کفایت نمونه و فراوانی سلول سنگفرشی آتیپیک در اسمیرهای سرویکو واژینال: روش معمولی در مقایسه با سیتولوژی درمحیط مایع

نرگس ایزدی مود[*1]
محمد رضا دهدشتی[1]
زهرا افتخار[2]
سید علی احمدی[3]

۱- گروه پاتولوژی، بیمارستان میرزان کوچک خان
۲- گروه زنان و زایمان، بیمارستان میرزان کوچک خان
۳- گروه پاتولوژی، بیمارستان سینا

دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۰۵/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۰۸/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به اهمیت سرطان دهانه رحم در خانم‌ها و تشخیص زودرس آن و همچنین حساسیت پایین تست پاپ‌اسمیر معمولی در غربالگری این بیماری، در سالیان اخیر تلاش فراوانی جهت یافتن تست مناسب‌تر انجام شده است. تست‌های سیتولوژی در محیط مایع (Liquid- based cytology) در اکثر مطالعات به عنوان روشی که باعث بهبود کیفیت تست می‌شود معرفی شده است. مواردی از جمله کاهش نمونه‌های ناکافی و افزایش حساسیت در تشخیص ضایعات بدخیمی و پیش بدخیمی از مزایای این روش است. مقایسه پاپ اسمیرهای معمولی و سیتولوژی در محیط مایع با استفاده از مواد و روش Liquid prep از نظر کفایت نمونه و تشخیص سلول سنگفرشی آتیپیک در این مطالعه انجام شد. ***روش بررسی:*** در این بررسی آینده‌نگر، بر روی ۲۸۹ خانم مراجعه‌کننده به بخش کولپوسکپی بیمارستان میرزا کوچک‌خان در فاصله زمانی بهمن ۸۴ تا اسفند ۸۵ به طور همزمان هر دو تست پاپ‌اسمیر معمولی و سیتولوژی در محیط مایع (Split -sample study) و نتایج این تست‌ها از نظر کفایت نمونه و تشخیص سلول سنگفرشی آتیپیک مورد مقایسه قرار گرفتند. تست سیتولوژی در محیط مایع به روش دستی و مطابق با پروتکل و روش Liquid prep انجام شد و اسمیرها بر اساس سیستم Bethesda 2001 گزارش گردیدند. ***یافته‌ها:*** در روش پاپ اسمیر معمولی، موارد با عدم کفایت نمونه ۲۴ مورد (۵٪) بود، در حالی که در روش Liquid prep ۶۶ مورد (۲۲/۸٪) اسمیر با عدم کفایت نمونه وجود داشت که این افزایش موارد ناکافی از لحاظ آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). تعداد موارد سلول سنگفرشی آتیپیک در تست پاپ‌اسمیر معمولی پنج مورد (۱/۸٪)، در حالی که در روش Liquid prep شش مرد (۲/۱٪) بود که این افزایش موارد تشخیص سلول سنگفرشی آتیپیک در روش Liquid prep از نظر آماری معنی‌دار نبود. (p>۰/۰۵). ***نتیجه‌گیری:*** در این متد سیتولوژی در محیط مایع که به روش دستی مطابق با روش Liquid prep انجام گرفت، نسبت به روش معمولی موارد unsatisfactory به طور معنی‌داری از نظر آماری، افزایش نشان داد در حالی که افزایش موارد تشخیص سلول سنگفرشی آتیپیک در روش Liquid prep نسبت به روش معمولی از نظر آماری معنی‌دار نبود.

کلمات کلیدی: پاپ اسمیر معمولی، کفایت نمونه، پاپ‌اسمیر در محیط مایع، ASC

*نویسنده مسئول، تهران، بیمارستان میرزا کوچک‌خان، خیابان کریم خان زند، خیابان استاد نجات‌اللهی شمالی
تلفن: ۸۸۹۰۶۷۶۷
email: nizadi@sina.tums.ac.ir

مقدمه

از هنگامی که روش پاپ‌اسمیر Papanicolaou Smear (PAP) معمولی برای تشخیص زودهنگام سرطان گردن رحم به عنوان تست غربالگری (Screening) مورد استفاده قرار گرفته است میزان بروز سرطان مهاجم گردن رحم و مرگ و میر ناشی از آن به میزان ۷۰٪ کاهش یافته است.[1-3] این روش دارای محدودیت‌هایی همچون میزان بالای عدم کفایت (inadequacy) و حساسیت پایین (۶۰-۵۰٪) است.[1و4-6] دو سوم موارد منفی کاذب تست پاپ‌اسمیر معمول مربوط به روش نمونه‌گیری (sampling) و تهیه نمونه (Preparation) می‌باشد.[1و3] فقط قسمت کوچکی از نتایج منفی کاذب مربوط به خطای انسانی در بررسی میکروسکوپی نمونه می‌باشد.[3] نواقص پاپ‌اسمیر به روش معمولی (conventional) مربوط به عواملی مانند استفاده از اسپاچولا چوبی می‌شود که وسیله ارزانی است و برای تهیه نمونه از سرویکس طراحی شده ولی چنین ابزاری بیش از ۱۲۰- ۶۰

هزار سلول اپی‌تلیال را جمع‌آوری می‌کند اما کمتر از ۲۰٪ سلول‌های جمع‌آوری شده بر روی لام شیشه‌ای منتقل می‌شود.[۱] میزان ماتریال سلولی که به طور موفقیت‌آمیز بر روی لام قرار می‌گیرد در بهترین حالت ۶۰٪ و در بدترین شرایط کمتر از ۱۰٪ خواهد بود.[۳] مهارت‌های مختلف افراد در جمع‌آوری و تهیه نمونه و استفاده از فیکساتیوهای گوناگون از دیگر نواقص پاپ‌اسمیر معمولی است که نهایتاً باعث می‌شود در کیفیت اسمیرهای ارسالی به آزمایشگاه اختلافات زیادی وجود داشته باشد.[۱] توزیع سلول‌ها بر روی لام غیریکسان است و سلول‌های اپی‌تلیال ممکن است توسط عناصر مخفی‌کننده (obscuring elements) خون، التهاب، اگزودا و غیره مخفی گردد.[۳] این موارد نه تنها کفایت (Adequacy) نمونه را تحت تاثیر قرار می‌دهد بلکه توانایی سیتولوژیست و سیتوپاتولوژیست را در تفسیر صحیح نتایج محدود می‌نماید.[۳و۱] لازم است بهبود کیفیت تست پاپ‌اسمیر در کلینیک پزشک آغاز گردد و در صورتی که نمونه به درستی برداشت نشود و به آزمایشگاه ارسال نگردد، آزمایشگاه کار زیادی را برای بهبود حساسیت تست نمی‌تواند انجام دهد.[۳] در دهه ۸۰ میلادی تکنولوژی سیتولوژی در محیط مایع liquid- based, thin layer technology پیشرفتی بود که جهت مرتفع نمودن محدودیت‌های بزرگ روش پاپ‌اسمیر معمولی (Conventional) ارائه گردید.[۳و۱] در این روش نوین، تمام ماتریال جمع‌آوری شده توسط وسیله نمونه‌گیری (سیتوبراش و اسپاچولا) به جای لام به درون یک مایع نگهدارنده با پایه الکل وارد می‌شود، سوسپانسیون سلولی ایجاد شده به آزمایشگاه ارسال می‌شود. در این مایع نگهدارنده سلول‌ها برای هفته‌ها در حرارت اتاق حفظ می‌شوند و در آزمایشگاه از سوسپانسیون سلولی در طی فرآیندهائی خون و اگزودای التهابی برداشته می‌شود سپس با مخلوط کردن مکانیکی سلول‌ها، یک نمونه یکنواخت ایجاد می‌گردد، به نحوی که سلولها به طور همگون در یک لایه نازک بر روی قسمت کوچکی از لام شیشه‌ای با حدود مشخص قرار می‌گیرند. سلول‌های روی لام نماینده تمام سلول‌های اپی‌تلیالی جمع‌آوری شده می‌باشد.[۴-۱] جهت تهیه اسلاید امروزه ابزارهای متعدد تجاری به صورت اتوماتیک و نیمه اتوماتیک در دسترس است.[۳و۱] در حال حاضر دو روش سیتولوژی در محیط مایع توسط FDA تایید شده است که برای غربالگری مناسب می‌باشند: روش اول توسط ماشین thin prep processor ۲۰۰۰ و یا ۳۰۰۰ اسلاید تهیه می شود که توسط کمپانی cytyc در آمریکا تهیه شده و در روش دوم از دستگاه SurePath برای تهیه اسلاید استفاده می‌شود.[۷] علاوه بر افزایش حساسیت و کفایت نمونه در روش پاپ‌اسمیر در محیط مایع به نسبت روش پاپ‌اسمیر معمولی مزایای دیگری نیز برای این روش وجود دارد، از جمله اینکه سیتوتکنولوژیست‌ها با میزان تجربه متفاوت، لام‌های سیتولوژی در محیط مایع را تقریباً در نصف زمان لازم جهت بررسی اسمیر معمولی می‌خوانند. همچنین در این روش سوسپانسیون سلولی باقیمانده ممکن است جهت مطالعات اضافی مانند تست‌های HPV به‌کار رود که تست screening را از نظر حساسیت و اختصاصیت بهبود می‌بخشد.[۳و۱] همچنین امروزه تست‌هایی برای نشان دادن وجود ارگانیسم‌های عفونی مانند کلامیدیا تراکوماتیس و هرپس سیمپلکس ویروس به کار می‌رود.[۳و۱] سودمندترین مثال برای این تکنولوژی فرعی در موارد HPV testing برای زنان با تشخیص سیتولوژیک ASC-US می‌باشد.[۳و۱] زنان با تشخیص ASC-US که تست مثبت برای HPV با خطر انکوژنیک بالا دارند و در معرض افزایش خطر برای high-grade CIN می‌باشند، در مقابل زنان با تشخیص ASC-US که نتیجه تست آنها از نظر HPV با خطر انکوژنیک بالا منفی است در معرض خطر کمتری برای high grade CIN هستند.[۱] وسایل دیگری برای تهیه لام سیتولوژی در محیط مایع در مرحله بررسی می‌باشند. این وسایل آلترناتیو ارزانتر هستند و توانایی آنها در انتقال نمونه سلولی representative به لام شیشه‌ای هنوز دقیقاً مشخص نشده است.[۳] با توجه به مطالعات فراوانی که جهت مقایسه پاپ‌اسمیر معمولی و thin- layer (سیتولوژی در محیط مایع) با روش‌های مورد تایید FDA صورت گرفته است که اکثریت آنها سودمندی قابل توجهی را برای روش پاپ‌اسمیر در محیط مایع نسبت پاپ‌اسمیر معمولی از نظر کفایت نمونه و تشخیص ضایعات بدخیم و پیش‌بدخیم مطرح شده است.[۸و۵و۴و۱] این مطالعه با استفاده از روش دستی ارائه شده توسط Liquid prep انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه از نوع مقایسه روشها می باشد که در قالب طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران بوده و بودجه آن را دانشگاه پرداخت نموده است. نمونه‌های مورد بررسی شامل ۲۸۹ خانم مراجعه‌کننده به بخش کولپکوسکپی بیمارستان میرزا کوچک‌خان

تهران در فاصله زمانی بهمن ۸۴ تا اسفند ۸۵ بودند که پس از گرفتن رضایت نامه وارد مطالعه شده و هر دو تست پاپ‌اسمیر معمول (conventional) و سیتولوژی در محیط مایع همزمان برای بیماران انجام گرفت (split- sample study). روش سیتولوژی در محیط مایع به صورت دستی به روش Liquid prep انجام گردید و ماتریال مورد نیاز جهت تست از شرکت LGM آمریکا به نمایندگی شرکت تسنیم‌گستر ایران تهیه گردید. روش اجراء مطالعه بدین ترتیب بود که توسط ژنیکولوژیست مجرب نمونه‌گیری (sampling) از گردن رحم توسط اسپاچولای چوبی و Endocervix brush انجام شده و بر روی لام گسترش یافته و بعد از فیکس شدن به آزمایشگاه فرستاده می‌شدند. و سپس اسپاچولا و براش در ویالهای حاوی ۵ml مایع نگهدارنده شماره‌گذاری شده قرارداده می‌شد و درب ظرف‌ها محکم بسته و به آزمایشگاه ارسال می‌گردید. لام‌های پاپ اسمیر معمولی طبق روال معمول بخش شماره‌گذاری و توسط دستیار و پاتولوژیست جواب داده می‌شد و نمونه‌های سیتولوژی در محیط مایع بدون نام و مشخصات بیمار و به صورت ناشناخته ثبت می‌شد و بعداً توسط دستیار و پاتولوژیست بررسی می‌شد و پاتولوژیست بدون اینکه اطلاعی از نتیجه پاپ‌اسمیر معمولی داشته باشد، به بررسی اسلایدهای سیتولوژی در محیط مایع می‌پرداخت. مراحل انجام تست سیتولوژی در محیط مایع بر اساس دستورالعمل روش Liquid prep به صورت ذیل انجام می‌گرفت: ۱- ۴ml از محلول تمیزکننده (Cleaning solution) توسط پیپت سرولوژیک به درون لوله‌ی سانتریفیوژ شماره‌گذاری ریخته می‌شود. ۲- ویال نگهدارنده با استفاده از یک shaker به خوبی هم زده می‌شود و بلافاصله به دقت محتویات ویال نگهدارنده به ۴ml مایع تمیز کننده درون لوله اضافه می‌شود. ۳- لوله‌های شماره‌گذاری شده درون سانتریفیوژ قرار داده می‌شود و با ۱۲۰۰g (±۵۰) به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شود.

۴- بعد از سانتریفیوژ کردن با وارونه کردن لوله‌ها، مایع رویی تخلیه می‌شود و دهانه لوله توسط یک دستمال تمیز می‌گردد.

۵- ۵۰۰ لاندا (۰/۵ml) از cellular base به درون لوله محتوی سوسپانسیون سلولی اضافه می‌شود. این مایع مهم باعث دکپسوله شدن و چسبندگی مناسب تعداد قابل کنترل سلول بر روی لام می‌گردد. ۶- به مدت ۱۰ ثانیه لوله مجدداً توسط shaker هم زده می‌شود و سپس ۵۰ لاندا از سوسپانسیون هموژن توسط سمپلر روی لام قرار داده می‌شود. ۷- اجازه می‌دهیم لام‌ها در حرارت اتاق به طور طبیعی کاملاً خشک شود و بعد توسط روش پاپ رنگ‌آمیزی می‌شود و نهایتاً لام‌ها توسط دستیار و پاتولوژیست، مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفته و نتایج تست ثبت می‌گردید. تمامی اسلایدها بر اساس سیستم Bethesda ۲۰۰۱ جواب داده شدند. گفتنی است که ماتریال موردنیاز شامل preservative solution و cleaning solution و cellular base solution از نماینده شرکت سازنده آن در ایران تهیه گردید و روش انجام تست منطبق با CD آموزشی و بروشورهای شرکت مذکور انجام گردید. همچنین تمام اطلاعات مربوط به بیماران به طور محرمانه نگهداری شد و هیچگونه کار تهاجمی (invasive) بر روی مراجعه‌کنندگان انجام نگردید. تمامی اسلایدها مطابق سیستم Bethesda ۲۰۰۱ گزارش شدند و شاخص تعریف شده برای نمونه‌های کافی در روش سیتولوژی در محیط مایع سلولاریتی اسکواموس، حداقل ۵۰۰۰ سلول بود. برنامه آماری SPSS ویراست ۱۵/۵ برای آنالیز اطلاعات استفاده و در مقایسه تفاوت دو گروه تست χ^2 به‌کار برده و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مطالعه ما بر روی ۲۸۹ مراجعه کننده جهت انجام پاپ‌اسمیر، برای ۲۸۰ نفر بر طبق پروتکل split- sample هر دو تست پاپ‌اسمیر معمولی و سیتولوژی در محیط مایع به طور همزمان انجام گردید و برای ۹ نفر تست پاپ‌اسمیر فقط به روش سیتولوژی در محیط مایع انجام گردید که نتایج ذیل حاصل گردید. به طور کلی اسمیرهای سیتولوژی در محیط مایع نسبت به اسمیرهای معمولی کم سلولتر بودند ولی با توجه به تک لایه بودن سلول‌ها در اسلایدهای سیتولوژی در محیط مایع و اینکه سطح کمتری از لام توسط سلول‌ها پوشیده شده بود، زمان کمتری جهت خواندن هر لام صرف می‌شد. دامنه سنی بیماران بین ۱۹ تا ۷۷ سال با میانگین ۳۸/۲۹ سال بود. از ۲۸۰ تست پاپ‌اسمیر معمولی، ۲۵۰ مورد (۸۹/۳٪) نمونه‌های کافی ۱۶ مورد (۵/۷٪) نبودن سلول اندوسرویکال یا متاپلاستیک اسکواموس satisfactory, absence of endocervical /T zone component و ۱۴ مورد (۵٪) نمونه‌های ناکافی بودند. (جدول ۱). از ۲۸۹ تست پاپ‌اسمیر سیتولوژی در محیط مایع، ۱۶۵ نفر (۵۷/۱٪) نمونه‌های کافی ۵۸ مورد (۲۰/۱٪) نبودن سلول اندوسرویکال یا متاپلاستیک

جدول- ۱: آنالیز آماری کفایت نمونه در روش معمولی

کفایت نمونه	تعداد	درصد
نمونه‌های کافی	۲۵۰	٪۸۹/۳
نبودن سلول اندوسرویکال یا متاپلاستیک اسکواموس	۱۶	٪۵/۷
نمونه‌های ناکافی	۱۴	٪۵
مجموع	۲۸۰	٪۱۰۰

جدول- ۲: آنالیز آماری کفایت نمونه در روش سیتولوژی در محیط مایع

کفایت نمونه	تعداد	درصد
نمونه‌های کافی	۱۶۵	٪۵۷/۱
نبودن سلول اندوسرویکال یا متاپلاستیک اسکواموس	۵۸	٪۲۰/۱
نمونه‌های ناکافی	۶۶	٪۲۲/۸
مجموع	۲۸۹	٪۱۰۰

جدول- ۳: آنالیز آماری ابنرمالیتی سلول اپیتلیال در روش معمولی

نتایج	تعداد	درصد
منفی از نظر آبنرمالیتی اپیتلیالی و بدخیمی	۲۶۰	٪۹۲/۸
سلول سنگفرشی آتیپیک	۵	٪۱/۸
*HSIL	۱	٪۰/۴
نمونه‌های ناکافی	۱۴	٪۵
مجموع	۲۸۰	۱۰۰

*High grade Squamous Intraepithelial Lesion

جدول- ٤: آنالیز آماری‌ابنرمالیتی سلول اپیتلیال در روش سیتولوژی در محیط‌مایع

نتایج	تعداد	درصد
منفی از نظر آنومالی اپیتلیالی و بدخیمی	۲۱۷	٪۷۵/۱
سلول سنگفرشی آتیپیک	۶	٪۲/۱
نمونه‌های ناکافی	۶۶	٪۲۲/۸
مجموع	۲۸۹	۱۰۰

اسکواموس (Satisfactory, absence of endocervical/T zone component) و ۶۶ مورد (٪۲۲/۸) نمونه‌های ناکافی بودند. (جدول ۲). در تست پاپ‌اسمیر معمولی، از مجموع ۲۶۶ مورد نمونه کافی، پنج مورد (٪۱/۸) سلول سنگفرشی آتیپیک Atypical Squamous Cell (ASC) و یک مورد (٪۰/۴)ضایعه داخل اپی‌تلیال اسکواموس با درجه بالا (High grade Squamous Intraepithelial Lesion-HSIL) و ۲۶۰ مورد بقیه از نظر آبنرمالیتی سلول اپیتلیال (epithelial cell abnormality) منفی بود (جدول ۳). در تست پاپ‌اسمیر سیتولوژی در محیط مایع از مجموع ۲۲۳ مورد کم بودن سلول اسکواموس ۶ مورد (٪۲/۱) سلول سنگفرشی آتیپیک (ASC) مشاهده شد و ۲۱۷ مورد بقیه از نظر آبنرمالیتی سلول اپیتلیال (epithelial cell abnormality) منفی بود (جدول ۴). در روش معمولی دامنه سنی بیماران با تشخیص سلول سنگفرشی آتیپیک، ۲۱ تا ۵۳ سال با میانگین سنی ۳۵/۸سال بود. یک مورد ضایعه داخل اپیتلیال اسکواموس با درجه بالا (HSIL) مشاهده شده مربوط به خانمی با سن ۴۱ سال بود. در روش سیتولوژی در محیط مایع ، دامنه سنی بیماران با تشخیص ASC ۲۱ تا ۴۱ سال با میانگین سنی ۳۴ سال بود. از ۱۴ مورد نمونه های ناکافی در روش پاپ‌اسمیر معمولی، علت عدم کفایت نمونه در ٪۸۵/۷ (۱۲ مورد)، کم بودن سلول اسکواموس و ٪۱۴/۳ (دو مورد) پوشیده شدن سلول‌ها با سلول التهابی بود. از ۶۶ مورد نمونه‌های ناکافی در روش سیتولوژی در محیط مایع علت عدم کفایت نمونه را ٪۹۵/۵ (۶۳ مورد) کم بودن سلول اسکواموس و در ٪۴/۵ (سه مورد) پوشیده شدن سلولها با سلول التهابی بود. همچنین مقایسه فراوانی سلول سنگفرشی آتیپیک در دو روش مذکور با استفاده از آزمون χ^2 نشان داد که افزایش موارد تشخیص سلول سنگفرشی آتیپیک در روش سیتولوژی در محیط مایع به نسبت روش معمولی از نظر آماری معنی‌دار نیست (p>۰/۰۵).

بحث

از هنگامی که روش پاپ‌اسمیر معمولی برای تشخیص زودهنگام (screening) سرطان گردن رحم مورد استفاده گسترده قرار گرفته است میزان بروز سرطان مهاجم گردن رحم و مرگ و میر ناشی از آن به میزان ٪۷۰ کاهش یافته است.[۱و۳و۵و۹و۱۰] تکنیک تهیه نمونه به روش جمع‌آوری سلول‌های exfoliated از گردن رحم و انتقال بر روی لام شیشه‌ای و بررسی نمونه در زیر میکروسکوپ برای بیش از ۵۰ تا ۶۰ سال بدون تغییر باقی مانده است.[۱و۳] این روش دارای محدودیت‌هایی همچون میزان بالای عدم کفایت نمونه inadequacy و حساسیت پایین است[۱و۴-۶] که برنامه غربالگری سازمان یافته با تکرار آزمایش در فواصل مشخص سعی در برطرف نمودن این نقیصه داشته است.[۳] در کتب و مطالعات مختلف حساسیت یک تست پاپ‌اسمیر معمولی بین ۵۰ تا ۶۰ درصد تعیین شده است.[۱و۳و۴] در دهه ۸۰ میلادی تکنولوژی سیتولوژی در محیط مایع (liquid- based, thin layer technology) پیشرفتی بود که جهت مرتفع نمودن محدودیت‌های بزرگ روش پاپ‌اسمیر معمولی ارائه گردید.[۱و۳] در این روش نوین، تمام ماتریال

جمع‌آوری شده توسط وسیله نمونه‌گیری سیتوبراش و اسپاچولا به جای لام به درون یک مایع نگهدارنده با پایه الکل وارد می‌شود، سوسپانسیون سلولی ایجاد شده به آزمایشگاه ارسال می‌شود. در این مایع نگهدارنده سلول‌ها برای هفته‌ها در حرارت اتاق حفظ می‌شوند و در آزمایشگاه از سوسپانسیون سلولی در طی فرآیندهائی خون و اگزودای التهابی برداشته می‌شود سپس با مخلوط کردن مکانیکی سلول‌ها، یک نمونه یکنواخت ایجاد می‌گردد، به نحوی که سلول‌ها به طور همگون در یک لایه نازک بر روی قسمت کوچکی از لام شیشه‌ای با حدود مشخص قرار می‌گیرند. سلول‌های روی لام نماینده تمام سلول‌های اپی‌تلیالی جمع‌آوری شده می‌باشد و بدین ترتیب سیتوپاتولوژیست می‌تواند هر گونه سلول غیر طبیعی را شناسایی، بررسی و درجه‌بندی نماید.[۴و۳و۱] مطالعات فراوانی جهت مقایسه پاپ‌اسمیر معمولی و سیتولوژی در محیط مایع صورت گرفته است که اکثریت آنها سودمندی قابل توجهی را برای روش پاپ‌اسمیر در محیط مایع به نسبت پاپ‌اسمیر معمولی از نظر کفایت نمونه (adequacy) و تشخیص ضایعات بدخیم و پیش بدخیم مطرح نموده است.[۱۴-۱۱و۵و۴و۱] نتیجه یک مطالعه چاپ شده حاکی از آن بود که پاپ‌اسمیر به روش محیط مایع نسبت به پاپ‌اسمیر معمولی یک کاهش غیر قابل ملاحظه ۳٪ در تشخیص ضایعات اسکواموس داخل اپی‌تلیال را نشان می‌دهد.[۱] متأسفانه کرایتریاهای به‌کار رفته برای تعریف کفایت نمونه در مطالعات مختلف بسیار متغیر بوده است که این امر مقایسه را مشکل نموده است مطالعات چاپ شده به روش split sample و یا direct to vial انجام شده است.[۳] در مطالعات split sample یک پاپ‌اسمیر معمولی از یک نمونه اسکراپ سرویکال تهیه می‌شود و سپس با وارد کردن باقیمانده ماتریال روی وسیله نمونه‌گیری در مایع نگهدارنده نمونه سیتولوژی در محیط مایع به دست می‌آید که واضح است در این روش مقداری از ماتریال سلول از دست می‌رود و شاید اسلاید کم سلول‌تر و در ریسک بالاتر عدم کفایت نمونه باشد.[۳] بر اساس مطالعات انجام شده split sample، در روش سیتولوژی در محیط مایع به نسبت پاپ‌اسمیر معمولی موارد عدم کفایت نمونه به نصف تقلیل می‌یابد.[۳] بیشتر مطالعاتی که اخیراً انجام گرفته به روش direct to vial یک کاهش واضح در موارد عدم کفایت از ۱۰٪ به ۰/۶٪ را نشان می‌دهد و افزایش در پیدا کردن دیس کاریوزیز dyskaryosis از ۳/۶٪ به ۴/۸٪ و high dyskaryosis از میزان ۱/۴٪ به ۲/۲٪ را نشان می‌دهد.[۳] مطابق مطالعات payent موارد نمونه‌های ناکافی در نمونه‌های سیتولوژی در محیط مایع نصف پاپ‌اسمیر معمولی بود و موارد منفی کاذب آن نیز کمتر مشاهده شد.[۳] در مطالعه ۱۸ ماهه در ژانویه ۲۰۰۰ تا ژوئن ۲۰۰۱ در Edinburg اسکاتلند و مقایسه اسمیرهای تهیه شده به روش Thin prep با پاپ‌اسمیر معمولی در ۱۲۶۶۵ بیمار، موارد ناکافی در Thin prep به میزان ۰/۵۵٪ و در پاپ‌اسمیر معمولی ۱۰٪ بود.[۳] در آگوست سال ۲۰۰۱، FDA ایالات متحده افزایش حساسیت پاپ‌اسمیر به روش Thin prep به نسبت پاپ‌اسمیر معمولی را در تشخیص ضایعات سرطانی و پیش سرطانی گردن رحم مورد تایید قرار داد.[۴-۲] در مجموع در اکثر مطالعات روش سیتولوژی در محیط مایع به نسبت روش معمولی موارد ناکافی کمتری را نشان داده است و به عبارتی افزایش کفایت نمونه را نشان داده‌اند. دلیل موارد عدم کفایت نمونه در روش سیتولوژی در محیط مایع در این مطالعه برای ما کاملاً روشن نیست، ولی می‌توان در این خصوص احتمالات ذیل را مطرح نمود. در مطالعه ما، تست سیتولوژی در محیط به روش شرکت LGM آمریکا که هنوز مورد تأیید FDA قرار نگرفته است، انجام شد. در حالی که در اکثر مطالعاتی که نتایج آنها حاکی از افزایش موارد کفایت نمونه در روش سیتولوژی در محیط مایع بود، تست به روش تمام اتوماتیک مورد تأیید FDA انجام شده است. به علاوه در این مطالعه، ما از پروتکل split- sample study استفاده نمودیم که در این روش این اشکال به طور بالقوه وجود خواهد داشت که ماتریال سلولی که ابتدا برای تهیه پاپ‌اسمیر معمولی بر روی اسلاید کشیده می‌شود می‌تواند متعاقباً منجر به کاهش سلولاریتی اسکواموس اسلاید شود. احتمال دارد محلول‌های نگهدارنده یا تمیز کننده استفاده شده از نظر کیفی قابلیت لازم را نداشته و باعث شده که تعداد کمی از سلول‌های خوب حفظ شده اپی‌تلیال در نهایت روی لام قرار گیرند که نهایتاً باعث افزایش موارد عدم کفایت نمونه به‌خاطر کم بودن سلول اسکواموس شده باشد. در مطالعه ما از نظر مقایسه فراوانی سلول سنگفرشی آتیپیک در روش‌های مذکور: ۲/۱٪ در روش سیتولوژی در محیط مایع نسبت به ۱/۷٪ در روش معمولی که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. تنها یک مورد HSIL در روش معمولی مشاهده گردید که در روش سیتولوژی در محیط مایع ASC– H (Atypical Squamous Cell can not exclude HSIL) گزارش

گردید. نتیجه مطالعه ما در خصوص مقایسه فراوانی سلول سنگفرشی آتیپیک در این دو روش، با توجه به طیف وسیع نتایج مطالعات مشابه، می‌تواند با بسیاری از بررسی‌های مشابه همخوانی داشته باشد.[۱] از نظر توزیع سنی بیماران با تشخیص سلول سنگفرشی آتیپیک، مطالعه ما با مطالعات مشابه همخوانی داشت. از نظر توزیع فراوانی علل عدم کفایت نمونه، در هر دو روش، علت عمده کم بودن سلولاریتی اسکواموس می‌باشد و در درجه دوم پوشیده شدن سلولها با سلول التهابی قرار دارد. در صورت امکان انجام مطالعه با همین روش سیتولوژی در محیط مایع با حجم نمونه بیشتر و به روش direct to vial انجام گیرد.

سپاسگزاری: نویسندگان از پرسنل محترم بخش‌های پاتولوژی و کولپوسکوپی بیمارستان میرزا کوچک‌خان تهران به جهت همکاری صمیمانه آنها نهایت تشکر و امتنان را دارند.

References

1. Felix J, Liquid-based, Thin-layer cytology. In: Apgar BS, Brotzman GL, Spitzer M, editors. Colposcopy, principles and practice: an integrated textbook and atlas. Philadelphia: W.B. Saunders Company 2002; p. 56-72.
2. Scott JR, Gibbs RS, Karlan BY, Haney AF. Danforth's Obstetrics and Gynecology. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2003.
3. McGoogen E. New technologies in cervical screening. In: Gray N, McKee G, editors. Diagnostic Cytopathology. 3nd ed. UK: Churchill Livingstone; 2003. p. 755-6.
4. Rock JA, Jones III HW. Operative Gynecology. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilknins; 2003.
5. Curtis S, Lee C, Willough BY. Are liquid-based pap tests cost-effective? *Women Health Primary Care* 2004; 7: 391-400.
6. Nuovo J, Melnikow J, Howell LP. New tests for cervical cancer screening. *Am Fam Physician* 2001; 64: 780-6.
7. Bales CE. Laboratory techniques. In: Koss LG, Melamed MR. Koss' Diagnostic Cytology and its Histologic Bases, 5th ed. Philadelphia: Lippincott,Williams and Wilkins; 2006. p. 1574.
8. Moseley RP, Paget S. Liquid-based cytology: is this the way forward for cervical screening? *Cytopathology* 2002; 13: 71-82.
9. Atkinson BF. Atlas of Diagnostic Cytopathology. Philadelphia. PA: WB Saunders Company; 1992.
10. Takahashi M. Color Atlas of Breast Cytopathology. 3rd ed. Tokyo: Igaku-Shoin; 2000.
11. Moseley RP, Paget S. Liquid-based cytology: is this the way forward for cervical screening? *Cytopathology* 2002; 13: 71-82.
12. Bernstein SJ, Sanchez-Ramos L, Ndubisi B. Liquid-based cervical cytologic smear study and conventional Papanicolaou smears: a metaanalysis of prospective studies comparing cytologic diagnosis and sample adequacy. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185: 308-17.
13. Limaye A, Connor AJ, Huang X, Luff R. Comparative Analysis of Conventional Papanicolaou Tests and a Fluid-Based Thin-Layer Method. *Arch Pathol lab Med* 2003; 127: 200-4.
14. Baker JJ. Conventional and liquid-based cervicovaginal cytology: a comparison study with clinical and histologic follow-up. *Diagn Cytopathol* 2002; 27: 185-8.

Tehran University Medical Journal; Vol. 66, No. 12, March 2009: 900-906

The specimen adequacy and Atypical Squamous Cell frequency: conventional versus liquid-based cytology pap smears

Izadi Mood N.[1]*
Dehdashti M.R.[1]
Eftekhar Z.[2]
Ahmadi S.A.[3]

1-Department of Pathology, Mirza Koochak Khan Hospital
2- Department of Gynecology Oncology, Mirza Koochak Khan Hospital
3-Department of Pathology, Sina Hospital

Tehran University of medical Sciences

*Corresponding author: Department of Pathology, Mirza Koochak Khan Hospital, Nejatollahi st, Karim Khan Zand Aven, Tehran, Iran
Tel: +98-21-88906767
email: nizadi@sina.tums.ac.ir

Received: August 13, 2008 Accepted: November 17, 2008

Abstract

***Background*:** The papanicolaou (pap) smear has been used to screen cervical cancer since 1940. Recently, a number of new technologies have been developed to improve the detection of cervical cancer and its precursors. However, there is substantial controversy about whether the new tests offer meaningful advantages over the conventional pap smear. Ideally, these new tests will increase the early detection of meaningful pap smear abnormalities, reduce the number of unsatisfactory smears and provide fewer ambiguous results.

***Methods*:** In this prospective study the result of Liquid- based cytology smears (Liquid prep method) compared with conventional pap smears in terms of adequacy and ASC diagnosis in 289 patients in pathology department of mirza kochak khan hospital (Tehran, 2005– 2006). The smears were interpreted based on Bethesda system 2001.

***Results*:** In conventional pap smear method, the number of occasions of unsatisfactory smear was 24(5%). In Liquid- based cytology method 66(22.8%) smears were unsatisfactory, In which difference between unsatisfactory groups were statistically significant ($p<0.05$), Also ASC diagnosis in conventional method 5(1.8%) as compared with Liquid- based cytology 6(2.1%), was not statistically significant ($p>0.05$).

Conclusions: There was no significant difference between two methods in term of ASC diagnosis but in conventional method adequacy of specimen was significantly better as compared with this Liquid- based cytology method.

Keywords: Conventional pap smear, liquid based cytology, specimen adequacy, ASC