



DOI: 10.14744/SEMB.2019.23434

Med Bull Sisli Etfal Hosp 2019;53(4):361–365

## Orijinal Araştırma

# High Risk HPV Pozitif, PAP Testi Negatif Vakalarda İlave Bir Sıvı Bazlı Sitoloji Preperatının Sitolojik Tanıya Etkisi

Davut Şahin,<sup>1</sup> Nermin Koç,<sup>2</sup> Meryem Akbaş<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Acıbadem Sağlık Grubu, Patoloji Laboratuvarı, İstanbul, Turkey

<sup>2</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi, Patoloji Laboratuvarı, İstanbul, Turkey

### Özet

**Amaç:** Yüksek riskli HPV pozitif, PAP smear sonucu negatif vakalarda, ikinci bir preparat hazırlanmasının sitolojik tanıya etkisini belirlemek.

**Yöntem:** Bu retrospektif çalışma 2016–2017 döneminde merkezimizde sitolojik değerlendirmesi ve cotesti yapılan, yüksek riskli HPV pozitif, PAP smear sonucu negatif bulunan ve rezerv materyalden hazırlanan ikinci bir preparatı olan 57 vaka ile yapıldı. Tüm preparatlar bir sitopatolog ve bir patolog tarafından tekrar değerlendirildi. İkinci preparatına pozitif tanı verilen olguların 25'inden servikal biyopsi yapılmıştı.

**Bulgular:** Vakaların 46'sında (%80) birinci ve ikinci preparatlarda sitolojik tanı aynı olup, negatif idi. 11 vakanın (%19,2) ikinci preparatları pozitif tanı almıştı. Servikal biyopsi yapılan 25 vakanın 20'sinde premalign lezyon görülmüştü.

**Sonuç:** Yüksek riskli HPV pozitif, PAP smear sonucu negatif vakalarda hasta yönetimi, bu iki testin birlikte pozitif olduğu vakalardan farklıdır. Sonuçlarımıza göre ilk grupta bulunan vakaların %19,2 kadarı ikinci bir sıvı bazlı preparat ile pozitif sitolojik tanı almaktadır. Biyopsi yapılan olguların sonuçları sitoloji bulgularımızı destekler niteliktedir. İkinci bir sıvı bazlı preparat hazırlanması ile yüksek riskli HPV pozitif vakaların smearlerinde pozitif sitolojik tanı insidansı artmaktadır. Bu protokol ile hasta yönetimi değişip takip süre ve sayısı azaltılabilir.

**Anahtar sözcükler:** İlave preparat; smear; sitolojik tanı; yüksek riskli HPV.

Atıf için yazım şekli: "Şahin D, Koç N, Akbaş M. Effects of an Additional Liquid Based Cytology Preparate on Cytological Diagnosis in High Risk HPV Positive, PAP Test Negative Cases. Med Bull Sisli Etfal Hosp 2019;53(4):361–365"

Serviks kanseri, tüm dünyadaki kadınlarda ikinci sıklıkta görülen kanserdir. Gelişmiş ülkelerde insidans ve mortalitesi giderek azalırken, gelişmekte olan ülkelerde hala en sık olan kanserdir.<sup>[1]</sup> Serviks kanseri için en önemli risk faktörü cinsel ilişki yolu ile geçen Human Papilloma Virüstür (HPV). Serviksin high-grade skuamoz intraepitelyal lezyon

(HSIL) ve skuamoz hücreli karsinomlarında %99'a yakın yüksek riskli HPV (High risk HPV/ HR-HPV) pozitifliği bildirilmektedir.<sup>[2]</sup> Premalign servikal lezyonların taranması ve erken tanısı için kullanılan geleneksel test PAP smear testidir. HR-HPV testlerinin sensitivitesinin PAP smeardan daha yüksek olduğu, bu nedenle primer taramada HR-HPV testleri-

**Yazışma Adresi:** Nermin Koç, MD. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Laboratuvarı, İstanbul, Turkey

**Telefon:** +90 532 640 03 80 **E-posta:** nerminkoc@yahoo.com

**Başvuru Tarihi:** 26.05.2019 **Kabul Tarihi:** 02.09.2019 **Online Yayınlanma Tarihi:** 04.09.2019

©Telif hakkı 2019 Şişli Etfal Hastanesi Tıp Bülteni - Çevrimiçi erişim [www.sislietfaltip.org](http://www.sislietfaltip.org)

**OPEN ACCESS** This is an open access article under the CC BY-NC license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).



nin daha efektif olduğu bildirilmektedir.<sup>[3-5]</sup> HPV tiplerinin belirlenmesi hasta yönetimi ve tedavi seçiminde giderek daha belirleyici olmaktadır.<sup>[3-5]</sup> HR-HPV pozitif olguların bir kısmında PAP smearde ve hatta servikal biyopsilerde pre-malign veya malign lezyon olmadığı bilinmektedir. Bu nedenle primer taramada yalnızca HPV testleri tercih edilmiyip, PAP testi ve HPV testlerinin birlikte kullanılması (cotest) önerilmektedir.<sup>[2, 3, 6]</sup> HR-HPV testi pozitif vakaların ortalama %4 kadarında PAP smear sonucunun negatif olduğu bilinmektedir.<sup>[6, 3]</sup>

American Cancer Society (ACS) guideline önerisine göre; hem HR-HPV hem de PAP smear sonucu pozitif vakaların hasta yönetimi, HR-HPV pozitif, PAP smear sonucu negatif olan vakalardan farklıdır.<sup>[7]</sup> Bu nedenle HR-HPV pozitif vakalarda PAP test sonucu hasta yönetiminin belirlenmesi için kritiktir.

Günümüzde servikal sitoloji örneklerinin preparasyonunda konvansiyonel sitolojinin yerini büyük ölçüde sıvı bazlı sitoloji (SBS) teknikleri almıştır.<sup>[8]</sup> Sıvı bazlı sitolojide serviksten alınan sitolojik örneğin bir kısmı preparat yapımında kullanılırken kalan kısmı rezerv materyal olarak saklanır.<sup>[9]</sup> Rezerv materyalden ilave bir preparat daha yapılmasının sitolojik tanıya katkısının önemsiz olduğu bildirilmektedir.<sup>[9]</sup> Rezerv materyalin tümünden SBS preparatı hazırlanması ile PAP testinin sensitivitesinin arttığını bildiren çalışmalar da vardır.<sup>[9, 10]</sup> Ancak bu durumda SBS'nin rezerv materyalinden HPV testleri, hücre bloğu, immunohistokimyasal ve moleküler analizler yapılabilmesi gibi avantajları kaybedilmektedir. Günlük rutinde tarayıcı sitoteknikerler veya sitopatologlar gerek gördükleri vakalarda rezerv materyalden ikinci bir preparat hazırlamaktadırlar.

Bu çalışmada HR-HPV pozitif, PAP smear sonucu negatif vakaların rezerv materyallerinden ilave bir SBS preparatı hazırlanmasının sonuçları araştırıldı. Literatürde bu konu ile ilgili bir çalışma bulunamadı.

## Gereç ve Yöntem

Bu retrospektif çalışma 2016–2017 döneminde merkezimizde sitolojik tanı verilen ve HPV Cotest'i yapılan vakalarla yürütüldü. Arşivimizde bulunan HR-HPV testi pozitif, PAP smear sonucu negatif olup, ikinci preparatı da bulunan 62 vaka çalışmaya dahil edildi. Her vakaya ait ilk ve ikinci preparatlar bir sitopatolog (DŞ) ve bir patolog (NK) tarafından tekrar değerlendirildi. 5 vakada ilk preparatların negatif olmayıp, bunlarda önemi belirsiz atipik skuamöz hücreler (ASC-US) olduğu görüldü. Bu vakaların dördünde ikinci preparatta ASCUS var iken biri negatif idi. Bu beş vaka çalışmadan çıkartıldı. Çalışma 57 vaka ile yapıldı. Çalışmaya

dahil edilen tüm vakaların ilk ve ikinci preparatlarının tanısında araştırmacılar hemfikir idi. Bu 57 vakanın 26'sına 2016–2019 döneminde biyopsi yapılmıştı.

Sitoloji preparatları ThinPrep (Cytoc Corp., Boxborough, MA, USA) tekniği ile hazırlanmıştı. Preperasyon için ThinPrep 2000 automated processor kullanılmıştı. Rezerv materyaller ThinPrep solusyonunda (Cytoc's ThinPrep PreservCyt medium) saklanmıştı. HR-HPV cotesti olarak Aptima Panther testi (Aptima® HPV 16/18/45 genotype assay) kullanılmıştı. PAP smearler Bethesda sistemi 2016 versiyonuna göre rapor edilmişti. Biyopsilerden hazırlanan parafin bloklar 5 mikron kalınlığında kesilmiş, preparatlar Hematoksi-len-Eozin ile boyanmıştı.

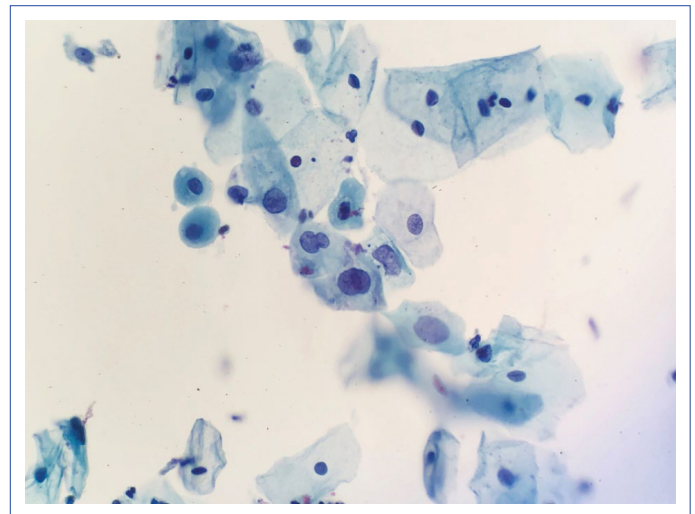
Çalışma için, lokal etik komiteden onay alındı (ATADEK 2019-7/12).

Sonuçları yorumlamak için tanımlayıcı istatistiksel analizler yapıldı. İstatistiksel analiz için SPSS versiyon 10 (SPSS, Chicago, IL, USA) kullanıldı.

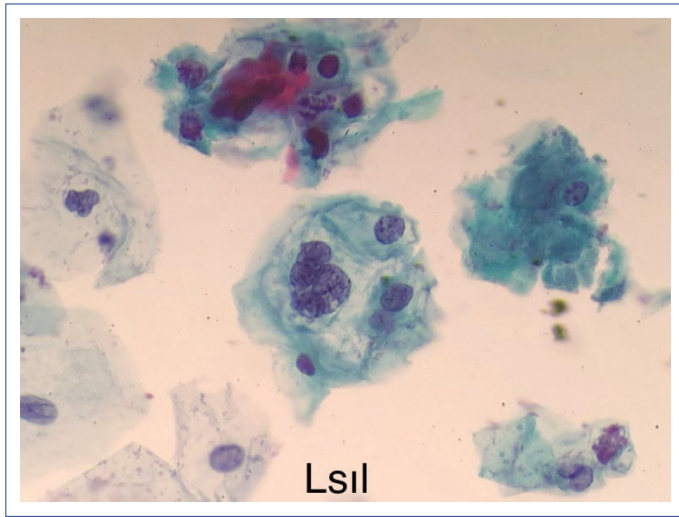
## Bulgular

Hastaların yaş ortalaması 38 idi (21–65 arası). Çalışmanın yapıldığı dönemde merkezimizde 70 000 PAP smear testi değerlendirilmişti. Aynı dönemdeki cotest sayısı 3128, HR-HPV pozitif cotest sayısı 535, HR-HPV negatif cotest sayısı 2593 idi. HR-HPV pozitif, PAP smear negatif vaka sayısı 162 idi ve bunların 62'sinin ikinci preparatı vardı. (Şekil 1–3)

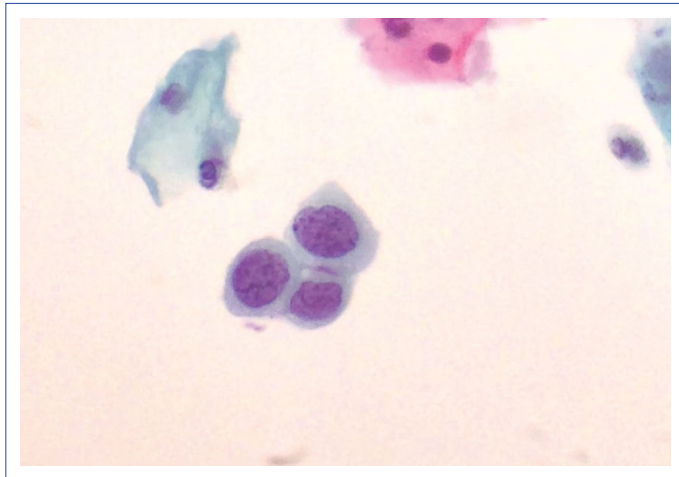
İlk preparatı negatif olan vakaların ikinci preparatlarına verilen sitolojik tanıları Tablo 1'de, vakalarda belirlenen HR-HPV tipleri Tablo 2'de ve biyopsi yapılan 26 vakanın histopatolojik tanıları Tablo 3'de gösterildi.



**Şekil 1.** İlk preparatı negatif olan bir vakanın ikinci preparatı. İri hiperkromatik çekirdekli, nükleer membranları düzensiz, nükleus sitoplazma oranı artmış skuamöz hücreler; ASCUS (ThinPrep x 200).



**Şekil 2.** İlk preparatı negatif olan bir vakanın ikinci preparatı. İri hiperkromatik çekirdekli, nükleer membranı düzensiz, nükleus sitoplazma oranı artmış ve perinükleer sitoplazmik vakuolizasyonu (koilositozis) olan hücre; LSIL (ThinPrep x 400).



**Şekil 3.** İlk preparatı negatif olan vakanın ikinci preparatında görülen iri hiperkromatik çekirdekli, nükleer membranları düzensiz, nükleus sitoplazma oranı artmış parabazal boyutlu skuamöz hücreler; HSIL (ThinPrep x 400).

## Tartışma

Premalign servikal lezyonların taranması ve erken tanısı için giderek artan sıklıkta HPV testleri ve PAP smear birlikte kullanılmaktadır.<sup>[3, 4]</sup> HR-HPV pozitif vakaların bazılarında PAP smear negatif olmaktadır.<sup>[3, 6]</sup> American Cancer Society (ACS) 2012 guideline önerisine göre; HR-HPV pozitif, PAP testi negatif vakalarda hasta yönetimi, her iki test pozitif olan olgulardan farklıdır. 20–65 yaş arası kadınların her beş yılda bir HR-HPV ve PAP testi ile veya 3 yılda bir sadece PAP testi ile taranması önerilmektedir. HR-HPV ve PAP testi pozitif kadınlar için direkt kolposkopi önerilirken, HR-HPV pozitif, PAP testi negatif olan kadınlarda

**Tablo 1.** HR-HPV pozitif, PAP smear sonucu negatif vakalardan hazırlanan ikinci preparatlara verilen sitolojik tanıları ve oranları (n=57)

İlave preparat sitolojik tanısı	n	%
NILM	46	80
ASCUS	9	16
LSIL	1	2
HSIL	1	2
Toplam	57	100

NILM: ngative for intraepithelial lesion or malignancy (intraepitelyal lezyon veya malignite için negatif); ASC-US: atypical squamous cell of underment significance (önemi belirlenemeyen atipik skuamöz hücreler); LSIL: low-grade squamous intraepithelial lesion (düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon); HSIL: high-grade squamous intraepithelial lesion (yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon).

**Tablo 2.** Olgularda pozitif olan yüksek riskli HPV tipleri ve oranları (n=57)

HPV tipi	n	%
HPV 16	13	23
HPV 18/45	7	12
Diğer HR tiplerden biri	37	65

HPV: human papilloma virüs.

**Tablo 3.** İlk preparatına negatif, ikinci preparatına pozitif tanı verilen yüksek riskli HPV pozitif olguların biyopsilerinin histopatolojik tanıları ve oranları (n=26)

Histopatolojik tanı	n	%
Kronik servisit (negatif)	6	23
HSIL	5	19
LSIL	15	58

HPV: human papilloma virüs; HSIL: high-grade skuamöz intraepitelyal lezyon; LSIL: low-grade squamous intraepithelial lesion (düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon).

kolposkopi önerilmez. Bu son grup için iki opsiyonlu bir takip sistemi önerilmektedir. Opsiyon 1: 12 ayda bir co-test. Opsiyon 2: HPV 16 veya HPV 16/18 genotip araştırması. Eğer HPV 16 veya HPV 16/18 pozitif ise kolposkopi, bunların ikisi de negatif ise 12 ayda bir cotest ile takip.<sup>[7]</sup> Bu nedenlerle HR-HPV pozitif vakaların PAP test sonucu hasta yönetiminde çok kritiktir.

2000'li yılların başından itibaren servikal smear örneklerinin preperasyonunda konvansiyonel sitolojinin yerini SBS teknikleri almaya başlamıştır.<sup>[8, 11]</sup> Sıvı bazlı sitoloji tekniklerinde serviksten alınan örneğin bir kısmından bir adet preparat hazırlanırken, kalan kısmı rezerv materyal olarak saklanır. Sitolojik tanı için kritik ve gerekli hücrelerin bir kısmı rezerv materyalde kaldığı için bunların mikroskopik değerlendirmesi yapılamaz. Sitoteknikler veya sitopato-

loglar servikal sitoloji preparatlarını tararken, sitomorfolojik özelliklerin kuşkulu fakat kesin tanı için yetersiz olduğu, sitolojik bulguların hasta öyküsü ile uyumlu olmadığı, selülarite ve preparasyon kalitesinin optimal olmadığı bazı olgularda rezerv materyalden ikinci bir preparat hazırlanmaktadır. İlk preparatta negatif olan vakaların bir kısmının ikinci preparatına pozitif tanı verilmekte, yine bazı pozitif vakalarda ise tanı upgrade edilebilmektedir. HR-HPV sonucu bilinmeyen vakalarda rezerv materyalden ilave bir preparat daha hazırlanmasının sitolojik tanıyı değiştirme oranının önemsiz veya minimum olduğu bildirilmektedir.<sup>[9]</sup> 105 vaka ile yürütülen bir çalışmada her vakanın rezerv materyalinden 10 adet yeni preparat hazırlanmış ve olguların %14 kadarında sitolojik tanının upgrade edildiği gösterilmiştir.<sup>[12]</sup> Çalışmamızda HR-HPV pozitif, PAP smeari negatif vakaların %19,2'sine ilave bir preparat ile pozitif tanı verilmesinin çok yüksek bir oran olduğu ileri sürülebilir. Servikal premalign lezyonlar ve karsinomlar ile HPV arasında çok güçlü bir ilişki vardır.<sup>[13]</sup> Bu nedenle HR-HPV pozitif, PAP testi negatif vakaların ikinci SBS preparatlarının %19,2 pozitif olması beklenilebilecek bir sonuçtur. Servikal biyopsi yapılan 26 vakamızdan elde ettiğimiz veriler sitoloji sonuçlarımızı destekler niteliktedir. Biyopside 26 olgunun 20'sinde (%77) skuamöz intraepitelial lezyon (15 LSIL, 5 HSIL) olması, HR-HPV pozitif olguların yüksek riskli bir grup olduğunu göstermektedir. Sonuçlarımıza göre HR-HPV pozitif, PAP smear negatif vakalarda ikinci preparat hazırlanması gereklidir ve bu uygulama ile hasta yönetimi %19,2 olguda değişebilir, takip sayısı ve süresi azaltılabilir. İlave preparat hazırlanması ile SBS'nin rezerv materyal avantajının kaybedileceği söylenebilir. Vakaların HR-HPV tipi belirlenmiş olduğu için rezerv materyal bulundurulması çok gerekli değildir. Ayrıca serviksten sitolojik örnek almak kolay ve ucuz bir işlemdir, ek testler ve moleküler analiz gerekir ise yeni bir örnek alınabilir. Bu çalışmanın kısıtlılığı vaka sayımızın az olmasıdır. Sonuçlarımız HR-HPV ile premalign servikal lezyonların ilişkisinin çok güçlü olduğu bilgisini desteklemektedir. Daha çok sayıda vaka ile yapılacak yeni çalışmaların sonuçlarımızı destekleyeceği öngörülebilir.

## Sonuç

HR-HPV pozitif, PAP smear negatif vakalarda ikinci bir sıvı bazlı preparat hazırlanması ile pozitif sitolojik tanı verilen vaka sayısı artar. Bu uygulama ile hasta yönetimi değişir, kontrol sayısı azalır ve takip süresi kısalmır.

## Açıklamalar

**Etik Komite Onayı:** Çalışma için, lokal etik komiteden onay alındı (ATADEK 2019-7/12).

**Hakemli:** Dış bağımsız.

**Çıkar Çatışması:** Bildirilmemiştir.

**Yazarlık Katkıları:** Konsept –D.Ş., N.K.; Tasarım – D.Ş., M.A.; Kontrol – N.Ş., D.Ş.; Materyal – D.Ş., M.A.; Veri toplama ve/veya işleme – D.Ş., M.A.; Analiz ve/veya yorumlama – D.Ş., N.K.; Kaynak taraması – D.Ş., N.K.; Yazan – D.Ş., N.K.; Kritik revizyon – D.Ş., N.K.

## Kaynaklar

- Doğan O, Pulatoğlu Ç, Başbuğ A, Kaya AE, Yassa M. Discriminating Performance of Early Uterine and Cervical Artery Pulsatility and Resistivity In Pre-Invasive Cervical Lesions. *Med Bull Sisli Etfal Hosp* 2018;52:206–11.
- Ghaffari SR, Sabokbar T, Mollahajian H, Dastan J, Ramezanzadeh F, Ensani F, et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes in women with normal and abnormal cervical cytology in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2006;7:529–32.
- Schiffman M, Burk RD, Boyle S, Raine-Bennett T, Katki HA, Gage JC, et al. A study of genotyping for management of human papillomavirus-positive, cytology-negative cervical screening results. *J Clin Microbiol* 2015;53:52–9.
- Carozzi F, Ronco G, Confortini M, Noferini D, Maddau C, Ciatto S, et al. Prediction of high-grade cervical intraepithelial neoplasia in cytologically normal women by human papillomavirus testing. *Br J Cancer* 2000;83:1462–7.
- Petry KU, Rinnau F, Böhmer G, Hollwitz B, Luyten A, Buttmann N, et al. Annual Papanicolaou screening for 5 years among human papillomavirus-negative women. *BMC Cancer* 2013;13:379.
- Kinney W, Fetterman B, Cox JT, Lorey T, Flanagan T, Castle PE. Characteristics of 44 cervical cancers diagnosed following Pap-negative, high risk HPV-positive screening in routine clinical practice. *Gynecol Oncol* 2011;121:309–13.
- 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. *Am J Clin Pathol* 2012;137:516–42.
- Jeong H, Hong SR, Chae SW, Jin SY, Yoon HK, Lee J, et al. Comparison of Unsatisfactory Samples from Conventional Smear versus Liquid-Based Cytology in Uterine Cervical Cancer Screening Test. *J Pathol Transl Med* 2017;51:314–9.
- Massarani-Wafai R, Bakhos R, Wojcik EM, Selvaggi SM. Evaluation of cellular residue in the ThinPrep PreservCyt vial. *Diagn Cytopathol* 2000;23:208–12.
- Ritu N, Wilbur D. C. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. Definitions, Criteria and Explanatory Notes. 3rd ed. New York: Springer; 2014. p. xii–xv.
- Whitlock EP, Vesco KK, Eder M, Lin JS, Senger CA, Burda BU. Liquid-based cytology and human papillomavirus testing to screen

- for cervical cancer: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2011;155:687–97.
12. Grapsa D, Ioakim-Liossi A, Stergiou E, Petrakakou E, Nicolopoulou-Stamati P, Patsouris E, et al. Additional slides from residual ThinPrep Pap tests: Of potential diagnostic benefit in equivocal cases? *Diagn Cytopathol* 2012;40:856–60.
13. Beyazit F, Silan F, Gencer M, Aydin B, Paksoy B, Unsal MA, et al. The prevalence of human papillomavirus (HPV) genotypes detected by PCR in women with normal and abnormal cervico-vaginal cytology. *Ginekol Pol* 2018;89:62–7.