

مقایسه کیفیت اسمیر در سه روش نمونه گیری پاپ اسمیر

دکتر طاهره خامه‌چیان: استادیار گروه پاتولوژی و بافت‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی کاشان

نویسنده رابط: Khamechiant@yahoo.com

دکتر زهره طبسی: استادیار گروه زنان و مامایی دانشگاه علوم پزشکی کاشان

طاهره مازوچی: مربی گروه پاتولوژی و بافت‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی کاشان

دکتر اعظم مصداقی‌نیا: استادیار گروه فارماکولوژی و فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان

دریافت: ۸۳/۱۰/۲۹ پذیرش: ۸۴/۱۲/۲۳

چکیده:

زمینه و هدف: تست پاپ‌اسمیر، از بهترین روش‌های غربالگری بیماری‌های دهانه رحم به ویژه ضایعات بدخیم آن می‌باشد. مسئله مهم، تهیه نمونه با کیفیت مناسب است. کیفیت نامناسب نمونه پاپ اسمیر، در برخی موارد پاتولوژیست پزشک و بیمار را سردرگم می‌کند. لذا تلاش در جهت تعیین بهترین وسیله نمونه‌گیری پاپ اسمیر، از سالها پیش آغاز شده و کماکان ادامه دارد. این تحقیق، مطالعه ای مقایسه‌ای بین سه روش نمونه‌گیری پاپ اسمیر می‌باشد. هدف از این مطالعه، مقایسه روش‌های تهیه نمونه پاپ اسمیر و ارائه بهترین روش براساس کیفیت مناسب تعریف شده برای نمونه است.

روش کار: طی یک مطالعه مقطعی از ۶۰۰ خانم مراجعه‌کننده به یک کلینیک خصوصی زنان (کاشان) که واجد شرایط نمونه‌گیری بودند، تست پاپ اسمیر به سه روش (سواب - اسپچولا)، (سیتوبرس - اسپچولا) و (اسپچولا به تنهایی) اخذ شد. هر روش به صورت تصادفی و به ترتیب پذیرش افراد، روی ۲۰۰ نفر اعمال گردید. تفسیر لامها به صورت همگون، توسط پاتولوژیست و به طریق ناآگاه (Blind) انجام شد. در نهایت، کیفیت اسمیر به صورت مناسب و نامناسب اعلام گردید.

نتایج: از میان ۲۰۰ مورد نمونه‌گیری به روش (سواب - اسپچولا)، ۱۵۰ مورد (۷۵ درصد) اسمیر با کیفیت مناسب و ۵۰ مورد (۲۵ درصد) اسمیر با کیفیت نامناسب حاصل شد. از میان ۲۰۰ مورد نمونه‌گیری به روش (سیتوبرس - اسپچولا)، ۱۸۸ مورد (۹۴ درصد) اسمیر با کیفیت مناسب و ۱۲ مورد (۶ درصد) اسمیر با کیفیت نامناسب به دست آمد و بالاخره این که از میان ۲۰۰ مورد نمونه‌گیری به روش (اسپچولا به تنهایی)، ۱۷۶ مورد (۸۸ درصد) اسمیر با کیفیت نامناسب و ۲۴ مورد (۱۲ درصد) اسمیر با کیفیت نامناسب حاصل گشت. تفاوت بین نسبت کیفیت پاپ اسمیر در دو روش نمونه‌گیری سواب اسپچولا و اسپچولا ($p=0/0013$)، سواب اسپچولا و سیتوبرس اسپچولا ($p < 0/0001$) و اسپچولا ($p < 0/036$) معنی‌دار بود.

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که (سیتوبرس) در مقایسه با سایر روش‌ها، بالاترین میزان اسمیر با کیفیت مناسب را در اختیار می‌گذارند. بنابراین لازم است تا مزایای استفاده از سیتوبرس، همراه با نحوه صحیح کاربرد آن، هرچه بیشتر در سطح سیستم بهداشتی درمانی کشور بیان شود تا علاوه بر غربالگری مطلوب‌تر بیماری‌های سرویکس، جوانب اقتصادی و فرهنگی مسئله نیز ملحوظ گردد.

واژگان کلیدی: پاپ‌اسمیر، کیفیت اسمیر، روش نمونه‌گیری، سیتولوژی، مقایسه

مقدمه:

کارسینوم سرویکس، زمانی شایع‌ترین فرم کانسر در زنان کل دنیا بود، اما استفاده از روش غربالگری (سیتولوژی) پاپانیکولاو، برای زنان به صورت معجزه‌آسایی شیوع سالیانه تومورهای مهاجم را تا حدود ۱۲۹۰۰ مورد جدید و مرگ‌ومیر

را تا حدود ۴۴۰۰ (تخمین سال ۲۰۰۱) پائین آورده است

(Robbins S.L. 2003).

در ایالات متحده طی دهه‌های گذشته، بروز کارسینوم مهاجم (Invasive) سرویکس در میان زنان سفیدپوست و سیاه‌پوست کاهش یافته که نتیجه استفاده گسترده از برنامه

بطور مرتب جهت انجام سیتولوژی می‌باشد. از مهمترین عوامل دیگر، به کار بردن مؤثرترین روش جمع‌آوری نمونه است که بتواند نمونه مناسب را از ناحیه ترانزیشنال بدست آورد (Atkinson B.F. 2003). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که یکی از علل عمده موارد منفی کاذب، کیفیت نامناسب نمونه پاپ اسمیر می‌باشد (Kase N.G. 1990) و آزمایشگاه، نامناسب بودن اسمیر و تکرار آزمایش را پیشنهاد می‌کند (Unsatisfactory for evaluation). در این حالت نه تنها این مسئله برای اکثر زنان ناخوشایند است، بلکه سبب اتلاف وقت و به هدر رفتن سرمایه و نیروی انسانی می‌گردد. همچنین در بسیاری از موارد، اعتماد و اطمینان بیماران و افراد مورد آزمایش نسبت به فرد نمونه‌گیر سلب می‌گردد. علاوه بر این، در پاره‌ای از موارد، بیمار به دلایل داشتن جواب منفی از پاپ اسمیر خویش، با خاطری آسوده تا مدتها به سراغ تکرار آزمایش نمی‌رود و به این ترتیب، از حیطة مراقبت‌ها به دور می‌افتد و در این دوره زمانی، بیماری پیشرفت می‌کند و نهایتاً عواقب وخیمی گریبانگیر فرد و اجتماع می‌شود. در این خصوص، روش نمونه‌گیری صحیح می‌تواند از بروز چنین مشکلاتی جلوگیری نماید و شانس برداشتن سلولهای غیرطبیعی را بیشتر کند و میزان موارد تکرار آزمایش پاپ اسمیر را تا حد قابل توجهی کاهش دهد.

از سالها پیش، مطالعات گوناگونی در زمینه وسایل و روش‌های نمونه‌گیری و تعیین بهترین وسیله و روشی که توانایی تهیه مناسب‌ترین اسمیر را داشته باشد، صورت گرفته است. از جمله این وسایل، سیتوبرس می‌باشد که برای نمونه‌گیری از کانال اندوسرویکس به کار می‌رود. نتایج برخی از تحقیقات صورت گرفته نشان داده است که سیتوبرس در مقایسه با وسایل دیگر، وسیله مناسبتری می‌باشد. با وجود این در کشور ما در این مورد مطالعه زیادی انجام نشده و کماکان از وسیله‌ای که از سالها پیش بطور روتین، جهت نمونه‌گیری کاربرد داشته، یعنی اسپچولا چوبی نوع آیر، استفاده می‌گردد (هم برای اندوسرویکس و هم برای اگزوسرویکس).

این تحقیق، مطالعه‌ای مقایسه‌ای در مورد سه روش نمونه‌گیری پاپ اسمیر (سواب - اسپچولا، سیتوبرس -

غربالگری سیتولوژیک سرویکس می‌باشد (Rosai J. 2004). در سال ۱۹۴۰ کارسینوم سرویکس بالاترین علت مرگهای سرطانی در زنان ایالات متحده بود؛ اما مرگ‌ومیر اکنون کاهش یافته است و هشتمین مرگ به علت سرطان‌هاست. این کاهش واضح مرگ و میر (Mortality)، به علت تشخیص زودرس ضایعات پیش سرطانی است که مدیون تست پاپانیکولاو (پاپ اسمیر) می‌باشد و سالیانه ۱۳۰۰۰ مورد جدید سرطان مهاجم (Invasive cancer) و نزدیک به یک میلیون ضایعه پیش سرطانی در درجات مختلف، تشخیص داده می‌شوند (Mills S.E. et al. 2004).

موفق‌ترین دستکاری سیتولوژی بالینی در تشخیص کارسینوم انوازیو سرویکس و ضایعات پیش سرطانی آن می‌باشد و در غربالگری سیتولوژیک سرویکس، تشخیص کارسینومهای سرویکس از مرحله بالینی به مراحل پیش بالینی (Preclinical) سوق داده شده است (Rosai J. 2004).

تست پاپ اسمیر، از جمله آزمایشهایی است که از سالها قبل برای غربالگری بیماری‌های دهانه رحم به ویژه ضایعات بدخیم آن مورد استفاده قرار می‌گیرد (Kenneth J. et al. 1995) و بررسیهای مختلف، حاکی از تأثیر شایان انجام این تست بر کاهش بروز کارسینوم سرویکس و مرگ‌ومیر ناشی از آن است (Pearson T. 1990).

در مقابل، شیوع نیوپلازی داخلی اپی‌تلیالی سرویکس (CIN) افزایش پیدا کرده است که این مسئله، به شیوه بیماری‌زایی بهتر نسبت داده می‌شود. این اختلاف در حال پیشرفت، تعهدی را در زمینه شناسایی ضایعات پیش سرطانی و سرطانی در مراحل اولیه به وسیله پاپ اسمیر ایجاد می‌کند تا این ضایعات در مرحله‌ای که قابل درمان هستند کشف گردند و امتحان سیتولوژیک می‌تواند CIN را خیلی زودتر از هر ناهنجاری واضح تشخیص دهد (Robbins S.L. 2003)، معضل مهم در این تست، موارد منفی کاذب می‌باشد که در برخی آمارها تا حدود ۲۰ درصد و آمارهای دیگر بین ۵ تا ۵۰ درصد اعلام شده است (Pearson T. 1990). موفقیت غربالگری کانسرویکس، به عوامل متعددی بستگی دارد. مهمترین عامل، مراجعه زنان

آنگاه به روش گفته شده، از اسپچولا استفاده می‌گردید و نهایتاً در روش اسپچولا به تنهایی، مطابق با چگونگی استفاده از این وسیله در منابع معتبر علمی، استفاده می‌شد (Taylor P.T. 1987).

لامها توسط یک نفر پاتولوژیست بررسی و تفسیر شدند. روش کار به صورت ناآگاهانه (Blind) بود. سرانجام، کیفیت اسمیر به دو صورت نامناسب (اسمیر فاقد سلولهای اندوسرویکس و یا حاوی تعداد کمتر از ۲۵ سلول، مبهم شدن اسمیر توسط خون، و اسمیر غلیظ و ...) و مناسب (حاوی تعداد ۲۵ سلول اندوسرویکال یا بیشتر، اسمیر واضح و بدون ابهام و غلیظ نبودن اسمیر) اعلام شد. پس از اتمام نمونه‌گیری و استخراج اطلاعات از پرسشنامه‌ها، با بکارگیری آزمون آماری کای دو، تجزیه و تحلیل داده‌ها صورت گرفت.

نتایج:

طبق نتایج بدست آمده، فراوانی مربوط به کیفیت مناسب اسمیر در گروه سواب - اسپچولا، ۷۵ درصد (۱۵۰ مورد) در گروه سیتوبرس - اسپچولا، ۹۴ درصد (۱۸۸ مورد) و در گروه اسپچولا به تنهایی، ۸۸ درصد (۱۷۶ مورد) تعیین شد. نتیجتاً، فراوانی مربوط به کیفیت نامناسب اسمیر در سه گروه مذکور، به گروه سیتوبرس - اسپچولا و بیشترین فراوانی اسمیر نامناسب، مربوط به گروه سواب - اسپچولا می‌باشد. در این زمینه با انجام آزمون آماری، مشخص شد که بین کیفیت اسمیر و روش نمونه‌گیری، رابطه آماری معنی‌داری وجود دارد ($p < 0/0001$)؛ یعنی میزان کیفیت مناسب اسمیر در روش‌های نمونه‌گیری فوق‌الذکر، با یکدیگر تفاوت دارد.

براساس جدول شماره ۱، با مقایسه کیفیت اسمیر در دو روش نمونه‌گیری سواب - اسپچولا و سیتوبرس - اسپچولا و انجام آزمون آماری، مشخص شد که بین کیفیت اسمیر و روش نمونه‌گیری، اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < 0/0001$).

همچنین با مقایسه نسبت کیفیت مناسب اسمیر در دو روش نمونه‌گیری سواب - اسپچولا و اسپچولا به تنهایی و

اسپچولا و اسپچولا به تنهایی) می‌باشد که با بررسی کیفیت اسمیر به دست آمده، به ارزیابی وجود یا عدم تفاوت بین این روش‌ها در جهت تهیه اسمیر با کیفیت بهتر و مطلوبتر پرداخته شد.

روش کار:

پژوهش از نوع مقطعی صورت گرفت. نمونه‌های این پژوهش را ۶۰۰ نفر از زنان واجد شرایطی که طی سال ۱۳۸۰ به مطب خصوصی زنان (کاشان) مراجعه نمودند، تشکیل دادند که به تعداد مساوی در سه گروه (هر گروه ۲۰۰ نفر) تقسیم شدند. انتخاب افراد، براساس نمونه‌گیری آسان و جایگزین کردن نمونه‌ها در سه گروه به روش تصادفی و به ترتیب پذیرش افراد بود. در این خصوص، در صورت وجود لکه‌بینی و خونریزی، مراجعه در زمان قاعدگی و حاملگی، استفاده از دوش و یا داروهای واژینال طی ۳-۲ روز قبل از انجام تست، مقاربت جنسی ظرف ۴۸ ساعت قبل، سابقه جراحی رحم (Hysterectomy) کامل و رادیولوژی لگن و انجام آزمایش پاپ اسمیر طی ۲ ماه گذشته، مورد از پژوهش حذف شد.

پس از انجام مصاحبه با زنان واجد شرایط و تکمیل پرسشنامه و فرم مخصوص پاپ اسمیر، یکی از سه روش نمونه‌گیری: سواب - اسپچولا، سیتوبرس - اسپچولا و اسپچولا به تنهایی، به ترتیب پذیرش افراد به کار رفت. کلیه نمونه‌گیری‌ها، توسط یک پزشک متخصص بیماری‌های زنان و زایمان انجام شد.

در روش نمونه‌گیری سواب - اسپچولا، سواب مرطوب با محلول سرم فیزیولوژی به آرامی داخل کانال سرویکس برده می‌شد، آنگاه تحت فشار مختصر ۳۶۰ درجه چرخانده و سپس انتهای قلبی شکل اسپچولا، روی سوراخ خارجی سرویکس قرار داده شده و ۳۶۰ درجه چرخانده می‌شد. ترشحات برداشت شده، بلافاصله روی یک لام به صورت مجزا، گسترده و ثابت می‌گردید.

در روش سیتوبرس - اسپچولا، سیتوبرس به آرامی داخل کانال اندوسرویکس برده شده و ۳۶۰ درجه چرخانده می‌شد،

انجام آزمون آماری، معلوم شد از لحاظ آماری تفاوت بین نسبت‌ها معنی‌دار است ($p=0/013$).

از سوی دیگر، با مقایسه نسبت کیفیت مناسب اسمیر در دو روش نمونه‌گیری سیتوبرس - اسپچولا و اسپچولا به تنهایی و انجام آزمون آماری، بین نسبت‌های دو روش، رابطه آماری معنی‌داری مشاهده شد ($p=0/036$)؛ به این معنا که کیفیت اسمیر در روش‌های فوق با هم متفاوت است؛ به نحوی که روش نمونه‌گیری سیتوبرس اسپچولا با افزایش اسمیرهای مناسب همراه می‌باشد.

علاوه بر این، یافته‌های پژوهش نشان داد که تنها علت نامناسب شدن اسمیر در سه روش نمونه‌گیری، فقدان سلولهای اندوسرویکس یا وجود تعداد کمتر از ۲۵ سلول اندوسرویکال می‌باشد.

در خصوص نوع تشخیص اسمیرهای مناسب به دست آمده از هر سه روش نیز اطلاعاتی حاصل شد که شرح آن در جدول ۲ آمده است.

نتایج این پژوهش نشان داد که بین خصوصیات فردی (سن، سن ازدواج و سن اولین حاملگی) و نیز وضعیت باروری (تعداد حاملگی، تعداد زایمان) واحدهای مورد پژوهش در سه گروه، تفاوت آماری معنی‌داری وجود ندارد.

بحث:

طبق نتایج به دست آمده از این پژوهش، کیفیت اسمیر در روش نمونه‌گیری سیتوبرس - اسپچولا، بهتر از سایر روشهاست. تاپلور و همکاران (۱۹۸۴) نیز نشان دادند که استفاده از روش سیتوبرس - اسپچولا بطور قابل ملاحظه‌ای تعداد اسمیرهای نامناسب را کاهش داده است (Taylor P.T. 1987). همچنین در سال ۱۹۹۶ فاستر و همکاران (Foster J.C. and Smith H.L. 1996)، در سال ۱۹۹۷ استیلسون (Stillson T. et al. 1997)، در سال ۱۹۹۸ مک‌گیل و همکاران (Shlay J.C. 1998) و در سال ۲۰۰۰ ردوندو (Redondo H.A.M. 2000) در تحقیقات خود ارجحیت بکارگیری سیتوبرس را به اثبات رساندند.

در همین رابطه کینیا و همکاران در سال ۱۹۹۱ (Kinia R. 1991) و ژرمان در سال ۱۹۹۴ (Germain M. 1994)، میزان بالای کیفیت نامناسب در اسمیر به دست آمده با سواب را طی مطالعات خود نشان دادند.

بهترین روش جمع‌آوری نمونه از آگروسرویکس و آندوسرویکس در پاپ اسمیر، ترکیب اسپچولا و سیتوبرس می‌باشد که به عنوان یک روش قابل قبول سیتولوژی سرویکس از سال ۱۹۹۰ پذیرفته شده است و بطور همزمان می‌تواند نمونه از آگروسرویکس، زون ترانزیشنال و آندوسرویکس را جمع‌آوری کند (Atkinson B.F. 2003).

در ایران نیز، نوروزی از دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در سال ۱۳۷۴، طی پژوهشی رأی بر ارزش بالا و مقرون به صرفه‌گی استفاده از سیتوبرس داد (نوروزی، ۱۳۷۴) و مقالات فراوان دیگری، بر این موضوع صحه گذارده‌اند. از طرفی، به نظر می‌رسد که وجود اسمیرهای نامناسب و تکرار آزمایش پاپ اسمیر در بسیاری از زنان، هزینه بیشتری را به سیستم بهداشتی درمانی کشور تحمیل نماید. لذا، اگرچه سیتوبرس گرانتر از روش‌های دیگر است، ولی با توجه به کمتر بودن تعداد موارد کیفیت نامناسب و طبعاً کاهش تکرار پاپ اسمیر، در نهایت مقرون به صرفه‌تر خواهد بود.

نتیجه‌گیری:

طبق نتایج حاصل از این پژوهش و تحقیقات مشابه دیگر، کیفیت اسمیر در روش نمونه‌گیری سیتوبرس - اسپچولا بهتر از روش‌های دیگر می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود با وارد نمودن سیتوبرس به داخل کشور و یا طراحی و ساخت این وسیله در کشور با توجه به اینکه از نظر ساختمانی پیچیدگی خاصی ندارد و تولید آن با هزینه کم قابل اجراست، این وسیله بطور گسترده در اختیار مراکز بهداشتی درمانی و متخصصین قرار گیرد، و با آموزش پرسنل مربوطه در رابطه با نحوه استفاده از این وسیله به هر چه بهتر شدن کیفیت اسمیر کمک نموده که خود می‌تواند به بهبود غربالگری سرطان سرویکس منجر شود و با توجه به کاهش تکرار اسمیرهای

نامناسب با بکارگیری سیتوبرس - اسپچولا می‌توان

صرفه‌جویی قابل ملاحظه‌ای نیز فراهم نمود.

تشکر و قدردانی:

این طرح به شماره ۷۹۱۶ دفتر نظارت و ارزشیابی طرح‌های تحقیقاتی ثبت شد، و هزینه آن از محل اعتبارات معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کاشان پرداخت گردید.

جدول ۱- توزیع فراوانی نمونه‌های پاپ‌اسمیر برحسب کیفیت اسمیر و روش نمونه‌گیری

روش	سواب - اسپچولا تعداد(درصد)	سیتوبرس - اسپچولا تعداد(درصد)	اسپچولا به تنهایی تعداد(درصد)	جمع تعداد(درصد)	کیفیت اسمیر
	۱۵۰ (۷۵٪)	۱۸۸ (۹۴٪)	۱۷۶ (۸۸٪)	۵۱۴ (۸۵/۶۷٪)	مناسب
	۵۰ (۲۵٪)	۱۲ (۶٪)	۲۴ (۱۲٪)	۸۶ (۱۴/۳۳٪)	نامناسب
	۲۰۰ (۱۰۰٪)	۲۰۰ (۱۰۰٪)	۲۰۰ (۱۰۰٪)	۶۰۰ (۱۰۰٪)	جمع

جدول ۲- توزیع فراوانی نمونه‌های پاپ‌اسمیر برحسب نوع تشخیص و روش نمونه‌گیری

روش	سواب - اسپچولا تعداد(درصد)	سیتوبرس - اسپچولا تعداد(درصد)	اسپچولا به تنهایی تعداد(درصد)	جمع تعداد(درصد)	نوع تشخیص
	۴۰ (۲۶/۶٪)	۶۷ (۳۵/۷٪)	۳۳ (۱۸/۷٪)	۱۴۰ (۲۷/۲٪)	طبیعی
	۱۰۹ (۷۳/۷٪)	۱۱۵ (۶۱/۱٪)	۱۴۱ (۸۰/۲٪)	۳۶۵ (۷۱٪)	تغییرات سلولی خوش‌خیم
	۱ (۰/۷٪)	۶ (۳/۲٪)	۱ (۱/۱٪)	۹ (۱/۸٪)	ناهنجاریهای اپی‌تلیالی
	۱۵۰ (۱۰۰٪)	۱۸۸ (۱۰۰٪)	۱۷۶ (۱۰۰٪)	۵۱۴ (۱۰۰٪)	جمع

منابع:

- diagnostic surgical pathology, Lippincott Williams and Wilkins / Philadelphia / USA.
- Pearson T. (1990) Green's Gynecology, Boston: Little Brown Company.
- Redondo H.A.M. (2000) Prevention of cervix cancer. Comparison of the sample quality obtained using cotton swab or cervical brush, *Aten primaria* 2000, 15; **26**(1): 38-41.
- Robbins S.L. (2003) Robbins Basic Pathology, Saunders.
- Rosai J. (2004) Rosai and Ackerman's surgical pathology, Mosby, New York, USA.
- Shlay J.C. (1998) Pap smear screening in an urban STD clinic. Yield of screening and predictors of abnormalities, *Sexually Transmitted Diseases*. **25**(9): 468-75.
- Stillson T., knight A.L. and Elswick RK. (1997) The effectiveness and safety of two cervical cytologic techniques during pregnancy, *Journal of family practice*. **45**(2): 159-63.
- Taylor P.T. (1987) The screening papanicolaou smear contribution of the endocervical brush, *Obstetric and Gynecology*. **70**(5): 134-8.
- نوروزی، مهناز. (۱۳۷۷) مقایسه اثر استفاده از سه روش نمونه‌گیری پاپ‌اسمیر بر کیفیت اسمیر به دست آمده، مجله علمی پژوهش در علوم پزشکی، اصفهان، ۴.
- Atkinson B.F. (2003) Gynecologic cytopathology in cytopathology, Saunders, China.
- Foster J.C. and Smith H.L. (1996) Use of the cytobrush for papanicolaou smear screens in pregnant women, *Journal of Nurse Midwifery*. **41**(3): 211-7.
- Germain M. (1994) A comparison of three most common pap smear collection techniques, *Obstetric and Gynecology*. **38** (2): 173.
- Kase N.G. (1990) Principle and practice clinical gynecology. New York: Chirchill Livingstone inc.
- Kenneth J., Ross. S. and Robert L. (1995) (6th ed) Kistner's gynecology principles and practice. Mosby. New York, USA.
- Kinia R. (1991) Comparison of spatula and non spatula methods for cervical sampling, *Acta cytologica*. **35** (1): 69-75.
- Mills S.E., Darry C., Greenson J.K. Oberman H.A. and Reuter V. (2004) Sternberg's