

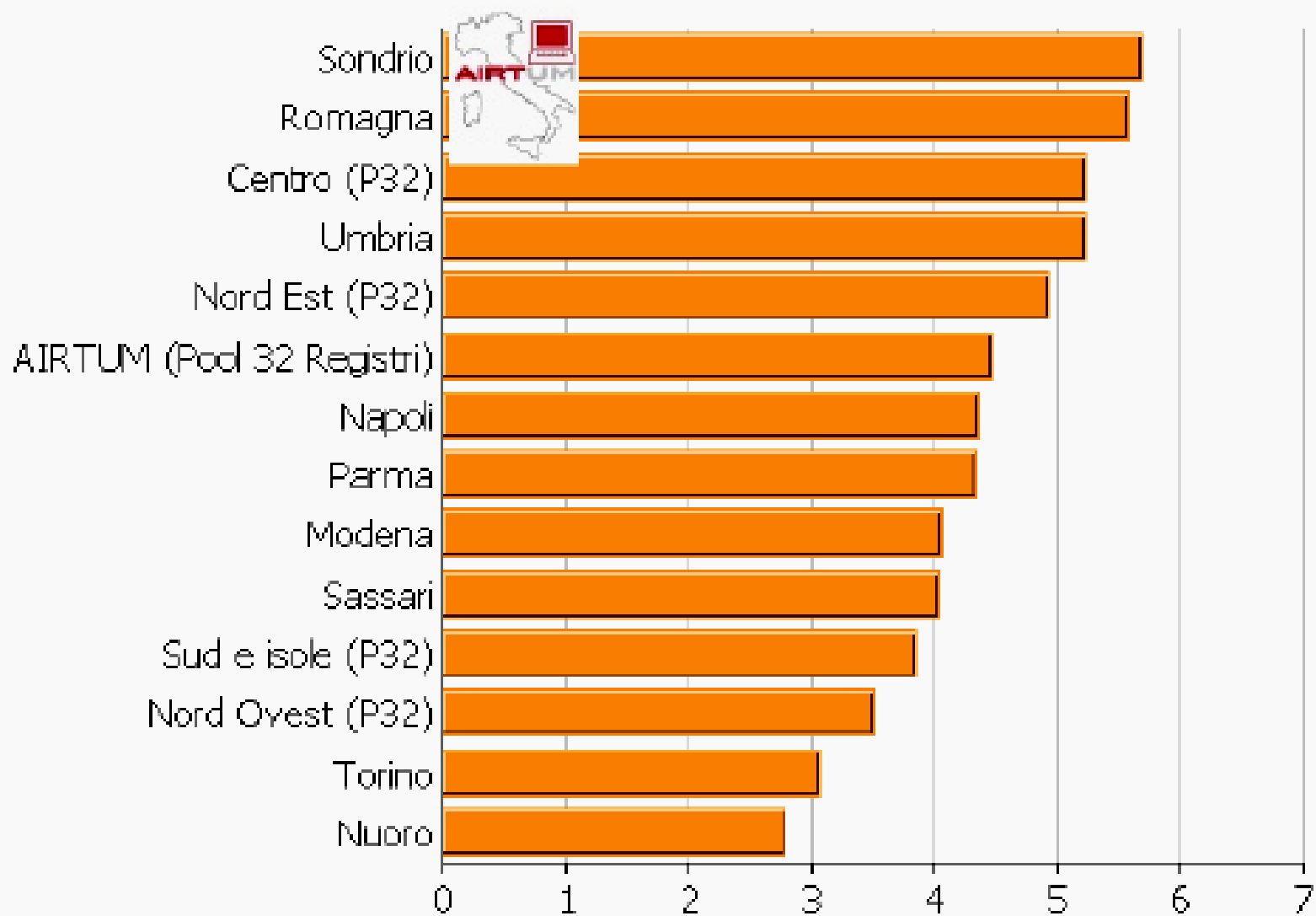
Il prelievo in fase liquida

B. Ghiringhello

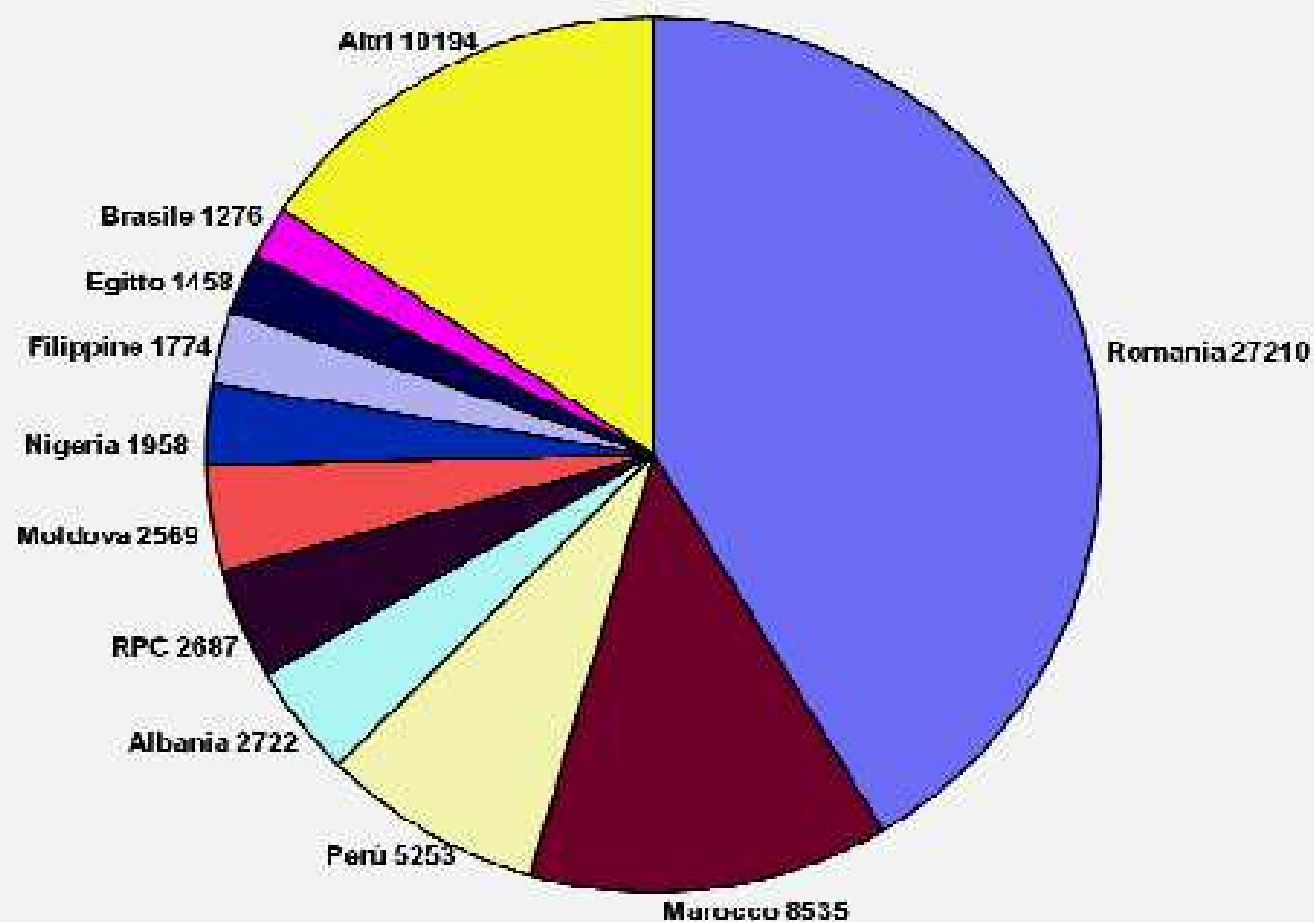
A.O.U. Città della salute e della scienza, Torino

Cervice uterina, Incidenza (2008)

Femmine: TSE (Mondiale) età (0-85+)



Donne straniere residenti a Torino nel 2011: distribuzione per paese d'origine



Fonte ISTAT

Paese di provenienza delle pazienti
con tumore della cervice 2009-2010

Numero casi	Paese di provenienza
Italia	81
Romania	9
Bosnia	1
Polonia	1
Marocco	2
Repubblica	1
Popolare Cinese	
Brasile	1
Bolivia	1
Perù	1
Totale	98

Casi incidenti 2009-2010
Cittadinanza

	Italiane	Straniere
N.casi	81	17
Tassi incidenza St. M.	5.5	10.0

RSI 2009-2010 donne straniere e donne italiane: **144.7 %**
(I.C. 95%:62-171)

STRISCI “ETEROGENEI”



FATTORI LIMITANTI

- SPESSORE DELLO STRISCIO
- QUADRO INFIAMMATORIO
- QUADRO EMATICO
- ERRORI DI FISSAZIONE

Differenze dagli strisci tradizionali

- Metodo di raccolta
- L'aspetto del preparato
- La morfologia cellulare
- La tecnica di screening
- La valutazione dell'adeguatezza
- La “scuola”
- Nuove opportunità

Metodo di raccolta

- Dispositivi in plastica (Cervex broom)
- Cellule messe nel mezzo di trasporto liquido (preservative)
- Il prelievo contiene tutto il materiale prelevato dalla cervice
- Le cellule in sospensione vengono inviate in laboratorio
- Fissazione e conservazione standardizzate
- Le cellule restano ben conservate per molte settimane a temperatura ambiente.



Differenze dagli strisci tradizionali

- Metodo di raccolta
- L'aspetto del preparato
- La morfologia cellulare
- La tecnica di screening
- La valutazione dell'adeguatezza
- La “scuola”
- Nuove opportunità

L'aspetto del preparato

- Diametro cerchio 1.9cm
- Area di raccolta ben circoscritta
- Nell'area delimitata dal cerchio
- Cellule regolarmente distribuite
- Sangue del tutto lisato

Conventional



ThinPrep®



Differenze dagli strisci tradizionali

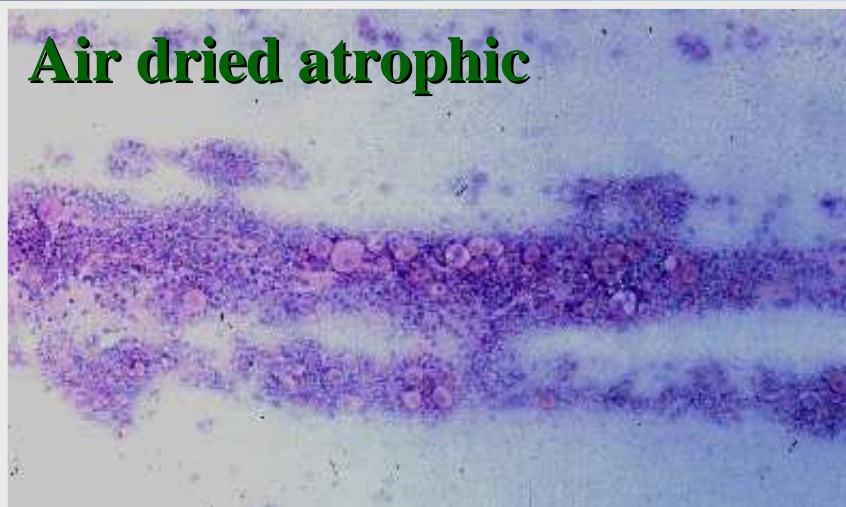
- Metodo di raccolta
- L'aspetto del preparato
- **La morfologia cellulare**
- La tecnica di screening
- La valutazione dell'adeguatezza
- La “scuola”
- Nuove opportunità

Morfologia cellulare

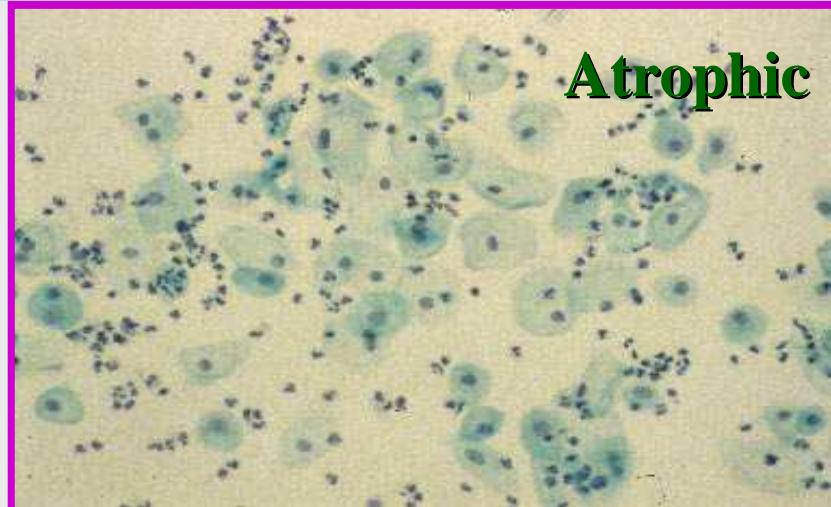
- No essiccamento parziale
- Poca o assente oscurazione
- L'essudato infiammatorio tende a disporsi in cumuli delimitati senza oscurare le cellule
- Sangue \Rightarrow detriti granulari o eritrociti "fantasma"
- Citolisi – non ulteriormente incrementata dalla sospensione cellulare

Morphological differences from conventional smears

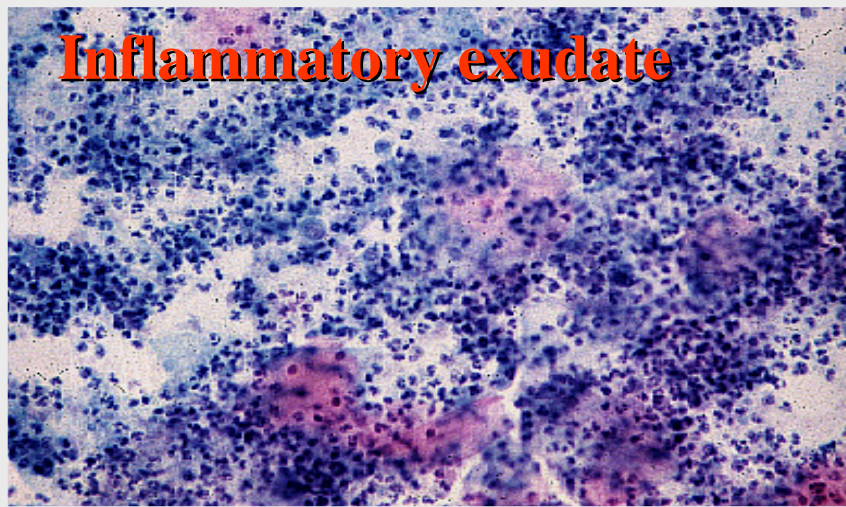
Air dried atrophic



Atrophic



Inflammatory exudate



Inflammatory exudate



Conventional

ThinPrep

Morphological differences from conventional smears



ThinPrep peripheral artefact

Il bordo in plastica
del filtro può
causare una lieve
distorsione
cellulare che
assomiglia ad un
artefatto da
essicamento

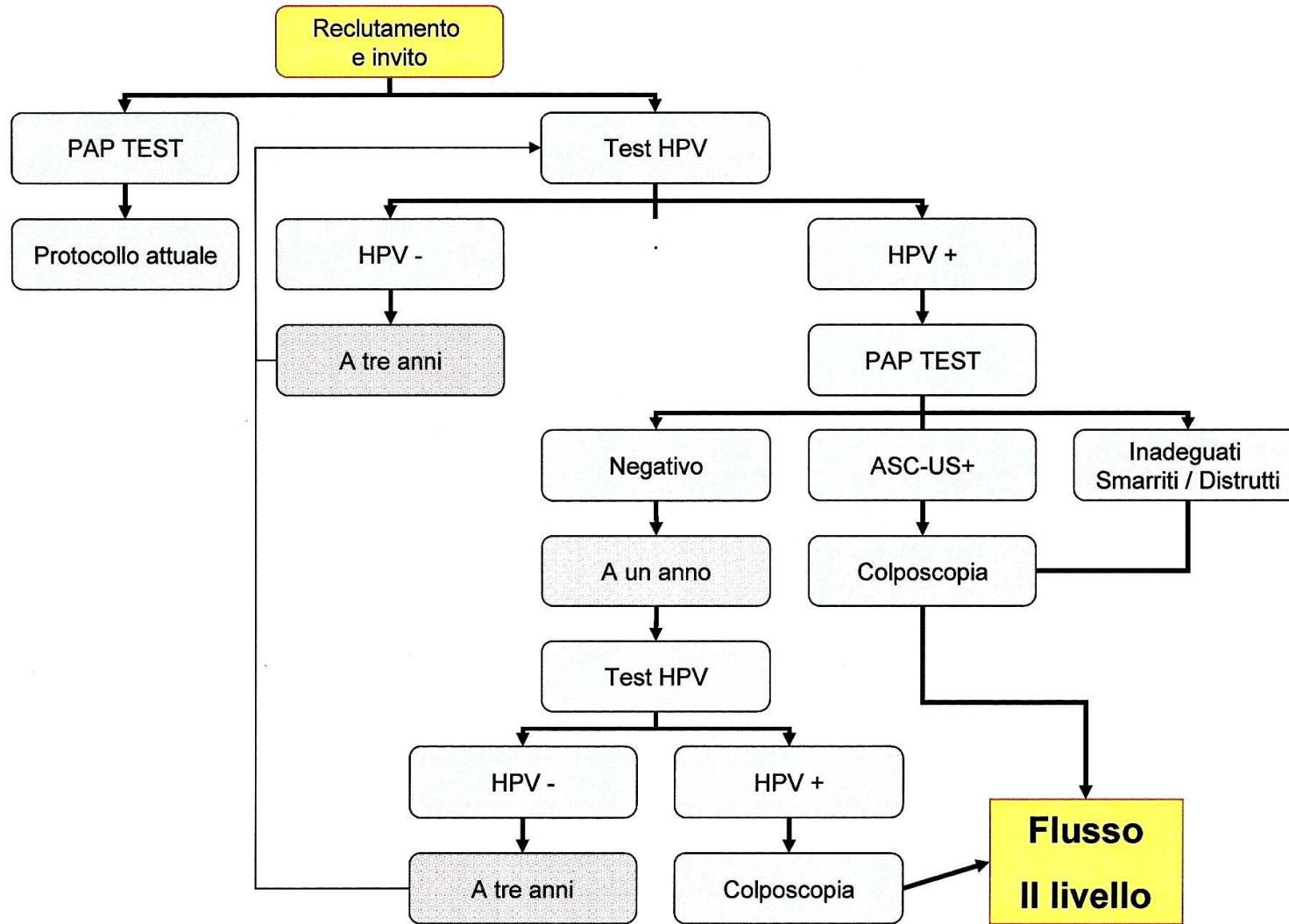


DATI PROGETTO PILOTA

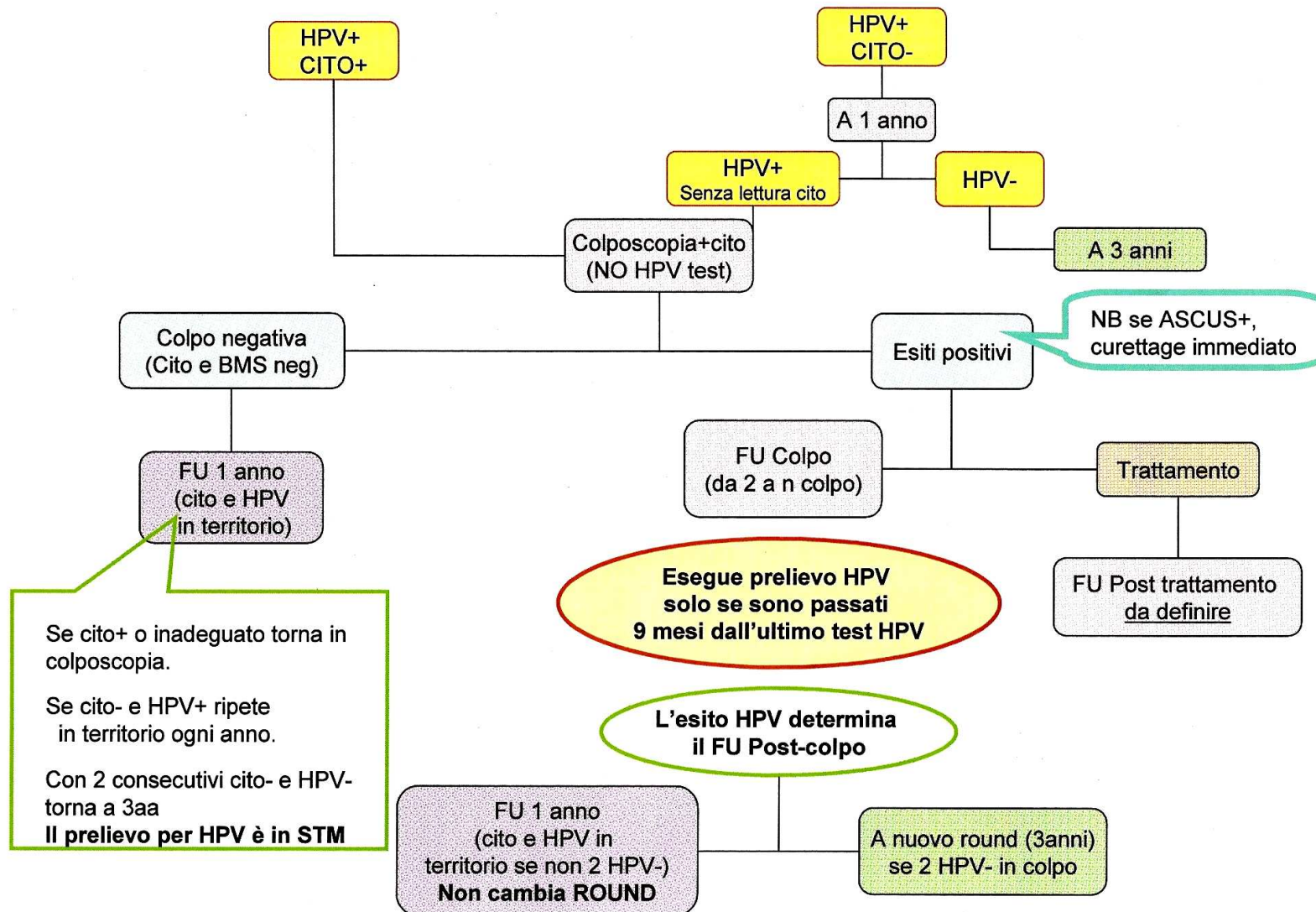
TORINO



PROTOCOLLO PROGETTO PILOTA



Flusso II Livello HPV



INFEZIONE LATENTE

virus presente, anche nell'epitelio, ma senza segni morfologici di infezione

ASC-US
($< 3\%$ dei casi)

Anomalie citologiche suggestive di LSIL, ma senza i criteri per un'interpretazione definitiva

Bassa riproducibilità

INFEZIONE PRODUTTIVA

espressione dei geni virali L1 ed L2 nell'epitelio degli strati superficiali ed intermedi

L-SIL
(1% in donne < 35 anni)

Riproducibile se basata sulla presenza del **coilocita**

INFEZIONE CON TRASFORMAZIONE

espressione dei geni virali precoci E6 ed E7 nelle cellule basali

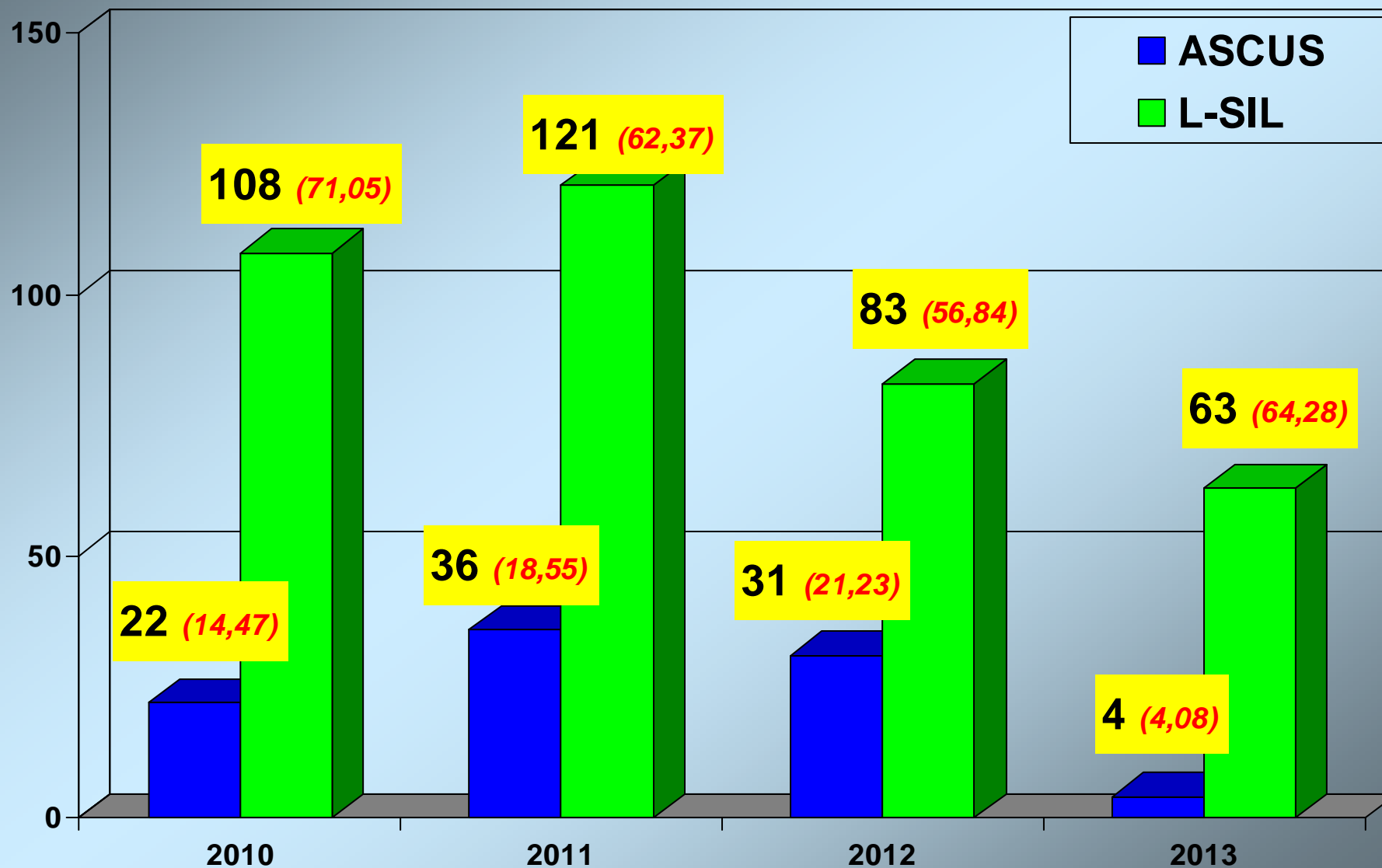
H-SIL
(0,3-1%)

Diagnosi più riproducibile basata sulle anomalie nelle cellule basali

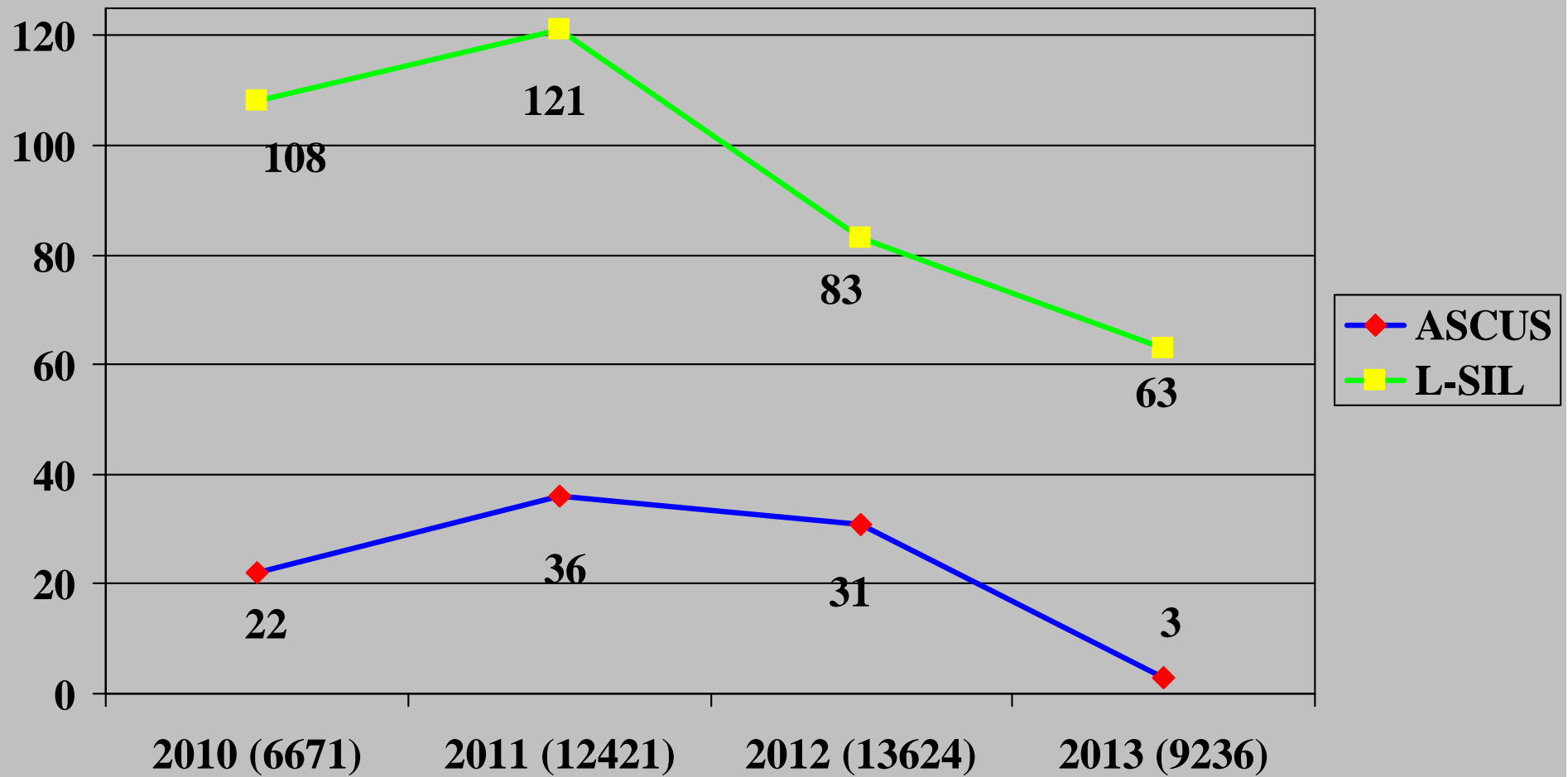
	n° cito +	n° HPV positivi	%
2010	152	409	37,2
2011	194	824	23,5
2012	146	1178	12,3
2013	98	986	9,9

	ASCUS	%	L-SIL	%	test HPV
2010	22	0,32	108	1,61	6671
2011	36	0,28	121	0,97	12421
2012	31	0,22	83	0,60	13624
2013	4	0,04	63	0,68	9236

DISTRIBUZIONE DIAGNOSI I LIVELLO (ASCUS, L-SIL) % SU CITO+



DISTRIBUZIONE DIAGNOSI I LIVELLO (ASCUS, L-SIL) % SU CITO +/-TEST



VARIAZIONE DELLE DIAGNOSI DOPO REVISIONE SU CASI HPV-TEST POSITIVI (1537 casi)

	NEG (%)	INAD (%)	ASCUS (%)	ASC-H (%)	L-SIL (%)	H-SIL (%)	TOT
I° LETTORE	1006	47	136	37	264	47	1537
	66	3	9	2	17	3	
SUPERVISORE	1051 (+45)	54	73 (- 63)	30	273 (+9)	48	1537
	68	4	5	2	18	3	

VARIAZIONE DELLE DIAGNOSI DOPO REVISIONE SU CASI HPV-TEST POSITIVI : FOLLOW UP

Nel 2010 e 2011

45 casi di ASCUS/ASC-H e L-SIL sono stati ridotti a NEGATIVO
e sono stati seguiti nel tempo

Casi (%)	FU
24 (53,33)	NO citologico successivo (forse HPV test negativo)
14 (31,11)	Citologia negativa
4 (8,88)	Citologia: L-SIL
3 (3,33)	Citologia: H-SIL

Stato dell'arte all' 8/10/2013

ANNO	TOT test	POS (%)	NEG (%)	Doppio test (%)	Doppio test POS (%)	Doppio test NEG (%)
2010	6671	409 (6,13)	6261 (93,9)	0	0	0
2011	12421	842 (6,78)	11579 (93,2)	185 (1,48)	110 (59,45)	75 (40,54)
2012	13624	1178 (8,65)	12443 (91,3)	455 (3,33)	274 (60,21)	181 (39,78)
2013	9236	986 (10,7)	8248 (89,3)	394 (4,26)	237 (60,15)	157 (39,84)
TOT	41952	3415 (8,14)	38531 (91,84)	1034 (2,46)	621 (60,05)	413 (39,94)

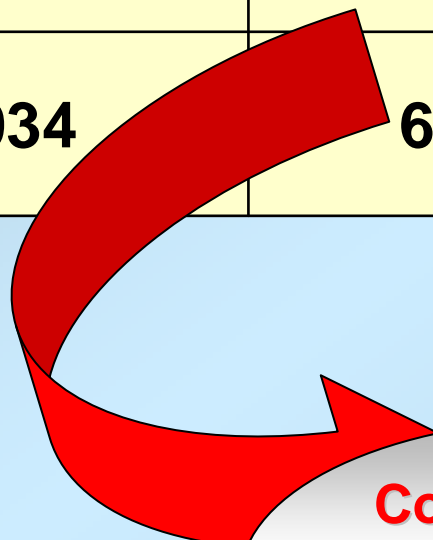
Non si tratta di reale incremento di positività in quanto nel numero complessivo sono comprese le ripetizioni del test HPV

Ripetizione ad 1 anno (Doppio test HPV)

PERIODO DI RIFERIMENTO

MARZO 2010- OTTOBRE 2013

TOT DOPPIO TEST HPV	TEST HPV POSITIVO	TEST HPV NEGATIVO
1034	621	413



**Compliance alla
colposcopia:
> 90%**



INVIO A 3 ANNI

GRADO COLPOSCOPICO

(tot casi 677 su 2336 test HPV
positivi)
(periodo 2010-2013)

Grado colposcopico	N° casi	%
0	303	44,75
1	323	47,71
2	46	6,79
3-4	5	0,73

GRADO COLPOSCOPICO

(209 casi su 512
doppio test HPV positivo)
(periodo 2010-2013)

Grado colposcopico	N° casi	%
0	94	44,97
1	110	52,63
2	5	2,39
3-4	0	

$p = 0.046$

$\chi^2 = 6.137$

DOPPIO TEST HPV POSITIVO

Diagnosi citologica in colposcopia (dati aggiornati al 2/11/13)

	Frequenza	%	Frequenza cumulativa	Percentuale cumulativa
Non ancora refertato	11	2.15	11	2.15
INAD	5	0.98	16	3.13
Negativo	391	76.37	407	79.49
ASC-H	9	1.76	416	81.25
LSIL	79	15.43	495	96.68
HSIL	17	3.32	512	100.00

DOPPIO TEST HPV POSITIVO

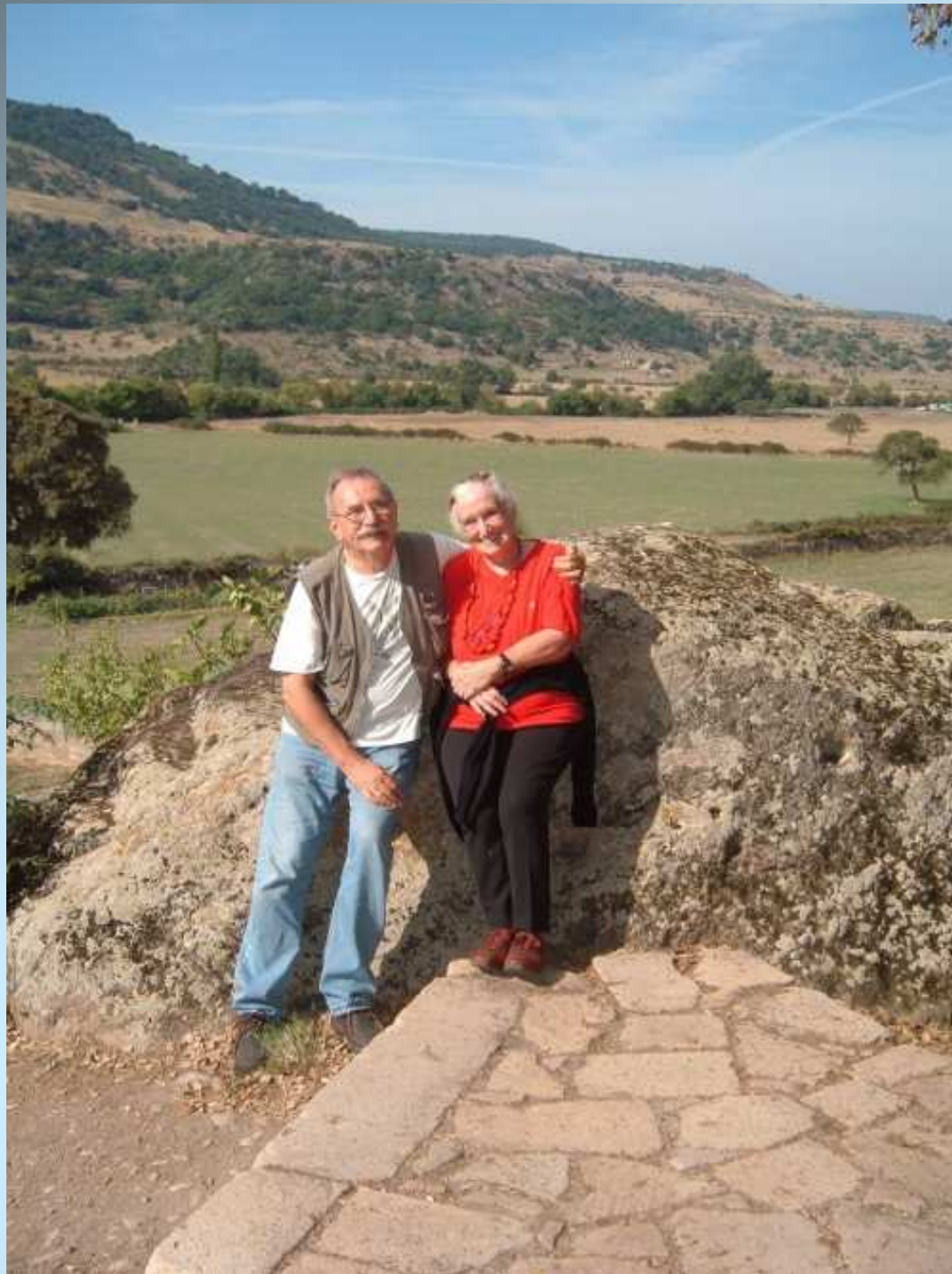
Diagnosi istologica in colposcopia (dati aggiornati al 2/11/13)

	Frequenza	%	Frequenza cumulativa	Percentuale cumulativa
non eseguita biopsia	303	59.18	303	59.18
inadeguato	7	1.37	310	60.55
epitelio normale	83	16.21	393	76.76
alterazioni flogistiche e/o distrofiche benigne	66	12.89	459	89.65
atipia di incerto significato	5	0.98	464	90.63
coilocitosi senza CIN	16	3.13	480	93.75
CIN 1	5	0.98	485	94.73
CIN 2	9	1.76	494	96.48
CIN 3	3	0.59	497	97.07
CIN NAS	15	2.93	512	100.00

DOPPIO TEST HPV POSITIVO

correlazione cito-isto (dati aggiornati al 2/11/13)

	ISTOLOGIA									
CITOLOGIA	Biopsia non eseguita	INAD	NEG	ATIPIA NAS	COILO	CIN1	CIN2	CIN3	CIN NAS	TOT
IN ATTESA	11	0	0	0	0	0	0	0	0	11
INAD	2	0	1	0	0	0	0	0	2	5
NEG	242	7	127	5	7	1	0	0	2	391
ASC-H	2	0	3	0	0	0	0	2	2	9
LSIL	41	0	17	0	9	4	4	0	4	79
HSIL	5	0	1	0	0	0	5	1	5	17
TOT	303	7	149	5	16	5	9	3	15	512



Marzo 2010, prima dell'avvio del test pilota.....

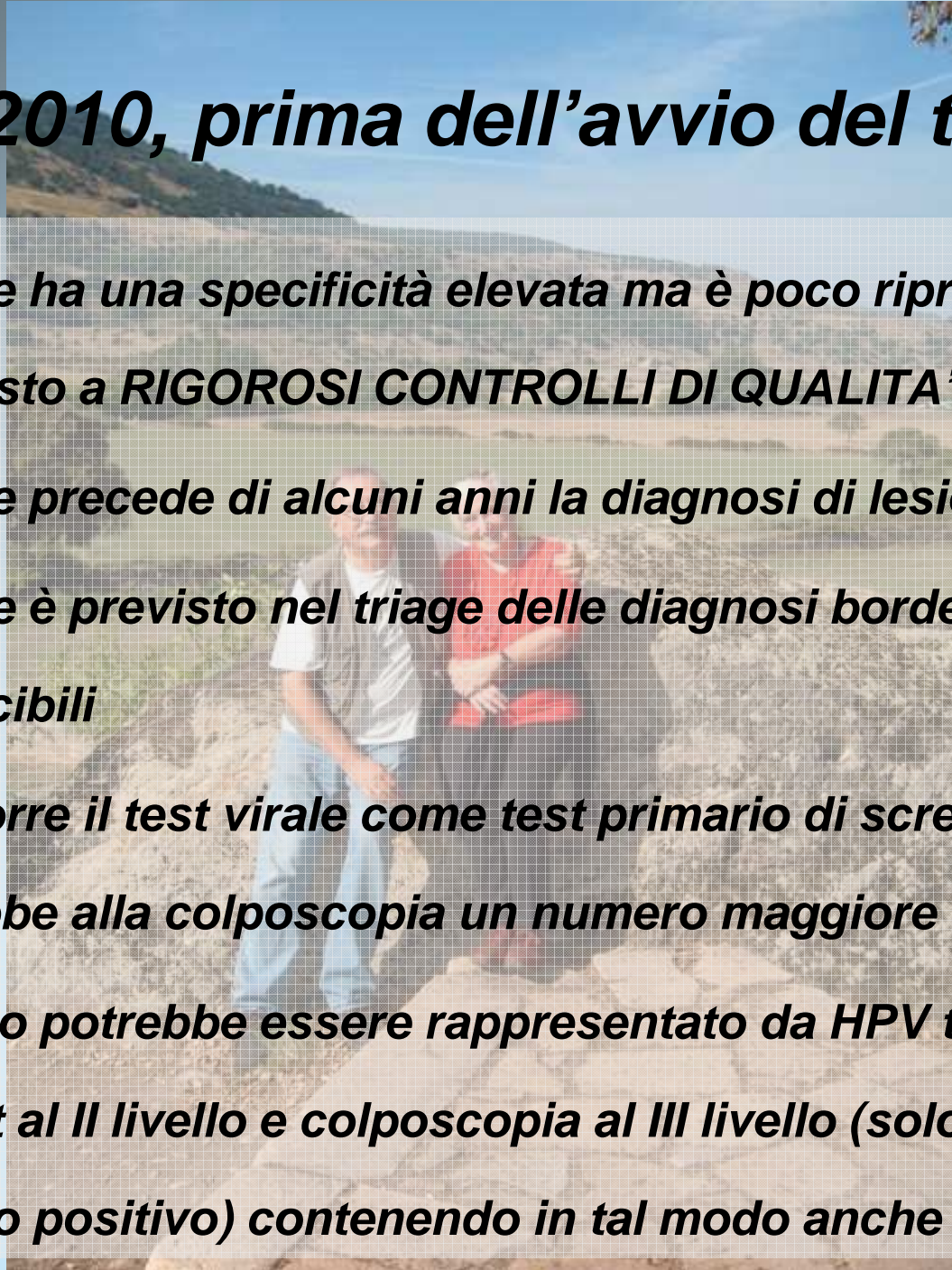
Il test virale ha una specificità elevata ma è poco riproducibile se non sottoposto a RIGOROSI CONTROLLI DI QUALITÀ'

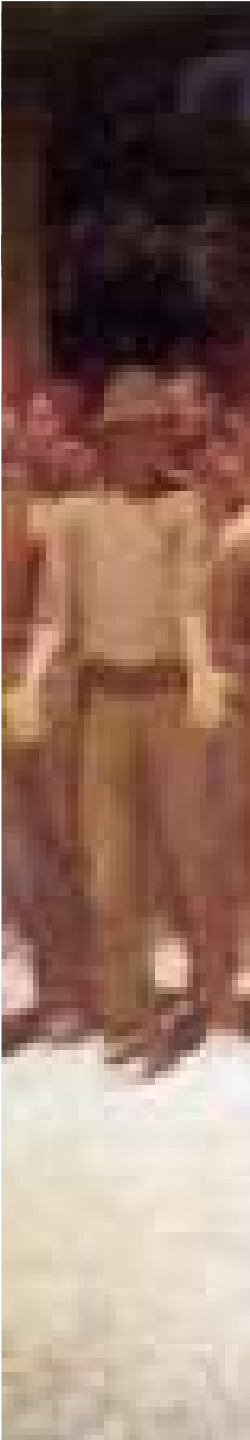
Il test virale precede di alcuni anni la diagnosi di lesione cervicale

Il test virale è previsto nel triage delle diagnosi borderline, poco riproducibili

Utile proporre il test virale come test primario di screening, anche se invierebbe alla colposcopia un numero maggiore di donne

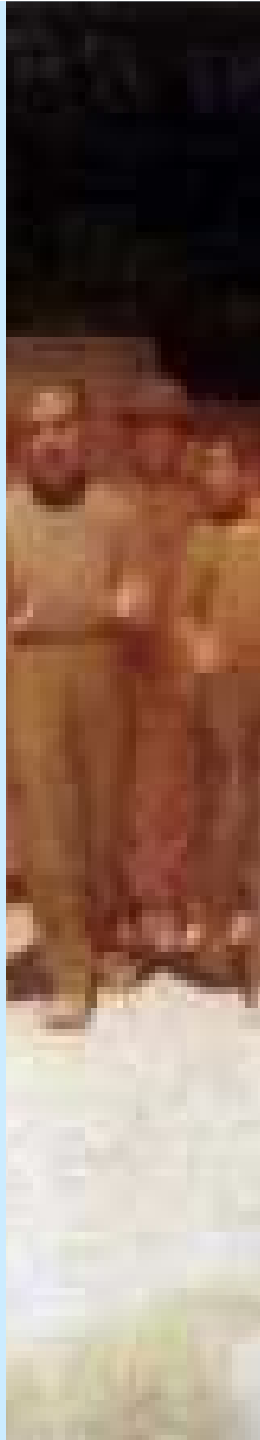
Il protocollo potrebbe essere rappresentato da HPV test al I livello, pap-test al II livello e colposcopia al III livello (solo se il pap-test è dubbio o positivo) contenendo in tal modo anche i costi





**G. Accinelli,
C. Aiello,
G. Alfonso,
E. Allia,
S. Arnaud,
MT. Benenti,
D. Biscaro,
V. Buratti,
P. Burlo,
F. Carlone,
A. Coccia,
C. Cozzani,
C. Deambrogio,
L. Di Marco,
C. Fiorito**

**I. Frittella,
B. Gandolfo,
B. Ghiringhello,
A. Giglio Tos,
C. Larato,
D. Loche,
P. Luparia,
L. Macrì,
F. Maletta,
D. Maso,
P. Plachesi,
L. Porcu,
S. Privitera,
A. Sapino,
M. Verga**



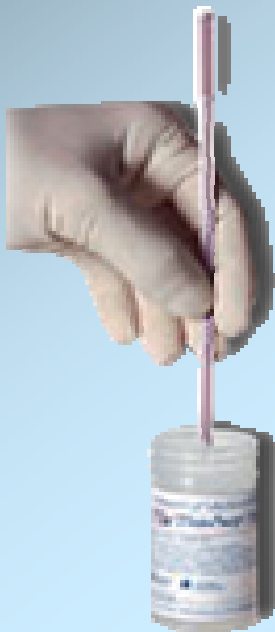
Presentazione Hologic italia

TORINO 13/02/2014

DI VENERE FRANCESCA

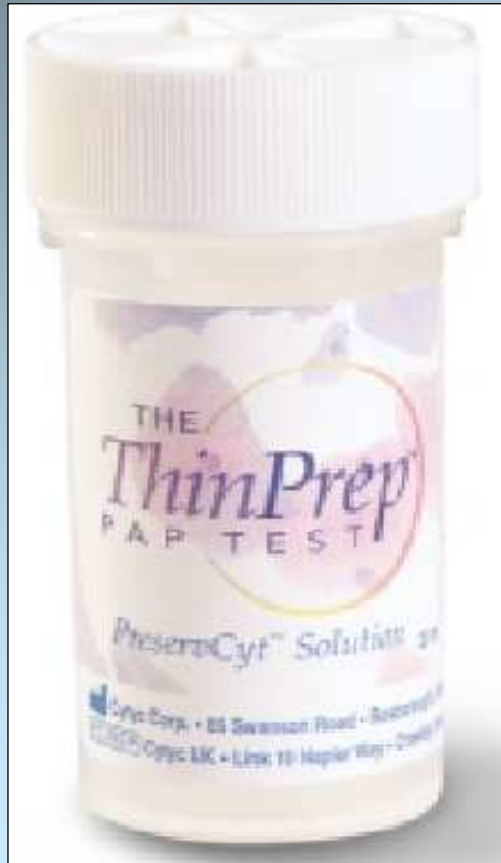
IL SISTEMA THINPREP

Vials per la raccolta di materiale citologico da allestire con processore ThinPrep



- Il prelievo viene eseguito con strumenti validati (spatola di Ayre + Cytobrush, Cervexbrush)
- Raccolta completa del campione prelevato tramite il risciacquo degli strumenti nel Vial PreservCyt.

IL SISTEMA THINPREP



- Soluzione tamponata a base di metanolo
- Mezzo di raccolta, trasporto e conservazione
 - Da 15 a 30°C per due anni (senza campione cellulare)
 - Da 4 a 37°C per sei settimane (con il campione cellulare)
- Potere di inattivazione vs batteri e virus
- Ideale per la conservazione di acidi nucleici e proteine
- Raccomandata per i più affermati test di biologia molecolare
 - Digene Hybrid Capture II
 - MTM CINtecTMP16^{INK4a}
 - Gen-Probe Aptima
 - Roche Amplicor HPV

Modalità di prelievo del ThinPrep

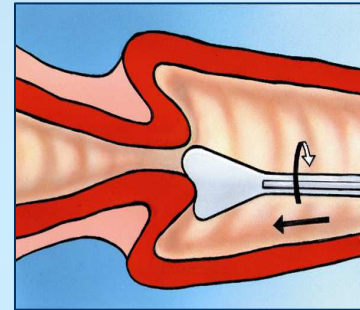
L'importanza del prelievo:

- Linee guida
- Informazioni sulla paziente
- Fase preparatoria
- Prelievo del campione cervicale
- Strumenti
- Risciacquo dello strumento

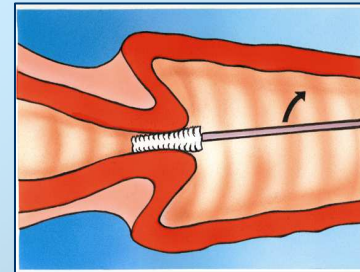


Prelievo del campione cervicale

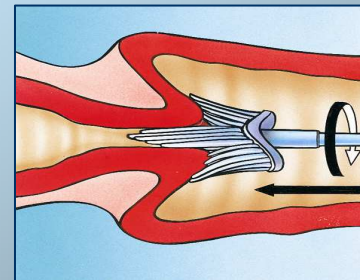
Spatola



Cytobrush

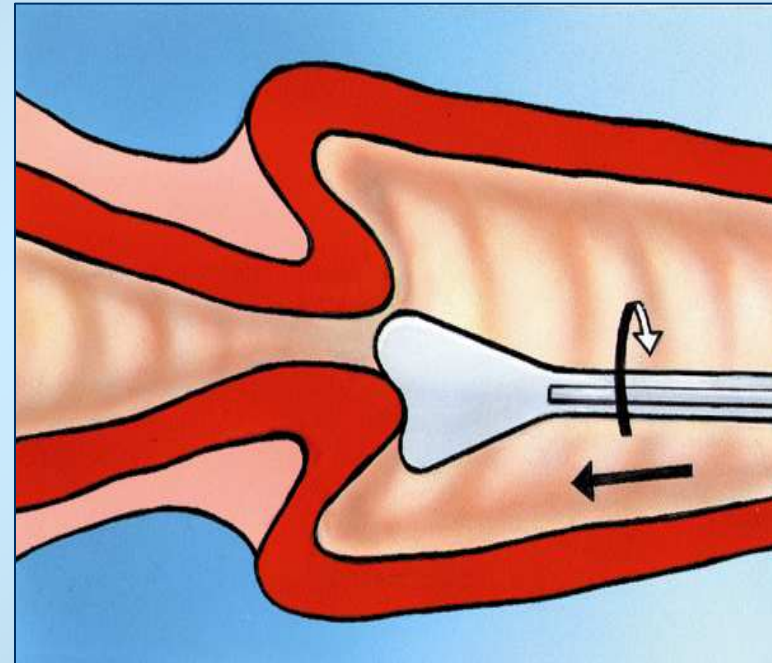


Cervex Brush



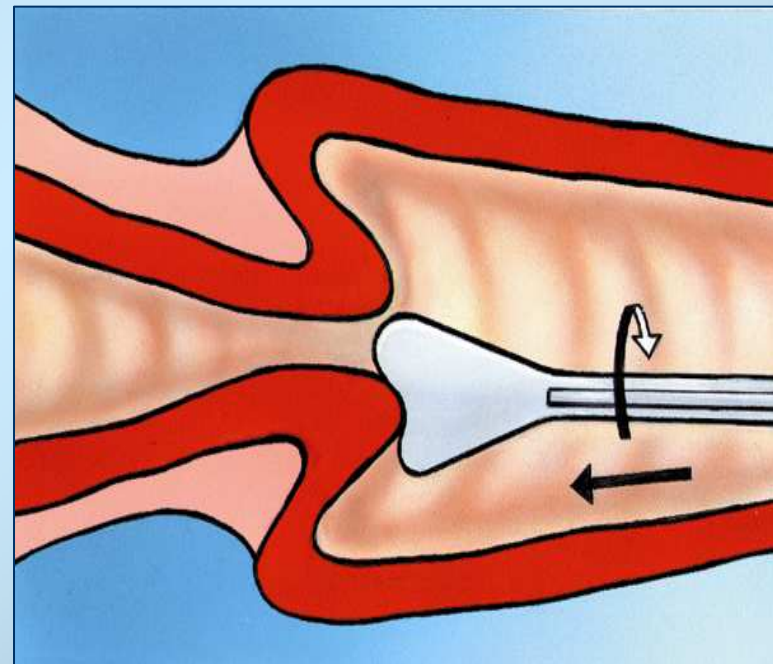
Spatola

- Preleva materiale cellulare dall'esocervice
- Deve essere utilizzata una spatola in plastica
- Ruotare la spatola di almeno 360° mantenendo il contatto con la superficie epiteliale



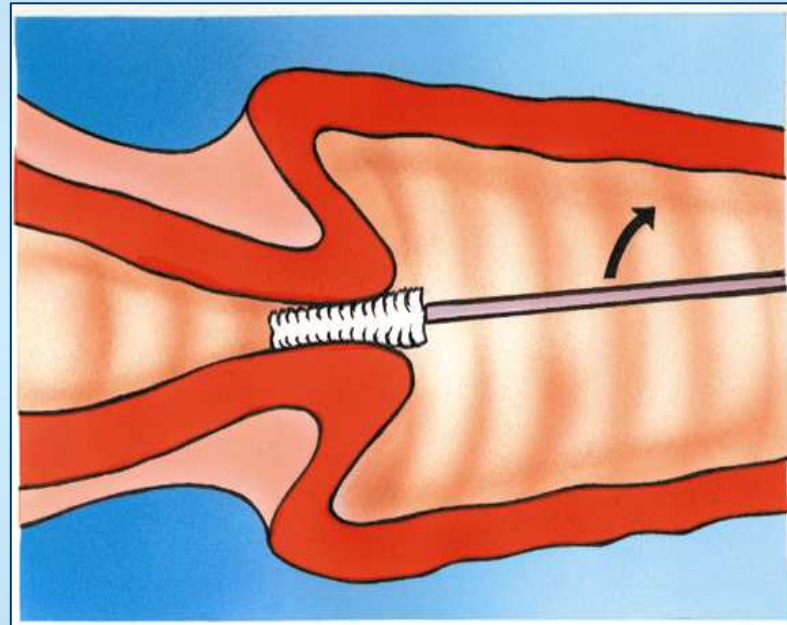
Spatola

- Una rotazione in senso orario che inizia e termina a “ore 9”
- o in senso anti-orario che inizia e termina a “ore 3”
- posizionerà la spatola in modo tale che il materiale raccolto verrà trattenuto sulla superficie orizzontale superiore nel momento in cui viene rimosso lo strumento
- Si raccomanda di utilizzare la spatola prima del Cytobrush



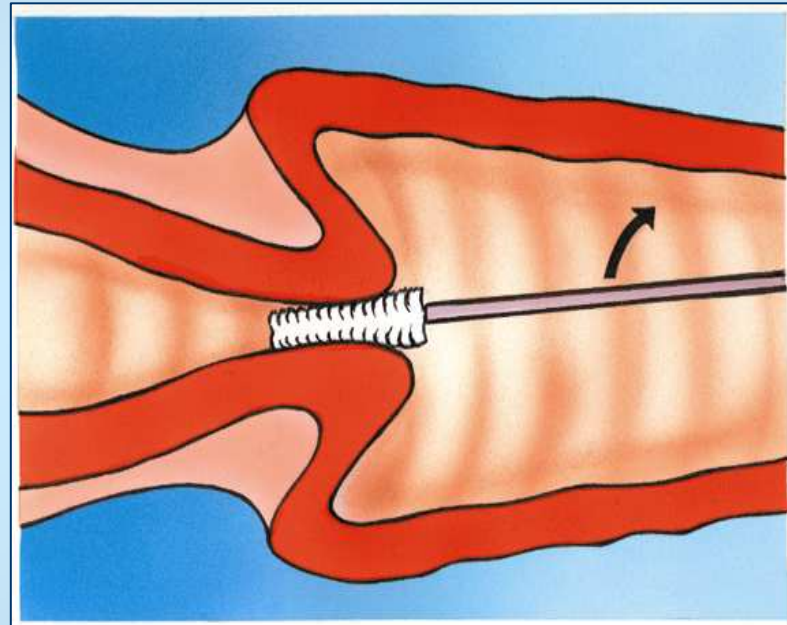
Cytobrush

- Preleva materiale cellulare dall'endocervice
- Inserire il Cytobrush nel canale cervicale
- Le ultime setole dovranno risultare ancora visibili; ciò minimizza il campionamento endometriale



Cytobrush

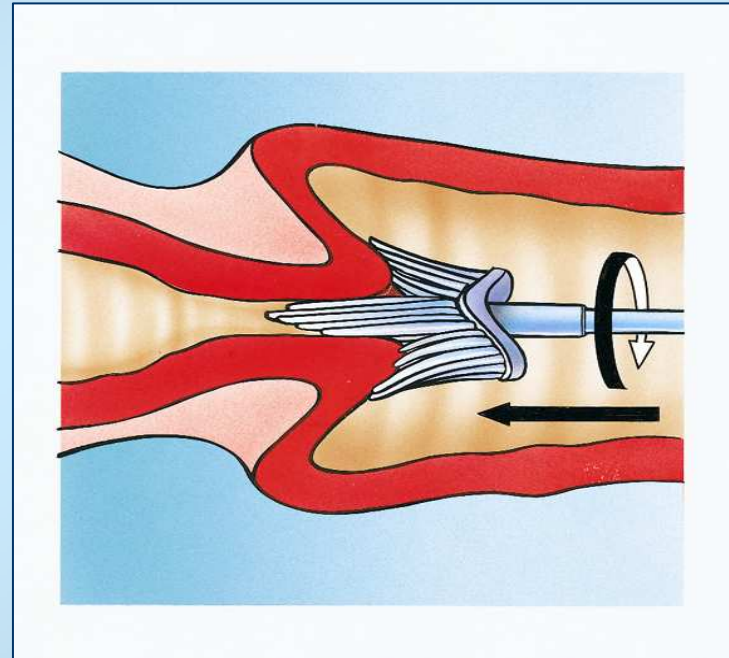
- Applicando una lieve pressione, ruotare il brush di 90-180 (da $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{2}$ giro) per evitare il sanguinamento
- L'inserimento del Cytobrush, grazie alle sue setole circolari, assicura il contatto con l'intera superficie dell'endocervice



Cervex Brush

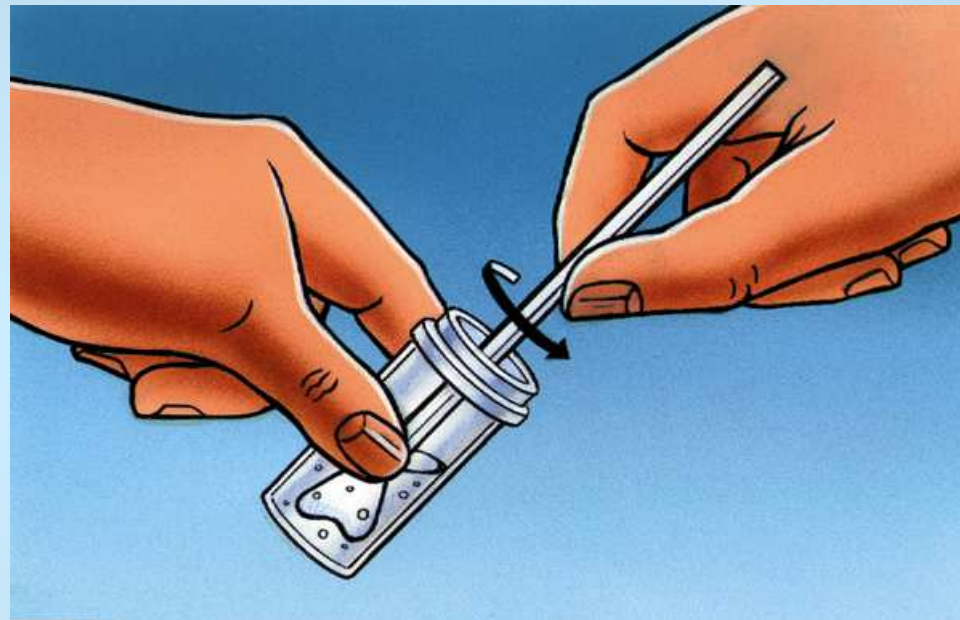
Strumento per campionare contemporaneamente l'endocervice e l'esocervice

- Inserire in profondità le setole lunghe centrali all'interno del canale cervicale
- Far aderire completamente all'esocervice le setole laterali più corte
- Effettuare 5 (cinque) giri in senso orario



Risciacquo dello strumento

- Risciacquare = lavare = stemperare =.....
- Seguire scrupolosamente le istruzioni della guida rapida all'uso e/o del video ThinPrep



Combinazione spatola + Cytobrush

- Lavare la spatola nella fiala PreservCyt ruotandola energicamente per almeno 10 volte
- Gettare la spatola
- Lavare il brush nella stessa fiala ruotando lo strumento nella soluzione per 10 volte
- Strofinando contemporaneamente le setole contro le pareti
- Ruotare il brush energicamente per rilasciare ulteriore materiale
- Gettare il brush



Cervex Brush

- Lavare il Cervex Brush nella fiala PreservCyt forzando le setole a separarsi sul fondo della fiala per 10 volte
- Ruotare energicamente lo strumento per rilasciare ulteriore materiale
- Gettare il Cervex Brush
- Non lasciare la testa nella fiala



Importante

Gli strumenti di prelievo non devono mai essere lasciati nella fiala

Devono essere immediatamente risciacquati

Importante

Non deve essere utilizzata la spatola per raschiare materiale dal Cytobrush o dal Cervex Brush

Il Cytobrush ed il Cervex Brush non vanno spremuti con le dita