

Klinik Çalışma

Serviksin Prekanseröz Lezyonlarında Human Papilloma Virus (HPV) Tiplerinin Belirlenmesi

Hayriye Eren^{*}, Nail Özgüneş^{**}, Yasemin Bayram^{***}, Kadir Güzin^{****}, Mehmet Parlak^{*****}

Özet

Amaç: Çalışmada, hastanemizdeki prekanseröz servikal lezyonlardaki Human Papilloma Virus (HPV) tiplerinin belirlenmesi ve bunların çeşitli risk faktörleriyle olan ilişkilerinin irdelenmesi amaçlandı.

Yöntem: Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne jinekolojik şikâyetlerle başvuran toplam 61 olgunun Pap smear testi yapıldı. Hastalardan alınan servikal örneklerde otomatize Auto-lipa cihazıyla (Gen ID) revers hibridizasyon yöntemi kullanılarak HPV tiplendirilmesi yapıldı. HPV DNA pozitifliği ile yaş, parite sayısı, cinsel aktivite süresi, sigara, oral kontraseptif kullanımı arasındaki ilişki araştırıldı.

Bulgular: Smear testi normal olan olgularda HPV DNA pozitiflik oranı % 36 iken, high-grade-squamoz-intraepitelyal-lezyon (HSIL) tanısında % 87.5; low-grade-squamoz-intraepitelyal-lezyon (LSIL)'de % 50 ve önemi-saptanamayan-atipik-squamoz-hücreler (ASCUS)'ta % 11.1 olarak bulundu. HSIL tanısı konulan olgulardaki HPV pozitiflik oranı istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir şekilde yüksek saptandı. En sık saptanan HPV tipleri 16 ve 18 oldu. HPV ile sigara kullanımı arasında pozitif bir ilişki saptanırken, cinsel aktivite süresinin artmasıyla HPV pozitifliğinin azaldığı tespit edildi. HPV DNA pozitif olguların yaş ortalamaları negatif olgulara göre daha düşük bulundu. Diğer faktörlerle HPV arasında ise istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmadı.

Sonuç: HPV'nin bazı tiplerinin serviksteki sitolojik değişikliklerden sorumlu olabileceği görüldü. Genel olarak HPV saptama oranının nispeten yüksek ve bunun genç yaşlarda daha fazla olduğu bulundu. Ayrıca sigara kullananlarda HPV DNA daha yüksek oranda saptandı.

Anahtar kelimeler: Servikal lezyon, human papilloma virus (HPV), risk faktörleri

Serviks kanseri, kadınlarda tüm yaşlarda meme ve akciğer kanserinden sonra üçüncü sıklıkta görülen bir kanser türüdür ve kadınlarda kansere bağlı ölümler içinde ikinci sırada yer almaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar serviks kanseri için ana risk faktörünün Human Papilloma Virus (HPV) olduğunu göstermiştir (1, 2).

Dünyada yılda 493,000 kadının servikal kansere yakalandığı ve 273.505 kadının da bu hastalıktan öldüğü bildirilmektedir. Yapılan çalışmalarda Pap smear testinin servikal kansere bağlı ölüm insidansını azalttığı bildirilmiştir (3, 4).

HPV'nin 118 farklı tipi olmasına rağmen servikal kanserlerde en çok izole edilen tipler HPV 16 ve 18'dir. HPV tip 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 ve 82 yüksek riskli; tip 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 ve 81 ise düşük riskli olarak tanımlanmaktadır (5, 6). HPV kültürü yapılamadığından ve serolojik analizler de kullanışlı olmadığından, HPV enfeksiyonlarının tanısı moleküler yöntemlerle, HPV-DNA'nın saptanması ile olmaktadır (7). Serviks kanseri büyük ölçüde önenebilir bir hastalıktır. Özellikle tarama programları ile sıklıkla asemptomatik olan prekürsör lezyonlar tanımlanabilir ve bunlar etkili bir şekilde tedavi edilebilir. Çalışmada hastanemizdeki prekanseröz servikal lezyonlardaki HPV tiplerinin belirlenmesi ve çeşitli risk faktörleriyle olan ilişkilerinin saptanarak ülkemiz verilerine katkı sağlamak amaçlandı.

*Seka Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kocaeli

**Medeniyet Üniversitesi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, İstanbul

***Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van

****Medeniyet Üniversitesi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü, İstanbul

*****Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Van

Yazışma Adresi: Uz. Dr. Mehmet PARLAK

Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi,

Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Van

Tel: 0 (432) 217 76 04 (25 65)

E-mail: mehmetparlak65@hotmail.com

Makalenin Geliş Tarihi: 05.09.2012

Makalenin Kabul Tarihi: 04.02.2013

Materyal ve Metod

Çalışma, Şubat 2007 - Mayıs 2007 tarihleri arasında Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne çeşitli jinekolojik şikayetlerle başvuran hastalar üzerinde yürütüldü. Bu amaçla 61 hastadan Pap smear ve HPV DNA için örnekler alındı. İntraepitelyal lezyon saptanmayanlar ile birlikte LSIL, HSIL ve ASCUS tanısı alanlardan elde edilen servikal sürüntü örneklerinde HPV DNA'nın varlığı araştırılarak HPV tiplerinin insidansı belirlenmeye çalışıldı. Sonuçlar değerlendirilirken sigara kullanımı, cinsel aktivitenin süresi, oral kontraseptif (OK) kullanımı, yaş, multiparite, cinsel partner sayısı gibi faktörler değerlendirildi.

Servikal fırça (cervical brush) ile alınan smear örnekleri lam üzerine yayılarak incelenmek üzere hastanemiz patoloji laboratuvarına gönderildi. Patoloji laboratuvarında Hematoksilen-Eozin boyası ile boyanıp Bethesda 2001 ve Pap class sistemi ile değerlendirildi. HPV DNA saptamak için kolposkopik muayene esnasında Female Swab Specimen Collection Kiti ile sürüntü örnekleri alınarak taşıyıcı besiyerini içeren tüpe yerleştirildi. Eküvyonun tüp dışında kalan kısmı kırıldıktan sonra kapağı kapatılıp 15-30 dakika içinde hastanemiz moleküler laboratuvarına gönderildi. Bu örneklerden İvisorb (PSP) Spin SWAB Kiti kullanılarak üreticinin önerileri doğrultusunda DNA izolasyonu yapıldı. Receiver tüpte kalan ve saf DNA içeren filtrat için HPV genomunun E1 bölgesine karşı hazırlanmış biyotin işaretli primerler kullanılarak amplifikasyon işlemi uygulandı. Bu işlem sonunda her seferinde biotin işaretli primerler kullanılarak, otuz döngü sonucu elde edilen 145 bp'lik amplifikasyon ürünü (amplikon) elde edildi. HPV tiplendirilmesi otomatize Auto-lipa (Gen ID) cihazıyla yapıldı. Bu cihaz, HPV'nin yüksek ve düşük riskli genotiplerini belirleyen GEN ID kiti PCR ve sekans spesifik oligonükleotid problemlerini kullanarak revers hibridizasyon yöntemine göre çalışmaktadır.

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 10.0 programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (ortalama, standart sapma, frekans) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin ikiden fazla gruplar arası karşılaştırmalarında One way Anova testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin ikiden fazla grup

arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Mann-Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılım gösteren parametrelerin iki grup karşılaştırmalarında student t testi, normal dağılım göstermeyen parametrelerin iki grup karşılaştırmalarında ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi ve Fisher's Exact Ki-Kare testi kullanıldı. Sonuçlar, %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

Bulgular

Çalışmaya dâhil edilen 61 olgunun yaşları 22 ile 68 arasında değişmekte olup yaş ortalamaları 39.56 olarak belirlendi. Olguların smear incelemeleri sonucunda, 22'sinde (%36.1) lezyon görülmezken, 22'sine (%36.1) low-grade-squamous-intraepitelyal-lezyon (LSIL), 9'una (%14.8) önemi-saptanamayan-atipik-squamous-hücreler (ASCUS), 8'ine de (%13.1) high-grade-squamous-intraepitelyal-lezyon (HSIL)tanısı konuldu. HPV DNA, servikal örneklerin 27'sinde (%44.2) pozitif olarak saptandı. Lezyon saptanmayan 22 olgunun 8'inde (%36.4) HPV DNA pozitif bulundu. HPV DNA pozitiflik oranları Tablo 1'de verildi. Tanılara göre HPV pozitifliği dağılım oranları arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0.01$). Bu sonuçlara göre; HSIL tanısında HPV pozitifliği oranı (%87.5); LSIL ve ASCUS tanısı konulan olgulardaki HPV pozitifliği oranından (sırasıyla %50 ve %11.1) istatistiksel olarak oldukça anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p < 0.01$). Ayrıca LSIL tanısı konulan olgulardaki yüksek HPV pozitifliği oranı, ASCUS tanısı konulan olgulardaki HPV pozitifliği oranından istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.01$). Ayrıca, lezyon saptanmayan olgularda düşük riskli HPV tipleri daha fazla saptanırken; LSIL, ASCUS ve HSIL tanısı alanlarda düşük riskli HPV tipi saptanmadı. Çalışmada saptanan HPV genotipleri ve bunların tanılara göre dağılımı tablo 2'de verildi.

Tablo 1. Tanılara göre HPV sonuçlarının dağılımı

	HPV		p
	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	
LSIL	11 (50)	11 (50)	$X^2: 9,925$; $p: 0,007^{**}$
ASCUS	1 (11,1)	8 (88,9)	
HSIL	7 (87,5)	1 (12,5)	

LSIL: low-grade-squamous intraepitelyal-lezyon; ASCUS: önemi-saptanamayan-atipik-squamous hücreler; HSIL: high-grade-squamous-intraepitelyal lezyon; X^2 : Ki-kare test; **: $p < 0,01$

Tablo 2. Tanılara göre HPV tiplerinin dağılımı

HPV Tipi	Lezyon Yok n (%)	LSIL n (%)	ASCUS n (%)	HSIL n (%)
HPV HR	-	3 (27,3)	1 (100)	-
HPV LR	4 (50)	-	-	-
HPV 16	-	1 (9,1)	-	2 (28,6)
HPV 18	-	-	-	3 (42,9)
HPV 30 tipleri	1 (12,5)	2 (18,2)	-	1 (14,3)
HPV 45	1 (12,5)	-	-	1 (14,3)
HPV 50 tipleri	2 (25)	5 (45,5)	-	-
Toplam	8 (100)	11 (100)	1 (100)	7 (100)

HPV: Human Papilloma Virus; LSIL: low-grade-squamoz-intraepitelyal-lezyon; ASCUS: önemi-saptanamayan-atipik-squamoz-hücreler; HSIL: high-grade-squamoz-intraepitelyal-lezyon; HR: yüksek risk; LR: düşük risk

Olguların parite sayıları; 1 ile 7 arasında (ort. 2.56), cinsel aktivite süreleri; 2 yıl ile 40 yıl arasında (ort. 15.8 yıl) bulundu. Olguların %39.3'ü kontraseptif kullanmakta iken sigara kullanım oranı %45.9 bulundu. Sigara kullanan olguların kullanım süreleri 5 ile 25 yıl arasında değişmekte olup ortalama 12.25 yıl olarak bulundu. HPV pozitifliği ile yaş, parite sayısı, sigara kullanma süresi, cinsel aktivite süresi sigara kullanımı ve kontraseptif kullanımı arasındaki istatistiksel değerlendirmeler tablo 3'te verildi. Buna göre; HPV pozitif ve negatif

olgular arasında yaş ortalaması, parite sayısı, sigara kullanma, kontraseptif kullanımı ve ilk koit yaşı açısından istatistik olarak anlamlı fark bulunmadı. HPV pozitif olguların cinsel aktivite süreleri, negatif olguların cinsel aktivite sürelerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde kısa bulundu ($p<0.05$). Sigara kullanan olgulardaki HPV pozitiflik oranı (%67.9); sigara kullanmayan olgulardaki HPV pozitiflik oranından (%27.3) istatistik olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0.01$).

Tablo 3. HPV pozitifliğinin çeşitli risk faktörleri ile değerlendirilmesi

	HPV		Test ist.; p
	(+) Ort±SS	(-) Ort±SS	
Yaş	36,89±9,92	41,83±11,34	t:-1,790; p:0,079
Parite Sayısı (Medyan)	2,62±0,97 (3)	2,50±1,32 (2)	Z:-0,669; p:0,503
Sigara Kullanma Süresi (yıl)	11,58±5,79	13,67±4,24	t:-0,961; p:0,345
Cinsel Aktivite Süresi	13,00±6,38	17,78±10,88	t:-2,044; p:0,046*
	n (%)	n (%)	
Sigara Kullanımı	Var	19 (67,9)	X ² :10,047; p:0,002**
	Yok	9 (27,3)	
Kontraseptif Kullanımı	Var	12 (50,0)	X ² :0,268; p:0,605
	Yok	16 (43,2)	

t: Student t testi, Z: Mann Whitney U test, X²: Ki-kare test, * $p<0,05$ ** $p<0,01$: Fisher's Exact Test, Ort±SS: Ortalama±Standart sapma

Tartışma

Çeşitli ülkelerde, hatta ülkemizin çeşitli bölgelerinde HPV DNA pozitiflik oranları farklılıklar göstermektedir. HPV DNA pozitifliği üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde; İran'da normal servikal sitoloji gösteren hastalarda yapılan bir çalışmada HPV DNA pozitiflik oranı %13 olarak bulunmuştur (8). Yurtdışında yapılan iki çalışmada tarama grubunun %23.6-27.2'sinde HPV pozitif olarak bildirilmiştir (9, 10). Ülkemizde yapılan bazı

çalışmalarda olguların %18.6 ve 20'sinde HPV saptanmıştır (7, 11). Çalışmamızda toplam HPV DNA pozitifliği %44.2 iken, papsmear testinde hücresel değişiklik saptanmayan olgularda HPV DNA pozitifliği %36.4 olarak bulundu. Bu oranların yüksekliği Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne çeşitli jinekolojik şikâyetlerle başvuran hastalar üzerinde yürütülmüş olması yanı sıra olgu sayısının nispeten az olmasına bağlı olabileceği düşünüldü. Ayrıca hücresel değişiklik saptanmayan olgulardaki HPV DNA pozitiflik yüzdesinin ASCUS tanısı alan

olgularından yüksek olması bu lezyonda HPV dışında başka nedenlerin de yol açabileceğini düşündürdü.

Yapılan çalışmalarda HSIL grubundaki HPV DNA pozitifliğinin LSIL ve/veya ASCUS grubundakilere göre yüksek olduğu bildirilmektedir. Abalı ve ark. (12) çalışmalarında HPV DNA pozitifliğini HSIL grubunda %100, LSIL grubunda %14.2 ve ASCUS grubunda %13.5 olarak belirlemişlerdir. Park ve ark. (13) ise çalışmalarında yüksek riskli HPV DNA pozitiflik oranını; normal servikal sitolojiye sahip kadınlarda %17.6, LSIL grubundaki kadınlarda %73.5, HSIL grubunda %92.2 ve invaziv servikal kanserli olgularda %95.2 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda HSIL, LSIL ve ASCUS gibi patolojik smearlerdeki HPV DNA pozitifliği sırasıyla; %87.5, %50 ve %11.1 olarak bulundu. HSIL grubundaki HPV DNA pozitifliği, LSIL ve ASCUS grubundaki pozitiflikten istatistik olarak anlamlı yüksek olduğu bulundu.

HPV genotiplerinin araştırıldığı çalışmalar incelendiğinde; Ergünay ve ark. (14) 14 ASCUS, 3 ASC-H (Atypical squamous cells-HSIL dışlanmayan), 5 HSIL, ve 7 LSIL olgusunu dahil ettikleri çalışmalarında en sık karşılaştıkları HPV tipinin %50 ile HPV 16 olduğunu, HPV 18'in %10.7 ile ikinci, HPV 53'ün ise üçüncü sırada olduğunu bildirmişlerdir. Bell ve ark. (15) yüksek ve düşük riskli HPV tiplerini araştırdıkları, normal servikal sitolojiye sahip kadınlarda en sık rastlanılan HPV tipinin sırasıyla HPV 16, 73, 72, 59, 58,11 olduğunu, ASCUS'lu kadınlarda ise HPV 16, 45, 18 ve 59 olduğunu, LSIL grubunda HPV 59, 18, 39, 11 olduğunu, HSIL grubunda ise HPV 16, 39, 56 ve eşit oranda HPV 18, 31, 68, 82, 35, 6,11 olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda en sık saptanan HPV tipinin HPV 16 ve 18 olduğu bulundu. Ancak HPV DNA pozitif olgu sayılarımız HPV tipleri için ileri düzeyde bir irdeleme yapmaya yeterli görülmemiştir.

HPV pozitifliğinin yaşla ters orantılı olduğu, genel HPV saptama oranının, 30 yaş üstündeki kadınlara göre genç kadınlarda (18-25 yaş) daha fazla olup yaşla birlikte düştüğü bildirilmektedir (16). Bu yayına göre HPV prevalansının 20-24 yaş arasında en yüksek olduğu görülmüştür. Çalışma grubumuzda HPV DNA pozitifliğinin yaş ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Buna rağmen Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran ve sınırlı olgu üzerinde yürütülen çalışmada HPV DNA pozitif olguların yaş ortalamaları, HPV DNA negatif olgularımıza göre daha düşük bulundu.

Sigara içenlerde içmeyenlere göre yüksek saptanan onkojenik HPV oranının enfekte

kadınlarda servikal kanser ve servikal intra epitelyal neoplazi grade 3 (CIN III) prekürsör lezyon riskini artırdığı bildirilmektedir (17, 18). Çalışmamızda sigara kullanım süreleri ile HPV DNA pozitifliği arasında anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen, sigara kullanan olguların HPV DNA pozitifliği, sigara kullanmayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulundu.

Dünyanın çeşitli bölgelerinde yapılan araştırmalarda multiparite ve diğer risk faktörlerinin HPV infeksiyonunun persiste etmesinden sorumlu olabileceği bildirilmiş ise de; HPV ile multiparitenin direkt ilişkisi gösterilememiş ve multiparitenin, serviks kanserini artırıcı etkisinin HPV üzerinden değil, doğum esnasındaki servikal travma ve gebelikteki hormonal durum veya beslenme alışkanlıkları ile ilgili olabileceğini ileri sürmüşlerdir (19). Çalışmamızda da bu verilerle uyumlu olarak gebelik sayısı ile HPV DNA pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki gösterilemedi.

Oral kontraseptif kullanımının servikal kanser oluşturmada kolaylaştırıcı faktör olabileceği çeşitli çevrelerce ileri sürülmektedir (20, 21). Ancak sigara ve OK kullanımı ile HPV infeksiyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını bildiren çalışmalar bildirilmiştir (22, 23). Çalışmamızda da OK kullanan ve kullanmayan olguların HPV pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

İlk koit yaşı ile HPV pozitifliği üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, erken koit yaşının HPV enfeksiyonu için risk faktörü olup olmadığı konusunda farklı sonuçlar bulunmuştur. Bauer ve ark. (24) çalışmalarında erken koit yaşının HPV saptama oranını arttıran faktörlerden biri olduğunu bildirmiştir. O'Keefe ve ark. (25) ise 16-19 yaşları arasında seksüel aktif kadınları dahil ettikleri çalışmalarında ilk koit yaşı ile HPV DNA arasında anlamlı bir ilişkiye ulaşmadıklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda evli olmayan dört kişi dışında, evlilik yaşı esas alınarak cinsel aktivite süresi hesaplanmış ve HPV infeksiyonu ile cinsel ilişki süresi arasında ters orantı bulunmuştur. HPV DNA pozitif ve HPV DNA negatif olguların ilk koit yaşları incelendiğinde ise istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmadı.

Sonuç olarak; HPV'nin bazı tiplerinin serviksteki sitolojik değişikliklerden sorumlu olabileceği görülmüştür. Genel olarak HPV saptama oranının, çalışmanın jinekolojik şikayetlerle başvuran hastalar üzerinde yürütülmüş olması ve olgu sayısının az olması nedeni ile nispeten yüksek olduğu ve bu oranın genç yaşlarda daha fazla olduğu bulundu. Ayrıca sigara kullananlarda HPV DNA daha yüksek oranda saptandı.

Determination of human papilloma virus (HPV) types in precancerous cervical lesions

Abstract

Aim: In this study, it was aimed to assess the relation between Human Papillomavirus (HPV) and various risk factors by determination of HPV types in precancerous cervical lesions in our hospital.

Methods: A Pap smear test was performed on a total of 61 patients who applied to the Obstetrics and Gynecology Clinic with some gynecological complaints. HPV typing was performed in cervical samples collected from the patients by reverse hybridization method using automated Auto-lipa system (Gen ID). The relation between HPV DNA positivity and the age, parity, sexual activity duration, smoking and oral contraceptive use was investigated.

Results: Whereas HPV DNA positivity rate of the cases with normal Pap test results was 36%, this was 87.5% in patients diagnosed with high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL), 50% in low-grade-squamous-intraepithelial-lesion (LSIL) and 11.1% in atypical-squamous-cells-of-undetermined-significance (ASCUS). HPV DNA positivity rate of the cases diagnosed with HSIL was found to be statistically significantly high. The most frequently identified types of HPV were 16 and 18. While a positive relation was determined between cigarette smoking and HPV positivity, it was found that an increase in the duration of sexual activity reduced HPV positivity. The average age of HPV DNA positive cases was found to be lower than that of HPV negative cases. No statistically significant evidence of a relation between other factors and HPV was found.

Conclusion: It was seen that some HPV types could be responsible for the cervical cytological changes. Generally, the detection rate of HPV was found to be relatively high and this was more pronounced in younger ages. Additionally, HPV DNA rate was found to be higher in smokers.

Key words: Cervical lesion, human papilloma virus (HPV), risk factors

Kaynaklar

1. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. GLOBO CAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide IARC CancerBase No 5, version 2.0. Lyon: France: IARC Press; 2004.
2. Akhan SE. Ülkemizde servikal kanser epidemiyolojisi ve HPV serotipleri. ANKEM Derg 2007; 21(2):96-98.
3. Ceyhan M. İnsan Papillomavirus Aşısının Uygulanmasında Ülkemizde Mevcut Problemler. ANKEM Derg 2007; 21(2):102-104.
4. Gökaslan H, Uyar EE. Pap smear ile servikal kanser taraması. Türk Aile Hek Derg 2004; 8(3):105-110.
5. Touzé A, de Sanjosé S, Coursaget P, Almirall MR, Palacio V, Meijer CJ, et al. Prevalence of anti-human papillomavirus type 16, 18, 31, and 58 virus-like particles in women in the general population and in prostitutes. J Clin Microbiol 2001; 39(12):4344-4348.
6. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med 2003; 348(6):518-527.
7. Yetimalar H, Köksal A, İnceoğlu M, Kasap B. Premalign ve malign servikal lezyonlu hastalarda HPV enfeksiyonu. TJOD Derg 2009; 6(4):273-278.
8. Ghaffari SR, Sabokhar T, Mollahajian H, Dastan J, Ramezanzadeh F, Ensani F, et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes in womwn with normal and abnormal cervical cytology in İran. Asian Pac J Cancer Prev 2006; 7(4):529-532.
9. Kulmala SM, Shabalova IP, Petrovitchev N, Syrjänen KJ, Gyllensten UB, Syrjänen SM. Prevalence of the most common high-risk HPV genotypes among women in three new independent states of the former Soviet Union. J Med Virol 2007; 79(6):771-781.
10. Kroupis C, Thomopoulou G, Papathomas TG, Vouglidis N, Lazaris AC. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Athens, Greece. Epidemiol Infect 2007; 135(6):943-950.
11. Inal MM, Köse S, Yildirim Y, Ozdemir Y, Töz E, Ertopçu K ve ark. The relationship between human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia in Turkish women. Int J Gynecol Cancer 2007; 17(6):1266-1270.
12. Abalı R, Bozkurt S, Arıkan İ, Şahin A, Erdener O, Özkılıç T ve ark. Serviksin Prekanseröz Lezyonlarının Değerlendirilmesinde Sitoloji, Kolposkopi, Histoloji ve Human Papillomavirusün Yeri. Jinekoloji ve Obstetrik Dergisi 2006; 20:38-45.
13. Park TC, Kim CJ, Koh YM, Lee KH, Yoon JH, Kim JH, et al. Human papillomavirus genotyping by the DNA chip in the cervical neoplasia. DNA Cell Biol 2004; 23(2):119-125
14. Ergünay K, Misirlioğlu M, Pinar F, Tuncer ZS, Tuncer S, Ustaçelebi S. Sitolojik Olarak Anomali Saptanan Serviks Örneklerinde İnsan Papilloma Virus DNA'sının Araştırılması ve Virusun Tiplendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2007; 41(2):219-226.
15. Bell MC, Schmidt-Grimminger D, Patrick S, Ryschon T, Linz L, Chauhan SC. There is a high prevalence of human papillomavirus infection in American Indian women of the Northern Plains. Gynecol Oncol 2007; 107(2):236-241.
16. Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, McQuillan G, Swan DC, Patel SS, et al. Prevalence of HPV

- infection among females in the United States. *JAMA* 2007; 297(8):813-819.
17. Xi LF, Koutsky LA, Castle PE, Edelstein ZR, Meyers C, Ho J, et al. Relationship between cigarette smoking and human papilloma virus types 16 and 18 DNA load. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18(12):3490-3496.
 18. Nyári T, Cseh I, Woodward M, Szöllösi J, Bak M, Deák J. Screening for human papillomavirus infection in asymptomatic women in Hungary. *Hum Reprod* 2001; 16(10):2235-2237.
 19. Şentürk M. Uzun süre RİA kullanan olgularda servikal sitolojik ve kolposkopik değişiklikler. (Uzmanlık tezi) Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul 2005.
 20. Bertram CC. Evidence for practice: oral contraception and risk of cervical cancer. *J Am Acad Nurse Pract* 2004; 16(10):455-461.
 21. Moreno V, Bosch FX, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV, Walboomers JM, et al. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002; 359(9312):1085-1092.
 22. Polat H, Yarkın F, Vardar MA, Serin MS, Köksal F. Servikal kanserli kadınlarda Human Papillomavirusu İnfeksiyonları ve Diğer risk Faktörlerinin Saptanması *İnfeksiyon Dergisi* 1996; 10(1):13-19.
 23. Centurioni MG, Puppo A, Merlo DF, Pasciuccio G, Cusimano ER, Siritto R, et al. Prevalence of human papillomavirus cervical infection in an Italian asymptomatic population. *BMC Infect Dis* 2005; 5:77.
 24. Bauer HM, Hildesheim A, Schiffman MH, Glass AG, Rush BB, Scott DR, et al. Determinants of genital human papillomavirus infection in low-risk women in Portland, Oregon. *Sex Transm Dis* 1993; 20(5):274-278.
 25. O'Keefe EJ, Gardner A, Currie MJ, Garland S, Tabrizi S, Bowden FJ. Prevalence of genital human papillomavirus DNA in a sample of senior school-aged women in the Australian Capital Territory. *Sex Health* 2006; 3(2):91-94.