in england: A population-based survey. *J Med Screen.* 2009;16(4):199-204. <https://doi.org/10.1258/jms.2009.009073>.
5. Arbyn M, Verdoodt F, Snijders PJ, Verhoef VM, Suonio E, Dillner L, et al. Accuracy of human papillomavirus testing on self-collected versus clinician-collected samples: A meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2014;15(2):172-83. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(13\)70570-9](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(13)70570-9).
6. Verdoodt F, Jentschke M, Hillemanns P, Racey CS, Snijders PJ, Arbyn M. Reaching women who do not participate in the regular cervical cancer screening programme by offering self-sampling kits: A systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Eur J Cancer.* 2015;51(16):2375-85. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.07.006>.
7. Sultana F, Mullins R, English DR, Simpson JA, Drennan KT, Heley S, et al. Women's experience with home-based self-sampling for human papillomavirus testing. *BMC Cancer.* 2015;15:849. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1804-x>.
8. van Baars R, Bosgraaf RP, ter Harmsel BW, Melchers WJ, Quint WG, Bekkers RL. Dry storage and transport of a cervicovaginal self-sample by use of the evalyn brush, providing reliable human papillomavirus detection combined with comfort for women. *J Clin Microbiol.* 2012;50(12):3937-43. <https://doi.org/10.1128/jcm.01506-12>.
9. Hanley SJ, Fujita H, Yokoyama S, Kunisawa S, Tamakoshi A, Dong P, et al. Hpv self-sampling in japanese women: A feasibility study in a population with limited experience of tampon use. *J Med Screen.* 2016;23(3):164-70. <https://doi.org/10.1177/0969141315625702>.
10. Tranberg M, Jensen JS, Bech BH, Blaakær J, Svanholm H, Andersen B. Good concordance of hpv detection between cervico-vaginal self-samples and general practitioner-collected samples using the cobas 4800 hpv DNA test. *BMC Infect Dis.* 2018;18(1):348. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3254-y>.
11. Polman NJ, Ebisch RMF, Heideman DAM, Melchers WJG, Bekkers RLM, Molijn AC, et al. Performance of human papillomavirus testing on self-collected versus clinician-collected samples for the detection of cervical intraepithelial neoplasia of grade 2 or worse: A randomised, paired screen-positive, non-inferiority trial. *Lancet Oncol.* 2019;20(2):229-38. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(18\)30763-0](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(18)30763-0).
12. Onuma T, Kurokawa T, Shinagawa A, Chino Y, Yoshida Y. Evaluation of the concordance in hpv type between self- and physician-collected samples using a brush-based device and a pcr-based hpv DNA test in japanese referred patients with abnormal cytology or hpv infection. *Int J Clin Oncol.* 2020;25(10):1854-60. <https://doi.org/10.1007/s10147-020-01727-5>.
13. Arbyn M, Ronco G, Anttila A, Meijer CJ, Poljak M, Ogilvie G, et al. Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer. *Vaccine.* 2012;30 Suppl 5:F88-99. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.095>.
14. Ronco G, Dillner J, Elfström KM, Tunesi S, Snijders PJ, Arbyn M, et al. Efficacy of hpv-based screening for prevention of invasive cervical cancer: Follow-up of four european randomised controlled trials. *Lancet.* 2014;383(9916):524-32. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(13\)62218-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(13)62218-7).
15. Nabandith V, Pholsena V, Mounthisone P, Shimoe K, Kato S, Aoki K, et al. First trial of cervical cytology in healthy women of urban laos using by self-sampling instrument. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(9):4665-7. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2012.13.9.4665>.
16. Okayama K, Okodo M, Fujii M, Kumagai T, Yabusaki H, Shiina Y, et al. Improved accuracy of cytodiagnosis using the kato self-collection devise: The usefulness of smear preparation in liquid-based cytology methods. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(9):4521-4. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2012.13.9.4521>.
17. Othman NH, Mohamad Zaki FH. Self-collection tools for routine cervical cancer screening: A review. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(20):8563-9. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.20.8563>.
18. Latiff LA, Ibrahim Z, Pei CP, Rahman SA, Akhtari-Zavare M. Comparative assessment of a self-sampling device and gynecologist sampling for cytology and hpv DNA detection in a rural and low resource setting: Malaysian experience. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(18):8495-501. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.18.8495>.
19. Truett GE, Heeger P, Mynatt RL, Truett AA, Walker JA, Warman ML. Preparation of pcr-quality mouse genomic DNA with hot sodium hydroxide and tris (hotshot). *Biotechniques.* 2000;29(1):52, 4. <https://doi.org/10.2144/00291bm09>.
20. Okodo M, Okayama K, Teruya K, Sasagawa T. Uniplex e6/e7 pcr method detecting e6 or e7 genes in 39 human papillomavirus types. *J Med Virol.* 2018;90(5):981-8. <https://doi.org/10.1002/jmv.25017>.
21. Nayar R, Wilbur DC, editors. *The Bethesda system for reporting cervical cytology: definitions, criteria, and explanatory notes.* Springer; 2015 Apr 13.
22. Castle PE, Rodriguez AC, Porras C, Herrero R, Schiffman M, Gonzalez P, et al. A comparison of cervical and vaginal human papillomavirus. *Sex Transm Dis.* 2007;34(11):849-55. <https://doi.org/10.1097/OLQ.0b013e318064c8c5>.
23. Egawa N, Egawa K, Griffin H, Doorbar J. Human papillomaviruses; epithelial tropisms, and the development of neoplasia. *Viruses.* 2015;7(7):3863-90. <https://doi.org/10.3390/v7072802>.
24. Okodo M, Okayama K, Teruya K, Tanabe K, Ito C, Ishii Y, et al. Effects of menstrual cycle on the accumulation of human papillomavirus-infected cells exfoliated from the cervix that drift into the vagina. *Microorganisms.* 2022;10(4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040693>.
25. Snijders PJ, Verhoef VM, Arbyn M, Ogilvie G, Minozzi S, Banzi R, et al. High-risk hpv testing on self-sampled versus clinician-collected specimens: A review on the clinical accuracy and impact on population attendance in cervical cancer screening. *Int J Cancer.* 2013;132(10):2223-36. <https://doi.org/10.1002/ijc.27790>.
26. Loopik DL, Melchers W, Vedder J, van den Brule A, Massuger L, Bekkers R, et al. Reflex cytology for triage

- of high-risk human papillomavirus positive self-sampled material in cervical cancer screening: A prospective cohort study. *BJOG*. 2020;127(13):1656-63. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.16352>.
27. Wiersma D, Vinke A, Siebers AG, Melchers WJG, Bekkers RLM, Loopik DL. The added value of digital imaging to reflex cytology for triage of high-risk human papillomavirus positive self-sampled material in cervical cancer screening
A prospective cohort study. *BJOG*. 2023;130(2):184-91. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.17272>.
29. Soohoo M, Blas M, Byraiah G, Carcamo C, Brown B. Cervical hpv infection in female sex workers: A global perspective. *Open AIDS J*. 2013;7:58-66. <https://doi.org/10.2174/1874613601307010058>.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International License