



**Regione del Veneto**  
**Istituto Oncologico Veneto**  
**Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico**



## **Gruppo Regionale Patologi**

# **PROTOCOLLO PER LO SCREENING CITOLOGICO DEL CERVICOCARCINOMA**

---

**Padova, ottobre 2009**

---



INDICE

Introduzione

Parte Prima: **CITOLOGIA**

- A. Indicazioni al prelievo citologico cervico-vaginale
- B. Modalità di esecuzione del prelievo citologico cervico-vaginale e dell'allestimento del Pap test
  - o Il prelievo citologico cervico-vaginale
  - o L'allestimento del Pap test convenzionale
  - o L'allestimento del Pap test su "strato sottile"
  - o Il prelievo cervico-vaginale per il test molecolare
- C. Scheda di identificazione e dati anamnestici
- D. Accettazione – Refertazione – Archiviazione
- E. Quadri citologici: criteri morfologici
- F. Procedure di assicurazione della qualità

Parte Prima - Allegato 1: Lettura computer-assistita del Pap test

Parte Seconda: **ISTOLOGIA**

Introduzione

- A. Modalità di prelievo e campionamento del materiale biotico-operatorio cervicale
- B. Diagnosi istologica con valutazione dei parametri stadiativi

Parte Seconda - Allegato 1: Classificazione Istologica dei tumori della cervice uterina

Parte Seconda - Allegato 2: Guida per la diagnosi istologica delle principali lesioni cervicali

Parte Seconda - Allegato 3: Protocollo di stadiazione dei carcinomi infiltranti della cervice uterina



**Regione del Veneto  
Istituto Oncologico Veneto - IRCCS  
Registro Tumori del Veneto**

**Gruppo Regionale Patologi**

**Protocollo per lo Screening Citologico del Cervicocarcinoma**

**Padova, Ottobre 2009**

**PRESENTAZIONE**

In vista dell'accreditamento dello screening del cervico-carcinoma nel Veneto, i Patologi di questa Regione hanno affidato ad un gruppo di Colleghi, che da anni operano attivamente nel settore dello screening del cervico-carcinoma, il compito di raccogliere le linee guida utili a standardizzare le varie fasi del processo produttivo di pertinenza anatomo-patologica per l'allestimento e la diagnosi sia del Pap test sia del materiale istologico (biopsie e pezzi operatori) nell'ambito dello screening del cervico-carcinoma, così come esse risultano dai documenti attualmente presenti nella Letteratura.

Si tratta della prima revisione delle linee guida presentate nel dicembre 2006, curate dai Dottori Duilio Della Libera, Renzo Giordano, Daria Minucci e Antonella Pinarello, con il coordinamento del Dr. Enzo Venza. Questa revisione si è resa necessaria a seguito di cambiamenti metodologici occorsi in questi ultimi anni. Le linee guida rimangono distinte in due parti, la prima dedicata al primo livello diagnostico, quello citologico, la seconda alla diagnosi istologica. Siamo ben consci che per il successo dello screening del cervicocarcinoma non si può prescindere da un terzo indispensabile capitolo, quello cioè del trattamento e del corretto follow-up delle lesioni cervicali significative individuate con l'esame citologico e con l'esame istologico. Tutto ciò non è però responsabilità dei soli Patologi e costituirà pertanto un importante lavoro comune con i Colleghi Ginecologi-Colposcopisti.

Un sincero ringraziamento va agli amici del Registro Tumori del Veneto che con tanto entusiasmo hanno voluto supportare questo lavoro.

**Il Coordinatore  
Dott. Romano Colombari**

**Componenti del gruppo di lavoro Patologi del cervico-carcinoma nel Veneto**

Dott.ssa Loredana Bozzola  
Dott. Enzo Bianchini  
Dott.ssa Concetta Chiarelli  
Dott. Romano Colombari  
Dott. Duilio Della Libera  
Dott.ssa Licia Laurino  
Dott.ssa Lorella Marchioro  
Dott.ssa Antonella Pinarello



**PARTE PRIMA**

**CITOLOGIA**

## A - INDICAZIONI AL PRELIEVO CITOLOGICO CERVICO-VAGINALE

In questa sezione sono riassunte le indicazioni al prelievo citologico cervico-vaginale del Documento operativo Gisci "Indicazioni per il prelievo citologico nello screening per il carcinoma cervicale" approvato al Convegno Nazionale Gisci 2006 (ultimo aggiornamento: settembre 2008) reperibile nel sito [www.gisci.it](http://www.gisci.it).

Al fine di favorire l'ottimale interpretazione del Pap test:

- Il prelievo va effettuato preferenzialmente nella prima metà del ciclo, comunque in assenza di perdite ematiche ed a distanza di almeno tre giorni dalla fine delle mestruazioni, dall'uso di ovuli, creme o lavande vaginali e ad almeno due giorni di distanza dai rapporti sessuali anche se protetti.
- Il prelievo può essere eseguito anche durante la gravidanza (entro l'ottavo mese), l'allattamento e nel puerperio dopo 3 mesi dal parto, purché il dato sia segnalato sulla scheda anamnestica. Non devono essere effettuate visite ginecologiche o ecografie trans-vaginali nei due giorni precedenti l'esecuzione del prelievo.
- Il prelievo non deve essere effettuato in presenza di terapie con farmaci a somministrazione intravaginale.
- Il Pap test non dovrebbe essere effettuato in presenza di perdita ematica.
- Nel caso di perdita ematica intermestruale o in post menopausa dare il consiglio motivato di fare una visita ginecologica fornendo ogni supporto possibile, onde evitare che una patologia importante non venga diagnosticata.
- Se la donna presenta leucorrea intensa, tale da impedire all'esame speculare la completa visione del collo uterino, non effettuare il Pap test e consigliare visita ginecologica per opportuna diagnosi e terapia.
- L'uso di contraccettivi deve essere segnalato sulla scheda anamnestica; nel caso la donna utilizzi l'anello contraccettivo va segnalato sulla scheda. Non è necessario che il dispositivo venga rimosso.
- Non esistono controindicazioni all'effettuazione del Pap test in caso di assunzione di farmaci per via orale o per via intramuscolare e neanche nel caso di pazienti sottoposte a chemioterapia. Se la chemioterapia è in corso o è recente va segnalato sulla scheda anamnestica.
- Nelle donne che siano state sottoposte a isterectomia totale per patologie benigne, documentate da referto anatomopatologico, il Pap test è inutile.
- In caso di isterectomia subtotale, o di mancanza di documentazione clinica, il Pap test va eseguito.

## B - MODALITA' DI ESECUZIONE DEL PRELIEVO CITOLOGICO CERVICO-VAGINALE E DELL'ALLESTIMENTO DEL PAP TEST

Vengono qui di seguito riportate in modo pressoché integrale le modalità per l'esecuzione del prelievo citologico cervico-vaginale del Documento operativo Gisci "Indicazioni per il prelievo citologico nello screening per il carcinoma cervicale" approvato al Convegno Nazionale Gisci 2006 (ultimo aggiornamento: settembre 2008) reperibile in originale nel sito [www.gisci.it](http://www.gisci.it). Nel documento originale è possibile reperire i riscontri bibliografici di riferimento.

### 1. IL PRELIEVO CITOLOGICO CERVICO-VAGINALE

- Procedere all'identificazione del vetrino come da consuetudine del Centro di Screening, apponendo sulla parte smerigliata del vetrino la numerazione progressiva e/o i dati anagrafici (nome, cognome e data di nascita della donna facendo uso di una matita o di una penna vetrografica: infatti l'inchiostro, a contatto con il fissativo o con l'alcool della colorazione, si scioglie (Figura 1).

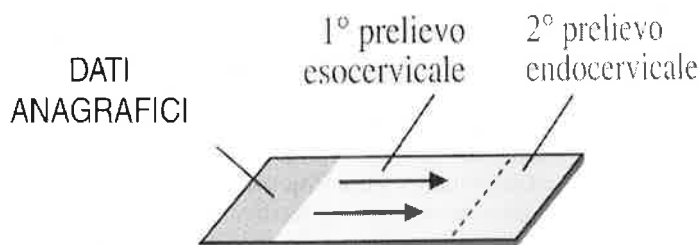


Figura 1: Il Vetrino

- Per facilitare l'introduzione dello speculum utilizzare l'acqua. E' sconsigliato l'uso del lubrificante perché, specialmente se usato in eccesso, può contaminare e alterare il preparato.
- In caso di abbondante muco o essudato sulla cervice, detergere delicatamente con un tampone di garza, eventualmente bagnato con soluzione fisiologica, per garantire che il prelievo sia effettuato direttamente sull'epitelio. La manovra eviterà che il preparato contenga solo muco o cellule degenerate in quanto staccate dall'epitelio già da tempo.
- Nel caso si sospetti una vaginite per la presenza di un essudato molto abbondante o in caso di perdita ematica è consigliabile rimandare il prelievo, spiegando che va eseguito dopo opportuna terapia.
- Effettuare in sequenza un prelievo esocervicale ed uno endocervicale.
- Il prelievo esocervicale viene effettuato per primo per evitare che venga contaminato dal sanguinamento che può seguire il prelievo endocervicale (Figura 2).

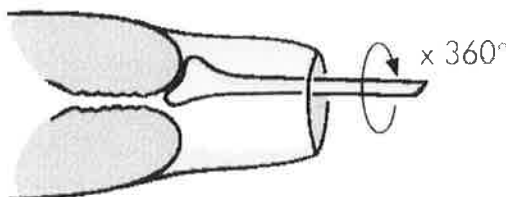


Figura 2 : Prelievo esocervicale

- Per il prelievo dall'esocervice utilizzare la spatola di Ayre (Figura 3), inserendo la parte più allungata all'inizio dell'orifizio cervicale e ruotando la spatola in senso orario per 360 gradi (Figura 5).

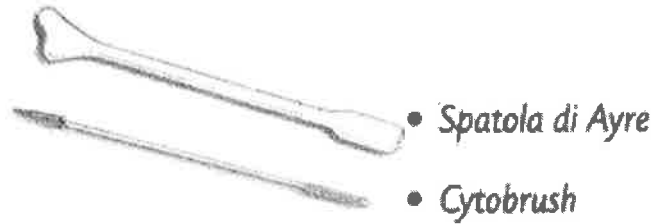


Figura 3: Spatola di Ayre e Cytobrush

- Per il prelievo endocervicale (Figura 4) utilizzare una spazzolina montata su uno stelo rigido (cytobrush) (Figura 3), che viene inserita nel canale cervicale e ruotata per 180/360° (Figura 4).

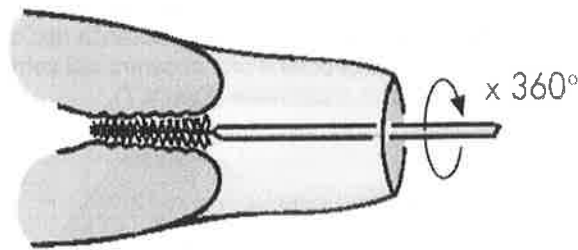


Figura 4: Prelievo endocervicale

**2. L'ALLESTIMENTO DEL PAP TEST CONVENZIONALE**

- Porre il materiale prelevato dall'esocervice e quello prelevato dall'endocervice in zone distinte del vetrino, definite per convenzione, in modo che il lettore sia informato sulla sede da cui proviene il materiale in esame.

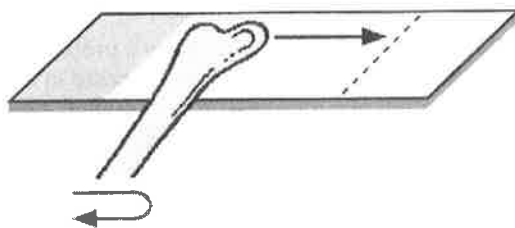


Figura 5: Lo striscio esocervicale



Figura 6: Lo striscio endocervicale

- **Striscio esocervicale:** strisciare entrambi i lati della spatola su una parte del vetrino avendo cura di non sovrapporre il materiale, effettuando una pressione leggera per mantenere l'integrità delle cellule ed evitare processi di degenerazione. Il materiale strisciato deve essere sottile perché la presenza di strati sovrapposti impedisce un'adeguata lettura del preparato (Figura 5).
- **Striscio endocervicale:** il cytobrush va strisciato mediante un movimento rotatorio antiorario (Figura 6).
- **Fissaggio:** fissare immediatamente il preparato per evitare fenomeni di degenerazione cellulare conseguenti all'essiccazione: anche una breve attesa può danneggiare le cellule.
- Nel caso si utilizzi un fissativo sotto forma di spray, il dispositivo deve essere tenuto a distanza di 15/20 cm dal vetrino: infatti se effettuata a minor distanza, la potenza dell'erogazione sposterà le cellule alla periferia e indurrà la formazione di bolle d'aria al centro del vetrino stesso.
- Lasciare il vetrino ad asciugare in posizione orizzontale (Figura 7).

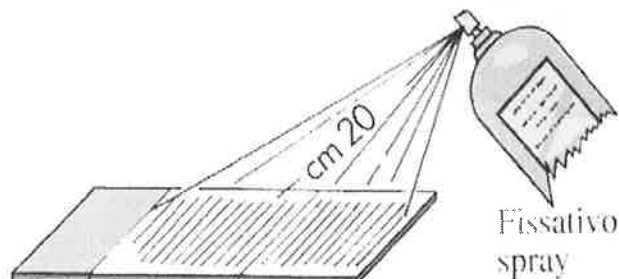
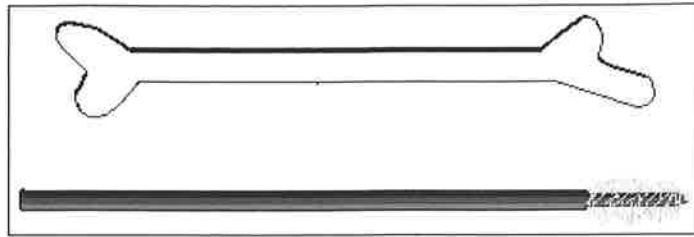


Figura 7 : Fissaggio

### 3. L'ALLESTIMENTO DEL PAP TEST SU "STRATO SOTTILE"

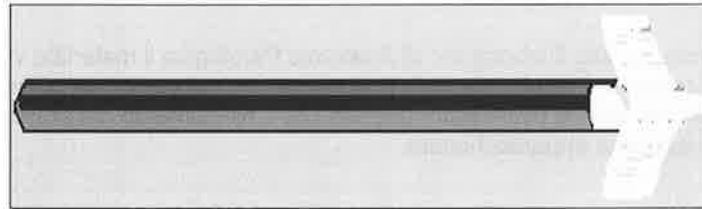
- Il materiale prelevato dall'esocervice e dall'endocervice, viene immerso e rilasciato in liquido di conservazione contenuto in appositi barattoli.
- I barattoli devono essere aperti e identificati prima di iniziare il prelievo.
- Per l'effettuazione del prelievo esocervicale è necessario utilizzare la spatola di Ayre in plastica (non in legno per evitare il rilascio di frammenti che interferiscono in fase di allestimento) che garantisce un rilascio ottimale di cellule nel mezzo di conservazione. Per il prelievo endocervicale si utilizza il cytobrush (Figura 8).



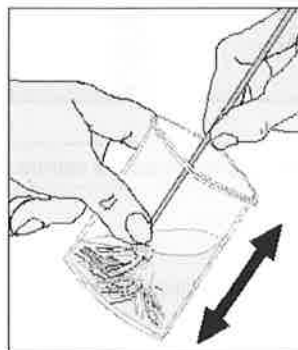


**Figura 8: Spatola di plastica e cytobrush per doppio campionamento**

- Alcuni centri utilizzano uno strumento di prelievo unico a forma di spazzola (Figura 9) che presenta una parte più lunga per il prelievo endocervicale e una parte più corta per quello esocervicale. Lo spazzolino una volta introdotto nel canale cervicale viene fatto ruotare per 360° e successivamente va risciacquato energicamente più volte, premendolo sul fondo e sulle pareti del barattolo (Figura 10).



**Figura 9: Spazzolina per prelievo unico**



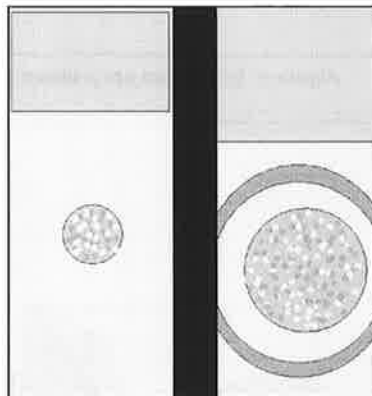
**Figura 10: Spazzolina per prelievo unico e rilascio del materiale nel barattolino**

- In caso di doppio campionamento, per permettere un maggiore rilascio di cellule nel liquido di conservazione, la spatola di Ayre ed il cytobrush una volta immersi nel barattolo vanno sfregati l'uno contro l'altro (Figura 11).



*Figura 11: Spatola di plastica e cytobrush per doppio campionamento*

- Successivamente, presso il laboratorio di Anatomia Patologica il materiale viene depositato in un unico strato di cellule in una piccola zona posta al centro del vetrino per processo di filtrazione (Thin prep) o per sedimentazione (Sure path) (Figura 12). L'allestimento del preparato non è manuale ma viene fatto con apposita apparecchiatura.



*Figura 12: Vetrino per Surepath e vetrino per Thin Prep*

La metodica di allestimento su strato sottile consente, oltre all'esame citologico, anche la ricerca del DNA virale del Papilloma virus (test HPV).



#### 4. IL PRELIEVO CERVICO-VAGINALE PER IL TEST MOLECOLARE

- Esistono sistemi di prelievo per la tipizzazione dell'HPV (mezzo di trasporto standard per la conservazione del DNA virale) che invece non consentono l'esame citologico in contemporanea. In questo caso, per avere la possibilità di effettuare il test molecolare in contemporanea al test citologico, è necessario effettuare un doppio prelievo: quello per il Pap test che sarà allestito con tecnica convenzionale e successivamente quello per il test HPV secondo le modalità concordate con il laboratorio di riferimento.
- In quest'ultimo caso il materiale per la ricerca del DNA virale viene prelevato utilizzando uno spazzolino a forma di cono, che, introdotto per due terzi nel canale cervicale, deve essere ruotato per tre volte in senso antiorario e successivamente immerso nel liquido di conservazione.
- Immergere lo spazzolino nel barattolo e una volta arrivato sul fondo, con una lieve pressione delle dita, spezzare il bastoncino in un punto prestabilito per lasciare la parte terminale dello spazzolino all'interno del barattolo. Subito dopo il prelievo chiudere accuratamente il flacone onde evitare perdite di liquido durante il trasporto.



### C. SCHEDA DI IDENTIFICAZIONE E DATI ANAMNESTICI

Le seguenti raccomandazioni sono state adattate dal Documento operativo Gisci "Indicazioni per il prelievo citologico nello screening per il carcinoma cervicale" approvato al Convegno Nazionale Gisci 2006 (ultimo aggiornamento: settembre 2008) reperibile nel sito [www.gisci.it](http://www.gisci.it).

#### Identificazione della donna

La scheda-paziente va compilata con i dati anagrafici della donna, il codice fiscale e l'indirizzo. Il numero di telefono della donna riportato sulla scheda rappresenta il consenso ad essere contattata per telefono nel caso di richiamo per approfondimenti.

#### Identificazione del vetrino o contenitore per citologia in fase liquida

Al fine di garantire la corrispondenza tra vetrino e la scheda-paziente, il vetrino, oppure il contenitore per citologia in fase liquida, deve giungere in Anatomia Patologica identificato con Nome-Cognome e Data di nascita della donna. Per riportare i dati identificativi va usata una matita o una penna vetrografica (non si possono utilizzare pennarelli perché l'inchiostro a contatto con il fissativo o con l'alcool della colorazione si scioglie).

#### Identificazione del prelevatore

La scheda deve contenere una sigla che identifichi l'operatore che ha effettuato il prelievo al fine di consentire il controllo di qualità del prelievo per prelevatore che ogni centro di screening deve effettuare periodicamente.

### D. ACCETTAZIONE – REFERTAZIONE – ARCHIVIAZIONE

Le operazioni di accettazione, refertazione e archiviazione dei preparati devono essere automatizzate, utilizzando software e classificazione compatibili e interfacciabili con i dati delle anagrafi sanitarie (1).

I preparati non identificabili non vanno processati e quindi non conteggiati tra gli inadeguati.

E' fortemente raccomandata la refertazione citologica secondo il *Sistema Bethesda 2001*.

Per quanto riguarda l'archiviazione dei dati, devono essere garantite procedure che permettano di effettuare valutazioni comparate tra le diagnosi citologiche-istologiche e il calcolo della predittività delle diverse diagnosi citologiche.

I preparati citologici devono essere conservati per almeno 5 anni; i preparati istologici e le relative inclusioni in paraffina devono essere conservati per almeno 20 anni (2). Tale indicazione si riferisce al periodo minimo di conservazione, essendo consentito, agli Enti che lo ritengano necessario, un tempo di conservazione più lungo.

I flaconi contenenti il liquido residuo dopo allestimento dei preparati su strato sottile devono essere conservati, fino a smaltimento, all'interno di armadi ignifughi, rispondenti alla normativa UNI EN 14470-1 (3).

### BIBLIOGRAFIA

1. Dgr. n. 4538 del 28 dicembre 2007 della Regione Veneto "Manuale per l'accreditamento istituzionale dei programmi di screening oncologici".
2. Dgr. n. 3673 del 25 novembre 2008 della Regione Veneto "Manuale per l'accreditamento istituzionale dei laboratori di Anatomia Patologica ed Istocitopatologia", Allegato B "Lista di verifica dei requisiti minimi specifici e di qualità per l'autorizzazione".
3. D.Lgs. 81/08 "Testo Unico sulla sicurezza", art. 46 sulla Prevenzione Incendi e Titolo IX sulle Sostanze Pericolose.



## E - QUADRI CITOLOGICI: CRITERI MORFOLOGICI

In questa sezione sono riassunti i criteri diagnostici descritti in Solomon D, Nayar R, Ed. Il Sistema Bethesda per refertare la citologia cervicale: definizioni, criteri morfologici e note esplicative. Ed italiana a cura di Beccati MD, Rossi S. CIC Ediz. Internaz. 2004.

### VALUTAZIONE MORFOLOGICA - 1

#### ADEGUATEZZA DEL CAMPIONE

I preparati vengono classificati in: Soddisfacenti (Adeguati) e Non Soddisfacenti (Inadeguati) per la valutazione, secondo i criteri del Sistema Bethesda 2001 (TBS 2001).

Il campione è considerato **soddisfacente** quando:

1. paziente e campione sono univocamente identificabili
2. il campione è accompagnato dalle pertinenti notizie cliniche (All. Scheda Informativa Personale)
3. il campione è correttamente strisciato e fissato e colorato
4. l'interpretazione del preparato non è inficiata da fattori oscuranti (flogosi, emazie, citolisi, materiale contaminante, ammassamenti cellulari) per almeno il 25% della componente squamosa dello striscio
5. è presente una adeguata componente squamosa (8000 – 12000 cellule squamose) e della zona di trasformazione.
6. il numero minimo di cellule squamose va stimato facendo riferimento ad immagini standard di campi microscopici con cellularità squamosa nota, valutata a 4X ingr. (All. Immagine di riferimento). È necessario leggere, con obiettivo 4X, un numero di campi microscopici in relazione all'immagine presa come riferimento (8 campi da 1000 cellule - 6 campi da 1400 cellule ecc...).

Il campione allestito in **strato sottile** è soddisfacente quando sono rispettati naturalmente i primi 3 criteri sopracitati. Inoltre: il rispetto del criterio 4 è garantito dalla metodica di allestimento.

Il criterio 5 va aggiustato alle dimensioni, ridotte rispetto al preparato tradizionale, dell'area da esaminare. Il cerchio di mm. 20 di diametro del vetrino dello strato sottile rappresenta circa un quarto dell'area di un vetrino standard da mm. 25x50. Pertanto il criterio di copertura cellulare di più del 10% del Pap test tradizionale con cellule epiteliali squamose ben conservate e ben visualizzate, diventa nel vetrino in strato sottile, più del 40%. Il campione adeguato in strato sottile comprende almeno 5.000 cellule epiteliali squamose ben conservate e ben visualizzate. La stima va fatta su un minimo di 10 campi microscopici, abitualmente a 40X, lungo il diametro maggiore del preparato stimando il numero medio delle cellule dei campi valutati. Nel caso in cui il preparato presenti aree vuote, deve essere stimata la percentuale delle aree ipocellulari ed i campi contati devono rispecchiare tale proporzione. In pratica nei preparati in strato sottile la cellularità è stimata rapidamente ed in modo riproducibile. La metodologia delle immagini di riferimento è di facile apprendimento ed ha migliore riproducibilità inter-osservatore rispetto al criterio della percentuale di copertura del vetrino.

Il campione è considerato **non soddisfacente** (inadeguato) se:

il 75% delle cellule squamose è non interpretabile per la presenza di fattori oscuranti, fatti salvi i criteri minimi di cellularità del preparato.

Per consentire la valutazione della qualità del prelievo gli inadeguati sono suddivisi in: inadeguati di tipo tecnico e inadeguati di tipo non-tecnico.

Gli inadeguati di tipo tecnico comprendono i preparati valutati non soddisfacenti per assenza o scarsità di cellule squamose, per fissazione impropria, per striscio ematico o eccessivamente spesso.

Il tasso accettabile di inadeguati totale (tecnici+non-tecnici) non deve comunque superare il 5% (desiderabile <3%) secondo Linee Guida Europee e Gisci.

Tutti i test inadeguati per motivi tecnici vengono ripetuti subito; quelli per motivi non tecnici, dopo eventuale terapia medica.

Un campione che presenta anomalie citologiche, va comunque valutato anche se nel complesso il preparato viene giudicato inadeguato.

Preparati per i quali non si procede a processazione (campioni non identificabili, vetrino rotto / smarrito ecc..) non vanno conteggiati tra gli inadeguati e si segnala la non conformità.

Nella valutazione dell'adeguatezza del preparato cervico-vaginale importante la ricerca di fattori oscuranti a lettura e/o alterazioni artefattuali o tecniche che interferiscano con la lettura citologica.



Nel caso di fattori oscuranti la lettura (ammassamenti cellulari, citolisi, sangue, flogosi, essiccamento) il preparato va considerato inadeguato qualora l'alterazione interessi globalmente più del 75% della superficie del preparato stesso. Se nonostante la presenza di artefatti, è possibile interpretare come atipiche le cellule presenti, il preparato può essere considerato come interpretabile.

Le alterazioni artefattuali tecniche (essiccamento del preparato, inadeguata o intempestiva fissazione) rendono non interpretabile il preparato alterando l'integrità cellulare, la conservazione nucleare e la struttura cromatinica (riferimento morfologico alla morfologia nucleare della cellula squamosa intermedia).

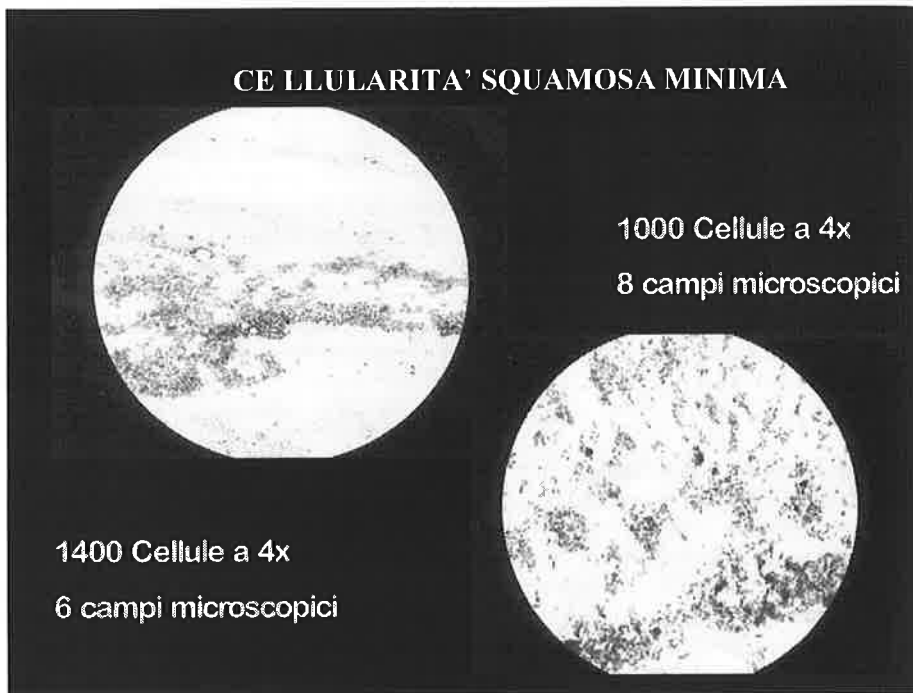


Immagine di riferimento per la valutazione della cellularità squamosa (da: Solomon D, Nayar R, Ed. Il Sistema Bethesda per refertare la citologia cervicale: definizioni, criteri morfologici e note esplicative. Ed italiana a cura di Beccati MD, Rossi S. CIC Ediz. Internaz. 2004).

Tabella 1 - ADEGUATEZZA DEL CAMPIONE		
Soddisfacente per la valutazione (annotare presenza/assenza di componente endocervicale/zona di trasformazione e altri indicatori di qualità, ad es. sangue parzialmente oscurante, infiammazione)	Non soddisfacente per la valutazione (specificare motivo)	
	Preparato rifiutato/ non processato (specificare motivo)	Preparato processato ed esaminato, ma non soddisfacente per la valutazione di anomalità epiteliali a causa di (specificare motivo)

**VALUTAZIONE MORFOLOGICA - 2**

IL PAP TEST NEGATIVO E FLOGISTICO

**PREPARATO NEGATIVO PER LESIONI INTRAEPITELIALI**

- 1) Presenza di organismi
- 2) Alterazioni cellulari reattive associate a flogosi
- 3) Alterazioni cellulari reattive associate a riparazione
- 4) Alterazioni cellulari reattive associate a IUD
- 5) Alterazioni cellulari reattive associate a atrofia
- 6) Alterazioni cellulari reattive post terapia radiante
- 7) Cellule ghiandolari in post isterectomia
- 8) Cellule endometriali in donne di età > 40 anni

**ALTERAZIONI FLOGISTICHE GENERALI DELLE CELLULE SQUAMOSE****ALTERAZIONI CITOPLASMATICHE**

- 1) Vacuolizzazione
- 2) Citolisi
- 3) Alone perinucleare
- 4) Alterazioni della colorazione/pseudoeosinofilia

**ALTERAZIONI NUCLEARI**

- 1) Ingrandimento nucleare, anisonucleosi, anisocariosi
- 2) Multinucleazione
- 3) Increspatura della membrana nucleare con addossamento della cromatina lungo il bordo nucleare e scolorimento dell'area centrale
- 4) Picnosi, cariolisi, carioressi

**ALTERAZIONI FLOGISTICHE SPECIFICHE DELLE CELLULE SQUAMOSE****INFEZIONE DA TRICHOMONAS**

- 1) Identificazione del parassita
- 2) Reazione infiammatoria evidente
- 3) Ammassi di PMN attorno al parassita
- 4) Nuclei aumentati di volume e ipercromatici
- 5) Alone perinucleare
- 6) Orangiofilia delle cellule basali e intermedie

**INFEZIONE DA CANDIDA**

- 1) Identificazione del parassita (spore/ife)
- 2) Reazione infiammatoria evidente
- 3) Ammassi di PMN attorno al parassita
- 4) Nuclei aumentati di volume e ipercromatici

**VAGINOSI BATTERICA**

- 1) Reazione infiammatoria evidente
- 2) Fondo nebuloso
- 3) Ammassi cellulari di cellule squamose e di PMN
- 4) Nuclei aumentati di volume e ipercromatici

**INFEZIONE DA HSV (Herpes Simplex Virus)**

- 1) Nuclei a vetro smerigliato
- 2) Inclusioni nucleari eosinofile
- 3) Grandi celle multinucleate/sincizi

**INFEZIONE DA ACTINOMICES**

- 1) Grovigli di microrganismi filamentosi
- 2) Granuli sulfurei
- 3) Reazione infiammatoria



**ALTERAZIONI CELLULARI REATTIVE BENIGNE/METAPLASIA PAVIMENTOSA**

- 1) Ingrandimento nucleare
- 2) Alone perinucleare/Pseudocoilocitosi
- 3) Fondo flogistico
- 4) Assenti microrganismi
- 5) Reperto spot

**ALTERAZIONI CELLULARI REATTIVE BENIGNE/RIPARAZIONE TIPICA**

- 1) Ingrandimento nucleare
- 2) Nucleoli
- 3) Lembi monostratificati con nuclei orientati
- 4) Assenti cellule isolate con grossolane alterazioni nucleari

**ATROFIA CON FLOGOSI**

- 1) Ingrandimento nucleare senza ipercromia
- 1) Autolisi
- 2) Presenza di cellule parabasali degenerate
- 3) Essudato infiammatorio basofilo/blue blobs

**ALTERAZIONI POST RADIOTERAPIA/CHEMIOTERAPIA**

- 1) Ingrandimento cellulare con normale rapporto N/C
- 2) Ingrandimento nucleare con anisonucleosi/anisocariosi
- 3) Vacuolizzazione
- 4) Aspetti riparativi associati

**ALTERAZIONI DA IUD**

- 1) Cellule ghiandolari in gruppi
- 2) Nuclei ingranditi con anisonucleosi/anisocariosi
- 3) Aspetti di degenerazione nucleare

**PARACHERATOSI TIPICA**

- 1) Cellule squamose in miniatura con citoplasma orangiofilo o intensamente eosinofilo
- 2) Nuclei di aspetto normale

**PARACHERATOSI ATIPICA**

- 1) Cellule squamose in miniatura con citoplasma orangiofilo o intensamente eosinofilo
- 2) Nuclei ingranditi, ipercromatici, irregolari.

Tabella 2 - NEGATIVO PER LESIONI INTRAEPITELIALI O MALIGNITÀ'		
<p><u>Organismi:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Trichomonas vaginalis</li> <li>• Funghi del tipo Candida</li> <li>• Variazione della flora suggestiva di vaginosi batterica</li> <li>• Batteri morfologicamente del tipo Actinomyces</li> <li>• Modificazioni cellulari suggestive di Herpes Simplex Virus</li> </ul>	<p><u>Altri reperti non-neoplastici:</u> alterazioni cellulari reattive associate con:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Infiammazione (compreso riparazione atipica)</li> <li>• Radiazione</li> <li>• IUD</li> <li>• Cellule ghiandolari in post-isterectomia</li> <li>• atrofia</li> </ul>	<p><u>Altro:</u> cellule endometriali (in donne di 40 anni o &gt; (specificare se negativo per lesione squamosa)</p>





### VALUTAZIONE MORFOLOGICA - 3

#### A - ATIPIE CITOLOGICHE DELLE CELLULE SQUAMOSE

CELLULE SQUAMOSE ATIPICHE (ASC): di significato indeterminato (ASC-US)  
non è possibile escludere HSIL (ASC-H)

Presenza di alterazioni citologiche suggestive per lesione intraepiteliale squamosa, qualitativamente o quantitativamente insufficienti per una definitiva interpretazione.

Tre aspetti essenziali:

- Differenziazione squamosa
- Aumento rapporto nucleo/citoplasma (N\C)
- Minima ipercromasia e rare multinucleazioni

#### CRITERI DIAGNOSTICI ASC-US

- Diametro del nucleo maggiore 2,5 - 3 volte rispetto al nucleo di una cellula squamosa intermedia
- Rapporto N\C lievemente aumentato
- Minima ipercromasia nucleare, minima irregolarità della distribuzione della cromatina
- Minima irregolarità della forma del nucleo, rare inucleazioni
- Anomalie nucleari associate a citoplasma denso e orangiofilo (paracheratosi atipica).

Vari tipi di ASC-US:

- su cellule metaplastiche
- In paracheratosi atipica (cellule paracheratosiche con nuclei allargati ed irregolare
- membrana nucleare)
- In atrofia (cellule immature in ammassi; Aloni perinucleari; cellule paracheratosiche con nuclei picnotici)

N.B. Il 3,5% degli ASC-US nasconde lesioni di alto grado

#### CRITERI DIAGNOSTICI ASC – H

- Cellule piccole con alto rapporto N\C metaplasia atipica immatura.
- Cellule isolate, scoese, allineate o in piccoli gruppi
- Dimensione di una cellula metaplastica con nuclei più grandi del normale di una volta e mezzo o due volte e mezzo
- Nuclei lievemente ipercromici con contorni lisci, talora un pò irregolari e polimorfi

N.B. Il 17% degli ASC-H nasconde lesioni di alto grado

#### LESIONE SQUAMOSA INTRAEPITELIALE A BASSO GRADO (L – SIL)

##### CRITERI DIAGNOSTICI:

- Cellule "mature" isolate o in lamine
- I nuclei hanno diametro tre volte maggiore a quello di una cellula intermedia
- Rapporto N/C lievemente aumentato
- Ipercromasia nucleare variabile, con cromatina spesso uniformemente a fini granuli
- Variazione di dimensione, forma e numero dei nuclei
- Spesso binucleazione e multinucleazione
- Nucleoli assenti (o se presenti, non cospicui)
- Membrana nucleare lievemente irregolare (può essere liscia)
- Citoplasma con contorni netti, con alone chiaro perinucleare e anello periferico di citoplasma addensato e intensamente colorato (coilocitosi) questo aspetto può mancare e il citoplasma essere compatto ed orangiofilo (L-SIL senza effetto citopatico virale)

In assenza di alterazioni nucleari, le modificazioni citoplasmatiche non sono parametri sufficienti per la definizione di L-SIL (definirlo ASC-US).



## LESIONE SQUAMOSA INTRAEPITELIALE DI ALTO GRADO (H – SIL)

### CRITERI DIAGNOSTICI:

- Cellule più piccole e meno "mature" del L-SIL, tipo cellula basale
- Cellule singole, in lamine o aggregati simil sinciziali
- I nuclei sono ipercromici, polimorfi con rapporto N\C elevato
- La cromatina finemente o grossolanamente granulare, distribuita omogeneamente
- Membrana nucleare irregolare e con incisure
- Nucleoli assenti (possono essere presenti se l'H-SIL si estende alle ghiandole endocervicali)
- Il citoplasma può essere delicato e (merletto), metaplastico compatto, talora cheratinizzato (H-SIL cheratinizzante)

## LESIONE SQUAMOSA INTRAEPITELIALE ESTESA ALLE GHIANDOLE

Quando H-SIL si estende alle ghiandole endocervicali si osservano dei lembi di cellule che possono far sorgere il dubbio sull'origine squamosa o ghiandolare. L'aggregato di natura squamosa presenta: Cellule interne fusate e a vortice; Cellule periferiche appiattite (raramente a palizzata); Contorno del gruppo liscio-rottondeggiante; Talora necrosi (diatesi); Talora micronucleoli; Presenza di cellule squamose displastiche sul fondo.

Può coesistere con l' AIS

N.B. Aspetti che possono sfuggire : Rare e piccole cellule H-SIL (può definito ASC-H); Cellule HSIL in filiera in un contesto di muco (possono simulare istiociti, cellule endocervicali in regressione, cellule endometriali)

## CARCINOMA SQUAMOSO INVASIVO

### CHERATINIZZANTE

CRITERI DIAGNOSTICI: Relativamente poche cellule cheratinizzate, con marcata anisocitosi, più spesso isolate ma talora in aggregati irregolari. Marcata variabilità della dimensione dei nuclei con cromatina in cromocentri grossolani e talora evidenti macronucleoli. Diatesi tumorale sullo sfondo

### NON CHERATINIZZANTE

CRITERI DIAGNOSTICI: Cellule polimorfe isolate o in aggregati simil sinciziali a bordi mal definiti e con citoplasma basofilo. Nuclei ipercromici con cromocentri grossolani e macronucleoli prominenti. Diatesi tumorale sullo sfondo

N.B: spesso aspetti cheratinizzanti e non cheratinizzanti coesistono nello stesso vetrino.



## B - ATIPIE CITOLOGICHE DELLE CELLULE GHIANDOLARI

### CELLULE GHIANDOLARI ATIPIICHE (AGC)

Le AGC sono una entità che sottende un aumentato rischio per lesioni di alto grado, anche di tipo squamoso

Le AGC sono di diverso citotipo morfologico: Endocervicali  
Endometriali  
Ghiandolari NOS

### CELLULE GHIANDOLARI ENDOCERVICALI ATIPIICHE (AGC)

Non sottendono la categoria "più probabilmente reattiva" perchè fuorviante per il clinico.

Le AGC presentano atipie nucleari tuttavia senza i caratteri inequivocabili dell'adenocarcinoma.

#### CRITERI DIAGNOSTICI:

- A lembo o a nastro
- Affollamento e sovrapposizione nucleare
- Ingrandimento nucleare
- Talora variazione della forma e dimensione dei nuclei;
- Frequente modesta ipercromasia
- Possono essere presenti nucleoli
- Rare le mitosi
- Il citoplasma può essere abbondante ma il rapporto N\C è elevato
- Bordi cellulari spesso distinti

Più probabilmente neoplastiche:

#### CRITERI DIAGNOSTICI:

- Affollamento e sovrapposizione nucleare aumentata
- Nuclei maggiormente ingranditi
- Maggiore ipercromasia
- Disposizione a rosetta o a piume d'uccello delle cellule
- Rapporto N\C aumentato
- Poco citoplasma e bordi maldefiniti

N.B. Alcuni processi non neoplastici possono mostrare AGC: prelievo sull'istmo, metaplasma tubarica, processi riparativi, polipi endocervicali, iperplasia microghiandolare, Arias-Stella, terapia radiante.

### CELLULE GHIANDOLARI ENDOMETRIALI ATIPIICHE

#### CRITERI DIAGNOSTICI:

- Le cellule si presentano in piccoli gruppi, tridimensionali
- Con bordi cellulari maldefiniti
- Citoplasma scarso e finemente vacuolato
- Nuclei ingranditi con lieve ipercromasia
- Possono essere presenti piccoli nucleoli

NOTA: Le cellule endometriali atipiche non sono ulteriormente caratterizzate come probabile neoplasia, poichè questa distinzione è difficile e scarsamente riproducibile.

### ADENOCARCINOMA ENDOCERVICALE IN SITU (AIS)

#### CRITERI DIAGNOSTICI:

- Il fondo è pulito senza diatesi o detriti infiammatori
- Cellule in lembi, aggregati, nastri o rosette, affollate, pseudostratificate
- Non c'è nido d'ape
- Negli aggregati i nuclei si dispongono a palizzata con aspetto piumoso in periferia
- Nuclei ingranditi, anisocariosi o monotonia, ovali, allungati, sovrapposti
- Ipercromia nucleare, cromatina diffusamente dispersa, cromocentri grossolani



- Nucleoli incospicui, piccoli (+ evidenti nell'adenocarcinoma infiltrante)
- Mitosi comuni
- Apoptosi comune
- Rapporto N/C aumentato
- Quantità di citoplasma e mucina ridotti

**ADENOCARCINOMA ENDOCERVICALE INFILTRANTE**

**CRITERI DIAGNOSTICI:**

- Numerose cellule singole colonnari, lembi bidimensionali, aggregati tridimensionali, o sinciziali
- Nuclei grandi, pleomorfi
- Cromatina a distribuzione irregolare, con aree chiare
- Membrana nucleare irregolare
- Macronucleoli
- Citoplasma finemente vacuolato
- Talora è presente diatesi tumorale
- Può essere presente coesistente lesione squamosa di alto grado (circa 50% dei casi)
- Nei casi di adenocarcinoma endocervicale ben differenziato, diatesi e macronucleoli possono mancare

**ADENOCARCINOMA ENDOMETRIALE**

Gli aspetti citologici dipendono dal grado del tumore: nel grado 1 l'esfoliazione è scarsa, le cellule hanno minima atipia citologica (sono interpretate come "cellule endometriali atipiche"), le cellule numericamente sono inferiori rispetto agli adenocarcinomi della cervice (nei prelievi cervicali), inoltre hanno dimensione cellulare e nucleare inferiore, e nucleoli meno prominenti.

**CRITERI DIAGNOSTICI:**

- Cellule isolate o in piccoli spessi aggregati
- Nuclei da poco a molto ingranditi (più grandi all'aumentare del grado del tumore)
- Anisocariosi e perdita della polarità nucleare
- Ipercromasia nucleare moderata, cromatina a distribuzione irregolare ed aree chiare, specie negli alti gradi
- I nucleoli aumentano di dimensioni con il grado del tumore

ANORMALITÀ' DELLE CELLULE EPITELIALI		
<p><u>Cellule Squamose</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• cellule squamose atipiche (ASC)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- di significato indeterminato (ASC-US)</li> <li>- non è possibile escludere HSIL (ASC-H)</li> </ul> </li> <li>• lesione intraepiteliale di basso grado (LSIL) comprendente HPV, displasia lieve, CIN1</li> <li>• lesione intraepiteliale di alto grado (LSIL) comprendente displasia moderata e severa, carcinoma in situ, CIS/CIN2/CIN3</li> <li>• con quadri sospetti per invasione</li> <li>• carcinoma squamoso</li> </ul>	<p><u>Cellule Ghiandolari</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• cellule ghiandolari atipiche (AGC)</li> <li>• endocervicali, endometriali, ghiandolari NOS</li> <li>• cellule ghiandolari atipiche vs neoplastiche (specificare: endocervicali o NOS)</li> <li>• adenocarcinoma endocervicale in situ (AIS) o adenocarcinoma                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- endocervicale</li> <li>- endometriale</li> <li>- extrauterino</li> <li>- NOS</li> </ul> </li> </ul>	<p>altre neoplasie maligne: specificare</p>

**BIBLIOGRAFIA**

1. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Second edition. International Agency for Research on cancer.
2. Solomon D, Davey D, Kurman R, et al. . Il Sistema Bethesda 2001. Terminologia per la refertazione della citologia cervicale. JAMA 2002;287:2114-2119 Traduzione: Stefano Ciatto [www.gisci.it](http://www.gisci.it)
3. Solomon D, Nayar R, Ed. Il Sistema Bethesda per refertare la citologia cervicale: definizioni, criteri morfologici e note esplicative. Ed italiana a cura di Beccati MD, Rossi S. CIC Ediz. Internaz. 2004.
4. Bos AB, van Ballegooijen M, van den Akker-van Marle E, et al. Endocervical status is not predictive of the incidence of cervical cancer in the years after negative smears. Am J Clin Pathol 2001; 115: 851-855.
5. Siebers AG, de Leew H, Verbeek AL, Hanselaar AG. Prevalence of squamous abnormalities in women with a recent smear without endocervical cells is lower as compared to women with smears with endocervical cells. Cytopathology 2003 Aug; 14(4): 225.
6. Sharpless KE, Schnatz T, et al. Dysplasia associated with atypical glandular cells on cervical cytology. Obstet Gynecol 2005;105:494-500.
7. Krane JF, Granter SR, Trask RE, Hogan CL, Lee KR. Papanicolaou smear sensitivity for the adenocarcinoma of the cervix: a study of 49 cases. Cancer 2001;93:8-15
8. Documento operativo Gisci per l'applicazione nei programmi di screening del sistema Bethesda 2001. Documento Gisci 2006, [www.gisci.it](http://www.gisci.it).
9. Protocollo diagnostico-terapeutico dello screening per la prevenzione dei tumori del collo dell'utero nella regione Emilia-Romagna. 3° edizione Anno 2008
10. Modifica a documento operativo Gisci per l'applicazione nei programmi di screening del sistema Bethesda 2001. Documento Gisci 2009, [www.gisci.it](http://www.gisci.it).



## F - PROCEDURE DI ASSICURAZIONE DELLA QUALITA'

Il programma di screening del carcinoma della cervice uterina ha come obiettivo la riduzione della mortalità e dell'incidenza di patologia neoplastica. Per tale programma esiste una efficacia documentata, a patto che vengano predisposte misure di controllo del programma di screening che consentano di mantenere le condizioni ottimali in cui questa efficacia è stata dimostrata.

Nella pianificazione delle attività di screening, deve perciò essere data particolare rilevanza ad un progetto di verifica della qualità (VQ), che ne garantisca l'efficacia e ne contenga i possibili effetti negativi. Alla base della promozione della qualità di un programma di screening cervicale, ci deve essere la consapevolezza che si tratta di processi organizzativi complessi (profili di assistenza) e che pertanto deve riguardare la qualità tecnico-professionale, organizzativa e percepita. La VQ deve quindi essere applicata a tutte le varie fasi operative che hanno un impatto diretto sul risultato del programma di screening valutato

### **Verifica interna di qualità (VQI)**

Le VQI devono essere inserite nella normale routine diagnostica divenendo così strumento di crescita professionale e di miglioramento della qualità e dell'appropriatezza delle prestazioni. In particolare, nel servizio di Anatomia Patologica, si dovranno adottare procedure di VQI sia della fase preanalitica, sia analitica e postanalitica, in grado di monitorare e migliorare la riproducibilità ed il livello di accuratezza.

#### FASE PREANALITICA

- Verifica della congruità della richiesta, dei prelievi e della corrispondenza foglio di lavoro- vetrini
- Valutazione della fissazione e colorazione dei preparati

#### FASE ANALITICA

Questa sezione è stata adattata dal documento GISCI "raccomandazioni per il controllo di qualità in citologia cervico vaginale".

Le VQI della fase di lettura citologica devono prevedere uno standard di accettabilità, inteso come livello minimo di procedure di qualità alle quali un laboratorio dedicato allo screening deve attenersi. Devono pertanto essere monitorati:

- Numero totale Pap test/all'anno
- Monitoraggio statistico delle risposte citologiche (negativi-positivi-inadeguati) per centro e per singolo lettore
- Monitoraggio statistico delle classi diagnostiche all'interno dei positivi (da ASC-US a carcinoma)
- Correlazione cito-istologica
- Calcolo della predittività diagnostica positiva e per singole classi diagnostiche
- Revisione falsi negativi/falsi positivi

Controlli aggiuntivi sono previsti (standard desiderabile) sulla base del volume di attività e delle caratteristiche organizzative del laboratorio (Pap test/anno: <15000, 15000 – 25000, >25000):

- Rescreening di parte (10%) dei Pap test negativi
- Rescreening rapido
- Rescreening con l'ausilio di sistemi di lettura automatici
- Lettura collegiale

#### FASE POSTANALITICA

- Verifica della concordanza foglio di lavoro-referto

**Verifica esterna di qualità (VQE)**

E' importante anche l'adozione di VQE.

A tale proposito è consigliabile aderire alla iniziativa di VQE regionale attualmente in atto, basata sull'utilizzo di immagini digitali o telepatologia (Online Telepathology Service. Azienda ULSS18, Rovigo. <https://servizi.azisanrovigo.it/>).

Tutte le procedure di VQ devono essere documentate

**TABELLA 1: Indicatori e parametri di qualità**

INDICATORE/PARAMETRO DI QUALITA'		VALORI DI RIFERIMENTO
NUMERO TEST LETTI PER ANNO	LABORATORIO: Numero test-anno > 15.000 LETTORE: Numero test-anno < 7.500	LABORATORIO > 15000 LETTORE 7500 massimo compreso controllo di qualità
INADEGUATI	<u>Numero test di screening con esito inadeguato x 100</u> Numero test di screening	< 7% accettabile < 5% desiderabile 3.1% Survey GISCi 2006
REFERRAL RATE ALLA COLPOSCOPIA (proporzione di casi inviati in colposcopia per qualsiasi motivo)	<u>Numero di donne screenate inviate in colposcopia x 100</u> numero di donne screenate	Accet. ≤ 5% Desid < 3.5% 2.4% Survey GISCi 2006
VALORE PREDITTIVO POSITIVO (proporzione dei casi con conferma istologica di CIN2+)	<u>Veri positivi (n° donne con biopsia CIN2+) x 100</u> numero di donne screenate inviate in colposcopia  Per il primo esame positivo che ha fatto inviare la donna in colposcopia	16.1% Survey GISCi 2006
DETECTION RATE (tasso di identificazione di CIN2+ con conferma istologica)	<u>Numero di donne screenate con CIN2+ istologico x 100</u> Numero di donne screenate  per donne al primo screening e ai successivi	2.8% <sub>0</sub> grezza Survey GISCi 2005
INDICAZIONE A RIPETERE LA CITOLOGIA (per qualsiasi motivo)	Numero di donne screenate con indicazione <u>a ripetere a periodo &lt; 3 anni</u> Numero di donne screenate	5,9% Survey GISCi 2006
TEMPO DI RISPOSTA	<u>Donne con l'invio dell'esito negativo entro 30gg x 100</u> Totale donne con test di screening negativo	> 80% delle risposte entro 30 giorni

**BIBLIOGRAFIA**

1. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Second edition. International Agency for Research on cancer.
2. Documento Gisci: "Raccomandazioni per il controllo di qualità in citologia cervico-vaginale". [www.gisci.it](http://www.gisci.it).
3. Documento Gisci: "Indicatori" a cura di G. Ronco e altri. [www.gisci.it](http://www.gisci.it)
4. Survey Gisci 2005-2006: Osservatorio nazionale screening quinto rapporto: Livello di attivazione e indicatori di processo dei programmi organizzati di screening dei tumori del collo dell'utero in Italia. [http://www.osservatorionazionale screening.it/ons/pubblicazioni/rapporto\\_6/indicatori\\_cervice.pdf](http://www.osservatorionazionale screening.it/ons/pubblicazioni/rapporto_6/indicatori_cervice.pdf).
5. Ronco G et Al - Indicatori e Standard per la Valutazione di Processo dei Programmi di Screening del Cancro del Collo dell'Utero. Epidemiologia e prevenzione 1999; 23
6. Confortini M. et al, "Raccomandazioni per il controllo di qualità in citologia cervico-vaginale". Epidemiologia & Prevenzione, 2004; 28(1) suppl: 1-16.
7. Dgr. n. 4538 del 28 dicembre 2007 della Regione Veneto "Manuale per l'accreditamento istituzionale dei programmi di screening oncologici".





## Parte Prima - Allegato 1 - LETTURA COMPUTER-ASSISTITA DEL PAP TEST

La lettura computer-assistita, intesa come l'analisi comparativa delle immagini digitali di un preparato citologico con quelle di un archivio noto, è divenuta realtà grazie agli studi iniziati circa 20 anni fa negli Stati Uniti ed ai progressi tecnologici.

Le tecniche messe a punto non si spingono all'interpretazione completa del Pap test, ma sono di ausilio al citologo mediante: parziale selezione dei negativi, individuazione di campi, marcatura di cellule sospette.

I sistemi più comunemente utilizzati presenti oggi sul mercato sono due: il Thinprep Imaging System ed il Focal Point System (FPS-GS, già AUTOPAP). Entrambi sono applicati allo screening del cervico-carcinoma (1) e sono utilizzati da alcuni Centri di Lettura della Regione Veneto, applicati allo screening organizzato.

### **Thinprep IMAGING SYSTEM**

I dettagli operativi di questo sistema sono stati pubblicati (2), così come l'applicazione allo screening del cervico-carcinoma è stata ampiamente testata (2, 3, 4, 5, 6, 7).

Si tratta di un sistema di valutazione in doppio (dual-review), in quanto ogni Pap test viene sottoposto prima a valutazione da parte di un lettore computerizzato (Imager) che scansiona l'intero vetrino e seleziona 22 campi di visione scelti fra quelli che possono contenere cellule anormali e viene sottoposto poi alla valutazione umana, da parte del Cito-tecnico, che esamina ed interpreta i 22 campi selezionati.

Nel dettaglio:

- l'Imager scansiona vetrini allestiti con metodica in strato sottile Thin-prep ed individua i 22 campi sulla base di un algoritmo comprendente l'aumento delle dimensioni, dell'irregolarità e della densità di colorazione dei nuclei: queste caratteristiche corrispondono infatti ad un maggior contenuto in DNA, il quale spesso, ma non sempre, è correlato con la trasformazione neoplastica delle cellule
- il Cito-tecnico esamina i 22 campi individuati da Imager con l'aiuto di un microscopio automatizzato, collegato ad un software (Review Scope) che ottimizza i tempi per passare da un campo all'altro
- quando il Cito-tecnico ritiene che le cellule segnalate siano normali, referta il caso secondo il sistema Bethesda come "negativo per lesione neoplastica intraepiteliale o malignità"
- quando invece il Cito-tecnico ritiene che nei 22 campi siano contenuti elementi cellulari sospetti di lesione neoplastica o preneoplastica, rivede l'intero preparato e poi sottopone il caso al Patologo per il riesame, secondo i protocolli di qualità stabiliti.

Il metodo è stato riconosciuto dall'FDA nel 2003 e dal GISCI.

Poiché l'interpretazione delle immagini e l'individuazione dei 22 campi dei vetrini si basa sia sulla cromasia che sui caratteri dell'area nucleare, la standardizzazione della colorazione rappresenta un passaggio critico e va perciò costantemente monitorata per assicurare la linearità stechiometrica fra intensità di colorazione e contenuto in DNA.

Il corretto impiego del sistema prevede tassativamente che tutti i vetrini vengano sottoposti alla valutazione umana, da parte del Cito-tecnico o del Patologo.

In ambito di Area Vasta Vicentina (ULSS 3, 4, 5 e 6) è attivo dalla fine del 2007 un progetto che ne prevede l'utilizzo in comune da parte delle Anatomie Patologiche dell'Area.

Il programma prevede la centralizzazione in un unico laboratorio (Anatomia Patologica di Thiene) per tutta la provincia di Vicenza delle fasi tecniche di allestimento dei preparati e di analisi con Imager. I campioni dei vari Centri dell'Area Vasta vengono raccolti e trasportati al laboratorio "centralizzato" attraverso un sistema di trasporto organizzato e coordinato in base ai rispettivi carichi di lavoro. I campioni prelevati dai Centri afferenti vengono identificati in modo uniforme mantenendo tuttavia inalterate le numerazioni specifiche di ogni Centro di provenienza. Gli elementi identificativi (dati anagrafici, ULSS, anno di accettazione del campione) vengono trasformati in un codice a barre che garantisce la tracciabilità dei percorsi di ogni singolo campione attraverso ciascuna fase lavorativa.

L'allestimento su strato sottile dei campioni citologici provenienti dalle quattro ULSS vicentine si avvale di due processori automatizzati (TP 3000 Cytyc) e di un coloritore automatico completamente dedicato ed interfacciato con un analogo montavetrini robotizzato (Leica). Ogni vetrino viene sottoposto a pre-lettura computerizzata (Imager) nel laboratorio centralizzato dove le coordinate dei 22 campi microscopici per ciascun Pap test vengono memorizzati e trasferiti su CD.

La valutazione al microscopio robotizzato (Review Scope) avviene quindi nelle diverse Sedi di provenienza, dove i 22 campi microscopici per ogni Pap test vengono valutati dal Cito-tecnico esaminatore. Il materiale residuo dopo l'allestimento ed il vetrino originale vengono riconsegnati al Centro di provenienza. Ogni Centro



afferente mantiene inalterata l'organizzazione interna pre-esistente per quanto riguarda l'esecuzione dei prelievi, la raccolta dei campioni e la definizione diagnostica degli esami.

La fase sperimentale di utilizzo del sistema si è conclusa alla fine del 2008, cosicché questo sistema di lettura è entrato nell'uso ufficiale da gennaio 2009.

I referti riportano la frase concordata tra le Anatomie Patologiche dell'Area Vasta: <<Pap test in fase liquida allestito su strato sottile (Thin-prep) e processato con tecnologia computer-assistita (Imager System)>>.

### FOCALPOINT GS

Il FocalPoint GS (già AUTOPAP) è uno strumento di lettura automatizzata dei Pap test concepito per l'uso nello Screening (8, 9) e nel Controllo di Qualità dei Pap test (10, 11). Lo strumento è in uso presso l'Anatomia e Istologia Patologica dell'ULSS 9 di Treviso dal 2000.

Lo strumento si compone di:

- un'unità centrale per la scansione dei preparati dotata di meccanismi di mobilitazione dei preparati, di messa a fuoco e di acquisizione di immagini microscopiche automatici
- un computer che controlla le operazioni meccaniche ed elettroniche dell'unità centrale ed elabora le immagini processandole con appositi algoritmi ed integrazioni statistiche
- un monitor per verificare la funzionalità dello strumento
- un microscopio motorizzato per la valutazione dei preparati da parte di un Cito-tecnico

L'uso dello strumento non è sottoposto a specifiche misure di sicurezza oltre a quelle generiche riferibili alle apparecchiature sotto tensione. Un collegamento tramite indirizzo ip in remoto consente al servizio di assistenza della Ditta distributrice, che ha sede in Belgio, il controllo 24 ore su 24 dello strumento.

Il sistema è in grado di processare sia preparati allestiti in modo convenzionale che in strato sottile.

Il riconoscimento dei singoli campioni da parte dello strumento avviene grazie ad un'etichetta con codice a barre. Non sono idonei alla lettura i vetrini con grossolani artefatti di tipo tecnico (scheggiature dei margini del portaoggetto o del coprioggetto, bolle d'aria e anomalo posizionamento del coprioggetto) e, se comunque introdotti nello strumento, non verranno da questo classificati.

La classificazione dei vetrini a seguito dell'interpretazione delle immagini si basa su algoritmi che tengono conto sia della cromasia che dell'area nucleare. La colorazione è pertanto un parametro critico che va standardizzato. A tal fine, lo strumento stesso è in grado di monitorare lo scostamento della colorazione dai valori suggeriti.

Il metodo è riconosciuto dall'FDA dal dicembre 2008 e dal GISCI.

Il FocalPoint GS è in grado di valutare circa 230 Pap test in 24 ore. Una volta caricato, lo strumento provvede automaticamente a: spostare i vassoi con i Pap test dall'alloggiamento di carico alla postazione del microscopio; riconoscere il singolo Pap test mediante lettura del codice a barre; verificare l'orientamento della superficie di ciascun preparato; scansionare ciascun campione e costruirne una mappa tridimensionale; selezionare i campi da sottoporre a scansione con laser ad alta potenza; inviare le immagini digitali raccolte alla unità di elaborazione dove il software, basato su opportuni algoritmi, determina il risultato finale.

Il risultato della elaborazione consiste in un report contenente la valutazione dell'adeguatezza del Pap test secondo i criteri del sistema Bethesda; la valutazione sull'adeguatezza della colorazione; la suddivisione in 4 classi dei Pap test valutati:

- *no further review*: 23-25% di casi sicuramente negativi da inviare alla firma senza ulteriore valutazione da parte del cito-tecnico
- *review*: 65-70% di casi da inviare alla riletura del cito-tecnico. I vetrini "review" sono distribuiti secondo una curva gaussiana che viene a sua volta suddivisa in quintili. Ogni quintile indica un grado di probabilità di riscontrare una lesione, con grado decrescente dal 1° al 5° quintile
- *process review*: 3-10% di casi che il sistema giudica non idonei alla lettura per densità di colorazione e artefatti del preparato. Tali artefatti sono spesso imputabili a un irregolare spessore dei preparati per accumulo di cellule in alcune aree del vetrino, per presenza di bolle del mezzo montante o per irregolarità del coprioggetto e/o del vetrino (*slide "tilted", unable to focus, coverslip tilted, nuclear staining*)



- *rerun*: talora lo strumento "salta" completamente la lettura di uno o più vassoi per problemi di riconoscimento degli stessi; è sufficiente reintrodurre questi casi nello strumento per una rivalutazione automatica.

Le alterazioni citologiche rilevate dallo strumento sui vetrini della classe *review* sono definite FOV; tali aree sono fisicamente evidenziate come spot di 4 mm di diametro sulla mappa del vetrino (PapMap) che viene stampata in dimensione reale. Ogni vetrino *review* può contenere fino a 15 spot, cioè aree dove è più probabile che siano contenute anomalie citologiche. Il cito-tecnico sovrappone il vetrino sulla relativa mappa e ne disegna con un pennarello tutti gli spot che rappresentano le aree FOV da rivedere al microscopio; in alternativa, è disponibile l'integrazione con una **stazione di revisione (SlideWizard)** che consiste in un microscopio motorizzato connesso allo strumento e ad un computer in grado di presentare automaticamente i campi da rivedere. Il microscopio motorizzato consente naturalmente anche una visione delle aree al di fuori degli spot qualora il Cito-tecnico ne ravveda l'opportunità. La valutazione da parte del Cito-tecnico di questi preparati viene pertanto effettuata per campi (spot).

I referti riportano la frase: **Preparato esaminato con sistema per lo Screening Primario Automatizzato Focal Point GS (Tripath Imaging, ® Inc. Redmont. USA) e riletto manualmente**

L'utilizzo del solo Focal Point consente la valutazione di circa 7.000 Pap test/anno per Cito-tecnico a tempo pieno; l'implementazione con la stazione di revisione permette di arrivare a circa 8.500 Pap test/anno per Cito-tecnico a tempo pieno. Un tecnico non-lettore con PT di 30 ore gestisce la colorazione, l'etichettatura, il carico-scarico dello strumento, la stampa dei report, la suddivisione dei vetrini della classe *no further review* e della classe *process review* da quelli *review* e l'abbinamento delle mappe a questi ultimi. Il carico di lavoro è di circa 31.000 PT/anno per 5 citotecnici lettori (4 TP e 1 PT a 30 ore)

Lo strumento effettua la principale verifica interna di qualità (VQI). Inoltre, i Pap test valutati dallo strumento come *no further review*, cioè negativi, vengono sottoposti a revisione rapida del preparato (meno di 1 minuto) prestando attenzione alle notizie cliniche della scheda di accompagnamento.

## BIBLIOGRAFIA

1. Wright TC Jr, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D, *et al.* 2006 Consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197:346-55.
2. Dawson AE: Can we change the way we screen?: the ThinPrep Imaging System® clinical trial data and early experience. *Cancer Cytopathol* 2004;102: 340-344.
3. Biscotti CV, Dawson AE, Dziura B, Galup L, Darragh T, Rahemtulla A, Wills-Frank L: Assisted primary screening using the automated ThinPrep Imaging System. *Am J Clin Pathol* 2005;123: 281-287.
4. Zhang FF, Banks HW, Langford SM, Davey DD: Accuracy of ThinPrep Imaging System in detecting low-grade squamous intraepithelial lesions. *Arch Pathol Lab Med* 2007;13: 773-776.
5. Davey E, d'Assuncao J, Irwig L, Macaskill P, Chan SF, Richards A, Farnsworth A: Accuracy of reading liquid based cytology slides using the ThinPrep Imager compared with conventional cytology: prospective study. *BMJ* 2007;335: 31-38.
6. Dziura B, Quinn S, Richard K: Performance of an imaging system vs. manual screening in the detection of squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. *Acta Cytol* 2007;50: 309-311.
7. Lozano R: Comparison of computer-assisted and manual screening of cervical cytology. *Gynecol Oncol* 2007;104: 134-138.
8. Wilbur DC, Prey MU, Miller WM, *et al.* Detection of high grade squamous intraepithelial lesions and tumors using the AutoPap system: results of a primary screening clinical trial. *Cancer (Cancer Cytopathol)*. 1999;87:354-358.
9. Wilbur DC, Black-Schaffer WS, Luff RD, *et al.* Clinical trials of the FocalPoint GS System show significant improvements in sensitivity for the detection of squamous intraepithelial lesions when compared to manual screening. *Mod Pathol*. 2009;22(suppl 1):97A.
10. Patten SF, Lee JSJ, Wilbur DC, *et al.* The AutoPap 300 QC System multicenter clinical trials for use in quality control rescreening of cervical smears. I: prospective intended use study. *Cancer (Cancer Cytopathol)*. 1997;81:343-347.
11. Patten SF, Lee JSJ, Wilbur DC, *et al.* The AutoPap 300 QC System multicenter clinical trials for use in quality control rescreening of cervical smears. II: prospective and archival sensitivity studies. *Cancer (Cancer Cytopathol)*. 1997;81:337-342.

ALLEGATO B

Dgr n.

del

pag. 28/43



## PARTE SECONDA

### ISTOLOGIA



### INTRODUZIONE

Il referto istopatologico dei campioni biotipici e operatori nel campo della patologia della cervice uterina costituisce il punto essenziale delle procedure diagnostiche e terapeutiche di secondo livello. Deve confermare la diagnosi presunta dalle procedure di primo livello (Pap test, colposcopia) e fornire tutti gli elementi utili alla stadiazione patologica delle neoplasie (biopsia, conizzazione, isterectomia).

Il referto istopatologico rappresenta l'atto medico conclusivo di una complessa procedura e deve comprendere:

- 1) le modalità di esame macroscopico e campionamento del materiale biotipico/operatorio cervicale
- 2) la formulazione della diagnosi finale, tenendo conto di tutti gli elementi necessari alla stadiazione patologica, alla luce delle indicazioni e raccomandazioni attuali del College of American Pathologist, del Royal College of Pathologist, del WHO e delle Linee Guida Europee (ALLEGATI 1-3)

## A - MODALITÀ DI PRELIEVO E CAMPIONAMENTO DEL MATERIALE BIOPTICO-OPERATORIO CERVICALE

Vengono forniti i requisiti minimi per i rilievi macroscopici e il campionamento dei pezzi chirurgici in patologia cervicale, con l'intendimento di uniformare i protocolli operativi e di garantire la qualità dell'intera procedura diagnostica.

### **BIOPSIA CERVICALE (sinonimo: biopsia con pinza)** **BIOPSIA ENDOCERVICALE (sinonimo: curettage del canale endocervicale)**

- 1) Identificazione dei campioni (anagrafica, topografia del prelievo)
- 2) Descrizione macroscopica (numero frammenti, dimensioni)
- 3) Inclusione in toto di frammenti fino a 4 mm. di dimensione massima
- 4) Inclusione di tutti i frammenti inviati
- 5) Mantenere la suddivisione del materiale inviato
- 6) In caso di prelievi endocervicali utile il recupero e l'inclusione del materiale mucoide presente

### **AMPIA BIOPSIA ESCISSORIALE (sinonimo: biopsia con ansa o con ago)**

- 1) Identificazione dei campioni (anagrafica, topografia del prelievo)
- 2) Descrizione macroscopica. Dimensioni
- 3) Orientamento. Punti di repere
- 4) Inchiostratura dei margini
- 5) Inclusione in toto con sezioni seriate e numerate

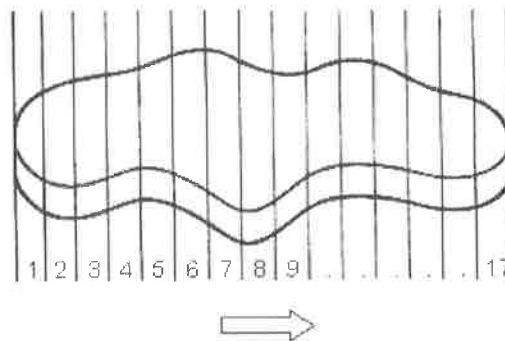


Immagine tratta da: Histopathology specimens. Clinical, pathological and laboratory aspects. D.C. Allen R.I. Cameron Spinger 2004

**LEEP**

**Sinonimi:** *Amputazione di collo*  
*Biopsia ad anello*  
*Cono a lama fredda*  
*Cono a laser CO2*

- 1) Campione conoide identificato con punto di repere (punto chirurgico, ink dot) preferibilmente ad ore 12
- 2) Descrizione macroscopica: riportare le dimensioni del cono espresse in mm. corrispondenti alla misura della base del cono (asse circonferenziale) più la misura dell'altezza del cono (asse longitudinale) più lo spessore (mm... x mm... x mm...)
- 3) Inchiostratura dei margini
- 4) Se inviato a fresco, il cono va aperto (ore 12 o ore 3), spillato su un supporto rigido e posto a fissare in formalina per 12-24 ore
- 5) Evitare di creare distacchi mucosi con pinze o specilli per la particolare fragilità degli epiteli cervicali spesso termo-traumatizzati dalle procedura di escissione (ansa termica, laser CO2)
- 6) Fissato il cono, viene campionato in modo seriato con sezioni condotte nel senso del canale cervicale, con sezioni di 2-3 mm seriate numerate e identificate per labbro (anteriore/posteriore) o per quadrante (A1-A2-A3-A4).
- 7) Se inviato fissato il cono non viene aperto e viene tagliato integralmente con sezioni longitudinali nel senso del canale cervicale numerate e identificate

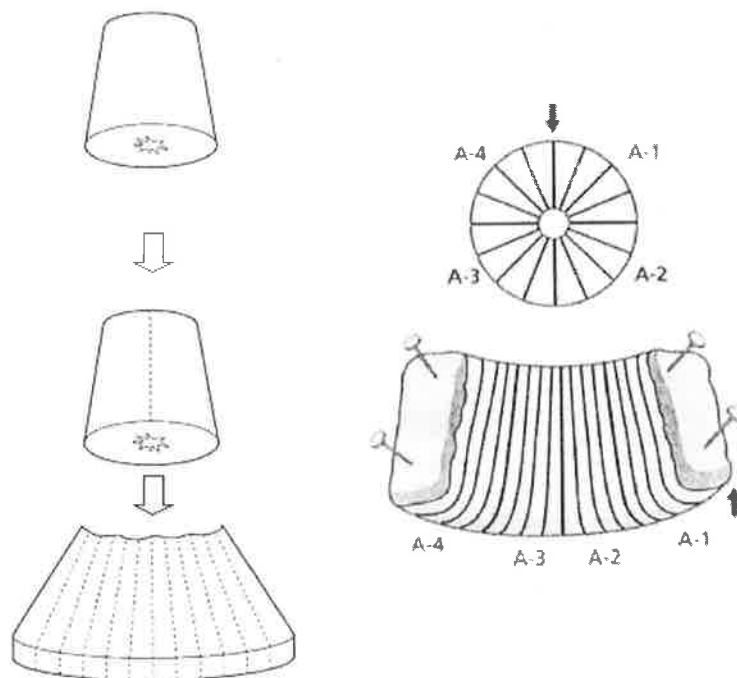


Immagine tratta da: Histopathology specimens. Clinical, pathological and laboratory aspects. D.C. AllenR.I. Cameron Spinger 2004

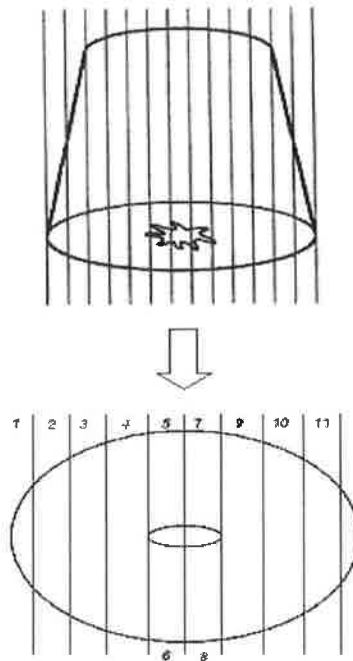


Immagine tratta da: Histopathology specimens. Clinical, pathological and laboratory aspects. D.C. Allen R.I. Cameron Spinger 2004

È evento sempre più frequente l'invio, assieme a LEEP, di un secondo campione, definito come:

#### ENDOCOLLO (sinonimo: ampliamento di conizzazione)

- rappresenta il vero margine di resezione endocervicale
- riportare nella descrizione macroscopica:
  - la presenza o meno di reperi chirurgici;
  - le 3 dimensioni del campione espresse in mm. (mm...x mm...x mm...)
- provvedere alla inchiostatura dei margini
- campionare in modo seriato con sezioni condotte nel senso del canale cervicale, di 2-3 mm di spessore, seriate ed identificate
- assicurare in fase di taglio l'esecuzione di sezioni seriate e numerate

#### ISTERECTOMIA PER CA IN SITU/INVASIVO DELLA CERVICE UTERINA

- 1) Descrizione macroscopica dell'utero. Dimensioni e peso
- 2) Separare gli annessi e la cervice
- 3) Aprire il corpo uterino sui margini laterali fino ai recessi tubarici
- 4) Separare le due emiparti differenziando le pareti anteriore e posteriore (l'orientamento dell'utero è facilitato dal rivestimento peritoneale del corpo che è più esteso e completo sulla faccia posteriore)
- 5) Aspetto della cervice, della cavità endometriale, della parete uterina, del perimetrio.
- 6) Presenza di colletto vaginale. Inchiostrare il margine di resezione chirurgico.
- 7) Fissare in formalina tamponata per 12 ore
- 8) Prelievi della cervice in senso radiale (come nel caso della conizzazione)
- 9) Prelievo dell'istmo e del corpo uterino in senso trasversale sulle due pareti del corpo
- 10) Prelievo degli annessi e se presenti dei tessuti del paracolpo, del parametrio e del colletto vaginale



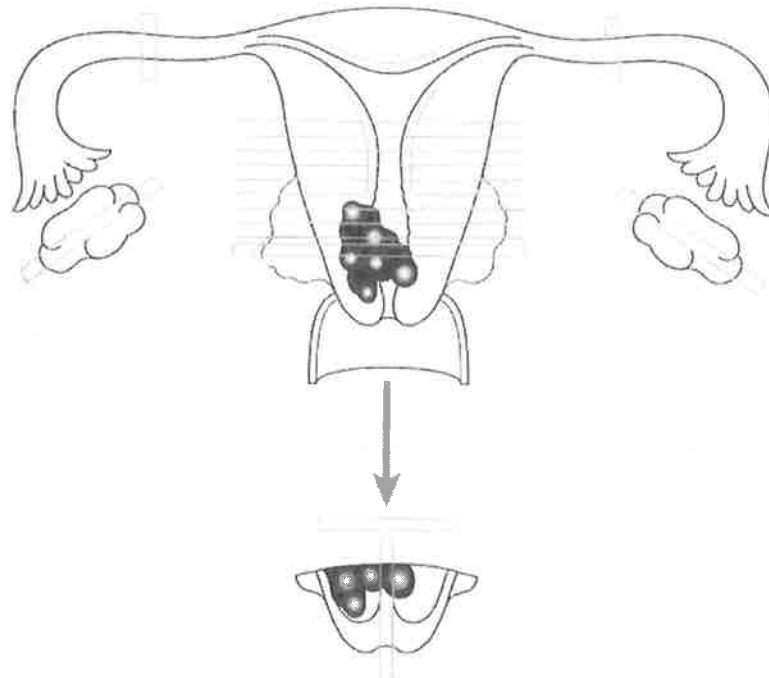


Immagine tratta da : Histopathology specimens. Clinical, pathological and laboratory aspects. D.C. Allen R.I  
Cameron Spinger 2004

**B - DIAGNOSI ISTOLOGICA CON VALUTAZIONE DEI PARAMETRI STADIATIVI**

Il referto istopatologico deve contenere un giudizio diagnostico possibilmente univoco, semplice e completo, standardizzato secondo la terminologia WHO/AJCC/UICC TNM. Può essere utile un breve commento esplicativo in caso di possibile equivocità. Per ogni diagnosi va indicata la relativa sede di provenienza anatomica.

**ISTOTIPO (SEC. WHO)**

**Neoplasia intraepiteliale squamosa** (alto grado/CIN2-CIN 3) (basso grado/CIN1)  
**Carcinoma squamoso infiltrante** (specificare variante)

**Grado Istologico**

- G1 Ben differenziato
- G2 Moderatamente differenziato
- G3 Scarsamente differenziato
- G4 Indifferenziato

**Invasione Stromale**

**Assente** (neoplasia intra epiteliale)

**Presente**

La microinfiltrazione stromale va sospettata nelle aree di CIN3 con un'ampia componente superficiale ed estensione alle cripte ghiandolari che presentano segni di necrosi associata ad aspetti di cheratinizzazione intraepiteliale con perdita della polarità, aspetti di chiarificazione nucleare e presenza di reazione desmoplastica stromale associata ad un fitto infiltrato infiammatorio linfo-plasmocitario.

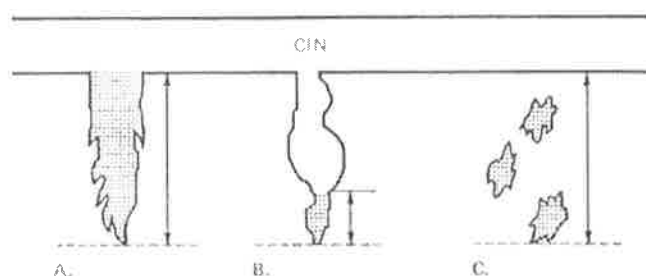


Immagine tratta da :Pathology and genetics of tumors of the breast and female genital organs. F.A Tavassoli, P. Devilee WHO IARC Press 2003

**Profondità di infiltrazione massima**

Nella valutazione della profondità di infiltrazione si misura la distanza della componente invasiva dalla membrana basale, nel caso in cui la neoplasia origini dall'epitelio superficiale (A), dalla membrana basale della ghiandola se la neoplasia origina in profondità da uno sfondato ghiandolare (B). Se non risulta possibile rintracciare microscopicamente l'origine della componente infiltrante della neoplasia si misura la distanza della componente invasiva più profonda dalla membrana basale dell'epitelio superficiale (C).

**Estensione lineare massima della neoplasia lungo il canale endocervicale**

**Localizzazione della neoplasia rispetto alla circonferenza della portio** (riferimento orario o ai quadranti)



**Valutazione dei margini chirurgici di resezione**

**Indenni.** Distanza della neoplasia dal margine esocervicale e endocervicale (apice del cono)

**Interessati dalla neoplasia intraepiteliale** (specificare)

**Infiltrati dalla neoplasia** (specificare)

**Lesioni pre-neoplastiche associate**

Assenti

Coilocitosi

Lesione intraepiteliale squamosa

Displasia ghiandolare/AIS endocervicale

**In caso di neoplasia infiltrante, specificare se possibile:**

Presenza di angioinvasione linfatica e/o venosa

Presenza di infiltrazione perineurale

Estensione al corpo uterino (endometrio, miometrio)

Estensione ai tessuti del paracolpo, parametrio

Estensione alla vagina (tessuti paravaginale, margine chirurgico distale)

Stato degli annessi uterini

Peritoneo di rivestimento

**Dati immunostochimica / patologia molecolare**

Espressione p16

Cinetica proliferativa Ki67

Determinazione qualitativa HPV con PCR

Viral load HPV (PCR quantitativa)



## PARTE SECONDA - ALLEGATO 1

## CLASSIFICAZIONE ISTOLOGICA DEI TUMORI DELLA CERVICЕ UTERINA

## Tumori a cellule squamose e lesioni preneoplastiche

	Codice ICD-O
<b>Carcinoma a cellule squamose NAS</b>	8070/3
Cheratinizzante	8071/3
Non cheratinizzante	8072/3
Basaloide	8083/3
Verrucoso	8051/3
Verruciforme	8051/3
Papillare	8052/3
Linfoepitelioma-like	8082/3
Transizionale squamoso	8120/3
<b>Microinvasivo</b>	8076/3
<b>Neoplasia intraepiteliale squamosa</b>	
Neoplasia intraepiteliale cervicale CIN3	8077/2
Carcinoma squamoso in situ /CIS	8070/2
<b>Lesioni benigne a cellule squamose</b>	
Condiloma acuminato	7670/0
Papilloma squamoso	8052/0
Polipo fibroepiteliale	7681/0

## Tumori dell'epitelio ghiandolare e lesioni preneoplastiche

<b>Adenocarcinoma</b>	8140/3
Adenocarcinoma	
Mucinoso	8480/3
Endocervicale	8482/3
Intestinale	8144/3
A cellule ad anello con castone	8490/3
Minimal deviation	8480/3
Villo ghiandolare	8262/3
Adenocarcinoma endometrioide	8380/3
Adenocarcinoma a cellule chiare	8310/3
Adenocarcinoma sieroso	8441/3
Adenocarcinoma mesonefrico	9110/3
<b>Adenocarcinoma microinvasivo</b>	8140/3
<b>Adenocarcinoma in situ</b>	8140/2
<b>Displasia dell'epitelio ghiandolare</b>	<b>67020</b>
<b>Lesioni ghiandolari benigne</b>	
Papilloma mulleriano	80500
Polipo endocervicale	D7-75780

## Altri tumori ghiandolari

<b>Carcinoma adenosquamoso</b>	8560/3
Variante a cellule "glassy"	8015/3
<b>Carcinoma Adenoide-cistico</b>	8200/3
<b>Carcinoma Adenoideo -basale</b>	8098/3



**Tumori neuroendocrini**

Carcinoide	8240/3
Carcinoide atipico	8249/3
Carcinoma a piccole cellule	8041/3
Carcinoma neuroendocrino a grandi cellule	8013/3
Carcinoma indifferenziato	8020/3

**Tumori mesenchimali e lesioni simil tumorali**

Leiomioma	8890/3
Sarcoma dello stroma endometriale (basso grado)	8931/3
Sarcoma endocervicale indifferenziato	8805/3
Sarcoma botrioide	8910/3
Sarcoma alveolare delle parti molli	9581/3
Angiosarcoma	9120/3
Tumore maligno delle guaine nervose periferiche	9540/3
Leiomioma	8890/0
Rabdomioma genitale	8905/3
Nodulo post operatorio a cellule fusate	

**Tumori mesenchimali e misti (epitelio-stromali)**

Carcinosarcoma (tumore misto maligno mulleriano)	8980/3
Adenosarcoma	8933/3
Tumore di Wilms	8960/3
Adenofibroma	9013/3
Adenomioma	8932/0

**Tumori melanocitari**

Melanoma maligno	8720/3
Nevo Blue	8780/0

**Tumori vari**

**Tumore a cellule germinali**

Tumore del sacco vitellino	9071/3
Cisti dermoide	9084/0
Teratoma cistico maturo	9080/0

**Tumori linfoidi e del sistema emopoietico**

Linfoma maligno (specificare)	95903
Leucemia (specificare)	98003

**Tumori secondari (metastasi)**



## PARTE SECONDA - ALLEGATO 2

### GUIDA PER LA DIAGNOSI ISTOLOGICA DELLE PRINCIPALI LESIONI CERVICALI

#### Lesioni benigne a cellule squamose

**Condiloma acuminato:** rappresenta la manifestazione clinica dell'infezione da HPV spesso di basso grado (6-11). Costituito da fronde papillari con asse fibrovascolare rivestito da cellule epiteliali con evidenti alterazioni citopatiche da HPV (coilocitosi).

**Papilloma squamoso:** neoformazione esofitica costituita da esili assi fibrovascolari rivestite da elementi squamosi privi di atipia e alterazioni citopatiche virali.

*Polipo fibroepiteliale o stromale: neoformazione polipoide rivestita da epitelio squamoso con un core fibrovascolare ricco di vasi a parete sottile e di elementi stromali a fisionomia bizzarra fibroblastica-miofibroblastica.*

#### Tumori a cellule squamose (80% dei casi)

*I criteri diagnostici nella diagnosi del carcinoma a cellule squamose della cervice uterina sono i medesimi dello stesso tumore in altri organi e apparati. Utile la valutazione del pattern di crescita, del tipo cellulare prevalente e del grado di differenziazione. Si associa spesso a focolai di CIN soprattutto di alto grado e ad estensione nei colli ghiandolari della portio.*

Fra le **varianti morfologiche** dei tumori a cellule squamose della portio, utile la loro descrizione per una possibile correlazione cito-istologica e per l'identificazione di forme a andamento prognostico definito.

- 1) Le neoplasie **cheratinizzanti** presentano generalmente segni marcati di cheratinizzazione delle cellule tumorali con formazione di perle cornee, accentuazione della cheratinizzazione citoplasmatica con presenza di granuli di cheratoalina. Voluminosi nuclei ipercromici con cromatina grossolana e rare mitosi per lo più localizzate alla periferia degli aggregati neoplastici.
- 2) Le neoplasie **non cheratinizzanti-large cell/small cell** a differenza delle precedenti sono formate da cellule poligonali con isolati segni di differenziazione citoplasmatica senza formazione di perle cornee, con un più accentuato pleiomorfismo cellulare e nucleare e un incremento generalizzato dell'attività cariocinetica.
- 3) **Carcinoma squamoso basaloide:** è caratterizzato da nidi di cellule squamose immature di aspetto "basaloide" simile a quello della maggior parte dei carcinomi in situ della portio, ma con tendenza alla necrosi. Rari gli aspetti di cheratinizzazione per lo più confinati al centro dei nidi neoplastici. Rappresenta una forma tumorale aggressiva di cui si sconsiglia il termine di carcinoma basaloide per evitare fraintendimenti con forme tumorali a basso grado di malignità.
- 4) **Carcinoma verrucoso:** rappresenta una forma di carcinoma squamoso altamente differenziato a basso grado di malignità che si presenta con un aspetto ipercheratotico verrucoso superficiale e un fronte di infiltrazione a grossolane estroflessioni tumorali nello stroma, a margini pulsanti. Le cellule tumorali hanno un citoplasma abbondante con minima atipia nucleare. Sono assenti segni di infezione virale da HPV. Può recidivare dopo escissione o radioterapia.
- 5) Al contrario il **carcinoma squamoso verruciforme:** presenta, oltre all'aspetto verrucoso in superficie, un aspetto marcatamente condilomatoso con presenza nella totalità dei casi di un papillomavirus di alto grado. Il margine profondo presenta aspetti infiltranti.
- 6) **Carcinoma squamoso papillare:** presenta una componente superficiale di aspetto francamente papillare con esili papille rivestite da cellule squamose con segni di CIN e in profondità nello stroma un aspetto francamente infiltrante (rischio di sottostimare la lesione in caso di biopsie superficiali). Le metastasi e le recidive sono tardive.
- 7) **Carcinoma squamoso linfoepitelioma-like:** assomiglia istologicamente alla medesima forma di carcinoma indifferenziato a stroma linfoide del nasofaringe. E' composto da nidi di cellule indifferenziate di aspetto sinciziale, circondate da uno stroma ricco in elementi linfoplasmocitoidi. Le



cellule tumorali hanno un voluminoso nucleo di aspetto vescicoloso con voluminoso nucleolo. Utile talora la conferma immunoistochimica con ricerca della positività alla citocheratina delle cellule tumorali. L'infiltrato linfocitario si caratterizza dalla ricchezza in piccoli linfociti T. La ricerca dell'EBV è positivo in queste forme tumorali solo nel continente asiatico e si dimostra negativo alle nostre latitudini. La neoplasia ha prognosi buona ed è radiosensibile.

- 8) **Carcinoma squamoso transizionale / spindle cell:** è morfologicamente indistinguibile dalla forma uroteliale vescicale con un pattern solido-papillare di elementi di aspetto transizionale con possibili segni di differenziazione squamosa e presenza frequente di HPV16. A differenza dei veri carcinomi uroteliali è positivo all'immunoreazione per la citocheratina 7 e negativo per l'isoforma 20. La neoplasia ha in genere malignità di basso grado e presenta note di fibroplasia.

### Tumori ghiandolari e lesioni preneoplastiche

**Displasia delle ghiandole endocervicali.** Presenza di aspetti di atipia delle cellule endocervicali che presentano ipercromasia, ingrandimento nucleare con accentuata pseudostratificazione. Generalmente assente un pattern papillare o cribriforme. Le alterazioni possono interessare gli sfondati ghiandolari in modo discontinuo e compaiono bruscamente in ghiandole altrove normali.

**Adenocarcinoma endocervicale in situ.** Interessa per definizione sfondati ghiandolari endocervicali senza alterarne la forma e la disposizione e senza evocare una reazione stromale desmoplastica. Le cripte neoplastiche non si spingono generalmente in profondità oltre la più profonda cripta non trasformata. Le cellule neoplastiche possono morfologicamente richiamare le cellule endocervicali, endometriali e meno frequentemente l'epitelio intestinale con presenza di cellule goblet, e neuroendocrine. Sono disposte stratificate o a pattern cribriforme perpendicolarmente alla membrana basale. Frequenti aspetti di pleiomorfismo con mitosi e necrosi apoptotiche. Lo stroma circostante pur sede spesso di un fitto infiltrato infiammatorio, non mostra mai segni di desmoplasia.

**Adenocarcinoma endocervicale microinvasivo.** Entità di non facile diagnosi. Condizionata dalla presenza di infiltrazione stromale che compare generalmente in un focolaio con tutte le caratteristiche morfologiche dell'adenocarcinoma che presenta un pattern ghiandolare complesso, spesso solido-cribriforme, a contorno irregolare, che si associa, oltre all'edema stromale e ad un infiltrato infiammatorio anche alla presenza di una risposta desmoplastica stromale. Possono essere presenti focali aspetti di differenziazione squamosa. Utili in questi casi la valutazione non della profondità di infiltrazione bensì dello spessore della neoplasia.

### Adenocarcinoma (10-15% dei casi)

- 1) **Adenocarcinoma endocervicale usuale infiltrante** nelle sue varianti morfologiche: **mucinoso e ghiandolare.** L'**adenocarcinoma mucinoso** si caratterizza per la presenza intracitoplasmatica di mucina. La variante **endocervicale ghiandolare** rappresenta la forma più comune (70%), si associa a CIN in oltre il 40% dei casi e presenta pattern papillare, cribriforme e microghiandolare.
- 2) **Adenocarcinoma intestinale (non Mulleriano-mucinoso):** ricalca morfologicamente l'adenocarcinoma colico e nella sua forma meno differenziata la **variante a cellule ad anello con castone** che pone problemi di diagnostica differenziale nei confronti di una possibile lesione metastatica.
- 3) **Adenoma maligno o minimal deviation adenocarcinomi:** rappresenta una forma di adenocarcinoma mucinoso ad elevata differenziazione. Si caratterizza per la proliferazione irregolare e disordinata di ghiandole endocervicali rivestite da cellule con nulla o blanda atipia, spesso a contorno irregolare o angolato, con mitosi e che si spinge oltre le più profonde ghiandole endocervicali con una modesta o nulla risposta desmoplastica dello stroma. La neoplasia è scoperta tardivamente e la prognosi è scarsa. Si può osservare nella sindrome di Peutz-Jeghers.
- 4) **Adenocarcinoma villoghiandolare:** interessa soprattutto le giovani donne e richiama morfologicamente gli adenomi tubulo-villosi del colon, benché alla base si osserva una non eclatante invasione. La prognosi è generalmente buona, anche se vengono descritte varianti moderatamente differenziate più aggressive.
- 5) **Adenocarcinoma endometriode:** rappresenta la seconda neoplasia ghiandolare maligna dell'endocervice e morfologicamente ricalca strettamente gli aspetti morfologici della forma del



corpo uterino. Tipicamente insorge a livello della zona giunzionale da focolai di endometriosi/metaplasma endometriale e può coesistere con l'adenocarcinoma usuale di tipo endocervicale; ne è descritta una variante a deviazione minima.

- 6) **Adenocarcinoma a cellule chiare:** si caratterizza per cellule a citoplasma chiaro o con aspetto a "hobnail", ricche in glicogeno (PAS+) arrangiate in un pattern solido, tubulo-cistico o papillare. Nel 50% dei casi c'è esposizione a dietil-stilbestrolo.
- 7) **Adenocarcinoma sieroso:** presenta un pattern papillare complesso spesso associato alla presenza di corpi psammomatosi. Le atipie citologiche sono rilevanti. Può essere multifocale ed interessare contemporaneamente l'endometrio e l'ovaio. La prognosi è scarsa e va in diagnosi differenziale con la variante villo-ghiandolare.
- 8) **Adenocarcinoma mesonefrico:** deriva dalla cancerizzazione degli omonimi residui posti profondamente nelle pareti laterali cervicali. Si presenta con aggregati di piccole ghiandole rivestite da cellule cuboidali prive di mucina che delimitano un lume contenente una secrezione ialina eosinofila. Spesso varianti tubulo papillari e retiformi. La neoplasia è positiva per le citocheratine AE1/AE3, Cam5. 2, EMA, calretinina e vimentina (70%).

***Numerose lesioni cervicali possono mimare le neoplasie ghiandolari endocervicali nelle forme in situ e infiltranti (Metaplasma endometriale, endometriosi, iperplasia microghiandolare, residui mesonefrici, iperplasia ghiandolare endocervicale globulare e diffusa, tunnel cluster, endocervicosi, metaplasma ossifila atipica, adenomiosi, alterazioni di Arias Stella, endosalpingiosi). In alcuni casi oltre alla morfologia può risultare utile una caratterizzazione immunostochimica della lesione.***

La cinetica proliferativa valutata con **Ki67** può indirizzare la diagnosi verso forme neoplastiche adenocarcinomatose quando superiore al 30% e verso forme benigne quando inferiore al 10%.

La positività per la proteina **bcl2** codificata dal medesimo proto-oncogene localizzato sul cromosoma 18 può essere utile nel differenziare neoplasie ghiandolari endocervicali, sempre negative alla reazione, da forme di metaplasia tubo-endometriale e endometriosi cervicale sempre positive all'immunoreazione per bcl2.

L'espressione immunostochimica della chinasi ciclinodipendente **p16** è spesso presente nelle forme adenocarcinomatose endocervicali in relazione alla frequente presenza dell'HPV e delle sue alterazioni genetiche nella cancerogenesi endocervicale.

L'immunoreazione per **CD10** può essere utile nel differenziare focolai di iperplasia dei residui mesonefrici, sempre positivi (positività luminale) alla reazione da focolai di sospetta neoplasia ghiandolare cervicale.

Nel caso degli adenocarcinomi infiltranti l'immunostochimica può aiutare nella diagnosi differenziale fra forme endometriali e endocervicali, essendo i primi spesso positivi all'immunoreazione per i **recettori estrogenici**, la **vimentina** e negativi per l'antigene carcinoembrionario **CEA** a differenza delle neoplasie endocervicali spesso negative a recettori estrogenici e vimentina e positive al CEA.



**ALLEGATO 3**

**PROTOCOLLO DI STADIAZIONE DEI CARCINOMI INFILTRANTI DELLA CERVICE UTERINA**

- pT0** Nessuna evidenza della neoplasia
- pTis** Carcinoma in situ

**pT1 – I A FIGO**

**pT1a** Carcinoma infiltrante con diagnosi microscopica. Le neoplasie microinfiltranti con evidenza clinica rientrano nel gruppo pT1b / IB FIGO

**pT1a1** Carcinomi microinvasivi con infiltrazione stromale inferiore a 3 mm in profondità e estensione superficiale inferiore a 7 mm



**pT1a2** Carcinomi microinvasivi con infiltrazione stromale compresa fra 3 e 5 mm in profondità e estensione superficiale inferiore a 7 mm



**pT1b – I B FIGO** Neoplasia clinicamente evidente o di estensione superiore a pT1a2

**pT1b1** Neoplasia di dimensioni comprese entro i 4 cm

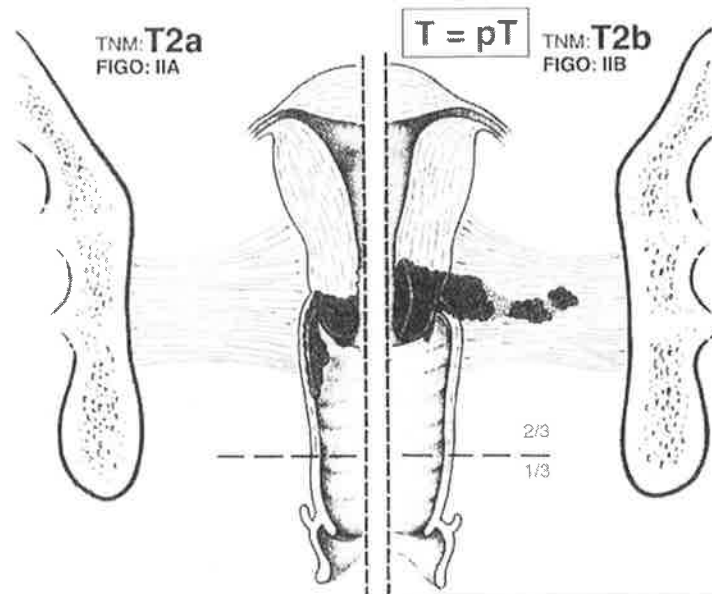


**pT1b2** Neoplasia di dimensioni superiore a 4 cm

**pT2 – II FIGO** Neoplasia extrauterina che risparmia il 3° inferiore della vagina e la parete pelvica

**pT2a** Neoplasia extrauterina che risparmia il 3° inferiore della vagina e la parete pelvica senza infiltrazione parametriale (distinta in **pT2a1** per lesione visibile clinicamente di cm 4 o meno nel maggiore asse; e **pT2a2** per lesione visibile clinicamente di più di cm 4 nel maggiore asse)

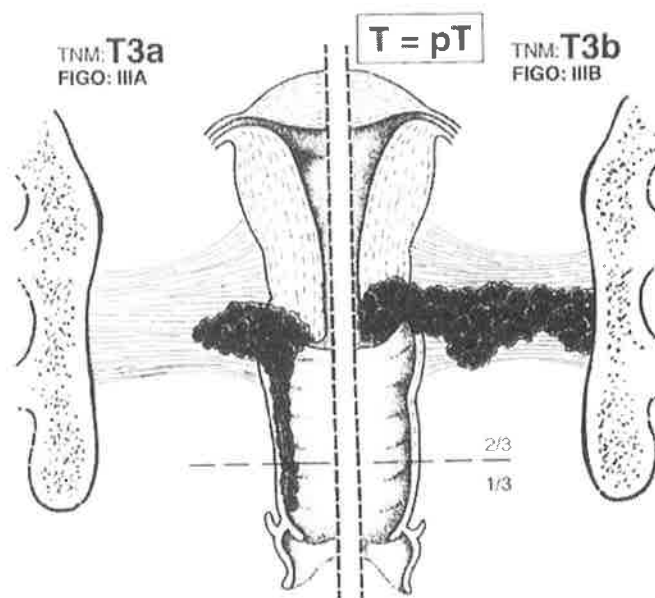
**pT2b** Neoplasia extrauterina che risparmia il 3° inferiore della vagina e la parete pelvica con infiltrazione parametriale



**pT3 – III FIGO** Neoplasia extrauterina che infiltra il 3° inferiore della vagina

**pT3a** Neoplasia extrauterina che infiltra il 3° inferiore della vagina senza estensione alla parete pelvica

**pT3b** Neoplasia extrauterina che infiltra la parete pelvica ed è causa di idronefrosi o di esclusione funzionale del rene



**pT4 – IV FIGO**

**pT4** Neoplasia extrauterina che infiltra la mucosa vescicale, il retto o si estende oltre la piccola pelvi

TNM: T4  
FIGO: IVA



**Nx** Linfonodi regionali assenti

**N0** Linfonodi regionali esenti da metastasi (almeno 10 linfonodi)

**N1** Linfonodi regionali metastatici

**Mx**

**M0** Assenti metastasi

**M1** Metastasi a distanza

**BIBLIOGRAFIA**

1. College of American Pathologist 2005
2. Standards and minimum dataset for reporting cancers. Minimum dataset for the histopathological reporting of cervical neoplasia. The Royal College of Pathologist. 2001 London
3. Robboy SJ, Fraus FT, Kurman RJ. Gross description, processing and reporting of gynaecologic and obstetric specimens. In Kurman RJ (ed) Blaustein's Pathology of the female genital tract. 4th Edn. New York 2002 Springer Verlag
4. Derek C. Allen, R. Lain Cameron. Histopathology specimens. Clinical, pathological and laboratory aspects. 2004 Springer Verlag
5. Juan Rosai. Guidelines for handling of common and important surgical specimens. In Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 9° Edn. 2004 Mosby
6. Fattaneh A. Tavassoli, P. Devilee. Pathology & Genetics. Tumors of the breast and female genital organs. IARC Press Lyon 2003
7. Dissection and reporting of the organs of the female genital tract. M K Heatley. J Clin Pathol 2008;61:241-257.
8. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Second Edition. IARC 2008
9. American Joint Committee on Cancer. Cancer Staging Manual. 7th Edn. Chicago, IL. 2009 Springer