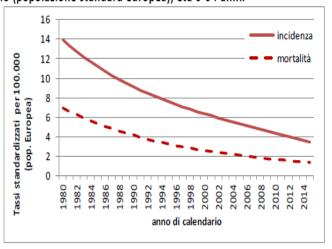
HPV test, pap convenzionale e in fase liquida

S.Pasini Citologo libero-professionista



Pap Test

Figura 1: stime di incidenza e mortalità per tumore della cervice uterina in Italia. Tassi standardizzati per 100.000 persone/anno (popolazione standard europea), età 0-94 anni.



Il pap test prende il suo nome dal medico greco-americano **Georgos Papanicolau** (1883-1962), che ideò questo test per la diagnosi precoce dei tumori del collo dell'utero.

Il pap test è il test di screening, la cui funzione principale è quella di individuare nella popolazione femminile donne a rischio di sviluppare un Cancro del collo dell'utero

Dopo l'introduzione del pap test, a partire dagli anni '50 il tumore del collo dell'utero è diminuito del 75% ed anche attualmente l'incidenza e la mortalità continuano a mostrare una tendenza alla riduzione nel corso del tempo.

Pap test in fase liquida

La citologia in fase liquida (LBC) è stata introdotta a metà degli anni Novanta

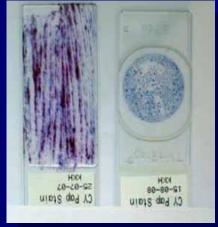
Sono state utilizzate numerose e differenti tecniche di LBC: ThinPrep® e Surepath®

- Il Thin Prep Pap Test è stato approvato dalla Food and Drug Administration (FDA) nel 1996
- Sistema Bethesda 2001
- Documento sull'applicazione di nuovi sistemi automatici nella fase preanalitica e di lettura della citologia cervico-vaginale SiCi 2002

Pap test convenzionale e in fase liquida







Citologia in fase liquida

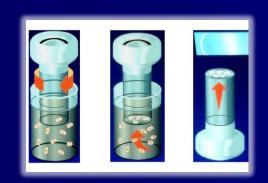
(Health Technology Assessment Report, e&p Sett-Ott 2012)

Sistema Thin Prep

Fase di dispersione che separa sangue, muco e detriti non diagnostici e miscela il campione

Fase di aspirazione che raccoglie le cellule sulla superficie esterna della membrana

Fase di deposizione che consente il trasferimento delle cellule dal filtro al vetrino



Strato di cellule uniforme in una ben definita area circolare del diametro di 20 mm

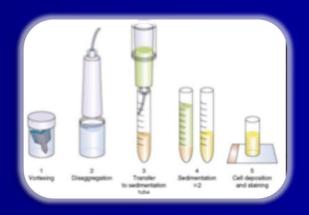


Sistema Surepath

Fase di pre-processamento con miscelazione campione e trasferimento in provetta con specifico reagente

Fase di centrifugazione con separazione del pellet dal supernantante

Fase di sedimentazione delle cellule sulla superficie del vetrino



Strato di cellule circolare, uniforme del diametro di 13 mm



LBC vs CC

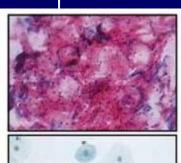
- Inadeguati
- Sensibilità
- Dettagli morfologici
- Tempo di lettura
- Test molecolari aggiuntivi
- Lettura automatizzata

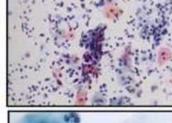
Pap test inadeguati LBC vs CC

Riduzione significativa di campioni inadeguati soprattutto per scarsa cellularità, flogosi e sangue.

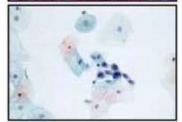
Secondo la meta-analisi prodotta da Ayrbin il rapporto di inadeguati fra LBC e Citologia convenzionale è 0.70 (95% CI 0.39-1.27).

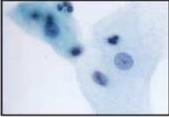
Pap test inadeguati LBC vs CC





Esempio cellule in un Pap test convenzionale.





Esempio cellule in un vetrino di citologia in fase liquida.



ATTENZIONE: I lubrificanti contenenti carbomeri o polimeri carbopol hanno un marcato impatto negativo sulla cellularità di alcuni tipi di preparati in fase liquida

Pap test inadeguati

Cytojournal. 2016 Jun 10;13:14. doi: 10.4103/1742-6413.183831. eCollection 2016.

Unsatisfactory rate in liquid-based cervical samples as compared to conventional smears: A study from tertiary care hospital..

CONCLUSION: There was a significant reduction of U/S rate in LBC samples as compared to CPS samples, and the difference was statistically significant. The main cause of U/S samples in LBC was low cellularity indicating a technical fault in sample collection. The main cause of U/S ratein CPS was low cellularity followed by low cellularity with excess blood.

Sensibilità

Sensibilità — capacità di un test di individuare in una popolazione di riferimento i soggetti malati.

Pap test convenzionale ha una sensibilità variabile del 50-60%

(SPECIFICITA' elevata > 90%)

Sensibilità

Falsi negativi

La percentuale di falsi negativi ha valori molto diversi nei vari studi

dal 10 al 50%

e determina la sensibilità del test

Sensibilità

Generalmente in letteratura viene considerato falso negativo un Pap test negativo di una donna che riceve una diagnosi istologica di CIN2 o più nei successivi 3 anni

CAUSE DEI FALSI NEGATIVI IN CITOLOGIA

Assenza di cellule atipiche nello striscio in presenza di una lesione

- variabilità biologica della lesione
- errore di prelievo
- errore nella fase di allestimento

Presenza di cellule atipiche nello striscio, ma non rilevate

- di screening
- di interpretazione

Alcuni lavori della letteratura dimostrano che nell'80% dei casi di falsi negativi la causa sarebbe legata al prelievo e nel 20% alla lettura

Sensibilità LBC vs convenzionale

Studi di meta-analisi di LBC dimostrano una sensibilità e specificità della metodica per lo meno **comparabili** a quelle della citologia convenzionale.

Nella LBC un più rappresentativo trasferimento delle cellule dallo strumento di prelievo al vetrino, una maggior evidenza dei dettagli cellulari, una riduzione del numero di strisci insoddisfacenti determina indirettamente un aumento della sensibilità

Sensibilità LBC vs convenzionale

<u>Cytopathology.</u> 2013 Aug;24(4):254-63. doi: 10.1111/cyt.12037. Epub 2013 Jan 20. Is a liquid-based cytology more sensitive than a conventional Pap smear?

BACKGROUND:

The comparative sensitivity of liquid-based cytology (LBC) test and conventional Papanicolaou (Pap) smears is controversial..

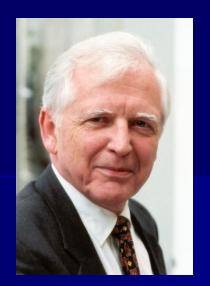
CONCLUSIONS: The study results support the view that LBC is no more sensitive than Pap smears for the detection of HSIL+ and CIN2+ irrespective of age. LBC decreased the rate of inadequate smears, but increased the rate of low-grade cytology under the age of 40 years and decreased the total rate of abnormal smears over the age of 40 years

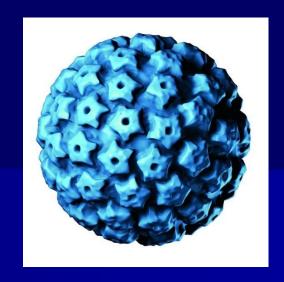
Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(18):8491-4.

Comparison of Unsatisfactory Rates and Detection of Abnormal Cervical Cytology Between Conventional Papanicolaou Smear and Liquid-Based Cytology (Sure Path®).

CONCLUSIONS: There was no difference in unsatisfactory rates between the conventional smear and LBC. However, LBC could detect low grade squamous cell abnormalities more than CC, while there were similar rates of detection of high grade squamous cell lesions and glandular cell abnormalities

HPV

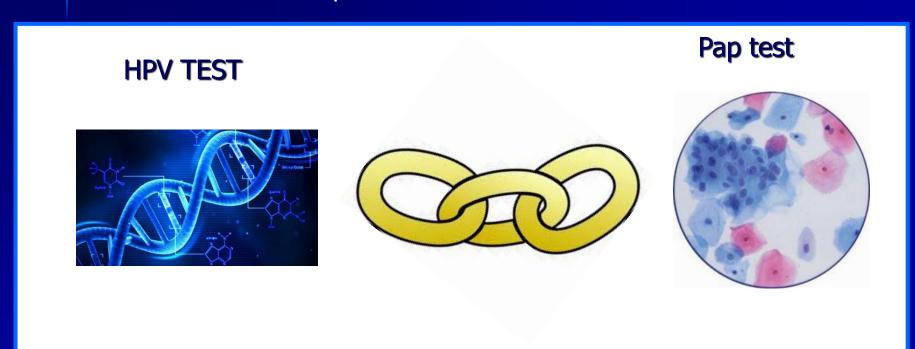




- Nel 1977 Zur Hausen propose il concetto di oncogenesi virale indicando il ruolo dell'infezione da parte dello Human Papilloma Virus (HPV) nello sviluppo del carcinoma a cellule squamose della cervice uterina.
- Il carcinoma cervicale è la prima neoplasia a essere riconosciuta dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) come totalmente riconducibile ad un'infezione.

Test molecolari aggiuntivi TEST HPV

Nel caso di prelievi in fase liquida è possibile eseguire HPV test sullo stesso campione



HPV TEST E PAP TEST SONO STRETTAMENTE CORRELATI



Le 100 DOMANDE SUILL'HPV

Virus HPV: informazioni per gli operatori

2.2 Perché si fa il test (HPV)? Il test HPV si fa per individuare la presenza del virus HPV.

Nella prevenzione del cervico-carcinoma la ricerca è limitata ai tipi virali oncogeni

In una minoranza di casi l'infezione persistente da HPV porta a sviluppare un tumore.

"conseguenza rara di un'infezione comune"

HPV TEST

Alcuni test danno un risultato di **presenza o assenza di HPV ad alto rischio** oncogeno (*vedi 1.1*) e sono quelli usati nel contesto di **programmi di screening** dove è sufficiente definire se sono presenti tipi di HPV ad alto rischio.

Con altri test possiamo invece ottenere la **precisa individuazione del tipo di HPV presente (tipizzazione).** Queste informazioni
ulteriori non sono però utili per lo screening e dunque al momento
non sono utilizzati nei programmi di screening.

Infine, alcuni test permettono una parziale genotipizzazione distinguendo solo l'HPV 16 e l'HPV 18 dagli altri tipi ad alto rischio oncogeno. Al momento queste informazioni non sono utilizzate per la gestione della donna nei programmi di screening.

Quando si usa il test HPV?

come test di screening primario, al posto del Pap-test

come **test di** *triage* delle diagnosi citologiche "borderline" (ASC-US)

come **test di follow-up** delle donne che hanno **effettuato un trattamento** per lesioni pretumorali della cervice uterina

come test di follow-up di donne con HPV e/o Pap-test positivi e approfondimenti di secondo livello negativo

Nel settore privato c'è una pressione crescente verso l'utilizzo del test HPV

L'ONS ha dato mandato al GISCi di predisporre un aggiornamento periodico dei "Test HPV validati per lo screening" (documento di riferimento: Rapporto HTA HPV del 2012)



Gruppo Italiano Screening del Cervicocarcinoma

TEST HPV VALIDATI PER LO SCREENING DEL CARCINOMA DELLA CERVICE UTERINA

- Documento di presentazione
 - o attività e modalità di lavoro
- Rapporto di aggiornamento N. 1, versione 1.1

Revisione 23/05/2016:

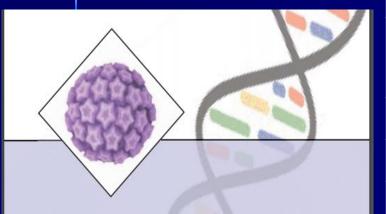
- · modificati i riferimenti ai sistemi di prelievo
- il presente documento sostituisce il precedente

HPV test primario

Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA test (HC2)	Qiagen, USA	Ibridizzazione con amplificazione del segnale	STM, ThinPrep, SurePath
GP5+/6+ PCR-EIA (GP5+/6+ EIA)	Diassay, Olanda	PCR	PBS
RealTime High Risk HPV test (Abbott RT hrHPV test)	Abbott, Germania	Real-time PCR	ThinPrep, SurePath, Abbott Cervi-Collect
Cobas 4800 HPV test (Cobas 4800)	Roche, USA	Real-time PCR	Cobas collection medium, ThinPrep, SurePath
PapilloCheck HPV- screening test (PapilloCheck)	Greiner Bio-One, Germania	Tecnologia PCR – chip	PapilloCheck collection medium, ThinPrep, SurePath
Cervista HPV HR test (Cervista)	Hologic, USA	Tecnologia invader	ThinPrep
BD Onclarity HPV assay (BD Onclarity)	BD Diagnostics, USA	Real-time PCR	SurePath, ThinPrep, BD Onclarity collection medium

Appendice 2: schede dei programmi di screening cervicale rispondenti.

(Dati aggiornati a febbraio 2015)



L'implementazione del DNA-HPV come test primario nei programmi italiani di screening del cervicocarcinoma

Indicazioni dai risultati del Progetto MIDDIR

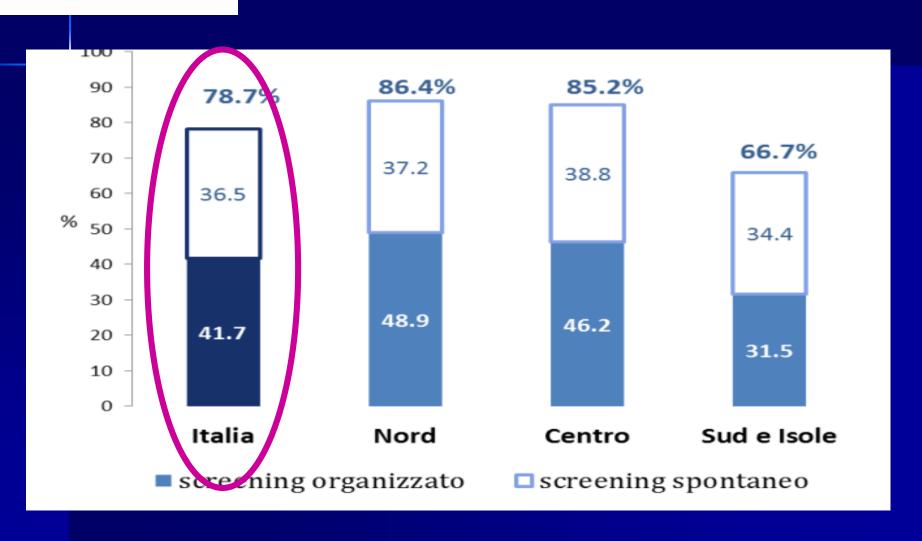
Methods for Investments/Disinvestments and Distribution of health technologies in Italian Regions

Regione	Test HPV	Pap Test
Basilicata	HC2 (35-64)	CC
Emilia	Cobas	LBC
Romagna	(<mark>30</mark> -64)	
Lazio	?	LBC e CC
Liguria	?	LBC e CC
Piemonte	?	LBC e CC
Toscana	HC2 (34-64)	LBC e CC
Trento	?	LBC
Umbria	Cobas	LBC
	(<mark>35</mark> -64)	
Veneto	Cobas	LBC
	(<mark>30</mark> -64)	



Copertura dello screening della cervice uterina (spontaneo e organizzato) negli ultimi 3 anni.

Donne 25-64enni. PASSI 2011-2014 (n= 61112)



Grazie per l'attenzione