

Pemeriksaan Pap's Smear dengan Metode Thinprep

Lenny Sari

Staf Medik Fungsional Instalasi Patologi Anatomi RS. Kanker "Dharmais"

ABSTRAK

Pemeriksaan melalui metode *ThinPrep* telah diakui oleh FDA (*The US Food and Drug Administration*) untuk menggantikan pemeriksaan *Pap's smear* konvensional sejak tahun 1996 untuk mendeteksi sel atipik, lesi prakanker dan kanker serviks sesuai dengan Sistem pelaporan *Pap's smear* melalui Bethesda Sistem. Penelitian menyebutkan metode *ThinPrep Pap test* secara signifikan lebih efektif dibanding metode *Pap smear* konvensional dalam mendeteksi lesi prakanker *Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion* (LSIL) ataupun kelainan lebih lanjut. Hasil negatif palsu dari *Pap smear* konvensional terjadi karena kesalahan pada pengambilan bahan/sample dan pada pembuatan sediaan. Pada *Pap smear* konvensional hanya sebagian sel yang diapuskan pada gelas objek yang menghasilkan apusan yang tidak *monolayer* serta sebagian dari sel-sel kemudian ikut terbuang dengan sikat endoserviks. *ThinPrep Pap test* akan menghasilkan kualitas spesimen yang lebih baik secara signifikan dibandingkan dengan *Pap smear* konvensional dan disamping itu proses skrining menjadi lebih cepat serta dapat dilakukan pemeriksaan lebih lanjut terhadap HPV ataupun pembuatan *cell block*.

Kata kunci : Konvensional *Pap's smear*, *Thin Prep Pap tes*

ABSTRACT

The ThinPrep system for Pap specimens was approved by FDA (The US Food and Drug Administration) since 1996 as a replacement to the conventional method for detecting atypical cells, cervical cancer and its precursor lesions as well as other cytologic categories as defined by The Bethesda System. The ThinPrep Pap test has been proven to be significantly more effective than the conventional Pap smear to detect Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions (LSIL) and more severe lesions. Conventional Pap's smear has demonstrated significant false negative rates and at least many cases are sampling and preparation error. It has been shown that only a small portion of the sample taken from the patient are transferred to the slide and most of them are discarded along with the sampling device. ThinPrep Pap test has shown significant specimens quality than conventional Pap smear preparation. Optimal sample collection and preparation are the most important factors in improving the accuracy of the Pap test. Differences in procedures used to prepare conventional smears and ThinPrep Pap test specimens are translated into differences in microscopic appearance between conventional smears and ThinPrep samples. The remaining cell sample can also be used for other diagnostic analyses, such as HPV testing or cell block preparation, and this method take less of the time for cervical cancer screening.

Key Words : *Conventional Pap's smear, Thin Prep Pap test*

PENDAHULUAN

Sejak ditemukan metode pemeriksaan servikovaginal oleh George Papanicolaou tahun 1920 untuk mendeteksi keganasan daerah servikovaginal, telah banyak penelitian dilakukan dalam modifikasi namun hanya sedikit perubahan pada kriteria morfologi dari metode pemeriksaan konvensional ataupun metode *ThinPrep Pap test*. Pemeriksaan *Pap's smear* konvensional adalah pemeriksaan sitologi eksfoliatif dari sel-sel yang berasal dari daerah serviks (ektoserviks dan endoserviks) dengan cara menghapuskan langsung keatas gelas objek, sementara *ThinPrep Pap tes* adalah metode *liquid based*

cell collection yaitu dengan memasukkan sikat endoserviks atau spatula kedalam cairan pengawet, yang kemudian dilakukan prosesing melalui tahap dispersi sel, pengumpulan sel dan transfer sel pada objek gelas. Pemeriksaan melalui metode *ThinPrep Pap tes* telah diakui oleh FDA (*The US Food and Drug Administration*) sejak tahun 1996 untuk menggantikan pemeriksaan *Pap's smear* secara konvensional.^{1,2,3} Melalui tehnik *ThinPrep Pap tes* selain untuk mendeteksi kelainan pada servikovaginal, termasuk kelainan pada kelenjar, juga dapat diikuti dengan Pemeriksaan *ThinPrep Imaging*, dan pembuatan *cell-block*.

ALAMAT KORESPONDENSI

dr. Lenny Sari Tahija, SpPA
SMF Instalasi Patologi Anatomi RS. Kanker "Dharmais"
Jl. S. Parman Kav. 84-86 Slipi Jakarta Barat
Email : lenny_sppa@yahoo.com

Kegagalan dalam mendeteksi dini kanker serviks dengan menggunakan metode konvensional terutama disebabkan oleh kesalahan sampling ataupun kesalahan skrining. Kesalahan dalam sampling (termasuk teknik apusan yang salah) sebagai penyebab terbesar dari hasil negatif palsu *Pap's smear*, yaitu sekitar 60-80%.^{1,2,3} Beberapa penelitian telah dilakukan bahwa *Liquid-base cytology system* dapat menurunkan angka negatif palsu secara bermakna dibandingkan pemeriksaan *Pap's smear* metode konvensional.^{1,3,4,5}

Tujuan dari penulisan makalah ini adalah sebagai tinjauan pustaka dalam perbandingan antara *Pap's smear* metode konvensional dengan *ThinPrep Pap test*.

THINPREP PROCESSOR; PRINSIP OPERASIONAL ALAT

Sebagaimana halnya Pemeriksaan *Pap's smear* konvensional, pengambilan bahan untuk *ThinPrep Pap test* oleh klinisi dilakukan dengan menggunakan *broom like brush* atau sikat endoserviks dan spatula kedaerah transformasi ekto-endoserviks. Kemudian sikat endoserviks dimasukkan kedalam wadah yang mengandung larutan PreservCyt (Cytoc, Boxborough, MA) dengan cara memutar/ membilas sebanyak lebih kurang 10 kali. Dengan menggunakan alat *ThinPrep Processor* dilakukan homogenisasi spesimen dengan kecepatan sentrifugasi tertentu, serta memisahkan material seperti mukus, debris dan mencuci darah dari sel-sel tanpa merusak kelompokan dari sel. Setelah melalui proses dispersi, sel-sel ditransfer pada objek gelas khusus secara representatif dan akurat melalui proses filtrasi dan membentuk lapisan tipis satu lapis sel (*thin layer- monolayer cell*). Proses pulasan dan penutupan slaid selanjutnya sesuai dengan proses rutin.

Berbeda dengan pembuatan sediaan apus pada *Pap's smear* konvensional; pembuatan sediaan apus dilakukan secara manual diatas gelas objek dengan mengikut sertakan material yang tidak diperlukan seperti halnya latar belakang darah yang tebal, mukus serta lekosit. Disamping teknik apusan secara manual yang tidak dapat dilakukan standarisasi akan menghasilkan lapisan sel yang tidak *monolayer*. Kedua hal ini tentunya sangat mengganggu pada saat pemeriksaan slaid dibawah mikroskop. Disamping itu dibuangnya spatula ataupun sikat endoserviks setelah pembuatan sediaan apus dapat mengakibatkan kemungkinan ikut terbuangnya sel-sel eksfoliatif.

EVALUASI MIKROSKOPIK SLAID THINPREP

Metode *ThinPrep Pap test* memberikan gambaran mikroskopik yang berbeda; termasuk preparasi sel yang *uniform*, fiksasi basah, ukuran sel, pola apusan dan latar belakang slaid. Melalui metode *ThinPrep Pap test* akan terjadi preparasi sel yang terkonsentrasi, dan terdistribusi pada area sirkular seluas 20mm.

Pada pemeriksaan *Pap's smear* konvensional akan menghasilkan apusan yang tebal-tipis tidak merata di sepanjang gelas objek, artefak yang terjadi akibat keterlambatan fiksasi dalam Alkohol 96% serta dapat terjadi distorsi sel akibat pembuatan sediaan apus.

Pada *ThinPrep Pap test* pola kelompokan sel epithelial masih dapat dievaluasi serta didapatkan sel-sel yang *monolayer*. Larutan fiksasi yang mengandung methanol akan mempertahankan sel dan morfologi sel, termasuk detail inti dan sitoplasma, serta memberikan variabilitas dari kromasia inti sel. Hiperkromasia inti yang

merupakan tanda tipikal pada lesi skuamosa pada metode konvensional, bukan merupakan indikator pada *ThinPrep Pap test*, sementara pada lesi lanjut hiperkromasia semakin nyata. Pada *ThinPrep Pap test* kriteria kelainan lesi lebih ditujukan pada variasi dari ukuran inti dan bentuk, sementara kriteria morfologi lain tidaklah berbeda dengan metode konvensional.

Melalui metode *liquid base* fiksasi, akan mengakibatkan ukuran sel yang menjadi lebih kecil. Ukuran inti sel *intermediate* tetap menjadi pembandingan dari besarnya ukuran inti sel. Oleh karena itu sangatlah penting memeriksa dengan pembesaran yang besar untuk melihat ukuran inti, terutama jika hiperkromasia tidak ditemukan.

Latar belakang yang bersih dari mukus, sel-sel inflamasi dan darah, tidak menghilangkan arsitektur sel (kelompokan dan kohesifitas sel/*synsytium* sel) sesuai asal dari jaringan yang diperlukan dalam diagnosis sitologi. Hal ini tidak berbeda antara metode konvensional dan metode *ThinPrep Pap test*. Dengan latar belakang yang bersih maka sangat mudah untuk mengidentifikasi sel yang tidak normal. Walaupun demikian keadaan inflamasi, peradangan/ infeksi dan tumor diathesis masih dapat dievaluasi, namun dengan pola yang lebih ringan. Darah yang terjadi akibat prosedur pengambilan bahan akan lisis oleh bahan pengawet dalam larutan pengawet dan hanya akan memberikan pola *ghost-cell*. Sementara pada perdarahan lama tidak akan terjadi hemolisis secara lengkap dan masih memberikan warna merah yang bervariasi. Keadaan ini dengan mudah dipakai untuk membedakan antara darah segar yang terjadi akibat tindakan pengambilan *Pap's smear* dengan perdarahan lama akibat proses malignansi/ keganasan.

Tanda peradangan pada *ThinPrep Pap test* akan tersebar pada slaid dan masih terlihat hubungannya dengan sel-sel epithelial. Ditemukannya latar belakang yang kotor disebut Ratty, merupakan tanda penting untuk memeriksa secara seksama adanya material penyebab infeksi, sitolisis dan tumor diathesis (sel radang, eritrosit, fibrin selular debris/ nekrotik serta materi *granular proteinaceous*).

ADEKUASI SPESIMEN

Pada sistem pelaporan Bethesda-2001, adekuasi spesimen *Pap's smear* dikategorikan sebagai; "memuaskan untuk evaluasi" dan "tidak memuaskan untuk evaluasi".

Sampel *Pap's smear* dikategorikan "memuaskan untuk evaluasi" pada umumnya jika mengandung minimal 5000 sel skuamosa. Kriteria ini tidak dipakai secara kaku dan diaplikasikan pada seluruh kasus; misalnya pada slaid dengan sel-sel yang berkelompok, atrofi atau terjadi sitolisis. Spesimen yang mengandung >75% sel yang rusak, dapat diidentifikasi dikelompokan kedalam "tidak memuaskan untuk evaluasi", jika terdapat 50-75% sel dalam keadaan rusak, maka hanya dijelaskan dalam deskripsi namun masih dikelompokan dalam "memuaskan untuk evaluasi".

Lee *et al*,⁴ melakukan perbandingan terhadap 7223 kasus yang diperiksa secara bersama antara *Pap's smear* konvensional (70,6%) dan *ThinPrep* (78,3%), terdapat peningkatan kategori adekuasi spesimen. Hal ini disebabkan karena pada *ThinPrep Pap test* komponen darah, mukus dan artefak yang terjadi akibat terlambat fiksasi tidak ditemukan. Disamping itu sisa bahan

pemeriksaan dalam botol fiksasi dapat dibuat menjadi 5-10 slaid tambahan jika didapatkan keraguan pada slaid yang sudah diperiksa atau dapat dipakai lebih lanjut untuk analisa terhadap tes HPV, jika pada skrining ditemukan tanda infeksi HPV.^{6,7}

NEGATIF TERHADAP LESI INTRAEPITHELIAL DAN KEGANASAN

Melalui sistem pelaporan Bethesda-2001 yang termasuk dalam kategori ini adalah seluruh keadaan jinak, tidak termasuk di dalamnya ASCUS (*Atypical Squamous Cells Undetermined Significance*). Pada penelitian yang dilakukan terjadi penurunan angka ASCUS/ AGUS (*Atypical Glandular cells of undetermined significance*) menjadi 26,59 %, dibandingkan sampel yang diperiksa *Pap's smear* konvensional^{4,8}. Hal ini seiring dengan meningkatnya kasus yang masuk dalam kelompok SIL (*Squamous Intreepithelial Lesion*).

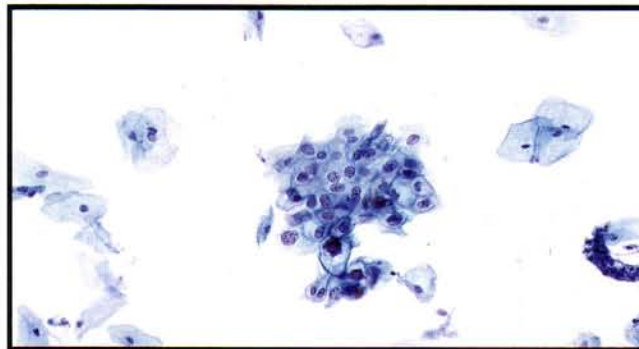
Untuk kasus dengan infeksi; *Trichomonas sp*, *Candidia*, *Coccobacillus*, *Herpes* dan *Actinomyces sp*, tidak ditemukan perbedaan bermakna antara *Pap's smear* konvensional dan *ThinPrep Pap test*^{4,6}. Penelitian lain mendapatkan terjadi peningkatan diagnosis infeksi 25,51 % dengan *ThinPrep Pap test* dibandingkan dengan konvensional. Pada kenyataannya lapang pandang yang bersih memudahkan dalam mendiagnosis kasus dengan infeksi.⁵

LSIL (LOW GRADE SQUAMOUS INTRAEPITHELIAL LESION) DAN HSIL (HIGH GRADE SQUAMOUS INTRAEPITHELIAL LESION)

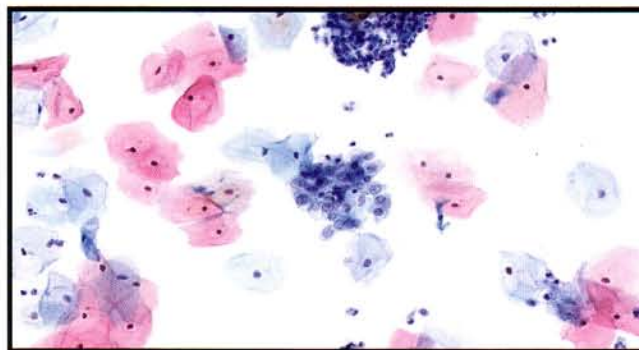
Kriteria diagnosis LSIL pada *ThinPrep Pap test* identik dengan metode konvensional. Hiperkromasia pada *ThinPrep Pap test* dibanding metode konvensional lebih ringan, namun dibanding sel normal, hiperkromasia pada sel dengan LSIL dapat dibedakan.

Lee *et al*,⁴ melaporkan terjadi peningkatan LSIL (*Low Grade Squamous intraepithelial lesion*) 52,15% pada kasus yang diperiksa dengan *ThinPrep Pap test*. Dari kasus yang didiagnosis LSIL dengan metode *ThinPrep Pap test* yang kemudian dilakukan biopsi, ternyata hanya 24,1% kasus dinyatakan sebagai lesi jinak, 50,6% termasuk kategori CIN I, dan 25,3% masuk dalam kategori CIN 2/3.⁵ Dari kasus yang sama yang diperiksa dengan konvensional, memberikan hasil 35,3% adalah lesi jinak, 40,2% adalah CIN 1 dan 24,5% adalah CIN 2/3.⁵

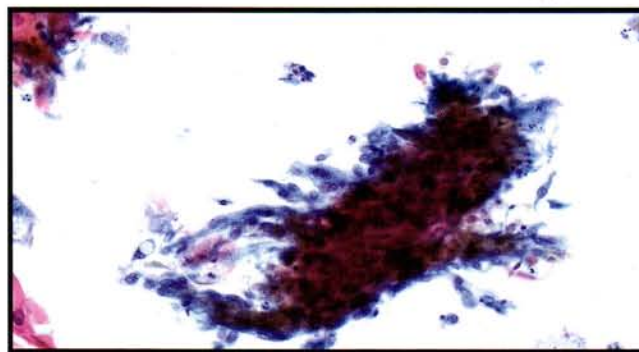
Kriteria diagnosis HSIL yang penting pada *ThinPrep Pap smear* adalah 3-D *nuclear abnormalities* yang dapat dibedakan dari sel normal tanpa terganggu latar belakang mukus atau debris seperti pada metode konvensional. Dari kasus yang didiagnosis HSIL dengan metode *ThinPrep Pap test*, hanya 6,8% kasus ternyata dinyatakan lesi jinak pada biopsi. Sementara tidak ada (0,0%) yang termasuk kategori CIN I, dan 93,2% masuk dalam kategori CIN 2/3.⁵ Dari kasus yang sama yang diperiksa dengan konvensional, memberikan hasil 15,2% adalah lesi jinak, 6,1% adalah CIN 1 dan 78,8% adalah CIN 2/3.^{5,6} Dari hasil tersebut tampak bahwa diagnosis HSIL dengan *ThinPrep* setelah dibiopsi memberikan hasil yang lebih besar masuk dalam kelompok CIN 2/3 dibanding metode konvensional.



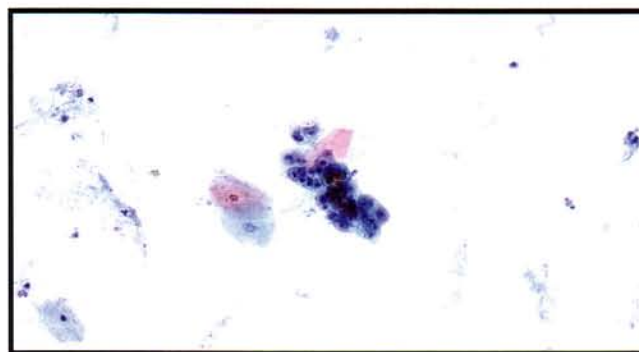
Gambar 1. LSIL (Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion)



Gambar 2. HSIL (High Grade Squamous Intraepithelial Lesion)



Gambar 3. Karsinoma sel skuamosa



Gambar 4. Adenocarcinoma cervix

KESIMPULAN

Metode *ThinPrep Pap test* lebih baik dalam mendeteksi kelainan epitel serviks dan menurunkan hasil negatif palsu (kesalahan sampling atau kesalahan diagnosis) dan positif palsu dari metode konvensional, disamping itu proses skrining menjadi lebih cepat serta dapat dilakukan pemeriksaan lebih lanjut terhadap HPV ataupun pembuatan cell block.

KEPUSTAKAAN

1. Anjali Limaye, Connor Amsy J, Huang Xiaohua et al. Comparative Analysis of Conventional Papanicolaou Test and Fluid-Based Thin-Layer Method. *Arch Pathol Lab Med*-Vol 127, February 2003; 200-4.
2. Elizabeth Davey, Irwig Les, Macaskill Petra et al. Accuracy of reading liquid based cytology slides using the ThinPrep Imager compared with conventional cytology: prospective study. *British Medical Journal* - July 2007; 335; 31-9.
3. Yeoh GPS, Chan KW, I Lauder, Lam MB. Evaluation of the ThinPrep Papanicolaou test in clinical practice: 6-month study of 16541 cases with histological correlation in 220 cases. *HKMJ* -Vol 5, No3 September 1999; 233-9.
4. Lee R Kenneth, Ashfaq Raheela, Birdsong G George, et al. Comparison of Conventional Papanicolaou Smears and a Fluid-Based, Thin-Layer System for Cervical Cancer Screening. *Obstetrics & Gynecology* -Vol 90, No2 August 1997; 278-84.
5. Papillo L Jacalyn, Zarka A Matthew, St John L Timothy. Evaluation of the ThinPrep Pap Test in Clinical Practice: A seventh-Month, 16,314-Case Experience in Northern Vermont. *Acta Cytologica* - Vol 42, No1- February 1998; 203-8.
6. Hatch D Kenneth, Sheets Ellen, Kennedy Alex, Ferris G Daron, Darragh Terry, Twiggs Leo. Multicenter Direct to Vial Evaluation of a Liquid-Based Pap Test. *Journal of Lower Genital Tract Disease* - Vol 8, No4-2004; 308-2.
7. Klinkhamer JJM Paul, Meerding J Willem, Rosier FWM Peter, Hanselaar GJM Antonius. Liquid-Based Cervical Cytology. *Cancer Cytopathology*-Vol 99, No5-2003; 263-71.
8. Ashfaq Raheela, Gibbons David, Cindi Vela, Saboorian M Hossein, Iliya Fawzi. ThinPrep Pap Test. Accuracy for Glandular Disease. *Acta Cytologica*- Vol 43 - February 1999; 81-5.