

## HPV ДЕТЕКЦИЈА И/ИЛИ ЦИТОЛОШКА ДИЈАГНОСТИКА

Сања М. Миленковић

Клиничко-болнички центар Земун, Београд, Србија

## HPV DETECTION AND/OR CYTOLOGICAL DIAGNOSTICS

Sanja M. Milenković

Zemun Clinical-Hospital Centre, Belgrade, Serbia

## Сажетак

Циљ овог прегледног чланка је да, поред прегледа метода скрининга, прикаже улогу и значај патолога/цитолога у скринингу и да укаже на значај увођења савремених метода молекуларне биологије у програм скрининга. *Dr. Tedros Adhanom Ghebreyesus*, генерални директор Светске здравствене организације, упутио је глобални позив за елиминацију карцинома грлића материце и то поставио као приоритет јавног здравља у 2018. години. Скрининг тестови грлића материце могу открити преканцерозне лезије грлића материце код наизглед здравих, асимптоматских жена. Многе институције још увек користе конвенционални или Папа тест, а многе друге су почеле да користе модеран тест тј. цитологију засновану на течној бази којом се значајно смањују грешке преаналитичке фазе. До сада, студије које упоређују ове две технике нису дале доследне доказе да цитологија заснована на течној бази нуди значајна побољшања у осетљивости или специфичности, тако да се обе сматрају прихватљивим. Са открићем етиолошке повезаности HPV вируса и карцинома грлића материце 1983. године развијене су нове методе за скрининг карцинома грлића материце дизајнирањем тестова усмерених на идентификацију вируса/инфекције, а не на почетак болести и откривање изменених ћелија. Примена HPV теста као прве линије скрининг програма постаје свакодневница. Предности примене молекуларне технике су у томе што има велику предиктивну вредност, високу поновљивост и велики капацитет протока. У Републици Србији програм скрининга се спроводи Националном уредбом од 2013. године, као организовани, децентрализовани програм и има своје потешкоће и по питању кадровских, финансијских и организационих мањкавости. Увођење HPV примарног скрининга би омогућило значајно превазилажење тих потешкоћа, посебно ако би уз HPV скрининг била имплементирана цитологија заснована на течној бази и уведена дигитална патологија. Све то ипак има један предуслов, а то је централизација. Посматрајући ситуацију и са аспекта увођења вакцина против HPV вируса, мислим да смо на добром путу да контролишемо карцинома грлића материце, и да их искоренимо у не тако далекој будућности.

**Кључне речи:** скрининг, цитологија, HPV вирус

## Abstract

The aim of this review article is to demonstrate the role and importance of the pathologist/cytologist in screening and to emphasise the importance of introducing the state-of-the-art molecular biology methods into the screening programme, in addition to providing an overview of the screening methods. Dr Tedros Adhanom Ghebreyesus, World Health Organization Director-General, announced a global call for action to eliminate cervical cancer and made it a public health priority in 2018. Cervical screening tests can detect precancerous lesions of the cervix in apparently healthy, asymptomatic women. Many institutions still use the conventional or Pap test, while many others have started using the modern test i.e. liquid-based cytology, which significantly reduces the pre-analytical phase errors. To date, studies comparing the two techniques have not provided consistent evidence that liquid-based cytology offers significant improvements in sensitivity or specificity, so both are considered acceptable. With the discovery of the etiological link between the HPV virus and cervical cancer in 1983, new methods were developed for cervical cancer screening by designing tests aimed at identifying the virus/infection rather than at the onset of the disease and detecting altered cells. The application of the HPV test as the first line of the screening programme is becoming routine. The advantages of applying the molecular technique are that it has a high predictive value, high reproducibility and high throughput. In the Republic of Serbia, the screening programme has been implemented by the National Decree since 2013, as an organised, decentralised programme and has its own difficulties in terms of personnel, financial and organisational deficiencies. The HPV primary screening would enable those difficulties to be overcome to a considerable degree, especially if liquid-based cytology were to be implemented and digital pathology introduced along with HPV screening. All of this, however, has one prerequisite, which is centralisation. Looking at the situation also from the aspect of introducing vaccines against the HPV virus, I believe that we are on the right track to control cervical cancers, and to eradicate them in the not so distant future.

**Key words:** screening, cytology, HPV virus

## Увод

Превенција карцинома грлића материце представља изазов за здравствене системе на глобалном нивоу. Скрининг је омогућио, раним откривањем преканцерозних ћелија, да се смањи стопа инциденце карцинома

## Introduction

Cervical cancer prevention is a challenge for health systems at the global level. Screening has made it possible, through early detection of precancerous cells, to reduce the incidence rate of cervical cancer by 50% since the mid-

ма грлића материце за 50% од средине 1970-их, али и даље око 300.000 жена умре због карцинома грлића материце сваке године широм света [1]. Др Тедрос Адханом Гебрејесус (*Dr. Tedros Adhanom Ghebreyesus*), генерални директор Светске здравствене организације (СЗО), упутио је глобални позив за елиминацију карцинома грлића материце и то поставио као приоритет јавног здравља у 2018. години [2].

Хистопатологија и цитологија су две гране биологије/патологије. У медицини се широко користе за превенцију и дијагнозу болести. Такође, у овим областима се узорци припремају сличним техникама, боје се стаклене плочице и анализирају под микроскопом од стране патолога или цитолога. Међутим, постоји суштинска разлика између ове две области, јер је патологија област која анализира болесна ткива у циљу постављања дијагнозе, а цитологија грана која проучава статус појединачних ћелија и као таква је веома погодна за скрининг програме. Скрининг тестови грлића материце могу открити преканцерозне лезије грлића материце код наизглед здравих, асимптоматских жена. Најчешћи тест за скрининг карцинома грлића материце, Папа тест или конвенционални брис који се користи широм света, развио је др Георгис Папаниколау (*Dr. George Papanicolaou*) 1943. године када је описао како се вагиналне ћелије могу изоловати, размазати на плочицу и обојити, а потом и посматрати под микроскопом у циљу откривања њихових абнормалности [3]. Употреба Папа теста широм света допринела је смањењу инциденције и морталитета од карцинома грлића материце за 50% [4, 5]. Папа тест је замишљен као скрининг преглед, а не као дијагностички алат и у идеалним околностима он има високу осетљивост и специфичност. Међутим, дешавања у преаналитичкој фази (узимању и припремању узорка за анализу), али и варијабилност као последица субјективне процене приликом анализе између цитолога/цитопатолога која је значајна, умањују осетљивост и специфичност овог теста. Осетљивост се креће од 30 до 87%, а специфичност од 86 до 100% према различитим студијама [6].

Многе институције још увек користе Папа тест, многе друге су почеле да користе модеран тест тј. цитологију засновану на течној бази (*Liquid-based-citology* – LBC) код које се узорак са грлића материце премешта у течни медијум и шаље у лабораторију на даљу обраду. Узорци пролазе кроз седиментацију или се примењује техника филтрације (метод зависи од произвођача апарата), а затим се постављају у једном слоју на плочице, боје и потом шаљу цитологу/цитопатологу на анализу. У теорији, LBC би требало да има предност у односу на конвенционално узимање узорка због мање учеста-

1970s, however about 300,000 women still die of cervical cancer every year worldwide [1]. Dr Tedros Adhanom Ghebreyesus, the World Health Organization (WHO) Director-General, announced a global call for action to eliminate cervical cancer and made it a public health priority in 2018 [2].

Histopathology and cytology are two branches of biology/pathology. They are widely used in medicine for the disease prevention and diagnosing. Also, in these areas, samples are prepared using similar techniques, glass slides are stained and analysed under a microscope by a pathologist or cytologist. However, there is a fundamental difference between the two fields, as pathology is the field that analyses diseased tissues in order to establish a diagnosis, while cytology is the branch that studies the status of individual cells and as such is conducive to screening programmes. Cervical screening tests can detect pre-cancerous lesions of the cervix in apparently healthy, asymptomatic women. The most common cervical cancer screening test, the Pap smear or conventional smear used worldwide, was developed by Dr Georgios Papanicolaou (Dr George Papanicolaou) in 1943, when he described how vaginal cells can be isolated, smeared on a slide and stained, and then observed under a microscope in order to detect their abnormalities [3]. The use of Pap tests worldwide has contributed to a 50% reduction in cervical cancer incidence and mortality [4, 5]. The Pap smear is intended as a screening test, not a diagnostic tool, and under ideal circumstances it has high sensitivity and specificity. However, events in the pre-analytical phase (taking and preparing the sample for analysis), as well as variability as a consequence of the subjective assessment during the analysis between cytologists/cytopathologists, which is significant, reduce the sensitivity and specificity of this test. Sensitivity ranges from 30 to 87%, and specificity from 86 to 100% according to different studies [6].

Many institutions still use the Pap test, while many others have started using the modern test i.e. liquid-based-cytology (LBC) in which the sample from the cervix is transferred to a liquid medium and sent to the laboratory for further processing. The samples pass through sedimentation or the filtration technique is applied (the method depends on the device manufacturer), and then they are placed in one layer on slides, stained and then sent to a cytologist/cytopathologist for analysis. In theory, LBC should have an advantage over conventional sampling due to the lower frequency of errors in the pre-analytical phase. The test is considered suboptimal due to false-negative and false-positive test results. This may be a consequence of the quality of sampling and preparation (contamination with blood or inflammation, poor cell fixation and inhomo-

лости грешака у преаналитичкој фази. Тест се сматра субоптималним због лажно-негативних и лажно-позитивних резултата теста. То може бити последица квалитета узорковања и припреме (загађеност крвљу или упалом, лоша фиксација ћелија и нехомогена расподела ћелија) и грешке у откривању и тумачењу. До сада, студије које упоређују ове две технике нису дале доследне доказе да LBC нуди значајна побољшања у осетљивости или специфичности, тако да се обе сматрају прихватљивим [7, 8].

Инфекција високоризичним сојевима хуманог папилома вирус (HPV) је познати предуслов за развој карцинома грлића материце. Патогенеза карцинома грлића материце са HPV вирусом састоји се од неколико корака који омогућавају каскадну малигну трансформацију ћелије: хиперплазија, дисплазија, карцином *in situ* и инвазивни карцином [9, 10]. HPV вирусни генотипови су класификовани у односу на канцерогене способности и класификација је препоручена од стране IARC-WHO (*International Agency for Research on Cancer*). Према тој класификацији HPV вируси ниског ризика су типови 6 и 11 (гениталне брадавице и оралне папиломе) [11, 12]. HPV вируси високог ризика, типови 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 и 68 су класификовани као вероватно канцерогени, а типови 26, 30, 34, 53, 66, 67, 69, 70, 73, 82, 85 и 97 као могуће канцерогени [12]. Са открићем етиолошке повезаности HPV вируса и карцинома грлића материце 1983. године [13], развијене су нове методе за скрининг карцинома грлића материце, али и других локација где настају карциноми изазвани HPV вирусом, дизајнирањем тестова који су се фокусирали на идентификацију вируса/инфекције, а не на почетак болести и откривање измењених ћелија [14, 15, 16].

Циљ овог прегледног чланка је да, поред прегледа метода скрининга, прикаже улогу и значај патолога/цитолога у скринингу и да укаже на значај увођења савремених метода молекуларне биологије у програм скрининга.

### **Значај преаналитичке фазе скрининга цитолошким методама (Папа тест и LBC)**

За цитолошку анализу грлића материце користе се две методе: конвенционални Папа брис и LBC. И за једну и за другу методу веома је битна преаналитичка фаза која подразумева узимање, обраду и бојење узорка за анализирање микроскопом. Сензитивност Папа теста је 5–60% и достиже максимално 80% [17, 18]. Међутим, Папа тест показује значајан број (20–50%) лажно негативних случајева [19]. У преаналитичкој фази код Папа

geneous cell distribution) and detection and interpretation errors. To date, studies comparing the two techniques have not provided consistent evidence that LBC offers significant improvements in sensitivity or specificity, so both are considered acceptable [7, 8].

Infection with high-risk strains of human papillomavirus (HPV) is a known prerequisite for the development of cervical cancer. The pathogenesis of cervical cancer with the HPV virus comprises several steps that enable a cascading malignant transformation of the cell: hyperplasia, dysplasia, carcinoma in situ and invasive carcinoma [9, 10]. The HPV viral genotypes are classified in relation to carcinogenic abilities and the classification is recommended by IARC-WHO (International Agency for Research on Cancer). According to that classification, low-risk HPV viruses are types 6 and 11 (genital warts and oral papilloma) [11, 12]. High-risk HPV, types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 and 68 are classified as probably carcinogenic, and types 26, 30, 34, 53, 66, 67, 69, 70, 73, 82, 85 and 97 as possibly carcinogenic [12]. With the discovery of the etiological link between the HPV virus and cervical cancer in 1983 [13], new methods were developed for screening cervical cancer, but also other locations where cancers caused by the HPV virus emerge, by designing tests that focused on the identification of the virus/infection, and not on the onset of the disease and the detection of altered cells [14, 15, 16].

The aim of this review article is to show the role and importance of the pathologist/cytologist in screening and to emphasise the importance of introducing the state-of-the-art molecular biology methods into the screening programme, in addition to providing an overview of the screening methods.

### **The importance of the pre-analytical phase of screening by cytological methods (Pap test and LBC)**

Two methods are used for cytological analysis of the cervix: the conventional Pap smear and LBC. For both methods, the pre-analytical phase is very important, which involves taking, processing and staining the sample for analysis under a microscope. The sensitivity of the Pap test is 5–60% and reaches a maximum of 80% [17, 18]. However, the Pap test shows a significant number (20–50%) of false negative cases [19]. In the pre-analytical phase of the Pap test, although it is cheap, there are several elements that affect the result. Firstly, the method of swabbing and spreading on the slide can lead to a significant loss of cellular material, because the sample must be transferred to the slide very quickly, while another problem can arise from the accumulation and overlapping of cells on the slide. Also,

теста, иако је он јефтин, јавља се неколико елемената који утичу на резултат. Прво, начин узимања бриса и размазивања на плочицу може довести до значајног губљења ћелијског материјала, јер се узорак мора веома брзо пренети на плочицу, а други проблем може настати због нагомилавања и преклапања ћелија на плочици. Такође, цервикалне ћелије могу бити смешане са бројним другим елементима као што су крв, ћелијски дебрис, мукус или инфламаторне ћелије. То потенцијално може довести до лажно негативног резултата [20].

Увођењем цитологије на течной бази 1996. године добијене су задовољавајуће карактеристике у погледу сензитивности, једноставног узорковања и брже припреме узорка, што је смањило број неадекватних узорака [21, 22, 23]. LBC омогућава цитоскринеру и цитопатологу посматрање ћелија у једном слоју без пратећих елемената, а веома важна чињеница је да коришћењем LBC остаје довољно материјала за детекцију HPV вируса [24]. Неки аутори сматрају да не постоји разлика у сензитивности, али да је LBC бржа и смањује стопу неадекватних узорака [25, 26, 27]. Највећи број аутора ипак сматра да нема разлике у сензитивности, али постоји и значајан број аутора који сматрају да је LBC сензитивнија [8, 28, 29, 30]. Међутим, јасно је да је методологија LBC значајно унапредила преаналитичку фазу и омогућила лакшу аналитичку фазу (анализу препарата од стране цитоскринера/цитопатолога) и повећала сензитивност на 76% [31, 32, 33].

### **Значај едукованости цитоскринера/цитопатолога у конвенционалним (Папа тест или LBC) скрининг програмима**

Начин комуникације између цитоскринера/цитопатолога и гинеколога се остварује коришћењем терминологије познате *Bethesda* класификације која је уведена 1988. године, ревидирана 2001. и 2008. године, како би била побољшана стандардизација извештавања, а најновије ажурирање је урађено 2014. године од стране *Nayar/Wilbur*-а [34].

Цитоскринер и цитопатолог морају бити образовани и едуковани на начин да пруже најбољу услугу. Сваки цитоскринер и цитопатолог зна да је цитолошки тест „златни“ стандард за откривање измењених ћелија пре свега због своје специфичности, али исто тако зна за проблеме у поновљивости теста и проблеме преаналитичке фазе (крв, слуз, тамно обојена поља због преклапања ћелија, лоша фиксација, прклапање ћелија, итд). Све то може озбиљно да утиче на рад чак и високо обученог и утренираног кадра [8]. Морфолошка

cervical cells can be mixed with numerous other elements such as blood, cellular debris, mucus or inflammatory cells. This can potentially lead to a false negative result [20].

With the introduction of liquid-based cytology in 1996, satisfactory characteristics were obtained in terms of sensitivity, simple sampling and faster sample preparation, which reduced the number of inadequate samples [21, 22, 23]. The LBC enables the cytoscreener and cytopathologist to observe cells in one layer without the accompanying elements, and a very important fact is that by using LBC, enough material remains for HPV virus detection [24]. Some authors believe that there is no difference in sensitivity, but that LBC is faster and reduces the rate of inadequate samples [25, 26, 27]. The majority of authors still believe that there is no difference in sensitivity, but there is also a significant number of authors who believe that LBC is more sensitive [8, 28, 29, 30]. However, it is clear that the LBC methodology significantly improved the pre-analytical phase and enabled an easier analytical phase (analysis of preparations by a cytoscreener/cytopathologist) and increased the sensitivity to 76% [31, 32, 33].

### **The importance of education of cytoscreeners/cytopathologists in conventional (Pap test or LBC) screening programmes**

The method of communication between a cytoscreener/cytopathologist and a gynaecologist is achieved using the terminology of the famous Bethesda classification which was introduced in 1988 and revised in 2001 and 2008 to improve the standardisation of reporting, while it was last updated in 2014 by *Nayar/Wilbur* [34].

A cytoscreener and cytopathologist must be educated and trained in a way to provide the best service. Every cytoscreener and cytopathologist is aware that the cytology test is the "gold" standard for detecting altered cells primarily because of its specificity, but is also aware of the problems in the reproducibility of the test and the problems of the pre-analytical phase (blood, mucus, dark coloured fields due to overlapping cells, poor fixation, cells overlapping, etc.). All this can seriously affect the work of even highly educated and trained personnel [8]. The morphological interpretation of the results is quite variable among cytoscreeners and cytopathologists (and other second-reading experts) who analyse the smear [35]. As cytology testing is suboptimal in women over 55 years of age, as well as in postmenopausal women due to epithelial atrophy and less accessible transformation zones in the cervical canal, the degree of inconsistency in the interpretation of morphological changes is even more pronounced [36].

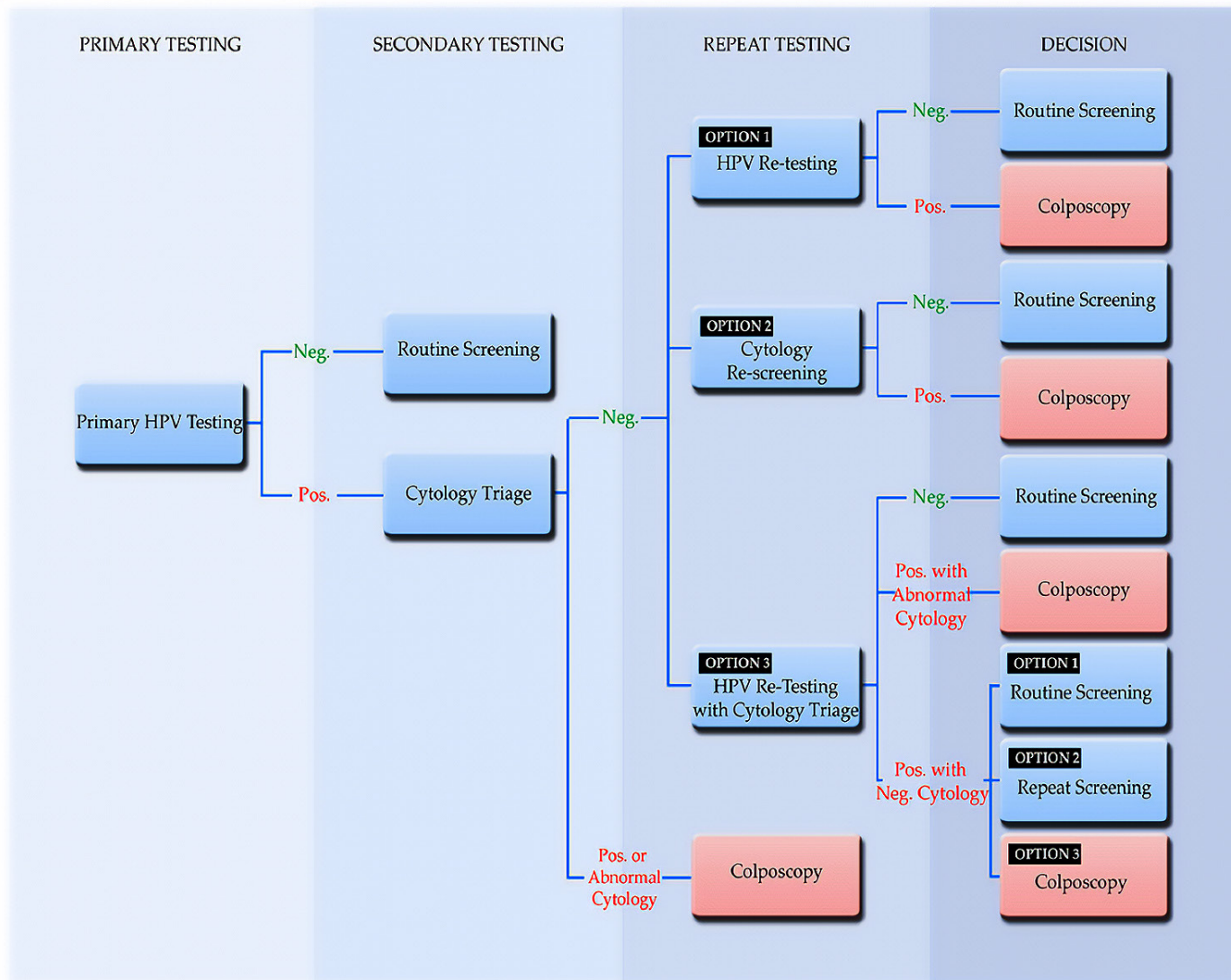
интерпретација резултата је међу цитоскринерима и цитопатолозима (и осталим експертским стручњацима за друго читање) који анализирају размаз прилично варијабилна [35]. Како је цитолошко тестирање субоптимално за жене од 55 година старости, као и за жене у постменопаузи због атрофије епитела и мање приступачних трансформационих зона, у цервикалном каналу, степен неподударности тумачења морфолошких промена је још израженији [36].

### Скрининг: шта се мења?

Примена HPV теста као прве линије скрининг програма постаје свакодневница. Данас постоји око 254 комерцијалних тестова и више од 425 варијанти тих тестова [37]. HPV тестирање је веома осетљив, објективан, молекуларни приступ. Његова предност је откривање ћелија у стадијуму пре покретања карциномске каскаде, те на тај начин омогућава да се скрининг програми конципирају на петогодишњим интервалима за разлику од трогодишњих интервала које захтева цитолошки скрининг и то је препоручено Европским смерницама [38]. Предности примене молекуларне технике су у томе што има велику предиктивну вредност, високу поновљивост и велики капацитет протока [39]. Међутим како све већи број земаља уводи HPV тестирање као примарни скрининг, препоруке се мењају из искустава тих земаља и неопходно их је редовно пратити. Европске препоруке за имплементацију и управљање примарним HPV скринингом су приказане у шеми у наставку текста чланка (слика 1) [38, 40].

### Screening: what is changing?

The application of the HPV test as the first line of the screening programme is becoming routine. Today, there are about 254 commercial tests and more than 425 variants of those tests [37]. HPV testing is a highly sensitive, objective, molecular approach. Its advantage is the detection of cells at a stage before the initiation of the cancer cascade, thus allowing the screening programmes to be designed at five-year intervals, as opposed to the three-year intervals required by cytological screening, which is recommended by European guidelines [38]. The advantages of applying the molecular technique are that it has a high predictive value, high reproducibility and high flow capacity [39]. However, as an increasing number of countries introduce HPV testing as primary screening, the recommendations change based on the experiences of those countries and it is necessary to monitor them regularly. The European recommendations for the implementation and management of primary HPV screening are shown in the diagram in the text below (Figure 1) [38, 40].



**Слика 1.** Алгоритам управљања у примарном HPV скринингу. Абнормална цитологија се односи на гранични или тежи цитолошки резултат. Овај алгоритам је развијен на основу података другог издања европских Смерница за осигурање квалитета у скринингу рака грлића материце из 2015. [38] и преуређен од стране *Chrisostomou*-а и сарадника 2018. године [40].

**Figure 1.** Management algorithm in primary HPV screening. Abnormal cytology refers to a borderline or severe cytological result. This algorithm was developed based on the supplements to the second edition of the 2015 European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening [38] and revised by Chrisostomou et al. in 2018 [40].

**Скрининг у Републици Србији**

У Републици Србији се скрининг програм спроводи цитолошким методама са трогодишњим интервалом Уредбом о Националном скрининг програму која је објављена у „Службеном гласнику” 2013. године [41]. Према Националним препорукама за нашу земљу, у скрининг програм су уврштене жене од 25. до 64. године старости. Скрининг програм је конципиран кроз референтне лабораторије (15 на територији целе Србије). Прво тумачење налаза обавља обучени цитоскринер (гинеколог, биолог, лебораторијски техничар) и у случају резултата преко 2 према *Bethesda* класификацији, друго тумачење обавља експерт (патолог, гинеколог,

**Screening in the Republic of Serbia**

In the Republic of Serbia, the screening programme is carried out using cytological methods at a three-year interval, according to the Decree on the National Screening Programme, which was published in the "Official Gazette" in 2013 [41]. According to the National recommendations for our country, women aged 25 to 64 are included in the screening programme. The screening programme concept involves reference laboratories (15 throughout Serbia). The first interpretation of the findings is performed by a trained cytoscreener (gynaecologist, biologist, laboratory technician) and in the case of results above category 2 according to the Bethesda classification, the second interpretation is performed by an expert (pathologist, gynaecologist, biolo-

биолог) са експертским сертификатом за скрининг грлића материце.

Програм скрининга има своје потешкоће и по питању кадровских, финансијских и организационих мањкавости. HPV примарни скрининг би омогућио значајно превазилажење тих тешкоћа, посебно ако би уз HPV скрининг била имплементирана LBC и уведена дигитална патологија. Све то ипак има један предуслов, а то је централизација.

Веома је мало података о HPV тестирању у Србији. Ми смо публиковали 2016. године једну студију на узорку од 80 жена, поредећи тип HPV позитивности и морфолошке промене грлића оперисаних жена од карцинома [42]. У нашој студији у 80,39% је био заступљен тип 16. Такође, Ковачевић и сарадници су објавили студију 2019. године, али само на основу узимања бриса без корелације са патохистолошким анализама оперисаних жена [43].

### Закључак

На првој линији фронта у скрининг програмима у савременом свету сада се налазе молекуларни биолози. Стратегија скрининга се полако, али сигурно мења. У најједноставнијем смислу мисаони ток треба да буде: „Тражите здраву, заражену жену и детектујте тип вируса!“. Уколико је жена заражена типом који би у перспективи могао изазвати карциномску каскаду, неопходно је урадити цитолошки тест. Посматрајући ситуацију и са аспекта увођења вакцина против HPV вируса, мислим да смо на добром путу да контролишемо карциноме грлића материце, и искоренимо их у не тако далекој будућности.

gist) with an expert certificate for cervical screening.

The screening programme has its difficulties in terms of personnel, financial and organisational deficiencies. The HPV primary screening would enable those difficulties to be overcome to a considerable degree, especially if LBC were to be implemented and digital pathology introduced along with HPV screening. All of this, however, has one prerequisite, which is centralisation.

There are very few data on HPV testing in Serbia. In 2016, we published a study on a sample of 80 women, comparing the type of HPV positivity and morphological changes in the cervix of women operated on for cancer [42]. In our study, type 16 was present in 80.39%. Also, Kovačević et al. published a study in 2019, but only based on swabs without correlation with pathohistological analyses of the operated women [43].

### Conclusion

Molecular biologists are at the forefront of screening programmes in the modern world. The screening strategy is changing slowly but surely. In the simplest terms, the thought process should be as follows: "Look for a healthy, infected woman and detect the virus type!" If a woman is infected with a type that could cause a cancer cascade in the future, it is necessary to perform a cytological test. Looking at the situation from the perspective of introducing vaccines against the HPV virus, I believe we are on the right track to control cervical cancer and eradicate it in the not too distant future.

## Литература / References

1. World Health Organization. Sexual and Reproductive Health, Prevention and Control of Cervical Cancer. 2019. [[Last accessed on 2020 Jun 09]]. Available from: <https://www.who.int/reproductivehealth/topics/cancers/en/>
2. World Health Organization. Sexual and Reproductive Health, WHO Director-General Calls for all Countries to Take Action to Help end the Suffering Caused by Cervical Cancer. Available from: <https://www.who.int/reproductivehealth/call-to-action-elimination-cervical-cancer/en/> (2018), Accessed 9th Jun 2020
3. Papanicolaou GN, Traut HF. The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus. 1941. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 1997;121(3):211–24.
4. Lim Sc, Yoo WC. Current Status of and Perspectives on Cervical Cancer Screening in Korea. *Journal of Pathology and Translational Medicine* 2019; 53(4): 210–216. DOI: <https://doi.org/10.4132/jptm.2019.04.11>
5. Nygård JF, Skare GB, Thoresen SØ. The cervical cancer screening programme in Norway, 1992-2000: changes in Pap smear coverage and incidence of cervical cancer. *Journal of Medical Screening* 2002;9(2):86–91. <https://doi.org/10.1136/jms.9.2.86>
6. Stoler MH, Schiffman M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *JAMA* 2001;285(11):1500–1505. doi:10.1001/jama.285.11.1500
7. Davey E, Barratt A, Irwig L, Chan FS, Macaskill P, Mannes P, Saville MA. Effect of study design and quality on unsatisfactory rates, cytology classifications, and accuracy in liquid-based versus conventional cervical cytology: a systematic review. *Lancet* 2006;367 (9505):122–132. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)67961-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)67961-0)
8. Siebers GA, Klinkhamer JJMP, Grefte JMM, Massuger FAGL, Vedder EMJ, Beijers-Broos A, Bulten J, Arbyn M. Comparison of liquid-based cytology with conventional cytology for detection of cervical cancer precursors: a randomized controlled trial. *JAMA: the Journal of the American Medical Association* 2009;302 (16): 1757–1764. doi:10.1001/jama.2009.1569
9. Martínez-Rodríguez F, Limones-González JE, Mendoza-Almanza B, Esparza-Ibarra EL, Gallegos-Flores PI, Ayala-Luján JL, Godina-González S, Salinas E, Mendoza-Almanza G. Understanding Cervical Cancer through Proteomics. *Cells*. 2021;10(8):1854. doi: 10.3390/cells10081854.
10. Tommasino M. The human papillomavirus family and its role in carcinogenesis. *Semin. Cancer Biol.* 2014;26:13–21. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2013.11.002>
11. Rantshabeng P, Kasvosve I, Ndlovu A, Gaseitsiwe S, Moyo S. Prevalence of high-risk human papilloma virus in women with high-grade squamous cell intraepithelial lesions in Botswana using Abbott RealTime HPV assay. *PLoS ONE* 2019;14:e0211260. doi.org/10.1371/journal.pone.0211260
12. González JV, Deluca GD, Liotta DJ, Correa RM, Basiletti JA, Colucci MC, et al. Baseline prevalence and type distribution of Human papillomavirus in sexually active non-vaccinated adolescent girls from Argentina. *Rev. Argent. Microbiol.* 2021;53(1):11–19.
13. Moscicki AB, Schiman M, Burchell A, Albero G, Giuliano AR, Goodman MT, et al. Updating the Natural History of Human Papillomavirus and Anogenital Cancers. *Vaccine* 2012;30:F24–F33. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.05.089>
14. Lazarevic M, Milosevic M, Jelovac D, Milenkovic S, Tepavcevic Z, Baldan F, Suboticki T, Toljic B, Trisic D, Dragovic M, Damante G, Milasin J. Marked epithelial to mesenchymal transition in surgical margins of oral cancer-an in vitro study. *Oncol Lett.* 2020;19(6):3743–3750. <https://doi.org/10.3892/ol.2020.11494>
15. Vuletic M, Jancic S, Milenkovic S, Paunovic M, Milicic B, Jancic N, Perunicic B, Slovic Z. Clinical - pathological significance of leptin receptor (LEPR) expression in squamous cell carcinoma of the skin. *Pathol Res Pract.* 2020;216(9):153111. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2020.153111>
16. Kostić M, Nikolić N, Ilić B, Carkić J, Milenković S, Vukadinović M. Analysis of polymorphism in the survivin gene promoter as a potential risk factor for head and neck cancers development. *Srp Arh Celok Lek.* 2013;141(5-6):304–307. DOI: 10.2298/SARH1306304K



17. Mood NI, Dehdashti MR, Eftekhar Z, Ahmadi SA. The specimen adequacy and atypical squamous cell frequency: Conventional versus liquid-based cytology pap smears. *Tehran Univ Med J* 2009;66:900–6.
18. Strander B, Andersson-Ellström A, Milsom I, Rådberg T, Ryd W. Liquid-based cytology versus conventional Papanicolaou smear in an organized screening program: A prospective randomized study. *Cancer* 2007;111:285–91. <https://doi.org/10.1002/cncr.22953>
19. Anbiaei R, Yousefi Z, Anbiaei S, Sharifi N, Azmie R, Valaei N. Experimental study for evaluation and comparison of conventional Pap smear and liquid-based smear in the diagnosis of cervical dysplasia. *Pejouhandeh* 2007;11:325–30.
20. Lee KR, Ashfaq R, Birdsong GG, Corkill ME, McIntosh KM, Inhorn SL. Comparison of conventional Papanicolaou smears and a fluid-based, thin-layer system for cervical cancer screening. *Obstet Gynecol.* 1997;90:278–84. [https://doi.org/10.1016/S0029-7844\(97\)00228-7](https://doi.org/10.1016/S0029-7844(97)00228-7)
21. Akamatsu S, Kodama S, Himeji Y, Ikuta N, Shimagaki N. A comparison of liquid-based cytology with conventional cytology in cervical cancer screening. *Acta Cytol* 2012;56:370–374. <https://doi.org/10.1159/000337641>
22. Siebers AG, Klinkhamer PJ, Arbyn M, Raifu AO, Massuger LF, Bulten J. Cytologic detection of cervical abnormalities using liquid-based compared with conventional cytology: A randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2008;112(6):1327–1334. doi: 10.1097/AOG.0b013e31818c2b20
23. Maccallini V, Angloni C, Caraceni D, Fortunato C, Venditti MA, Di Gabriele G, et al. Comparison of the conventional cervical smear and liquid-based cytology: Results of a controlled, prospective study in the Abruzzo region of Italy. *Acta Cytol* 2008;52(5):568–574.
24. Haghghi F, Ghanbarzadeh N, Ataei M, Sharifzadeh G, Shahbazi JS, Najafi-Semnani F. A comparison of liquid-based cytology with conventional Papanicolaou smears in cervical dysplasia diagnosis. *Adv Biomed Res* 2016;5:162. doi: 10.4103/2277-9175.192735
25. Sykes PH, Harker DY, Miller A, Whitehead M, Neal H, Wells JE, et al. A randomised comparison of SurePath liquid-based cytology and conventional smear cytology in a colposcopy clinic setting. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 2008;115:1375–1381. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2008.01865.x>
26. Treacy A, Reynolds J, Kay EW, Leader M, Grace A. Has the ThinPrep method of cervical screening maintained its improvement over conventional smears in terms of specimen adequacy? *Diagn Cytopathol* 2009;37(4):239–340. <https://doi.org/10.1002/dc.20993>
27. Patel C, Ullal A, Roberts M, Brady J, Birch P, Bulmer JN, et al. Endometrial carcinoma detected with SurePath liquid-based cervical cytology: Comparison with conventional cytology. *Cytopathology* 2009;20(6):380–387. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2303.2008.00621.x>
28. Laiwejpithaya S, Rattanachaiyanont M, Benjapibal M, Khuakoonratt N, Boriboonhirunsarn D, Laiwejpithaya S, et al. Comparison between Siriraj liquid-based and conventional cytology for detection of abnormal cervicovaginal smears: A split-sample study. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008;9(4):575–580.
29. Zhu J, Norman I, Elfgren K, Gaberi V, Hagmar B, Hjerpe A, et al. A comparison of liquid-based cytology and Pap smear as a screening method for cervical cancer. *Oncol Rep.* 2007;18(1):157–160. <https://doi.org/10.3892/or.18.1.157>
30. Chen C, Yang Z, Li Z, Li L. Accuracy of several cervical screening strategies for early detection of cervical cancer: A meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2012;22(6):908–921. <http://dx.doi.org/10.1097/IGC.0b013e318256e5e4>
31. Weintraub J, Morabia A. Efficacy of a liquid-based thin layer method for cervical cancer screening in a population with a low incidence of cervical cancer. *Diagn. Cytopathol.* 2000;22(1):52–59. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0339\(200001\)22:1<52::AID-DC14>3.0.CO;2-%23](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0339(200001)22:1<52::AID-DC14>3.0.CO;2-%23)
32. Monsonego J, Autillo-Touati A, Bergeron C, Dachez R, Liaras J, Saurel J et al. Liquid-based cytology for primary cervical cancer screening: a multi-centre study. *Br J Cancer* 2001; 84(3):360–366. <https://doi.org/10.1054/bjoc.2000.1588>

33. Pankaj S, Kumari A, Kumari S, Choudhary V, Kumari J, Kumari A, Nazneen S. Evaluation of Sensitivity and Specificity of Pap Smear, LBC and HPV in Screening of Cervical Cancer. *Indian Journal of Gynecologic Oncology* 2018; 16, 49. <https://doi.org/10.1007/s40944-018-0221-x>
34. Nayar R, Wilbur CD. The Pap Test and Bethesda 2014. *Acta Cytologica* 2015;59:121–132. <https://doi.org/10.1159/000381842>
35. Chrysostomou AC, Kostrikis LG. Methodologies of Primary HPV Testing Currently Applied for Cervical Cancer Screening. *Life (Basel)*. 2020;10(11):290. <https://doi.org/10.3390/life10110290>
36. Hermansson RS, Olovsson M, Hoxell E, Lindström AK. HPV prevalence and HPV-related dysplasia in elderly women. *PLoS ONE* 2018;13:e0189300. [doi.org/10.1371/journal.pone.0189300](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189300)
37. Poljak M, Oštrbenk Valenč A, Gimpelj Domjanič G, Xu L, Arbyn M. Commercially available molecular tests for human papillomaviruses: A global overview. *Clin. Microbiol. Infect.* 2020; 26:1144–1150. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.03.033>
38. Von Karsa L, Arbyn M, De Vuyst H, Dillner J, Dillner L, Franceschi S, et al. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Summary of the supplements on HPV screening and vaccination. *Papillomavirus Research* 2015;1:22-31 <https://doi.org/10.1016/j.pvr.2015.06.006>
39. Basu P, Mittal S, Vale DB, Kharaji YC. Secondary prevention of cervical cancer. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2018;47:73–85. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2017.08.012>
40. Chrysostomou A, Stylianou D, Constantinidou A, Kostrikis L. Cervical Cancer Screening Programs in Europe: The Transition Towards HPV Vaccination and Population-Based HPV Testing. *Viruses* 2018;10:729. <https://doi.org/10.3390/v10120729>
41. Uredba o Nacionalnom programu ranog otkrivanja karcinoma grlića materice „Službeni glasnik”, br. 73 od 16. avgusta 2013, 83 od 20. septembra 2013. <https://www.pravno-informacioni-sistem.rs/SIGlasnikPortal/eli/rep/sgrs/vlada/uredba/2013/83/2>
42. Stamenković M, Knežević A, Knežević I, Kuzmanović I, Karalić D, Milenković S, Jovanović T. High-risk human papilloma virus genotypes in cervical carcinoma of Serbian women: Distribution and association with patho-histological findings. *Biologicals*. 2016;44(5):412–6. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2016.05.001>
43. Kovacevic G, Milosevic V, Knezevic P, Knezevic A, Knezevic I, Radovanov J, et al. Prevalence of oncogenic Human papillomavirus and genetic diversity in the L1 gene of HPV16 HPV 18 HPV31 and HPV33 found in women from Vojvodina Province Serbia. *Biologicals* 2019;58:57–63. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2019.02.001>



### Кореспонденција / Correspondence

Сања М. Миленковић - Sanja M. Milenković  
[sanjamilenkovic3@gmail.com](mailto:sanjamilenkovic3@gmail.com)