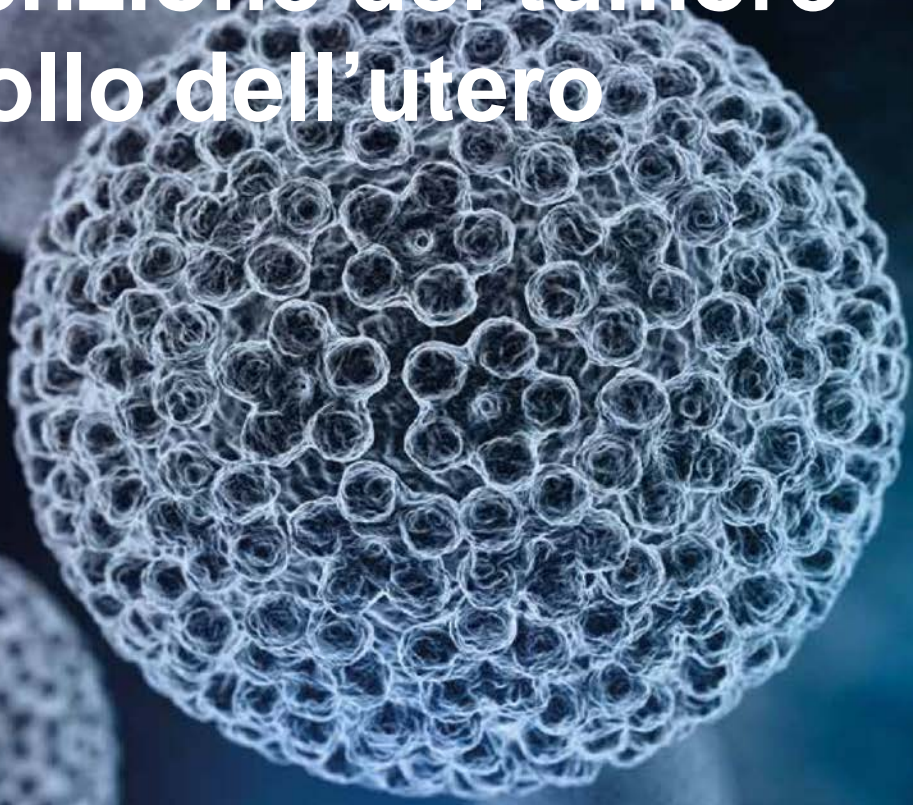


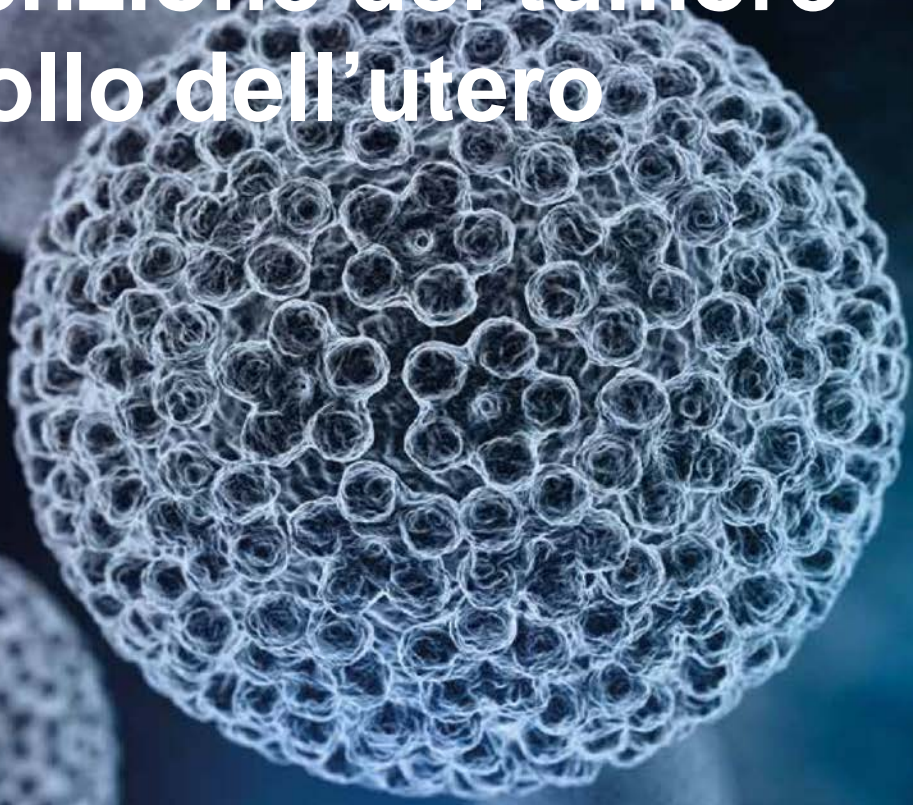
Prevenzione del tumore del collo dell'utero



*Pap test: il ruolo del
pap test
nel futuro dello
screening cervice*

Laura Ardighieri
Anatomia patologica ASST Spedali Civili di Brescia

Prevenzione del tumore del collo dell'utero



Breve storia Pap-test

*Ruolo del Pap-test nello
screening con HPV primario*

Georgios Papanicolaou

(Kymi, 13 maggio 1883 –New Jersey, 19 febbraio 1962)



NEW CANCER DIAGNOSIS

Dr. George N. Papanicolaou
Cornell University Medical College

Paper by Pap in 1928 Battle Creek, Mich. USA

DIAGNOSIS OF UTERINE CANCER BY THE VAGINAL SMEAR

GEORGE N. PAPANICOLAOU, M.D., Ph.D.
Department of Anatomy, Cornell University Medical College

AND

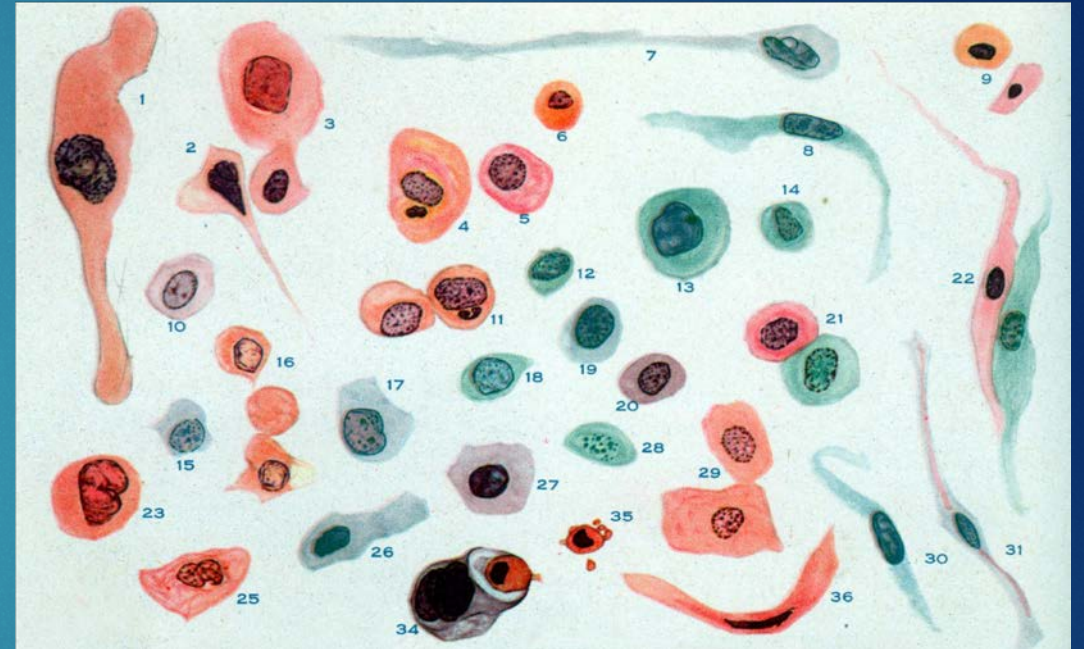
HERBERT F. TRAUT, M.D.
*Department of Obstetrics and Gynecology, Cornell
University Medical College and the New York Hospital*

Monographed by Pap and Traut in 1943

(From Dr. B. Naylor)

Georgios Papanicolaou

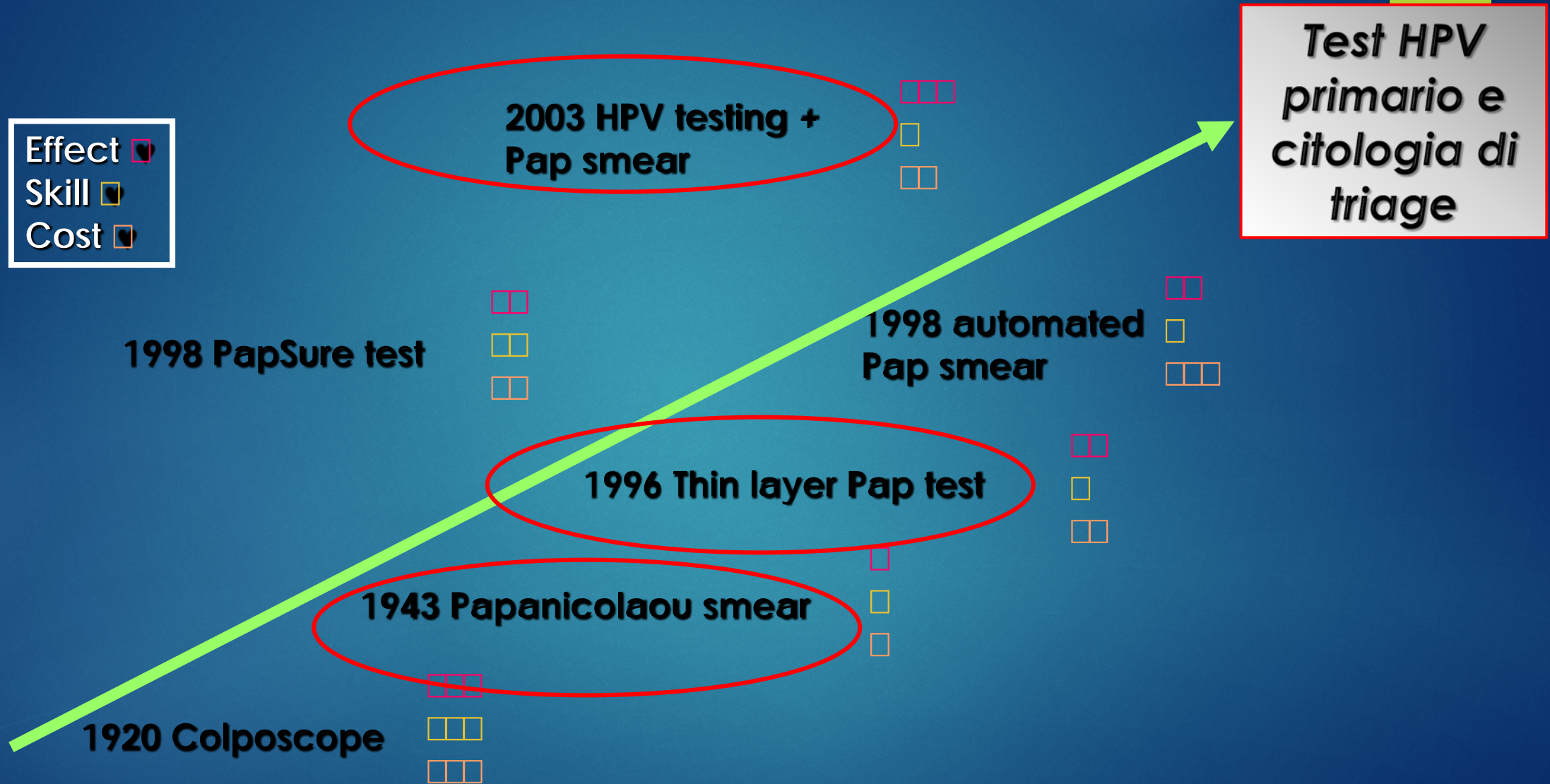
- ▶ tecnica per prelevare le cellule cervicali
- ▶ tecnica di colorazione cellulare
- ▶ criteri per riconoscimento delle alterazioni cellulari
- ▶ training patologi e citologi
- ▶ 1954 pubblicazione Atlas of Exfoliative Cytology



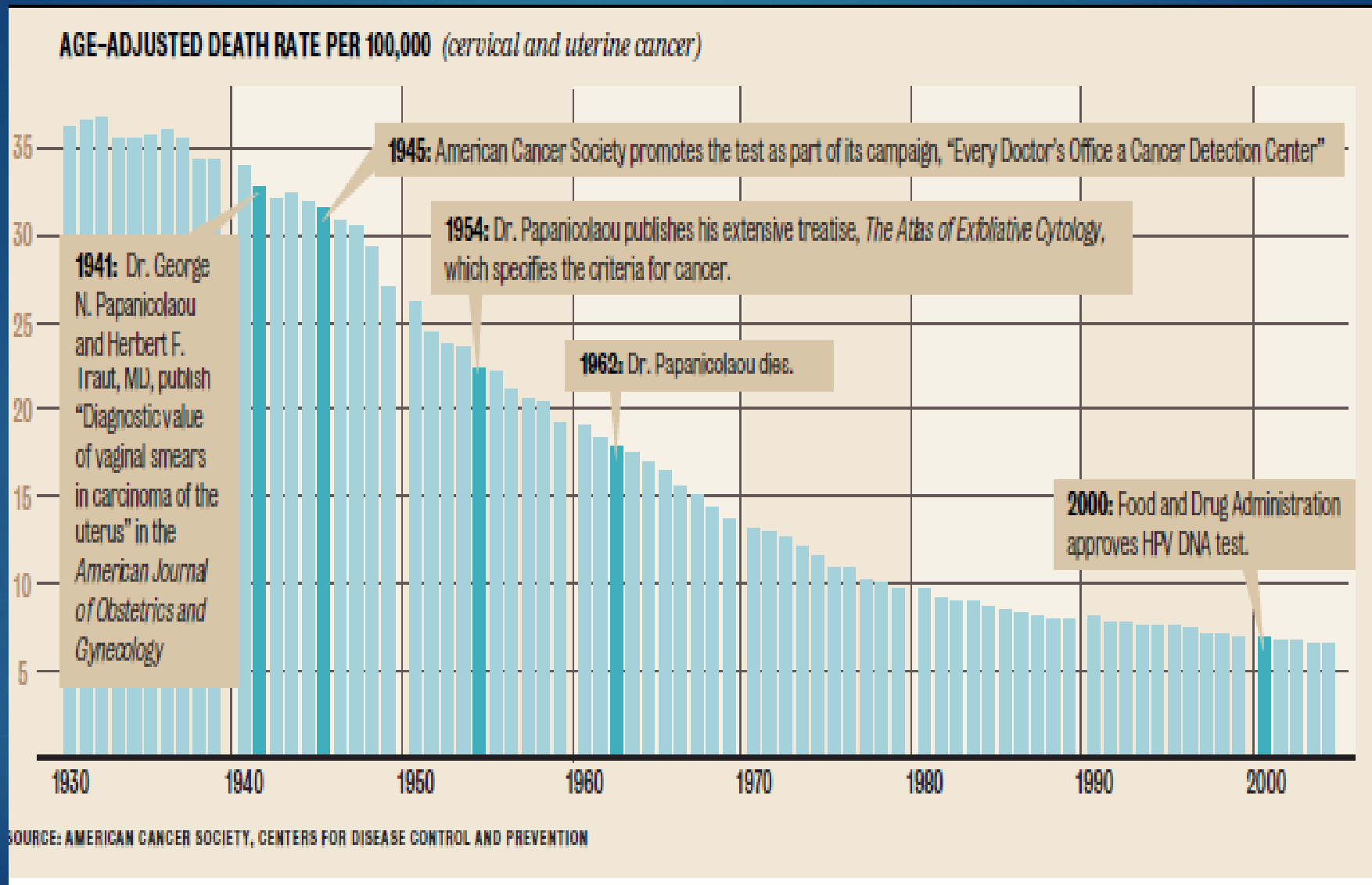
From papanicolau monograph 1954

Screening per il carcinoma della cervice

Effect 
Skill 
Cost 



Impatto dello screening cervico vaginale



Limiti del Pap test



Circa il 20 % delle lesioni preneoplastiche (CIN2-3) non è rilevato

Crisi del Pap Test fine anni '80 negli USA

Koss LG, JAMA (The Journal of the American Medical Association) 1989

**The Papanicolaou test for cervical cancer detection.
A triumph and a tragedy**

*“Although this cancer detection system has been shown to be effective in reducing the rate of morbidity and mortality from invasive cervical cancer in appropriately screened populations, **there is no evidence that the Papanicolaou test has succeeded anywhere in complete eradication of this theoretically preventable disease.** It is important to inform the public about **the potential failures of the system and the reasons for them**”*

Successivi miglioramenti screening cervico-vaginale

SISTEMA DI REFERTAZIONE PAP-TEST
BETHESDA

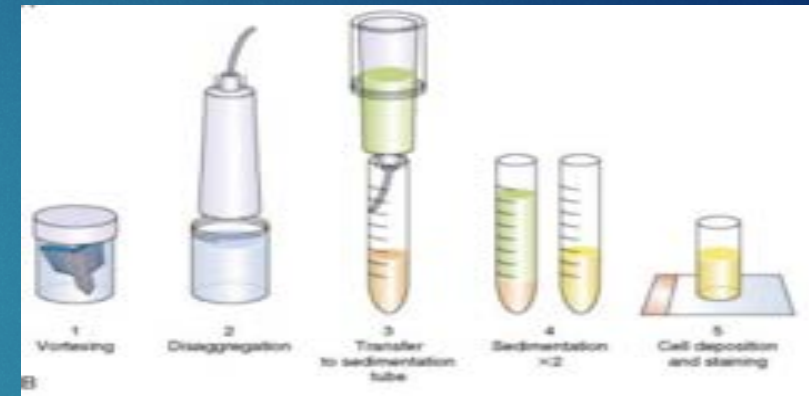
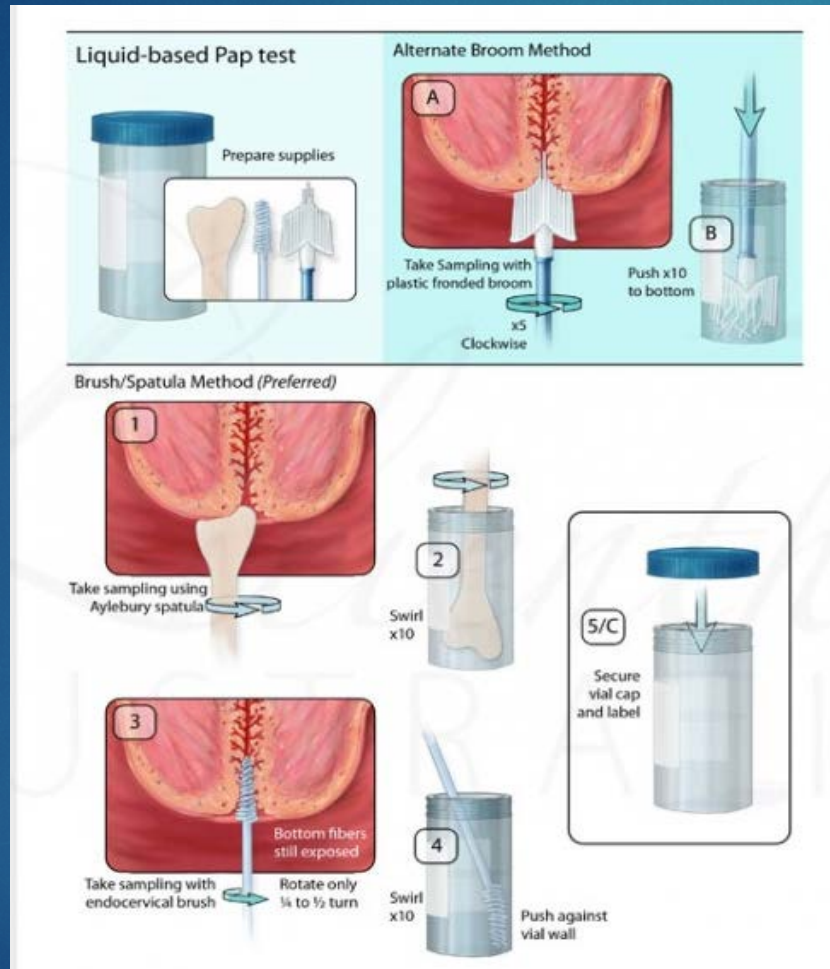
CITOLOGIA IN STRATO SOTTILE O
IN FASE LIQUIDA



- ThinPrep® (Hologic, 1996)
- SurePath™ (Becton Dickinson, 1999)

Citologia in fase liquida (metodiche FDA approved)

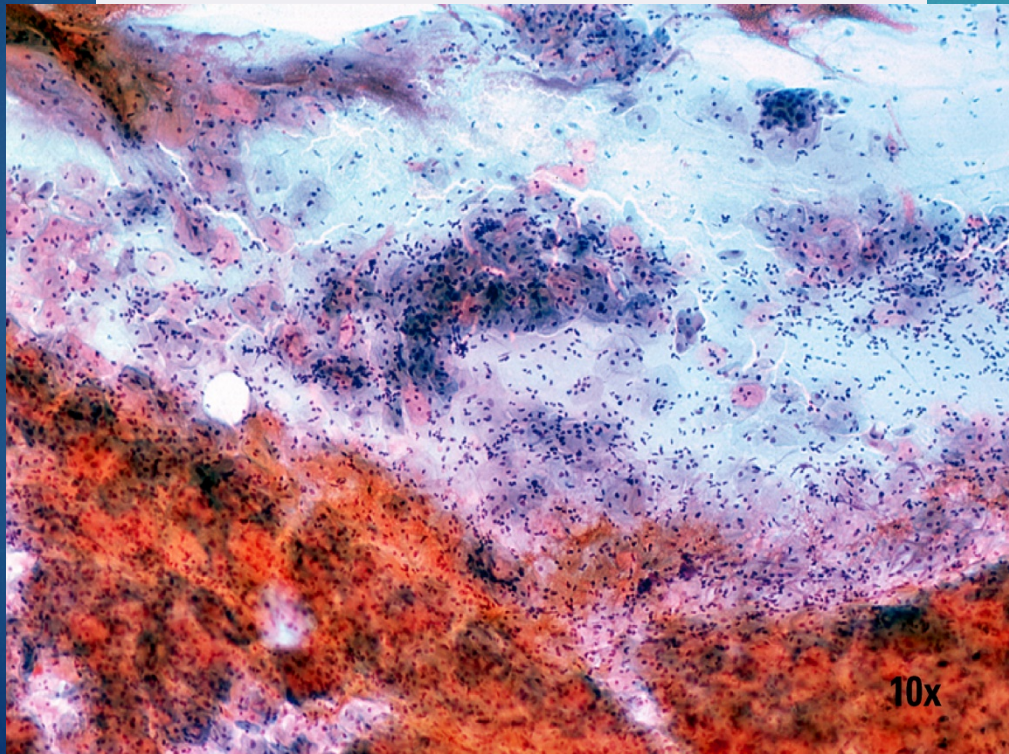
SurePath



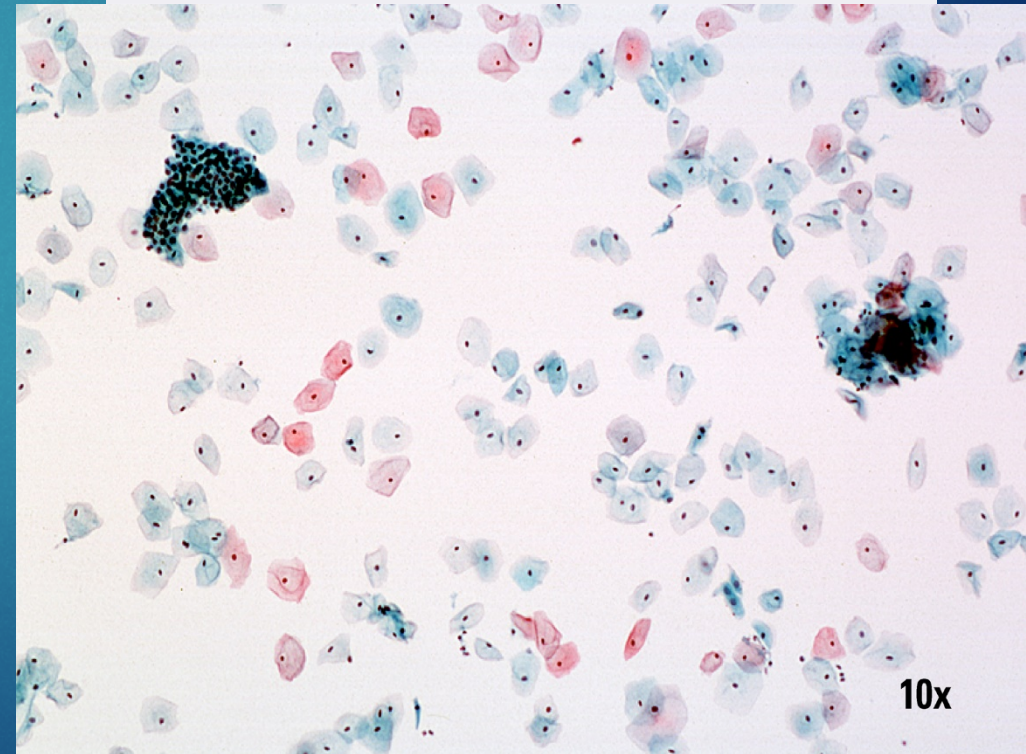
ThinPrep



striscio convenzionale



citologia in fase liquida



The Impact of Liquid-Based Cytology in Decreasing the Incidence of Cervical Cancer

Gibb RK, Rev Obstet Gynecol 2011

The CAP Laboratory Survey: Median Reporting Rates (50th Percentile) for Conventional Papanicolaou (Pap), SurePath Pap, and ThinPrep Pap Cytologic Preparations Across the Major Clinical Cytologic Categories

	Conventional	SurePath Pap	ThinPrep
ASC-US	2.4	4.1*	4.9*
LSIL	1.3	2.5*	3.0*
HSIL	0.3	0.3	0.6†
UNSATS	1.0	0.3‡	1.1

Citologia in strato sottile: vantaggi vs svantaggi

vantaggi

- ▶ Più efficace nell'identificare le lesioni squamose e ghiandolari
- ▶ Lettura più facile

strato sottile; riduzione muco, elementi infiammatori; eliminazione artefatti da stress meccanico

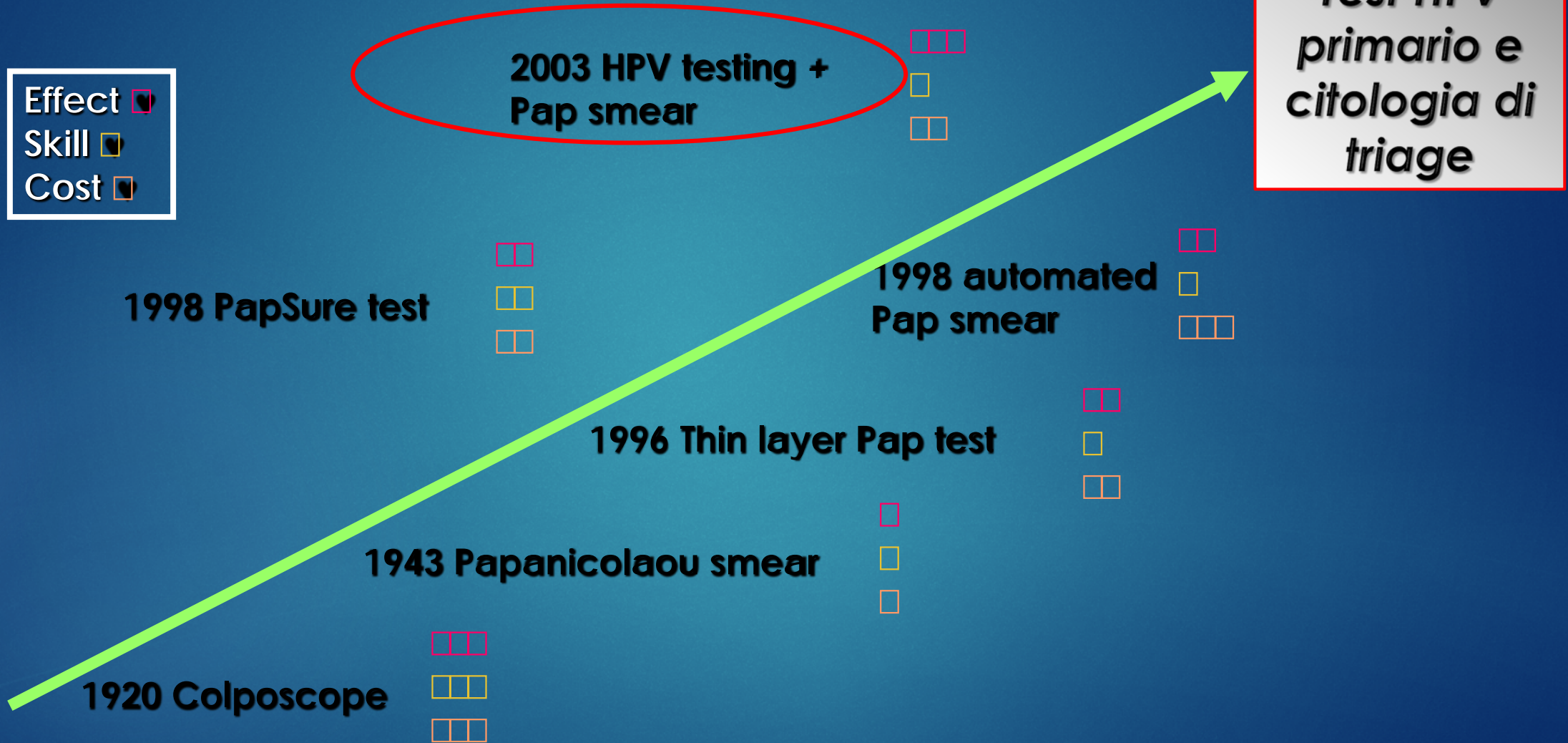
- ▶ Riduzione dei tempi di lettura
- ▶ Standardizzazione
- ▶ Riduzione inadeguati
- ▶ Possibilità di lettura automatizzata
- ▶ Possibilità di eseguire test ancillari

svantaggi

- ▶ Aumento dei costi
- ▶ Impatto ambientale

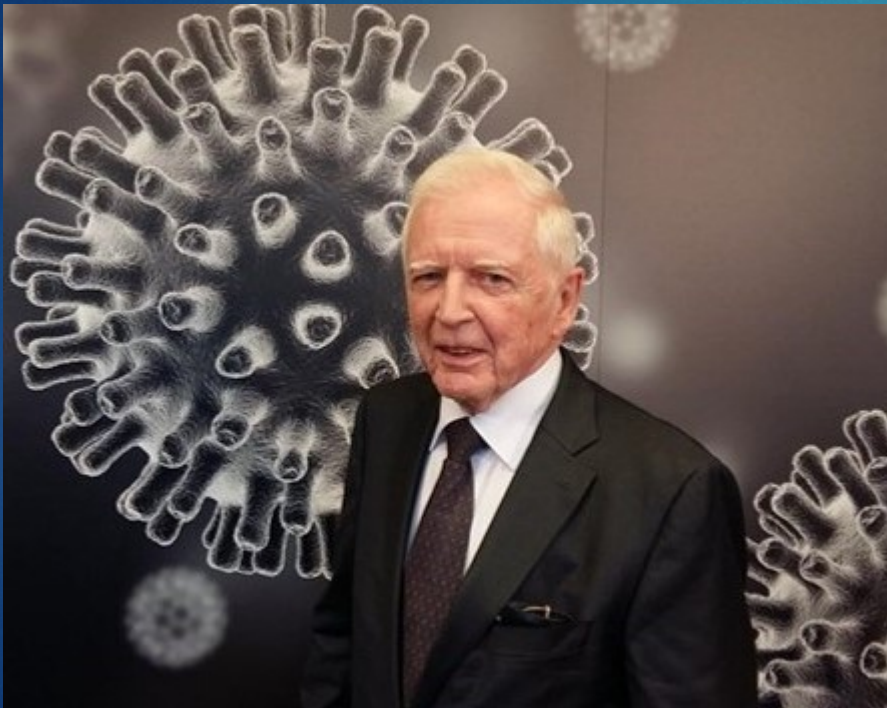
Screening per il carcinoma della cervice

Effect 
Skill 
Cost 



PREMESSE DEL NUOVO SCENARIO: RUOLO HPV

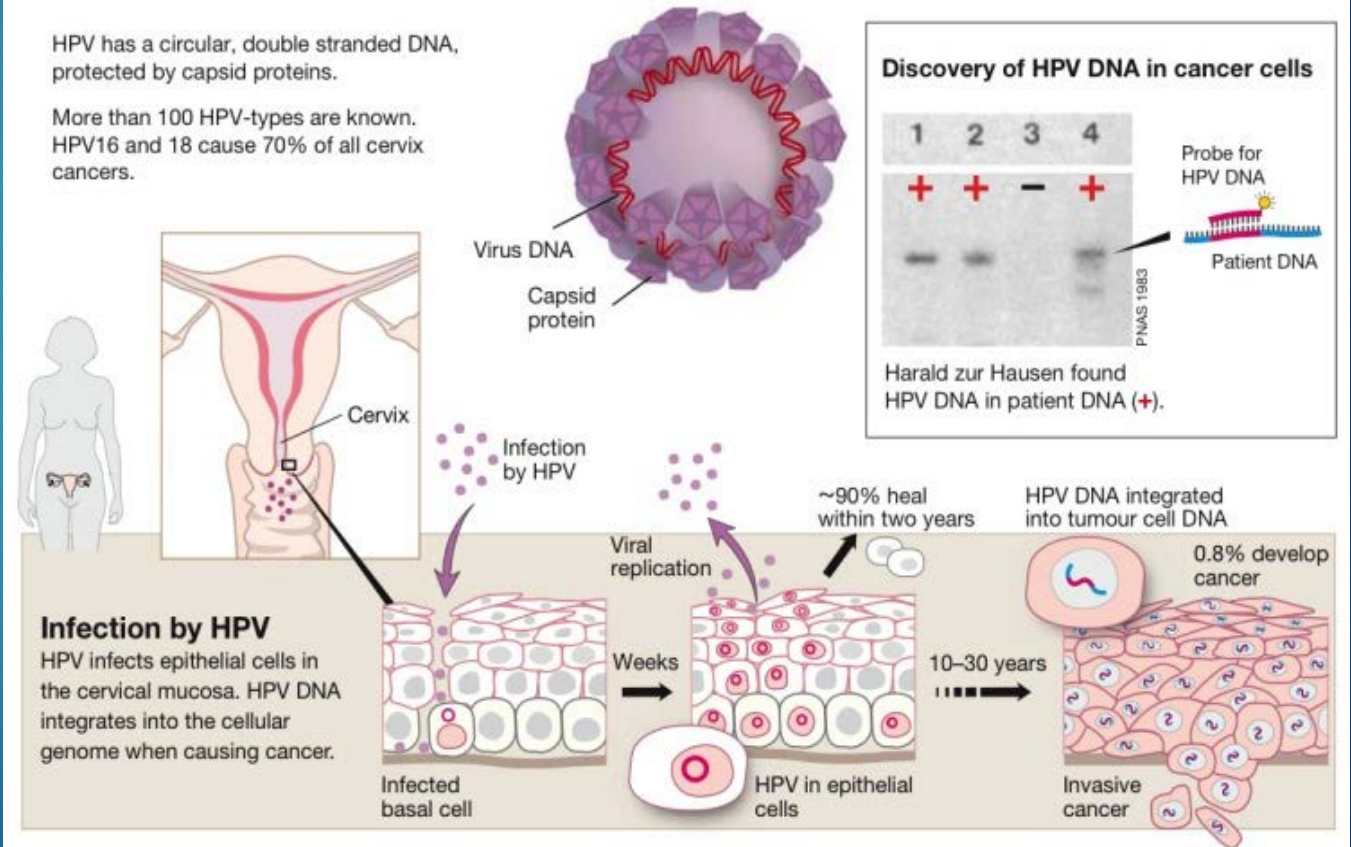
Harald Zur Hausen



HPV – human papilloma virus

HPV has a circular, double stranded DNA, protected by capsid proteins.

More than 100 HPV-types are known. HPV16 and 18 cause 70% of all cervix cancers.



PREMESSE DEL NUOVO SCENARIO: RUOLO HPV

→ *infezione persistente con HPV oncogeni è la condizione necessaria per l'evoluzione a carcinoma*

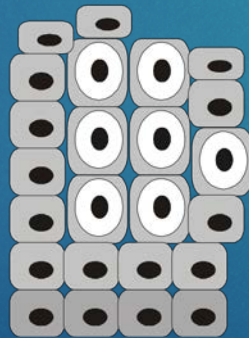
→ *DNA virale è rintracciabile in tutte le fasi della malattia*

→ *2 tipi di HPV ad alto rischio causano virtualmente tutti i casi di cancro*

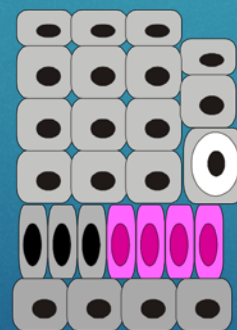
Epitelio
normale



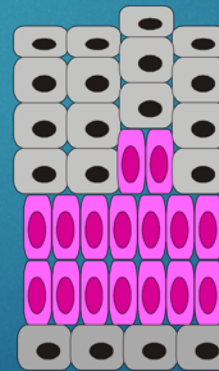
Infezione da
HPV



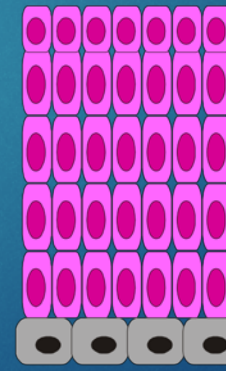
CINI



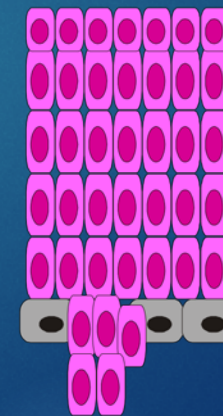
CIN II



CIN III



Carcinoma



Relazione HPV e lesioni displastiche/neoplastiche cervicali



**VACCINAZIONE CONTRO
HPV**

**NUOVE METODOLOGIE
DIAGNOSTICHE
PER LO SCRRENING**

Relazione HPV e lesioni displastiche/neoplastiche cervicali



**VACCINAZIONE CONTRO
HPV**

**NUOVE METODOLOGIE
DIAGNOSTICHE
PER LO SCREENING**

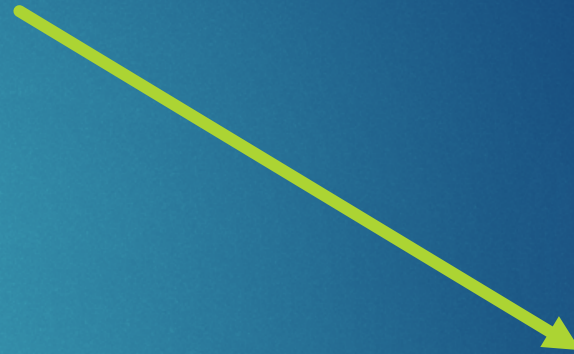
NUOVE METODOLOGIE DIAGNOSTICHE



**COTESTING
TEST HPV + CITOLOGIA**

**SCREENING CON HPV
PRIMARIO**

NUOVE METODOLOGIE DIAGNOSTICHE



**COTESTING
TEST HPV + CITOLOGIA**

**SCREENING CON HPV
PRIMARIO**

Screening con Test HPV–hr primario, razionale:

- ❁ Test riproducibile

- ❁ Molto sensibile per individuare le CIN (> 98%)

sensibilità maggiore: HPV DNA test positivo rivela fino al 40-60 % di lesioni in più rispetto al Pap test

- ❁ Alto valore predittivo negativo per CIN (VPN >99%)

Valore Predittivo Negativo maggiore : HPV DNA test negativo esclude con maggiore certezza una lesione in atto rispetto al Pap test negativo

Bulkmans N et al. Human papillomavirus DNA testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial. Lancet 2007

Naucier P et al. Human papillomavirus and Papanicolaou tests to screen for cervical cancer. N Engl J Med 2007

HTA 2012 Ministero Salute :

Il rapporto di Health Technology Assessment (HTA) Italiano del 2012 "Ricerca del DNA di Papilloma Virus umano (HPV) come test primario per lo screening dei precursori del cancro del collo uterino" (1) considera raccomandabile il test HPV per lo screening primario, a condizione che vengano applicati protocolli appropriati.

In particolare:

- lo screening basato sul test HPV non deve iniziare prima dei 30-35 anni; al di sotto di tale fascia resta raccomandato lo screening citologico;
- le donne positive al test HPV non devono essere inviate direttamente in colposcopia, ma è necessario utilizzare sistemi di triage;
- Il sistema di triage attualmente raccomandabile è l'esecuzione della citologia (Pap test) nelle donne HPV positive.

supplemento 1 numero 3/4 anno 36 maggio agosto 2012

EPIDEMIOLOGIA & PREVENZIONE

Rivista dell'Associazione italiana di epidemiologia

CON IL CONTRIBUTO DI:
Giuglielmo Iannozzi, Gabriele Accetta,
Claudio Angeloni, Marc Arbyn,
Luisa Barzon, Annibale Bigazzi,
Marco Cadoni, Ettore Capolongo,
Francesco Carozzi, Carlo Cogoli,
Massimo Conforti, Jack Couk,
Antonio Federico, Antonio Fraga,
Bruno Ghiringhelli, Anna Gallo Iac,
Luca Gianfranceschi, Penelope Mawle,
Chris JIM Meyer, Carlo Naldoni,
Franco Napolitano, Davide Perone,
Vicki Raboin, Raffaella Ribaldone,
Alonso Sepin, Nemes Szegedi,
Mario Sileri, Peter JF Sojden,
Carlo Sisti, Nicola Surico,
Marco Zappa, Manuel Zotti,
Piero Giorgi Rossi

agenas

ASSOCIAZIONE ITALIANA DI EPIDEMIOLOGIA E PREVENZIONE

CONFERENZA NAZIONALE SULLA PREVENZIONE

CPO

HTA REPORT

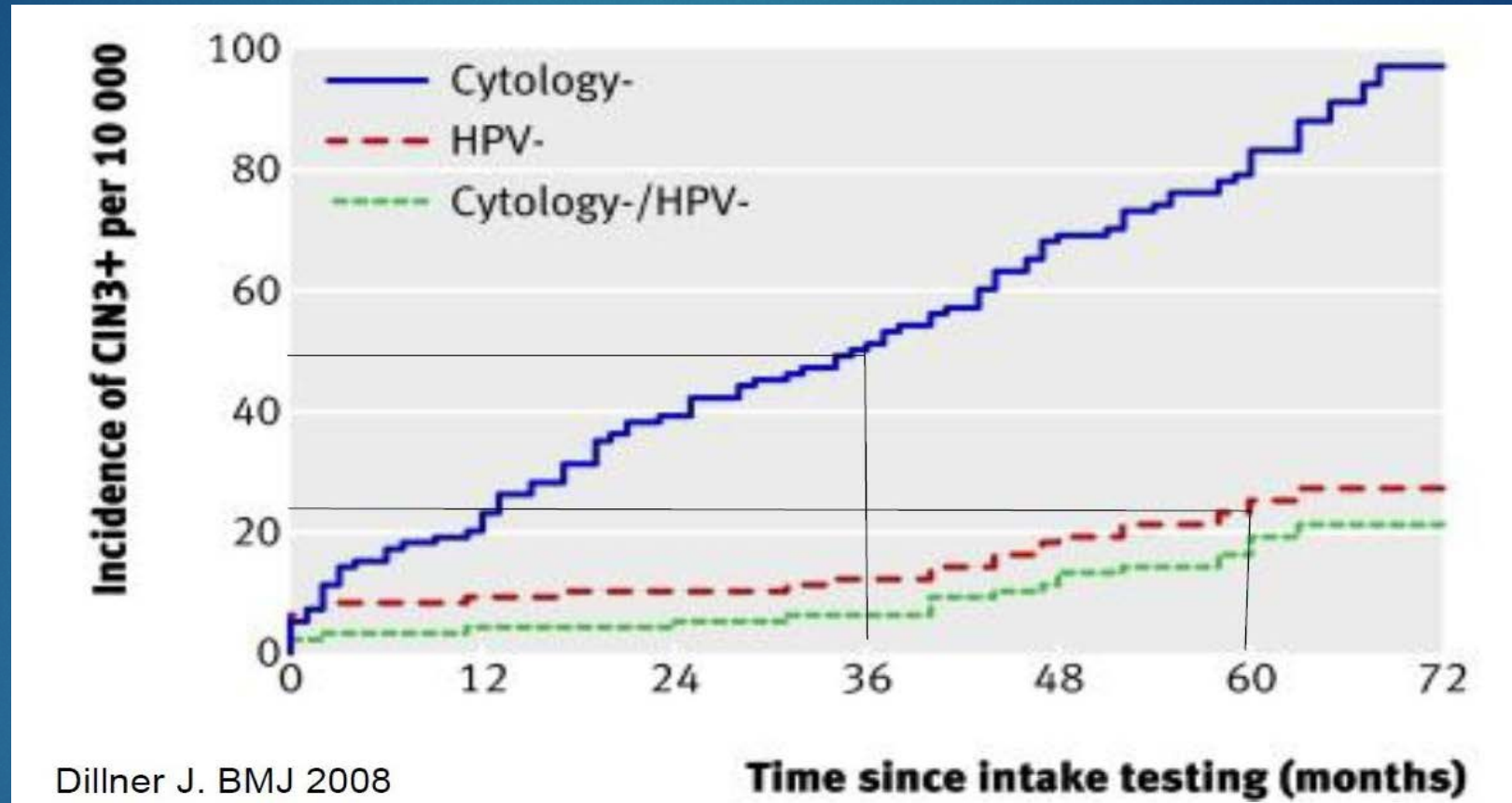
HEALTH TECHNOLOGY ASSESSMENT
RICERCA DEL DNA DI PAPPILLOMAVIRUS UMANO (HPV)
COME TEST PRIMARIO PER LO SCREENING
DEI PRECURSORI DEL CANCRO DEL COLLO UTERINO

HPV DNA BASED PRIMARY SCREENING
FOR CERVICAL CANCER PRECURSORS

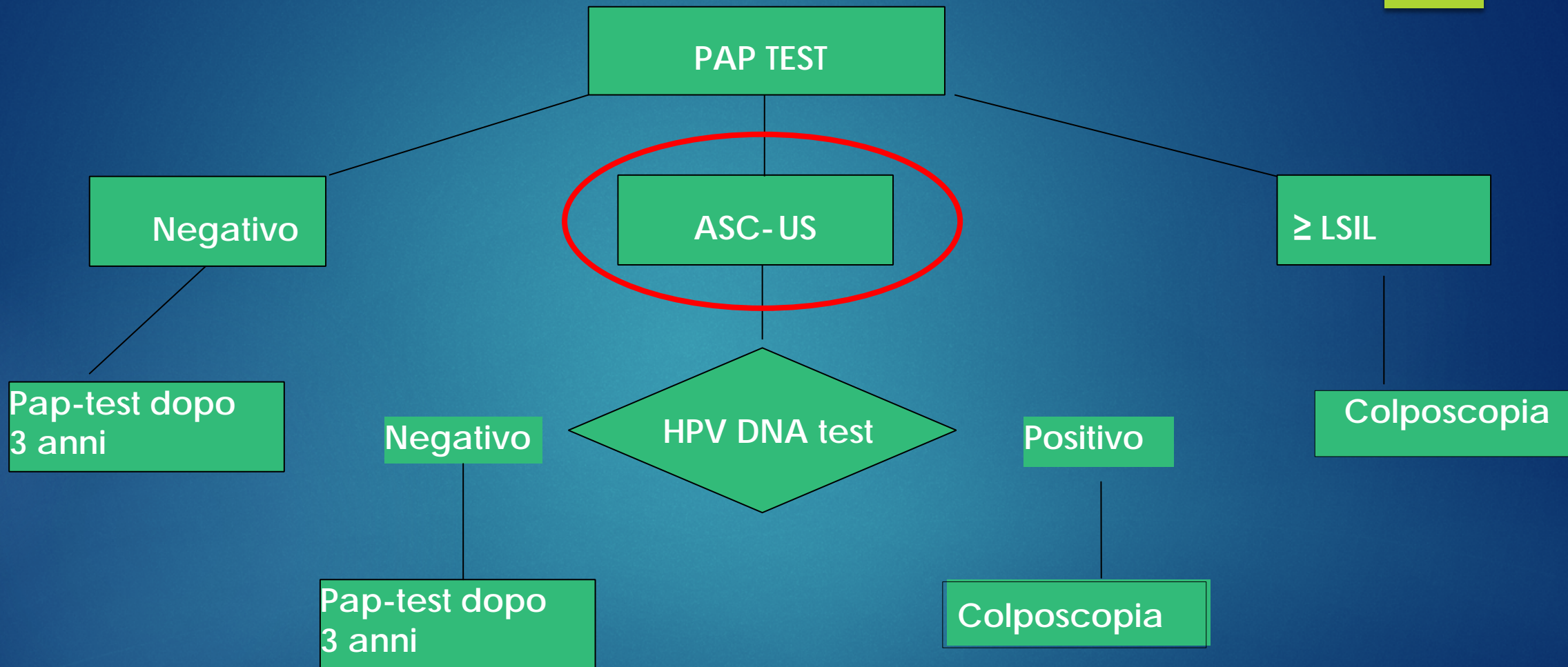
inferenze

© Ministero della Salute - Roma - 2012. Tutti i diritti sono riservati. Per informazioni: info@epi.it - tel. 06 49901111 - fax 06 49901112 - www.epi.it - ISSN 1120-8575

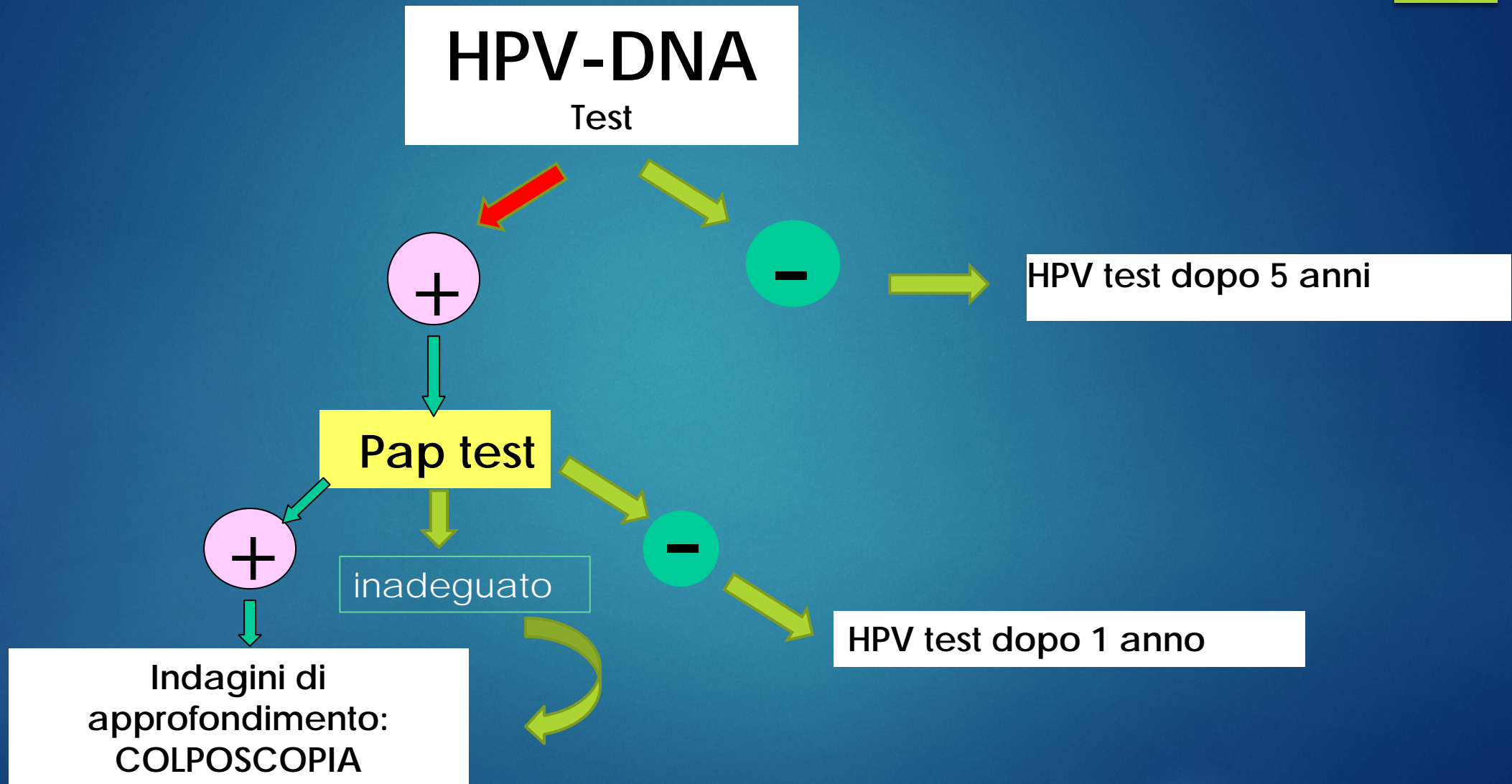
Perché 5 anni?



ALGORITMO SCREENING DONNE 25 – 34 ANNI

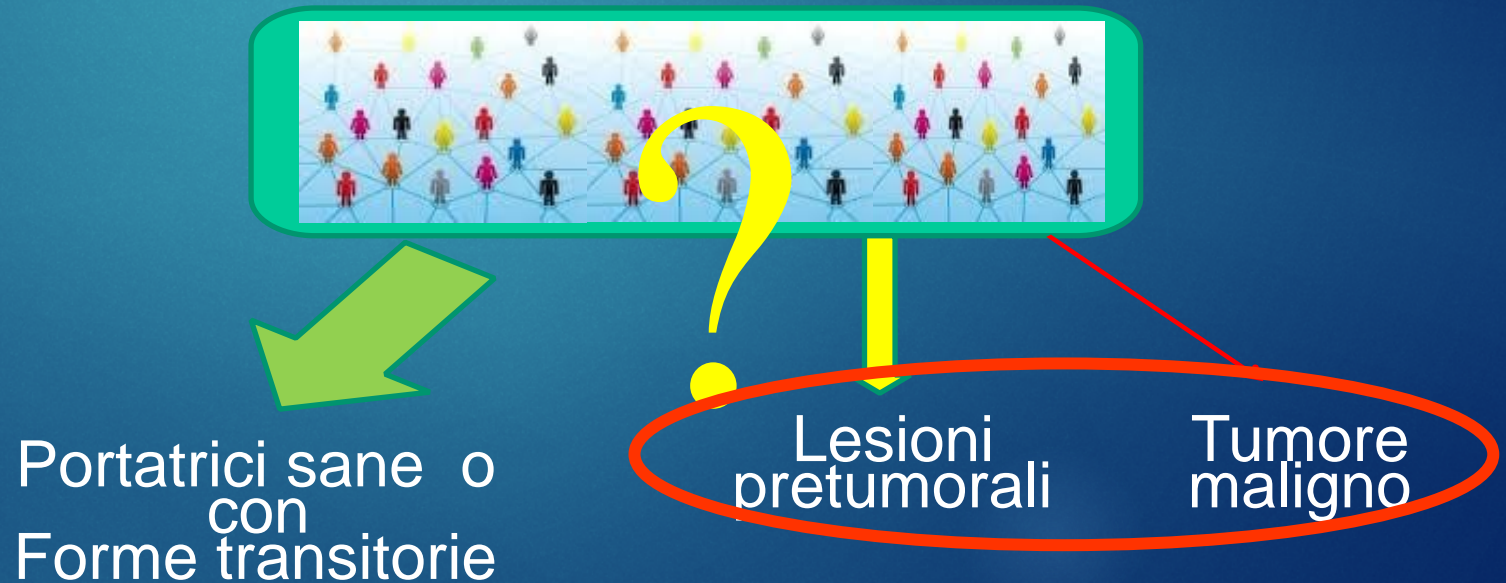


ALGORITMO SCREENING DONNE > 34 ANNI



Screening con Test HPV primario, LIMITI:

- ✿ < specificità rispetto al Pap-test, soprattutto in donne giovani
- ✿ HPV DNA test è positivo anche nelle donne con infezioni virali latenti e che hanno lesioni che potrebbero regredire spontaneamente •



Pap-test come Citologia di Triage

- ❖ Viene letto esclusivamente *dopo un test HPV-hr +* (test più sensibile)
- ❖ Viene utilizzato come filtro tra test HPV-hr e colposcopia
→ *ha il compito di riportare la specificità del test molecolare a valori accettabili*

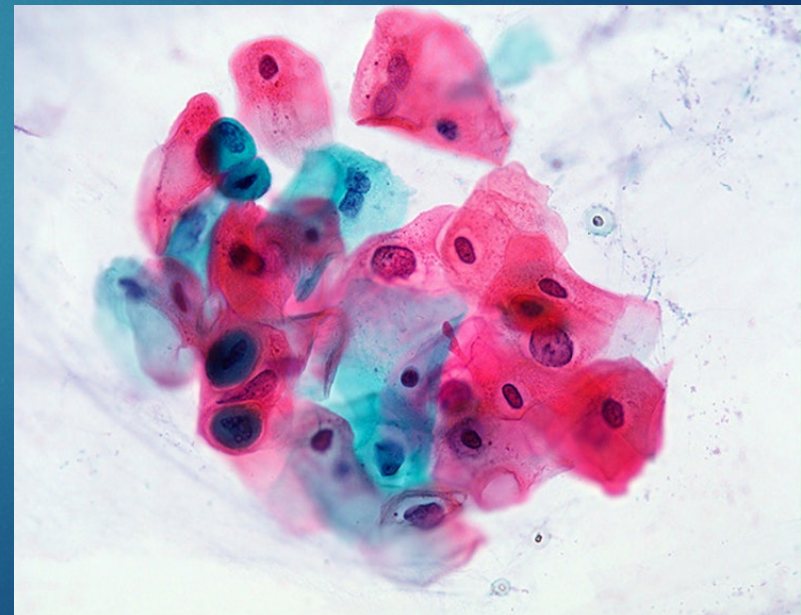
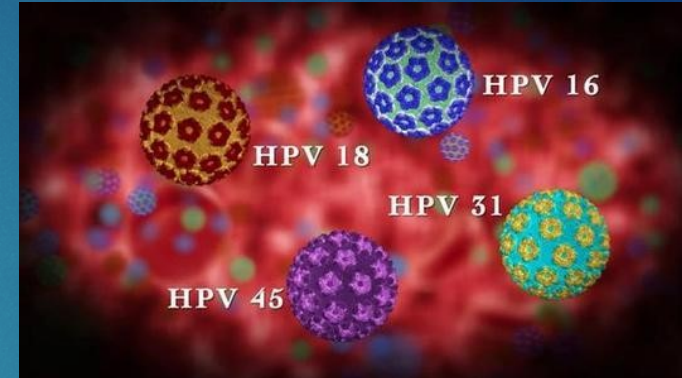
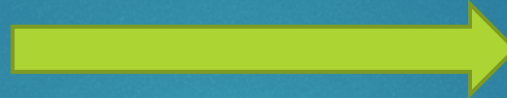


- ▶ **ASST DEGLI SPEDALI CIVILI DI BRESCIA** Laboratori di Microbiologia e di Anatomia Patologica
- ▶ **HOLOGIC ITALIAS Srl:** fornitura di sistemi di prelievo, conservazione e trasporto di campioni cervicovaginali per la determinazione di HPV-DNA, di vetrini per citologia e di un sistema completo per l'allestimento dei campioni (ARCA_2017_115)

Gestione del prelievo nel nuovo scenario



PRELIEVO UNICO



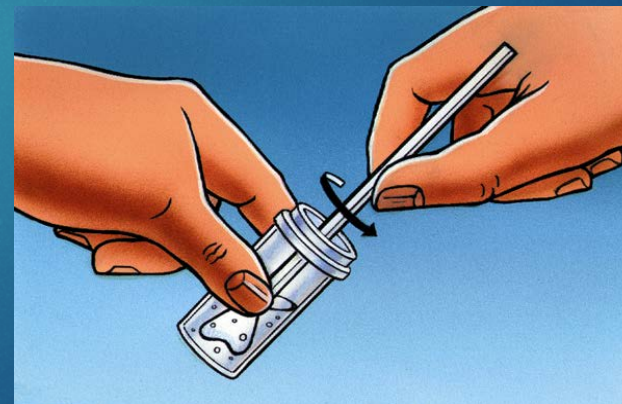
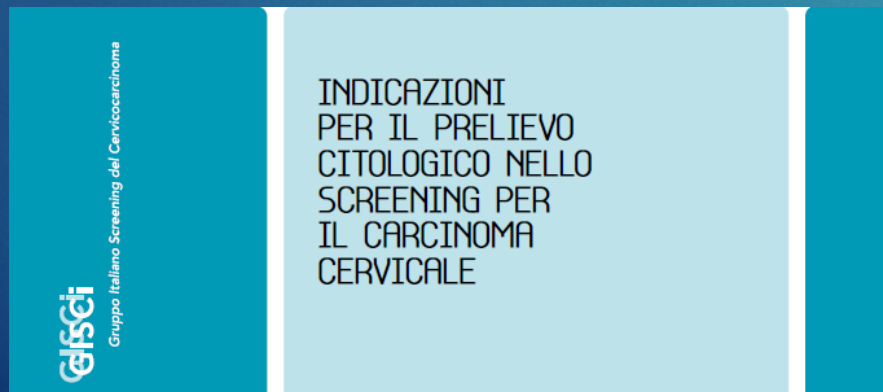
L'importanza del prelievo

eseguito secondo
LINEE GUIDA

Raccomandazioni GISCI prelievo
(rapporto aggiornamento N 2, dicembre 2016)

eseguito secondo
istruzioni riportate nel
dispositivo

guida rapida e/o video ThinPrep Pap Test



Modalità esecuzione prelievo

Campione adeguato



Campione inadeguato



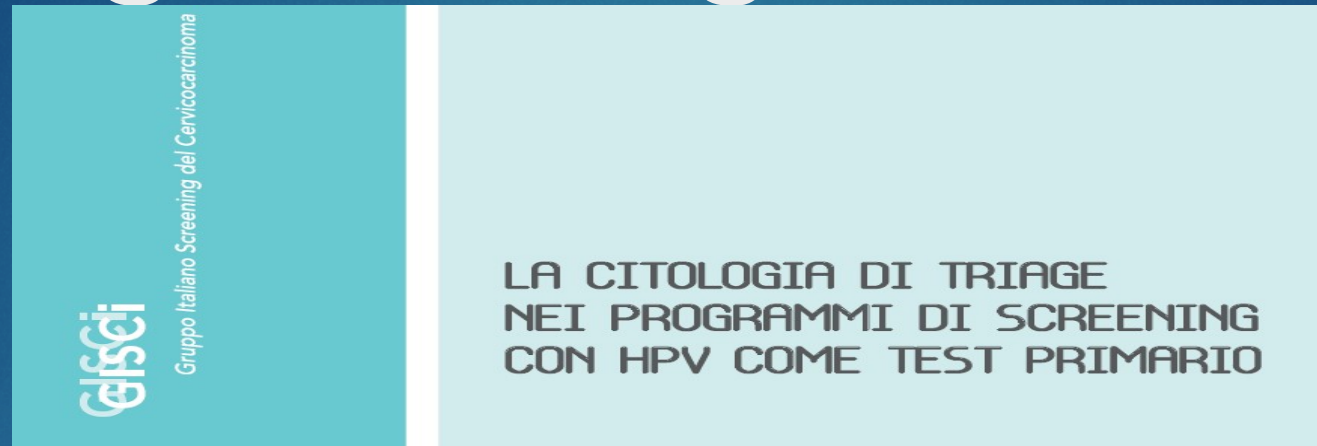
FASE PREPARATORIA

- ▶ Non vanno utilizzati gel lubrificanti prima del prelievo del campione cervicale
- ▶ Per lubrificare lo speculum può essere utilizzata dell'acqua
- ▶ E' importante ottenere un campione non oscurato da sangue, muco o essudato infiammatorio
- ▶ Rimuovere l'eccesso di muco o altre secrezioni utilizzando una pinza portabatuffoli ed un tampone di garza
- ▶ La cervice non va trattata con soluzione salina
- ▶ Effettuare il prelievo prima dell'eventuale applicazione di acido acetico

FASE PRELIEVO

- ▶ Strumenti corretti (spatula, cytobrush, cervexbrush)
- ▶ Rotazione spatola
- ▶ risciacquo

Citologia di Triage



- ❁ Refertazione
- ❁ Cambia la frequenza di anomalità
(ma non cambiano i quadri morfologici)
- ❁ Aspetti del nuovo contesto

Bethesda 2014

Prelievo

- ADEGUATO
- INADEGUATO

Lesione?

- NEGATIVO
- POSITIVO

Anormale: cellule squamose

- ✓ ASC-US
- ✓ ASC-H
- ✓ LSIL
- ✓ HSIL
- ✓ Cellule Tumorali Maligne

Anormale : cellule ghiandolari

- ✓ AGC NOS
- ✓ AGC probabile neoplasia
- ✓ Adenocarcinoma in situ (AIS)
- ✓ Adenocarcinoma infiltrante

The Bethesda System
for Reporting
Cervical Cytology

Definitions, Criteria,
and Explanatory Notes

Third Edition

Ritu Nayar
David C. Wilbur
Editors

 Springer

Aspetti del nuovo contesto: esperienze italiane: tasso di positività al test-HPV e al Pap-test

Programma screening HPV	Tasso positività all'HPV	Tasso positività pap-test	Tasso invio in colposcopia
ABRUZZO 2010	10.44%	45,24%	4.73%
ABRUZZO 2011	10.04%	43.11%	4.33%
Roma G 1° Round	5.6%	33%	1.8%
Roma G 2° Round	8.4%	20%	2.8%
VALCAMONICA 2010	8.76%	47.45%	4.6%
VALCAMONICA 2011	9.34%	44.75%	5.01%
VENETO	6.6%	41.9%	2.7%

MEDIE

Positività HPV: 8.45%

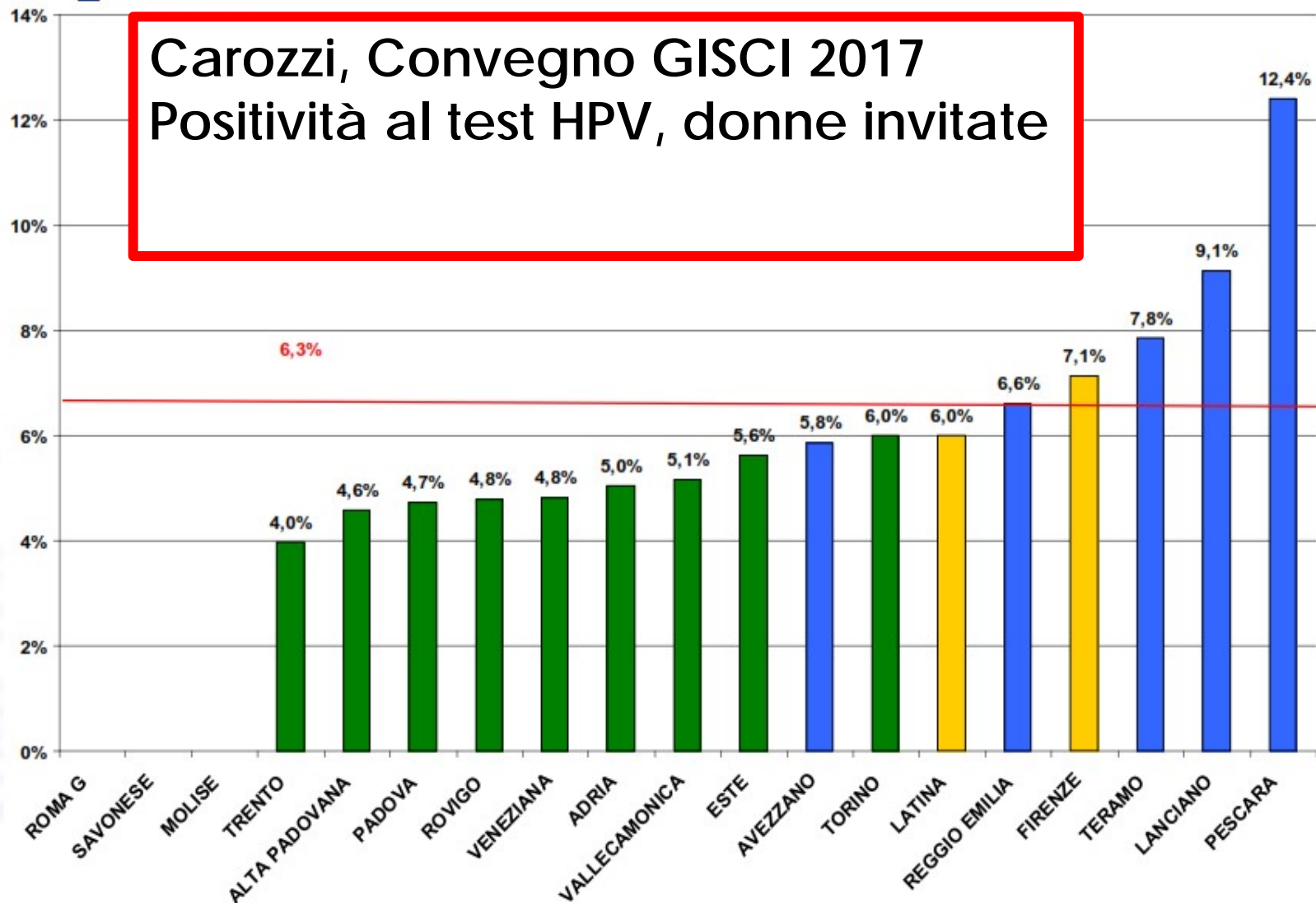
Positività pap-test: 39.35%

Invio colposcopia: 3,71%

- NORD
- CENTRO
- SUD e ISOLE

% di donne 35-64 POSITIVE al Test HPV

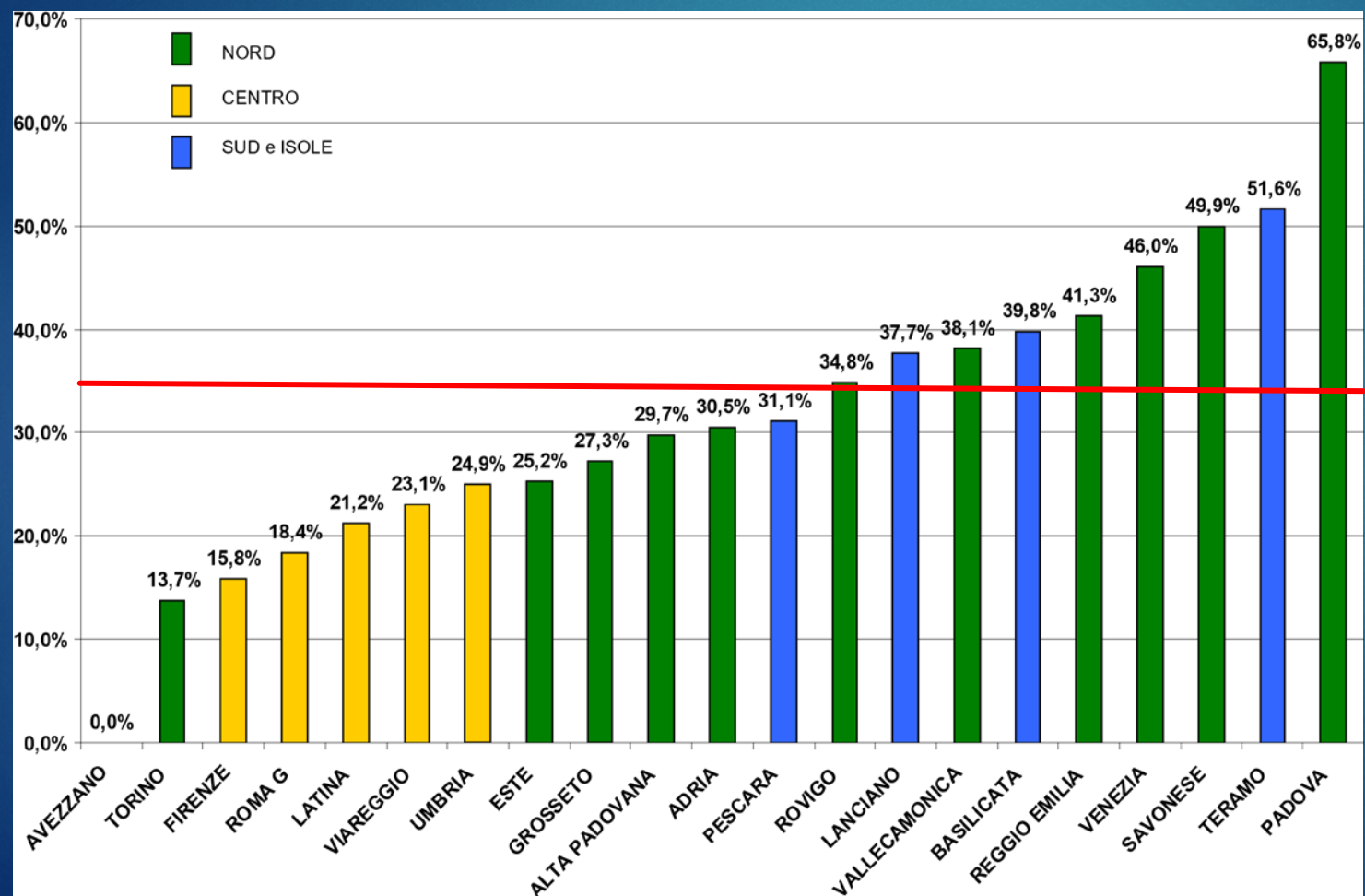
Carozzi, Convegno GISCI 2017
 Positività al test HPV, donne invitate



Media = 6.3%
 Min: 4%
 Max: 12,4%

Frequenza di anomalità al Pap-test

Ascus + su HPV+
(coorte 2013, Carozzi, GISC I 2017)



Media = 34,7%

Min: 13,7%

Max: 65,8%

Aspetti del nuovo contesto: negativi

- Test di filtro: specificità e modello dicotomico

POSITIVO vs NEGATIVO

Negativi: casi con alterazioni cellulari insufficienti per segnalare la possibilità di una vera lesione

NB: una **valutazione negativa** del Pap-test non rimanda la donna al normale livello di screening, bensì a un **controllo a 1 anno** con test HPV

Aspetti del nuovo contesto (1)

The Tahoe Study

Bias in the Interpretation of Papanicolaou Test Results When Human Papillomavirus Status Is Known

*Ann T. Moriarty, MD; Ritu Nayar, MD; Terry Arnold, CT(ASCP); Lisa Gearries, CT(ASCP); Andrew Renshaw, MD;
Nicole Thomas, MPH, CT(ASCP); Rhona Souers, MS*

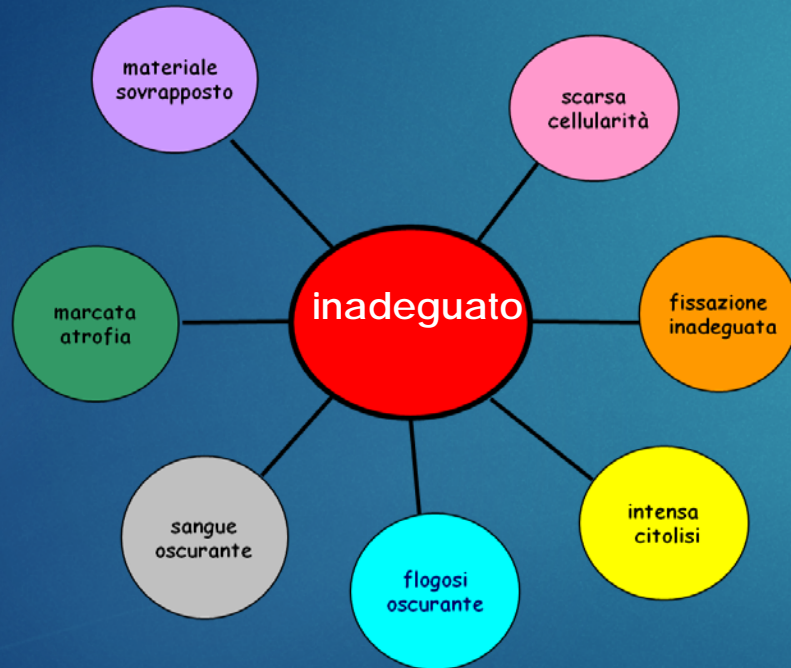
**Table 2. General Category Response With Knowledge of the HPV Status (Biased)
and Without Knowledge of the HPV Status (Unbiased) ($P < .001$)**

Variable	Response Category, No. (%)		Total
	NILM	ECA	
Observers know positive HPV status	131 (31.3)	288 (68.7)	419
Observers do not know the HPV status	181 (43.1)	239 (56.9)	420

Abbreviations: ECA, epithelial cell abnormality; HPV, human papillomavirus; NILM, negative for intraepithelial lesion or malignancy.

Aspetti del nuovo contesto: inadeguati

- ▶ Limitare il numero di inadeguati perché vanno inviati direttamente in colposcopia



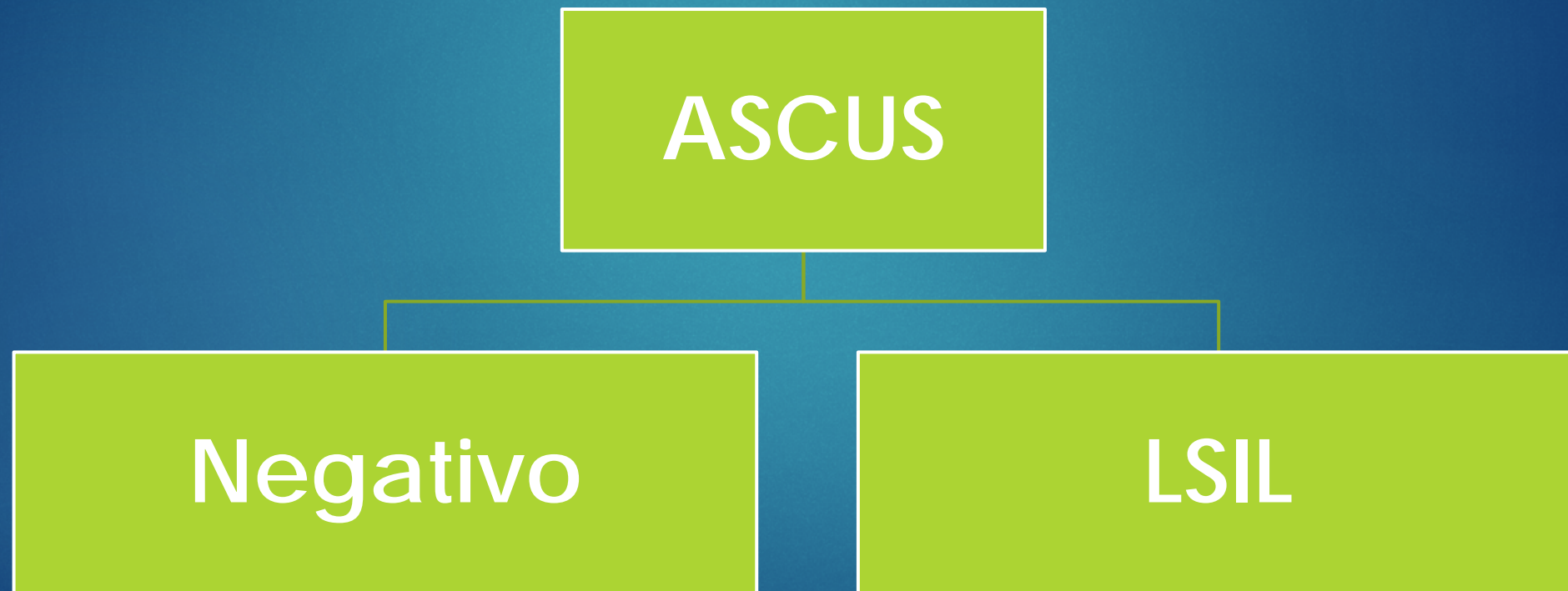
eccessivo invio in
colposcopia \approx fallimento
del ruolo
di Triage del pap-test

Aspetti del nuovo contesto

- Necessaria una rimodulazione delle categorie diagnostiche, in particolare:
 - *Inadeguati*
 - *ASCUS*
 - *LSIL*

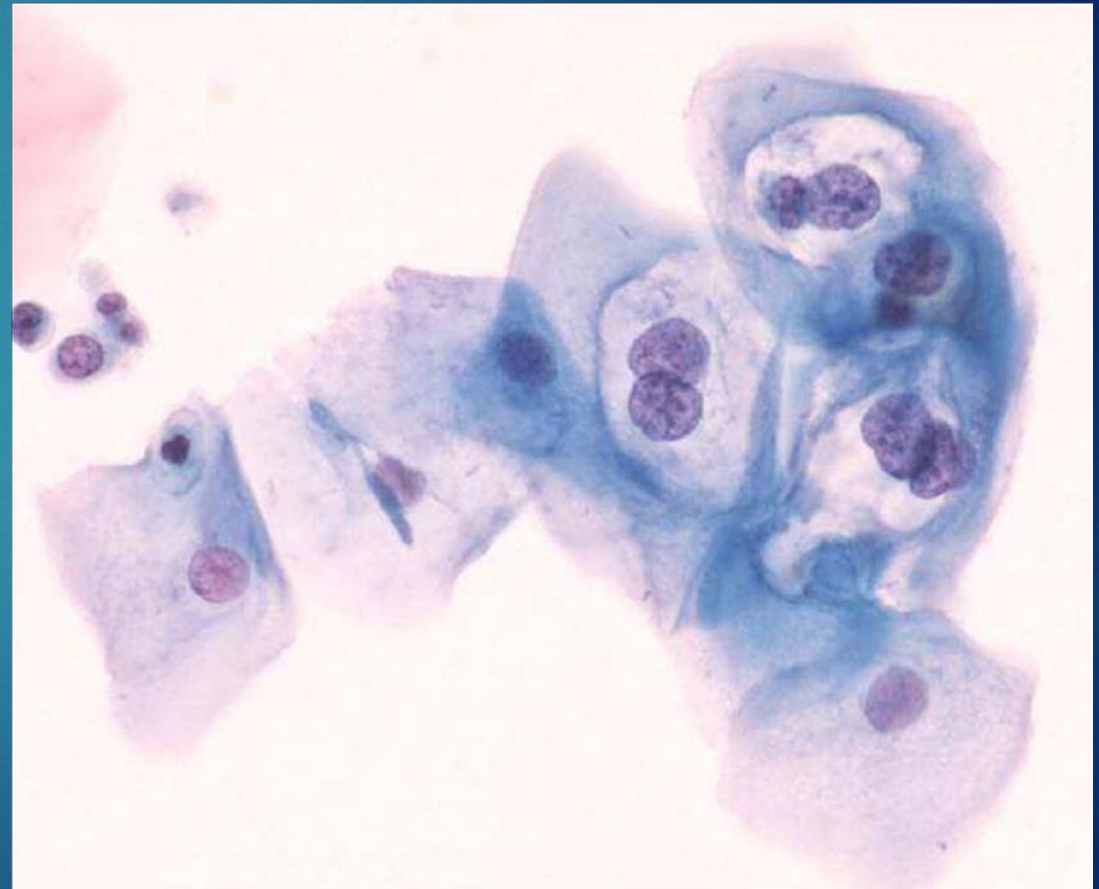
Aspetti del nuovo contesto: ASCUS

- ❁ La categoria ASCUS non deve essere eliminata ma limitata al massimo classificando nel modo più netto possibile i relativi quadri morfologici



Aspetti del nuovo contesto: LSIL

LSIL: l'interpretazione di LSIL deve essere basata su rigorosi criteri morfologici per evitare una sovradiagnosi ed inutili controlli



Aspetti del nuovo contesto: altre categorie diagnostiche

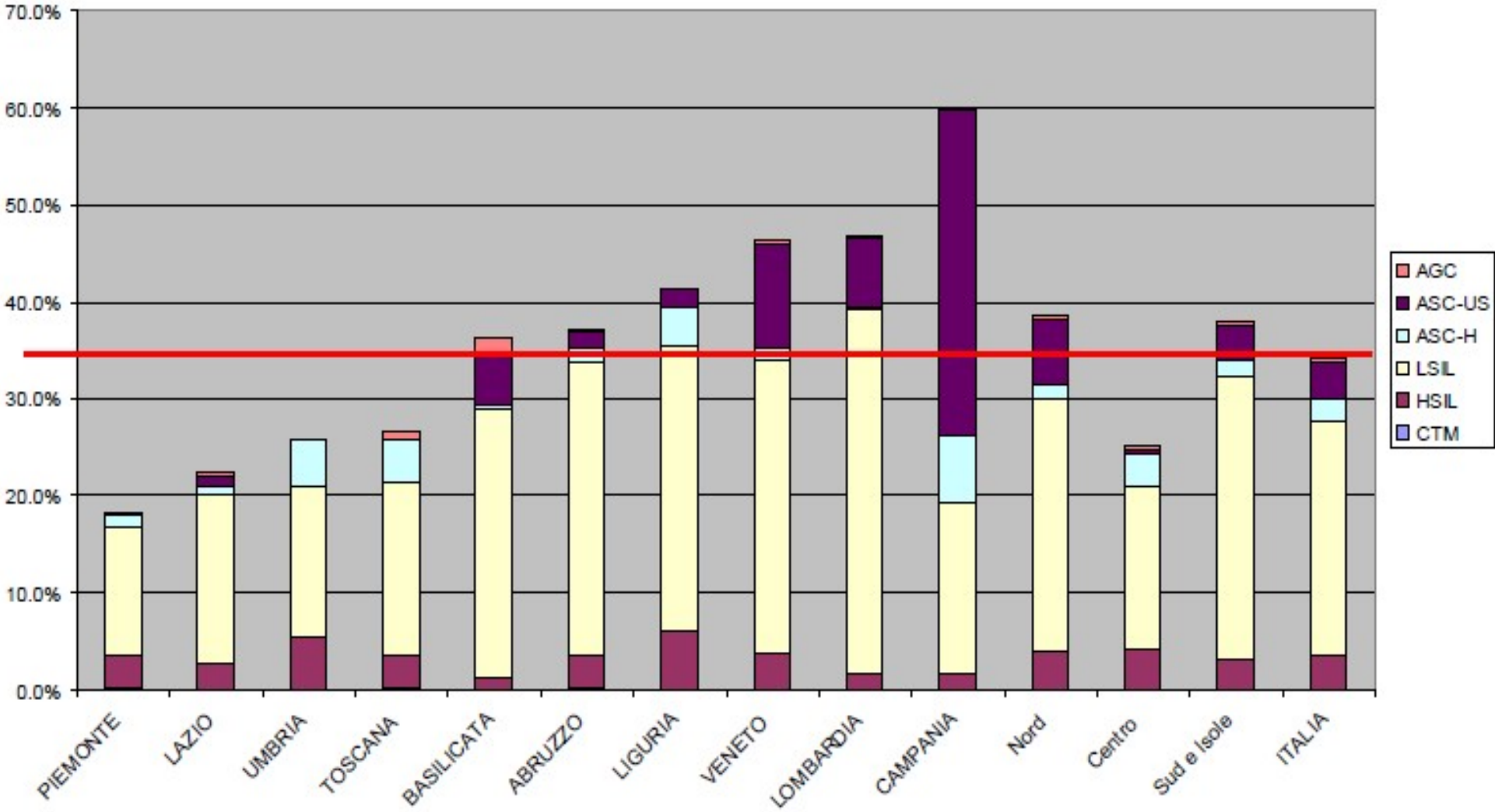
- ▶ non è necessaria una diversa utilizzazione dei criteri morfologici per le altre categorie (HSIL, ASC-H, AGC)
- ✿ casuali reperti di AGC di origine endometriale (non legati all'infezione da HPV-hr)

Esperienze italiane: distribuzione diagnosi

Regione	ASCUS	LSIL	HSIL	ASC-H	AGC
ABRUZZO 2010	0.18%	81.66%	15.74%	1.43%	0.98%
ABRUZZO 2011	4.78%	81.98%	10.59%	2.39%	0.26%
VALCAMONICA 2010	31.48%	56.68%	5.92%	4.44%	1.48%
VALCAMONICA 2010	26.9%	54.14%	11.38%	5.86%	1.72%
VENETO	20.1%	61.1%	7.1%	3.5%	1%
MEDIA	16.7%	67.1%	10.1%	3.5%	1.1%
MAX-MIN	0.2 - 31.5%	54.1 - 82%	5.9 - 15.7%	1.4 - 5.8%	0.26 - 1.7%

Matucci, GISCI 2017, dati Survey HPV primario

% di donne con citologia ASCUS+ tra le HPV positive tutte le età donne invitate nel 2014



Controllo di qualità: monitoraggio statistico

Monitoraggio dei casi positivi (= invio al secondo livello)

Distribuzione delle varie categorie diagnostiche

Valore predittivo positivo (VPP) delle diagnosi ASC-US+

Monitoraggio inadeguati

Valutazione Falsi negativi

Controllo di qualità: falsi negativi

Errore di prelievo: mancanza di desquamazione di cellule patognomoniche della lesione o all'inadeguatezza del prelievo

Errore di screening: legato all'errore di attenzione proprio della citologia di screening

Errore di interpretazione

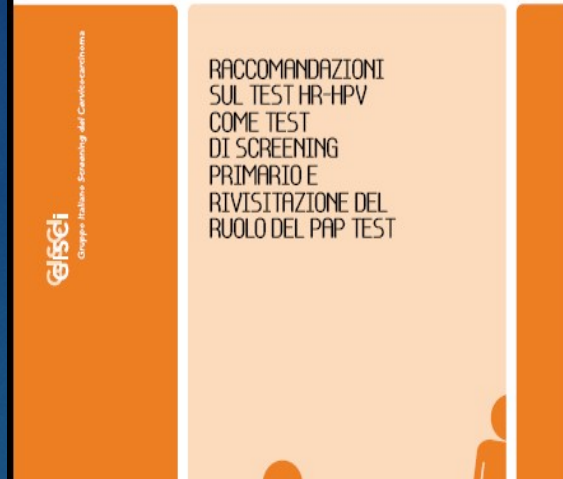


Monitoraggio con:

CdQ retrospettivo: revisione di casi falsi negativi CIN 2+ individuati nei follow-up colposcopici ripetuti dopo un anno per HPV persistente

Aspetti del nuovo contesto: controllo di qualità

Standard accettabile	Standard desiderato
<p>Controllo interno</p> <p>Monitoraggio statistico Predittività classi diagnostiche Peer review Revisione falsi negativi Rescreening rapido negativi</p>	<p>Controllo interno</p> <p>Monitoraggio statistico Predittività classi diagnostiche Peer review Rilettura rapida di tutto il vetrino anche con l'ausilio di sistemi computer-assistiti Revisione falsi negativi</p>
<p>Controllo esterno</p> <p>Peer review</p>	<p>Controllo esterno</p> <p>Peer review Lettura set di immagini digitali/set operativi</p>



In conclusione, citologia di triage:

- ▶ Riportare la specificità dello screening a livelli accettabili
- ▶ Necessità di un modello dicotomico che distingua i casi positivi dai casi negativi
- ▶ Refertazione sec. Sistema Bethesda
- ▶ Non sono necessarie nuove categorie diagnostiche ma una modulazione delle esistenti (ASCUS, LSIL ed INADEGUATI)
- ▶ Necessità di continui controlli inter ed intralaboratorio per garantire qualità del sistema



TEAM CITOLOGICO ANATOMIA PATOLOGICA SPEDALI CIVILI

Tecnici citolettori

Barbara Bergamaschi

Massimo Bonardi

Daniela Botticini

Stefania Ferrari

Chiara Franceschelli

Maura Gattamelata

Arianna Pedretti

Irene Scarabelli

Emanuela Serina

Anna Maria Tonoli

Dott.ssa Adriana Cornacchiari

Dott. Calogero Manera

Dott. Andrea Tironi

Dott.ssa Carla Baronchelli

Prof. Fabio Facchetti