

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**NORMAL VE ANORMAL SERVİKAL SİTOLOJİLİ
KADINLARDA HUMAN PAPİLLOMAVİRUS
PREVALANSI VE GENOTİP DAĞILIMI**

Maimonah Mohammed Yahya Nasser ALSHOAIBI

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Fügen YARKIN**

ADANA-2022

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**NORMAL VE ANORMAL SERVİKAL SİTOLOJİLİ
KADINLARDA HUMAN PAPİLLOMAVİRUS
PREVALANSI VE GENOTİP DAĞILIMI**

Maimonah Mohammed Yahya Nasser ALSHOAIBI

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Fügen YARKIN**

**Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu TYL-2021-14269
numaralı proje olarak desteklenmiştir.**

ADANA-2022

KABUL ve ONAY

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Tezli Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütölmüş olan
“Normal ve Anormal Servikal Sitolojili Kadınlarda Human Papillomavirus
Prevalansı ve Genotip Dağılımı”
adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tarihi: 28/06/2022

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Fügen YARKIN
Çukurova Üniversitesi
Başkan

Prof. Dr. Fatih KÖKSAL
Çukurova Üniversitesi
Üye

Prof. Dr.
Üniversitesi
Üye

Dr.
Üniversitesi
Üye

Dr.
Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun / / tarih ve
sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Behice DURGUN
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

ETİK BEYANI

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ YÜKSEK LİSANS / DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 28/06/2022

Maimonah Mohammed Yahya Nasser ALSHOAIBI

Kayıtlı olunan Program : Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Tezin Konusu : Normal ve Anormal Servikal Sitolojili Kadınlarda Human Papillomavirus Prevalansı ve Genotip Dağılımı

Tezin Türü : Yüksek Lisans : ☐ Doktora: ☐

Danışmanın Adı-Soyadı : Prof. Dr. Fügen Yarkın

Danışmanın İletişim Bilgileri

Telefon : 532 684 99 60

E-Posta : fugeny@yahoo.com

Öğrencinin İletişim Bilgileri

Telefon : 534 200 49 62

E-Posta : memesho61@gmail.com

Adresi :

**Bu belgenin Lisansüstü eğitim tezleri savunmaya alınmadan önce öğrenci tarafından doldurulup imzalanarak Enstitü Müdürlüğüne teslim edilmesi gerekmektedir.*

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca göstermiş olduğu hoşgörölü desteği ile değerli bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım tezimin yürütölmesini sağlayan, danışmanım, değerli hocam sayın Profesör Dr. Fügen Yarkın, yüksek lisans eğitimim süresince manevi ve akademik desteklerinden dolayı Çukurova Üniversitesi Tıp Faköltesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı, değerli sayın Prof. Dr. Fatih Köksal ve Jinekolojik Onkoloji Bilim Dalı'nda öğretim üyesi Doç. Dr.Ganim Khatib'e ve eğitimim boyunca her türlü sürecimde desteklerinden dolayı çalışma arkadaşlarım, özellikle viroloji ekibine, ailem, nişanlım, arkadaşlarım, eğitim sürecim boyunca küçücük yürekleriyle fedakârlıkla, sabır gösteren, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili annem Meryem ve babam Mohammed'e sonsuz teşekkürlerimle...

Maimonah Alshoaibi

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	iii
ETİK BEYANI.....	iii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. HPV'nin Yapısı ve Sınıflandırılması	3
2.2. HPV Replikasyonu.....	5
2.2.1. Viral Bağlanma ve Giriş	5
2.2.2. Genomun Devamlılığı ve Hücre Proliferasyonu	6
2.2.3. Genom Replikasyonu.....	7
2.2.4. Virus Montajı ve Salınma	8
2.3. HPV Bulaşması	9
2.3.1. Otoinokülasyon	9
2.3.2. Perinatal bulaşma	9
2.3.3. Kişiler Arasında Bulaşma	9
2.4. Hastalık	10
2.4.1. Kutenoz Siğiller	10
2.4.2. Epidermodisplazi verrukiformis	11
2.4.3. Anogenital Siğiller	11
2.4.4. Rekurren Respiratuvar Papillomatozis	12
2.4.5. Orofaringeal kanser.....	12
2.4.6. Servikal, Penil, Vulvar, Vajinal ve Anal İntraepitelial Neoplaziler	13
2.4.7. Servikal kanser.....	14
2.4.8. Anal kanser	16

2.4.9. Penil kanser.....	16
2.5. Epidemiyoloji.....	17
2.6. Tanı	18
2.6.1. Görsel İnceleme	18
2.6.2. Kolposkopik İnceleme	18
2.6.3. Sitolojik test	18
2.6.4. HPV Tespiti ve Genotiplenmesi için Moleküler Tanı Testleri	19
2.6.4.1. Nükleik asit hibridizasyonu.....	20
2.6.4.2. HPV Tanısı için Sinyal Amplifikasyon Testleri	21
2.6.4.2.1. Hibrit Yakalama Testi (Hybrid Capture Test).....	21
2.6.4.2.2. Cervista HPV HR testi	23
2.6.4.3. HPV Tanısı için Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri	24
2.6.4.3.1. Cobas 4800 HPV Test	27
2.6.4.3.2. Onclarity HPV Testi.....	28
2.6.4.3.3. HPV E6/E7 mRNA Testleri	29
2.6.4.3.4. Linear Array HPV testi	30
2.6.4.3.5. Mikroarray tabanlı HPV testi	31
2.7. HPV Testinin Klinik Faydası	31
2.7.1. Birincil Tarama Testi olarak HPV DNA Testi	33
2.7.2. Anormal Sitolojik Bulguların Triyajında HPV DNA Testi	34
2.7.3. Tedavi sonrası takip için HPV DNA testi.....	35
2.8. Korunma.....	36
2.9. Tedavi.....	39
3. GEREÇ ve YÖNTEM	41
3.1. Viral DNA ekstraksiyonu.....	41
3.1.1 Bosphore Viral DNA Ekstraksiyon Spin Kit Protokolü	41
3.2. HPV Consensus PCR	43
3.3. HPV Nested PCR	44
3.4. Agaroz jel elektroforezi	45
3.5. HPV Real-Time PCR Testi ile Genotipleme	46
4. BULGULAR.....	49
5. TARTIŞMA.....	64

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	106
KAYNAKLAR	109
ÖZGEÇMİŞ	117



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Şekil 2.1. HPV'nin Yapısı.....	5
Şekil 2.2. HPV genomu	5
Şekil 2.3. HPV Replikasyonu	7
Şekil 3.1. Servikal sürüntü örneği almak için özel fırça	48
Şekil 3.2. Bosphore Viral DNA Extraction Spin Kit, İstanbul, Türkiye	48
Şekil 3.3. Thermal Cycler cihazı (Bio-Rad, Kaliforniya, ABD).....	48
Şekil 3.4. Jel görüntüleme cihazı (Mini, DNR Bio-Imaging Systems, İsrail).....	48
Şekil 3.5. HPV Genotypes 14 Real-TM Quant PCR kit (Sacace, İtalya)	48
Şekil 3.6. Real-time PCR cihazı, Light Cycler®96 (Roche, İsviçre).....	48

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 3.1.	HPV consensus PCR için kullanılan primerler.....44
Tablo 3.2.	HPV consensus PCR ısı döngüsü.....44
Tablo 3.3.	HPV nested PCR için kullanılan primerler.....45
Tablo 3.4.	HPV nested PCR ısı döngüsü45
Tablo 3.5.	HPV real-time PCR ısı döngüsü.....47
Tablo 3.6.	Real-Time PCR floresan kanalları ve tespit ettiği HPV tipleri.....47
Tablo 4.1.	Çalışmaya katılan 232 kadının yaş gruplarına göre dağılımı49
Tablo 4.2.	Normal ve anormal sitolojili kadınlarda HPV pozitifliği50
Tablo 4.3.	Anormal sitolojili kadınlarda HPV prevalansının yaş gruplarına göre dağılımı50
Tablo 4.4.	Çalışma grubundaki kadınların demografik bilgileri.....52
Tablo 4.5.	Normal ve anormal sitolojili kadınlarda tek veya çoklu HPV enfeksiyon prevalansının yaş gruplarına göre dağılımı53
Tablo 4.6.	HPV pozitif 91 kadında tek veya çoklu enfeksiyonların yaş gruplarına göre dağılımı54
Tablo 4.7.	Normal ve anormal sitolojili 232 kadında HPV tiplerinin prevalansı54
Tablo 4.8.	HPV enfeksiyonu olan 91 kadında HPV tiplerinin prevalansı55
Tablo 4.9.	HPV pozitif bulunan 91 kadında HPV tiplerinin yaşa göre dağılımı56
Tablo 4.10.	Normal sitolojili 200 kadında HPV tiplerinin yaşa göre dağılımı57
Tablo 4.11.	HPV pozitif bulunan normal sitolojili 66 kadında HPV tiplerinin yaşa göre dağılımı58
Tablo 4.12.	Anormal sitolojili 32 kadında HPV tiplerinin yaşa göre dağılımı59
Tablo 4.13.	HPV pozitif bulunan anormal sitolojili 25 kadında HPV tiplerinin yaşa göre dağılımı60
Tablo 4.14.	Normal sitolojili 200 kadında HPV genotiplerinin dağılımı61
Tablo 4.15.	Anormal sitolojili 32 kadında HPV genotiplerinin dağılımı62
Tablo 4.16.	HPV pozitif normal ve anormal sitolojili kadında HPV genotiplerinin dağılımı63

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	: Adenosine triphosphate (Adenozin trifosfat)
ASC-US	: Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (Önemi belirsiz atipik skuamöz hücreler)
ASC-H	: Atypical squamous cells-cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion (Yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyonların dışlanamadığı atipik skuamöz hücreler)
ART	: Antiretroviral therapy (antiretroviral tedavi)
AIN	: Anal intraepithelial neoplasia (Anal intraepitelyal neoplazi)
CSCC	: Cutaneous squamous cell carcinoma (Kutanöz skuamöz hücreli karsinom)
CW	: Cutaneous warts (Kutanöz siğiller)
CC	: Cervical cancer (Servikal kanser)
CIN	: Cervical intraepithelial neoplasia (Servikal intraepitelyal neoplazi)
DNA	: Deoxyribonucleic Acid (Deoksiribonükleik asit)
EV	: Epidermodysplasia Verruciformis (Epidermodisplazi verruciformis)
EGFR	: Epidermal growth factor receptor (Epidermal büyüme faktörü reseptörü)
FRET	: Fluorescence Resonance Energy Transfer (Floresan Rezonans Enerji Transferi)
FDA	: Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç İdaresi)
GVHD	: Graft versus host disease (Graft versus host hastalığı)
HSCT	: Haematopoietic stem cell transplantation (Hematopoietik kök hücre nakli)
HNC	: Head and neck cancer (Baş ve boyun kanseri)
HIV	: Human immunodeficiency virus
HPV	: Human papillomavirus
HR	: High risk (Yüksek risk)
HSPG	: Heparan sulfate proteoglycan (Heparan sülfat proteoglikan)
HSIL	: High-grade squamous intraepithelial lesion (Yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon)

HR	: High risk (Yüksek risk)
HC2	: Hybrid Capture 2 (Hibrit Yakalama 2)
ISH	: In situ hybridization
JORRP	: Juvenile-Onset Recurrent Respiratory Papillomatosis (Jüvenil başlangıçlı tekrarlayan solunumsal papillomatoz)
LR	: Low risk (Düşük Risk)
LCR	: Long control region (uzun kontrol bölgesi)
LSIL	: Low-grade squamous intraepithelial lesion (Düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon)
NCR	: Non-coding regulatory sequence (Kodlanmayan bölge)
OPR	: Open reading frames (Açık okuma çerçevesi)
PDGF	: Platelet-derived growth factor
PCR-RFLP	: Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism
P53	: Tumor suppressor p53 (tümör baskılayıcı protein 53)
PCR	: Polymerase chain reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
PIN	: Penile intraepithelial neoplasia (penil intraepitelyal neoplazi)
Rb	: Retinoblastoma protein (retinoblastom proteini)
RNA	: Ribonucleic Acid (Ribonükleik asit)
RPA	: Replication protein A (replikasyon proteini A)
RLU	: Relative Light Unit (Bağıl ışık üniti)
SPF-PCR	: Short PCR fragment (kısa PCR fragmanı)
SCC	: Squamous cell carcinoma (Skuamöz hücreli karsinom)
SOT	: Solid organ transplantation (Solid organ nakli)
TMA	: Transcription-Mediated Amplification (Transkripsiyon Aracılı Amplifikasyon)
URR	: Upstream regulatory region (Yukarı akış düzenleyici bölge)
VIA	: Visual inspection with acetic acid (Asetik asit ile görsel inceleme)
VAIN	: Vaginal intraepithelial neoplasia (Vajinal intraepitelyal neoplazi)
VIN	: Vulval intraepithelial neoplasia (vulvar veya vulval intraepitelyal neoplazi)
VIL	: Visual inspection with Lugol's iodine (Lugol iyot ile görsel

inceleme)

VLP : Virus Like Particle (Virus benzeri partikül)

WHO : World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü; DSÖ)



ÖZET

Normal ve Anormal Servikal Sitolojili Kadınlarda Human Papillomavirus Prevalansı ve Genotip Dağılımı

Servikal kanser bütün dünyada kadınlarda en sık görülen dördüncü kanserdir. Human papillomavirus (HPV) servikal kanserin major etyolojik ajanı olarak tanımlanmıştır. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Jinekolojik Onkoloji Bölümüne Ekim 2021 ve Şubat 2022 arasında başvuran normal ve anormal servikal sitolojisi olan ve HPV aşısı yaptırmamış kadınlarda HPV prevalansı ve genotiplerinin dağılımını araştırmak amacıyla yaptığımız bu çalışmaya 20 ve 65 yaş grubundaki 232 kadın dahil edilmiştir. Kadınların 200'ü (%86.2) normal ve 32'si (%13.8) anormal servikal sitolojiye sahipti. Servikal sürüntü örneklerinden HPV DNA varlığı sırasıyla MY09/MY11 ve GP5+/GP6+ konsensus primerlerinin kullanıldığı nested PCR testi ile tespit edilmiştir. HPV DNA pozitif bulunan örneklerde 14 yüksek riskli HPV genotipinin tanısı için HPV Genotypes 14 Real-TM Quant PCR kit (Sacace, İtalya) kullanılmıştır. Toplam 232 kadında yüksek riskli HPV prevalansı %39.2 (91) bulunmuş olup normal sitolojili kadınlarda %33 (66) ve anormal sitolojili kadınlarda %78 (25) olarak tespit edilmiştir. HPV pozitif 91 kadından %27.4'ünün anormal sitolojili olduğu bulunmuştur. Çalışma grubunda en baskın bulunan genotip HPV16 (%21.1) olup diğerleri sırasıyla, HPV31 (%12.9), HP18 (%10.3), HPV52 (%7.7) ve HPV45 (%6)'dır. Normal sitolojili grupta HPV16 %18 oranla en yaygın tip olup bunu çalışma grubunda görülen benzer sırayla HPV31 (%13.5), HPV18 (%8.5), HPV 52 (%6) ve HPV45 (4.5%) izlemiştir. Anormal sitolojili grupta ise sırasıyla HPV16 (%40.6), HPV18 (%21.9), HPV52 (%18.7), HPV45 (%15.6) ve HPV56 (%12.5) tespit edilmiştir. HPV pozitif kadınların %59.3'ünde (54/91) ise çoklu HPV enfeksiyonu gözlenmiştir. Bu çalışmada normal servikal sitolojili kadınlarda onkogenik HPV prevalansı %33 oranla oldukça yüksek bulunmuş olup risk altındaki kadınların erken tanısı için bölgemizdeki popülasyonun servikal kanser taramasına katılımını artırmak önem taşır. Ayrıca çalışmanın verileri profilaktik HPV aşılarının etkinliğinin izlenmesine katkıda bulunacaktır.

Anahtar sözcükler: Human papillomavirus, genotipleme, real-time PCR, anormal servikal sitoloji, servikal kanser taraması

ABSTRACT

Prevalence and Genotype Distribution of Human Papillomavirus in Women with Normal and Abnormal Cervical Cytology

Cervical cancer is the fourth most common cancer in women worldwide. Human papillomavirus (HPV) has been defined as the major etiological agent of cervical cancer. To investigate the prevalence and genotype distribution of human papillomavirus in women with normal and abnormal cervical cytology and unvaccinated for HPV, who applied to Çukurova University Faculty of Medicine, Department of Gynaecological Oncology between October 2021 and February 2022, 232 women aged 20 and 65 years were included in this study. Of the women, 200 (86.2%) had normal cervical cytology and 32 (13.8%) had abnormal cervical cytology. The presence of HPV DNA in cervical swab samples was determined by nested PCR test using MY09/MY11 and GP5+/GP6+ consensus primers, respectively. HPV Genotypes 14 Real-TM Quant PCR kit (Sacace, Italy) was used for the diagnosis of 14 high risk HPV genotypes in HPV DNA positive samples. The prevalence of high risk HPV was found to be 39.2% (91) in a total of 232 women, and it was found to be 33% (66) in women with normal cytology and 78% (25) in women with abnormal cytology. Of the HPV positive 91 women, 27.4% was found to have abnormal cytology. The most dominant genotype in the study group was HPV16 (21.1%), and the others were HPV31 (12.9%), HP18 (10.3%), HPV52 (7.7%) and HPV45 (6%), respectively. In the group with normal cytology, HPV16 was the most common type with a rate of 18%, followed by HPV 31 (13.5%), HPV18 (8.5%) HPV52 (%6) and HPV45 (4.5%), in similar order that was observed in study group. In the abnormal cytology group, HPV16 (40.6%) HPV18 (21.9%), HPV52 (18.7%), HPV45 (15.6%) and HPV56 (12.5%) were detected, respectively. Multiple HPV infections were observed in 59.3% (54/91) of HPV positive women. In this study, the prevalence of oncogenic HPV in women with normal cervical cytology was found to be relatively high at 33%, and it is important to increase population participation in cervical cancer screening for early diagnosis of women at risk in our region. In addition, the data of the study will contribute to the monitoring of the effectiveness of prophylactic HPV vaccines.

Key Words: Human papillomavirus, genotyping, real-time PCR, abnormal cervical cytology, cervical cancer screening

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Human papillomavirus (HPV), dünyadaki tüm kanserlerin yaklaşık %5'inin nedeni olarak tanımlanmıştır. HPV enfeksiyonu hemen hemen tüm servikal kanser kanser ve anogenital (vulvar, vajinal, penil ve anal) ve orofaringeal kanserlerin önemli bir kısmı ile ilişkilidir. HPV enfeksiyonu ayrıca siğiller ve iyi huylu papillomlar gibi diğer deri ve mukoza lezyonlarına da sebep olur. HPV enfeksiyonlarının çoğu geçicidir ve klinik problemlere neden olmaz. Yeni enfeksiyonların yaklaşık %70'i bir yıl içinde ve yaklaşık %90'ı iki yıl içinde iyileşir. Yüksek riskli bir HPV tipi tarafından kalıcı enfeksiyon, servikal prekanseröz ve servikal kanser gelişimi için en önemli risk faktörüdür ve neoplastik değişikliğe doğru ilk adımdır. HPV enfeksiyonu olanların en fazla %1'inde servikal kanser gelişir. Buna karşılık servikal kanser gelişmesi için HPV enfeksiyonu gerekli fakat tek başına yetersiz bir sebeptir. Persisten HR HPV enfeksiyonu olan kişilerde sigara, cinsel aktivitenin erken yaşta başlaması, uzun süreli oral kontraseptif kullanımı, immün yetmezlik, multiparite, çok sayıda cinsel partner olması ve diğer cinsel yolla geçen enfeksiyonların varlığı, genetik predispozisyon gibi uygun kofaktörler varsa prekanseröz lezyonların ileri formları gelişir, erken tanımadığı ve tedavi edilmediği takdirde ortalama servikal kansere ilerler. HPV16 ve HPV18 tipleri ile persisten enfeksiyon diğer yüksek riskli (high risk; HR) tiplere göre daha yaygındır. HPV enfeksiyonu ile kanser öncesi lezyonların gelişimi arasındaki zaman aralığı 1-10 yıl arasında değişir ve invaziv kanserin gelişimi için daha uzun olup 10-15 yıldır.

HPV16, servikal kanserlerin yaklaşık %55'inden sorumludur, HPV18 vakaların yaklaşık %15'ine neden olur ve geri kalanı diğer HR HPV'lerden kaynaklanır. HR olarak sınıflandırılan yaklaşık 14 (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 ve 68) HPV genotipi vardır.

Düşük riskli HPV tipleri en sık teşhis edilen cinsel yolla bulaşan viral enfeksiyon olan genital siğillerden sorumludur. HPV tip 6 ve 11, tüm genital siğillerin yaklaşık %90'ına neden olur. Genital siğiller yaşamı tehdit etmezler, ancak önemli morbiditeye neden olabilirler.

Yüksek gelirli ülkelerde, genç kızların HPV'ye karşı aşılmasını ve kadınların düzenli olarak taranmasını ve yeterli şekilde tedavi edilmesini sağlayan servikal kanser tarama programları uygulanmaktadır. Tarama, kanser öncesi lezyonların kolayca tedavi

edilebilecekleri aşamalarda tanımlanmasını sağlar. Son yıllarda, 30 yaş ve üzeri kadınlarda servikal kanser taramasında primer test olarak HPV DNA testinin kullanımına artan bir ilgi vardır.

Düşük ve orta gelirli ülkelerde, bu önleyici tedbirlere erişim sınırlıdır ve servikal kanser genellikle daha fazla ilerleyene ve semptomlar gelişene kadar teşhis edilmez. Ek olarak, kanserli lezyonların tedavisine erişim sınırlı olabilir, bu da bu ülkelerde servikal kanserden ölüm oranının daha yüksek olmasında rol oynar.

Servikal kanserden küresel olarak yüksek ölüm oranı (kadınlar arasında yaşa göre standardize edilmiş oran: 2020'de 13,3/100 000), yaşamın farklı evrelerinde etkili müdahalelerle azaltılabilir^(3,4,5).

Bu çalışmanın amacı, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Jinekolojik Onkoloji Bilim Dalı'na başvuran, servikal sitolojisi normal ve prekanseröz servikal lezyonu olan HPV'ye karşı aşılanmamış kadınlarda HPV prevalansı ve genotiplerinin dağılımını belirlemektir.

Bu çalışma ile kadınlarda genital HPV genotiplerinin prevalansı ve elde edilen moleküler epidemiyolojik veriler, HPV aşılarının uygunluğunun ortaya konulmasına katkı sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Servikal kanser, 2020 yılında tahmini 604 000 yeni vaka ile kadınlarda en sık görülen dördüncü kanserdir. Yine 2020'de servikal kanserden kaynaklanan tahmini 342 000 ölümün yaklaşık %90'ı düşük ve orta gelirli ülkelerde meydana gelmiştir. HIV (human immunodeficiency virus) ile enfekte kadınların HIV ile enfekte olmayan kadınlara kıyasla servikal kanser geliştirme olasılığı 6 kat daha fazladır ve tüm servikal kanser vakalarının tahmini %5'i HIV ile enfekte kadınlarda görülür. HPV, bütün dünyada en yaygın cinsel yolla bulaşan enfeksiyondur. Cinsel olarak aktif olan kadınların yaklaşık %80'i hayatlarının bir noktasında HPV ile enfekte olur ⁽⁶⁾.

Yüksek riskli HPV ile kalıcı enfeksiyon, karsinom gelişimi için en önemli risk faktörüdür. Yeni tanımlanan HPV ilişkili karsinomların çoğunluğunu servikal ve orofaringeal karsinom oluşturmaktadır ve bu vakaların çoğu yüksek riskli HPV tipleri olan HPV16 ve HPV18 ile enfeksiyondan kaynaklanmaktadır.

HPV ile enfekte olmuş bağışıklığı yeterli kişilerde genellikle yavaş ilerleyen yüksek dereceli, kanser öncesi lezyonlar ve ardından karsinom gelişir. Bununla birlikte, yetkin bağışıklık sistemine sahip çoğu insan, HPV enfeksiyonlarını sekelsiz olarak temizleyebilir. HIV enfeksiyonu, AIDS (acquired immunodeficiency syndrome) veya solid organ nakli alıcıları gibi hücrel immun yetmezliği olanlar, yüksek dereceli lezyonlara hızlı ilerleme göstermiştir ve bu nedenle, HPV ile ilişkili karsinom geliştirme riskinde artış gözlenir ^(6,7).

2.1. HPV'nin Yapısı ve Sınıflandırılması

HPV, Papillomaviridae ailesinde bulunan Papillomavirus genusunun bir üyesi olup zarfsız bir DNA virusudur. Her virus partikülü, yaklaşık 8000 baz çiftinden oluşan dairesel çift sarmallı DNA molekülü içeren yaklaşık 60 nm çapında bir ikosahedral kapsitten oluşur (Şekil 2.1). DNA genomu erken bölge, geç bölge ve uzun kontrol bölgesi (long control region; LCR) olmak üzere üç bölge içerir. Çift sarmallı DNA genomunun yalnızca bir sarmalı, transkripsiyon için bir şablon olarak kullanılır. Birçok viral protein, polisistronik mRNA'lardan ekspres edilir. Erken bölge (E), 6 ORF içerir, yapısal olmayan düzenleyici proteinleri kodlar ve geç (L) bölgede 2 ORF bulunur ve iki viral kapsid proteinini kodlar. Genomun üçüncü bölgesi, uzun kontrol bölgesi (LCR),

yukarı akış düzenleyici bölge (upstream regulatory region; URR) veya kodlanmayan bölge (noncoding region; NCR) olarak anılır. Bu genomik bölge, DNA replikasyonu orjinini ve ayrıca transkripsiyon kontrol dizilerini içerir.

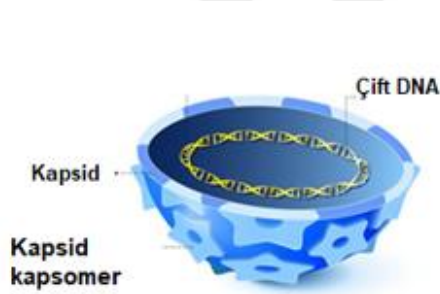
Erken bölge E1, E2, E1[^]E4, E5, E6, E7 ve E8[^]E2 proteinlerini kodlar (Şekil 2.2). E1, adenin-timin açısından zengin replikasyon orjinine bağlanabilen ATP'ye bağımlı bir viral DNA helikazını kodlar ve E2 proteinleri viral transkripsiyon, replikasyon ve hücrelerin bölünmesi ile oluşan yeni hücrelere viral genomun uygun dağılmasında işlev görür ^(1,4).

Tam uzunluktaki E2 proteini, bir transkripsiyonel aktivatörü kodlar. Buna karşılık, bir internal ATG'den transkribe edilen kesilmiş bir E2 formu ve E8[^]E2 füzyon proteini, transkripsiyonu baskılar. E4, E2 geninin içine gömülüdür ve öncelikle viral yaşam döngüsünün geç aşamalarında bir E1[^]E4 füzyon proteini olarak ifade edilir. E4, sitokeratin filamentlerine bağlanarak yapılarını bozar ve kornifiye epitel tabakalarından virusun salınmasında rol oynadığı düşünülür.

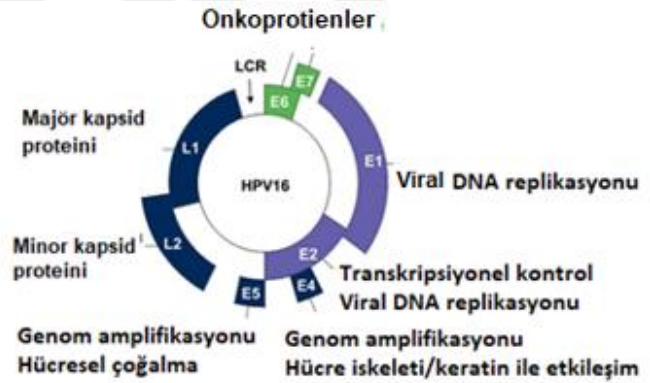
E5, en iyi bovine papillomavirus tip 1 (BPV1) ile çalışılmış olan küçük bir transmembran proteinidir. BPV1 E5, dimerler oluşturan ve EGF ve PDGF reseptörleri dahil olmak üzere reseptör tirozin kinaz reseptörleri ile etkileşime giren ve bunları aktive eden onkojenik küçük, hidrofobik, tek geçişli bir transmembran proteinidir. Benzer aktiviteler, BPV1 E5 ile sadece sınırlı dizi benzerliği paylaşan çok geçişli transmembran proteinlerini kodlayan HPV E5'e de atfedilmiştir. HPV E5 proteinlerinin apoptozda ve immün yanıttan kaçmada da rol oynadığı bildirilmiştir. HPV E6 ve E7, üst epitel katmanlarında genom amplifikasyonuna izin vermek için hücre döngüsünü yönlendirir. HR HPV E6 proteinleri onkojenik aktivitelere sahiptir. Hücresel PDZ proteinlerinin yanı sıra p53'ü bağlar ve bozarlar ve telomerazı aktive ederler. PDZ proteinlerinin E6 aracılı yıkımı hücreler arası temas ve hücre polaritesinin kaybı ve hücre proliferasyonunun kontrolünün kaybına da yol açar ki karsinogenezde rol oynar. HR HPV E6 proteininin telomerazı aktive etmesi ile HPV ile enfekte hücreler sürekli çoğalır. HR HPV E7 proteinleri, retinoblastoma tümör baskılayıcı pRB'yi bağlar ve bozar ve genomik kararsızlığı indükleyerek malign ilerlemeye katkıda bulunur. Geç bölge, majör (L1) ve minör (L2) kapsid proteinlerini kodlar. L1 ORF'nin HPV'ler arasında en çok korunan bölge olduğu göz önüne alındığında, filogenetik organizasyon ve HPV sınıflandırması için kullanılır ^(8,9).

HPV'nin 207'den fazla genotip tanımlanmıştır. Yeni HPV'lerin karakterizasyonu, viral genomun dizilenmesini ve bilinen HPV genomlarıyla karşılaştırmayı içerir. Bu nedenle, HPV'ler genotiplere ayrılır. Her bir genotip, yüksek oranda korunmuş L1 gen bölgesinde en az %10 dizi farkı ile diğerinden farklıdır. Şu anda beş evrimsel HPV genotip grubu (α , β , γ , μ ve ν) tanımlanmıştır. Bunlardan en büyük grup α 'dır. Bu grup, esas olarak mukozal epiteli enfekte eden 64 HPV içerir. Bu HPV'lerin yaklaşık 40'ı anogenital yolu enfekte edebilir ve yaklaşık 15 HR HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 51, 56, 58, 59, 68, 73 ve 82 tipleri onkojenik olarak sınıflandırılmış ve anogenital kanserlere neden olduğu bulunmuştur. HPV6 veya HPV11 gibi düşük riskli tipler genellikle genital siğiller gibi iyi huylu hastalıklara neden olur.

Bir sonraki en büyük grup, HPV genotipleri 1 ve 2 (HPV1, HPV2) gibi esas olarak kutanöz epiteli enfekte eden β -grubu HPV'lerdir; HPV2 ve 4, ellerde yaygın siğillere neden olurken, HPV2 ve 4 ayaklarda verrukalara (plantar lezyonlara) neden olur^(3,10).



Şekil 2.1. HPV'nin Yapısı



Şekil 2.2. HPV genomu

2.2. HPV Replikasyonu

2.2.1. Viral Bağlanma ve Giriş

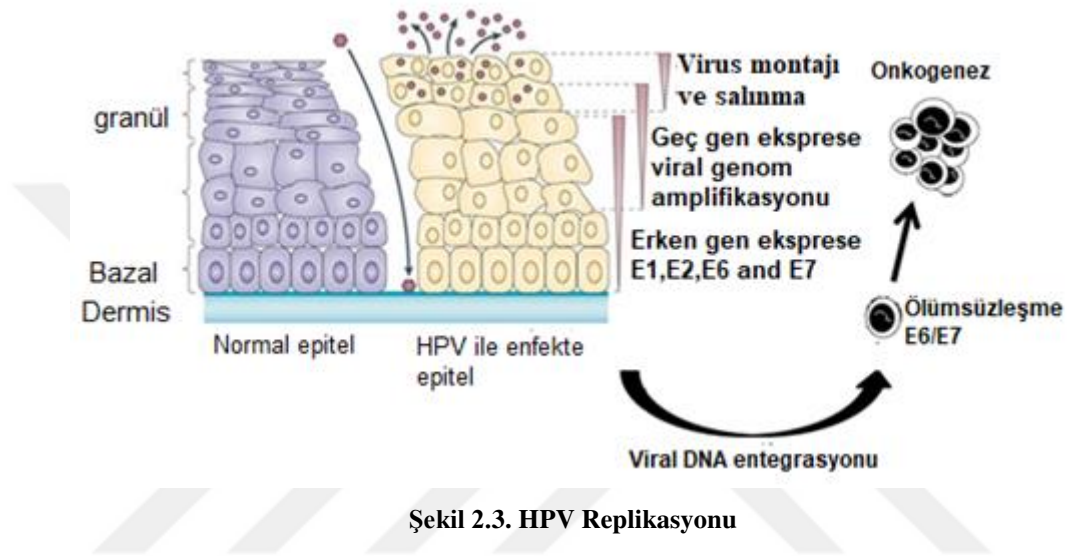
HPV, çok katlı skuamöz epitel hücreler için bir tropizme sahip olup mikroyarıklar yoluyla servikal epitelyumu enfekte eder ve özellikle HR-HPV'ler ektoserviks ve endoserviksin birleştiği servikal transformasyon zonu denilen skuamokolumnar bölgeden epitel hücrelerine girer. HR HPV'lerin aktif olarak bölünen bazal veya kök epitel hücrelerini enfekte etmesi enfeksiyonun etkin bir şekilde başlaması için

gereklidir. HPV L1 kapsid proteini, bazal tabaka hücrelerinin yüzeyinde bulunan hücrel reseptörlere bağlanır. İlk bağlanma için birincil reseptör heparin sülfat proteoglikanlar (HSPG'ler) gibi görünmektedir. HPV, HSPG'leri bağladığında, viral kapsidde siklofilin B aracılı bir konformasyonel değişiklik olur, öyle ki L2 bileşeninin N-terminali virion yüzeyinde açığa çıkar. N-terminali daha sonra furin ve/veya PC5/6 ile ayrışır ve bu, hücre membranı üzerindeki ikincil bir reseptöre bağlanmaya izin verir. Son çalışmalar HR-HPV giriş reseptörleri olarak epidermal büyüme faktörü (EGF) reseptörlerinin (EGFR'ler), integrinlerin ($\alpha 6$ integrin), tetraspanin ile zenginleştirilmiş membran mikrodomanlar, lamininler, syndecan-1, anneksin-A2 heterotetramer ve vimentin'in dahil olduğunu ortaya koymuştur. Kullanılan reseptör stratejisi, HPV genotipine, enfekte edilecek hücre tipine veya tek bir enfeksiyonda birkaç farklı reseptör stratejisi kullanılabilir. HPV, mikropinositoz ile en çok benzerlik gösteren bir endositoz mekanizması ile hücrelere girer. Virus, hücrede membranla ilişkili sitoplazmik komponentler ve trans-Golgi ve endoplazmik retikulum'dan geçerek ilerler. Son olarak, viral epizomal genom, tübülün aracılı bir yolla nukleusa taşınır ve burada nukleer gözenekler yoluyla veya mitoz sırasında nukleer membranın parçalanmasını takiben nukleusa girebilir. HPV, hücrel bağlanmayı takiben yaklaşık 24 saat sonra çekirdeğe ulaşır. Bu nukleer lokalizasyon, viral transkripsiyonu başlatmak için DNA virusları tarafından yaygın olarak kullanılır^(3,8,11).

2.2.2. Genomun Devamlılığı ve Hücre Proliferasyonu

HPV genomu, bazal hücrelerin çekirdeğinde epizomaldır ve bir "yuvarlanan daire" replikasyon modeli ile replike olur. Erken proteinler E1 ve E2, bazal hücrelerde eksprese edilir ve viral DNA, enfeksiyon sırasında hücre başına 50-100 genomla düşük seviyelerde replike olur (Şekil.3). E1 ve E2, DNA replikasyonu için gereklidir ve bu nedenle izin verici enfeksiyon meydana gelir. Bu iki proteinin işlevi, HPV genomunun bazal hücrelerin çekirdeğinde epizomal kalmasını ve replikasyonunun devam etmesini sağlamaktır. E1 proteini, LCR'deki replikasyon orjinine bağlanır, HPV DNA replikasyonunu başlatır ve ayrıca ATP'ye bağımlı DNA helikaz aktivitesi sergiler. E1 proteini ayrıca DNA polimeraz alfa ve replikasyon proteini A (RPA) gibi birçok konakhücrenin replikasyon proteinlerini viral replikasyon orijinine taşır. E1 proteini viral DNA replikasyonu için gereklidir, E2 proteini ise hem viral replikasyonun hem de

transkripsiyonun kontrolü için gereklidir. E2 proteinlerinin transkripsiyon üzerinde hem olumlu hem de olumsuz etkileri vardır. E2 proteini, E1 proteini ile birleşerek, E1'i LCR'deki viral replikasyon orijinine taşır ve E1'in DNA'ya bağlanma afinitesini artırır. E2 proteini ayrıca E6 ve E7 genlerinin ekspresyonunu da baskılar. Yalnızca bir HPV dizisi kopyalanır. E5 proteini, hücre zarı üzerindeki EGF (epidermal büyüme faktörü) gibi büyüme faktörü reseptörlerine bağlanarak hücre proliferasyonunu uyarır^(11,12).



Şekil 2.3. HPV Replikasyonu

2.2.3. Genom Replikasyonu

HR HPV E6 ve E7 proteinleri, tümör baskılayıcı proteinler p53 ve Rb'yi (retinoblastoma) etkisiz hale getiren viral onkoproteinlerdir. P53 ve Rb proteinleri hücre döngüsü kontrolü ve hücrenin DNA onarımı için önemlidir. Hücrelerin transformasyonu, HPV DNA, konak hücre genomuna entegre edildiğinde meydana gelir. Yalnızca yüksek riskli HPV tiplerinin genomları, konak hücre DNA'sına entegre olur. Ancak düşük riskli HPV tiplerinin genomu benign ve düşük dereceli lezyonlarda hücre çekirdeğinde epizomal DNA olarak bulunur ve prodüktif enfeksiyon gelişir. HPV DNA'nın entegrasyonu sırasında normalde viral onkogenleri baskılayan E2 ORF'nin yapısı bozulur ve E6 ve E7 genleri aşırı aktive olur. p53'ün HR HPV E6 proteini ve Rb'nin E7 proteini tarafından etkisizleştirilmesi karsinogenezi başlatır. HR HPV E6 proteini, hücre protein ubiquitin ligaz E6-AP (E6-ilişkili protein) ile birleşir ve bu kompleks, ubiquitin yoluyla proteozomda p53 proteininin parçalanmasını gerçekleştirir. Böylece hücrelerin genetik stabilitesinin sağlanamaması ve apoptozun inhibe edilmesi sonucunda hücrelerin transformasyon riski artar. HR HPV E6 proteininin başlangıçta

p53'ü hedeflediği gösterilmiş olmasına rağmen, sonraki birçok çalışma E6 proteininin paxillin, Bak, IRF3, PDZ proteinleri ve p300/CBP gibi tümü malign dönüşüme katılan birçok hücresel faktörle etkileşime girdiğini göstermiştir. HR HPV E6 tarafından telomeraz aktivasyonu da onkogeneizde rol oynar. HR HPV E7, Rb'nin işlevini engeller. Normal hücrelerde Rb, hücrenin E2F transkripsiyon faktörlerine bağlanır. Böylece E2F, hücrenin S fazına ilerlemesinden sorumlu genlerin promotörlerine bağlanamaz ve transkripsiyon baskılanır^(11,13). Ancak E7'nin Rb'ye bağlanması ile E2F salınır ve hücre döngüsünün devamı için siklin A ve siklin E gibi gerekli proteinleri sentezleyerek hücreler sürekli çoğalır. E7 ayrıca Rb ailesinden p107 ve p130'dan diğer proteinlerle de ilişkilidir. E7 proteininin sikline bağımlı kinaz inhibitörleri p21 ve p27'ye bağlanması ayrıca sikline bağımlı kinazların aktivitesinin artmasına ve nihayetinde S fazına giren hücrelerin proliferasyonunun devam etmesine yol açar. Düşük riskli HPV tiplerinin E6 ve E7 proteinleri, p53 ve Rb'ye düşük afinite ile bağlanır, ancak onları inaktive etmez. HPV'nin yaşam döngüsü, büyük ölçüde epitel hücrelerinin farklılaşmasına bağlıdır. HPV replikasyonu, virus epidermisin bazal hücrelerini enfekte ettiğinde başlar. Bazal tabakadan ayrılan hücreler, epitel yüzeyine doğru hareket ederken farklılaşır ve HPV'nin geç genlerinin aktivasyonu ile HPV'nin üretken enfeksiyonuna izin verir. Suprabazal bölgedeki farklılaşmış hücrelerde, E1, E2, E4, E5, 6 ve E7 proteinlerinin çok yüksek ekspresyonu ile viral genomların sayısında (>1000 viral genom/hücre) bir artış vardır. Ayrıca normalde bölünme yeteneği olmayan farklılaşmış hücreler, HPV proteinlerinin etkisi altında aşırı derecede çoğalırlar^(13,14).

2.2.4. Virus Montajı ve Salınma

E4 proteini, virus replikasyon döngüsünün sonlarında sentezlenen bir proteindir. E4 proteini hücreye şeklini veren ve yapısını bozan hücre iskeletine bağlanarak virusun olgunlaşmasını ve salınmasını kolaylaştırır. Geç viral proteinler L1 ve L2 kapsid proteinleri, epitelin stratum spinosum ve stratum granülozum gibi üst katmanlarının hücrelerinde sentezlenir, ve virus partikülleri çekirdekte toplanır. Sonunda virusler, çok sayıda virus yüklü keratinositlerin çevreye dökülmesiyle epidermisin yüzeyinden salınır^(8,12).

2.3. HPV Bulaşması

2.3.1. Otoinokülasyon

Otoinokülasyon genital ve oral veya anal bölgeler arasında ellerle temas veya anogenital bölgeye virus bulaşması yoluyla olabilir. Servikal HPV enfeksiyonu olan kadınlarda oral HPV prevalansı ile ilgili literatürde bazı farklılıklar vardır. Kanıtlanmış servikal HPV enfeksiyonu, servikal displazi veya invaziv kanseri olan kadınların oral örneklerde HPV prevalansının daha yüksek olması, bu tip enfeksiyonlar arasında bir ilişki olduğunu gösterir. Bu nedenle orofaringeal ve servikal HPV enfeksiyonunun eşzamanlı testi, gelecekteki tarama stratejisi olarak umut verici görünmemektedir. Genital HPV enfeksiyonu olan hastalar oral enfeksiyon ve sonuç olarak orofaringeal karsinom gelişimi için risk altındadır ⁽¹⁵⁾.

2.3.2. Perinatal bulaşma

Genç gebe kadınlarda prenatal testlerde yüksek HPV prevalansı (%44.9), plasenta örneklerinde (%14) ve yenidoğanlarda (%11.2) sıklıkla saptanan HPV izlemiştir. Kesin bulaşma şekli tam olarak anlaşılmasa da, HPV pozitif annelerden doğan yenidoğanlarda oral HPV prevalansı %10 ile %30 arasında değişmektedir.

Vertikal bulaşma, HPV enfeksiyonu zamanına göre perikonseptal bulaşma (bir oositin dölllenmesi sırasında veya dölllenmeden hemen sonra), prenatal (hamilelik sırasında) ve perinatal (doğum sırasında veya hemen sonrasında) olmak üzere üç kategoriye ayrılabilir. HPV enfeksiyonu plasenta veya göbek kordon kanı yoluyla prenatal, perinatal veya nadiren anne sütü yoluyla bulaşabilir. Dikey bulaşma transplasental bulaşma, vajinal doğum sırasında veya sezaryen sırasında meydana gelebilir. Doğumdan hemen sonra bulaşma öncelikle ciltten cilde veya ciltten mukozaya temas yoluyla gerçekleşebilir. Ağızdan alınan örneklerde tespit edilen yüksek HPV DNA taşıma oranları yenidoğanlar yaşamın ilk 3 yılında kademeli olarak azalır ^(15,16).

2.3.3. Kişiler Arasında Bulaşma

Kişiler arasında bulaşma, başlıca cinsel yolla veya ellerle temas yoluyla dolaylı bulaşma dahil olmak üzere farklı yollarla gerçekleşir. Derin öpüşme yaygın oral HPV enfeksiyonu ile ilişkilendirilmiştir ve ağızdan ağza bulaşma, hala virusların olası bir

kaynağı olmaya devam etmektedir. Tırnakların altında bulunan genital olmayan virus kaynakları potansiyel olarak gelecekteki enfeksiyonlar için alternatif bir rezervuar sağlayabilir ^(15,17,18).

2.4. Hastalık

2.4.1. Kutanöz Siğiller

Kutanöz siğiller genellikle papüler, karnabahar şeklinde ve keratotiktir. Plantar ve palmar siğiller tipik olarak düzdür. Perineal ciltte kutanöz siğiller oluşabilir, ancak bu HPV'ler nadiren mukozal yüzeyleri enfekte eder. Deri siğilleri en çok okul çağındaki çocuklarda ve genç erişkinlerde görülür.

Deri siğillerinin kötü huylu forma dönüşümü, bağışıklığı yeterli kişilerde nadiren görülür. Buna karşılık, bağışıklığı baskılanmış hastalarda malign dönüşüm potansiyeli olan yaygın deri cilt siğilleri olabilir ⁽¹⁹⁾.

HPV enfeksiyonu, her iki virusun da cinsel yolla bulaşan doğası nedeniyle HIV pozitif bireyler arasında çok yaygındır. Bu nedenle, bu hasta popülasyonu, HPV kutanöz ve mukozal hastalık geliştirme riski altındadır. Yaygın siğiller, epidermodisplazi verrükiformis benzeri lezyonlar, skuamöz hücreli karsinom (squamous cell carcinoma; SCC) ve bazal hücreli karsinom gibi cilt hastalıkları HIV pozitif bireylerde daha sık görülmektedir. Bu kutanöz lezyonlar genellikle genital sistemde bulunan HPV tipleriyle ilişkili olma eğilimindedir ve agresif olmaları ve tedavi edilmesi daha zor olma olasılıkları daha yüksektir. HPV'nin cilt kanserinin onkogenezindeki rolü tam olarak aydınlatılamamış olsa da, bildirilen birçok yüksek riskli vaka vardır. HIV pozitif bireylerde distal parmaklarda ve periungual deride SCC ile ilişkili HPV tipleri ile ilişkili karsinomlar agresif tedavi gerektirir ve tekrarlama eğilimindedir.

Benign anogenital siğiller veya condylomata acuminata, HPV enfeksiyonunun hem bağışıklığı yeterli hem de bağışıklığı baskılanmış bireylerde en yaygın klinik belirtisidir. Anogenital siğillerin yaklaşık %90'ı düşük riskli tipler olan HPV6 ve HPV11'e atfedilir. Genital olmayan kutanöz lezyonlara benzer şekilde, HIV pozitif hastalar sıklıkla daha agresif ve tedavisi zor olabilen yaygın lezyonlarla başvurur.

HPV'nin neden olduğu kutanöz siğiller ve SCC ayrıca immünosupresif tedavi alan SOT (solid organ transplantı) alıcıları için büyük bir sağık riski oluşturur. Aslında, SOT alıcılarının cilt kanseri geliştirme riskinin HIV veya AIDS'li olanlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu fenomen tam olarak aydınlatılamamıştır, ancak araştırmalar, belirli immünosupresif ilaçların yanı sıra bireyin humoral immun yanıtının da rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bu popülasyonda 10 yıllık kümülatif cilt kanseri insidansı %10-40'a ulaşmaktadır. Böbrek nakli alıcıları, HPV ile ilişkili kutanöz siğiller ve cilt kanserleri geliştirme açısından özellikle yüksek risk altında görünmektedir. SOT öyküsü olan hastalarda immunosupresyon, ultraviyole ışık ve yüksek riskli HPV tipleri ile enfeksiyon önemli risk faktörleridir.

Hematopoietik kök hücre nakli (Haematopoietic stem cell transplantation ; HSCT) alıcıları, özellikle kronik graft-versus-host hastalığı (Graft versus host disease; GVHD) olanlar, kutanöz SCC'nin en sık tanımlanan lezyon olmasıyla birlikte ikincil bir malignite geliştirme açısından genel olarak yüksek risk altındadır. Ancak, bu hasta popülasyonunda kutanöz SCC ve HPV ile ilişki iyi çalışılmamıştır ^(20,21).

2.4.2. Epidermodisplazi verrukiformis

Epidermodisplazi verrukiformis (Epidermodysplasia verruciformis; EV), deride kalıcı HPV enfeksiyonlarına dönüşebilen otozomal resesif geçişli nadir görülen bir genetik bozukluktur. Aslında, EV'li hastaların yaklaşık %50'sinde yaşamlarının beşinci dekatına ulaştıklarında cilt kanseri gelişir. EV ile ilişkili spesifik HPV (EV-HPV) tipleri vardır, ancak bu hastalarda malignite ile ilişkili en sık HPV5, HPV8 ve HPV14 tipleridir. EV-HPV'nin kutanöz malignite gelişiminde nedensel bir faktör olup olmadığı hala tartışılmaktadır ve onkogeneze tam olarak anlaşılamamıştır. Son zamanlarda, EV-HPV ile enfekte olmuş bağışıklığı baskılanmış hastalarda, özellikle HIV ve SOT alıcıları olanlarda, edinilmiş bir EV veya EV benzeri sendrom tanımlanmıştır. Bu sendrom için vaka raporları nadirdir ve maligniteye ilerleme henüz belgelenmemiştir ^(12,22).

2.4.3. Anogenital Siğiller

HPV ile ilişkili anogenital siğiller karnabahar şeklinde büyümeler (condylomata acuminata) olarak görünebilir; pürüzsüz, kabarık papüller; yaygın cilt siğillerine

benzeyen kalın keratozlar ve/veya küçük, düz tepeli lezyonlardır. Kadınlarda vulva, vajina, serviks, perine ve perianal bölgelerde oluşabilir. Erkeklerde prepus, frenulum, penil shaft, glans, skotum ve anüsün iç yüzeyinde görülebilir.

Hastaların en az dörtte üçü asemptomatiktir. Semptomlar rahatsızlık, yanma, kaşıntı, ağrı veya hassasiyet ve kanamayı içerebilir. Genital siğillerin doğal seyri iyi anlaşılmamıştır, ancak kontrollü klinik çalışmalar 4 ay içinde yaklaşık %10'luk spontan remisyona işaret etmektedir. Genital siğillerin verrüköz karsinom olan bir varyant olan invaziv SCC'ye dönüşümü nadirdir. Çok büyük siğiller aslında biyopside lokal invazyon gösterebilir ancak metastaz göstermeyebilir. Genital bölgedeki verrükiform tümörlerden bazıları olan verrüköz karsinomlar ve dev kondilomlar birlikte Buschke-Löwenstein tümörleri olarak adlandırılmıştır. Daha yaygın olan düşük riskli anogenital tipler (HPV6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 73, 83) iyi huylu veya düşük dereceli servikal hücresel değişikliklere ve anogenital siğillere neden olur. Genital siğillerin %90'ına HPV6 ve 11 neden olur ^(21,22,23,24).

2.4.4. Rekurren Respiratuvar Papillomatozis

Jüvenil başlangıçlı rekurren respiratuvar papillomatozis, genellikle doğumda edinilen HPV6 veya HPV11'in neden olduğu nadir, fakat ciddi bir hastalıktır. Ses tellerinde papillomların çoğalması, bebeklerde ses kısıklığına veya değişik bir ağlamaya neden olur. Hava yolunun tıkanması, solunum sıkıntısına veya stridor'a neden olabilir. Hastalık trakeadan akciğerlere kadar uzanabilir. Bu aşamada hastalık tıkanıklığa, enfeksiyona ve solunum yetmezliğine neden olabilir ^(21,23,25).

2.4.5. Orofaringeal kanser

Çoğu ağız kanseri vakası alkol ve tütün kullanımı ile ilişkilidir. Bununla birlikte, baş ve boyun kanserlerinin yaklaşık %25'i HPV ile ilişkilidir. HIV'li bireyler, baş ve boyun kanseri (head and neck cancer; HNC) dahil olmak üzere HPV ile ilişkili kanserler geliştirme riski altındadır. Her yıl 400.000'den fazla yeni HNC vakası meydana gelir ve bütün dünyada altıncı en yaygın kanserdir. HPV, orofarenkste ortaya çıkan kanserlerin kabaca %25'inde saptanır ve genel popülasyonda saptama, yakın zamanda oral seks partnerlerinin sayısı ile doğrudan ilişkilidir. HNC'lerin %80'den fazlasına onkojenik HPV16 neden olur ve bu, HIV pozitif hastalarda en sık saptanan HPV tipidir. HIV ile

enfekte bireylerde oral HPV enfeksiyonu insidansında 3 kata kadar artış gösterilmiştir. HIV negatif bireylerin aksine, HIV'lilerde oral HPV enfeksiyonu, artan sayıda yaşam boyu oral seks partneri ile ilişkilidir. CD4 sayısı ve/veya AIDS tanısının oral HPV enfeksiyonu prevalansına etkisinin olup olmadığı henüz net değildir. Ek olarak, antiretroviral tedavinin (ART) oral HPV prevalansına etkisi tam olarak aydınlatılamamıştır, ancak bazı çalışmalar ART alan bireylerde oral lezyonlarda ve HPV persistensinde artış olabileceğini düşündürmektedir.

SOT alıcıları da HPV ile ilişkili kanser geliştirme riski altındadır. Orofaringeal kanser, SOT alıcılarında vulvar ve anal karsinomlardan sonra tanımlanan en yaygın HPV ile ilişkili üçüncü kanserdir. Yaş, ırk, nakledilen organ ve bazı immunosupresif ilaçlar gibi faktörler HPV ile ilişkili orofaringeal karsinom insidansını etkileyebilir.

Orofaringeal kanser sıklıkla HSCT'den uzun süre hayatta kalanlarda bulunur. Kutanöz SCC'de olduğu gibi, bu lezyonlar kronik GVHD (graft-versus-host disease) ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Yine, HNC ve HPV arasındaki ilişki, HSCT alıcılarında tam olarak aydınlatılamamıştır; ancak birkaç vaka raporu bu lezyonların HPV kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir ^(21,26).

2.4.6. Servikal, Penil, Vulvar, Vajinal ve Anal İntraepitelyal Neoplaziler

Servikal intraepitelyal neoplazi (cervical intraepithelial neoplasia; CIN), servikal kanser öncüsü olan hastalıktır. Kanser öncüsü olan, ancak kanser olmayan skuamöz epitel lezyonlarını tanımlar. En iyi %3 asetik asit uygulaması ve kolposkopik inceleme ile görülür. CIN en yaygın olarak, vajinanın skuamöz epiteli ile endoserviksın kolumnar epiteli arasında bir geçiş alanı olan serviksın skuamokolumnar bileşkesinde ortaya çıkar. Vajinal mukozada ve vulvar epitelde de oluşabilir. CIN, en anormal olan 3 olmak üzere 1-3 olarak derecelendirilir. Servikal intraepitelyal neoplazi bir diğer deyişle servikal displazi, hücresel immatürasyon ve dezoryantasyon, nükleer anormallik ve artmış mitozaya verilen isimdir. CIN1, yüzeyden bazal membrana kadar olan epitelin alt 1/3'ünde görülen displazi, CIN2, yüzeyden bazal membrana kadar olan epitelin alt 1/3 ve orta 1/3'ünde görülen displazi ve CIN3, yüzeyden bazal membrana kadar olan epitelin tümünde görülen displazi şeklindedir. HPV ile ilişkili SCC'nin öncü lezyonları intraepitelyal neoplazilerdir. Servikte CIN, peniste PIN (penil intraepitelyal neoplazi), vulvada VIN (vulvar veya vulval intraepitelyal neoplazi), vajinada VAIN (vajinal

intraepitelyal neoplazi) ve anüs üzerinde veya çevresinde, AIN (anal intraepitelyal neoplazi) olarak adlandırılırlar^(21,27).

HPV ile ilişkili Bowenoid papüloz, penis gövdesi üzerinde pigmente verrüköz papüllerin varlığı ile karakterize bir kutanöz durumdur. Lezyonların tipik bir displastik histolojisi vardır ve küçük bir yüzdesi malign özellikler geliştirecek olsa da, genellikle iyi huyludur. Premalign bir durum olarak kabul edilir ve skuamöz hücreli karsinom başlangıcıdır. Durumu tanımlamak için kullanılan diğer terimler Queyrat Eritroplazisi, skuamöz hücreli karsinoma in situ ve Bowen hastalığıdır. Bowenoid papüloz terimi 1977 yılında Kopf ve Bart tarafından ortaya atılmıştır ve adını dermatolog John Templeton Bowen'den almıştır. İntraepitelyal neoplazi terimi premalign intraepitelyal değişikliği tanımlar. Dış genital organlardaki görünimleri tipik olarak genellikle pigmente olan çok merkezli, kümelenmiş papüllerdir. Hızla büyüyebilirler veya siğil tedavisine karşı dirençli olabilirler. Özellikle HIV ile enfekte kişilerde bu tür lezyonlardan biyopsi alınmalıdır.

Bowenoid papillomatoz, kondilomatöz sitomimariye sahip, ancak intraepitelyal neoplazi varlığı ile lezyonların bir kombinasyonudur. Böyle bir lezyon, yassı, pullu, kırmızı ile kahverengi plaklarla ayırt edilen, Bowen hastalığı adı verilen bir karsinoma in situ varyantına dönüşebilir. Terminoloji çok kafa karıştırıcı olmuştur ve Bowen hastalığı, Queyrat eritroplazisi ve bowenoid papüloz terimlerinin anogenital bölgedeki lezyonlar için kullanılmaması tavsiye edilmektedir. Bununla birlikte dermatologlar, daha genç yaş grubunda ayırık papüller ve spontan regresyon eğilimi ile karakterize olan bowenoid papülozu belirgin bir klinik varyant olarak kabul etmektedirler. Ek olarak, bazı otoriteler Queyrat ve Bowen hastalığının eritroplazisinin erkeklerde faydalı terimler olmaya devam ettiğine inanmaktadır^(21,23).

2.4.7. Servikal kanser

Servikal kanser, skuamöz hücrelerden gelişen servikal skuamöz hücreli karsinomlar (cervical squamous cell carcinoma; CSCC) ve serviksin glandüler hücrelerinden kaynaklanan servikal adenokarsinom olmak üzere iki tipe ayrılır. CSCC'ler, daha yüksek morbidite ve mortaliteye sahip servikal kanserlerinin %80'inden fazlasını oluşturur. Artan hücresel displazi, CIN ve skuamöz hücreli karsinom için

tanımlanmış bir dizi preneoplastik lezyon yoluyla gelişir. Servikal adenokarsinomlar, ise bütün dünyada tüm servikal kanserlerin %10-20'sinden sorumludur ⁽²³⁾.

Her yıl 500.000'den fazla vaka ile servikal karsinom, bütün dünyada kadınlarda dördüncü önde gelen kanser nedenidir. Servikal kanserin oluşması için HPV'nin gerekli olduğu artık bilinmekte ve patogenezi kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır. Servikal kanser için risk faktörleri arasında tütün kullanımı, cinsel aktivitenin genç yaşta başlaması, birden fazla cinsel partner, yüksek riskli cinsel partnerler, diğer cinsel yolla bulaşan enfeksiyon öyküsü ve genital SIL veya karsinom öyküsü yer alır. HIV/AIDS ve SOT alıcıları, özellikle böbrek nakli olan kadınlarda, kalıcı HPV enfeksiyonu insidansı yüksektir ve bu nedenle, servikal kanser gelişme riski daha yüksektir. Not olarak, bazı çalışmalar immunosupresif tedavi gören SOT alıcılarının servikal kanser insidansında artış olmadığını öne sürmektedir. HIV ile enfekte kadınlarda servikal kanser insidansı 22 kata kadar artar ve CD4 sayısı anormal servikal patoloji ile ters orantılıdır. Yüksek prevalansı nedeniyle, servikal kanser 1993 yılında AIDS'i tanımlayan bir hastalık olarak sınıflandırılmıştır. HIV pozitif kadınlarda ART uygulamasının bu risk grubundaki servikal kanser insidansını azaltıp azaltmadığı halen belirsizdir.

Servikal kanser, HSCT alıcılarında en sık görülen üçüncü sekonder malignitedir. Kronik GVHD için uzun süreli tedavi gören ve HLA uyumlu donörü olmayan kadınlar, transplantasyondan sonra SIL gelişimi açısından en büyük risk altındadır ^(21,22,28).

HPV'nin servikal kanser ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir. İnsanlarda 200'den fazla HPV tipi tespit edilmiştir ve bunlar arasında ~40 HPV tipi anogenital yolun epitelyal ve mukoza hücrelerini enfekte edebilir. Genital ve mukozal tipler, genital siğillere (kondilom) neden olan bazı kutanöz tipleri de içeren alfa-papillomavirus cinsine aittir. CSCC ile ilişkili HPV'ler, sırasıyla genital siğillere neden olan ve sırasıyla invaziv servikal kanser türleri ile ilişkili olan düşük ve yüksek riskli tiplere ayrılır. Yüksek riskli HPV tiplerinden HPV 16 ve 18, tüm servikal kanser vakalarının yaklaşık %70'inden sorumludur. Yüksek riskli tip 16 ve 18 ile enfekte olan kadınların, düşük riskli (low risk; LR) HPV tipleri ile enfekte olanlara göre invaziv kansere ilerleme şansı daha yüksektir. Düşük veya yüksek riske rağmen tüm HPV'ler epitel hücrelerini özellikle keratinositleri enfekte eder ve hücreleri ölümsüzleştirir.

HR HPV E6 proteini, hücrel tümör baskılayıcı protein p53 ile bağlanır ve p53 proteininin bozulmasını indükler. E7 proteini, retinoblastoma proteini (pRb) ile

kompleks oluşturur ve ubiquitin-proteazom yolu yoluyla pRb'yi bozar. Bir sonraki adım, virusun geç genleri ifade ettiği, dairesel viral genomun replikasyonunu ve yapısal proteinlerin oluşumunu başlattığı supra-bazal tabakayı enfekte etmektir. Virus epidermisin veya mukozanın üst katmanlarına ulaştığında, tam viral partiküller bir araya gelir ve salınır. Viral kapsid proteinleri (L1 ve L2), hücrelerin farklılaşmaları üzerine eksprese edilir ve E4 virus üst epitel katmanlarına girdiğinde yaşam döngüsünü tamamlamak için eksprese edilir. HPV'ler ayrıca bir çok genin ekspresyonunu değiştirir ve konak hücrenin hayatta kalmasını ve karsinogeneze yol açan proliferasyonu uyarmak için büyüme faktörü aracılı reseptör, Notch, RAS ve PI3K/Akt/mTOR yolu dahil olmak üzere çeşitli yolları aktive eder ^(21,29,30).

2.4.8. Anal kanser

Anal kanser, hem erkekler hem de kadınlar için 100.000'de 2 civarında bir insidans oranıyla nadir görülen bir malignitedir. Anal SCC için önemli bir risk faktörü, yüksek riskli HPV ve HIV ile koenfeksiyondur. Anal SCC'lerin %90'ından fazlası kalıcı HPV enfeksiyonu ile ilişkilidir ve bu vakaların çoğu HPV16 ve HPV18'e atfedilir. HIV'li kadın ve erkekleri tararken tespit edilen anal HPV prevalansı %90'ı aşar, ancak hepsinde anormal patoloji olmayabilir. Anal SCC insidansı HIV ile enfekte olmayan bireylere göre HIV pozitif bireylerde 30 kat ve erkeklerle cinsel ilişkiye giren HIV pozitif erkeklerde 80 kat artmaktadır. HIV pozitif bireylerin artan yaşam sürelerine atfedilen ART'nin kullanıma girmesiyle anal SCC insidansında dikkate değer bir artış bildirilmiştir. Ancak yakın zamanda yapılan bir çalışma, bu sayıların dengeleyici olabileceğini düşündürmektedir.

Epidemiyolojik çalışmalar, SOT alıcılarının %20 ile %50'sinin saptanabilir anal HPV'ye sahip olduğunu ve göreceli anal SCC geliştirme riskinde 10 kat artış olduğunu göstermiştir. ART'deki HIV pozitif hastalara benzer şekilde, HPV ile ilişkili anal kanser insidansı, muhtemelen artan hayatta kalma nedeniyle, uzun süre immünsüpresyonda kalan SOT alıcılarında artmıştır ^(21,23,31).

2.4.9. Penil kanser

Penil SCC ve penil HSIL (high-grade intraepithelial lesion) genel popülasyonda nadiren karşılaşılan hastalıklardır. Amerika Birleşik Devletleri'nde penil SCC,

erkeklerde tüm kanserlerin %0,5'inden azını oluşturur. HPV, penil kanseri vakalarının kabaca %50'si ile ilişkilidir ve onkojenik HPV16, tespit edilen en yaygın tiptir. HIV ile enfekte olan kişilerde penil SCC gelişme riski 2-3 kat artar. HIV ile enfekte olmuş popülasyonun %4 kadarında öncü lezyonlar (HSIL) olabilir, ancak kansere ilerleme vakaların sadece %5 ile %30'unda meydana gelir. Diğer risk faktörleri ise tütün kullanımı, kötü hijyen, fimosiz ve sünnet yapılmamasıdır^(21,23,32).

2.5. Epidemiyoloji

Sevikal kanser, 2020'de tahmini 604 000 yeni vaka ve 342 000 ölümle, dünya genelinde kadınlar arasında en yaygın dördüncü kanserdir. Bütün dünyada yeni vakaların ve ölümlerin yaklaşık %90'ı düşük ve orta gelirli ülkelerde meydana gelmiştir.

HPV başlıca cinsel temas yoluyla bulaşır ve çoğu insan cinsel aktivitenin başlamasından kısa bir süre sonra HPV ile enfekte olur. Bunların %90'ından fazlası sonunda enfeksiyonu temizler. Çoğu HPV enfeksiyonu ve kanser öncesi lezyonların çoğu kendiliğinden düzelse de, tüm kadınlar HPV enfeksiyonunun kronikleşmesi ve prekanseröz lezyonların invaziv servikal kansere ilerlemesi riski taşır⁽⁶⁾.

Anogenital veya oral mukozada bulunan 40 mukozal alfa tipi vardır, birçoğu yüksek riskli (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73 ve 82) olarak adlandırılır bu bölgelerin kanserleriyle olan ilişkilerine dayanmaktadır. Özellikle, HPV16 ve HPV18 servikal kanserlerin yaklaşık %70'inden sorumludur. HPV16, HPV ile ilişkili anal ve baş ve boyun kanserlerinin %90'ından fazlası ile ilişkili olarak diğer HPV ile ilişkili kanserlerde daha büyük bir rol oynar. HPV18 daha çok servikal adenokarsinom ile ilişkilidir. Yüksek riskli tipler ayrıca vulvar, vajinal ve penil kanserlerin %50'si ile ilişkilidir, ancak bu ilişki histolojik tipe bağlıdır.

İmmun sistemi normal olan kadınlarda sevikal kanserin gelişmesi 15 ile 20 yıl sürer. Tedavi edilmemiş HIV enfeksiyonu olanlar gibi immunitesi zayıf olan kadınlarda sadece 5 ile 10 yıl sürebilir.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verileri, normal servikal sitolojiye sahip kadınlarda HPV prevalansının dünyanın daha az gelişmiş bölgelerinde %14.3 ve daha gelişmiş bölgelerde. %10.3 olduğunu göstermektedir. Her iki bölgede de en yüksek prevalans 25 yaş altı kadınlarda gözlenirken, daha gelişmiş bölgelerin ileri yaş

katmanlarında prevalans üç ile dört kat azalırken, daha az gelişmiş bölgelerde bu azalma yaklaşık olarak iki kattır. ^(33,34,35).

2.6. Tanı

2.6.1. Görsel İnceleme

Dış genital siğiller genellikle çıplak gözle teşhis edilir. Çoğu zaman molluscum contagiosum ile karıştırılırlar. Molluscum contagiosum lezyonları cilt renginde veya daha açık renkli papüllerdir ve merkezi bir çukura sahiptir. Servikste lezyonlar kondilomatöz özellikler gösterebilir veya %3 asetik asit uygulaması ile beyazlaşabilir. Asetik asit ile görsel inceleme (VIA), bazı gelişmekte olan ülkelerde CIN'i saptamak veya servikal kanserin evresini erken tanımlamak için kullanılmaktadır. DSÖ tarafından genel tarama programları için tavsiye edilmemesine rağmen, birçok çalışma bir tarama aracı olarak VIA'nın yerini değerlendirmektedir. Sensitivite ve spesifite yaklaşık %50'dir. Serviksin lugol iyot kullanılarak görsel olarak incelenmesi (VIL) de aynı sınırlamalara sahiptir ⁽³⁶⁾.

2.6.2. Kolposkopik İnceleme

Kolposkopi, güçlü bir ışık kaynağı ile büyötmeye izin veren görsel bir değerlendirme tekniğidir. Kolposkopi günümüzde bir tanı tekniğı olarak değil, vajinal ve özellikle servikal lezyonların yeri, yayılımı, görünümü ve sınırlarının değerlendirilmesine yardımcı olarak kullanılmaktadır. VAIN ve CIN lezyonlarının tedavisine pratik olarak her zaman kolposkopi yardımcı olur. Başlıca faydası, serviksten biyopsi alınmasıdır ^(37,38,39,40).

2.6.3. Sitolojik test

Sitolojik test kanserli hücrelerdeki hücresel anormallikleri saptamak için boyama yöntemidir, sitoloji, servikal kanserin kontrolü için ikincil korunmayı sağlamıştır. Papanicolaou sürüntü (Pap smear) testi kullanılarak yapılan servikal sitoloji, 1941'den beri premalign lezyonların ve servikal kanserin saptanması için standart tarama testi olmuştur. DSÖ, bir ülkenin kaynakları ve altyapısı varsa, büyük ölçekli tarama

programları için sitoloji önermektedir. Koilositler, HPV enfeksiyonunun varlığını gösterir. Bununla birlikte, HPV enfeksiyonu varlığında koilositler bulunmayabilir.

Bethesda Sistemi, 1988'den beri servikal sitolojiyi raporlamak için kullanılan standart terminoloji olmuştur. Sistem birkaç kez değiştirilmiş ve şu anda kullanılan terminoloji 2001'de geliştirilmiştir. Skuamöz epitel hücrelerinde kanser öncesi sitolojik anormallikler birkaç kategoride sınıflandırılır. Atipik skuamöz hücreler (ASC; Atypical Squamous Cells) en yaygın anormal bulgudur ve ASC-US (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance) ve ASC-H (Atypical Squamous Cells, Cannot Rule Out High Grade Squamous Intraepithelial Lesion) olarak ikiye ayrılır. LSIL (low-grade intraepithelial lesion), HPV enfeksiyonunun neden olduğu ve nükleer atipi, perinükleer halo ve yoğun sitoplazmalı skuamöz hücreler ile karakterize hafif bir displazidir. HSIL, orta ile şiddetli displazi ve karsinoma in situ içeren daha ciddi bir anormalliktir.

Bethesda sistemi ayrıca HPV'nin neden olduğu ancak çok daha az yaygın olan ve mümkünse endometriyal veya endoservikal olup olmadıklarının tanımlanmasıyla atipik glandüler hücreler (atypical glandular cells; AGC) olarak kategorize edilen glandüler hücre anormalliklerinin tanımlanmasına izin verir. "Adenokarsinoma in situ" ve "AGC neoplastik lehine", AGC'nin alt kategorileri olarak dahil edilmiştir ve sitolojik analiz için endoservikal kanalın tamamını örnekleme yeteneği bir şekilde sınırlı olduğundan ve glandüler lezyonlara erişilemediğinden, saptanması zor olabilir.

Servikal sitoloji, servikal kanseri tarama programlarında çok etkili olmuştur, ancak yaklaşık %5 ile %20'lik bir yanlış-negatif oranı taşımaktadır. Transformasyon bölgesinin yetersiz örneklenmesi ve lezyon boyutunun küçük olması, duyarlılığın azalmasının çoğunu açıklayabilir, ancak tek bir incelemenin sonra pozitif olarak değerlendirilen kişi, doğrulama için ikinci kez gözden geçirilmelidir ^(38,39).

2.6.4. HPV Tespiti ve Genotiplenmesi için Moleküler Tanı Testleri

HPV'nin kültürü, klinik kullanım için çok pahalı ve duyarsız olan oldukça karmaşık ve titiz teknikler gerektirir. HPV enfeksiyonunun teşhisi için ticari olarak temin edilebilen bir serolojik test yoktur. Bu nedenle, bir klinik örnekte HPV'nin gösterilmesi için HPV nükleik asitlerinin saptanmasına dayanan ticari olarak mevcut moleküler tanı teknikleri kullanılır.

HPV hücre kültüründe çoğaltılamadığından, çoğu durumda doğru tanımlanması moleküler tanı testlerine dayanır. Yaklaşık 8000 baz çiftinden oluşan çift sarmallı bir DNA genomu ve iyi bilinen bir fiziksel yapı ve gen organizasyonu ile klinik örneklerde HPV'yi saptamak için tercih edilen testler nükleik asit prob teknolojisine dayanmaktadır. HPV genomlarının yanı sıra transkriptlerin doğrudan tespiti, Southern ve Northern blot, dot blot, in-situ hibridizasyon, sinyal amplifikasyon testi (Hybrid Capture assay 2; HC2) içeren hibridizasyon prosedürleri kullanılır. Çeşitli sinyal amplifikasyon prosedürleri, bu testlerin duyarlılığını daha da artırabilir. Bir örnekte bulunan tüm HPV tiplerini ve varyantlarını tanıyabilen tek prosedür, ya plazmitlere klonlandıktan sonra veya bir polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction; PCR) ürününün doğrudan dizilenmesi yoluyla viral genomun DNA dizilenmesidir. Buna karşılık, metodoloji günümüzde emek yoğunudur ve pahalı ekipman gerektirir. Ayrıca, direkt dizi analizi, örnekte en fazla bulunan tipi tespit ettiğinden, birden fazla HPV tipi içeren örneklerin tanımlanması için uygun görünmemektedir ^(41,42,43).

HPV tanısında kullanılan moleküler testler 1) nükleik asit hibridizasyon testleri 2) sinyal amplifikasyon testleri ve 3) nükleik asit amplifikasyon testleri olmak üzere üç gruba ayrılır. HPV tanısı ve genotiplemesi için en çok sinyal amplifikasyon ve nükleik asit amplifikasyon testleri kullanılır. En yaygın olarak kullanılan sinyal amplifikasyon testi (Hybrid Capture test) ve konsensus ve tip spesifik primerlerle yapılan gerçek zamanlı PCR testleridir. Her ikisi de, büyük epidemiyolojik çalışmaların yanı sıra klinik ortamlarda gerekli olan yüksek verimli testlerin otomatik olarak yürütülmesi ve okunması için uygundur. HPV DNA testinin klinik faydası, epidemiyolojik olarak tanımlanmış yüksek riskli HPV tipleri gibi klinik olarak önemli hastalıklarla ilişkili HPV tiplerini tespit etme yeteneğine dayanır ^(43,44).

2.6.4.1. Nükleik asit hibridizasyonu

Tek iplikli nükleik asitlerin (DNA veya RNA) etkileşime girmesine izin verilen ve böylece benzer, tamamlayıcı dizilime sahip moleküller tarafından hibrit adı verilen komplekslerin oluşturulduğu hibridizasyon teknikleri arasında başlıca Southern blot, In situ hibridizasyon ve Dot blot hibridizasyonu yer alır.

HPV genom analizinde, DNA molekülleri için Southern blot ve RNA molekülleri için Northern blot gibi katı fazda hibridizasyon kullanılabilir, ancak zaman alıcıdır ve

büyük miktarlarda yüksek oranda saflaştırılmış nükleik asit gerektirir. Ayrıca, katı fazda hibridizasyon, iyi korunmuş, ideal olarak tam boyutlu moleküller gerektirir ve bu nedenle herhangi bir örnek için, özellikle DNA bozulmasının sıklıkla gözlemlendiği tespit edilmiş dokular için uygun değildir. Prosedür zaman alıcıdır ve bu nedenle büyük ölçekli nüfus çalışmaları için uygun değildir. In situ hibridizasyon (ISH), korunmuş morfolojiye sahip hücreler veya doku kesitlerinde spesifik nükleotid dizilerinin tanımlandığı ve bu nedenle örnekteki hedef genomların kesin lokalizasyonuna izin veren bir tekniktir. Nispeten düşük analitik duyarlılığının üstesinden gelen ISH'nin büyük bir avantajı, rutin olarak sabitlenmiş ve işlenmiş dokulara uygulanabilmesidir. Sensitivite, in-situ PCR olarak bilinen bir prosedür olan ISH ile PCR birleştirilerek artırılabilir. ISH, viral protein seviyelerinin düşük olduğu gen ekspresyonunun bir belirteci olarak mesajcı RNA'yı (messenger RNA; mRNA) saptamak için kullanılmıştır. Yöntemin önemli bir sınırlaması, prob çapraz hibridizasyonu nedeniyle HPV tiplemesinde hata olasılığıdır. Ancak son gelişmeler, dokularda yüksek sensitivite ve spesifite ile HPV DNA ve RNA tespiti için yaygın olarak kullanılmasına izin vermiştir^(43,44).

2.6.4.2. HPV Tanısı için Sinyal Amplifikasyon Testleri

2.6.4.2.1. Hibrit Yakalama Testi (Hybrid Capture Test)

Hibrit Yakalama testi (Hybrid Capture 2; HC2), 13 yüksek riskli (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 ve 68) ve 5 düşük riskli (6, 11, 42, 43, 44) HPV tiplerine komplementer RNA problemleri ile yapılan sıvı fazda hibridizasyona dayanır. "A" prob kokteyli, düşük riskli HPV tiplerini ve "B" prob kokteyli, yüksek riskli HPV tiplerini 2 ayrı reaksiyonda tespit etmek için RNA problemlerine sahiptir.

HC2 testi 96 kuyulu mikrotiplak formatında mevcuttur, klinik ortamlarda gerçekleştirilmesi kolaydır ve otomasyona uygundur. Ayrıca, HC2 testi, çapraz kontaminasyonu önlemek için özel tesisler gerektirmez, çünkü PCR protokollerinin aksine, yüksek sensitivite elde etmek için hedef amplifikasyona dayanmaz. Genellikle sadece yüksek riskli kokteyl kullanılır, bu da zaman ve maliyeti azaltır. ABD (Amerika Birleşik Devletleri) Gıda ve İlaç İdaresi, test pozitif sonuçları için sınır değerinin 1.0

RLU (relative light unit) olmasını tavsiye etmiştir ve 1.0 RLU, 1 mL örnek tamponu başına 1 pg HPV DNA'ya eşdeğerdir.

Hybrid Capture 2 (Qiagen, ABD; önceden: Digene, ABD), HPV enfeksiyonunun saptanması için FDA (2003) tarafından onaylanan ilk yöntemdir. İncelenecek materyaller servikal sürüntüler ve biyopsilerdir ^(41,42,43).

Laboratuvarda örnek materyali, servikal epitel hücrelerinin parçalanmasına, viral kapsid hasarına, HPV DNA'nın salınmasına ve tek bir viral DNA dizisinin elde edilmesine yol açan alkalın bir ortamda denatüre edilir. HPV DNA'nın tek sarmalı, spesifik bir RNA probu ile ve pratik olarak, yüksek veya düşük onkojenik potansiyele sahip HPV DNA'yı tamamlayan RNA dizilerinin bir karışımı ile hibridize olur. Elde edilen RNA:DNA hibritleri, RNA:DNA hibritlerine karşı antikorlarla kaplanmış bir mikropalak kuyularında yakalanır. Daha sonra, alkalın fosfataz ile işaretli bir anti-hibrid antikor konjugatına bağlanırlar. Enzim reaksiyonuna bir kemilüminesan substratın (dioksetan) eklenmesi, hibritlerin sayısı ile orantılı ışık emisyonunu tetikler. Işık şiddeti, lüminometrede ölçülür ve pozitif sonuçlar kontrol ışığının emisyonuyla ilgili olarak bağlı ışık ünitesi (RLU) olarak ifade edilir. Çok az materyalin neden olduğu yanlış negatif sonuçları ortadan kaldırmak için önerilen eşik değeri 1 mL test örneği için 1.0 pg viral DNA'dır, bu değer tespit edilen her HPV tipi için benzerdir. Bu konsantrasyon, test başına 5.000 viral kopyaya veya 100.000 kopya/mL'ye eşittir.

Testin avantajları enfekte hücrede viral DNA'nın yarı kantitatif değerlendirmesi ve yöntemin amplifikasyon reaksiyonu ile karşılaştırılabilir nispeten yüksek duyarlılığıdır. Yöntem, yüksek ve düşük onkojenik potansiyele sahip virus tiplerini ayırt etmeye izin verir, ancak belirli genotipleri ayırt etmez. Testin dezavantajı yüksek onkojenik potansiyele sahip HPV tiplerini tespit eden probalar ile diğer HPV virusları arasında çapraz reaksiyonların oluşmasıdır. Buna karşılık, cutoff (eşik) değerinin 1 mL başına 10 pg viral DNA'ya yükseltilmesi, HPV 53 ve 67 ile reaksiyonlar dışında çapraz reaksiyonların çoğunu ortadan kaldırır. Klinik açıdan bakıldığında, yüksek onkojenik potansiyele sahip tipleri tespit eden probalarla onkojenik olmayan tiplerin çapraz reaksiyonlarının, servikste sitolojik değişiklikleri olan hastaların tedavisi üzerinde pratikte hiçbir etkisi yoktur.

Testin diğer bir dezavantajı, bazı mantar önleyici kremler ve doğum kontrol jeli kullanıldığında yanlış negatif sonuç alma olasılığıdır. Literatürde ayrıca HC2 testinde

kullanılan DNA:RNA hibritlerine karşı antikorlar yerine etiketli oligonükleotitler kullanılarak çapraz reaktivite sorununu çözmeyi amaçlayan Hibrit Yakalama III testinin varlığı da bildirilmektedir. Ticari kullanıma girmiş olmasına rağmen, az sayıda literatür bu testi “ticari olmayan bir test” olarak tanımlamakta ve bazen bilimsel araştırmalarda PCR reaksiyonu ve HC2 testi ile birlikte kullanıldığı belirtilmektedir^(43,45).

2.6.4.2.2. Cervista HPV HR testi

FDA (2009) tarafından onaylanan diğer yöntemler, Cervista HPV HR testi ve Cervista HPV 16/18 testidir (Hologic Inc., ABD). İnceleme için örnekler servikal sürüntüler ve biyopsilerdir.

Cervista HPV HR testi, solüsyonda hibridizasyona dayalıdır ve 14 tip HR HPV'nin tümünün DNA'sını saptamak için kalitatif bir testtir. Yöntem, Cleavase enzimini kullanır ve iki izotermal reaksiyondan oluşur: birincil olan, yani oligonükleotitlerin hedef diziye bağlanması ve ikincil olan, yani floresan üretimi. Birincil reaksiyonda, hedef dizinin sadece 5' kısmına tamamlayıcı bir dizi ile diğer kısmına tamamlayıcı olmayan bir bölgeden oluşan bir prob oligonükleotidi ve hedef dizinin 3' kısmına tamamlayıcı Invader oligonükleotid olmak üzere iki tip oligonükleotit prob kullanılır. Bu oligonükleotitler, en az bir nükleotit ile örtüşür, böylece hedef diziye bağlandığında, Cleavase enzimi için bir substrat olan bir yapı oluşturulur. Bu enzim, tamamlayıcı olmayan bölgeyi ve üst üste binen nükleotitleri oligonükleotit probundan ayırır. İkincil reaksiyonda, bölünen fragman, bir firkete yapısına sahip bir FRET (floresans rezonans enerji transferi) oligonükleoti ile hibridize olur. FRET oligonükleotidi bir florofora ve bir söndürücüye sahiptir. Söndürücünün varlığı floresan fenomenini ortadan kaldırır, çünkü absorpsiyon spektrumu floroforun emisyon spektrumuyla çakışır. Cleavase enzimini parçalayan bir sonraki dizi oluşturulur, çünkü bu durumda hibritleştirilmiş dizilerin nükleotidleri örtüşür. Bölünme, florofor ve söndürücü arasındaki FRET oligonükleotidini ayrıştırarak floresans emisyonuna neden olur. Testin internal kontrolü, histon 2 proteinini kodlayan dizidir, oligonükleotitlerin karışımı ayrıca bu diziye bağlanan oligonükleotitleri de içerir. Viral DNA'nın varlığını tespit etmeye ve yanlış negatif sonuçları önlemeye yönelik yöntem için HPV16, 18, 31, 45, 52 ve 56 için 1.250–2.500 kopya, HPV 33, 39, 51, 58, 59, 66 ve 68 tipleri için 2.500–5.000 DNA kopyası ve tip 35 için 5.000–7.500 kopya gerekir.

Cervista HPV HR testi, HC2 testinin sensitivitesi ile benzer olan yüksek analitik sensitivite ile karakterize edilir. HC2 testi ile karşılaştırıldığında, testin avantajları şunlardır: Cervista bir internal kontrol içerir, daha düşük örnek hacmi gerektirir ve otomasyon olasılığı olduğundan dolayı serbest zaman verir. Test küçük hacimli bir örnek gerektirdiğinden, toplanan materyal diğer patojenleri test etmek için kullanılabilir. Testin dezavantajları HPV tipleri 67 ve 70 ile çapraz reaktivite ve doğum kontrol jelleri ve mantar önleyici kremler kullanıldığında yanlış negatif sonuç olasılığıdır. HC2 testi gibi Cervista da belirli viral genotipler için spesifik değildir.

Cervista HPV 16/18 testi, Cervista HPV HR testi ile aynı reaksiyonlara dayanır, ancak yalnızca en onkogenik HPV suşuna tamamlayıcı olan oligonükleotidler içerir, bu nedenle yalnızca HPV16 ve 18'i tespit etmek için kullanılır. Test, tek başına veya belirsiz öneme sahip skuamöz hücreler (ASC-US) durumunda önerilen Cervista HR HPV ile kombinasyon halinde kullanılabilir. Testin avantajları, yüksek analitik sensitivite ve analitik spesifitedir. PCR yöntemiyle karşılaştırıldığında, genel pozitif ve negatif uyum yüzdeleri sırasıyla %94 ve %85'dir. Dezavantajı, HPV 31 ile çapraz reaktivitedir, buna karşılık, bu genotipin yalnızca yüksek konsantrasyonları örnekte bulunduğu meydana gelir ^(41,42,43,45).

2.6.4.3. HPV Tanısı için Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri

PCR teorik olarak 30-40 döngü amplifikasyondan sonra tek bir çift sarmallı DNA molekülünden bir milyar kopya üretebilir. Bu nedenle, çapraz kontamine örneklerden veya reaktiflerden türetilen yanlış pozitif sonuçlardan kaçınmak için özen gösterilmelidir. HPV DNA tespiti için PCR protokollerini kullanırken bu sorunu önlemek için çeşitli prosedürler mevcuttur. PCR tabanlı yöntemlerin duyarlılığı ve özgüllüğü, temel olarak kullanılan primerlere, PCR ürününün boyutu, reaksiyon koşulları ve reaksiyonda kullanılan DNA polimerazın performansı, HPV tiplerinin spektrumu ve birden çok tipi tespit etme yeteneği ve tipe özgü bir testin mevcudiyetine bağlı olarak değişebilir. Sonuncusu ile çok yüksek sensitivite ve spesifite elde edilebilir, ancak HPV tiplerine göre atfedilen hastalık riskini belirlemek için geniş bir HPV tipi yelpazesinin tespit eden test tercih edilen olmuştur. Ayrıca HPV genotip tanısı için PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction-fragment length polymorphism)

teknğinde, amplifiye edilmiş DNA, çeşitli uzunluklarda DNA fragmanları ile sonuçlanan restriksiyon endonükleaz enzimleri tarafından sindirilir.

En yaygın olarak kullanılan PCR protokolleri, tüm mukozal HPV tiplerini saptama potansiyeline sahip olan ve dolayısıyla L1 geninin yüksek oranda korunmuş bir bölgesini hedefleyen konsensus primerlerini kullanır. Bunlar arasında, tek bir konsensus primer çifti GP5/6 ve onun genişletilmiş versiyonu GP5+/6+ ve MY09/11 çifti dejenere primer ve onun değiştirilmiş versiyonu, PGMY09/11 bulunmaktadır. Farklı formatlarda yapılabilen tipe özel proplar ile hibridizasyon ve otomasyona uygun jel elektroforezi, nokta blot hibridizasyonu, line strip testleri ve mikrotitre plakları ile restriksiyon fragman uzunluk polimorfizm analizi ile 40'tan fazla tipin tam ayrımı sağlanabilmektedir. Amplicor Human Papillomavirus test (Roche Diagnostics, California, USA), 13 yüksek riskli genotipin L1 geninin kısa bir parçasını (170 bp) dejenere olmayan primerlerle amplifiye etmek için tasarlanmıştır. pGMY09/11 amplifikasyon sisteminden yararlanan ve insan anogenital bölgesindeki tüm yüksek ve düşük riskli genotipler dahil olmak üzere 37 HPV genotipini tanımlayabilen PCR tabanlı bir linear array (Roche Linear Array HPV Genotyping Test) geliştirilmiştir. L1 geninin daha küçük bir parçasını çoğaltan başka bir konsensus primer çifti mevcuttur (GP primerleri için 150 bp ve MY09/11 için 450 bp ile karşılaştırıldığında 65 bp). Bu kısa PCR fragmanı (short PCR fragment; SPF) ile SPF-PCR enzime-linked immunosorbent assay (ELISA) veya ters line blot hibridizasyonunda (Line Probe Assay) formatında geniş bir HPV tipi spektrumunu ayırt etmek için tasarlanmıştır. Viral genomun daha kısa fragmanlarına dayanan testler, daha az korunmuş örnekler için daha duyarlı ve kullanılabilir olarak kabul edilir. SPF ve GP5+/6+ sistemleri epidemiyolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır ve yüksek verimli testlere uygun formatlara uyarlanmıştır^(43,45).

Gerçek zamanlı PCR, nükleer bir genin kantitasyonu ile örneğin hücresel içeriğini kontrol ederken viral yükü tahmin etmenin doğru bir yöntemi olarak kabul edilir. Birçok çalışma, servikal neoplazi geliştirme riskinin, farklı HPV tiplerinin daha yüksek kopya sayılarıyla ilişkili olduğunu göstermiştir. Buna karşılık, viral yükü belirlemek için mevcut olan çeşitli testlerdeki doğal farklılıklar, elde edilen sonuçların yorumlanmasını ve klinik ilişkisini gizleyebilir. Viral yükün klinik ilişkisini değerlendirmek için daha ileri çalışmalar gereklidir.

Servikal bir örnekte 1'den fazla HPV tipinin varlığı tercihen PCR tabanlı yöntemlerle yapılır, çünkü HC2 testi, HPV tipleri arasında ayırım yapmaz. Genel olarak, PGMY09/11 ve SPF-PCR gibi çoklu primerler kullanan PCR sistemlerinin, GP5+/6+ gibi tek konsensus primerleri kullanan sistemlerden çoklu enfeksiyonları tespit etmede daha iyi olduğu görülmektedir. Bu, özellikle bir tipin fazla miktarlarda bulunduğu çoklu enfeksiyon durumlarında doğru olabilir. Birden fazla enfeksiyonu tanımlamak için ters line blot testleri gibi daha uygun testlerin geliştirildiği göz önüne alındığında, birden fazla enfeksiyon ve lezyonun varlığının kalıcı enfeksiyon ve hastalık başlangıcı veya ilerlemesi için yararlı bir belirteç olup olmayacağının belirlenmesi faydalı olacaktır.

Son zamanlarda, HPV RNA, HPV enfeksiyonlarının moleküler tanısı için önemli bir hedef olarak kabul edilmiştir. Yalnızca viral genom varlığını saptayan HPV DNA testlerinin aksine, viral RNA testi, HPV genom ekspresyonunu (ve dolayısıyla enfekte olmuş hücrelerdeki viral aktiviteyi) değerlendirmeyi amaçlar. Bu, klinik olarak önemli HPV enfeksiyonlarını tanımlamayı sağlar. HPV16 E6 ve E7 transkriptleri, ters transkriptaz PCR (RT-PCR), kantitatif RT-PCR ve gerçek zamanlı PCR dahil olmak üzere PCR tabanlı metodolojiler kullanılarak klinik örneklerde yüksek sensitivite ile saptanabilir. Son çalışmalar, HPV tip 16, 18, 31, 33 ve 45'in E6/E7 transkriptlerinin RNA bazlı gerçek zamanlı, nükleik asit sekans bazlı amplifikasyon testinin (NASBA) (PreTect HPV-Proofer; Norchip, Westfjorden, Norveç) yüksek dereceli servikal lezyonların tespitinde GP5+/6+ konsensus primerleri ile PCR ile HPV DNA tespitinden daha spesifik olduğu göstermiştir. HPV RNA çalışmaları için bir başka önemli uygulama, epizomal ve entegre HPV onkogen transkriptlerini ayırt etmek için bir yöntem olarak papillomavirus onkogen transkriptlerinin amplifikasyonu önerilmiştir. Bu yöntemin arkasındaki mantık, servikal kanserde HPV genomlarının sıklıkla konak kromozomuna entegre edilmesi, normal ve premalign dokularda viral DNA'nın genellikle epizom olarak tutulmasıdır. Bu testi kullanarak, yüksek riskli HPV transkriptlerinin tespiti ile yüksek dereceli servikal neoplazinin varlığı arasında güçlü bir korelasyon gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu tekniklerle ilgili temel sorun, RNA'nın DNA'dan çok daha kararsız bir molekül olması ve bu nedenle saklama koşullarının zamanına ve tipine bağlı olarak çoğu örnekte daha az bulunmasıdır. Bu nedenle, örneklerde hem DNA hem de RNA moleküllerini koruyabilen transport

ortamlarına büyük ilgi vardır. Bu transport besiyerleri, hem hücre morfolojisini hem de DNA, RNA ve proteinlerin bütünlüğünü koruduğu gösterilen metanol içerebilir.

Genel olarak, Hybrid Capture assay (HC2) ile ve MY09/11 ve GP5+/6+ sistemleri kullanılarak jenerik PCR ile gerçekleştirilen testler arasında iyi uyum oranları vardır. Buna karşılık, farklı metodolojilerle elde edilen sonuçları yorumlarken dikkatli olunmalıdır, çünkü testler, hem tekli hem de çoklu enfeksiyonlarda farklı HPV tiplerini saptama yeteneklerinde farklılık gösterir. Tanıda mikroarray teknolojisine dayalı testlerde HPV tipine özgü oligonükleotitler, bir cam çip üzerindedir. Bir örnekten elde edilen DNA ile çeşitli HPV tiplerinin hem β -globin (PC03/04) hem de L1 bölgesi için primerler ile floresanlı nükleotidlerin (Cy5 veya Cy3) mevcudiyetinde standart bir PCR yapılır. İşaretlenmiş PCR ürünleri daha sonra çip üzerinde hibridize edilir ve daha sonra lazer floresan ile taranır. Çoklu enfeksiyon durumunda, çoklu hibridizasyon sinyalleri görülebilir.

Bazı HPV testlerinin analitik duyarlılıkları çok yüksek olabilse ve bu nedenle HPV enfeksiyonlarının yükünü epidemiyolojik olarak ele almak için değerli olsa da, buna karşılık gelen klinik önemi o kadar belirgin değildir. Bunun nedeni, HPV enfeksiyonlarının kalıcı olmaması ve dolayısıyla klinik hastalığa yol açmamasıdır. HPV testlerinin klinik sensitivitesini artırmaya yönelik 1) yalnızca klinik olarak önemli yüksek riskli HPV tipleri için test yapılması; 2) viral yük tespiti; 3) yüksek riskli HPV E6 ve E7 transkriptlerinin test edilmesi; ve 4) HPV enfeksiyonlarının doğal öyküsü gibi yaklaşımlar değerlendirilmektedir ^(41,43,45).

2.6.4.3.1. Cobas 4800 HPV Test

COBAS HPV (Roche Molecular Systems Inc., İsviçre) 2011 yılında FDA tarafından onaylanmıştır. İnceleme için sıvı bazlı sitoloji besiyerine toplanan servikal sürüntü örnekleri kullanılır. Test, 14 HR HPV tipinin L1 proteinini kodlayan genin yaklaşık 200 nükleotidinin dizisini çoğaltmak için PCR reaksiyonunda kullanılan primerleri içerir. Oligonükleotid primerleri, kantitatif PCR (quantitative PCR; qPCR) teknolojisinin kullanımına izin verecek şekilde floresan etiketlidir. Reaksiyon otomatiktir ve gerekli manuel çalışmayı azaltan özel COBAS x 480 cihazında gerçekleşir. Kullanılan 4 floresan prob vardır: HPV16 için, HPV18 için, kalan 12 tip

için ve insan DNA izolasyonunun pozitif kontrolü olarak beta-globin geni için prob içerir. Bu nedenle test, yalnızca HPV 16 ve 18 genotiplerini tanımlar.

Örnekte bir veya daha fazla HR HPV tipinin L1 gen dizisi mevcutsa, tamamlayıcı dizilere spesifik primerler bağlanır ve amplifikasyon reaksiyonu gerçekleşir. Tespit, oligonükleotid problemlerine dayalıdır. Bu Taqman problemlerinin bir ucu bir florofor ve diğer ucu bir söndürücü ile işaretlenmiştir. Söndürücü florofora o kadar yakındır ki floresan emisyonu olmaz. Prob tamamlayıcı bir diziye bağlanırsa, devam eden qPCR reaksiyonu sırasında polimerazın 5'–3' eksonükleaz aktivitesi ile ayırır. Probun parçalara ayrılması, floroforun da söndürücüden ayrılmasına neden olur ve floresans tespit edilir. Tespit limiti (limit of detection; LoD), HPV tip 45 için 150 kopya/mL, 16, 31, 33, 39, 51 ve 59 için 300 kopya/mL, HPV tip 18, 35 ve 58, tip 56, 66 ve 68 için 1200 kopya/ mL ve HPV tip 52 için 2400 kopya/mL için 600 kopya/mL olarak belirlenmiştir.

Testin avantajı, HC2 testiyle karşılaştırıldığında yüksek duyarlılığıdır. COBAS testi, onkogenik olmayan virus tipleri ile Hybrid Capture II'den daha düşük (%1.2'ye karşı %2.2) çapraz reaktivite gösterir. Test, diğer mikroorganizmalarla çapraz reaksiyona girmez veya yağlayıcı ürünler veya antifungal ilaçlarla etkileşime girmez. COBAS testi, yalnızca HPV16 ve 18 tiplerinin genotiplenmesine izin verir. Kalan 12 tip aynı sinyali verdiği için birlikte tespit edilir ve virusun tipini ayırt etmek mümkün değildir. Bir diğer avantaj, manuel çalışma ihtiyacını azaltan otomasyondur ^(41,43,45).

2.6.4.3.2. Onclarity HPV Testi

Bu test 2018'de FDA tarafından onaylanmıştır. BD Onclarity HPV Assay (Becton, Dickinson and Company, USA) kantitatif PCR'ye dayanmaktadır. Materyaller, BD SurePath Preservative Fluid içinde toplanan servikal swablardır. BD Onclarity HPV Assay, 14 HPV HR tipinin E6/E7 onkogenlerini saptar. Test üç ayrı tüpte gerçekleştirilir. Onclarity testi HPV 16, 18, 31, 45, 51 ve 52 tiplerini ayırt ederken, kalan 8 genotip 3 farklı grup (33/58, 56/59/66) ve 35/39/68) olarak tespit edilir. Üç tüp gereklidir, çünkü test 15 prob kullanır (internal kontrol olarak viral diziler için 14 ve insan beta globin gen dizisi için 1), ancak yalnızca dört floresan boya kullanılır, böylece her tüp belirteçlerle etiketlenmiş farklı problemler içerir.

Test tam otomatiktir ve iki aşamaya ayrılmıştır. İlk aşama, yüksek pH ortamında hücre lizizi ve DNA izolasyonundan oluşur. İkinci aşama, COBAS testiyle aynı şekilde TaqMan oligonükleotid problemlerine dayanmaktadır.

Testin LoD değeri, HPV 16 için yaklaşık 250 kopya/mL, HPV 31, 52 ve 66 için 800–900 kopya/mL aralığında, HPV 18, 45, 56 ve 59, tipler için 1.000–1500 kopya/mL aralığında, HPV 33, 35, 39 ve 51 için tipler için 1.500–1.800 kopya/mL aralığında ve HPV 58 ve 68 tipleri için 2.300–2.400 kopya/mL aralığındadır.

Testin avantajları, HC2 testiyle benzer olan yüksek spesifite ve sensitivitedir. Test, 6 HPV tipi için genotipleme bilgisi sağlar. Tam otomasyon sayesinde testin kullanımı çok kolaydır ve gereken iş yükünü azaltır. Ayrıca diğer HPV tipleri veya herhangi bir mikroorganizma ile çapraz reaktivite yoktur. FDA tarafından kabul edilen tüm testlerden sadece biri olarak, 6 tip viral enfeksiyon arasında ayırım yapar. Testin dezavantajı müsin, asiklovir ve klindamisin kullanıldığında yanlış negatif sonuç alma olasılığıdır^(41,43).

2.6.4.3.3. HPV E6/E7 mRNA Testleri

APTIMA (Hologic, Madison, WI, USA) testi FDA tarafından 2011 yılında onaylanmıştır. Test edilen örnek ThinPrep servikal sürüntülerdir. Testler, viral genomda kodlanan onkoproteinlerinin mRNA'sını saptamak için tasarlanmıştır. Bu testin iki çeşidi vardır: APTIMA HPV ve APTIMA 16 18/45 (2012'de FDA tarafından onaylanmıştır). APTIMA HPV, 14 HR HPV tipi ile bir enfeksiyon tespit ederken, APTIMA 16 18/45, üç HPV onkojenik 16, 18 ve/veya 45 tipi ile bir enfeksiyon tespit ederken test, tespit edilen enfeksiyon tiplerinden hangisinin meydana geldiğini ayırt etmeye izin vermez.

APTIMA testi, tek bir tüpte gerçekleştirilen hedef yakalama, hedef amplifikasyonu ve amplifikasyon ürünlerinin tespiti olarak 3 aşamadan oluşur. Başlangıçta örnekler, hücre lizisinin gerçekleştiği ve mRNA'nın serbest bırakıldığı transport besiyerine aktarılır. Ardından, hedef mRNA'lar (poli-deoksiadenozin) polyA kuyruğu ile tamamlayıcı oligonükleotitlere bağlanır. Daha sonra, bu hibritler, manyetik mikropartiküllere bağlı poli-deoksitimidin (poliT) molekülleri ile bağlanır. Bu, hedef mRNA'yı bir mıknaatısla ayırmayı mümkün kılar. Bir sonraki adım olan amplifikasyon, TMA (Transcription-Mediated Amplification; transkripsiyon aracılı amplifikasyon)

yönteminin kullanılmasıyla, yani ters transkriptaz ve T7 polimeraz kullanılarak RNA'nın amplifikasyonu ile ilişkilidir. Yakalanan mRNA'lar, ters transkriptaz ile komplementer DNA'ya transkribe olur. Komplementer DNA (complementary DNA; cDNA), bu enzimin cDNA'dan tamamlayıcı RNA zincirinin birçok kopyasını oluşturmaya izin veren T7 RNA polimeraz için bir promotör içerir. Elde edilen amplikonların tespiti, Hibridizasyon Koruma Testi kullanılarak yapılır. Test, floresan ile işaretlenmiş oligonükleotit problemleri ile çoğaltılmış dizilerin hibridizasyonunu içerir. Hibridizasyonun yokluğunda, prob, bir yüzey aktif madde içeren borat tamponlu çözelti ile parçalanır. Bu nedenle, floresan sinyal yalnızca T7 polimeraz ile çoğalmanın varlığında saptanabilir. Hibritler tarafından yayılan ışık, bir luminometre kullanılarak RLU olarak ölçülür.

Üreticinin verilerine göre LoD testi, HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 58, 59, 66 ve tipleri için 100 kopya/reaksiyon, HPV 68 ve 51, 52 ve 56 tipleri için 100-300 kopya/reaksiyon'dan azdır. Reaksiyon 400 µL +/- 100 µL hacminde gerçekleştirilir.

Testin duyarlılığı, HC2 testinin sensitivitesi ile benzerdir, APTIMA için %96.3 ve Hybrid Capture II için %94.3, ancak HC2 ile karşılaştırıldığında testin en büyük avantajı, testin pozitif sonucu ile kanser öncesi/servikal kanser evreleri arasında daha yüksek bir korelasyon vardır. Test ayrıca COBAS testine kıyasla daha yüksek bir spesifiteye sahiptir. Testin küçük bir dezavantajı HPV tipleri 26, 67, 70 ve 82 ile çapraz reaktivitedir, ancak diğer HPV tipleri ile çapraz reaktivite göstermez. Testin diğer bir dezavantajı, bazı viral tiplerin genotiplendirilmemesidir. Test, Polyquaternium 15 içeren bazı yağlayıcı ürünleri yanı sıra tiokonazol içeren bazı antifungal ajanlarla inhibe olur (43,46).

2.6.4.3.4. Linear Array HPV testi

Linear Array HPV Genotyping Test (Roche Molecular Systems Inc., USA) revers line blot hibridizasyonu ile birleştirilmiş PCR tabanlı bir testtir. Bu test, 15 HR (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 ve-82), 3 olası HR (26, 53 ve 66), 10 LR (6, 11, 40, 42, 54, 61, 70, 72, 81 ve CP6108) ve risk hala belirsiz 9 genotip (55, 62, 64, 67, 69, 71, 83, 84 ve IS39) dahil olmak üzere 36 HPV tipinin ayırt edilmesini sağlar.

Test, HPV genomunun polimorfik L1 bölgesi içinde 450 bp'lik bir fragmanı çoğaltmak için biyotinlenmiş PGMY09/11 primerlerini kullanır. İnsan β -globin geninin 268 bp bölgesinin birlikte amplifikasyonu, DNA ekstraksiyon yeterliliğini ve PCR etkinliğini sağlamak için bir kontrol sağlar.

Amplifiye edilmiş ürünün hibridizasyonu ve tespiti, mükemmel standartlaştırılmış bir tarzda aynı anda 30 örnek kadar işleyebilen Auto-LIPA cihazı (Innogenetics, Ghent, Belçika) ile gerçekleştirilir. Şeritler üzerindeki renkli sinyaller çıplak gözle okunur ve Linear Array referans kılavuzuna göre yorumlanır. HPV 33, 35 veya 58 de mevcut olduğunda HPV52 için şüpheli sonuçlar elde edilebilir, çünkü bu 4 HPV tipi bir çapraz-hibridizasyon probu aracılığıyla tespit edilir. HPV33, 35 ve 58'in tespitini doğrulamak için, ancak HPV52'nin değil, şerit üzerinde ek, spesifik bir prob bulunur^(41,43,45).

2.6.4.3.5. Mikroarray tabanlı HPV testi

Bu yöntem prob amplifikasyonunu kullanır, PCR ürünü bir çip üzerinde hibridize edilir ve bir yıkama adımından sonra hibridize olan örneklerdeki sinyaller bir DNA çip tarayıcısı ile görselleştirilir. PapilloCheck High-Risk Test (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Germany), tek bir reaksiyonda HC2 tarafından tespit edilen 13 HR tipi de dahil olmak üzere 24 HPV tipini (HPV6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73 ve 82) ayrı ayrı tanımlayan PCR tabanlı bir DNA mikroarray sistemidir. Test, viral E1 geninin amplifikasyonunu ve 24 farklı HPV tipi için DNA problemleri olan bir çip üzerinde hibridizasyonu içerir. HPV'nin E1 geninin 350 bp'lik bir fragmanını amplifiye etmek için floresan primerleri olan bir multipleks PCR kullanır. Hibridizasyon, sırasıyla 532 ve 635 nm'de CheckScanner ve sırasıyla Check-Report yazılımı kullanılarak otomatik olarak taranan ve analiz edilen bir mikrodizi çipi üzerinde gerçekleştirilir. PapilloCheck testinin başlıca avantajları HR/LR-HPV tanımlaması ve çoklu enfeksiyonların saptanmasıdır ve güvenilir bir tarama testi olarak kabul edilebilir. Ancak bu test HPV 35 ve 53'ü tespit etmez^(41,43).

2.7. HPV Testinin Klinik Faydası

Anogenital HPV enfeksiyonları genç, cinsel olarak aktif popülasyonlarda çok yaygındır. Bazı çalışmalarda, üniversite çağındaki kadınların %70'e varan kısmının

HPV DNA pozitif olduğu bulunmuştur. Neyse ki, genç kadınlarda HPV enfeksiyonlarının çoğu geçicidir ve yüksek riskli HPV tipleri ile kalıcı olarak enfekte olan kadınların yalnızca küçük bir kısmı, <10% servikal intraepitelyal neoplazi (CIN) 2/3 veya servikal kanser gelişme riski altındadır. Bu nedenle, çok sayıda geçici enfeksiyonlu kadının belirlenmesinden kaçınan ve kalıcı enfeksiyonlu kadınları belirlemeye odaklanan stratejiler geliştirilmelidir. Geçici HPV enfeksiyonları 30 yaşından büyük kadınlarda genç kadınlara göre çok daha az yaygındır ve HPV DNA pozitiflik oranı 30 yaşından sonra önemli ölçüde düşer.

Bu nedenle, çok sayıda geçici olarak enfekte olmuş kadını tespit etmemenin en kolay yollarından biri, taramayı 30 yaş ve üzeri kadınlarla sınırlamaktır. Bu, genç kadınları taramak için gerekli kaynaklara sahip olmayan çoğu gelişmekte olan ülke için bir dezavantaj değildir. Çok sayıda maliyet-etkililik çalışması, bir kadının yaşamı boyunca yalnızca 1 ile 3 taramanın yapılabildiği ortamlarda, taramaya 30 ile 35 yaşından önce başlanmaması gerektiğini açıkça göstermiştir.

HPV DNA testi, sitolojik değerlendirme veya serviksin görsel muayenesine kıyasla tarama testi olarak avantajlara sahiptir. İlk avantajı, daha yüksek sensitivitesidir ve yüksek sensitivite, kadınların yaşamları boyunca yalnızca bir veya iki kez taranacağı ortamlarda özellikle önemlidir. İkincisi, HPV DNA testinin yalnızca servikal hastalığı olan kadınları değil, aynı zamanda önümüzdeki 3 ile 10 yıl içinde servikal neoplazi geliştirme riski taşıyanları da belirlemesidir. Bu, tüm kadınları 5 ile 10 yıllık aralıklarla taramak için yeterli kaynağa sahip olamayan, ancak yüksek riskli, HPV DNA pozitif kadınların küçük bir alt kümesini daha sık aralıklarla taramak için kaynaklara sahip olabilecek gelişmekte olan ülkeler için özellikle önemlidir. HPV DNA testinin son avantajı, testin yorumlanmasının objektif olması ve görsel tarama yöntemlerinin veya servikal sitolojik değerlendirmenin doğal öznelliğine sahip olmamasıdır.

Sitolojik taramanın mümkün olmadığı veya kadınların jinekolojik muayeneden geçme konusunda isteksiz olduğu ortamlarda, kendilerinden alınan örneklerden HPV DNA testinin servikal hastalık riski taşıyan kadınları belirlemede yararlı olabileceğini düşündürmektedir. Buna karşılık, bu yaklaşımın sınırlamaları, özellikle yüksek dereceli lezyonlar için klinisyen tarafından elde edilen örneklerle karşılaştırıldığında daha düşük duyarlılığı ve bazı çalışmalarda sitolojik değerlendirme ile ulaşılandan daha düşük özgüllüğü olmasıdır^(47,48).

2.7.1. Birincil Tarama Testi olarak HPV DNA Testi

Bir dizi kesitsel çalışma, birincil tarama testi olarak HPV DNA testinin kullanımını değerlendirmiştir. Bu çalışmalar önemli sayıda kadını içermiştir ve dünyada servikal kanser prevalansının yüksek olduğu bölgelerde yürütülmüştür. Sitolojik değerlendirme ile karşılaştırıldığında, yüksek riskli HPV tipleri için HPV DNA testi, bu çalışmalarda CIN 2/3 veya daha yüksek tespiti için tutarlı bir şekilde daha yüksek bir sensitivite, ancak biraz daha düşük bir spesifite göstermiştir.

Servikal kanser taramasında, iyi sensitivite (yani, testin sahip olduğu tüm kadınlarda ilgilenilen durumu tespit etme yeteneği) testin özgüllüğüne karşı dengelenmelidir. Spesifite özellikle servikal kanser taramasında önemlidir, çünkü tarama, aksi takdirde sağlıklı olan çok sayıda kadını içerir ve pozitif sonuçlar, hem rahatsız edici hem de maliyetli olan kolposkopik incelemeyi gerektirir. Spesifite, kolposkopinin mümkün olmadığı düşük kaynaklı ortamlarda daha fazla önem kazanır ve tarama pozitif olarak sınıflandırılan tüm kadınlar “tara ve tedavi et” yaklaşımıyla tedavi edilir.

Bir meta-analiz araştırmasında 14 çalışmanın gözden geçirilmesinde, sitolojik testin ortalama duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %60 ve %95 iken, HPV DNA testi için sırasıyla %85 ve %84 idi. Ortalama olarak, HPV DNA testinin sensitivitesi mutlak olarak sitolojininkinden %27 daha yüksek ve spesifitesi %8.4 daha düşüktür. Buna karşılık, 30 yaşından büyük kadınlarda HPV DNA testinin performansı, ortalama sensitivite ve spesifite %89 ve %90'a çıkarak önemli ölçüde daha iyidir. Ek olarak, yüksek riskli HPV DNA tipleri için test yapılması, çok yüksek bir negatif prediktif değere (Negative predictive value; NPV) yani HPV DNA testi negatifse herhangi bir hastalığa sahip olmama olasılığına sahiptir. Farklı popülasyonlarda ve yaş gruplarında yapılan bir dizi kesitsel çalışmada, HPV DNA testinin NPV'si, HC2 veya PCR tabanlı testler kullanılarak tutarlı bir şekilde %97'nin üzerinde olup çoğu çalışmada %99'dan büyük değerler rapor edilmiştir ve bazıları %100 bildirmiştir.

Yüksek riskli HPV tipleri için yüksek NPV, tarama programları için önemli etkilere sahiptir. İlk olarak, yüksek riskli HPV DNA testi negatif çıkan 30 yaşından büyük kadınlarda, 5 ile 8 yıllık bir süre boyunca bu kadınların servikal kanser geliştirme riski önemsiz olduğundan, tarama aralıkları önemli ölçüde artırılabilir. HPV DNA testi ile sitolojik test birleştirildiğinde, her iki yöntemle de negatif çıkan kadınlar, uzun süre

servikal kanser riski altında olmayacaklarına dair çok yüksek düzeyde bir güvence alabilirler. Büyük kohort çalışmaları, HPV DNA negatif servikal sürüntüleri olan kadınların CIN 3 veya kanser için çok düşük risk altında olduğunu göstermektedir. Aynısı, yüksek riskli tipler için HPV DNA pozitif yaymaları ve/veya sınıflandırmada önemi bilinmeyen (ASC-US) veya daha yüksek asemptomatik skuamöz hücrelerin sitolojik sonucu olan kadınlar için geçerli değildir.

Sitolojik değerlendirme ve HPV DNA testi sonuçları, taranan kadınların çoğunda negatif olacaktır. Özellikle 30 yaşından büyük kadınların %15'inden azında, bazı çalışmalarda %4 kadar az bir oranda yüksek riskli HPV DNA'nın tespit edildiği gelişmiş ülkelerde, taranan kadınların en az %80'i HPV DNA negatif olacaktır. Gelişmekte olan ülkelerde, 30 yaşından büyük kadınlarda HPV DNA pozitifliği oranları daha yüksek görünmektedir ve bir dizi çalışmada %22'ye ulaşmaktadır.

Başka bir seçenek de HPV DNA testi pozitif çıkan kadınları triyaj yapmak için sitolojik incelemeyi kullanmaktır. HPV pozitif bulunan ancak normal sitoloji veya ASC-US sitolojik sonucu olan kadınlar 12 ay sonra tekrarlanan testlerle güvenli bir şekilde yönetilebilir. HPV testinin yüksek duyarlılığı sayesinde bu yaklaşım, kolposkopi sevk oranını artırmadan yüksek dereceli servikal kanser öncülerinin tespit oranlarını iyileştirecektir^(47,48).

2.7.2. Anormal Sitolojik Bulguların Triyajında HPV DNA Testi

ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından HPV DNA testinin resmi olarak kabul edilen ilk klinik kullanımı, ASC-US bulunan kadınların triyajına yöneliktir. Düşük dereceli sitolojik bulgular (ASC-US veya LSIL) tarafından gündeme getirilen sorun, bir dizi çalışmanın vakaların %5 ile %20'sinde bu tür bulguları olan kadınların tespit edilmemiş yüksek dereceli lezyonlar barındırabileceğini göstermesidir. Düşük dereceli sitolojik bulguları olan kadınların optimum yönetimi bu nedenle tartışmalı olmuştur ve seçenekler arasında hemen kolposkopi veya 6 ile 12 aylık aralıklarla tekrarlanan sitolojik değerlendirme yer almıştır. Ancak her iki seçenek de tekrarlanan klinik ziyaretleri gerektirir ve kadınlarda ciddi kaygılara neden olabilir.

ASC-US/LSIL Triyaj Çalışması (ALTS) çalışması, ASC-US ve LSIL'in sitolojik bulguları olan kadınları yönetmenin 3 yöntemini değerlendirmek için özel olarak tasarlanmış geniş, çok bölgeli, randomize bir çalışmadır. Karşılaştırılan 3 yöntem

şunlardı: (1) tüm kadınlar için anında kolposkopik muayene; (2) HPV testi ve HPV test sonucu pozitifse kolposkopi için sevk; ve (3) yayma HSIL varlığını gösteriyorsa kolposkopi için sevk ile tekrarlanan sitolojik değerlendirme. LSIL sitolojik tanısı olan kadınların yaklaşık %80'inde HPV DNA bulundu. Sitolojik değerlendirmede LSIL olan kadınlar arasında yüksek HPV pozitifliği oranı, HPV testinin klinik olarak anlamlı olmayan sitolojik anormallikler ile gerçek servikal kanser öncülerini temsil eden anormallikler arasında ayırım yapma yeteneğini önemli ölçüde zayıflatmıştır. Çalışma, sitolojik değerlendirmede LSIL bulunan kadınlarda HPV testinin değerli olmadığı sonucuna varmıştır ve Amerikan Kolposkopi ve Servikal Patoloji Derneği (American Society of Colposcopy and Cervical Pathology; ASCCP), bu kadınların HPV testi yerine kolposkopiye girmelerini önermektedir.

Sitolojik değerlendirmede ASC-US bulunan kadınların yönetimi ile ilgili olarak, ALTS çalışması, HPV testinin önceden teşhis edilmemiş CIN3 veya kanseri olan kadınların %96,3'ünü tespit ettiğini ve kolposkopi için kadınların sadece %56,1'inin sevk edilmesiyle sonuçlandığını bulmuştur. Bu yönetim stratejisi, sitolojik değerlendirmede ASC-US bulunan kolposkopi gerektiren kadın sayısını önemli ölçüde azaltacaktır.

ASCCP sponsorluğunda geliştirilen ASC-US'lu kadınların takibi için fikir birliği gösteren yönetim kılavuzları, seçenekler olarak tekrarlanan sitolojik değerlendirme, acil kolposkopi ve HPV testini içerir. Buna karşılık, ilk servikal yayma için LBC kullanılmışsa, refleks HPV testi (yani sitolojik tanı ASC-US ise HPV testi için LBC örneğindeki kalıntı sıvının kullanılması), ikinci klinik ziyareti gerektirmeyen tercih edilen bir seçenektir ^(47,49).

2.7.3. Tedavi sonrası takip için HPV DNA testi

Servikal kanser öncülerinin tedavisine yönelik ablatif veya eksizyonel tekniklerin genellikle çok etkili olduğu rapor edilmiştir ve %90'ından fazla tedavi oranları rapor edilmiştir. Buna karşılık, vakaların yaklaşık %5 ile %15'inde, öncü lezyonlar kalıcı olacak veya tekrarlayacak, lezyonlar yeniden tanımlandıktan sonra yakın takip ve yeniden tedavi gerektirecektir. Ek olarak, tedavi edilen kadınlar, genel kadın popülasyonu ile karşılaştırıldığında en az 8 yıl boyunca artmış servikal kanser riski altındadır. Bu sebeple tedaviden 6 ay sonra HPV test yapılması önerilir. HPV testi

pozitif ise kolposkopi yapılmalıdır. İlk HPV testi negatifse yıllık 3 kez HPV veya sitoloji testi ve HPV testinin aynı anda yapılması (birlikte test) tercih edilir ve ardışık 3 negatif test elde edilene kadar yıllık test ile izlem sürer ^(47,50).

2.8. Korunma

HPV enfeksiyonunun önlenmesi, servikal kanserden korunmanın anahtarıdır. Bununla birlikte, tüm farklı HPV tipleri ile enfeksiyonu önlemek için tek bir çözüm yoktur. HPV'nin bilinen bir tedavisi yoktur, etkili birincil korunma mevcuttur. Kadınlar için korunma, güvenli cinsel ilişkiyi içerir ve HPV enfeksiyonu riskini azaltabilir. Ancak prezervatifin kapsamadığı alanlar yine de enfekte olabilir. Prezervatiflerin HPV enfeksiyonu riskini azaltmasının yanı sıra Carraguard adı verilen karragenan bazlı bir kayganlaştırıcının kadınlarda HPV enfeksiyonunu önlemede etkili olduğu gösterilmiş olsa da, en iyi korunma yöntemi aşılamadır. HPV aşıları güvenli ve etkilidir.

HPV'nin erken tespiti ve ilişkili hastalıkların ve kanserin önlenmesi için rutin tarama kritik öneme sahiptir. Papanicolaou smear (yayma) veya Pap testi, 60 yılı aşkın süredir servikal kanser taraması için tercih edilen yöntem olmuştur. Pap testinin yaygın uygulanmasından bu yana, servikal kanser mortalitesi önemli ölçüde azalmıştır. Buna karşılık, Pap testi, yanlış negatiflerin yanı sıra nispeten yüksek bir yanlış pozitif oranına sahiptir.

ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), 2014 yılında servikal kanserde birincil tarama için HPV16 ve 18 genotiplerini ve ayrıca 12 diğer HR HPV'yi tespit eden bir PCR tabanlı HPV testini (Cobas HPV testi) onaylamıştır. Diğer birçok ülkeye benzer şekilde, tarama kılavuzları, sitoloji tabanlı tarama stratejilerine alternatif olarak HPV birincil taramasını önermek için ABD'de güncellenmiştir. Rutin tarama seçenekleri artık tek başına sitolojiyi, genotiplemeli veya genotiplemesiz HPV testi ile sitolojiyi veya genotiplemeli HPV birincil taramasını içermektedir. HPV genotiplemesinin servikal kanser taramasına dahil edilmesinin, CIN tespitini artırarak servikal kanser insidansını azalttığı gösterilmiştir ^(4,51,52).

HPV aşıları 2006'dan beri mevcuttur. Küresel HPV aşılama kapsamının 2019 için %15 olduğu tahmin edilmektedir. DSÖ, Haziran 2020 itibarıyla, DSÖ'ye üye 194 ülkeden 107'sinin (%55) HPV aşısının ülke çapında veya kısmen ulusal aşılama programlarına dahil edildiğini bildirmiştir⁽⁵³⁾. Günümüzde mevcut aşılar, HPV'nin viral

kapsidini veya kapsidinin ana proteininden yapılan alt birim aşılardır. Virus benzeri partiküller (virus like particle; VLP), maya veya baculovirus ile enfekte olmuş böcek hücrelerinde üretilen rekombinant proteinlerden hazırlanır. VLP'ler, doğal virusun yapısını taklit eder ancak herhangi bir viral DNA içermez. Günümüzde üç farklı HPV aşısı bulunmaktadır. Cervarix iki HPV tipi (16 ve 18 bivalan aşısı), Gardasil dört HPV tipi (6, 11, 16 ve 18 dörtlü aşısı) ve Gardasil 9 dokuz HPV tipi (6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 ve 58 dokuz değerlikli aşısı) için VLP'ler içerir. Cervarix'te kullanılan VLP'ler, alüminyum hidroksit üzerinde adsorbe edilmiş 3-O-desasil-4'- monofosforil lipid A (MPL) içeren AS04 ile adjuvanlanır.

Gardasil ve Gardasil 9'da kullanılan VLP'ler, amorf alüminyum hidroksifosfat sülfat adjuvanı kullanılır. Aşılar tiyomersal içermez. HPV aşıları, aşının kapsadığı HPV tiplerine duyarlı kadınların enfeksiyonunu önlemede oldukça etkilidir. Daha önce enfeksiyon kanıtı olmayan genç kadınlarda yapılan klinik çalışmalarda, her iki aşısı da HPV tip 16 veya 18 ile ilişkili kanser öncesi lezyonları önlemede %99'un üzerinde etkilidir. Mevcut araştırmalar korumanın en az on yıl sürdüğünü göstermektedir.

Bağışıklık tepkilerine dayalı olarak, korumanın daha da genişletilmesi ve yaşam boyu sürmesi beklenmektedir; uzun vadeli takip çalışmaları mevcuttur. Genç kadınlarda klinik deneyler yoluyla yüksek etkinlik gösterilmiş olduğundan, immunojenisite açısından eşdeğer yanıt gösteren immunolojik çalışmalar, 9-15 yaşındaki kızlarda etkinlik ve koruma süresini anlamak için kabul edilebilir bir "köprü" haline gelmiştir. Erkeklerde HPV aşısının etkinliği/etkinliğine ilişkin doğrudan kanıtlar sınırlıdır, ancak mevcut kanıtlar aşının genital HPV enfeksiyonuna ve yüksek dereceli anal intraepitelyal lezyonlara karşı güvenli ve etkili olduğunu göstermektedir.

Gardasil için lisans endikasyonu, Gardasil'in 16 ile 45 yaşındaki kadınlarda ve 16 ile 26 yaşındaki erkeklerde etkinliğinin gösterilmesine ve 9 ile 15 yaşındaki çocuk ve ergenlerde Gardasil'in immunojenisitesinin gösterilmesine dayanmaktadır. Aşının etkinliği ile ilgili olarak erkeklerde Cervarix immunojenisitenin, genç kızlara ve kadınlara kıyasla daha düşük olmadığı gösterilmiştir.

İlk doz aşısı ve rapel aşının en az 6 ay ara ile uygulanan iki doz programı kullanılarak aşılanan ergenler, ileri yaş kadınlarda üç doz programına eşdeğer yanıtlara sahiptir.

Hem Gardasil hem de Cervarix, 2013/2014'te genç kızlarda iki dozluk bir program için Avrupa İlaç Ajansı'ndan lisans onayı almıştır. HPV aşılıları için 15 yaşından sonra 3 dozluk bir program gereklidir.

Dokuz valanlı aşı için endikasyon, bu aşının etkinliğinin 4'lü aşındaki dört aşı tipleri ile olan immununojeniteden az olmaması; kızlarda ve kadınlarda HPV Tip 31, 33, 45, 52 ve 58'e karşı etkinliğin gösterilmesi ve; 16 ila 26 yaşındaki kız ve kadınlara kıyasla 9 ila 15 yaş arasındaki erkek ve kızlarda ve 16 ila 26 yaş arasındaki erkeklerde Gardasil 9 HPV tiplerine karşı daha düşük olmayan immunojenisitenin gösterilmesine dayanmaktadır.

Gardasil 9, Nisan 2016'da genç kızlarda iki dozluk bir program için Avrupa İlaç Ajansı'ndan lisans onayı almıştır ve 9 ile 14 yaş arası bireyler için onaylanmıştır. DSÖ'nün Bağışıklama ile ilgili Stratejik Danışma Uzmanları Grubu (Strategic Advisory Group of Experts on Immunization; SAGE), aşılama 15 yaşından önce başlatılmışsa, kızlar için 2 dozluk bir program da önermiştir. Diğer bazı yüksek riskli HPV tipleri, aşılar da bulunanlarla yakından ilişkilidir ve aşılamamanın, bu aşılar tarafından enfeksiyona karşı bir miktar çapraz koruma sağladığı gösterilmiştir. Kadınların aşı kapsamının en az %50 olduğu ülkelerde 13 ile 19 yaşındaki kadınlar arasında yüksek riskli HPV aşı tiplerinde (HPV16 ve 18) azalmaları gösteren yedi çalışmadan elde edilen verileri içeren sistematik bir inceleme ve meta-analiz de HPV31, 33 ve 45 tiplerinde de azalma olması çapraz korumayı doğrulamaktadır. Gardasil ayrıca genç kadınlarda aşı tipleri ilişkili genital siğillerin önlenmesinde de %99 etkilidir.

Terapötik HPV aşısı ile ilgili sınırlı literatür vardır. Doğal olarak edinilmiş bir HPV enfeksiyonunun temizlenmesine, dendritik hücrelerin T yardımcı hücreleri uyardığı ve daha sonra enfekte hücrelere saldıran sitotoksik T lenfositlerin üretimini sağlayan spesifik hücresel immunité aracılık eder. Bir HPV aşısının spesifik hücresel immün cevabı uyarma yeteneği, potansiyel olarak terapötik bir etkiye sahip olabilir. Mevcut FDA onaylı L1 VLP aşılıları, öncelikle nötralize edici bir antikor tepkisini uyatarak HPV enfeksiyonunu önlemek için tasarlanmıştır ve terapötik amaçlar için tasarlanmamıştır. Birkaç kısa süreli çalışma, mevcut aşıların HPV enfeksiyonu olan hastalarda bir şekilde etkili olabileceğini öne sürerken, diğer çalışmalar anlamlı bir etki bulmamıştır.

Terapötik HPV aşıları, HPV ile enfekte olmuş hücelere karşı hücrel immunitel geliştirerek öncül lezyonları ve kanseri yok etmeyi amaçlamaktadır. Spesifik T hücre yanıtlarını artırmak için tasarlanmış aşılar, potansiyel olarak terapötik olarak etkili olabilir. Geç proteinler olan L1 ve L2 yapısal kapsid proteinleri yalnızca enfeksiyonun geç fazında tamamen farklılaşmış epitel hücrelerinde ortaya çıktıklarından, terapötik aşılar, sürekli olarak eksprese edilen HPV E6 ve E7 viral onkoproteinlerine T hücre yanıtlarını uyarmaya yönelik olmuştur. Yaklaşımlar, peptit antijenlerinin veya rekombinant proteinlerin, canlı viral vektör aşılarının, tüm hücre aşılarının ve plazmid DNA aşılarının yanı sıra E7 ile uyarılan (E7-pulsed) dendritik hücrelerin uygulanmasını içermektedir. DNA aşıları, stabil oldukları, çoklu uygulamalar için güvenli oldukları, antijenik proteinlerin sürekli salınımını sağlayabildikleri ve çeşitli yöntemlerle uygulanabildikleri için tercih edilmektedir. Gelişmiş immunojenisiteye yol açan modifikasyonlar araştırılmaktadır. CD4⁺ T hücresi azalması veya tükenmesi karşısında etkili terapötik aşılama, bazı primer bağışıklık yetersizliklerinde ve HIV ile enfekte bireylerde endişe vericidir. Bir murin immün yetmezlik modelinde, HPV E6 ve E7'ye karşı bir DNA aşısının, CD4⁺ T hücrelerinin yokluğunda belirli bir CD8⁺ T hücresi aracılı immune cevap oluşturabildiği ve E6 ve E7 eksprese eden tümör hücrelerinin deri altı uygulama ile koruyucu olduğu gösterilmiştir, ancak hiçbir antikor yanıtı saptanmamıştır. Hem bağışıklığı yeterli hem de bağışıklığı baskılanmış bireyler için tedavi stratejilerinde terapötik aşılamanın uzun vadeli etkisini belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Önleyici ve tedavi edici bileşenler içeren kimerik bir aşı nihayetinde ideal olabilir ve hem tedavi hem de profilaksi için kullanılabilir (54,55,56,57,58,59,60).

2.9. Tedavi

Kutanöz ve anogenital siğiller için mevcut tedavi, görünür lezyonların yok edilmesine yöneliktir. Deri siğillerinin tedavisi genellikle kozmetik nedenlerledir, çünkü malign transformasyon riski düşüktür ve lezyonların aylar ile birkaç yıl arasında immün aracılı gerilemesi beklenir. Kayda değer istisnalar, kanamaya, kaşıntıya veya ağrıya neden olan siğillerdir, özellikle de plantar ve subungual siğillerdir.

Kutanöz siğiller, kriyoterapi, elektrokoter, lazer tedavisi, cerrahi eksizyon veya hasta tarafından uygulanan asetik asit-salisilik asit kombinasyonları ile tedavi edilir. Dış

anogenital siğiller kriyoterapi, cerrahi eksizyon veya Podofilox %0.5 solüsyon veya jel, Imiquimod %5 krem ve %80-90 Trikloroasetik asit gibi kostik ajanların uygulanması ile tedavi edilir.

ASC-US veya LSIL'li 21 ile 24 yaşındaki kadınlar, birçok vaka kendi kendine düzeldiği için 24 ay boyunca her 12 ayda bir tekrar sitoloji ile gözlemlenmelidir. Sitolojik incelemede 24 aylık takipte kalıcı ASC-US veya LSIL veya herhangi bir ziyarette HSIL olan kadınlarda kolposkopik inceleme yapılmalıdır. HSIL'nin histolojik doğrulaması olmadan eksizyonel tedavi kullanılarak yapılan acil tedavi, genç kadınlarda yersizdir. HIV ile enfekte veya bağışıklığı baskılanmış kadınlarda, iki ardışık ziyarette ASC-US bulunursa veya herhangi bir zamanda LSIL veya HSIL bulunursa kolposkopiye yönlendirilmelidir. HPV DNA testi, sitolojik ASC-US tanısı olan 25 yaş ve üzeri kadınların risk sınıflandırması için bir triyaj testi olarak kullanılabilir. ASC-US ve pozitif yüksek riskli HPV DNA testi sonucu olanlar kolposkopi yapılır. ASC-US olan ancak HPV sonucu negatif olanlar rutin taramaya devam edebilir ^(53,54,55).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Jinekolojik Onkoloji Bölümüne Ekim 2021-Şubat 2022 tarihleri arasında başvuran HPV aşısı yapılmamış 232 kadın çalışmaya dahil edilmiştir. Servikal kanser taraması için sitolojik test olan Pap testi yapılmış ve Bethasda sistemine göre normal ve anormal sitoloji tanısı konmuştur. Kadınlardan özel fırça ile servikal sürüntü örnekleri toplanmış ve içerisinde fosfat tamponlu tuzlu su (phosphate buffered saline; PBS) bulunan kaplara konularak Tıbbi Viroloji Bilim Dalı Laboratuvarına gönderilmiştir. Toplanan servikal sürüntü örnekleri daha sonra çalışılmak üzere -20°C dondurucuya kaldırılmıştır. Servikal sürüntü örneklerinden viral DNA ekstraksiyonu için viral nükleik asit ekstraksiyon kiti (Bosphore Viral DNA Extraction Spin Kit, İstanbul, Türkiye) kullanılmıştır. HPV DNA varlığı sırasıyla MY09/MY11 ve GP5+/GP6+ konsensus primerlerinin kullanıldığı nested PCR (polymerase chain reaction) testi ile tespit edilmiştir. Konsensus HPV DNA testi pozitif bulunan örneklerde yüksek riskli HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 ve 68 genotiplerinin tanısı için HPV Genotypes 14 Real-TM Quant PCR kit (Sacace, İtalya) kullanılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik verileri hazırlanan formlara doldurulmuştur.

3.1. Viral DNA ekstraksiyonu

Bosphore Viral DNA Ekstraksiyon Spin Kit (Bosphore Viral DNA Extraction Spin Kit, İstanbul, Türkiye) kullanılarak üreticinin talimatlarına göre çalışmaya dahil edilen hastaların servikal sürüntü örneklerinden viral DNA ekstraksiyonu yapılmıştır.

3.1.1 Bosphore Viral DNA Ekstraksiyon Spin Kit Protokolü

1. Teste başlamadan önce kit içinde bulunan Lizis Buffer 1 (LB1) ve İnhibitor Removel 2 (IR2) solüsyonları oda sıcaklığına getirilir ve eğer içerisinde kristaller oluşmuş ise 37 °C'de çözülür.
2. Kit içerisinden çıkan 11 mg kristalize Proteinase K içeren tüpün üzerine 1.1 ml PK Storage Buffer eklenir (son konsantrasyon 10 mg/ml).

3. İçinde 1 mg kristalize Carrier RNA bulunan tüpe 1 ml RNase Free Water eklenir (son konsantrasyon 1 mg/ml)
4. Servikal sürüntü örneğinden 200 µl alınıp 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne konulur.
5. Üzerine 20 µl proteinaz K, 10 µl Carrier ve real-time PCR kitinin internal kontrolünden 5 µl eklenir.
6. Bu karışımın üzerine 200 µl Buffer LB1 eklenir ve daha önceden ayarlanmış olan ısı bloğunda 65°C'de 15 dk inkübe edilir (Lizis aşaması).
7. İnkübasyon sonrasında örneğin üzerine 250 µl Buffer IR2 eklenir, vortekslenir ve 5 dk oda sıcaklığında inkübe edilir.
8. Kit içerisinde çıkan membran filtreli spin kolon, toplama tüpün içerisine yerleştirilir ve mevcut karışım spin kolona aktarılır.
9. Karışım 8.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilir ve toplama tüpüne geçen lizat pipet ile çekilerek tekrar spin kolona aktarılır ve kolon aynı toplama tüpüne yerleştirilir.
10. Lizat tekrar 8.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilir ve toplama tüpü, içerisine geçen lizat ile birlikte tıbbi atığa atılır, spin kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilir (Bağlanma aşaması).
11. Kolon üzerine 450 µl Buffer W3 (Wash Buffer) eklenir ve 1 dk 8000 rpm'de santrifüj edilir (1. yıkama). Toplama kabı içerisindeki sıvı ile birlikte tıbbi atık kutusuna atılarak kolon yeni toplama tüpüne yerleştirilir.
12. Kolon üzerine tekrar 450 µl Buffer W3 eklenir ve 1 dk 8000 rpm'de santrifüj edilir (2. yıkama). Toplama kabı, içerisindeki sıvı ile tıbbi atık kutusuna atılarak kolon yeni toplama tüpüne yerleştirilir.
13. Spin kolon boş olarak 12.500 rpm'de 2 dk santrifüj edilir. Toplama tüpü tıbbi atık kutusuna atılır, kolon temiz 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpün içerisine yerleştirilir ve 1 dk kapak açık şekilde beklenir.
14. Kolon üzerine 60 µl Buffer EL4 (Elution Buffer) eklenir ve 5 dk oda ısısında inkübe edilir (Elüsyon).
15. İnkübasyon sonrasında 1dk 12.500 rpm'de santrifüj edilir. Aşağı geçen sıvı viral DNA örneğidir.
16. Spin kolon tıbbi atık kutusuna atılır. Eğer hemen çalışılacaksa mikrosantrifüj tüpleri +4°C'de hemen çalışılmayacaksa -20°C'de muhafaza edilir.

3.2. HPV Consensus PCR

HPV consensus PCR amplifikasyon işlemi MJ Mini Thermal Cycler (Bio-Rad, Kaliforniya, ABD) cihazı kullanılarak yapılmıştır. Toplanan servikal sürüntü örneklerinde HPV DNA tespiti için human papilloma virusun L1 majör kapsid proteinini kodlayan L1 gen bölgesindeki 450 bp uzunluğundaki kısmı hedef alan MY09 (forward) ve MY11 (reverse) konsensus primerleri (Tablo 3.2) kullanılarak aşağıda verilmiş olan protokole göre PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. PCR işlemi sonrasında amplifikasyon ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezi ile yürütülerek jel görüntüleme sisteminde 450 bp bant varlığı incelenmiştir.

HPV Consensus PCR amplifikasyon protokolü;

1. İlk olarak kullanılacak olan tüm PCR malzemeleri oda sıcaklığına getirilir, yavaş bir şekilde vortekslendikten sonra kısa bir spin işlemi yapıldı.
2. Biyogüvenlik kabininde 0.2 µl PCR tüp içerisine 30.6 µl distile su ve daha sonra 5 µl 10x PCR buffer eklendi.
3. Daha önceden hazırlanmış olan 2.5 mM dNTP (dNTP Set, Thermo Scientific, ABD) karışımından 4 µl miks içerisine ilave edildi.
4. Sonra karışım içerisine konsantrasyonu 25 mM olan MgCl₂ solüsyonundan 3 µl eklendi.
5. Kullanılacak olan her bir primer (MY09 ve MY11) konsantrasyonu 100 µM olan stok solüsyonlarından 1 µl miks içerisine ilave edildi.
6. Son olarak konsantrasyonu 5 U/µl olan Taq DNA polimeraz enzimden 0.4 µl karışım içerisine ilave edilir. Bu şekilde 45 µl 'lik PCR miks hazırlandı.
7. Sonra hasta örnek işlemleri için kullanılan başka bir biyo-güvenlik kabininde PCR miks içerisine daha önceden elde edilmiş viral DNA ekstraksiyonundan 5 µl eklenir. Böylece total hacim 50 µl olarak ayarlandı.
8. Karışım içeren PCR tüpü thermal cycler cihazına yerleştirilir ve Tablo 3.2'de verilen sıcaklıklarda amplifikasyon işlemi gerçekleştirildi.
9. PCR işlemi sonrası amplikonlar hemen kullanılmayacaksa +4°C'de muhafaza edildi.

Tablo 3.1. HPV consensus PCR için kullanılan primerler

Primer	Baz Dizilimi	Uzunluğu
MY09 (F)	5'- GCM CAG GGW CAT AAY AAT CG -3'	450 bp
MY11 (R)	5'- CGT CCM ARR GGA WAC TGA TC-3'	

Tablo 3.2. HPV consensus PCR ısı döngüsü

	Sıcaklık	Süre	Döngü
1.	95°C	5 dakika	1
2.	95°C	1 dakika	35
	55°C	1 dakika	
	72°C	1 dakika	
3.	72°C	7 dakika	1

3.3. HPV Nested PCR

HPV consensus PCR'ın amplifikasyon aşamasından sonra elde edilen amplikonlar kullanılarak nested PCR'da ikinci amplifikasyon aşaması gerçekleştirildi. Bu işlemde hazırlanacak olan PCR miksi için consensus PCR amplifikasyon aşamasındaki aynı protokol uygulanmış olup kullanılan primerler farklıdır. HPV'nin consensus PCR ile tespitinde dış primerler olarak MY09/MY11 tercih edilmişken iç primerler olarak GP5+/GP6+ kullanıldı (Tablo 3.3). Consensus PCR amplifikasyon aşamasındaki protokole göre GP5+/GP6+ primerleri kullanılarak hazırlanan 45 µl PCR miksi karışımının üzerine 2 µl ilk aşamada elde edilen amplikon eklendi. Total hacmi 47 µl olan bu karışımlar amplifikasyon için Termal Cycler cihazına yerleştirildi. Nested PCR aşamasında Tablo 3.4'de verilen kullanıldı. PCR işlemi sonrasında amplifikasyon ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezi ile yürütülerek jel görüntüleme sisteminde 150 bp bant varlığı incelendi.

Tablo 3.3. HPV nested PCR için kullanılan primerler

Primer	Baz Dizilimi	Uzunluğu
GP5+(R)	5'- TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC -3'	150 bp
GP6+ (F)	5'- GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C-3'	

Tablo 3.4. HPV nested PCR ısı döngüsü

	Sıcaklık	Süre	Döngü
1.	95°C	5 dakika	1
2.	95°C	1 dakika	40
	45°C	1 dakika	
	72°C	1 dakika	
3.	72°C	7 dakika	1

3.4. Agaroz jel elektroforezi

Nested PCR ürünleri etidyum bromürlü %2'lik agaroz jel elektroforezi kullanılarak incelenmiştir. TBE Buffer (Tris Borat EDTA Buffer) agaroz jelin hazırlanmasında ve tampon çözelti olarak kullanılmıştır. İlk olarak 10X'lik stok TBE solüsyonu hazırlanmış daha sonra çalışma için stok solüsyonundan sulandırılarak (1X) kullanılmıştır. 10X'lik TBE hazırlamak için 108 gr Tris base (tris hidroksimetil aminometan, Sigma-Aldrich, USA), 55 gr borik asit (Sigma-Aldrich, USA) ve 7.5 gr EDTA (etilendiamin tetraasetik asit, Sigma-Aldrich, USA) 1 L distile suda çözülmüştür. Elektroforez için uygulanan protokol;

1. Agar (%2) hazırlamak ve elektroforez tankında tampon çözelti olarak kullanmak için 10X'lik TBE stok solüsyonundan 100 ml, 900 ml distile su ile dilüe edildi (1X).
2. Agar için 1X'lik TBE solüsyonundan 100 ml erlene aktarıldı daha sonra hassas terazide (Sartorius, Almanya) tartılan 2 gr agar erlen içerisine aktararak 100 ml'lik solüsyonda çözüldü.
3. Agarın çözünmesi için erlen 30 saniye olmak üzere 3 defa mikrodalgada ısıtıldı.

4. Agar sıcaklığı 60-65°C'ye düşünceye kadar bekletildi ve üzerine 5 µl etidyum bromid (20 mg/ml, Sigma-Aldrich, USA) eklendi.
5. Tank tablasına taraklar yerleştirilerek agar tabla içerisine baloncuk oluşturmayacak şekilde yavaşça döküldü.
6. Sıvı jelin donması ve oda sıcaklığına ulaşması için 10-15 dakika bekledi.
7. Jel soğuduktan sonra taraklar tabladan yavaşça çıkarıldı. Tabla tank içerisine, kuyular negatif kutba gelecek şekilde yerleştirildi ve tank 1X'lik TBE solüsyonu ile dolduruldu.
8. Her 10 µl örnek, 2 µl Loading dye (Thermo Fisher Scientific, ABD) ile karıştırılarak jel içerisindeki kuyulara yüklendi. İlk kuyuya 6 µl 100 bp'lik DNA ladder (Thermo Fisher Scientific, ABD) yüklendi.
9. Güç kaynağı 100 V'luk akım verecek şekilde ayarlandı.
10. Örnekler 60 dakika jelde yürütüldü.
11. Süre bitiminde tabla tank içerisinden çıkarılarak jel görüntüleme sisteminde (Mini, DNR Bio-Imaging Systems, Israil) DNA pozitifliği yönünden incelendi.

3.5. HPV Real-Time PCR Testi ile Genotipleme

HPV nested PCR ile HPV DNA pozitifliği belirlenen örneklerden real-time PCR işlemi ile genotipleme yapılmıştır. Genotiplendirme işlemi HPV Genotypes 14 Real-TM Quant kit (Sacace, İtalya) kullanılarak üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Kit içerisinde PCR-mix-1 gen 14 (HPV tip 16, 18, 45 ve global internal kontrol), PCR-mix-2 gen 14 (HPV tip 35, 68, 59, 51), PCR-mix-3 gen 14 (HPV tip 58, 52, 33, 56) ve PCR-mix-4 gen 14 (HPV tip 39, 31, 66 ve eksojenik internal kontrol) olmak üzere tiplere ait spesifik primerleri barındıran 4 adet PCR miks bulunmaktadır. Her miks içerisinde 4 farklı floresan ile işaretli prob bulunmaktadır. Bu sebeple real-time PCR cihazında FAM, HEX/JOE, ROX/Texas Red ve Cy5 olmak üzere 4 ayrı kanalda floresan okuma yapılmaktadır. Birinci mikste servikal sürüntü örneklerinin düzgün bir şekilde alınıp alınmadığını kontrol etmek için iç kontrol amacıyla Human β -globin genini tanıyan primerler bulunmaktadır. Ayrıca ekstraksiyonun düzgün yapıp yapılmadığını ve Real-time PCR'ın düzgün çalışıp çalışmadığını kontrol etmek için dördüncü mikste internal kontrol için spesifik primerler bulunmaktadır. Kit içerisinden çıkan internal kontrol ekstraksiyon aşamasında

kullanıldı. Kite bulunan PCR-buffer-FRT ise PCR miks hazırlanırken ortak kullanılan solüsyondur. Her hasta için dört adet PCR miks hazırlandı. Bu aşamada 4 ayrı PCR miks için 4 adet 0.1 ml PCR tüpü ayarlandı. Miks'ten 10 µl ve her bir PCR tüpüne PCR-buffer-FRT'den 5 µl eklenerek 4 adet 15 µl PCR miks hazırlandı. Sonrasında her PCR tüpüne 10'ar µl viral DNA ekstraksiyonu ve her çalışmada her mikse ait 10 µl pozitif kontrol eklenmiş olup tüpler Real-time PCR cihazına yerleştirilerek Tablo 3.5'de verilen ısı döngüsü kullanıldı. Real-time PCR işlemi Light Cycler 96 (Roche, İsviçre) cihazında gerçekleştirildi.

Tablo 3.5. HPV real-time PCR ısı döngüsü

	Sıcaklık	Süre	Döngü
1.	95°C	15 dakika	1
2.	95°C	10 saniye	45
	60°C	30 saniye (okuma işlemi)	

Real-time PCR işlemi sonrasında cihazın tespit ettiği veriler yorumlanmıştır. Tiplerin belirlenmesi Tablo 3.6'daki floresan kanallara göre göre yapılmıştır.

Tablo 3.6. Real-Time PCR floresan kanalları ve tespit ettiği HPV tipleri

Floresan kanal	FAM	HEX	ROX	Cy5
Reaksiyon miks	Amplifikasyon Ürünü			
Miks 1	HPV genotip 16	HPV genotip 18	HPV genotip 45	Eksojenik kontrol
Miks 2	HPV genotip 35	HPV genotip 68	HPV genotip 59	HPV genotip 51
Miks 3	HPV genotip 58	HPV genotip 52	HPV genotip 33	HPV genotip 56
Miks 4	HPV genotip 39	HPV genotip 31	HPV genotip 66	İnternal kontrol



Şekil 3.1. Servikal sürüntü örneği almak için özel fırça



Şekil 3.2. Bosphore Viral DNA Extraction Spin Kit, İstanbul, Türkiye



Şekil 3.3. Thermal Cycler cihazı (Bio-Rad, Kaliforniya, ABD)



Şekil 3.4. Jel görüntüleme cihazı (Mini, DNR Bio-Imaging Systems, İsrail)



Şekil 3.5. HPV Genotypes 14 Real-TM Quant PCR kit (Sacace, İtalya)



Şekil 3.6. Real-time PCR cihazı, Light Cycler®96 (Roche, İsviçre)

4. BULGULAR

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Jinekolojik Onkoloji Bölümüne başvuran ve HPV'ye karşı aşılmayan, servikal kanser tarama için sitolojik test olan Pap testi yapılan normal ve anormal sitolojili kadınlarda yüksek riskli HPV prevalansı ve genotiplerinin dağılımını tespit etmek amacıyla yaptığımız çalışmaya 232 kadın dahil edildi. Kadınlardan alınan servikal sitoloji örneklerinde 14 HR HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 ve 68) tipleri araştırıldı.

Çalışma popülasyonu 20-65 yaş arasında idi. Toplam 232 kadından 200'ü (%86.2) normal ve 32'si (%13.8) anormal sitolojiye sahipti. Anormal servikal sitolojili 32 kadından 20'sinde (%62.5) ASC-US, 8'inde (%25) LSIL, 3'ünde (%9.4) HSIL ve 1'inde (%3.1) ASC-H bulunmuştur.

Normal sitolojili 200 kadından 16'sı (%8) 20-29 yaş, 50'si (%25) 30-39 yaş, 78'i (%39) 40-49 yaş ve 56'sı (%28) 50-65 yaş grubundaydı. Anormal sitolojiye sahip 32 kadından 3'ü (%9.4) 20-29 yaş, 9'u (%28.1) 30-39 yaş, 11'i (%34.4) 40-49 yaş ve 9'u (%28.1) 50-65 yaş arasında idi. (Tablo 4.1)

Tablo 4.1. Çalışmaya katılan 232 kadının yaş gruplarına göre dağılımı

Sitoloji	Yaş grupları									
	20-29		30-39		40-49		50-65		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Normal sitoloji	16	8	50	25	78	39	56	28	200	100
Anormal sitoloji	3	9.4	9	28.1	11	34.4	9	28.1	32	100
Toplam	19	8.2	59	25.4	89	38.4	65	28	232	100

Toplam 232 kadından 91'inde (%39.2) HR HPV enfeksiyonu tespit edildi. Kadınlarda HPV pozitif olanların çoğu %16.8 oranla 40-49 yaş grubundaydı. Normal sitolojili 200 kadından 66'sı (%33) ve anormal sitolojili 32 kadından 25'i (%78) HPV pozitif. Normal sitolojisi olan 200 kadından 1'i (%0.5) 20-29 yaş, 16'sı (%8) 30-39 yaş, 31'i (%15.5) 40-49 yaş, 18'i (%9) 50-65 yaş arasında idi. Anormal sitolojili 32 kadından 2'si (%6.2) 20-29 yaş, 7'si (%21.8) 30-39 yaş, 8'i (%25) 40-49 yaş ve 8'i (%25) 50-65 yaş grubunda idi. (Tablo 4.2)

Tablo 4.2. Normal ve anormal sitolojili kadınlarda HPV pozitifliği

Yaş grupları	HPV pozitif					
	Normal Sitoloji (200)		Anormal Sitoloji (32)		Çalışma grubu (232)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
20-29	1	0.5	2	6.2	3	1.3
30-39	16	8	7	21.8	23	9.9
40-49	31	15.5	8	25	39	16.8
50-65	18	9	8	25	26	11.2
Toplam	66	33	25	78	91	39.2

Anormal sitolojili 32 kadından 25'inde (%78) HPV enfeksiyonu vardı. Anormal sitolojili 32 kadından 14'ü (%43.8) ASC-US, 7'si (%21.8) LSIL, 3'ü (%9.3) HSIL ve 1'i (%3.1) ASC-H tanılı olup HPV pozitif idi. ASC-US'lu olanların çoğu %18.8 oranla 40-49 yaş grubunda idi. LSIL'li olanlar ise her biri %9.3 oranla 30-39 ve 50-65 yaş grubunda bulundu. (Tablo 4.3)

Tablo 4.3. Anormal sitolojili kadınlarda HPV prevalansının yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Anormal sitoloji (32)									
	ASC-US		LSIL		HSIL		ASC-H		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
20-29	-	-	1	3.1	1	3.1	-	-	2	6.2
30-39	4	12.5	3	9.3	-	-	-	-	7	21.8
40-49	6	18.8	-	-	1	3.1	1	3.1	8	25
50-65	4	12.5	3	9.3	1	3.1	-	-	8	25
Toplam	14	43.8	7	21.8	3	9.3	1	3.1	25	78

Çalışma grubunda yer alan kadınlara ait yaş, medeni hal, eğitim durumu, sigara, gebelik sayısı, menapoz, oral kontraseptif kullanımı ve hormon replasman tedavisi gibi demografik özellikler incelendi. HPV DNA pozitifliği, 20-29 yaş grubunda %15.7, 30-39 yaş grubunda %38.9, 40-49 yaş grubunda %43.8 ve 50-65 yaş grubunda ise %40 olarak tespit edildi. HPV DNA prevalansı, bekarlarda %65.2 ve evlilerde %32.8 bulundu. Eğitimi olmayanlarda HPV DNA pozitiflik oranı %28.6, ilköğretim mezunlarında %37.8, lise mezunlarında %27.6 ve üniversite mezunlarında %48.4 idi. Sigara kullanan 88 kadında HPV DNA pozitifliği %53.4 ve kullanmayan 144 kadında ise %30.5'di. Hiç gebe kalmayan kadınlarda HPV enfeksiyonu %60.9, 1-2 kez gebe kalanlarda %43 ve ≥ 3 'ten fazla gebe kalanlarda %30.4 oranlarında bulundu. HPV prevalansı menapozdaki kadınlarda %41.5 ve menapozda olmayan kadınlarda %38.3 idi. Oral kontraseptif kullanan kadınlarda HPV prevalansı %40 ve kullanmayanlarda %39.1 olarak tespit edildi. Hormon replasman tedavisi görenlerin %25'i ve hormon replasman tedavisi görmeyenlerin %40'ı, rahim içi araç kullanan kadınların %38'i ve kullanmayanların ise %39.6'u HPV DNA pozitif bulundu. (Tablo 4.4)

HPV DNA pozitif 91 kadının çoğu %42.8'i 40-49 yaş grubunda, %67'si evli, %49.4'ü üniversite mezunu, %51.6'sı sigara kullanan, % 15.4'ü hiç gebe kalmamış, %50.5'i 1-2 kez gebe kalmış ve %34.1'i ≥ 3 'ten fazla gebe kalmış, %30'u menapozdaki kadınlar, %91.2'si oral kontraseptif kullanmayanlar, %97'si hormon replasman tedavisi görmeyenler ve %79.1'i rahim içi araç kullanmayan kadınlar olarak tespit edildi. (Tablo 4.3)

Tablo 4.4. Çalışma grubundaki kadınların demografik bilgileri

Demografik bilgiler		Çalışma grubu 232		HPV pozitif		HPV pozitif 91
		Sayı	%	Sayı	%	%
Yaş	20-29	19	8.2	3	15.7	3.3
	30-39	59	25.4	23	38.9	25.3
	40-49	89	38.4	39	43.8	42.8
	50-65	65	28	26	40	28.6
Medeni hal	Bekar	46	19.8	30	65.2	33
	Evli	186	80.2	61	32.8	67
Eğitim durumu	Yok	7	3	2	28.6	2.2
	İlköğretim	74	31.9	28	37.8	30.8
	Lise	58	25	16	27.6	17.6
	Üniversite	93	40.1	45	48.4	49.4
Sigara	Evet	88	37.9	47	53.4	51.6
	Hayır	144	62	44	30.5	48.4
Gebelik	Yok	23	9.9	14	60.9	15.4
	1-2	107	46.1	46	43	50.5
	≥3	102	44	31	30.4	34,1
Menapoz	Evet	65	28	27	41.5	30
	Hayır	167	72	64	38.3	70
Oral kontraseptif Kullanımı	Evet	20	8.6	8	40	8.8
	Hayır	212	91.3	83	39.1	91.2
Hormon replasman Tedavisi	Evet	12	5.2	3	25	3
	Hayır	220	94.8	88	40	97
Rahim içi araç kullanımı	Evet	50	21.6	19	38	20.9
	Hayır	182	78.4	72	39.6	79.1

Toplam 232 kadında HPV pozitifliği %39.2 olup %16'sında tek (37) ve %23.2'sinde (54) çoklu HPV enfeksiyonu tespit edildi.

Normal sitolojiye sahip 200 kadından %33'ünde (66) HPV enfeksiyonu olup %11.5'inde (23) tek ve %21.5'inde (43) çoklu HPV enfeksiyonu gözlemlendi. Anormal sitolojili 32 kadından %78'i (25) HPV pozitif olup %43.7'sinde (14) tek ve %34.3'ünde (11) çoklu HPV enfeksiyonu bulundu.

Normal sitolojili 200 kadından çoklu HPV enfeksiyonu olanların çoğu %8.5'i 40-49 yaş arasında olup %7'si 50-65 yaş, %5.5'i 30-39 yaş ve %0.5'i 20-29 yaş grubunda yer aldı.

Anormal sitolojili 32 kadından çoklu HPV enfeksiyonu olanların %12.5'i 40-49 yaş grubunda olup %9.3'ü 30-39 yaş, %9.3'ü 50-65 yaş ve %3.1'i 20-29 yaş arasında bulundu. (Tablo 4.5)

Tablo 4.5. Normal ve anormal sitolojili kadınlarda tek veya çoklu HPV enfeksiyon prevalansının yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Normal sitoloji (200)						Anormal sitoloji (32)					
	Tek HPV enfeksiyonu		Çoklu HPV enfeksiyonu		Toplam		Tek HPV enfeksiyonu		Çoklu HPV enfeksiyon		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
20-29	-	-	1	0.5	1	0.5	1	3.1	1	3.1	2	6.2
30-39	5	2.5	11	5.5	16	8	4	12.5	3	9.3	7	21.8
40-49	14	7	17	8.5	31	15.5	4	12.5	4	12.5	8	25
50-65	4	2	14	7	18	9	5	15.6	3	9.3	8	25
Toplam	23	11.5	43	21.5	66	33	14	43.7	11	34.3	25	78

HPV pozitif bulunan 91 kadından 37'sinde (%40.7) enfeksiyona sebep olan tek bir HPV tipi, 54'ünde (%59.3) ise çoklu HPV tipleri saptandı. Tek HPV enfeksiyonunun %1.1'inin 20-29 yaş, %8.8'inin 30-39 yaş, %20.9'unun 40-49 yaş ve %9.9'unun 50-65 yaş grubunda olduğu gözlemlendi. Çoklu HPV enfeksiyonu olanlar sırasıyla %21.9'u 40-49 yaş, %2.2'si 20-29 yaş, %16.5'i 30-39 yaş ve %18.7'si 50-65 yaş grubunda tespit edildi. (Tablo 4.6)

Anormal sitolojili HPV pozitif 66 kadından 43'ü (%65.1) ve normal sitolojili HPV pozitif 25 kadından 11'inde (%44) çoklu HPV tipi bulundu.

Tablo 4. 6. HPV pozitif 91 kadında tek veya çoklu enfeksiyonların yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Tek HPV enfeksiyonu		Çoklu HPV enfeksiyonu		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
20-29	1	1.1	2	2.2	3	3.3
30-39	8	8.8	15	16.5	23	25.3
40-49	19	20.9	20	21.9	39	42.8
50-65	9	9.9	17	18.7	26	28.6
Toplam	37	40.7	54	59.3	91	100

Toplam 232 kadında en yaygın HPV tipleri sırasıyla HPV16 %21.1, HPV31 %12.9, HPV18 %10.3, HPV52 %7.7, HPV45 %6, HPV39 %3.4, HPV56 %2.6, HPV66 %2.6, HPV33 %1.7, HPV51 %1.7, HPV59 %1.7, HPV35 %1.3, HPV58 %1.3 ve HPV68 %0.9 oranlarında tespit edilmiştir.

Normal sitolojili 200 kadında en yüksek oranda HPV16 (%18) bulunmuş olup ardından HPV31 (%13.5), HPV18 (%8.5), HPV52 (%6) ve HPV45 (%4.5) izledi.

Anormal sitolojili kadınlarda en baskın ilk beş HPV tipi HPV16 (%40.6), HPV18 (%21.8), HPV52 (%18.7), HPV45 (%15.6) ve HPV56 (%12.5) bulundu. Normal sitolojili kadınlarda 2. sırada bulunan HPV31 ise %9.3 oranla 6. sırada tespit edildi. (Tablo 4.7)

Tablo 4.7. Normal ve anormal sitolojili 232 kadında HPV tiplerinin prevalansı

HPV tipleri		16	18	31	33	35	39	45	51	52	56	58	59	66	68
Normal sitoloji 200	Sayı	36	17	27	4	1	6	9	4	12	2	3	2	4	1
	%	18	8.5	13.5	2	0.5	3	4.5	2	6	1	1.5	1	2	0.5
Anormal sitoloji 32	Sayı	13	7	3	-	2	2	5	-	6	4	-	2	2	1
	%	40.6	21.8	9.3	-	6.2	6.2	15.6	-	18.7	12.5	-	6.2	6.2	3.1
Toplam 232	Sayı	49	24	30	4	3	8	14	4	18	6	3	4	6	2
	%	21.1	10.3	12.9	1.7	1.3	3.4	6	1.7	7.7	2.6	1.3	1.7	2.6	0.9

HPV enfeksiyonu olan 91 kadında tek ve çoklu HPV enfeksiyon sebebi olarak toplam 175 HPV genotipi tespit edildi. HPV pozitif olan 91 kadında HPV genotiplerinin dağılımına bakıldığında sırasıyla HPV16 %53.8 (49), HPV31 %33 (30), HPV18 %26.4

(24), HPV52 %19.8 (18), HPV45 %15.4 (14), HPV39 %8.8 (8), HPV56 %6.6 (6), HPV66 %6.6 (6), HPV33 %4.4 (4), HPV51 %4.4 (4), HPV59 %4.4 (4), HPV35 %3.3 (3), HPV58 %3.3 (3) ve HPV68 %2.2 (2) oranlarında tespit edildi.

Normal sitoloji ve anormal sitolojilide HPV pozitif kadınlarda HPV16 sırasıyla %54.5 ve %52 oranlarla en baskın HPV tipi olarak tespit edilmiştir. Normal sitolojili grupta HPV16'yı sırasıyla HPV31 (%40.9), HPV18 (%25.7), HPV52 (%18.2), HPV45 (%13.6) ve HPV39 (%9) izledi. Anormal sitolojili grupta ise HPV16'nın ardından sırasıyla HPV18 (%28), HPV52 (%24), HPV45 (%20), HPV56 (%16) ve HPV31 (%12) tespit edildi. (Tablo 4.8)

Tablo 4.8. HPV enfeksiyonu olan 91 kadında HPV tiplerinin prevalansı

HPV tipleri		16	18	31	33	35	39	45	51	52	56	58	59	66	68
Normal sitoloji 66	Sayı	36	17	27	4	1	6	9	4	12	2	3	2	4	1
	%	54.5	25.7	40.9	6	1.5	9	13.6	6	18.2	3	4.5	3	6	1.5
Anormal sitoloji 25	Sayı	13	7	3	-	2	2	5	-	6	4	-	2	2	1
	%	52	28	12	-	8	8	20	-	24	16	-	8	8	4
Toplam	Sayı	49	24	30	4	3	8	14	4	18	6	3	4	6	2
	%	53.8	26.4	33	4.4	3.3	8.8	15.4	4.4	19.8	6.6	3.3	4.4	6.6	2.2

HPV pozitif 91 kadında genotiplerin yaş grubuna göre dağılımına bakıldığında, HPV16 pozitif kadınların %19.8 oranla en çok 40-49 yaş grubunda, HPV18 ve HPV31 tiplerinin de en fazla sırasıyla % 12.1 ve %15.4 oranlarla aynı yaş grubunda yer aldığı belirlendi. (Tablo 4.9)

Tablo 4.9. HPV pozitif bulunan 91 kadında HPV tiplerinin yaşa göre dağılımı

HPV tipleri	20-29 yaş (3)		30-39 yaş (23)		40-49 yaş (39)		50-65 yaş (26)		Toplam (91)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
HPV 16	2	2.2	15	16.4	18	19.8	14	15.4	49	53.8
HPV 18	1	1.1	4	4.4	11	12.1	8	8.8	24	26.4
HPV 31	1	1.1	4	4.4	14	15.4	11	12.1	30	33
HPV 33	-		2	2.2	1	1.1	1	1.1	4	4.4
HPV 35	-		1	1.1	-		2	2.2	3	3.3
HPV 39	1	1.1	3	3.3	3	3.3	1	1.1	8	8.8
HPV 45	1	1.1	3	3.3	5	5.5	5	5.5	14	15.4
HPV 51	-		2	2.2	2	2.2	-		4	4.4
HPV 52	1	1.1	4	4.4	5	5.5	8	8.8	18	19.8
HPV 56	1	1.1	4	4.4	1	1.1	-		6	6.6
HPV 58	-		1	1.1	1	1.1	1	1.1	3	3.3
HPV 59	1	1.1	-		1	1.1	2	2.2	4	4.4
HPV 66	1	1.1	2	2.2	3	3.3	-		6	6.6
HPV 68	1	1.1	1	1.1	-		-		2	2.2

Normal sitolojili 200 kadında tip spesifik HPV prevalansının yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde HPV16, HPV18, HPV31, HPV45 ve HPV66 sırasıyla en çok 40-49 yaş grubunda %7, %4.5, %6.5 , %2.5 ve %1.5 oranlarında, HPV33 %1, HPV39 %1.5 ve HPV56 %1 oranla en çok 30-39 yaş grubunda ve HPV52 %3 oranla en sık 50-65 yaş grubunda bulundu. (Tablo 4.10)

Tablo 4.10. Normal sitolojili 200 kadında HPV tiplerinin yaşa göre dağılımı

HPV tipleri	20-29 yaş (16)		30-39 yaş (50)		40-49 yaş (78)		50-65 yaş (56)		Toplam (200)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
HPV 16	1	0.5	10	5	14	7	11	5.5	36	18
HPV 18	1	0.5	2	1	9	4.5	5	2.5	17	8.5
HPV 31	-		4	2	13	6.5	10	5	27	13.5
HPV 33	-		2	1	1	0.5	1	0.5	4	2
HPV 35	-		-		-	-	1	0.5	1	0.5
HPV 39	-		3	1.5	2	1	1	0.5	6	3
HPV 45	-		1	0.5	5	2.5	3	1.5	9	4.5
HPV 51	-		2	1	2	1	-	-	4	2
HPV 52	-		4	2	2	1	6	3	12	6
HPV 56	-		2	1	-	-	-	-	2	1
HPV 58	-		1	0.5	1	0.5	1	0.5	3	1.5
HPV 59	-		-	-	-	-	2	1	2	1
HPV 66	-		1	0.5	3	1.5	-	-	4	2
HPV 68	-		1	0.5	-	-	-	-	1	0.5

HPV pozitif normal sitolojili 66 kadında HPV tiplerinin prevalansının yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde HPV16, HPV18, HPV31, HPV45 ve HPV66 sırasıyla en çok 40-49 yaş grubunda %21.2, %13.6, %19.7, %7.6 ve %4.5 oranlarında bulundu. HPV33 %3, HPV39 %4.5 ve HPV56 %3 oranla en çok 30-39 yaş grubunda ve HPV52 %9.1 oranla en fazla 50-65 yaş grubunda tespit edildi. (Tablo 4.11)

Tablo 4.11. HPV pozitif bulunan normal sitolojili 66 kadında HPV tiplerinin yaşa göre dağılımı

HPV tipleri	20-29 yaş (1)		30-39 yaş (16)		40-49 yaş (31)		50-65 yaş (18)		Toplam (66)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
HPV 16	1	1.5	10	15.1	14	21.2	11	16.7	36	54.5
HPV 18	1	1.5	2	3	9	13.6	5	7.6	17	25.7
HPV 31	-		4	6.1	13	19.7	10	15.1	27	40.9
HPV 33	-		2	3	1	1.5	1	1.5	4	6
HPV 35	-		-		-	-	1	1.5	1	1.5
HPV 39	-	-	3	4.5	2	3	1	1.5	6	9
HPV 45	-		1	1.5	5	7.6	3	4.5	9	13.6
HPV 51	-		2	3	2	3	-	-	4	6
HPV 52	-		4	6.1	2	3	6	9.1	12	18.2
HPV 56	-		2	3	-	-	-	-	2	3
HPV 58	-		1	1.5	1	1.5	1	1.5	3	4.5
HPV 59	-		-	-	-	-	2	3	2	3
HPV 66	-		1	1.5	3	4.5	-	-	4	6
HPV 68	-		1	1.5	-	-	-	-	1	1.5

Toplam 32 anormal sitolojili kadında tip spesifik HPV prevalansı HPV16 için %40.6 (13) olup yaşa göre dağılımı analiz edildiğinde %15.6 oranla en çok 30-39 yaş grubunda bulunduğu ve HPV56'nın %6.2 oranla yine en çok 30-39 yaş grubunda olduğu belirlendi. HPV18 %9.3 ile en çok 50-65 yaş ve HPV52 %9.3 oranla 40-49 yaş grubunda yer aldı. HPV45 hem 30-39 yaş hem de 50-65 yaş grubunda %6.2 ile yüksek oranda bulundu. (Tablo 4.12)

Tablo 4.12. Anormal sitolojili 32 kadında HPV tiplerinin yaşa göre dağılımı

HPV tipleri	20-29 yaş (3)		30-39 yaş (9)		40-49 yaş (11)		50-65 yaş (9)		Toplam (32)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
HPV 16	1	3.1	5	15.6	4	12.5	3	9.3	13	40.6
HPV 18	-	-	2	6.2	2	6.2	3	9.3	7	21.8
HPV 31	1	3.1	-	-	1	3.1	1	3.1	3	9.3
HPV 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HPV 35	-	-	1	3.1	-	-	1	3.1	2	6.2
HPV 39	1	3.1	-	-	1	3.1	-	-	2	6.2
HPV 45	1	3.1	2	6.2	-	-	2	6.2	5	15.6
HPV 51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HPV 52	1	3.1	-	-	3	9.3	2	6.2	6	18.7
HPV 56	1	3.1	2	6.2	1	3.1	-	-	4	12.5
HPV 58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HPV 59	1	3.1	-	-	1	3.1	-	-	2	6.2
HPV 66	1	3.1	1	3.1	-	-	-	-	2	6.2
HPV 68	1	3.1	-	-	-	-	-	-	1	3.1

HPV pozitif 25 anormal sitolojili kadında tip spesifik HPV prevalansı yaşa göre dağılımı analiz edildiğinde HPV16'nın %20 ve HPV56'nın %8 oranla en çok 30-39 yaş grubunda olduğu gözlenmiştir. HPV18 %12 ile en çok 50-65 yaş ve HPV52 %12 oranla 40-49 yaş grubunda yer aldı. HPV45 hem 30-39 yaş hem de 50-65 yaş grubunda %8 ile yüksek oranda bulundu. (Tablo 4.13)

Tablo 4.13. HPV pozitif bulunan anormal sitolojili 25 kadında HPV tiplerinin yaşa göre dağılımı

HPV tipleri	20-29 yaş (2)		30-39 yaş (7)		40-49 yaş (8)		50-65 yaş (8)		Toplam (25)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
HPV 16	1	4	5	20	4	16	3	12	13	52
HPV 18	-	-	2	8	2	8	3	12	7	28
HPV 31	1	4	-	-	1	4	1	4	3	12
HPV 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HPV 35	-	-	1	4	-	-	1	4	2	8
HPV 39	1	4	-	-	1	4	-	-	2	8
HPV 45	1	4	2	8	-	-	2	8	5	20
HPV 51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HPV 52	1	4	-	-	3	12	2	8	6	24
HPV 56	1	4	2	8	1	4	-	-	4	16
HPV 58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HPV 59	1	4	-	-	1	4	-	-	2	8
HPV 66	1	4	1	4	-	-	-	-	1	4
HPV 68	1	4	-	-	-	-	-	-	1	4

Normal servikal sitolojili 200 kadından 66'sı (%33) HPV DNA pozitif bulundu. Normal sitolojili 200 kadından %11.5'inde (23) tekli, %15'inde (30) ikili ve %6.5'inde (13) üç ve üzeri çoklu HPV enfeksiyonu bulundu. Tek HPV enfeksiyonu en çok 8 (%4) kadında görülen HPV16 tipi olup ardından 6 (%3) kadında bulunan HPV31 izledi. İkili HPV enfeksiyonu en çok 8 kadında (%4) HPV16 ve HPV31 birlikteliği şeklinde gözlemlendi. İkinci sırada kadınların 6'sında (%3) HPV16 ve HPV52 koenfeksiyonu tespit edildi. Üçlü enfeksiyon en çok 4 kadında (%2) HPV16, HPV18 ve HPV31 genotipleri olarak bulundu. (Tablo 4.14)

Tablo 4.14. Normal sitolojili 200 kadında HPV genotiplerinin dağılımı

Sitoloji Sonucu	HPV pozitif	
	Sayı	%
Normal sitoloji (200)	Tekli HPV 23	11.5
	8 (HPV 16)	4
	6 (HPV 31)	3
	2 (HPV 18)	1
	2 (HPV 39)	1
	2 (HPV 66)	1
	1 (HPV 45)	0.5
	1 (HPV 51)	0.5
	1 (HPV 52)	0.5
	İkili HPV 30	15
	8 (HPV 16+31)	4
	6 (HPV 16+52)	3
	3 (HPV 16+18)	1.5
	3 (HPV 18+45)	1.5
	1 (HPV 16+45)	0.5
	1 (HPV 18+58)	0.5
	1 (HPV 18+31)	0.5
	1 (HPV 31+56)	0.5
	1 (HPV 31+39)	0.5
	1 (HPV 33+39)	0.5
	1 (HPV 33+68)	0.5
	1 (HPV 39+51)	0.5
	1 (HPV 45+51)	0.5
	1 (HPV 45+52)	0.5
	≥Üçlü HPV 13	6.5
	4 (HPV 16+18+31)	2
	1 (HPV 16+18+45)	0.5
	1 (HPV 16+31+33)	0.5
	1 (HPV 16+52+66)	0.5
	1 (HPV 18+31+58)	0.5
	1 (HPV 31+52+59)	0.5
	1 (HPV 39+51+66)	0.5
	1 (HPV 16+31+52+56+58)	0.5
	1 (HPV 16+18+31+35+52)	0.5
	1 (HPV 16+31+33+45+59)	0.5
Toplam	66	33

Anormal sitolojili 32 kadından 14'ü (%43.8) ASC-US, 7'si (%21.8) LSIL, 3'ü (%9.3) HSIL, 1'i (%3.1) ASC-H tanılı olup toplam 25'inde (%78) HPV DNA pozitif bulundu. ASC-US olan 20 kadının 14'ünde (%70), LSIL olan 8 kadının 7'ünde (%87.5), HSIL olan 3 kadının 3'ünde (%100) ve ASC-H olan 1'inde (%100) HPV pozitif. ASC-US tanılı HPV pozitif olanların 9'unda (%28.1) tek HPV enfeksiyonu olup 5'inde (%15.6) HPV16 tespit edildi. LSIL tanılı 7 (%21.8) kadından 3'ünde (%9.3) tekli ve 4'ünde (%12.5) çoklu HPV enfeksiyonu tespit edildi. (Tablo 4.15)

Tablo 4.15. Anormal sitolojili 32 kadında HPV genotiplerinin dağılımı

Anormal sitoloji	HPV pozitif	
	Sayı	%
ASC-US (20)	14	43.8
	5 (HPV 16)	15.6
	2 (HPV 52)	6.2
	1 (HPV 31)	3.1
	1 (HPV 45)	3.1
	1 (HPV 16+18)	3.1
	1 (HPV 18+59)	3.1
	1 (HPV 18+45)	3.1
	1 (HPV 18+39+56)	3.1
	1 (HPV 16+18+31)	3.1
LSIL (8)	7	21.8
	1 (HPV 16)	3.1
	1 (HPV 18)	3.1
	1 (HPV 45)	3.1
	1 (HPV 16+52)	3.1
	1 (HPV 16+18+56)	3.1
	1 (HPV 35+45+56+66)	3.1
	1 (HPV 31+39+45+52+56+59+66+68)	3.1
HSIL (3)	3	9.3
	1 (HPV 16)	3.1
	1 (HPV 53)	3.1
	1 (HPV 16 +52)	3.1
ASC-H (1)	1	3.1
	1 (HPV 16 + 52)	3.1
Toplam	25	78

Normal sitolojili olup HPV pozitif 66 kadında HPV16 %54.5 oranla en yaygın tip olup bunu HPV31 %40.9, HPV18 %25.7, HPV52 %18.2, HPV45 %13.6 ve HPV39 %9 oranla izledi. HPV33, HPV51 ve HPV66 her biri %6, HPV58 %4.5, HPV56 ve HPV59 her biri %3, HPV35 ve HPV68 her biri %1.5 oranlarında bulundu. Anormal sitoloji tanısı konan 32 kadından 25'inde (%78) HPV enfeksiyonu tespit edilmiştir. Anormal sitolojili HPV pozitif 25 kadında en baskın HPV tipi %52 oranla HPV16 olup bunu sırasıyla HPV18 %28, HPV52 %24, HPV45 %20, HPV56 %16, HPV31 %12, HPV35, HPV39, HPV59 ve HPV66 her biri %8 ve HPV68 %4 oranlarında izlemiştir. ASC-US grubunda %50 ile en baskın tip HPV16 iken LSIL grubunda her biri %42.8 oranla HPV16, HPV45 ve HPV56 ve HSIL tanılı olanlarda HPV16 (%66.6) ve ASC-H'lı tek kadında ise HPV16 (%100) ve HPV52 (%100) bulundu. (Tablo 4.16)

Tablo 4.16. HPV pozitif normal ve anormal sitolojili kadında HPV genotiplerinin dağılımı

HPV tipleri	Normal sitoloji (66)		Anormal sitoloji (25)		ASC-US (14)		LSIL (7)		HSIL (3)		ASC-H (1)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
HPV 16	36	54.5	13	52	7	50	3	42.8	2	66.6	1	100
HPV 18	17	25.7	7	28	5	35.7	2	28.6				
HPV 31	27	40.9	3	12	2	14.3	1	14.3				
HPV 33	4	6										
HPV 35	1	1.5	2	8			1	14.3	1	33.3		
HPV 45	9	13.6	5	20	2	14.3	3	42.8				
HPV 39	6	9	2	8	1	7.1	1	14.3				
HPV 51	4	6										
HPV 52	12	18.2	6	24	2	14.3	2	28.6	1	33.3	1	100
HPV 56	2	3	4	16	1	7.1	3	42.8				
HPV 58	3	4.5										
HPV 59	2	3	2	8	1	7.1	1	14.3				
HPV 66	4	6	2	8			2	28.6				
HPV 68	1	1.5	1	4			1	14.3				

5. TARTIŞMA

Servikal kanser dünya genelinde meme, kolorektal ve akciğer kanserinden sonra en sık görülen dördüncü kanser olup, kadınlar arasında en yaygın kanserlerden biri olmaya devam etmektedir. GLOBOCAN 2020, bütün dünyada yılda 342 000 ölümle birlikte yaklaşık 604 000 yeni servikal kanser vakası olduğunu bildirmiştir. Yeni vakaların ve ölümlerin çoğu, sırasıyla yaklaşık %85 ve %90 oranlarla düşük ve orta gelirli ülkelerde meydana gelmektedir⁽⁶¹⁾.

Servikal kanser, yaklaşık 15 yüksek riskli HPV tipinden biri ile kalıcı enfeksiyonunun nadir görülen uzun vadeli bir sonucudur. Tip spesifik HPV DNA varlığının 6-12 ay sonra alınan örneklemede tekrar bulunması kalıcı HPV enfeksiyonunu gösterir. Kadınların %80'inden fazlası hayatlarında en az bir HR HPV enfeksiyonu geçirir, bu da HPV'nin her yerde bulunan doğasını ve bulaşma kolaylığını gösterir. Bununla birlikte, tüm enfeksiyonların sadece onda biri kalıcı hale gelir ve bu kadınlarda servikal prekanseröz lezyonlar gelişebilir.

FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics; Uluslararası Jinekoloji ve Doğum Federasyonu) Kanser Raporu'nun 2018 yayınlanmasından bu yana, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2030 yılına kadar uygulamayı hedefleyen servikal kanserin ortadan kaldırılması için küresel bir strateji ortaya koymasıyla servikal kanser yükünü azaltmak için küresel çabada dev adımlar atıldı. Düşük ve orta gelirli ülkeler dahil 130'dan fazla ülkede HPV aşısı artık ulusal programa dahil edilmiştir. Tarama, HPV testinin daha geniş uygulanmasıyla büyük ilerlemeler kaydetti. Bu müdahalelerin etkilerini göstermesi birkaç yıl alacaktır. Bu arada, her yıl yarım milyondan fazla yeni servikal kanser vakası eklenmektedir. Bütün dünyada her yıl tahmini 604 000 yeni servikal kanser vakasından HPV16 ve HPV18 vakalarının %71'ini oluşturmaktadır; HPV tipleri 31, 33, 45, 52 ve 58, servikal kanser vakalarının diğer %19'unu oluşturur. HPV enfeksiyonlarının yaklaşık %90'ının enfeksiyon bulaşmasından sonraki 2 yıllık bir süre içinde temizlendiği ve kadınların sadece %10'unda persiste kaldığı gözlenmiştir. Virusun tamamen temizlenip temizlenmediği veya bazı durumlarda reaktivasyon potansiyeli olan bazal hücrelerde latent kalıp kalmadığı tartışmalıdır^(61,62,63).

HPV epidemiyolojisi ve kanserin etyolojisindeki rolünün bilinmesi, korunma ve erken tanı için iki ana stratejinin geliştirilmesine yol açmıştır: (1) HPV aşılması; ve (2) kanser öncesi lezyonların taranması. Servikal kanserin ortadan kaldırılması gerçek bir olasılık olmasına rağmen, trajedi bugün bile birçok düşük ve orta gelirli ülkelerin etkili müdahale programlarından yoksun olmasıdır. Dünya Sağlık Örgütü, 2030 yılından önce %90-%70-%90 üçlü önlem stratejisini uygulayarak servikal kanserin bir halk sağlığı sorunu olarak ortadan kaldırılması için küresel bir girişim çağrısında bulunmuştur; genç kızların %90'ının 15 yaşına kadar iki doz HPV aşısı ile tam olarak aşılması, kadınların %70'inin 35 ve 45 yaşlarında yüksek performanslı bir tarama testiyle taranması ve kadınların %90'ının tedavi ve bakım almak için servikal lezyonların tespit edilmesi beklenir.

DSÖ, pragmatik eliminasyon için 100.000 kadın başına dört vakalık bir insidans eşiği belirlemiştir. Yüksek gelirli ülkeler yukarıdaki politikanın uygulanmasında halihazırda oldukça ilerlemiş olsalar da, düşük ve orta gelirli ülkelerdeki deneyim oldukça değişkendir.

Servikal kanserin kontrolü, primer korunma HPV'ye karşı aşılama, ikincil korunma kanser öncesi lezyonların taranması ve tedavisini içerir. Sağlıklı 30 yaş üstü kadınlar arasında dünya çapında tahmini kesitsel HPV prevalansı yaklaşık %11.7'dir, en yüksek Sahra Altı Afrika'da yaklaşık %24 ve ülkeye özgü prevalans bütün dünyada %2 ile %42 arasında değişmektedir. Yaşa özel kesitsel HPV prevalansı 25 yaşından küçük kadınlarda %25'te pik düzeye ulaşır, bu da enfeksiyonun ağırlıklı olarak cinsel ilişkiye girdikten sonra cinsel yolla bulaştığını düşündürür. Bu nedenle, önleyici bir strateji olarak profilaktik HPV aşısı, cinsel aktiviteye başlamadan önce kadınları hedef almalı ve 10-14 yaş arası kız çocuklara odaklanmalıdır.

HPV aşısı 2006'da başlatıldı. HR HPV tiplerinin neden olduğu serviks, vulva, vajina ve anusu etkileyen premalign lezyonların ve kanserlerin önlenmesi için 9 yaşından itibaren kadınlarda ve erkeklerde kullanılmak üzere şu anda üç profilaktik HPV aşısı mevcuttur: HPV 16 ve HPV 18'i hedefleyen iki değerlikli aşı; HPV 16 ve HPV 18'e ek olarak HPV 6 ve HPV 11'i hedefleyen dört değerlikli bir aşı; ve HPV 6, 11, 16 ve 18'e ek olarak HPV tip 31, 33, 45, 52 ve 58'i hedefleyen bir nonvalan aşı. Ek olarak, son iki aşı HPV 6 ve 11'in neden olduğu anogenital siğilleri hedef alır. Bivalan HPV aşısı (Cecolin; Xiamen Innovax Biotech Co., Ltd) Çin'de ruhsatlandırılmıştır ve şu

anda WHO ön yeterlilik sürecinden geçmektedir. Tüm aşılar virus benzeri partiküllerden oluşan rekombinant aşılar ve viral DNA içermediğinden bulaşıcı değildir. İki dozlu bir program (0 ve 6-12 aylarda 0,5 mL, yani ikinci doz ilk dozdan 6-12 ay sonra verilmelidir) 9-14 yaş arası kız ve erkek çocuklar için önerilir. Üç doz (üreticinin tavsiyesine göre 0, 1-2 ve 6 ayda 0,5 mL) 15 yaş ve üzerindeki ve yaştan bağımsız olarak bağışıklığı baskılanmış hastalara uygulanmalıdır. DSÖ en son verileri gözden geçirmiş ve HPV aşılarıyla ilgili herhangi bir güvenlik endişesi bulunmadığı sonucuna varmıştır^(63,64).

Toplum düzeyinde, genç kadınlar arasında aşı HR HPV tiplerinin neden olduğu, anogenital siğiller ve yüksek dereceli servikal anormallikler (CIN2+) prevalansının azalması açısından aşı dışı tiplere karşı da çapraz koruma olduğuna dair bazı kanıtlarla birlikte HPV aşısının etkinliğine dair kanıtlar vardır. Aşılamadan 8 yıl sonrasına kadar takip edilen 60 milyon kişiyi kapsayan yeni bir sistematik inceleme ve meta-analiz, aşılamadan 5-8 yıl sonra aşağıdaki sonuçların önemli ölçüde düştüğünü göstermiştir: (1) 13-19 yaşındaki kızlarda HPV 16 ve 18 prevalansı %83 ve 20-24 yaşındaki kadınlarda %66; (2) 13-19 yaş arası kızlarda HPV 31, 33 ve 45 prevalansı %54; (3) anogenital siğillerin prevalansı 15-19 yaş arası kızlarda %67, 20-24 yaş arası kadınlarda %54 ve 25-29 yaş arası kadınlarda %31'dir. CIN2+, 15-19 yaş arası taranan kızlarda %51 ve 20-24 yaş arası kadınlarda %31'dir. Çoklu kohort aşılama ve yüksek aşılama kapsamına sahip programların daha büyük bir doğrudan etkisi ve sürü bağışıklığı (toplum bağışıklığı) etkisi vardı. HPV aşısının invaziv servikal kanser riskini önemli ölçüde azaltma üzerindeki etkisi, 2006'dan 2017'ye kadar 10-30 yaşları arasındaki 1 672 983 kız ve kadının İsveç'te yapılan bir takip değerlendirmesinde de gösterilmiştir. Servikal kanser sadece 19 aşıli kadında ve 538 aşısız kadında tespit edilmiştir^(63,65).

Son çalışmalar, üç veya iki doza benzer şekilde yüksek riskli HPV enfeksiyonlarını önlemede tek bir dozun etkinliğine dair kanıtlar bildirmiştir. Tek doz HPV aşısının etkinliğini ve immunojenitesini şu anda kullanılan programlara kıyasla değerlendiren, amaca yönelik olarak tasarlanmış, ileriye dönük olarak randomize klinik çalışmalardan elde edilen sonuçlar beklenmektedir; bu, bir dozun servikal neoplaziyi önlemedeki rolünü daha da netleştirecektir. Aşılamadan sonra tip değişimine dair bir kanıt yoktur.

Aşılama yapılmadığında global servikal kanser yükünün 2005-2014 doğum kohortları arasında doğan genç kızlar arasında küresel 2094 yılına kadar 11,6 milyon vaka olacağı tahmin edilmektedir. Bu yükün beşte dördü Afrika'daki 25 ülkede (5,6 milyon vaka) ve Hindistan, Nijerya, Çin, Tanzanya, Endonezya, Uganda, Demokratik Kongo Cumhuriyeti, Etiyopya ve Kenya'daki doğum kohortlarını etkileyen bir yaşam boyu 5,9 milyon servikal kanser vakasının toplam beklenen yükünün %51.3'ü ile Asya'da (4,5 milyon vaka) olacaktır. Toplam yükün %24.2'sine tekabül eden 2,8 milyon vaka daha, çoğunlukla Sahra Altı Afrika'da (Güney Afrika, Malavi, Zambiya, Mozambik, Angola, Zimbabve, Madagaskar, Mali, Gana ve Burkina Faso); Asya (Pakistan, Bangladeş ve Filipinler); Amerika Kıtası (Brezilya, Meksika ve ABD); ve Rusya'da olmak üzere 17 ülkede olacaktır. Aşılanmamış doğum kohortlarında kalan %24.5'in (2,8 milyon vaka) kalan 159 ülkede meydana gelmesi beklenmektedir. Bütün dünyada yüksek kapsamlı HPV aşısının 2094 yılına kadar yaklaşık 8,7 milyon vakayı önleyebileceği tahmin edilmektedir ⁽⁶³⁾.

Tarama, servikal kanserin küresel eliminasyonunda önemli bir stratejidir. HPV aşısı, HPV enfeksiyonunu önleyerek servikal neoplaziyi önlemeyi amaçlarken, tarama, yüksek dereceli CIN ve adenokarsinom gibi yaygın servikal prekanseröz lezyonları yerinde erken tespit etmeyi ve invaziv kanseri önlemek ve servikal kanser ölüm oranlarını azaltmak için bunları etkili bir şekilde tedavi etmeyi amaçlar. Bu nedenle, birkaç on yıl boyunca servikal kanserin önlenmesi için bir öncelik olmaya devam edecektir.

Çeşitli ortamlarda çeşitli servikal tarama stratejileri etkili bir şekilde kullanılmıştır: geleneksel sitoloji (Pap smear); son yıllarda sıvı bazlı sitoloji (LBC) ve HPV testi; ve düşük ve orta gelirli ülkelerde asetik asit (VIA) ile görsel inceleme. Düzenli aralıklarla Pap testi ile tarama yüksek gelirli ülkelerde servikal kanser riskinde önemli bir düşüşle sonuçlanmış olsa da, yorucu ve zaman alıcı olup düşük sensitivitesini telafi etmek için tekrarlanan turlara ihtiyaç duyar. Yetersiz kapsamın olduğu ve kalite güvencesinin olmadığı düşük kaynaklı ortamlarda uygulanabilir değildir ve optimal olmayan sonuçlara yol açar. HPV tabanlı tarama, geleneksel veya LBC ile karşılaştırıldığında daha yüksek sensitivite, daha düşük değişkenlik ve daha iyi tekrarlanabilirliğe sahiptir. Aşılanmış popülasyonlarda azalan HPV enfeksiyonları bağlamında, birçok sağlık hizmeti sistemi, daha yüksek negatif

tahmin değeri, daha uzun tarama aralıklarına ve hatta düşük kaynaklı ortamlarda yaşam boyu tek bir taramaya izin veren primer HPV taramasına geçilmektedir. Yakın tarihli Avrupa kılavuzları, standart sitoloji tabanlı tarama yerine birincil HPV tabanlı taramayı şiddetle tavsiye etmektedir. Günümüzde Hollanda, Türkiye, Finlandiya, İtalya, İsveç ve Birleşik Krallık, HPV taramasını ulusal veya bölgesel olarak uygulamaktadır. Avustralya, Arjantin, Şili ve Meksika gibi ülkelerde HPV tabanlı tarama programları uygulamaktadır. Bu, kolposkopi sevk oranlarını artırdı, ancak aynı zamanda CIN3+ lezyonları ve rahim ağzı kanserlerinin daha yüksek tespit oranlarıyla sonuçlandı.

VIA taraması, %3-%5 taze hazırlanmış asetik asit uygulamasından 1 dakika sonra servikste asetobeyaz lezyonların saptanmasını içerir. Uygulanabilirliği göz önüne alındığında, Sahra Altı Afrika'daki birçok düşük gelirli ülkede yaygın olarak uygulanmaktadır. Hızlı tanı ve tedavi ile tarama için tek ziyaret yaklaşımı (single-visit approach; SVA), kapsamı iyileştirir, takip ziyaretlerini ortadan kaldırır ve düşük kaynaklı ortamlarda maliyet verimliliğini artırır. VIA taraması özellikle SVA için uygundur ve WHO, SVA'nın halk sağlığı ortamlarında uygulanması için kılavuzlar yayınlamıştır.

Bir ülkede servikal kanser tarama programının başlatılmasından önce hedef yaş grubunu, tarama testi ve tarama aralıklarını, hedef kadınlara ulaşma yöntemlerini, pozitif kadınların yönetimini (triyaj ve tedavi veya SVA), CIN lezyonları için tedavi yöntemlerini (kriyoterapi, termal ablasyon, loop elektrocerrahi eksizyon prosedürü [LEEP]) ve tarama ile saptanan yaygın rahim ağzı kanserleri için tedavi tipi kriterleri açıkça belirten politika ve yönetim kılavuzları geliştirmelidir. Yeterli altyapının ve eğitilmiş insan kaynaklarının mevcudiyeti, programın çeşitli girdilerini başlatmak ve sürdürmek için kritik öneme sahiptir. Bir veri tabanı tarafından desteklenen bir program bilgi sistemi ve kanser kaydı, ölüm kayıtları ve sağlık sigortası veri tabanları gibi diğer bilgi sistemleriyle bağlantı, izleme ve değerlendirme için önemlidir. Seçilen tarama stratejisi uygulanabilir, basit, güvenli, doğru, kabul edilebilir ve en yüksek riskli kadınlar için kolayca erişilebilir olmalıdır. Bangladeş ve Hindistan'dan yapılan araştırmalarda, birkaç bileşeni organize etmek için doğru yaklaşımın izlenmesinin ve kaliteye gösterilen titizliğin, yalnızca iyi bir tarama testi seçimi değil, bir tarama programının başarısı için çok önemli olduğu gözlemlenmiştir. HPV aşısı ve taramasının

makul bir kombinasyonu, öngörülebilir gelecekte servikal kanseri ortadan kaldırmak için muazzam bir potansiyele sahiptir ^(63,66).

Servikal kanser Türkiye'de kadınlarda görülen kanserler arasında onuncu sırada bulunmaktadır. Servikal kanser insidansı her 100.000 kadında 4 olarak tespit edilmiştir. Türkiye, 30-65 yaş arası kadınlarda servikal kanserin erken tanı ve tedavisi için 2014 yılında başlattığı HPV DNA testini birincil test olarak kullanmasıyla dünyaya örnek olmuştur. HPV DNA testi Kanser Erken Teşhis, Tarama ve Eğitim Merkezi (KETEM) ve Aile Sağlığı Merkezlerinde ücretsiz olarak yapılmaktadır. Türkiye'de rahim ağzı kanseri taramalarının kapsamı %20'dir⁽⁶⁷⁾. Ülkemizde 2014 yılında başlatılan servikal kanser taramasında ilk 1 milyon kişide HPV pozitifliği %3.5 olarak bulunmuştur. En yaygın HPV genotipleri HPV16 (%20.7) olup bunu HPV51, (%10.8), HPV31(%8.7), HPV52 (%7.1), HPV56 (%5.7), HPV39 (%5.5) ve HPV18 (%5.1) izlemiştir⁽⁶⁸⁾. Kayseri'de 2018 yılı boyunca KETEM birimlerinde HPV testi alınan 30-65 yaş arası 28148 kişinin verilerinin taranmasıyla HPV pozitifliği %4.16 bulunmuştur. Bu çalışmada ise en sık HPV tip 16 (%26.8) görülmüştür, ardından HPV51 %13.4, HPV31 %10.1, HPV52 %8.5, HPV68 %8, HPV35 %7.6, HPV56 %6.7, HPV59 %6.2, HPV39 %6.1, HPV58 %5.1, HPV18 %5.7, HPV45 %4.2 ve HPV33 %2.5 oranlarında izlemiştir⁽⁶⁹⁾.

Ülkemizde HPV epidemiyolojisi ile ilgili yapılan araştırmalardan Bakır⁽⁷⁰⁾ ve arkadaşlarının çalışmasında, 2021 yılında İstanbul'da servikal sürüntü örneklerinde HPV genotip dağılımının servikal sitoloji sonuçları ile korelasyonunun değerlendirilmesi ve HPV epidemiyolojisine katkı sağlanması amaçlanmıştır. Çalışmaya 72 kadın hasta dahil edilmiş ve HPV genotiplerinin tespiti için 14 HR HPV tipini tespit edebilen multipleks real-time PCR (RT-PCR) yöntemi HPV Genotypes 14 Real-TM Quant kit (Nuclear Laser Medicine, Italy) kullanılmıştır. Hastaların servikal sitoloji sonuçları da eş zamanlı olarak değerlendirilmiştir. HR HPV prevalansı %35 (25/72) bulunmuş olup en yaygın tipler sırasıyla HPV51 (%10), HPV16 (%8) ve HPV66 (%8) idi. En sık HPV51 tipi ve çoklu HPV tipleri 21-34 yaş grubunda görülmüştür. Servikal sürüntü sitolojik tanısı yapılan 47 örneğin 21'inde HPV DNA tespit edildi. Normal sitolojili 27 örnekten %44'ü (12) ve anormal sitolojili 20 örnekten %45'i (9) HR HPV pozitifdi. HPV DNA pozitif örneklerde en sık görülen sitolojik tanı düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyonlardı. Düşük dereceli skuamöz

intraepitelyal lezyon ve yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon tanısı alan hastalarda en sık görülen HPV tipleri HPV16 ve HPV52 idi. Sonuç olarak çalışmada ülkemizde yapılan diğer çalışmaların raporlarına benzer şekilde yüksek riskli HPV genotiplerinin sıklığı %35 olarak bulunmuştur.

Seneldir⁽⁷¹⁾ ve arkadaşlarının 2019 yılında İstanbul'da normal ve anormal sitolojisi olan 1252 kadında HPV enfeksiyonu prevalansını araştırdıkları çalışmada sıvı bazlı sitoloji testi (ThinPrep Pap Testi) ile servikal kanser taraması yapılmıştır. Anormal sitolojili olgularda (330) refleks yüksek riskli (HR) HPV testi (Cervista HPV HR ve HPV 16/18) kullanılmıştır. Normal sitolojiye sahip 922 olguya HR HPV testi uygulanmıştır. HR HPV, intraepitelyal lezyon veya malignite (NILM) örnekleri için negatif olan kadınların %18.7'sinde ve anormal sitoloji vakalarının %79.7'sinde tespit edilmiştir. HR HPV pozitifliği ASC-US için %72.5, LSIL'da %83.3, HSIL'da %100, ASC-H'da %100 ve LSIL-H'da %87.8 bulunmuştur. HPV tip 16 ve/veya 18, normal sitoloji vakalarının %18.6'sında ve anormal sitoloji vakalarının %35.3'ünde bulunmuştur. HR HPV pozitifliği %34.7 (435/1252) bulunmuş olup 435 HR HPV pozitif örneğin 110'u (%25.3) HPV16, 17'si (%3.9) HPV18 ve 310'u (%71.3) ne tip 16 ne de 18 idi. HPV tip 16 ve/veya 18 prevalansı daha ciddi sitolojik anormallikleri olan vakalarda anlamlı olarak daha yüksekti. Bu çalışmada tanımlanan normal ve anormal sitolojiye sahip kadınlar arasındaki HPV prevalansı, dünyadaki diğer çalışmalarla büyük ölçüde uyumlu bulunmuştur. Çalışmada normal sitoloji olgularında HPV tip 16 ve/veya 18 anlamlı olarak saptandı. Ayrıca, daha önce gösterildiği gibi, belirli HPV genotiplerinin (16/18) daha ciddi patolojilerle ilişkili olduğu gözlenmiştir. Ancak, HPV enfeksiyonunun ülke genelinde doğru prevalansını değerlendirmek için Türkiye'nin farklı bölgelerinde daha geniş epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır.

Demirci⁽⁷²⁾ ve arkadaşları İstanbul'un en büyük özel hastanelerinden birinin Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniklerine 2013-2017 yılları arasında başvuran servikal lezyonu olan ve olmayan kadınlarda HPV prevalansını ve genotip dağılımını belirlemeyi amaçladıkları çalışmada farklı sitolojik bulgulara sahip 2464 kadından servikal sitobrush örnekleri alınarak HPV varlığı ve farklı genotipler araştırılmıştır. Sonuçlar, farklı sitolojik bulgular ve yaşlarda HPV pozitifliğine göre değerlendirilmiştir. Ayrıca HR HPV ve LR HPV genotiplerinin farklı gruplardaki dağılımı araştırılmıştır. Tüm katılımcılar arasında 1925'i (%78.1) normal sitolojili ve

539'u (%21.9) anormal sitolojili olup ASC-US 354 (%14.4) LSIL 151 (%6.1) ve HSIL 34 (%1.4) kadında tespit edilmiştir. Sonuçlar, 2464 hastanın 649'unun (%26.3) HPV pozitif, 1815'inin (%73.7) HPV varlığı açısından negatif olduğunu göstermiştir. HR HPV prevalansı %17 (421/2464)) bulunmuştur. HR HPV tipleri sırasıyla %20 (209/1047) ve %22.2 (232/1047) anormal ve normal sitolojili grupta tespit edilmiştir. HPV pozitif 649 hastadan 223'ü (%34.3) birden fazla genotip için pozitif bulunmuştur. Tek HR HPV enfeksiyon oranı %9.4 (232/2464) ve çoklu HR HPV (HR artı HR/LR; 18 ve 171) enfeksiyon oranı %7.7 (189/2464) iken tek LR HPV enfeksiyon oranı %7.9 (194 /2464) ve çoklu LR HPV enfeksiyon oranı %1.4 (34/2464) bulunmuştur. HR HPV pozitif 421 kadında çoklu HR HPV enfeksiyonu %4.2 (18) idi. Normal stolojili grupta en yaygın HPV16 %1.9, HPV52 %1.1, HPV31 %1 ve HPV18 %0.9 oranında anormal grupta ise HPV16 %6.8, HPV52 %3.7, HPV56 %3.3, HPV68 %3.3, HPV33 %2.9 ve HPV31 %2.8 tespit edilmiştir. HPV 16, ASC-US ve LSIL'de en yaygın HR HPV tipi bulunurken, HSIL'de HPV 18 en yaygın olanıdır. HPV 6, ASC-US ve LSIL'de en yaygın LR-HPV tipi bulunurken, HPV 11 HSIL'de en yaygın olanıydı. Kadınlarda 50 yaş altında olanların %26.9'u ve 50 yaş ve üzeri kadınların %22.3'ü HPV için pozitif idi. Klinik bulgusu olan veya olmayan kadınlarda HPV prevalansı ve genotip dağılımının servikal kanserin önemli bir göstergesi olduğu sonucuna varılmıştır.

Vural⁽⁷³⁾ ve arkadaşlarının 2001-2019 yılları arasında İstanbul'da HPV sıklığı ve genotipleri belirlenmesi ve sitolojik ve patolojik tanımlarla ilişkisinin değerlendirilmesi amacıyla yaptıkları çalışmaya 4879 kadın dahil edilmiştir. Çalışmanın ilk döneminde 2001 ve 2010 yılları arasında, konvansiyonel hibridizasyon ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile HPV 6, 11, 16, 18, 31 ve 33 için 1692 vaka taranmıştır ve ardından 2011 yılından sonra chip array ile 3187 vaka için 49 adede kadar HPV tiplemesi yapılmıştır. Olgular, HPV aşısı öncesi tarama ve sitolojik-histopatolojik değerlendirmelerde kanser öncesi değişiklikler ve koilositlerin gözlenmesi üzerine klinisyenler tarafından patoloji merkezine ve hastane patoloji bölümüne sevk edilmiştir. Bunların 348'i (%7.1) daha önce düşük riskli bir grupta ilişkilendirilmiş olsun ya da olmasın, yüksek risk grubu genotiplerdir. Yüksek riskli HPV tiplerine göre vaka dağılımına bakıldığında en sık görülen tip HPV 16'dır. HPV tipleri sırasıyla HPV16 %41.7, HPV31 %11.7, HPV52 %7.9, HPV51 %7.1, HPV33 %6.9, HPV45 %6.5, HPV18 %6.3, HPV39 %6.1 ve HPV-8 %5.8 oranlarındadır. Ayrıca, yüksek dereceli

skuamöz intraepitelyal lezyon vakalarının %28'inde çoklu enfeksiyonların olduğu bulundu. Sitolojik veya histopatolojik prekanseröz, düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon ve HSIL değişiklikleri olan olgularda HPV sıklığı sırasıyla %38 ve %72 idi. Servikal kanseri olan 10 olgunun 9'unda (%90) HPV tespit edilmiştir. Seride tespit edilen sadece 1 adenokarsinom vakası, HPV tip 18 ve 45 ile ikili enfeksiyon bulunmuştur. Çalışmada bulunan en yaygın tip HPV 16 idi. Bunu sırasıyla 31, 52, 51, 33, 45, 18, 39 ve 58 tipleri takip etmiştir. İkili enfeksiyonlarda en sık görülen birliktelik HPV 16 ile 58 arasındaydı. Ayrıca Türkiye'nin İstanbul ilinde HPV insidansının diğer gelişmiş ülkelerle benzer olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, tarama testlerinin yanı sıra PCR ve chip array çalışmaları yapılarak koruyucu hekimlik ve kondom kullanımının önemi konusunda toplumun bilgilendirilmesi gerektiği belirtilmiştir.

Eren⁽⁷⁴⁾ ve arkadaşları İstanbul'da çalışmasında, prekanseröz servikal lezyonlardaki HPV tiplerinin belirlenmesi ve bunların çeşitli risk faktörleriyle olan ilişkilerinin irdelenmesi amaçlanmıştır. Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne Şubat 2007-Mayıs 2007 tarihleri arasında jinekolojik şikâyetlerle başvuran toplam 61 olgunun Pap sürüntü testi yapılmıştır. Hastalardan alınan servikal örneklerde otomatize Auto-LiPA cihazıyla (Gen ID) revers hibridizasyon yöntemi kullanılarak HPV tiplendirilmesi yapılmıştır. HPV DNA pozitifliği ile yaş, parite sayısı, cinsel aktivite süresi, sigara, oral kontraseptif kullanımı arasındaki ilişki araştırılmıştır. Sitolojisi normal olan olgularda HPV DNA pozitiflik oranı % 36 iken, HSIL tanısında %87.5; LSIL'de %50 ve ASC-US'ta % 11.1 olarak bulunmuştur. HSIL tanısı konulan olgulardaki HPV pozitiflik oranı istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir şekilde yüksek saptanmıştır. En sık saptanan HPV tipleri 16 ve 18 olmuştur. HPV ile sigara kullanımı arasında pozitif bir ilişki saptanırken, cinsel aktivite süresinin artmasıyla HPV pozitifliğinin azaldığı tespit edilmiştir. HPV DNA pozitif olguların yaş ortalamaları negatif olgulara göre daha düşük bulunmuştur. Diğer faktörlerle HPV arasında ise istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmamıştır. Sonuç olarak HPV'nin bazı tiplerinin servikste sitolojik değişikliklerden sorumlu olabileceği görülmüştür. Genel olarak HPV saptama oranının nispeten yüksek ve bunun genç yaşlarda daha fazla olduğu bulunmuştur. Ayrıca sigara kullananlarda HPV DNA daha yüksek oranda saptanmıştır.

Aydoğan⁽⁷⁵⁾ ve arkadaşları Ankara'da 2012-2014 yılları arasında 328 hastaya ait test sonuçları retrospektif olarak analiz edilmiştir. Hastaların sitoloji sonuçları eş

zamanlı olarak patoloji laboratuvarı tarafından retrospektif olarak değerlendirilmiş, gerek duyulan örnekler tekrar incelenerek servikal anormallikler ile HPV varlığı ve genotipler arasındaki ilişkiler ortaya konulmuştur. Servikal örnek alımında Digene HC2 DNA Collection Device kullanılmış ve DNA eldesi QIAamp DNA Mini Kit ile yapılmıştır. DNA örneklerinde yüksek riskli HPV tiplerinin varlığı Genotyping Kit HPV GP kullanılarak araştırılmıştır. Sitolojik değerlendirme konvansiyonel Pap testi ile yapılmış ve sonuçlar 2001 Bethesda Sistemi'ne göre yorumlanmıştır. Hastaların yaş ortancası 36 olup, test sonucu pozitif ve negatif kadınların yaş ortancaları arasında anlamlı fark bulunmamıştır. HR HPV DNA analizi yapılan 328 hastanın 110 tanesinde (%33.5) pozitif sonuç elde edilmiş ve pozitifler arasında %22.7 oranında çoklu tip varlığı bulunmuştur. En sık saptanan tipler HPV16 (%41.8), HPV 51 (%12.7), HPV 18 (%11.8) ve HPV 56 (%10), olarak belirlenmiştir. Diğerleri sırasıyla HPV 31 HPV 58, HPV 59 herbiri % 7.3, HPV 52 (%6.4), HPV 66 (%5.5), HPV 33, HPV 45 herbiri %4.5, HPV 35, HPV 39 herbiri %2.7, HPV 53, HPV 68 herbiri %1.8 ve HPV 82 (%0.9) bulunmuştur. Hastaların 270'inde eş zamanlı sitolojik değerlendirme yapılmış ve %21.5'inde anormal sitoloji saptanmıştır. Anormal sitoloji saptanan hastaların sitolojik bulgulara göre dağılımı; ASC-US %48.3 (28), LSIL %34.5 (20), HSIL %7(4), %7 (4) ASC-H ve AGUS %3.5 (2) oranlarında bulunmuştur. HR HPV pozitifliği ASC-US için %39.3, LSIL için %55, HSIL için %75, ASC-H için %75 ve AGUS için %50'dir. Anormal sitoloji saptanan hastalardaki HR HPV pozitifliği (%50), normal sitolojili hastalardaki HR HPV pozitifliğinden (%28.3) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0.002). Çalışmada HPV16, anormal sitolojili grupta %38, normal sitolojili grupta ise %44 oranında saptanmıştır. Anormal sitolojili olanlarda diğer HR HPV tipleri sırasıyla HPV16 (%38), 18 (%13.8), HPV51 (%13.8), HPV33 (%10.3), HPV56 (%10.3), HPV58 (%10.3), HPV31(%7), HPV45 (%7), HPV53 (%7), HPV59 (%7), HPV66 (%7), HPV68 (%7), HPV35 (%3.5), HPV39 (%3.5) ve HPV52 (%3.5) bulunmuştur. Bu grupta hastaların %34.5'inde 2-4 çoklu HR HPV tipi görülmüştür. Normal sitolojili grupta 212 hastanın 60'ı (%28.3) HR HPV pozitif olarak belirlenmiştir. Kırk dokuz hastada tek HPV enfeksiyonu ve 11 (%18.3) hastada 2-3 çoklu HPV tipi vardı. En çok belirlenen tipler HPV16 (%44), HPV51 (%15.3), HPV56 (%12) ve HPV18 (%10.2) olmuştur. Sonuç olarak servikal kanser tarama programları tüm dünyada hızla önem kazanırken, HPV genotipleme önemli rol üstlenmektedir.

Normal sitolojili hastalarda da HPV 16'nın yüksek oranda saptanması sebebiyle sitolojik incelemenin mutlaka HPV DNA çalışması ile desteklenmesi ve hastaların yakın takibe alınması gerekliliği bildirilmiştir.

Yüce⁽⁷⁶⁾ ve arkadaşları Ankara'da 2012 yılında Üniversite Hastanesi'nde Türk kadınları arasında genotipleme ve eş zamanlı servikal sitoloji ile HPV prevalansını araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada ortalama yaşı 39.5 olan 890 kadında HPV tespiti ve tiplendirmesi için Seeplex HPV 18-plex Genotipleme Testi kullanılmıştır. Pap testi için sıvı bazlı sitoloji ve sonuçlar için Bethesda sistemi kullanılmıştır. Herhangi bir HPV prevalansı %25.7 iken yüksek riskli HPV %23 pozitif. Daha genç ve yaşlı kadınlar arasında HPV prevalansında önemli bir fark bulunmamıştır. HPV pozitif kadınların %89.5'i en az bir tip yüksek riskli HPV'ye sahipti. En sık görülen HPV, tip 16 ve ardından tip 31 ve 51 olup oranlar sırasıyla HPV16 %11.9, HPV31 %4.4, HPV51 %4.4, HPV33 %2, HPV52 %1.2, HPV18 %1.1, HPV68 %1.1, HPV56 %0.7, HPV39 %0.6, HPV58 %0.4, HPV35 %0.3, HPV59 %0.3, HPV66 %0.2, HPV45 %0.1 ve HPV53 %0.1 idi. Anormal servikal sitoloji oranı %11.6 idi. HPV pozitiflik oranı anormal servikal sitolojisi olan kadınlarda %54.4 olup normal sitolojisi olan kadınlardaki %22'ye göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. HR HPV pozitiflik oranı ise sırasıyla %43.8 ve %19.7 tespit edilmiştir. Hastane verilerine göre servikal HPV enfeksiyonunun Türk kadınları için ciddi ve giderek büyüyen bir sorun olduğu ve bu durumun düşük evlilik yaşı ve daha sensitif HPV tespit yöntemleri ile ilişkili olabildiği belirtilmiştir.

Şahiner⁽⁷⁷⁾ ve arkadaşlarının yaygın olarak kullanılan HPV DNA testlerinden biri olan MY09/11 konsensus PCR'ın etkinliğini farklı bir yaklaşımla yeniden değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada 2010-2012 yılları arasında Ankara'da HPV DNA varlığı yönünden incelenmek üzere rutin analizler için laboratuvara gönderilen 470 servikal sürüntü örneği analiz edilmiştir. Servikal sürüntü örneklerinde MY09/11 PCR ve TaqMan-temelli iki ayrı tip spesifik PCR testi ile 17 farklı HPV tipinin varlığı araştırılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 470 servikal örneğin %33.2'si (156/470) üç yöntemden en az biri ile pozitif olarak değerlendirilirken, geriye kalan örnekler tüm yöntemler ile negatif olarak değerlendirildi. Tip spesifik PCR testleri ile pozitiflik saptanan 149 örnekte 220 farklı HPV izolatu identifiye edilirken, 9 örnek sadece konsensus PCR ile pozitif bulunmuştur. Tiplendirme analizlerinin başarılı olarak

yapıldığı örneklerin %64.4'ünde (96/149) tekli enfeksiyon ve %35.6'sında (53/149) çoklu enfeksiyon varlığı saptandı. MY09/11 PCR HPV DNA pozitif örneklerin %21.2'sini (33/156) tespit edemezken, tekli ve çoklu enfeksiyonları kaçırma oranları sırasıyla %18.75(18/96) ve %28.3(15/53) olarak bulunmuştur. Genotipleme yapıldığında 128 (%27.2) örnekte HR HPV bulunurken (tek enfeksiyon;80 veya HR/LR ile birlikte koenfeksiyon; 33 ve 15) 21'inde (%4.5) LR HPV (tek enfeksiyon veya LR ile birlikte koenfeksiyon) pozitif olup 7 (%1.5) örnekte tiplendirme yapılamamıştır. HR HPV pozitif kadınlarda çoklu HR HPV enfeksiyonu %29.6 (38/128) oranında tespit edilmiştir. HPV16 %59, HPV 52 %17, HPV39, HPV82 herbiri %11, HP18, HPV51, HPV58 herbiri %10, HPV68, HPV35 herbiri %9, HPV31 %8, HPV66 %7, HPV53 %6, HPV33, HPV45 herbiri %4 ve HPV59 %3 bulunmuştur. Yüksek duyarlılığa sahip tip spesifik PCR testlerinin servikal kanser taramaları için güvenilir araçlar olabileceği bildirilmiştir.

Şahiner⁽⁷⁸⁾ ve arkadaşlarının diğer bir çalışmasında servikal sürüntü örneklerinde iki farklı yöntemle HPV DNA varlığının araştırılması amacıyla 2012 yılında Ankara'da biri MY09/11 konsensus real-time PCR ve diğeri tipe özgü real-time PCR olmak üzere iki farklı yöntem ile 356 servikal sürüntü örneğinde HPV DNA varlığı araştırılmıştır. Konsensus PCR sonucuna bakılmaksızın tüm örnekler tipe özgü PCR ile ayrıca test edilmiştir. Tipe özgü PCR analizleri, ikisi düşük riskli HPV ve 11'i yüksek riskli HPV olmak üzere toplam 13 farklı HPV tipi için dizayn edilen özgün primerler ve TaqMan probolar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Genotipleme yapıldığında 74 (%20.7) örnekte HR HPV (tek enfeksiyon; 52 veya HR/LR ile birlikte koenfeksiyon; 17 ve 5) ve 27'sinde (%7.6) LR HPV (tek enfeksiyon veya LR ile birlikte koenfeksiyon) bulunurken 8 (%2.2) örnekte tiplendirme yapılamamıştır. HR HPV pozitif kadınlarda çoklu HR HPV oranı %27 (20/74) bulunmuştur. Her iki yöntemden en az biri ile HPV DNA pozitif olarak değerlendirilen 109 (%30.6) sürüntü örneğinde 95 yüksek riskli HPV, 39 düşük riskli HPV ve tip tayini yapılamayan sekiz izolat olmak üzere toplam 142 farklı izolat tanımlanmıştır. Saptanma sıklığına göre yüksek riskli HPV tipleri sırasıyla HPV 16; 32(%33.7), HPV 52; 12 (%12.6), HPV 58; 11 (%11.6), HPV 18; 7 (%7.4), HPV 31; 7 (%7.4), HPV 35; 7(%7.4), HPV 68; 6 (%6.3), HPV 33; 4 (%4.2), HPV 82; 4 (%4.2), HPV 39; 3 (%3.2) ve HPV 45; 2 (%2.1)'dir. Eş zamanlı sitolojik inceleme sonuçlarına göre örneklerin 84'ünde (%23.6) çeşitli sitolojik atipilerin

raporlandığı belirlenmiştir. Tip tayini yapılamayanlar hariç olmak üzere 101 örneğin 72'sinde (%71.3) tek, 29'unda (%28.7) birden fazla HPV tipi izole edilmiştir. HPV 18, HPV 33 ve HPV 35 çoklu enfeksiyonlarda tekli enfeksiyonlara göre sırasıyla 7.4, 3.7 ve 3.0 kat olmak üzere daha yüksek oranlarda saptanmıştır. Tipe özgü PCR ile HPV DNA varlığı saptanan 101 örneğin 24'ünde (%23.8) MY09/11 konsensus primerler ile HPV DNA saptanamamıştır. Bu nedenle, sadece konsensus primerlerle HPV DNA varlığının araştırılmasının, HPV enfeksiyonlarının tanı, tedavi ve takibini yönetmede yetersiz bir yaklaşım olacağı düşünülmüştür. Sürüntü örneklerinin öncelikli olarak konsensus primerler ile değerlendirilmesi ve pozitif örneklerde tiplendirme analizlerinin yapılması, dünya genelinde en çok başvuru alan tanı-tarama stratejisidir. Bu durum göz önüne alındığında, ülkemizde ve dünyada mevcut prevalans verilerinin yeni nesil tanı-tarama testlerinin kullanıldığı geniş çaplı çalışmalarla güncellenmesine gereksinim olduğu kanısına varılmıştır.

Aslan⁽⁷⁹⁾ ve arkadaşlarının çalışmasına 2016 yılında İç Anadolu'da Eskişehir'de, kadınlarda HPV DNA varlığını iki farklı moleküler yöntemle araştırmak ve sitoloji sonuçlarıyla karşılaştırmak amacıyla Eskişehir Kanseri Erken Teşhis Tarama ve Eğitim Merkezi'ne (KETEM) tarama için başvuran 30-65 yaş arası toplam 1081 kadın katılmıştır. Sitolojik inceleme ve moleküler çalışmalar için katılımcılardan eş zamanlı olarak üç ayrı servikal örnek alınmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında tüm servikal örneklerde HPV DNA varlığı Hybrid Capture 2 (HC2; Qiagen, Germany) yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmanın ikinci bölümünde, HC2 pozitif ve rastgele seçilmiş negatif örnekleri içeren 152 örnekte konsensus real-time PCR testi (Takara Bio Inc., Japonya) uygulanmış ve ardından pyrosequencing yöntemine dayalı bir test (Diatech Pharmacogenetics S.R.L, İtalya kullanılarak) HPV genotipleri belirlenmiştir. Çalışmanın ilk bölümünde kadınların %3'ünde (32/1081) HC2 testi pozitif bulunmuştur. Kadınların 1029'unda normal sitoloji, 47'sinde anormal sitoloji ve 5'inde yetersiz yayma vardı. HC2 testi ile HR HPV prevalansı %2.1 (23/1081) olup normal sitolojili olanlarda %1.8 (19/1029) ve anormal sitolojili olanlarda %8.5 (4/47) tespit edilmiştir. HR HPV prevalansı ASC-US için %7.5 (3/40) ve HSIL için %33 (1/3) oranlarında olup 3 LSIL ve 1 AGUS (Atypical glandular cells of undetermined significance; önemi belirsiz atipik glandüler hücreler) örneğinde HPV bulunmamıştır. Çalışmanın ikinci bölümünde seçilen 152 örneğin 32'si (%21.1) HC2 testi, 40'ı (%26.3) Pap testi ve 53'ü

(%34.9) konsensus RT-PCR ile pozitif bulunmuştur. HC2 ile pozitif olan 32 örneğin tamamı RT-PCR ile de pozitif, ancak RT-PCR ile pozitif olan 21 örnek HC2 testi ile negatif çıkmıştır. Anormal sitolojili 40 örneğin dokuzunda (%22.5) RTPCR ile ve beşinde (%12.5) HPV-DNA pozitif. HC2 testi, ancak her iki testte de 31 (%77.5) örnekte HPV-DNA tespit edilmemiştir. Suşların genotiplendirmesi 44 örnekte yapılabilmiş ve en sık saptanan tip HPV tip 16 (15, %34.1) iken, bunu tip 90 (11, %25) ve tip 18 (4, %9.1). Çalışmada HC2 sonuçlarına göre Pap testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla %16.1, %96, %10.6 ve %97.5 olarak tahmin edilmiştir. Ayrıca, HC2 ve konsensus RT-PCR yöntemleri arasında önemli derecede uyum tespit edildi (Cohen's kappa: 0.665). Sonuç olarak, Ülkemizdeki sitopatolog sayısının yetersiz olması ve Amerikan Kolposkopi ve Servikal Patoloji Derneği (ASCCP) tavsiyelerine göre etkin tarama için Pap testine ek olarak moleküler tanı yöntemlerinin uygulanmasının gerekliliği bir kez daha gösterilmiştir.

Özalp⁽⁸⁰⁾ ve arkadaşlarının çalışmasında Eskişehir bölgesinde HPV prevalansı ve bunun Pap testi, kolposkopi ve kolposkopik biopsi ile ilişkisini belirlemek için Aralık 2009 ile Aralık 2010 tarihleri arasında polikliniğe başvuran 615 hasta çalışma grubunu oluşturmuştur. Serviksinde patolojik görünüm olan hastalara veya Pap testi sonucu ASC-US, AGUS, LSIL veya HSIL olan hastalara kolposkopik inceleme yapılmıştır. Hastalardan ya rutin değerlendirme sırasında servikal sürüntü alınmadan önce ya da kolposkopik muayene öncesinde HPV DNA için servikal örnek alınmıştır ve LCD-Array HPV 3.5 kit (CHIPRON GmbH, Germany) ile analiz edilmiştir. Altıyüzonbeş hastanın 26'sı (%4) HPV pozitif (HR HPV %3.9). Bu 26 hastanın 12'sinde HPV16 (%1.9), 3'ünde HPV18 (%0.4), 3'ünde HPV51 (%0.4), 2'sinde HPV6 (%0.3), 1'inde HPV33 (%0.2), 1'inde HPV52 (%0.2), 1'inde HPV16 ve 31 (%0.2), 1'inde HPV6 ve 52 (%0.2), 1'inde HPV 56 ve 90 (%0.2), 1'inde HPV 39 ve 66 (%0.2) mevcuttu. Servikal kanseri olan 4 hasta ve CIN III olan 4 hastanın 3'ünde hem HPV DNA hem de Pap testi pozitif. HPV DNA negatif olan 35 ASC-US (%5.6), 4 AGUS (%0.6), 2 CIN I (%0.3) olan hasta vardı. Anormal sitolojisi olan bu 41 hastaya kolposkopik biopsi yapılmış ve sonuçta sadece 3 hastada CIN I, 1 hastada CIN III varken kalan hastaların biopsi sonuçları benignidi (inflamasyon, kronik servisit). Sonuç olarak hastanede yapılan bu çalışmada elde edilen HPV oranları düşük bulunmuştur. HPV pozitif olan vakalarda

HPV tipi ile pozitif servikal biopsi sonuçları arasında kuvvetli bir korelasyon olduğu bildirilmiştir.

Akçalı⁽⁸¹⁾ ve arkadaşlarının Ocak 2010-Ağustos 2011 yılında Manisa’da yaşayan kadınlarda HPV sıklığını, genotiplerini ve servikal yayma sonuçları, risk faktörleri ve tipleri arasındaki ilişkiyi belirlemek için yaptıkları çalışmaya ortalama yaşı 34.9 olan toplam 410 kadın dahil edilmiştir. Lineer array HPV genotipleme ve patolojik testler için servikal örnekler alınmıştır. Sitoloji örneklerinin değerlendirilmesi için geleneksel Pap testi ve Bethesda sistemi kullanılmıştır. Toplam 410 kadın test edildiğinde 352’inde (%8.5) herhangi bir HPV, %5’inde (23) HR HPV ve %0.9’unda (4) olası HR HPV(HPV 53, 66, 73 ve 82) ve %1.9’unda (8) LR-HPV pozitif sonuç bulundu. Bunlar arasında 26 farklı HPV serotipi tanımlanmıştır. Hastalar %65.7 yüksek risk, %11.4 olası yüksek risk ve %22.9 düşük riskli HPV tipleri ile enfekte olmuştur. HPV pozitif kadınlar arasında en sık görülen tip HPV 16 (%28.5) olup, bunu tip 45 ve 53 (%11.4) izlemiştir. Bu oranlar bütün kadınlar arasında sırasıyla HPV16 (%2.4), HPV45 (%1), HPV53 (%1), HPV56 (%0.7), HPV66 (%0.7), HPV31 (%0.5), HPV59 (%0.5), HPV73 (%0.5), HPV18, HPV33, HPV35, HPV52, HPV58, HPV68 ve HPV82 herbiri %0.2’dir Çoklu HPV enfeksiyon oranı %3.1 (13) bulunmuştur. Tek eşli, anormal yayma veya kondilom öyküsü olan hastalarda HPV pozitifliği ve bu istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). Genital HPV enfeksiyonlarında HPV tiplerinin belirlenmesinin epidemiyolojik çalışmalar için önemli olduğu, HPV prevalansının %8.5 olarak bulunması ile onkojenik HPV’yi erken evrede teşhis etmek için genişletilmiş tarama programlarına ihtiyaç olduğu bildirilmiştir.

Beyazıt⁽⁸²⁾ ve arkadaşları Çanakkale’de Pap testi sonucu normal veya anormal olan kadınlarda HPV yaygınlığı ve genotiplerini değerlendirmek için Türkiye’nin batısında üçüncü basamak Üniversite Hastanesi’nde yaptıkları retrospektif çalışmaya 2012-2016 yılları arasında hem HPV tiplendirmesi hem de Pap testi yapılan toplam 201 hasta dahil edilmiştir. Tüm katılımcılar için klinik ve laboratuvar verileri elde edilmiş, hastaların servikal sürüntüleri Bethesda sistemi ile sınıflandırılmış ve PCR yöntemi kullanılarak HPV analizleri yapılmıştır. Kadınların 72’si normal, 129’u anormal sitolojili bulunmuştur. İncelenen 201 kadının 91’inde (%45.2) HPV DNA tespit edilmiştir. Sitolojisi normal olan 72 hastanın 35’inde (%49) HPV pozitifliği saptanırken, ASC-US’lu 94 hastanın 33’ünde (%35), LSIL’li 29 hastanın 18’inde (%62) ve HSIL’li 6

hastanın 5'inde %83'ünde HPV pozitifliği görülmüştür. HR HPV prevalansı ise sırasıyla %33 (31/94), %55 (16/29) ve %83 (5/6) idi. Pap testi sonuçları normal olan 35 HPV pozitif kadından 25'inin (%75) HR HPV genotiplerine sahip olduğu bulunmuştur. HR HPV prevalansı %38.3 (77/201) olup normal veya anormal sitolojisi olan kadınlarda sırasıyla %34.7 (25/72) ve %40.3 (52/129) tespit edilmiştir. HR HPV ve LR HPV genotip oranları sırasıyla ASC-US için %94 ve %6, LSIL için %89 ve %11 ve HSIL'li kadınlarda %100 ve %0 olarak bulunmuştur. En yaygın tanımlanan HPV tipleri HPV58, HPV16, HPV31, HPV33, HPV11 ve HPV35 idi. Çalışmada HPV enfeksiyon sıklığı önceki raporlara göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, HR HPV genotipleri normal servikal sitolojiye sahip hastalarda saptanmış olsa da, HR HPV genotipli hastaların çoğu, önemi belirsiz atipik skuamöz hücreler, düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon ve yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon dahil olmak üzere anormal servikal yayma sitolojisi ile ilişkilendirilmiştir.

Bayram⁽⁸³⁾ ve arkadaşları Gaziantep'te 2011 yılında servikal erozyonu olan kadınlarda HPV'nin prevalansını ve genotipik dağılımını değerlendirmek ve sonuçları klinik olarak normal serviksi olan kadınlarla karşılaştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada 520 kadından servikal örnekler sıvı bazlı yöntemle toplanmış ve ardışık olarak HPV DNA varlığı ve servikal sitoloji değerlendirilmiştir. HPV DNA, nested PCR ile test edilmiş ve ters dot blot genotipleme ile tiplendirilmiştir. Sitolojik sınıflandırma Bethesda 2001 kriterlerine göre yapılmıştır. Genel HPV prevalansı %16.9 (%%.8'i tek HPV enfeksiyonu ve %11.1 çoklu HPV enfeksiyonu) bulunmuştur. HPV DNA, servikal erozyonu olan kadınların %20.2'sinde ve normal sitolojisi olan kadınların %12.8'inde pozitifliği ($P < 0.05$). HR HPV prevalansı çalışma grubunda %10.1, (53/520), servikal erozyonu olanlarda %11.5 (31/520) ve normal sitolojili kadınlarda %9.4 (22/520) bulunmuştur. HPV pozitif kadınların %34.1'inde çoklu enfeksiyon bulunmuştur. En yaygın tipler HPV 18 (%32.9), HPV 16 (%29.5), HPV 54 (%20.5) ve HPV 6 (%17), HPV58 (%7.9) ve HPV59 (%6.8) idi. Normal servikal sitolojili kadınlarda en yaygın HR HPV tipleri HPV18 (%40), HPV16 (%20), HPV59 (%13.3) ve HPV58 (%10) iken diğerleri HPV31, HPV35 ve HPV66 herbiri %6.7 ve HPV45 Ve HPV53 %3.3 bulunmuştur. Servikal erozyonu olan kadınlarda en baskın tipler HPV16 (%34.5), HPV18 (%19.3), ve HPV58 (%6.9) olup diğer tipler HPV35, HPV52, HPV53 ve HPV56 herbiri %3.4 ve HPV31, HPV45, HPV66 ve HPV68 %1.7 oranlarında

görülmüştür. Normal servikal sitolojili kadınlarda çoklu HPV enfeksiyon prevalansı %4.2 (10/234) ve servikal erozyonu olanlarda %%7.4 (20/268) idi. Çalışma, normal sitolojili kadınlara kıyasla servikal erozyonu olan kadınlarda HPV enfeksiyonu prevalansının yüksek olduğunu tespit etmiştir. Verilerin, Türkiye'nin güneydoğusundaki HPV epidemiyolojisine katkıda bulunabileceği ve HPV tarama programlarında servikal erozyonu olan kadınlara öncelik verilmesi önerilmiştir.

Aydemir⁽⁸⁴⁾ ve arkadaşlarının Sakarya'da hastane bazlı çalışmasında kadınlarda HPV DNA varlığını ve HPV genotiplerini belirlemek, aynı zamanda HPV pozitif hastalarda gelişen sitopatolojik değişiklikleri incelemek amacıyla Ocak 2015-Ocak 2018 tarihleri arasında 20-66 yaş arası hastalardan alınan 1068 servikal sürüntü örneği incelenmiştir. Alınan örneklerde DNA izolasyonu için QIAampDNA Mini Kit (Qiagen, Almanya), PCR ve pyrosequencing yöntemi ile HPV tiplendirme aşamasında HPVsign Q24 complete (Diatech Pharmacogenetics, İtalya) kiti kullanılmıştır. Toplam 1068 örneğin 226'sinde (%21.1) HPV DNA pozitif olarak saptanmıştır. HPV DNA pozitif bulunan örneklerin %62.3'ünde (141/226) HR HPV tek başına saptanmış olup HR HPV prevalansı %13.2 (141/1068)'dir. HPV DNA pozitif bulunan örneklerin içinde 73 (%32.3) hastada tek başına HPV tip 16 saptanırken 37 (%16.3) hastada çoklu tipler ve 116 (%51.3) hastada da diğer tipler bulunmuştur. HR HPV'ler sırasıyla HPV16 %32.3, HPV66 %6.6, HPV39 %5.7, HPV18 %4.4, HPV59 %4.4, HPV52 %3.9, HPV51 %3.5, HPV45 %2.6, HPV31 %2.2, HPV56 %2.2 ve HPV 33 %0.8 oranlarında idi. LR HPV'ler ise HPV11 %6.1, HPV42 %2.6, HPV87 %2.6, HPV55 %1.7 ve HPV70 %1.3 oranlarında tespit edilmiştir. HPV DNA pozitifliği 20-30 yaş grubu hastada en yüksek oranda (%26.3) saptanmıştır. HPV DNA pozitifliği saptanan hastaların 20'sinde (%8.8) anormal sitoloji belirlenmiştir. Bu hastaların 13'ünde LSIL (%65), 4 (%20) hastada HSIL, 1 (%5) hastada ASC-US, 2 (%10) hastada HSIL/servikal kanser bulunmuştur. Normal sitolojili HPV pozitif bulunan 206 hastada en sık görülen HPV tipi %32 oranla HPV16 olup bunu %7.2 oranla HPV39, %4.3 ile HPV18 ve HPV11 izlemiştir. Anormal sitoloji saptanan hastalarda en sık saptanan HPV tipi %45 oranla HPV16 bulunmuştur. Bunu %20 ile HPV18 takip etmiştir. LSIL saptanan hastaların HPV genotipleri incelendiğinde; 4'ünde (%30.7) HPV18, ikişer hastada (%15.3) HPV16, HPV51 ve HPV70 saptanmıştır. Bunları birer hasta (%7.6) ile HPV42 ve HPV39 izlemiştir. Servikal kanser saptanan hastaların ikisinde de HPV tip 16 bulunmuştur. HSIL saptanan

hastaların tümünde de tip 16 görülmüştür. ASC-US saptanan bir hastada ise tip 16 ve tip 39 birlikteliği saptanmıştır. Çalışmanın Sakarya bölgesinde yapılan ilk kapsamlı çalışma olduğu ve servikal sürüntü örneklerinde saptanan HPV DNA pozitifliği oranının ve HPV16 sıklığının ülkemizdeki diğer çalışmalarda bulunan oranlara göre kısmen yüksek bulunduğu bildirilmiştir. Ülkemizde HPV DNA ve HPV tip prevalansının ve HPV aşısında kullanılması gereken tiplerin belirlenmesi için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır.

Yöntem⁽⁸⁵⁾ ve arkadaşları Tekirdağ'da 2014 yılında çalışmasında, anormal sitoloji tanısı konan hastalarda, sürüntü ve biyopsi materyallerinde PCR yöntemi ile HPV DNA analizi yapılarak sonuçların biyopsi tanısıyla karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışma, yaşları 26 ile 74 arasında değişen 24 hasta üzerinde gerçekleştirilmiştir. HSIL, LSIL veya ASC-US ile anormal sitoloji tanısı konmuş hastalara kolposkopik biyopsi yapılarak örnekler elde edilmiş ve PCR işlemi sonrası pozitif sonuç veren örneklerde HC2 HPV DNA testi (Qiagen) kullanılarak 13 HR HPV tipinin varlığı araştırılmıştır. Kolposkopi öncesinde hastalara anket uygulanarak demografik bilgiler elde edilmiş ve HPV enfeksiyonuna neden olabilecek faktörlerin varlığı incelenmiştir. Anormal sitoloji sonucuna sahip hastalardan alınan patolojik örneklerin biyopsi tanısı %33'ünde (8) servikal kanser, %4'ünde HSIL, %13'ünde LSIL ve %50'si normal olarak bulunmuştur. Ayrıca, normal sitolojili tüm hastaların %33'ünde HR HPV DNA bulunmuş ve belirlenen HPV tipleri (HPV16, HPV18, HPV31 ve HPV58) arasında en yüksek oranda izlenen tipin HPV16 olduğu tespit edilmiştir. HPV16 bulunan 5 hastadan 4'ünün biyopsi tanısının servikal kanser olduğu tespit edilmiş, kalan 1 hastanın ise HSIL olduğu görülmüştür. Ayrıca, partner sayısı 1'den fazla olan kişilerde HPV pozitiflik oranının yüksek olduğu görülürken, HPV pozitif vakaların tamamının toplam gebelik sayısının üç veya üzeri olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada patolojik tanı yöntemleri ve mikrobiyolojik inceleme sonuçlarının tanıya katkısı ortaya konulmuş, tarama programlarının ve erken teşhisin önemi bir kez daha ortaya çıkarılmıştır.

Hasbek⁽⁸⁶⁾ ve arkadaşları çalışmasında Sivas'da Ocak 2015-Aralık 2017 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine başvuran kadınların servikal örneklerinde HPV DNA pozitifliği araştırılmıştır. Çalışmaya 14-83 yaş arası 368 kadın dahil edilmiştir. HPV GenoArray Test Kiti (HybriBio, Hong Kong) kullanılmıştır. Veriler geriye dönük

olarak incelenmiştir. Çalışma grubunda HPV DNA pozitifliği %28.8 (106) bulunmuştur. HPV DNA pozitif örneklerden %63.2'sinde (67) yüksek riskli bir genotip belirlenirken, %13.2'sinde (14) düşük riskli bir genotip belirlenmiş, %19.8'inde (21) iki veya daha fazla yüksek riskli genotip birlikte saptanmış, %3.8'inde (4) ise hem yüksek riskli hem de düşük riskli genotipler birlikte saptanmıştır. Tek veya çoklu enfeksiyon şeklinde HR HPV prevalansı %25 (92) bulunmuştur. HPV DNA pozitifler (106) içinde en fazla bulunan tip ise % 13.2 (14) ile HPV16'dır. HPV16 için birden fazla genotip tayin edilen örnekler de dikkate alındığında ise pozitif örnekler içindeki oranı % 23.5 (25/106)'e ulaşmaktadır. Diğer HR HPV tipleri HPV39 %8.5, HPV53 %8.5, HPV6 %6.6, HPV31 ve HPV56 herbiri %4.7, HPV11, HPV33, HPV35 ve HPV51 herbiri %3.8, HPV44 ve HPV58 herbiri %2.8, HPV45, HPV52, HPV59 ve HPV68 herbiri %1.9, HPV18 ve HPV66 %0.8 oranlardadır. HPV pozitifliği 30 yaş altı kadınlardaki, 30 yaş üstü kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p=0.009$). Ülkemizdeki HPV prevalansının doğru olarak belirlenebilmesi için, çok merkezli, daha geniş standardize edilmiş hasta ve kontrol grupları içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

Schettino⁽⁸⁷⁾ ve arkadaşları Napoli (İtalya) ve Pamukkale'de (Türkiye) jinekoloji polikliniğine başvuran İtalyan ve Türk kadın popülasyonunda HPV enfeksiyonu prevalansını ve ilişkili risk faktörlerini araştırılmıştır. Ocak 2014 ile Haziran 2015 tarihleri arasında Napoli'deki (İtalya) Campania “Luigi Vanvitelli” Üniversitesi ve Denizli'deki (Türkiye) “Pamukkale Üniversitesi” Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na başvuran kadınlar çalışmaya alınmıştır. Sosyodemografik ve cinsel davranış özellikleri, HPV farkındalığı, aşı durumu ve aşı olmak istememe nedenleri ile ilgili soruları ve her katılımcının HPV ile ilgili bilgilerini içeren bir anket dolduruldu, ve servikal sitoloji örnekleri toplandı. Çalışmaya 570 katılımcı (yaşları 25 ile 65 arasında, medyan $35,6 \pm 4,5$ yıl) alındı. Hastalar, ülkeye göre iki gruba ayrıldı: İtalyan grubunda (grup A) 300 hasta ve Türk grubunda (grup B) 270 hasta. İki grup arasındaki karşılaştırma, İtalyan grubunda HPV enfeksiyonu prevalansının Türkiye'dekinden daha yüksek olduğunu gösterdi: %52.6 (158/300) ve %32.6 (88/270), ($p < 0.05$), genotiplerin dağılımı ise benzerdi ($p=0.325$). Türkiye'de HR HPV prevalansının %24 (65/270) ve İtalya'da ise %39 (117/300) olduğu tespit edildi. Ayrıca, bu hastalardaki sitolojik değişikliklerdeki farklılıklar önemlidir ($p < 0,001$). Analiz, cinsel davranış özelliklerinin daha yüksek bir yaygınlık gösterdiğini ($p < 0.001$) ve İtalyan

popülasyonunda tarama testinin uygulanmasına daha fazla dikkat edildiğini ($p < 0.001$) gösterdi. İtalyan kadınları, Türk kadınlarına göre aşı konusunda daha bilgili ve yatkındır ($p < 0,001$). Veriler, sitolojik anormalliklerin farklı prevalansını, risk faktörlerinin farklı dağılımı ve hepsinden önemlisi, İtalyan ve Türk nüfus grubu arasında kadınların servikal kanserin birincil korunmasına yönelik farklı tutumları olmak üzere önemli üç faktörü vurgulamıştır.

Özen⁽⁸⁸⁾ ve arkadaşlarının çalışmasında 2015- 2016 yılları arasında Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Jinekoloji bölümüne başvuran kadınlarda yüksek risk HPV genotiplerinin pyrosequencing metodu ile tespiti amacıyla 20-65 yaş arasındaki 1145 kadından servikal sitoloji örnekleri toplanmıştır. HPV genotiplemesi için pyrosequencing metoduna dayanan HPV Sign PQ genotipleme testi (Diatech Pharmacogenetics, Italy) kullanılmıştır. Pyrosequencing PyroMark Q24 cihazında (Qiagen) ya-pılmıştır. HPV enfeksiyonunun prevalansı toplam 1145 kadında %20 (229) idi. Tek HPV enfeksiyonu ve çoklu HPV enfeksiyonu sırasıyla, çalışma grubunun %11.8'inde (136) ve %8.2'inde (93) bulunmuştur. En baskın HPV genotipi HPV 16 (%9.4) olup bunu HPV 18 (%4.8) HPV 56 (%4), HPV 51 (%2.5), HPV 33 (%2.2), HPV 39 (%1.9), HPV 31 (%1.7), HPV 35 (%1.7), HPV 58 (%1.1), HPV 59 (%0.9), HPV 68 (%0.5), HPV 45 (%0.4), HPV 66 (%0.4) ve HPV 52 (%0.2) izlemiştir. Sonuç olarak, bölgede en yaygın HPV tipleri olarak bulunan HPV 16 ve HPV 18 profilaktik HPV aşılarının hedefi olduğu belirtilmiştir. Yeni jenerasyon dizi analizi metodu olan pyrosequencing test ile HPV genotiplerinin tanısının servikal kanser için risk altındaki kadınların tespitine katkı sağlayacağı bildirilmiştir.

Dursun⁽⁸⁹⁾ ve arkadaşlarının çalışmasında HPV analizi yapılmış çok sayıda Türk kadında HPV DNA ve servikal sitolojik anormalliklerin prevalansını değerlendirmek, servikal sitoloji sonuçları ile HPV pozitifliğini karşılaştırmak ve HPV tip dağılımını belirlemek amacıyla 2006-2010 yılları arasında Türkiye'de 12 sağlık merkezine başvuran sitoloji ve HPV analizi yapılan toplam 6388 hastanın verileri geriye dönük olarak değerlendirilmiştir. Demografik özellikler, servikal sitoloji sonuçları, HPV durumu ve tipleri karşılaştırılmıştır. Hastaların yaş ortalaması 38.9 ± 10.2 idi. Genel olarak, kadınların %25'inin (1588) HPV pozitif olduğu bulunmuştur. HR HPV %17.1(1093) ve LR HPV %7.7 (495) oranındadır. Anormal sitolojisi olanlarda HPV pozitifliği %57 iken normal sitolojisi olanlarda HPV pozitifliği %27 oranında tespit

edilmiştir. On yıllık yaşam süresi ve HPV pozitifliği açısından anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p < 0.05$). Anormal sitolojili HPV pozitif 626 örnekte HPV prevalansı ASC-US, LSIL, HSIL, ASC-H, glandüler anormallikler ve skuamöz hücreli karsinom için sırasıyla %37.2 (233), %27.2 (170), %19.5 (122), %9.4 (59), %1.4 (9) ve %5.3 (33) idi. HPV pozitif toplam 1588 kadında en sık görülen HPV tipleri sırasıyla HPV16 (%32), HPV6 (%17), HPV39 (%9), HPV11 (%9), HPV18, HPV50 ve HPV56 herbiri (%8), HPV31 (%6), HPV51 (%5) ve HPV 33 (%3) idi. Hastaneye dayalı bu retrospektif analizde, normal ve anormal sitolojiye sahip Türk kadınlarındaki HPV genotipleri batı ülkelerinden bildirilenlere benzerdir. Türk kadınlarında hastane dışı HPV prevalansını belirlemek için toplum tabanlı ileriye dönük çok merkezli çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir.

HPV enfeksiyon prevalansı ve HPV genotip dağılımı ile ilgili yurt dışında yapılan çalışmalardan Vaucel⁽⁹⁰⁾ ve arkadaşlarının Fransa Nantes Üniversite Hastanesi'nde birincil tarama ve takip için 2000 ve 2006 yılları arasında rutin klinik uygulama sırasında toplanan servikal sürüntü örneklerinde HPV genel ve tipe özgü prevalansını değerlendirmek için çalışmasına toplam 1255 kadın (ortalama yaş 37.5) dahil edilmiştir. PCR, MY09/MY11 primerleri ile gerçekleştirilmiştir ve PCR ürününün dizi analizi ile genotipleme yapılmıştır. Genel ve genotipe özgü HPV prevalansı sitolojik tanıya göre değerlendirilmiştir. Bütün örneklerde HR HPV prevalansı %14.7 (184) olup HR HPV pozitif örneklerin oranı sitolojik tanı şiddetine göre normal örneklerde %8'den (80/980) ASC-US'da %21'e (29/141), LSIL'da %49 (48/98) ve HSIL'da %75'e (27/36) yükselmiştir ($p < 0.001$). Anormal sitolojili 275 kadında HR HPV %37.8 (104) oranında bulunmuştur. HPV 16 için bu oranlar sırasıyla prevalansı %3.6, %13.5, %20.4 ve %44.4 idi. Tüm sitolojik tanılarda en yaygın HPV genotipi HPV 16 (%7.2) idi. HPV 53, normal sitolojik örneklerde (HPV pozitif örneklerin %10.9'u) ikinci en yaygın genotip olarak gözlenmiştir, ancak HSIL'de prevalansı %4'ün altına düşmüştür. Normal sitolojisi olan 980 kadın arasında, genel HPV prevalansı yaşa göre 20 yaşın altında %44 ile 35 yaşın üzerinde yaklaşık %10 arasında değişmiştir ($p < 0.001$). Sonuç olarak sitolojik tanı şiddetine göre HR HPV pozitif kadınların oranı artmıştır. HPV16, tanı normalken bile en sık karşılaşılan genotip olarak ortaya çıkmıştır. Tanı şiddeti ile birlikte prevalansı artmış ve böylece HPV16'nın diğer genotiplerden daha onkojenik olduğu doğrulanmıştır.

Zappacosta⁽⁹¹⁾ ve arkadaşları Mayıs 2006-Aralık 2007 yılları arasında Orta-güney İtalya'da (Molise bölgesi) yaşayan 364 kadında HPV prevalansını araştırmıştır. HPV pozitifliği %35.2 (128) bulunmuştur. HR HPV prevalansı %29.6 (108/364) olup normal ve anormal sitolojili kadınlarda sırasıyla %5 (11/220) ve %67.3 (97/144) bulunmuştur. HR HPV pozitifliği ASC-US'da %16.6 (2/12), LSIL'da %58.3 (28/48) ve HSIL'da %79.7 (67/84) olarak tespit edilmiştir. HPV pozitif kadınlar arasında HPV16 en sık (%40.6) görülen genotip olmuştur, ardından LR HPV6 (%20.3) ve HPV56 (%13.3) izlemiştir. Diğer tipler sırasıyla HPV31 %11.7, HPV58 %7.8, HPV45 %7, HPV59 %7, HPV52 %6.2, HPV39 %5.4, HPV18 %5.4, HPV66 %4.6, HPV33 %3.1, HPV35 %3.1 ve LR HPV11 %1.5 oranlarındadır. HPV pozitif kadınlar, negatif hastalardan önemli ölçüde daha gençti (sırasıyla, 35.9±8.4 yaş ve 38.2±9.1, p=0,018); çoklu enfeksiyonu olan kadınlar da tek enfeksiyonu olanlardan anlamlı derecede daha gençti (sırasıyla, 31.7±6.9 ve 37.6±8.3, p=0,0002). Ayrıca, yüksek riskli HPV pozitif hastalar, düşük riskli HPV pozitif kadınlardan (sırasıyla, 35.1±7.7 ve 40.5±10.5, p=0,008) önemli ölçüde daha gençti. HPV pozitif grupta 14 hasta (%10.9) önemli bir sitolojik değişiklik göstermemiştir. Tersine, 236 HPV negatif kadından 7'sinde (%3) HSIL tespit edilmiştir. Ayrıca, sitolojide HSIL pozitif olan kadınların %70'inden fazlasında HPV16 veya HPV18 mevcuttu. Veriler, görünüşte laboratuvar çelişkili sonuçları olan klinik vakaların daha ileri çalışması için kombine sitoloji ve moleküler testin potansiyel etkinliğini göstermiştir.

Moga⁽⁹²⁾ ve arkadaşları Ocak 2012 ve Mayıs 2013 tarihleri arasında Romanya'nın Brasov şehrinde kadın popülasyonunda HPV genotiplerinin prevalansını belirlemeyi ve anormal servikal sitoloji ile korelasyonlar kurmayı amaçlamıştır. Romanya, servikal kanser insidansı açısından Avrupa'da ilk sırada yer almaktadır. HPV tip dağılımına ilişkin coğrafi veriler, HPV aşılarının ve servikal kanser tarama programlarının etkisini tahmin etmek için gereklidir. Çalışmada, Romanya, Brasov Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesi'nde rutin servikal taramaya katılan ve hem sitolojik inceleme yapılan hem de HPV genotiplemesi için Linear array HPV Genotyping Test yapılan 17.3-57 yaşları arasında toplam 1000 kadın taranmıştır. Sitolojik örneklerin %39.6'sında 35 farklı HPV genotipi ile enfeksiyon tespit edilmiştir. HR HPV prevalansı %29 (290/1000) olup normal sitolojili örneklerde %24.2 (194/801), ASC-US'da %41.6 (45/108), LSIL'da %53.5 (30/56) ve HSIL'da %60 (21/35)

bulunmuştur. Anormal sitolojisi olan kadınların %48.2'si (96/199) HR HPV tipleri ile enfekte olurken, %3'ten azı sadece düşük riskli HPV tipleri ile enfekte olmuştur. Genel HPV enfeksiyonları, servikal sitolojik anormalliklerin de en yüksek prevalansa ulaştığı 25 yaşın altındaki genç kadınlarda en yüksekti ($p<0,0001$). HPV enfeksiyon prevalansı en yüksek genç yaş kadınlarda olup yaşla birlikte azalmıştır ($p<0,0001$). Kadınlarda 25 yaş altı en yüksek HPV prevalansına (%54.93) sahipti, bunu 26-35 yaş arası kadınlar %40.72 prevalans ile izlemiştir, 45 yaş üstü kadınlarda HPV enfeksiyonu prevalansı %28.58 olup en düşük prevalans %28.02 ile 36 ile 45 yaş arasındaki kadınlardadır. Yaş ne olursa olsun, HPV pozitiflerin %73.23'ünü HR HPV tipleri oluşturmuştur ve 26 ila 35 yaş arasındaki kadınlar en yüksek prevalansa (%75.5) sahip olup daha sonra yaşa bağlı azalma göstermiştir ($p<0,001$). HPV16 veya HPV18 ile enfekte olan hastalar, servikal anormal sitolojili olanlarda en yüksek prevalansı göstermiştir. Toplamda, sıklık sırasına göre en yaygın HPV tipleri HPV16 (%26.01), HPV6 (%13.38), HPV31 ve HPV53 (%12.26), HPV51 (%10.35), HPV62 ve HPVCP6108 (%9.34), HPV18, HPV54 ve HPV84 (%8.58) idi. Tek bir HPV tipi ile enfeksiyon vakaların %42.9 (396 pozitif örnekten 170'i) oranında kaydedilmiştir ve çoğunda HR-HPV bulunan çoklu HPV enfeksiyonu (tek bir örnekte 9 farklı HPV tipine kadar) vakaların %57.07'sinde (396 pozitif örnekten 226'sı) gözlenmiştir. Çalışma, Romen kadınları arasında yüksek riskli HPV enfeksiyonu prevalansının diğer coğrafi bölgelerdeki çalışmalara göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, yüksek riskli HPV enfeksiyonlarının prevalansının arttığı bölgelerde, 18 ila 45 yaş arasındaki tüm kadınlara HPV genotiplendirmesinin yapılması gerektiği belirtilmiştir.

Kovacevic⁽⁹³⁾ ve arkadaşlarının 2016-2018 yılları arasında yaptıkları çalışmada Sırbistan'ın Voyvodina kentindeki kadınlarda HPV enfeksiyonunun aşılama öncesi prevalansı yaş ve sitolojik duruma göre değerlendirilmiştir. Farklı sitolojik sonuçlara sahip 18 ila 65 yaş arasında toplam 1495 kadın çalışmaya alınmıştır. HPV genotipleme testi, 30 HPV tipini saptamak için EUROArray HPV testi kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada en yaygın genotipler HPV 16 (%30.6), HPV 31 (%15), HPV 42 (%13), HPV 53(%11.7) and HPV 51 (9.1%) olup HPV 16 tüm sitolojik alt gruplarda tutarlı bir şekilde tespit edilmiştir. HR HPV prevalansı %45.4 (679/1495) tespit edilmiştir. Normal sitolojisi olan kadınlarda HR HPV %36.8 (209/567) ve anormal sitolojisi olanlarda %50.6 (470/928) oranlarında bulunmuştur. HR HPV prevalansı ASC-US, LSIL ve

HSIL/ASC-H'li olanlarda sırasıyla %45.5 (342/751), %69.1 (94/136) ve %82.8'dir (34/41). Ülkede aşılama programlarının hayata geçirilmesinin ardından Voyvodina ilindeki kadınlarda HPV'ye bağlı servikal lezyonların azaltılmasında HPV aşısının olumlu etkisinin olması beklenmektedir.

Youssef⁽⁹⁴⁾ ve arkadaşları Mısırlı kadınların servikal örneklerinde HPV prevalansı ve genotiplerinin dağılımını araştırdıkları Ocak 2013 ve Mayıs 2014 yılları arasında yaptıkları çalışmada servikal lezyonları olan ve olmayan 152 kadından oluşan bir grup incelenmiştir. Tüm kadınlara servikal sitoloji ve HPV testi yapılmıştır. Sitolojiye göre normal sitolojiye sahip olanlar, skuamöz intraepitelyal lezyonlar (SIL) ve invaziv skuamöz hücreli karsinom olanlar olarak sınıflandırılmıştır. HPV'nin varlığını belirlemek için PCR ile servikal örnekler analiz edilmiştir ve tüm pozitif HPV DNA örneklerinde Linear Array HPV Genotipleme testi ile viral genotip belirlenmiştir. HPV prevalansı %40.8 (26) tespit edilmiştir. HPV prevalansı sitolojik olarak normal kadınlarda %17.7, LSIL'li olalarda %56.5, HSIL'li olanlarda %3.2 ve invaziv SCC'de %22.6'dır. Sitolojisi normal kadınların %81.8'inde, LSIL'li kadınların %5.7'sinde ve invaziv SCC olanların %14.3'ünde düşük riskli HPV tipleri saptanırken, HSIL'li kadınlarda düşük riskli HPV tipi saptanmamıştır. Yüksek riskli HPV tipleri sitolojik olarak normal kadınlarda enfeksiyonların %18.2'sinde, LSIL'de enfeksiyonların %14.3'ünde ve invaziv lezyonların %21.4'ünde saptanmıştır. Muhtemel (HPV68) ve olası (HPV66, 67, 70, 73) kanserojen HPV tipleri, tek enfeksiyon olarak tespit edilmemiştir. LSIL'li kadınların %80'inde, HSIL'li kadınların %100'ünde ve invaziv SCC'li kadınların %64.3'ünde miks enfeksiyon bulunmuştur. Bu fark istatistiksel olarak önemlidir. HPV16 %41.9, HPV18 %29.03, HPV31 %12.9, HPV58 ve HPV59 herbiri %11.5 oran ile en yaygın HR HPV tipleri iken diğerleri HPV45 %9.7, HPV33 ve HPV51 her biri %6.5, HPV35 ve HPV52 her biri %4.8 oranlarında izlemiştir. LR HPV6, HPV62 ve HPV CP6108, sırasıyla %11.3, %9.7 ve %9.7 ile en yaygın LR HPV tipleri olarak tespit edilmiştir. Bu veriler, ulusal bir HPV önleme programı oluşturmaya yardımcı olabilecek Mısır'daki HPV prevalansı ve tip dağılımı ile ilgili bilgileri genişletmektedir. Linear Array HPV Genotipleme testi kullanılarak yapılan HPV testinin, çoklu ve geleneksel olmayan HPV viral tiplerinin tanısında sitoloji ile birleştirildiğinde faydalı bir araç olduğu belirtilmiştir.

Wolday⁽⁹⁵⁾ ve arkadaşlarının Etiyopya'da üçüncü basamak bir Jinekoloji Kliniğine başvuran normal ve anormal servikal sitoloji sonuçları olan kadınlar arasında HPV genotip dağılımını belirlemek amacıyla Aralık 2008 ile Mart 2009 arasında yaptıkları araştırmada ardışık 233 HIV negatif kadında tarama için Pap sitolojisi ve HPV testi kullanılmıştır. Konsensus nested PCR (MY09/MY11 primerleri ile doğrudan amplifikasyon, ardından GP5/GP6 primerleri ile nested amplifikasyon) ve genotipleme için nested PCR ürünlerinin dizilimi yapılmıştır. PCR ürünlerinin sekanslanması, GP6 primeri kullanılarak yeniden amplifikasyonun ardından gerçekleştirilmiştir. Servikal kanser, Etiyopya'da çocuk doğurma çağındaki kadınlar arasında en yaygın ikinci kanserdir. Çalışmada 233 kadından 92'si (%39.5) anormal sitolojili idi. HPV prevalansı %69.1 olup anormal servikal sitolojiye sahip tüm kadınlar HPV pozitifken (%100), normal sitoloji ile başvuranların sadece %48.9'unda HPV DNA tespit edilmiştir. Toplam 233 kadında HR HPV prevalansı ise %57.5 (134/233) olup anormal servikal sitolojisi olan kadında prevalansı %92.4 (85/92) normal sitolojisi olanlardakinden %34.7 (49/141) yüksekti. Tanımlanan en sık genotipler HPV16 (%44.1), ardından HPV35 ve HPV45 (her biri %6.2), HPV31 (%4.4), HPV56 (%3.7), HPV18 ve HPV59 (her biri %3.1), HPV58 (%2.5) ve HPV39 (%1.9)'dur. Normal sitolojisi olan kadınlar arasında en yaygın HR HPV enfeksiyonları HPV16 (%20.3) iken, bunu HPV35 (%8.7), HPV56 ve HPV58 (her biri %5.8), HPV18, HPV31 ve HPV39 (her biri %4.4), HPV45 (%2.9) ve HPV59 ve HPV68 (her biri %1.5), anormal sitolojisi olan kadınlarda en yaygın HR HPV enfeksiyonları HPV16 (%62), ardından HPV45 (%8.7), HPV 31, HPV35 ve HPV59 (her biri %4.4) ve HPV18, HPV52 ve HPV56 (her biri %2.2) bulunmuştur. Çalışma anormal servikal sitolojisi olan veya olmayan Etiyopyalı kadınlarda HR HPV, özellikle HPV16 genotipi ile önemli bir enfeksiyon riskini ortaya koymuştur. Ayrıca, Pap sitolojisi, PCR ile HR HPV enfeksiyonları için tanımlananlara kıyasla kadınların önemli bir bölümünü gözden kaçırmıştır. Bu çalışmadan elde edilen veriler, mevcut olan HPV aşılarının Etiyopya'daki kadınlarda tüm servikal kanser vakalarının yaklaşık %67'sini önleyebileceğini göstermiştir.

Boumba⁽⁹⁶⁾ ve arkadaşları 2015 yılında Güneybatı Kongo'daki Loandjili Genel Hastanesi'ne başvuran hastalar arasında servikal yaymalarda HPV genotiplerinin dağılımını araştırmıştır. Bu amaçla 321 kadında hastane bazlı kesitsel bir araştırma yapılmıştır. Kongo Cumhuriyeti'nde, her 100 000 kadın için 25.2 olarak tahmin edilen

yaşıya göre standardize edilmiş yüksek insidans oranına rağmen, HPV enfeksiyonlarına ilişkin moleküler epidemiyoloji verileri sınırlıdır. Sitolojik tanı ve HPV tespiti için sıvı bazlı sitoloji örnekleri toplanmıştır. MY09/MY11 ve GP5+/GP6+ primerleri kullanılarak nested PCR ve direkt sekanslama yoluyla genotipleme yapılmıştır. HPV6, 11, 16, 18, 31 ve 33 için tipe özgü PCR, çoklu enfeksiyonları değerlendirmek için de kullanılmıştır. İncelenen 321 kadından 189'unda (%58.8) normal sitoloji, 16'sında (%5) ASC-US ve 116'sında (%36.1) sitolojik anormallikler bulunmuştur. HPV DNA sırasıyla 22 (%11.6), 6 (%37.5) ve 104 (%89.6) normal sitoloji, ASC-US ve sitolojik anormalliklerde tespit edilmiştir. Bu oranlar HR HPV için sırasıyla normal sitolojide %7.4 (14/189), ASC-US için %18.7 (3/16) ve anormal sitoloji için %63.8 (74/116); LSIL için %54 (34/63), HSIL için %76.6 (36/47), ve invaziv servikal karsinoma için %66.7 (4/6) idi. ASC-US ve anormal sitoloji birlikte toplam 132 kadından %58.3'ünde (77) HR HPV tespit edilmiştir. HR HPV prevalansı toplam 321 kadında %28.3 (91) bulunmuştur. HPV16, sitolojik durumdan bağımsız olarak en yaygın genotipti ve bunu lezyonu olmayan kadınlarda HPV70 ve lezyonları olanlarda HPV33 izlemiştir. HR HPV prevalansı servikal sitolojiye göre önemli ölçüde değişiklik göstermiştir (P = 0.000). Lezyonu olmayan kadınlar arasında, 30 yaşın altındaki (%60) yaş grubunda ve 50-59 yaş grubundaki (%7.1) iki HPV enfeksiyonu piki gözlenmiştir. Yaş, ilk cinsiyet yaşı, birden fazla cinsel partner ve gebelik, lezyonu olmayan kadınlarda HPV enfeksiyonu için risk faktörleriydi. Bulguların bölgede gelecekteki epidemiyolojik izleme için kanıt veri tabanı olarak kullanılabileceği kaydedilmiştir.

Ali⁽⁹⁷⁾ ve arkadaşları 2019 yılında Körfez İşbirliği Konseyi'nin bazı ülkelerinde kadınlar arasında servikal HR HPV enfeksiyonu prevalansını ve HR HPV enfeksiyon tipleri ile sitoloji sonuçları arasındaki korelasyonu analiz etmiştir. Körfez İşbirliği Konseyi ülkelerinde servikal HPV enfeksiyonunun prevalansına ilişkin güncellenmiş verilerin azlığı, servikal kanser taraması ve HPV aşılama programlarının oluşturulmasını engellemektedir. Çalışmaya Suudi Arabistan Krallığı, Katar, Birleşik Arap Emirlikleri ve Bahreyn'de ikamet eden toplam 2478 kadın alınmıştır. Servikal örnekler eş zamanlı sıvı bazlı sitolojiye ve HR HPV DNA analizine tabi tutulmuştur. HR HPV testi pozitifliği 2478 kadından 520'sinde (%21) bulunmuştur. HR HPV pozitif kadınlar arasında en sık saptanan %63.7 ile HPV16/HPV18 olmayan diğer HR HPV tipleri olmuştur. Arap olmayan kadınlar, Arap kadınlara kıyasla önemli ölçüde daha

yüksek bir HR HPV pozitiflik oranına sahip (%31.6'ya karşı %16.4; $P < 0,001$) bulunmuştur. HR HPV pozitiflik oranı Katar'da ikamet eden kadınlar arasında en yüksekti (%31.3), bunu Bahreyn'de (%20), Suudi Arabistan Krallığı'nda (%17.2) ve Birleşik Arap Emirlikleri'nde (%14.7) yaşayan kadınlar izlemiştir. HR HPV enfeksiyonlarının genel prevalansı, ilerleyen yaşla birlikte önemli ölçüde ($P < 0,001$) azalmıştır. Anormal sitolojiye sahip kadınların HR HPV pozitiflik oranı normal sitolojiye sahip olanlardan (%50.6'ya karşı %14.7; $P < .001$) anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Sitolojik lezyonun şiddeti arttıkça HR HPV pozitiflik oranı artmıştır. Çalışma, Körfez İşbirliği Konseyi ülkelerinde HR HPV prevalansı hakkında güncellenmiş veriler sağlamış ve bu ülkelerde bölgesel/ulusal aşılama ve tarama programlarının başlatılmasını desteklemek için bir kanıt temeli sunmuştur.

Ghaffari⁽⁹⁸⁾ ve arkadaşları Ekim 2005 ve Ocak 2006 yılları arasında yaptıkları çalışmada, İran'da normal ve anormal servikal sitolojiye sahip kadınlarda en yaygın HPV genotiplerini belirlemek için jinekoloji kliniklerine başvuran 127 ve solid servikal tümörlü 7 hasta olmak üzere 134 hastadan örnekler kullanılmıştır. Toplam 127 hastaya sitolojik değerlendirme için rutin Pap testi uygulanmıştır ve aynı ziyarette servikal sürüntü örneği alınmıştır. HPV enfeksiyonu öncelikle GP5/6 primerleri kullanılarak PCR ile değerlendirilmiştir ve daha sonra HPV 16, 18, 31, 33, 11 ve 6 için spesifik primerlerle enfekte örneklerde genotiplendirme yapılmıştır. Sitolojik değerlendirmeden sonra 50 anormal sitolojili ve kalan 77 hasta normal sitolojili grup olarak kategorize edilmiştir. Normal sitolojili grupta 10 vakada (%13) HPV enfeksiyonu tespit edilirken, anormal sitolojili grupta 30 (%60) HPV pozitif vaka tespit edilmiştir. HR HPV prevalansı toplam 127 kadında %28.3 (36) iken normal sitolojili grupta %11.6 (9/77), anormal sitolojili grupta %54 (27/50) olarak bulunmuştur. Enfekte örnekler arasında en yaygın genotipler HPV16 (%76), HPV18 (%12.7), HPV11/6 (%8.5) ve HPV31 (%2) idi. Ayrıca, 7 tümör örneğinin tamamının HPV pozitif olduğu bulunmuştur. HPV16 ile enfeksiyonun anormal grupta normal gruba kıyasla anlamlı olarak daha yüksek olduğu (%42'ye karşı %11.6, P değeri < 0.005), benzer şekilde HPV18 genotiplerinin anormal grupta daha yaygın olduğu kanıtlanmıştır (%8'e karşı 0 %, P değeri < 0.05). Diğer HPV genotipleri ile patolojik servikal değişiklikler arasında anlamlı bir ilişki elde edilmemiştir. Çalışmaya göre, cinsel açıdan aktif İranlı kadınlarda HPV genotipleri ile yüksek enfeksiyon oranları, tarama testlerinde kanıtlanmış displazili hastalarda ve

ayrıca ASC-US'lu hastalarda klinik yaklaşımlarda HPV16 ve HPV18 için moleküler araştırmayı, çok önemli kılmaktadır. İranlı kadınlarda en yüksek koruyucu olan en uygun aşıyı belirlemek için daha büyük çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir.

Thapa⁽⁹⁹⁾ ve arkadaşlarının popülasyon temelli çalışmasının amacı, Hindistan'da Nepal'in orta batı kırsalındaki kadınlar arasında HPV enfeksiyonunun prevalansını ve tip dağılımını ve anormal sitoloji ile yüksek riskli HPV enfeksiyonu arasındaki ilişkiyi değerlendirmektir. Servikal kanser Nepal'de kadınlar arasında en sık görülen kanserdir. Servikal kanser ve prekanseröz lezyonları olan kadınlarda HPV 16 ve/veya HPV 18 prevalansı, dünya popülasyonundaki HPV insidansından daha yüksektir. Ülkenin çoğu yerinde genel popülasyonda HPV'nin popülasyona dayalı epidemiyolojik verileri bilinmemektedir. Nepal'in en uzak bölgelerinden biri olan Jumla'da popülasyona dayalı bir kesitsel çalışma yapılmıştır. Mayıs 2016'dan Ocak 2017'ye kadar yürütülen mobil Servikal kanser Tarama Kliniklerinde 20-65 yaşları arasındaki evli ve hamile olmayan kadınlardan toplam 1050 servikal örnek toplanmıştır. HPV DNA varlığı ilk olarak PGMY09/PGMY11 primerleri kullanılarak HPV konsensus PCR ile doğrulanmıştır. Ardından HPV pozitif örnekler, 21 HR HPV ve LR HPV tipini saptamak için membran hibridizasyon yöntemiyle genotiplendirilmiştir. Normal ve anormal sitolojiye sahip kadınlarda HR HPV prevalansı hesaplanmıştır. Veriler, Windows için SPSS yazılımı kullanılarak analiz edilmiş, $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Ortalama yaş 32.6 ± 8.6 yıl ve ortalama evlilik yaşı 16.7 ± 3.8 yıl olan toplam 998 kadın bu çalışma için uygun bulunmuştur. HPV enfeksiyonlarının genel prevalansı %19.7 olup HR HPV ve LR HPV için sırasıyla %11.7 ve %8.7 idi. En yaygın altı HR HPV tipi HPV16 (%6.7), HPV39 (%4.8), HPV58 (%2.8), HPV33 (%2.6), HPV51 (%1.4) ve HPV18 (%1.2) idi. Diğer HR HPV tipleri sırasıyla HPV53 ve HPV56 her biri (%0.8), HPV31 (%0.6), HPV52 (%0.4), HPV35, HPV66 ve HPV68 her biri (%0.3) ve HPV45 (%0.1)'dir. Anormal ve normal sitolojisi olan kadınlarda HR HPV enfeksiyonu sırasıyla %27.3 ve %10.8 bulunmuştur. Jumla'da yaşayan kadınlar arasında Nepal'in diğer bölgelerine göre daha yüksek bir HR HPV enfeksiyonu prevalansı olduğu ve HR HPV 16, 39, 58, 33, 51 ve 18 bu bölgedeki en yaygın genotipler olarak bildirilmiştir. Veriler, Orta Batı Nepal'de HPV ve HR HPV genotipleri prevalansı hakkında epidemiyolojik bilgilere katkıda bulunmuştur.

Mu-Mu-Shwe⁽¹⁰⁰⁾ ve arkadaşları Myanmar'daki Tıbbi Araştırmalar Departmanı'nın servikal kanser tarama kliniğine başvuran kadınlarda normal ve anormal servikal sitoloji prevalansını ve HR HPV enfeksiyon oranını ve HPV genotiplerini belirlemeyi amaçlamıştır. Toplam 1771 kadın 2010'dan 2011'e kadar taranmıştır. Bunlardan 762'si (%43) normal sitolojili olup 866'sı (%48.9) inflamatuvar ve 87'sine (%4.9) ASC-US tanısı konmuştur. LSIL ve HSIL tanıları sırasıyla 42 (%2.3) ve 11 (%0.6) idi. Üç skuamöz hücreli karsinom (SCC) vakası (%0.2) tespit edilmiştir. Normal sitolojiye sahip 20 kadından ve anormal servikal sitolojiye sahip 96 kadından toplanan toplam 116 servikal sürüntü örneği HR HPV DNA testi ile analiz edilmiştir. HR HPV DNA testi, pU1M/pU2R primerleri ile PCR testi ile yapılmıştır ve %41.4'ü (48) HR HPV pozitif bulunmuştur. HR HPV anormal sitolojili kadınların %48.9'unda (47/96) tespit edilmiştir. HR HPV, inflamatuvar yaymaların %35.5'inde (22/62), ASC-US'un %60'ında (6/10), LSIL'in %86.7'sinde (13/15), HSIL'in %50'sinde (3/6), SCC'nin %100'ünde (3/3) ve normal sitolojili olanların %5'inde (1/20) bulunmuştur. PCR pozitif vakalarda HPV genotipleme, klivaj amplifikasyon polimorfizmi yöntemiyle analiz edilmiştir. En yaygın HPV genotipleri HPV16 (%60.4) olurken, bunu HPV31 (%14.6), HPV18 (%12.5) ve HPV58 (%12.5) izlemiştir. Anormal servikal sitolojiye sahip kadınların HR HPV pozitif olma olasılığı normal sitolojiye sahip kadınlara göre 10 kat daha fazla ($p=0,0001$) bulunmuştur. Çalışma, HPV ile ilişkili servikal kanserin yükünü azaltmak için servikal sitoloji tarama programının uygulanmasının ve ergenlik öncesi ve ergen gruplarında HPV'ye karşı rutin aşılamanın gerekli olduğunu göstermiştir.

Zhao⁽¹⁰¹⁾ ve arkadaşları 2014 yılında bunun Çin'in kırsal kesimlerinde HR HPV genotip dağılımını ve farklı derecelerdeki servikal lezyonlarla ilişkisini araştırmak için 1274 kadın Shanxi Eyaleti Servikal Kanser Tarama Çalışması I'e dayalı olarak takip edilmiştir. HPV DNA testi (Hybrid Capture 2), sıvı bazlı sitoloji ile taranmıştır. HC2 pozitif örneklerde lineer ters prob hibridizasyonu (SPF10-PCR-LiPA) ile HPV genotipleme yapılmıştır. Spesifik HR HPV tipinin farklı derecelerde servikal lezyonlarla ilişkisi, bir fraksiyonel katkı yaklaşımı kullanılarak tahmin edilmiştir. Kadınların %15.2'si (194/1.274) 13 HR HPV tipinden (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 ve 68) herhangi biri için pozitif olup ve en yaygın HR HPV tipleri HPV16 (%19.1), HPV52 (%16.5) HPV 58 (%16.5), HPV 33 (%13.4) ve HPV 56 (%11.9) idi. HR-HPV prevalansı normal sitoloji, CIN1 ve CIN2+ sırasıyla %11.1

(133/1199), %72.5 (29/40) ve %91.4 (32/35) idi. HR-HPV prevalansı, servikal lezyon şiddeti ile pozitif ilişkili ($p<0,001$) idi. Anormal sitolojili olanlarda HR HPV %81.3 (61/75) oranında bulunmuştur. HR HPV pozitif servikal intraepitelyal neoplazi derece 1 (CIN1)'de en sık saptanan genotipler HPV52 (%24.1), HPV31 (%20.7), HPV16 (%13.8), HPV33 (%13.8), HPV39 (%10.3), ve HPV56 (%10.3); HR HPV pozitif servikal intraepitelyal neoplazide derece 2 veya üstü (CIN2+)’de ise HPV16 (%53.1), HPV58 (%15.6), HPV33 (%12.5), HPV51 (%9.4) ve HPV52 (%6.3)’dir. HPV52, 31, 16, 33, 39 ve 56 birlikte HR HPV pozitif CIN1'in %89.7'sine ve HPV16, 33, 58, 51 ve 52 birlikte CIN2+'nın %87.5'ine katkıda bulunmuştur. Özetle, kırsal bir Çin popülasyonunda, CIN'lerde özellikle HPV16, 31, 33, 52 ve 58 için farklı onkojenik HPV tiplerin prevalansı ve ilişkisinde önemli farklılıklar bulunmuştur. Bu farklılıkların hem klinik yönetim hem de önleyici stratejilerin tasarımı için önemli olabileceği, tipe özgü HPV tarama testlerine ve yeni polivalan HPV aşılarının geliştirilmesine katkıda bulunacağı rapor edilmiştir.

Li⁽¹⁰²⁾ ve arkadaşlarının Çin’de Sichuan eyaletinde kadınlarda sitoloji sonuçlarıyla HPV epidemiyolojik özelliklerine ilişkin yaptıkları araştırma Haziran 2016’dan Temmuz 2017’ye kadar yürütülmüştür. HPV testi yaptıran toplam 10953 kadın çalışmaya dahil edilmiştir. Sıvı bazlı sitolojik ve histolojik sonuçlar toplanmıştır. Sichuan eyaletinde genel HPV enfeksiyon oranı %24.1 idi. HR HPV prevalansı %19.9 idi. HR HPV genotipleri için, HPV52 (%15.5) en yaygın genotipti, bunu HPV16 (%13.8), HPV58 (%13.3), HPV51 (%8.6), HPV39 (%8.1) ve HPV68 (%7.8) izledi. HPV58’in, HPV52’ninkinden daha yüksek onkojenik potansiyeli gözlemlendi. Kadın hastalıkları ve diğer kliniklerdeki hastalarda yaşa özgü prevalans farklıdır. Ayrıca aynı yaştaki hastaların HR HPV prevalansı ve LR HPV prevalansı da farklıdır. Özetle, bu verilerin Sichuan’daki aşılınmamış kadınlar için değerli bilgiler sağladığı ve HPV aşısının etkinliğinin izlenmesine katkıda bulunacağı belirtilmiştir. Çalışma ayrıca Siçuanlı kadınlarda yüksek HR HPV yükünü ve özellikle ileri yaş kadınlarda HPV temelli taramanın aciliyetini göstermektedir. Ayrıca, kadınları mevcut olan HPV aşılardan herhangi biri ile aşılama için her türlü çaba gösterilmesi gerektiği vurgulanmıştır.

Bi⁽¹⁰³⁾ ve arkadaşları 2015 yılında Doğu Çin, Qingdao’dan ayakta tedavi gören kadın hastalarda HPV genotiplerinin dağılımını araştırmayı amaçlamıştır. Çalışmaya

jinekolojik bakım için tıbbi kurumu ziyaret eden kadınlardan alınan toplam 4534 servikal sürüntü dahil edilmiştir. HPV genotipleri, bir PCR bazlı hibridizasyon gen çipi testi ile incelenmiş ve servikal sitolojiyi değerlendirmek için sıvı bazlı sitoloji analizi kullanılmıştır. Genel HPV prevalansı %32.2 (1459/4534) HR HPV prevalansı ise %27.6 (1253/4534) idi. Toplam 23 HPV genotipi tanımlanmıştır ve en yaygın beşi HPV16 (%16.1), HPV52 (%8.9), HPV58 (%7.9), HPV6 (%7) ve HPV53 (%6.5) idi. HPV'nin yaşa özgü prevalansı en genç yaş grubunda bir tepe noktası sergiledi ve HPV pozitif oranı yaş artmasıyla birlikte kademeli olarak azaldı. Ancak yüksek riskli HPV enfeksiyonları ileri yaş kadınlar arasında daha yaygındı. Ayrıca servikal sitoloji ile HPV enfeksiyonu arasında da ilişki saptanmış, sitolojisi normal olan kadınların %27.2'si (1124/4126) HPV pozitif (%22.5'i HR HPV pozitif) ve anormal sitolojisi olan kadınların ise %82.1'i (335/408) HPV pozitif (%78.9'u HR HPV pozitif; ASC-US %70.7, LSIL %81.7 ve HSIL %91 ve ICC %100) bulunmuştur. HPV16 prevalansı normal sitoloji, ASC-US, LSIL, HSIL ve ICC'de sırasıyla %23.9, %34.5, %15.3, %49.3 ve %81.8 bulunmuştur. HPV52 için bu oranlar sırasıyla %15.2, %11.3, %9.9, %17.1 ve %45.5 idi. HPV58 için ise %12.3, %14.8, %11.7, %22 ve %36.4'dür. Bu bulguların yeni epidemiyolojik veriler sağladığı ve aşılama programı için yol gösterici olacağı bildirilmiştir.

Chen⁽¹⁰⁴⁾ ve arkadaşları Güney Çin'deki Guangdong eyaletinde bulunan Chaozhou şehrindeki HPV enfeksiyonu profillerini ve sitoloji durumunu değerlendirmeyi amaçladıkları çalışmaya toplam 2833 kadın katılmıştır. HPV tespiti ve genotipleme için HPV GenoArray testi kullanılmıştır. Genel, yüksek riskli ve düşük riskli HPV enfeksiyonu prevalansı sırasıyla %24.5 (694/2833), %19.5 (551/2833) ve %8.4 (237/2833) idi. Genel HPV ve yüksek riskli HPV'de U şeklinde yaşa özgü bir prevalans eğrisi gözlemlendi, ancak yaş arttıkça azalan düşük riskli HPV'de gözlenmedi. Azalan sırada en yaygın 6 yüksek riskli HPV52 (%5.01), HPV16 (%4.62), HPV58 (%2.89), HPV18 (%2.01), HPV68 (%1.69) ve HPV33 (%1.45) idi. Toplam 319 HPV pozitif kadına (319/694, %46.0) sitoloji testi yapıldı. HPV pozitif popülasyondaki anormal sitoloji yüzdesi %31 (99/319) idi. Yaş ve HPV genotipi anormal sitoloji insidansının önemli belirleyicileriydi, ileri yaş kadınların (>45 yaş) ve HPV tip 16 ve/veya 18 ile enfekte olanların anormal sitoloji açısından en yüksek riske sahip olduğu belirlendi. Bulgular, HPV52 ve HPV58 dahil olmak üzere ikinci nesil HPV profilaktik

aşılarının Chaozhou'da ve Guangdong'daki komşu şehirlerde ikamet eden kadınlar için daha yüksek koruma sağlayabileceği hipotezini desteklemektedir.

Ouh⁽¹⁰⁵⁾ ve arkadaşlarının araştırmasında Ocak 2014 ve Aralık 2016 yılları arasında Kore'de sağlıklı kadınlarda HPV genotiplerinin prevalansı ve dağılımını tespit için Kore Tıp Enstitüsü'ne sağlık kontrolleri için başvuran toplam 18.170 kadın retrospektif olarak çalışmaya dahil edilmiştir. HPV genotiplemesi ve konvansiyonel servikal sitoloji uygulanmıştır. Anyplex™ II HPV 28 Detection (Seegene) veya HPV Liquid Bead Microarray (Osang Healthcare) kullanılarak HPV DNA testi yapılmıştır. HPV genotiplerinin dağılımı servikal sitoloji ve yaşa göre değerlendirilmiştir. Kayıtlı 18170 kadının 3037'sinde (%16.71) HPV olup 2268'inde (%12.48) HR HPV tespit edilmiştir. HR HPV normal sitoloji grubunda %11.4 (2012/17717) ve anormal sitoloji grubunda %58.2 (250/429); ASC-US için %40.4 (92/228) ve LSIL için %74.8 (113/151), HSIL/ASC-H için %90 (45/50) oranlarında tespit edilmiştir. HPV pozitifler arasında en sık görülen tip HPV53 (%9.69), ardından HPV58 (%7.9), HPV52 (%7.81), LR HPV54 (%6.99), LR HPV70 (%6.41), HPV16 (%5.86), HPV39 (%5.62), HPV68 (%4.93), HPV51 (%4.14) ve HPV56 (%4.04) tespit edilmiştir. HPV54 (%6.99) düşük riskli kişilerde yaygındı. Genel olarak ve normal sitoloji grubunda, en yaygın HPV genotipi HPV 53 iken, HPV 58, ASC-US veya LSIL sitolojisi olan kadınlarda daha yaygındı. Ek olarak, HPV16, HSIL/ASC-H'li vakalarda en sık görülen tipti. Normal sitolojisi olan kadınlardan 24 yaşın altındaki 231 kadından 76'sı (%32.9) HR HPV pozitif iken, 55-59 yaşları arasındaki 852 kadından 84'ü (%9.9) pozitif. Sonuç olarak HPV 53, sağlıklı kadınlarda en sık görülen genotipti. HPV genotiplerinin dağılımı servikal sitoloji ve yaşa göre değişiklik göstermiştir. Çalışma, yakın zamanda uygulanan ulusal HPV aşılama programı için önemli temel veriler sağlamıştır.

Yamasaki⁽¹⁰⁶⁾ ve arkadaşlarının çalışmasında Japonya'da Nagasaki'de, anormal sitolojisi olan kadınlarda genital insan papilloma virüsü (HPV) enfeksiyonlarının ve genotiplerinin aşılama öncesi epidemiyolojisini araştırmak için Ağustos 2007'den Kasım 2009'a kadar çalışma periyodu sırasında, anormal sitolojisi olan veya klinik olarak invaziv servikal kanserden şüphelenilen 539 kadından seri servikal örnekler alınmıştır. Linear Array HPV Genotyping Test (Roche Molecular Systems Inc., USA) kullanılarak intraepitelyal lezyon veya malignite için negatif olan 154 kadından %43.5'inde (67) HPV pozitif bulunmuştur. Normal sitolojili kadınlarda en yaygın üç

HR HPV genotipi, HPV 52 (%23.9; 16/67), HPV 16 (%23.9;16/67) ve HPV 71 (%11.9; 8/67) olup ortalama yaş 41, LSIL tanılı 125 kadından %95.2'sinde (119) HPV pozitif olup, ortalama yaş 40 idi. LSIL'li 119 HPV pozitif kadında en yaygın üç HR HPV genotipi HPV 52 (%21.8; 26/119), HPV 16 (%20.2; 24/119) ve HPV 56 (%17.6;21/119) idi. HSIL'li 128 kadında HPV prevalansı %99.2 (127) olup, ortalama yaş 41 idi. LSIL ve HSIL grubundan oluşan anormal sitolojili olanlarda HR HPV pozitifliği %97.2 (246/253) bulunmuştur. Normal sitolojili 154 ve anormal sitolojili 253 olmak üzere toplam 407 kadında HR HPV pozitifliği %76.9 (313) idi. Sitolojik olarak skuamöz hücreli karsinom tanılı 71 kadının %94.4'ünde (67), HPV enfeksiyonu olup ortalama yaş 56 idi. HSIL'li 127 HPV pozitif ve skuamöz hücreli karsinomlu 67 HPV pozitif toplam 199 kadında, en yaygın üç HR HPV genotipi HPV16 (%44.3; 86/194), HPV52 (%20.6; 40/194) ve HPV58 (%16.0; 31/194) idi. Sonuç olarak yüksek riskli HPV genotiplerinin diğer ülkelerdeki dağılımı ile karşılaştırıldığında, HPV52 Nagasaki'de daha yaygın bir genotip olarak bulunmuştur. Hastalığın servikal kansere ilerlemesiyle, A6 HPV ailesine ait yüksek riskli HPV56'nın dağılımı azalırken, A9 HPV ailesine ait HPV16 ve HPV52 devam etmiştir. Veriler, Japonya'da HPV16 ve HPV18 dışındaki HPV genotiplerine karşı aşılama için önemli bir kaynak sağlamıştır.

Tsao⁽¹⁰⁷⁾ ve arkadaşlarının çalışmasına Ocak 2008 ve Nisan 2008 yılında Kuzey Tayvan'ın genel popülasyonunda HPV genotiplerinin prevalansını tespit için rutin jinekolojik bakım için tıp merkezini ziyaret eden kadınlardan alınan toplam 343 ardışık servikal sürüntü dahil edilmiştir. Servikal hücre sitolojisi Papanicolaou (Pap) testi ile incelenmiş ve HPV genotiplerini belirlemek için PCR tabanlı hibridizasyon gen çip analizi kullanılmıştır. Genel popülasyondaki HPV prevalansı %32.4 bulunmuştur. Sitolojiye göre iki gruba ayrıldığında, sitolojisi normal olan kadınların %20.9'u HPV pozitif, anormal sitolojisi olan kadınların ise %75.3'ü HPV pozitif idi. Pozitif örneklerin %68.5'i tek tip enfeksiyon iken, %31.5'i birden fazla HPV tipi barındırmıştır. Toplam 32 tip HPV tanımlanmıştır; önde gelen beş HPV16 (%5.8), HPV58 (%5.3), HPV53 (%4.1), HPV52 (%3.8) ve HPV18 (%2.3) idi. Diğer HR HPV tipleri sırasıyla HPV31 (%2), HPV33 (%1.2), HPV68 (%1.2), HPV35, HPV51, HPV56, HPV66 ve HPV45 (her biri %0.6) idi. Sitoloji ve genotipleme 284 örnekte (215 normal sitoloji ve 69 anormal sitoloji) yapılmıştır ve HR HPV prevalansı %27.8 (79/284) olup normal sitolojili grupta %13.9 (30/215) ve anormal sitolojili grupta %71 (49/69) bulunmuştur. Sonuçların temel

verileri oluşturduğu ve gelecekteki profilaktik programlar için önemli çıkarımlar sağlayabileceği bildirilmiştir. Kuzey Tayvanlı kadınlar arasında HPV 58, 53 ve 52'nin nispeten yüksek prevalansı, aşı gelişimi için önemli etkilere sahiptir.

Tabrizi⁽¹⁰⁸⁾ ve arkadaşları Nisan 2005 ve Şubat 2008 arasında yaptıkları çalışmasında yaş ve sitoloji durumuna göre rutin Pap testi taraması için başvuran 2557 Avustralyalı kadın arasında HPV genotiplerinin prevalansını araştırmışlardır. Thinprep örneklerinden hazırlanan DNA ekstraktları, Roche Linear Array HPV testi kullanılarak genotiplendirilmiştir. HPV prevalansı ve genotip dağılımı yaşa (18-60 yaş arası, ortalama 32.6 yaş) ve Pap testi sonucuna (sitoloji normal %86.7) göre katmanlara ayrılmıştır. Genel HPV prevalansı %38.7 ve HR HPV prevalansı %26.5 bulunmuştur. HPV prevalansı (kadınlarda <21 yaşında %66.3 ile >40 yaş %15.3), çoklu HPV enfeksiyonu (<21 yaş %45.5 ile >40 yaşında %5.8) ve aşı hedefli genotipler (HPV 6/11/16/18) (<21 yaş %34.1 ile >40 yaş %2.4) yaşla birlikte önemli ölçüde azalmıştır. En yaygın altı genotip HPV16 (%8.3), 51 (%5.1), 53 (%4.7), 62 (%4.3), 89 (%3.9) ve 52 (%3.8) idi. HR HPV prevalansı normal sitolojisi olan kadınlarda %21.1'den (478/2271) LSIL olanlarda %68.6'ya (164/239) HSIL olanlarda %80.9'a (38/47) yükselmiştir (p<0,001). HSIL'li kadınlarda en yaygın genotipler HPV16 (%51.1), 18 (%14.9), 52 (%12.8), 31 (%10.6) ve 33 (%10.6)'dır. Sonuç olarak anormal sitolojili kadınlarda HR HPV prevalansı %70.6 (202/286) bulunmuştur. Taramaya katılan Avustralyalı kadınlardan oluşan bu örnekleme HR HPV enfeksiyonunun aşılama öncesi kesitsel prevalansı yüksek olup HPV16, tüm yaşlarda ve sitolojik derecelerde saptanan en yaygın yüksek riskli tiptir.

Cordel⁽¹⁰⁹⁾ ve arkadaşları Karayipler'de Fransa denizaşırı adaları'ndan Guadeloupe'deki sağlıklı kadınlar arasında HR HPV servikal enfeksiyonları ve tip dağılımını değerlendirdikleri araştırmada 1 Ocak 2013-31 Aralık 2014 tarihleri arasında adadaki en büyük patoloji laboratuvarında servikal kanser taramasına katılan ve HPV genotipleme yapılan ardışık kadınların verileri geriye dönük olarak kaydedilmiş ve HR HPV genotipleme sonuçları olan 618 kadın (ortanca yaş 42) çalışmaya dahil edilmiştir. HR HPV servikal enfeksiyonunun genel prevalans oranı %36.1 (%95 güven aralığı (GA) %32.3-40.0) olup diğer HPV tiplerinden bağımsız olarak HPV 16 veya 18, %7.3 (%95 CI 5.4- %9.6); HPV 16 veya 18 hariç diğer HR HPV tipleri, %28.8 (%95 GA %25.3-32.5) tespit edilmiştir. Genel HR HPV, HPV16 ve/veya HPV18 ve HPV16

ve 18 dışındaki HR HPV prevalans oranları, sırasıyla normal sitoloji için %25.1, %5.4 ve %19.7'den ASC-US için %65.1, %11.3 ve %53.8'e ve LSIL'de %77.4, %9.7 ve %67.7 oranlarla HPV16 ve/veya HPV18 hariç diğerleri için sitoloji derecesinin ciddiyeti ile önemli ölçüde artmıştır ($p<0,001$). Guadeloupe'de yaş ve sitoloji derecesinden bağımsız olarak 16 ve 18 dışındaki genotiplerle HR HPV servikal enfeksiyonunun yüksek prevalans oranı, Karayip ülkesinde HPV enfeksiyonu ile ilişkili kanserleri önlemek için yeni dokuz valanslı HPV aşısının potansiyel bir yararı olduğunu düşündürmektedir.

Najioullah⁽¹¹⁰⁾ ve arkadaşlarının Karayipler'de Martinik adasında popülasyona dayalı bir çalışmada Karayipli kadınlar arasında servikal HPV'nin genotip dağılımını inceledikleri çalışmaya 2009-2014 yılları arasında servikal kanser taraması yapılan 1075 kadın dahil edilmiştir. Karayipler, dünyada servikal kanserden en çok etkilenen bölgeler arasında yedinci sırada yer alır. HPV prevalansı ve genotip dağılımları bölgelere göre farklılık göstermektedir. HPV genotip profillerinin bilinmesi hasta bakımı ve HPV aşısının uygulanması için önemlidir. Servikal yaymanın sitolojik incelemesi yapılmış ve Bethesda sistemine göre sınıflandırılmıştır. HPV DNA tespiti, PapilloCheck High-Risk Test (Greiner Bio-One, Germany) ile gerçekleştirilmiştir. HPV genotipleri, 18 HR HPV ve 6 LR HPV tipi için analiz edilmiştir. Yaş ortalaması 49.1 ± 10.5 olan toplam 1075 kadında HPV prevalansı %27.6 (297/1075) olup kadınların %19.4'ünde (209/1075) sadece HR HPV, %5.3'ünde (57/1075) sadece LR HPV bulunmuştur. HR HPV vakalarında %12.9 (31/240) oranında çoklu enfeksiyon (HR HPV/LR HPV) tespit edilmiştir. Toplam 353 HR HPV genotipi analiz edildiğinde en yaygın HPV tipleri HPV51 (%11), HPV68 (%10.8), HPV53 (%9.1) ve HPV52 (%7.1) idi. Diğer HPV tipleri sırasıyla HPV66, HPV70, HPV56 ve HPV33 her biri %6.2, HPV58 %5.7, HPV16 %4.8, HPV31 ve HPV5 9 herbiri %4.5, HPV18 %4, HPV39 %3.7, HPV35 %3.4, HPV45 %3.1, HPV82 %2.8 ve HPV73 %0.6 oranlarındadır. HPV16 ve HPV18, HR HPV genotiplerinin sırasıyla %4.8 ve %4.0'ünü temsil etmiştir. Anormal sitoloji 14 ASC-US (%1.3), 10 LSIL (%0.9), 5 HSIL (%0.5), 3 ASC-H (%0.3) ve 2 AGC (%0.2) olmak üzere 34 olguda (%3.2) gözlenmiştir. Anormal sitolojili grupta HR HPV prevalansı %44.1 (15) ve LR HPV prevalansı %14.7 (4) idi; 7 HR HPV vakası 25-34 yaş grubundaydı. Normal sitolojili 1041 vakasından %21.6'inde (225) HR HPV pozitif bulunmuştur. Bu, ülkede HPV profillerinin toplum temelli ilk çalışması olup ve yüksek

bir HR HPV prevalansı ile en yaygın genotipler HPV51, HPV68 ve HPV53 olmuştur. Bu sonuçların Martinique'de kanser aşılama stratejilerine ve HPV süreyansına katkıda bulunacağı bildirilmiştir.

Dickson⁽¹¹¹⁾ ve arkadaşları Amerika Birleşik Devletleri'nde Minneapolis'de sitoloji sonuçları bilinen 31-65 yaş arası kadınlarda servikal tek ve çoklu HPV enfeksiyon oranlarını belirlemek için tipe özgü HPV analizleri, Temmuz 2007 ile Mayıs 2011 arasında servikal kanser taramasının bir parçası olarak HPV tiplemesi yapılan kadınların örnekleri kullanılarak yapılmıştır. Testlerde 31-65 yaşları arasındaki ve anormal sitoloji sonuçları olan kadınlar dahil edilmiştir. Çoklu ve tek HPV enfeksiyonları için anormal sitoloji olasılıkları (normal sonuçlara kıyasla) her sitoloji tipi için hesaplanmıştır ve olasılık oranları (odds ratio; OR) ve %95 güven aralıkları (confidence interval; CI) rapor edilmiştir. Analize çoğunluğu (%67.7) ASC-US servikal sitolojiye sahip 8182 kadın dahil edilmiştir. Normal sitolojili 1923 (%23.5), ASCUS 5402 (%66), ASCUS-H 74 (%0.9), LSIL 618 (%7.6), HSIL 57 (%0.7), diğer 105 (%1.3) ve karsinoma 3 (%0.04) tanımlı örnek tespit edilmiştir. Diğer ve karsinoma tanımlı kadınlar hariç 8074 kadında onkojenik HPV prevalansı %11.2 (953) olup normal sitolojili olanlarda %3.9 (76; tekli %3.7, çoklu %0.2), ASC-US olanlarda %11.4 (615; tekli %10.5, çoklu %0.9), LSIL %33.6 (208; tekli %29.1, çoklu %4.5) veya HSIL %57.9 (33; tekli %54.4, çoklu %3.5) ve ASC-H %28.4 (21; tekli %25.7, çoklu %2.7) bulunmuştur. Örneklerin toplam 329'u (%4) iki veya daha fazla HPV tipi için pozitif. Tüm servikal sitoloji tipleri için (ASCUS, ASCUS-H, LSIL veya HSIL), çoklu tip enfeksiyonu olan kadınların anormal sitolojiye (normal sitolojiye kıyasla) sahip olma olasılığı daha yüksekti ve en yüksek OR, HSIL ile ilişkiliydi (OR 1.81 [1.26-2.60]). Tek başına HPV tip 16 analiz edildiğinde, çoklu tip enfeksiyonu olan kadınların anormal sitolojiye sahip olma olasılığı daha yüksekti ve en yüksek OR HSIL sitolojisiyle ilişkiliydi (OR 2.98 [1.57-5.64]). Çok az kadında HPV18 enfeksiyonu vardı ve hiçbir sonuç istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı. Sonuç olarak 31-65 yaş arası çoklu tip HPV enfeksiyonu olan kadınların anormal sitolojiye sahip olma olasılığı, tek HPV tipi enfeksiyonu olanlara göre daha fazla tespit edilmiştir.

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakültesi Jinekolojik Onkoloji Bölümüne Ekim 2021-Şubat 2022 arasında başvuran normal ve anormal servikal sitolojisi olan kadınlarda yüksek riskli HPV prevalansı ve genotiplerinin dağılımını araştırmak

amacıyla yaptığımız bu çalışmada HPV aşısı yapılmamış yaşları 20-65 arasında olan toplam 232 kadından 200'ü (%86.2) normal ve 32'si (%13.8) anormal sitolojiye sahipti. Anormal servikal sitolojili 32 kadından 20'sinde (%62.5) ASC-US, 8'inde (%25) LSIL, 3'ünde (%9.4) HSIL ve 1'inde (%3.1) ASC-H tespit edildi.

HR HPV prevalansı %39.2 (91) olup normal sitolojili 200 kadından %33'ü (66) ve anormal sitolojili 32 kadından %78'i (25) HPV pozitif bulundu. Böylece, HPV pozitif 91 kadının, %27.4'ünün (25/91) anormal sitolojili olduğu tespit edildi. Anormal sitolojili 32 kadından %43.8'i (14) ASC-US, %21.8'i (7) LSIL, %9.3'ü (3) HSIL ve %3.1'i (1) ASC-H tanıli olup HPV pozitif idi.

Toplam 232 kadında HPV pozitif olan kadınların çoğu %16.8 oranla 40-49 yaş arasında idi. Normal sitolojili 200 kadında HPV pozitifliği %15.5 oranla yine en çok 40-49 yaş grubunda iken, anormal sitolojili 32 kadından HPV enfeksiyonu olanlar sırasıyla %25'i 40-49 yaş ve %25'i 50-65 yaş grubunda iki pik yaptı.

Çalışma grubunda yer alan kadınlara ait yaş, medeni hal, eğitim durumu, sigara, gebelik sayısı, menapoz, oral kontraseptif kullanımı ve hormon replasman tedavisi gibi demografik özellikler incelendiğinde HPV DNA pozitifliği, 20-29 yaş grubunda %15.7, 30-39 yaş grubunda %38.9, 40-49 yaş grubunda %43.8 ve 50-65 yaş grubunda ise %40 olup yaş grupları arasında önemli farklılık tespit edilmedi. HPV DNA prevalansı, bekarlarda %65.2 oranla evlilerdekine %32.8'den daha yüksek ve yine sigara kullanan kadınlarda (%53.4) kullanmayanlardakine (%30.5) göre daha yüksek olduğu gözlemlendi. Hiç gebe kalmayan kadınlarda da %60.9 ile 1-2 kez gebe kalanlardaki %43 ve ≥ 3 'ten fazla gebe kalanlardaki %30.4 oranlarından daha yüksek bulundu. Diğer faktörlerle HPV pozitifliği arasında önemli bir ilişki bulunmadı.

HPV pozitif bulunan 91 kadından %40.7'sinde tek HPV enfeksiyonu ve %59.3'ünde çoklu HPV enfeksiyonu saptandı.

Normal sitolojili 200 kadında HPV prevalansı %33 olup çoklu HPV enfeksiyonu %21.5 oranı %11.5'lik tekli enfeksiyona göre daha yüksek bulundu. Anormal sitolojili 32 kadından %78'i (25) HPV pozitif olup çoklu ve tek HPV enfeksiyonu sırasıyla %34.3 ve %43.7 oranları ile benzerdi.

Normal sitolojili 200 kadın ve anormal sitolojili 32 kadında çoklu HPV enfeksiyonu olanların çoğu sırasıyla %8.5'i ve %12.5'i 40-49 yaş grubunda yer aldı.

Toplam 232 kadında en yaygın ilk beş HPV tipi sırasıyla HPV16 (%21.1), HPV31 (%12.9), HPV18 (%10.3), HPV52 (%7.7), HPV45 (%6) olup dokuz valanlı HPV aşısında bulunan HPV tipleri ile benzerdir. Çalışma grubumuzda belirlenen diğer HPV genotipleri sırasıyla HPV39 (%3.4), HPV56 (%2.6), HPV66 (%2.6), HPV33 (%1.7), HPV51 (%1.7), HPV59 (%1.7), HPV35 (%1.3), HPV58 (%1.3) ve HPV68 (%0.9)'dir.

Normal sitolojili grupta %18 oranla HPV16 en baskın tip olup bunu HPV31 (%13.5), HPV18 (%8.5), HPV52 (%6) ve HPV45 (4.5%) izledi. Anormal sitolojili grupta ise en sık görülen yine HPV 16 (%40.6) olup ardından HPV18 (%21.9), HPV52 (%18.7), HPV45 (%15.6) ve HPV56 (%12.5) bulundu. Anormal sitolojili grupta HPV genotiplerinin prevalansının daha yüksek olduğu gözlemlendi.

HPV pozitif 91 kadında genotiplerin yaş grubuna göre dağılımına bakıldığında, HPV16 pozitif kadınların %19.8 oranla en çok 40-49 yaş grubunda, HPV18 ve HPV31 tiplerinin de en fazla sırasıyla %12.1 ve %15.4 oranlarla aynı yaş grubunda yer aldığı belirlendi.

HPV pozitif normal sitolojili 66 kadında HPV tiplerinin prevalansının yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde HPV16, HPV18, HPV31, HPV45 ve HPV66 sırasıyla en çok 40-49 yaş grubunda %21.2, %13.6, %19.7, %7.6 ve %4.5 oranlarında bulundu. HPV33 %3, HPV39 %4.5 ve HPV56 %3 oranla en çok 30-39 yaş grubunda ve HPV52 %9.1 oranla en fazla 50-65 yaş grubunda tespit edildi.

HPV pozitif 25 anormal sitolojili kadında tip spesifik HPV prevalansı yaşa göre dağılımı analiz edildiğinde HPV16'nın %20 ve HPV56'nın %8 oranla en çok 30-39 yaş grubunda olduğu gözlemlenmiştir. HPV18 %12 ile en çok 50-65 yaş ve HPV52 %12 oranla 40-49 yaş grubunda yer aldı. HPV45 hem 30-39 yaş hem de 50-65 yaş grubunda %8 ile yüksek oranda bulundu.

HPV16 normal sitolojili gruptakine (%21.2; 40-49 yaş) göre anormal sitolojili grupta daha erken yaşlarda (%20; 30-39 yaş) tespit edildi. HPV16 ile ilişkili prekanseröz lezyoların daha hızlı geliştiği ile koreledir. HPV52 de normal sitolojide ileri yaşlarda (50-65 yaş) daha yüksek oranda (%9.1) gözlenirken anormal sitolojide daha erken yaşlarda (40-49 yaş) yüksek oranda (%12) bulundu. HPV 18 ise anormal sitolojide 50-65 yaş grubunda yüksek oranda (%12) gözlemlendi.

Normal sitolojili 200 kadından %11.5'inde (23) tekli, %15'inde (30) ikili ve %6.5'inde (13) üç ve üzeri çoklu HPV enfeksiyonu bulundu. Tek HPV enfeksiyonu en

çok HPV16 tipi (%4) ve ikili HPV enfeksiyonu en çok HPV16 ve HPV31 birlikteliği (%4) şeklinde gözlemlendi. Üçlü enfeksiyon en çok %2 oranla HPV16, HPV18 ve HPV31 genotipleri olarak bulundu.

ASC-US tanılı 20 kadının %70'i (14), LSIL olan 8 kadının %87.5'i (7), HSIL olan 3 kadının %100'ü (3) ve ASC-H olan %100'i (1) HPV pozitif tespit edildi.

HPV pozitif ASC-US'lu kadınlar (14) arasında %50 ile en baskın tip HPV16 iken LSIL (7) grubunda her biri %42.8 oranla HPV16, HPV45 ve HPV56 ve HSIL (3) tanılı olanlarda HPV16 (%66.6) ve ASC-H'lı tek kadında ise HPV16 (%100) ve HPV52 (%100) bulundu.

Çukurova bölgesinde hastane bazlı çalışmamızda HR HPV prevalansı %39.2 olup Türkiye'de yapılan çalışmalarda Bakır'ın 2021 ve Seneldir'in 2019'da İstanbul'daki sırasıyla %35 ve %34.7, Çanakkale'de 2012-2016'da Beyazıt'ın %38.3, Aydoğan'ın 2012-2016 yıllarında Ankara'daki %33.5 ve Tekirdağ'da 2014'de Yöntem'in %33 oranlarına benzerdir. Buna karşılık Ankara'da 2012'de bildirilen Yüce'nin %23, Şahiner'in %20.7 ve 27.2 ve Sivas'tan 2015-2017 yıllarındaki Hasbek'in %25 ve Denizli'de 2014-2015 yıllarındaki Schettino'nin %24 oranlarından yüksektir. Ayrıca İstanbul'da 2013-2017 yılında Demirci'nin %17, 2012-2016 yıllarında Sakarya'da Aydemir'in %13.2, Gaziantep'te 2011'de Bayram'ın %10.1, Manisa'da 2010-2011'de Akçalı'nın %5 ve Eskişehir'de 2016'da Aslan'ın %2.1 ve 2009-2010'da Özalp'ın %3.9'luk oranlarından çok yüksektir. Ülkemiz'de 2006-2010 arasında yapılan çok merkezli bir çalışmada Dursun'un bildirdiği %17.1 HR HPV prevalansı da bizim %39.2 oranından düşüktür. Adana'da 2015-2016'da Özen'in %20'lik bulgusundan da yüksektir.

Normal sitolojili kadınlarda bulduğumuz HR HPV prevalansı %33 olup İstanbul'dan 2021'de Bakır'ın ve 2007'de Eren'in bildirdiği sırasıyla %44 ve %36'lık oranlardan düşük, Çanakkale'de Beyazıt'ın %34.7 oranına benzer, Ankara'dan Aydoğan'ın %28.5 ve Türkiye'den çok merkezli çalışmadan Dursun'un %27'lik prevalansına yakındır. Buna karşılık İstanbul'dan Seneldir ve Demirci'nin %18.7 ve %22.2, Ankara'dan Yüce'nin %19.7, Gaziantep'de Bayram'ın %9.4 ve 2016 Eskişehir'den Aslan %1.8 oranlarından düşüktür.

Anormal sitolojili grupta tespit ettiğimiz HR HPV prevalansı %78 olup İstanbul'da 2019 yılında Seneldir'in %79.7'lik oranına benzer iken İstanbul'da 2021

yılında Bakır'ın %45, Çanakkale'de Beyazıt'ın %40.3, İstanbul'da 2013-2017 yılında Demirci'nin %20, Ankara'da Yüce'nin %43.8, Gaziantep'te Bayram'ın %11.5 ve çok merkezli çalışmada bildirilen Dursun'un %37'lik oranlarından düşüktür.

Çalışmamızda HR HPV pozitif bulunan 91 kadından çoklu HPV enfeksiyon oranı %59.3 olup Ankara'dan Aydoğan'ın %22.7 ve Şahiner'in %29.6 oranından oldukça yüksektir.

ASC-US grubunda bulduğumuz %70 oranındaki HPV prevalansı Çanakkale'de Beyazıt'ın %94 oranından düşük, İstanbul'da 2019 yılında Seneldir'in %72.5'lik oranına benzer, İstanbul'da 2021'de Bakır'ın %27, Ankara'dan Aydoğan'ın %39.3 ve Türkiye'den Dursun'un %37.2'lik oranlarından düşüktür.

LSIL grubundaki HPV pozitifliği %87.5 oranımız İstanbul'da 2019 yılında Seneldir'in %83.3'lük ve Çanakkale'de Beyazıt'ın %89 oranına benzer, İstanbul'da 2021'de Bakır'ın %57, Ankara'dan 2012-2016'da Aydoğan'ın %55 ve Türkiye'den Dursun'un %27.2'lik oranlarından düşüktür.

HR HPV prevalansı HSIL grubunda %100 olup İstanbul'daki Bakır'ın 2021 ve Seneldir'in 2019'da bildirdiği %100 ve Çanakkale'den Beyazıt'ın %100 oranlara benzer, Ankara'dan 2012-2016'da Aydoğan'ın %75 ve Türkiye'den Dursun'un %19.5'lik oranlarından oldukça düşüktür.

Çalışma grubumuzda toplam 232 kadında en baskın HPV tipi HPV16 (%21.1) olup sırasıyla, HPV31 (%12.9), HP18 (%10.3), HPV52 (%7.7) ve HPV45 (%6) izlemiştir. Ülkemizde'de Dursun, İstanbul'da Demirci, Anakara'da Şahiner, Manisa'da Akçalı, Sakarya'da Aydemir ve Tekirdağ'da Yöntem en yaygın genotipin HPV16 olduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda ikinci sıradaki HPV31 İstanbul'da 2013-2017'de Demirci'nin ve Türkiye'de Dursun'un çalışmalarında 3. sırada iken Anakara'da Şahiner ve Manisa'da Akçalı 5. sırada bulunmuştur. Çalışmamızda 3. sırada tespit ettiğimiz HPV18, İstanbul'da Demirci, Anakara'da Şahiner ve Sakarya'da Aydemir 4. sırada ve Türkiye'de Dursun'un çalışmasında ise 2. sıradadır.

Çalışmamızda 4. sıradaki HPV52, İstanbul'da 2013-2017'de Demirci'nin ve Ankara'da 2012'de Şahiner'in araştırmalarında 2. sırada bulunmuştur. Beşince sırada bulduğumuz HPV45, Manisa'da Akçalı 2. sırada tespit edilmiştir. Böylece ülkemizde kadınlarda ilk sırada HPV16 en sık bulunan genotip olup çalışmamızda HPV16'nın ardından bulunan üç genotip HPV31, HPV18 ve HPV52 İstanbul'da 2013-2017'de Demirci'nin ve Ankara'da 2012'de Şahiner'in çalışmasında sırası farklı olsa da aynı genotipler tespit edilmiştir. Türkiye'de Dursun'un çalışmasında da benzer şekilde HPV

18 ve HPV31 ve Manisa'da Akçalı çalışmasında HPV45 ve HPV31 yaygın genotiplerdir. Türkiye'de 2006-2010 arasında Dursun'un çalışmasında HPV16, HPV18, HPV31, HPV51 ve HPV33 en yaygın ilk beş genotiptir.

Çalışmamızda HPV16 %21.1 oranında olup Ankara'da 2012'de Şahiner'in %33.7, Sakarya'da 2015-2018'de Aydemir'in %32.3 ve Türkiye'de çok merkezli çalışmada 2006-2010 yıllarındaki Dursun'un %32'lik bulgularından düşük iken Manisa'da 2013 yılında Akçalı'nın %2.4 ve İstanbul'da 2013-2017'de Demirci'nin %1.9 oranlarından yüksektir. HPV31 oranı çalışmamızda %12.9 olup Ankara'da Şahiner'in %7.4 ve Türkiye'de Dursun'un %6 lik bulgularından oldukça yüksektir. Çalışmamızda HPV18 insidansı ise %10.3 olarak bulunmuş olup Ankara'da Şahiner'in %7.4 ve Türkiye'de Dursun'un %8 oranlarına yakındır. Çalışmamızda HPV52 insidansı %7.7 olup Ankara'da Şahiner'in %12.6'lık oranından düşük ve İstanbul'da Demirci'nin %1.1 ve Sakarya'da Aydemir'in %3.9 bulgularından ise yüksektir.

Çalışma grubumuzdaki verileri yurt dışından yapılan çalışmalardaki ile kıyasladığımızda genel HR HPV prevalansımız %39.2 oranı, Japonya'da %76.9, Etiyopya'dan %57.5 ve Sırbistan'dan bildirilen %45.4'den düşük, Karayipler'de Guadeloupe adasındaki %36.1 ve Myanmar'daki %41.4 oranlara benzer, buna karşılık İtalya'da %29.6, Romanya'da %29, İran'da %28.3, Çin'de %27.6, Kongo'da %28.3, Tayvan'da %27.8, Avustralya'da %26.5, Suudi Arabistan Krallığı, Katar, Birleşik Arap Emirlikleri ve Bahreyn'in bulunduğu Körfez ülkelerinde %21, Karayipler'de Martinik adasındaki %19.4, Fransa'da %14.7, Kore'de %12.4, ABD'de Minneapolis'de %11.2 ve Hindistan'da Nepal'da %11.7 oranlarından düşüktür.

Normal sitolojili grubumuzdaki HR HPV prevalansı %33 olup Japonya'daki %43.5'lik orandan düşük, Sırbistan'da %36.8 ve Etiyopya'daki %34.7 oranına benzer, buna karşılık Çin'de %22.5, Fransız Batı Hint Adaları'nda Guadeloupe'deki %25.1, Romanya'da %24.2, Karayipler'de Martinik adasındaki %21.6, Avustralya'da %21.1, Mısır'da %18.2, Körfez ülkelerinde %14.7, Tayvan'da %13.9, İran'da %11.6, Kore'de %11.4 ve Hindistan'da Nepal'de %10.8 oranlarından yüksektir. Normal sitolojili kadınlarda HR HPV pozitifliği Fransa'da %8, Kongo'da %7.4, İtalya'da %5, Myanmar'da %5, ve ABD'de Minneapolis'de %3.9 oranlar ise oldukça düşüktür.

Anormal sitolojili grubumuzda HR HPV prevalansı %78 olup Japonya'da %97.2, Etiyopya'da %92.4'den düşük, Çin'de %81.3, Avustralya'da %70.6 ve Tayvan'da %71 oranlarına yakın iken İtalya'da %67.3, Kongo'da %58.3, Kore'de %58.2, İran'da %54, Myanmar'da %48.9, Romanya'da %48.2, Martinik'de %44.1, Sırbistan'da %50.6, Fransa'da %37.8 ve Nepal'da %27.3 oranlarından yüksektir.

ASC-US grubunda bulunduğumuz %70 oranındaki HPV prevalansı, Çin'de %70.7, İtalya'daki %16.6 ve Guadeloupe'deki %65.1 oranlarına yakın, Sırbistan'da %45.5, Romanya'da %41.6, Fransa'da %21 ve ABD'de Minneapolis'de %11.4 oranlarından düşüktür.

LSIL'li kadınlardaki HPV pozitifliği %87.5 olup Japonya'da %95.2 oranından düşük, Çin'de %81.7 ve Myanmar'da %86.7 oranları ile uyumlu iken Sırbistanda %69.1, Avustralya'da %68.6, İtalya %58.3, Romanya %53.5, Kongo'da %54, Fransa'da %49 ve ABD'de Minneapolis'de %33.6 oranlarından düşüktür.

HSIL grubunda HR HPV prevalansı %100 olup Etiyopya'da %100 ve Japonya'da %99.2'ye benzer iken Çin'de %91, Sırbistan'da %82.9, Avustralya'da %80.9, Romanya'da %60, İtalya'da %79.7, Fransa'da %75 ve ABD'de Minneapolis'de %57.9 oranlarından düşüktür.

Mısır, Nepal, Sırbistan, Avustralya, Myanmar, Etiyopya, İran, Fransa, Romanya, Tayvan, İtalya, Japonya'da ve Çin'de Bi (Doğu Çin, Qingdao) ve Zhao (Shanxi) HPV16' ve araştırmalarda çalışmamıza benzer şekilde en baskın tip HPV16'dır. Buna karşılık Çin'de Chen (Guangdong) ve Li'nin (Sichuan) çalışmalarında HPV52 ve Kore'de Ouh HPV53'ü en yaygın genotip olarak bildirmiştir. İkinci sırada bulunduğumuz HPV31, Romanya, Sırbistan ve Myanmar'da da 2. sırada iken İtalya, İran, Mısır ve Etiyopya'da ise 3. sırada tespit edilmiştir.

Çalışmamızda HPV18 üçüncü sırada olup Myanmar'da da 3. sırada bulunmuş olup Mısır ve İran'da 2. sıradadır. Dördüncü sırada bulunduğumuz HPV52 Tayvan ve Martinik'de de 4. Sırada iken Kore'de 3. sırada ve Çin'deki iki çalışmada ve Japonya ilk sırada bulunmuştur. İran, Mısır, Romanya, Sırbistan Fransa, İtalya ve Myanmar'da yapılan çalışmalarda en baskın HPV16'nın ardından sıraları farklı olsada benzer genotipler (HPV18, HPV31 ve HPV 52) tespit edilmiştir.

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran normal servikal sitolojili kadınlarda onkojenik HPV prevalansı %33 oranla oldukça yüksek bulunmuş olup risk altındaki kadınların erken tanısı için bölgemizdeki popülasyonun servikal kanser taramasına katılımını artırmak önem taşır. Ayrıca çalışmanın verileri profilaktik HPV aşılarının etkinliğinin izlenmesine katkıda bulunacaktır.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakültesi Jinekolojik Onkoloji Bölümüne Ekim 2021-Şubat 2022 arasında başvuran normal ve anormal servikal sitolojisi olan kadınlarda yüksek riskli HPV prevalansı ve genotiplerinin dağılımını araştırmak amacıyla yaptığımız bu çalışmanın sonuçları;

1. Toplam 232 kadından 200'ü (%86.2) normal ve 32'si (%13.8) anormal sitolojiye sahipti.
2. Hastaların yaşı 20-65 arasında olup normal sitolojili kadınların %8'i 20-29 yaş, %25'i 30-39 yaş, %39'u 40-49 yaş ve %28'i 50-65 yaş grubundaydı. Anormal sitolojili 32 kadından %9.4'ü 20-29 yaş, %28.1'i 30-39 yaş, %34.4'ü 40-49 yaş ve %28.1'i 50-65 yaş arasında idi.
3. Anormal servikal sitolojili 32 kadından 20'sinde (%62.5) ASC-US, 8'inde (%25) LSIL, 3'ünde (%9.4) HSIL ve 1'inde (%3.1) ASC-H tespit edilmiştir.
4. Toplam 232 kadından %39.2'sinde (91) HR HPV enfeksiyonu tespit edilmiştir. Normal sitolojili 200 kadından %33'ü (66) ve anormal sitolojili 32 kadından %78'i (25) HR HPV pozitif bulunmuştur.
5. Anormal sitolojili 32 kadından %43.8'i (14) ASC-US, %21.8'i (7) LSIL, %9.3'ü (3) HSIL ve %3.1'i (1) ASC-H tanılı olup HPV pozitif idi.
6. Toplam 232 kadında HPV pozitif olanların %1.3'ü 20-29 yaş %9.9'u 30-39 ve %16.8'i 40-49 yaş ve %11.2'si 50-65 yaş grupları arasında idi.
7. Normal sitolojili 200 kadında HPV pozitifliği %15.5 oranla en çok 40-49 yaş grubunda iken, anormal sitolojili 32 kadından HPV enfeksiyonu olanlar sırasıyla %25'i 40-49 yaş, %25'i 50-65 yaş, %21.8'i 30-39 yaş ve %6.2'si 20-29 yaş grubunda idi.
8. HPV DNA pozitif 91 kadının %42.8 oranla çoğu 40-49 yaş grubunda, %67'si evli, %49.4'ü üniversite mezunu, %51.6'sı sigara kullanan, %15.4'ü hiç gebe kalmamış, %50.5'i 1-2 kez gebe kalmış ve %34'ü 3 ile 3'ten fazla gebe kalmış, %30'u menapozdaki kadınlar, %91.2'si oral kontraseptif kullanmayanlar, %97'si hormon replasman tedavisi görmeyenler ve %79.1'i rahim içi araç kullanmayan kadınlar olarak tespit edilmiştir.

9. HPV pozitif bulunan 91 kadından %40.7'sinde (37) enfeksiyona sebep olan tek bir HPV tipi, %59.3'ünde (54) ise çoklu HPV tipleri saptanmıştır.
10. Normal sitolojili 200 kadından %11.5'i tek ve %21.5'i çoklu HPV tipi ile enfekte olmuştur. Anormal sitolojili 32 kadından %78'i (25) HPV pozitif olup %43.7'sinde tek ve %34.3'ünde çoklu HPV enfeksiyonu görülmüştür.
11. Normal sitolojili 200 kadın ve anormal sitolojili 32 kadınlarında çoklu HPV enfeksiyonu olanların çoğu sırasıyla %8.5'i ve %12.5'i 40-49 yaş grubunda yer almıştır.
12. Toplam 232 kadında en yaygın HPV tipleri sırasıyla HPV16 %21.1, HPV31 %12.9, HPV18 %10.3, HPV52 %7.7, HPV45 %6, HPV39 %3.4, HPV56 %2.6, HPV66 %2.6, HPV33 %1.7, HPV51 %1.7, HPV59 %1.7, HPV35 %1.3, HPV58 %1.3 ve HPV68 %0.9 oranlarında tespit edilmiştir.
13. Normal sitolojili grupta %18 oranla HPV16 en baskın tip olup bunu HPV31 (%13.5), HPV18 (%8.5), HPV52 (%6) ve HPV45 (4.5%) izlemiştir. Anormal sitolojili grupta ise en sık görülen yine HPV 16 (%40.6) olup ardından HPV18 (%21.9), HPV52 (%18.7), HPV45 (%15.6) ve HPV56 (%12.5) tespit edilmiştir.
14. HPV pozitif 91 kadında genotiplerin yaş grubuna göre dağılımına bakıldığında, HPV16 pozitif kadınların %19.8 oranla en çok 40-49 yaş grubunda, HPV18 ve HPV31 tiplerinin de en fazla sırasıyla %12.1 ve %15.4 oranlarla aynı yaş grubunda yer aldığı belirlenmiştir.
15. Normal sitolojili 200 kadında tip spesifik HPV prevalansının yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde HPV16, HPV18, HPV31, HPV45 ve HPV66 sırasıyla en çok 40-49 yaş grubunda %7, %4.5, %6.5, %2.5 ve %1.5 oranlarında olduğu, HPV33 %1, HPV39 %1.5 ve HPV56 %1 oranla en çok 30-39 yaş grubunda ve HPV52 %3 oranla en sık 50-65 yaş grubunda bulunmuştur.
16. Anormal sitolojili 32 kadında tip spesifik HPV prevalansı HPV16 için %40.6 (13) olup yaşa göre dağılımı analiz edildiğinde %15.6 oranla en çok 30-39 yaş grubunda bulunduğu ve HPV56'nın %6.2 oranla yine en çok 30-39 yaş grubunda olduğu belirlenmiştir. HPV52 %9.3 oranla 40-49 yaş ve HPV18 %9.3 ile en çok 50-65 yaş grubunda yer almıştır. HPV45 hem 30-39 yaş hem de 50-65 yaş grubunda %6.2 ile yüksek oranda bulunmuştur.

17. Normal sitoljili 200 kadından %11.5'inde (23) tekli, %15'inde (30) ikili ve %6.5'inde (13) üç ve üzeri çoklu HPV enfeksiyonu bulunmuştur. Tek HPV enfeksiyonu en çok HPV16 tipi (%4) ve ikili HPV enfeksiyonu en çok HPV16 ve HPV31 birlikteliği (%4) şeklinde gözlenmiştir. Üçlü enfeksiyon en çok %2 oranla HPV16, HPV18 ve HPV31 genotipleri olarak bulunmuştur.
18. ASC-US tanılı 20 kadının %70'i (14), LSIL olan 8 kadının %87.5'i (7), HSIL olan 3 kadının %100'ü (3) ve ASC-H olan %100'i (1) HPV pozitif tespit edilmiştir.
19. HPV pozitif ASC-US'lu kadınlar (14) arasında %50 ile en baskın tip HPV16 iken LSIL (7) grubunda her biri %42.8 oranla HPV16, HPV45 ve HPV56 ve HSIL (3) tanılı olanlarda HPV16 (%66.6) ve ASC-H'lı tek kadında ise HPV16 (%100) ve HPV52 (%100) bulunmuştur.

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran normal servikal sitolojili kadınlarda onkojenik HPV prevalansı %33 oranla oldukça yüksek bulunmuş olup risk altındaki kadınların erken tanısı için bölgemizdeki popülasyonun servikal kanser taramasına katılımını artırmak önem taşır. Ayrıca çalışma grubunda bulduğumuz HPV16, HPV31, HPV18, HPV52 ve HPV45 genotipleri HPV aşı tipleri ile benzerdir, bu sebeple çalışmanın verileri profilaktik HPV aşılarının etkinliğinin izlenmesine katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

1. **de Sanjosé S, Brotons M, Pavón MA.** The natural history of human papillomavirus infection. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, **2018**;47:2-13.
2. **McNamara M, Batur P, Walsh JME, Johnson KM.** HPV Update: Vaccination, Screening, and Associated Disease. *J Gen Intern Med*, **2016**;31(11):1360-1366.
3. **Graham SV.** The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clin Sci (Lond)*, **2017**;131(17):2201-2221.
4. **Arbyn M, Simon M, Peeters E, Xu L, Meijer CJLM, Berkhof J, Cuschieri K, Bonde J, Ostrbenk Vanlencak A, Zhao FH, Rezhake R, Gultekin M, Dillner J, de Sanjosé S, Canfell K, Hillemanns P, Almonte M, Wentzensen N, Poljak M.** 2020 list of human papillomavirus assays suitable for primary cervical cancer screening. *Clin Microbiol Infect*, **2021**(8):1083-1095.
5. **Araldi RP, Sant'Ana TA, Módolo DG, de Melo TC, Spadacci-Morena DD, de Cassia Stocco R, Cerutti JM, de Souza EB.** The human papillomavirus (HPV)-related cancer biology: An overview. *Biomed Pharmacother*, **2018**;106:1537-1556.
6. **Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F.** Global Cancer Statistics **2020**: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*, **2021**;71(3):209-249.
7. **Yuan Y, Cai X, Shen F, Ma F.** HPV post-infection microenvironment and cervical cancer. *Cancer Lett*, **2021**;497:243-254.
8. **Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, Stanley MA.** The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine*, **2012**;30 Suppl 5:F55-70.
9. **Okunade KS.** Human papillomavirus and cervical cancer. *J Obstet Gynaecol*, **2020**;40(5):602-608.
10. **Kaliterna V, Barisic Z.** Genital human papillomavirus infections. *Front Biosci (Landmark Ed)*, **2018**;23(9):1587-1611.
11. **Cosper PF, Bradley S, Luo L, Kimple RJ.** Biology of HPV Mediated Carcinogenesis and Tumor Progression. *Semin Radiat Oncol*, **2021**;31(4):265-273.
12. **Vashisht S, Mishra H, Mishra PK, Ekielski A, Talegaonkar S.** Structure, Genome, Infection Cycle and Clinical Manifestations Associated with Human Papillomavirus. *Curr Pharm Biotechnol*, **2019**;20(15):1260-1280.
13. **Gravitt PE, Winer RL.** Natural History of HPV Infection across the Lifespan: Role of Viral Latency. *Viruses*, **2017**;9(10):267.
14. **Gupta S, Kumar P, Das BC.** HPV: Molecular pathways and targets. *Curr Probl Cancer*, **2018**;42(2):161-174.
15. **Wierzbicka M, San Giorgi MRM, Dikkers FG.** Transmission and clearance of human papillomavirus infection in the oral cavity and its role in oropharyngeal carcinoma - A review. *Rev Med Virol*, **2022**:e2337.

16. Petca A, Borislavski A, Zvanca ME, Petca RC, Sandru F, Dumitrascu MC. Non-sexual HPV transmission and role of vaccination for a better future (Review). *Exp Ther Med*, **2020** (6):186.
17. Uken RB, Brummer O, von Schubert-Bayer C, Brodegger T, Teudt IU. Oral HPV prevalence in women positive for cervical HPV infection and their sexual partners: a German screening study, **2016**;273(7):1933-42.
18. Meyer MF, Huebbers CU, Siefer OG, Vent J, Engbert I, Eslick GD, Valter M, Klusmann JP, Preuss SF. Prevalence and risk factors for oral human papillomavirus infection in 129 women screened for cervical HPV infection. *Oral Oncol*, **2014**;50(1):27-31.
19. Burli A, Hancock S, Zhao YT, Paul D, Cordisco M. HPV Vaccination Status and Resolution of Warts in Pediatric Patients. *Indian J Dermatol*, **2021**;66(6):604-608.
20. Brianti P, De Flammineis E, Mercuri SR. Review of HPV-related diseases and cancers. *New Microbiol*, **2017**;40(2):80-85.
21. Burd EM, Dean CL. Human Papillomavirus. *Microbiol Spectr*, **2016**;4(4).
22. Patel C, Brotherton JM, Pillsbury A, Jayasinghe S, Donovan B, Macartney K, Marshall H. The impact of 10 years of human papillomavirus (HPV) vaccination in Australia: what additional disease burden will a nonavalent vaccine prevent? *Euro Surveill*, **2018**;23(41):1700737.
23. Dunne EF, Park IU. HPV and HPV-associated diseases. *Infect Dis Clin North Am*, **2013**;27(4):765-78.
24. Delmonte S, Benardon S, Cariti C, Ribero S, Ramoni S, Cusini M. Anogenital warts treatment options: a practical approach. *G Ital Dermatol Venereol*, **2020**;155(3):261-268.
25. Buchinsky FJ, Ruzskey N, Valentino W, Derkay CS, McClay JE, Bastian RW, Myer CM, Lollar KW, Guris D. In RRP, serologic response to HPV is frequently absent and slow to develop. *PLoS One*, **2020**;15(3):e0230106.
26. Yete S, D'Souza W, Saranath D. High-Risk Human Papillomavirus in Oral Cancer: Clinical Implications. *Oncology*, **2018**;94(3):133-141.
27. Serrano B, Brotons M, Bosch FX, Bruni L. Epidemiology and burden of HPV-related disease. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, **2018**;47:14-26.
28. Szymonowicz KA, Chen J. Biological and clinical aspects of HPV-related cancers. *Cancer Biol Med*, **2020**;17(4):864-878.
29. Wang H. Precision oncology-featuring the special issue guest editor "Cancer Letters". *Cancer Lett*, **2020**;482:72-73.
30. Crosbie EJ, Einstein MH, Franceschi S, Kitchener HC. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet*, **2013**;382(9895):889-99.
31. Wang CJ, Palefsky JM. HPV-Associated Anal Cancer in the HIV/AIDS Patient. *Cancer Treat Res*, **2019**;177:183-209.
32. Thomas A, Necchi A, Muneer A, Tobias-Machado M, Tran ATH, Van Rompuy AS, Spiess PE, Albersen M. Penile cancer. *Nat Rev Dis Primers*, **2021**;7(1):11.

33. Aimagambetova G, Azizan A. Epidemiology of HPV Infection and HPV-Related Cancers in Kazakhstan: a Review. *Asian Pac J Cancer Prev*, **2018**;19(5):1175-1180.
34. Kombe Kombe AJ, Li B, Zahid A, Mengist HM, Bounda GA, Zhou Y, Jin T. Epidemiology and Burden of Human Papillomavirus and Related Diseases, Molecular Pathogenesis, and Vaccine Evaluation. *Front Public Health*, **2021**;8:552028.
35. Scott-Wittenborn N, Fakhry C. Epidemiology of HPV Related Malignancies. *Semin Radiat Oncol*, **2021**;31(4):286-296.
36. Mezei AK, Pedersen HN, Sy S, Regan C, Mitchell-Foster SM, Byamugisha J, Sekikubo M, Armstrong H, Rawat A, Singer J, Ogilvie GS, Kim JJ, Campos NG. Community-based HPV self-collection versus visual inspection with acetic acid in Uganda: a cost-effectiveness analysis of the ASPIRE trial. *BMJ Open*, **2018**;8(6):e020484
37. Świdarska-Kiec J, Czajkowski K, Zaręba-Szczudlik J, Kacperczyk-Bartnik J, Bartnik P, Romejko-Wolniewicz E. Comparison of HPV Testing and Colposcopy in Detecting Cervical Dysplasia in Patients With Cytological Abnormalities. *In Vivo*, **2020**;34(3):1307-1315.
38. Tsikouras P, Zervoudis S, Manav B, Tomara E, Iatrakis G, Romanidis C, Bothou A, Galazios G. Cervical cancer: screening, diagnosis and staging. *J BUON*, **2016**;21(2):320-5.
39. Burness JV, Schroeder JM, Warren JB. Cervical Colposcopy: Indications and Risk Assessment. *Am Fam Physician*, **2020**;102(1):39-48. PMID: 32603071.
40. Smith ER, George SH, Kobetz E, Xu XX. New biological research and understanding of Papanicolaou's test. *Diagn Cytopathol*, **2018**;46(6):507-515.
41. Abreu AL, Souza RP, Gimenes F, Consolaro ME. A review of methods for detect human Papillomavirus infection. *Viol J*, **2012**;9:262.
42. Ikenberg H. Laboratory diagnosis of human papillomavirus infection. *Curr Probl Dermatol*, **2014**;45:166-74.
43. Sitarz K, Szostek S. Food and drug administration - approved molecular methods for detecting human papillomavirus infection. *Ginekol Pol*, **2019**;90(2):104-108.
44. Soheili M, Keyvani H, Soheili M, Nasser S. Human papilloma virus: A review study of epidemiology, carcinogenesis, diagnostic methods, and treatment of all HPV-related cancers. *Med J Islam Repub Iran*, **2021**;35:65.
45. Nishino HT, Tambouret RH, Wilbur DC. Testing for human papillomavirus in cervical cancer screening: a review of indications and methodology. *Cancer Cytopathol*, **2011**;119(4):219-27.
46. Forslund O, Schwartz S, Olofsson K, Rydell R. Viral load and mRNA expression of HPV type 6 among cases with recurrent respiratory papillomatosis. *Laryngoscope*, **2016**;126(1):122-7.
47. Villa LL, Denny L. CHAPTER 7 Methods for detection of HPV infection and its clinical utility. *Int J Gynaecol Obstet*, **2006**;94 Suppl 1:S71-S80.
48. Bhatla N, Singhal S. Primary HPV screening for cervical cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, **2020**;65:98-108.
49. Gilham C, Sargent A, Kitchener HC, Peto J. HPV testing compared with routine cytology in cervical screening: long-term follow-up of ARTISTIC RCT. *Health Technol Assess*, **2019**;23(28):1-44.

50. Banović M, Mahovlić V, Salopek KM, Banović V, Babić I, Orešković S, Babić D. The value of HPV-HR DNA testing during the follow-up after treatment of CIN3/AIS. *Pathol Oncol Res*, 2015;21(3):613-7.
51. Hu Z, Ma D. The precision prevention and therapy of HPV-related cervical cancer: new concepts and clinical implications. *Cancer Med*, 2018;7(10):5217-5236.
52. Farzaneh F, Shirvani HE, Barouti E, Salehpour S, Khodakarami N, Alizadeh K. Knowledge and attitude of women regarding the human papillomavirus (HPV) infection, its relationship to cervical cancer and prevention methods. *Med J Malaysia*, 2011;66(5):468-73.
53. Bruni L, Saura-Lázaro A, Montoliu A, Brotons M, Alemany L, Diallo MS, Afsar OZ, LaMontagne DS, Mosina L, Contreras M, Velandia-González M, Pastore R, Gacic-Dobo M, Bloem P. HPV vaccination introduction worldwide and WHO and UNICEF estimates of national HPV immunization coverage 2010-2019. *Prev Med*, 2021;144:106399.
54. Ockenfels HM. Therapeutic management of cutaneous and genital warts. *J Dtsch Dermatol Ges*, 2016;14(9):892-9.
55. Witchey DJ, Witchey NB, Roth-Kauffman MM, Kauffman MK. Plantar Warts: Epidemiology, Pathophysiology, and Clinical Management. *J Am Osteopath Assoc*, 2018;118(2):92-105.
56. Mladěnka A, Sláma J. Vaccination against HPV and view of new possibilities. *Ceska Gynekol*, 2018;83(3):218-225.
57. Quattrone F, Canale A, Filippetti E, Tulipani A, Porretta A, Lopalco PL. Safety of HPV vaccines in the age of nonavalent vaccination. *Minerva Pediatr*, 2018;70(1):59-66.
58. Hamilton CA, Pothuri B, Arend RC, Backes FJ, Gehrig PA, Soliman PT, Thompson JS, Urban RR, Burke WM. Endometrial cancer: A society of gynecologic oncology evidence-based review and recommendations. *Gynecol Oncol*, 2021;160(3):817-826.
59. de Oliveira CM, Fregnani JHTG, Villa LL. HPV Vaccine: Updates and Highlights. *Acta Cytol*, 2019;63(2):159-168.
60. Hancock G, Hellner K, Dorrell L. Therapeutic HPV vaccines. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2018;47:59-72.
61. Rerucha CM, Caro RJ, Wheeler VL. Cervical Cancer Screening. *Am Fam Physician*, 2018;97(7):441-448.
62. Shami S, Coombs J. Cervical cancer screening guidelines: An update. *JAAPA*, 2021;34(9):21-24.
63. Bhatla N, Aoki D, Sharma DN, Sankaranarayanan R. Cancer of the cervix uteri: 2021 update. *Int J Gynaecol Obstet*, 2021;155 Suppl 1:28-44.
64. Altobelli E, Rapacchietta L, Profeta VF, Fagnano R. HPV-vaccination and cancer cervical screening in 53 WHO European Countries: An update on prevention programs according to income level. *Cancer Med*, 2019;8(5):2524-2534.
65. Rizzo AE, Feldman S. Update on primary HPV screening for cervical cancer prevention. *Curr Probl Cancer*, 2018;42(5):507-520.

66. Marcus JZ, Cason P, Downs LS Jr, Einstein MH, Flowers L. The ASCCP Cervical Cancer Screening Task Force Endorsement and Opinion on the American Cancer Society Updated Cervical Cancer Screening Guidelines. *J Low Genit Tract Dis*, **2021**;25(3):187-191.
67. Akova İ, Hasdemir Ö. 30-65 yaş kadınlarda serviks kanseri tarama oranları ve sonuçlarının değerlendirilmesi. *Uluslararası Hakemli Akademik Spor Sağlık ve Tıp Bilimleri Dergisi*, **2018**;29:63-77.
68. Gultekin M, Zayifoglu Karaca M, Kucukyildiz I, Dundar S, Boztas G, Semra Turan H, Hacikamiloglu E, Murtuza K, Keskinkilic B, Sencan I. Initial results of population based cervical cancer screening program using HPV testing in one million Turkish women. *Int J Cancer*, **2018**;142(9):1952-1958.
69. Yıldız S, Özdemir ME, Gökçek MB, Uslu NE, Aslan B, Benli AR, Kayseri ili 2018 yılı Hpv tarama sonuçlarının değerlendirilmesi. *Turk J Public Health*, **2021**;19(3):244-250.
70. Bakir A, Alacam S, Karabulut N, Beka H, Ozluk Y, Yilmazbayhan D, Agacfidan A. Evaluation of Human Papillomavirus Genotype Distribution in Cervical Samples. *J Cytol*, **2021**;38(1):44-49.
71. Seneldir H, Kir G. Prevalence of high-risk human papilloma virus in liquid-based cervical samples from Turkish women with normal and abnormal cytology. *Diagn Cytopathol*. **2019**;47(2):100-104.
72. Demirci M, Guzel AD, Ersahin AA, Yorulmaz E, Ersahin SS, Borsa BA. Human papillomavirus prevalence and genotype distribution among Turkish women with or without cervical lesion. *Indian J Med Microbiol*, **2018-Dec**;36(4):517-521.
73. Vural G, Polat N. Human Papilloma Virus Frequency and Genotypes; Evaluation of the 4879 Screenings Made with Polymerase Chain Reaction and Chip Array Between 2001 and 2019 in Istanbul. *Sisli Etfal Hastan Tip Bul*, **2021**;55(2):232-236.
74. Eren H, Özgüneş N, Bayram Y, Güzin K, Parlak M. Serviksin Prekanseroz Lezyonlarında Human Papilloma Virus (HPV) Tiplerinin Belirlenmesi. *Van Tıp Dergisi*, **2013**;20(2):70-75.
75. Aydoğan S, Yazhan A, Taş EE, Gözalan A, Yavuz AF, Açıkgöz ZC. Eş zamanlı servikal sitoloji örneklerinde yüksek riskli HPV tiplerinin varlığı ve dağılımı. *Turk Hij Den Biyol Derg*, **2018**; 75(1): 13-20.
76. Yuce K, Pinar A, Salman MC, Alp A, Sayal B, Dogan S, Hascelik G. Detection and genotyping of cervical HPV with simultaneous cervical cytology in Turkish women: a hospital-based study. *Arch Gynecol Obstet*, **2012**;286(1):203-8.
77. Şahiner F, Şener K, Gümral R, Yapar M, Dede M, Yiğit N, Kubar A. Üç Farklı Real-Time PCR Testinin Karşılaştırmalı Sonuçları: MY09/11 Primerleri Çoklu Enfeksiyonları Kaçırmıyor. *Gülhane Tıp Derg*, **2014**;56: 65-70.
78. Sahiner F, Gümral R, Sener K, Yiğit N, Dede M, Yapar M, Kubar A. Servikal Sürüntü Örneklerinde İki Farklı Yöntemle HPV-DNA Varlığının Araştırılması: MY09/11 Konsensus PCR ve Tipe Özgül Gerçek Zamanlı PCR [Investigation of HPV-DNA in cervical smear samples by two different methods: MY09/11 consensus PCR and type-specific real-time PCR]. *Mikrobiyol Bul*, **2012**;46(4):624-36.
79. Aslan FG, Us T, Kaşifoğlu N, Özalp SS, Akgün Y, Öge T. Eskişehir'de kadınlarda insan papillomavirus prevalansının, Pap yayması, hibrid yakalama 2 testi ve konsensus gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırılması ve pirodizileme yöntemiyle tiplendirilmesi [Investigation of human papillomavirus prevalence in women in Eskişehir, Turkey by Pap smear, hybrid capture 2 test and consensus real-time polymerase chain reaction and typing with pyrosequencing method]. *Mikrobiyol Bul*, **2016**;50(1):73-85.

80. Ozalp SS, Us T, Arslan E, Oge T, Kaşifoğlu N. HPV DNA and Pap smear test results in cases with and without cervical pathology. *J Turk Ger Gynecol Asso*, **2012** Mar 1;13(1):8-14.
81. Akcali S, Goker A, Ecemis T, Kandiloglu AR, Sanlidag T. Human papilloma virus frequency and genotype distribution in a Turkish population. *Asian Pac J Cancer Prev*, **2013**;14(1):503-6.
82. Beyazit F, Silan F, Gencer M, Aydin B, Paksoy B, Unsal MA, Ozdemir O. The prevalence of human papillomavirus (HPV) genotypes detected by PCR in women with normal and abnormal cervico-vaginal cytology. *Ginekol Pol*, **2018**;89(2):62-67.
83. Bayram A, Erkihç S, Balat Ö, Ekşi F, Uğur MG, Öztürk E, Kaya G. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus in non-neoplastic cervical tissue lesion: cervical erosion. *J Med Virol*, **2011**;83(11):1997-2003.
84. Aydemir Ö, Terzi HA, Köroğlu M, Turan G, Altındış M, Karakeçe E. Servikal örneklerde human papillomavirüs pozitifliği ve genotip dağılımı. *Türk Hij Den Biyol Derg*, **2020**; 77(1): 33-40.
85. Yöntem M, Gümüş A, Abalı R, Öznur M, Erci F, Erdoğan BS. Human Papilloma Virüs (HPV) Varlığının Cinsel Aktif Kadınlarda Moleküler Metodlarla Değerlendirilmesi. *Academic Platform Journal of Engineering and Science*, **2019**;7(2):217-221.
86. Hasbek M, Çelik C, Çabuk A, Bakıcı MZ. Frequency and genotype distribution of human papillomavirus in cervical specimens in Sivas Region. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, **2018**;48(3):199-204.
87. Schettino MT, De Franciscis P, Schiattarella A, La Manna V, Della Gala A, Caprio F, Tammaro C, Ammaturo FP, Guler T, Yenigün EH. Prevalence of HPV Genotypes in South Europe: Comparisons between an Italian and a Turkish Unvaccinated Population. *J Environ Public Health*, **2019**;2019:8769735.
88. Özen S, Çimentepe M, Şeflek B, Vardar MA, Gümürdülü D, Yarkın F. Human papillomavirus genotiplerinin pyrosequencing metodu ile tespiti. *Türk Jinekolojik Onkoloji Dergisi*, **2018**; 19(4):159-164.
89. Dursun P, Ayhan A, Mutlu L, Çağlar M, Haberal A, Güngör T, Özat M, Özgü E, Onan A, Taşkıran C, Güner H, Yetimlar H, Kasap B, Yüce K, Salman MC, Sayal B, Doğan S, Harma M, Harma M, Basaran M, Aydoğmuş H, Ergün Y, Şehirli S, Gültekin E, Köse S, Yıldırım Y, Yenen M, Dede M, Alanbay I, Karaca R, Metindir J, Keskin L, Üstüner I, Avşar F, Yüksel H, Kırdar S. HPV types in Turkey: multicenter hospital based evaluation of 6388 patients in Turkish gynecologic oncology group centers. *Türk Patoloji Derg*, **2013**;29(3):210-6.
90. Vaucel E, Coste-Burel M, Laboisie C, Dahlab A, Lopes P. Human papillomavirus genotype distribution in cervical samples collected in routine clinical practice at the Nantes University Hospital, France. *Arch Gynecol Obstet*, **2011**;284(4):989-98.
91. Zappacosta B, Romano L, Guerriero M, Graziano M, Vittrani A, De Ninno M, Carbone A. Detection of 14 human papillomavirus genotypes in cervical samples in women from a central-southern area of Italy showing different Pap test results. *New Microbi*, **2009**;32(4):351-8.
92. Moga MA, Irimie M, Oanta A, Pascu A, Burtea V. Type-specific prevalence of human papillomavirus by cervical cytology among women in Brasov, Romania. *Asian Pac J Cancer Prev*, **2014**;15(16):6887-92.
93. Kovacevic G, Milosevic V, Nikolic N, Patić A, Dopudj N, Radovanov J, Hrnjakovic Cvjetkovic I, Petrovic V, Petrovic M. The prevalence of 30 HPV genotypes detected by EUROArray HPV in cervical samples among unvaccinated women from Vojvodina province, Serbia. *PLoS One*, **2021**;16(4):e0249134.

94. Youssef MA, Abdelsalam L, Harfoush RA, Talaat IM, Elkattan E, Mohey A, Abdella RM, Farhan MS, Foad HA, Elsayed AM, Elkinaai NA, Ghaith D, Rashed ME, Ghafar MA, Khamis Y, Hosni AN. Prevalence of human papilloma virus (HPV) and its genotypes in cervical specimens of Egyptian women by linear array HPV genotyping test. *Infect Agent Cancer*, **2016**;11:6.
95. Wolday D, Derese M, Gebressellassie S, Tsegaye B, Ergete W, Gebrehiwot Y, Caplan O, Wolf DG, Maayan S. HPV genotype distribution among women with normal and abnormal cervical cytology presenting in a tertiary gynecology referral Clinic in Ethiopia. *Infect Agent Cancer*, **2018**;13:28.
96. Boumba LM, Qmichou Z, Mouallif M, Attaleb M, El Mzibri M, Hilali L, Donatien M, Ennaji MM. Human papillomavirus genotypes distribution by cervical cytologic status among women attending the General Hospital of Loandjili, Pointe-Noire, Southwest Congo (Brazzaville). *J Med Virol*, **2015**;87(10):1769-76.
97. Ali MAM, Bedair RN, Abd El Atti RM. Cervical high-risk human papillomavirus infection among women residing in the Gulf Cooperation Council countries: Prevalence, type-specific distribution, and correlation with cervical cytology. *Cancer Cytopathol*, **2019**;127(9):567-577.
98. Ghaffari SR, Sabokbar T, Mollahajian H, Dastan J, Ramezanzadeh F, Ensani F, Yarandi F, Mousavi-Jarrahi A, Mohagheghi MA, Moradi A. Prevalence of human papillomavirus genotypes in women with normal and abnormal cervical cytology in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev*, **2006**;7(4):529-32.
99. Thapa N, Maharjan M, Shrestha G, Maharjan N, Petrini MA, Zuo N, He C, Yang J, Xu M, Ge C, Song Z, Cai H. Prevalence and type-specific distribution of human papillomavirus infection among women in mid-western rural, Nepal- A population-based study. *BMC Infect Dis*, **2018**;18(1):338.
100. Mu-Mu-Shwe, Harano T, Okada S, Aye-Aye-Win, Khin-Saw-Aye, Hlaing-Myat-Thu, Mo-Mo-Win, Khin-Khin-Oo, Myo-Khin. Prevalence of high-risk human papillomavirus (HR-HPV) infection among women with normal and abnormal cervical cytology in Myanmar. *Acta Med Okayama*, **2014**;68(2):79-87.
101. Zhao XL, Hu SY, Zhang Q, Dong L, Feng RM, Han R, Zhao FH. High-risk human papillomavirus genotype distribution and attribution to cervical cancer and precancerous lesions in a rural Chinese population. *J Gynecol Oncol*, **2017**;28(4):e30.
102. Li B, Wang H, Yang D, Ma J. Prevalence and distribution of cervical human papillomavirus genotypes in women with cytological results from Sichuan province, China. *J Med Virol*, **2019**;91(1):139-145.
103. Bi Q, Zhang L, Zhao Z, Mu X, Zhang M, Wang P. Human papillomavirus prevalence and genotypes distribution among female outpatients in Qingdao, East China. *J Med Virol*, **2015**;87(12):2114-21.
104. Chen Q, Luo ZY, Lin M, Lin QL, Chen CY, Yang C, Xie LX, Li H, Zheng JK, Yang LY, Ju GZ. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus infections in women attending hospitals in Chaozhou of Guangdong province. *Asian Pac J Cancer Prev*, **2012**;13(4):1519-24.
105. Ouh YT, Min KJ, Cho HW, Ki M, Oh JK, Shin SY, Hong JH, Lee JK. Prevalence of human papillomavirus genotypes and precancerous cervical lesions in a screening population in the Republic of Korea, 2014-2016. *J Gynecol Oncol*, **2018**;29(1):e14.
106. Yamasaki K, Miura K, Shimada T, Ikemoto R, Miura S, Murakami M, Sameshima T, Fujishita A, Kotera K, Kinoshita A, Yoshiura K, Masuzaki H. Pre-vaccination epidemiology of human papillomavirus infections in Japanese women with abnormal cytology. *J Obstet Gynaecol Res*, **2011**;37(11):1666-70.

107. Tsao KC, Huang CG, Kuo YB, Chang TC, Sun CF, Chang CA, Yang SL, Chan EC. Prevalence of human papillomavirus genotypes in northern Taiwanese women. *J Med Virol*, **2010**;82(10):1739-45.
108. Tabrizi SN, Brotherton JM, Stevens MP, Condon JR, McIntyre P, Smith D, Garland SM; WHINURS group. HPV genotype prevalence in Australian women undergoing routine cervical screening by cytology status prior to implementation of an HPV vaccination program. *J Clin Virol*, **2014**;60(3):250-6.
109. Cordel N, Ragin C, Trival M, Tressières B, Janky E. High-risk human papillomavirus cervical infections among healthy women in Guadeloupe. *Int J Infect Dis*, **2015**;41:13-6.
110. Najjioullah F, Dorival MJ, Joachim C, Dispagne C, Macni J, Abel S, Sulpicy C, Charpentier-Baltide H, Sainte-Rose D, Salomon-Frechou B, Dieye M, Véronique-Baudin J, Pré M, Marquet M, Wan-Ajouhu G, Janky E, Riethmuller D, Cesaire R; DEPIPAPUFR study group. Genotype distribution of cervical HPV among Caribbean women in a population-based study in Martinique: The DEPIPAPUFR study. *PLoS One*, **2021**;16(10):e0257915.
111. Dickson EL, Vogel RI, Geller MA, Downs LS Jr. Cervical cytology and multiple type HPV infection: a study of 8182 women ages 31-65. *Gynecol Oncol*, **2014**;133(3):405-8.

ÖZGEÇMİŞ

Yemen’de, Sanaa şehrinde 1989 yılında doğdu. İlköğretimini Heyel Okulunda, ortaöğretimini ve liseyi Salah Aldeen Okulunda tamamladı. Sana Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Fakültesi, Medikal Laboratuvar Bölümünden 2014 yılında mezun oldu. Daha sonra iki yıl bir Sağlık Enstitüsünde sağlık programı koordinatörü olarak çalıştı. Ardından 2019 yılında Türkiye’de burs kazanıp Çukurova Üniversitesi TÖMER’de (Türkçe Öğretim Merkezi) bir yıl eğitim aldı ve sonrasında 2021 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans programına başladı. İyi derecede ingilizce bilmektedir.