

somma globale richiesta è stata di quattro volte la somma disponibile, e pertanto un rigido sistema di "peer review" e di supervisione del Comitato scientifico ha dovuto selezionare solo 55 proposte con un finanziamento medio non elevato ma neanche trascurabile in riferimento a parametri nazionali.

Le linee generali del primo progetto di ricerca sulla tubercolosi sono articolati sugli obiettivi di seguito indicati:

1) Epidemiologia dell'infezione e della malattia tubercolare. I dati epidemiologici disponibili sulla diffusione della tubercolosi in Italia, sui gruppi a maggiore rischio e sull'impatto di tale patologia sono molto frammentari e, quindi, insufficienti. Poiché il primo e più importante obiettivo è rappresentato dalla descrizione, a livello nazionale, della diffusione della tubercolosi in Italia, è stato privilegiato il finanziamento di progetti di ricerca multicentrici, in grado di fornire dati affidabili relativi al contesto italiano.

L'attuale sistema, basato esclusivamente sulla notifica obbligatoria dei casi di tubercolosi, presenta numerose carenze in termini di copertura, accuratezza dei dati, tempestività, come evidenziato da alcuni studi su popolazioni limitate. E' compito specifico di alcune unità centrali dell'Istituto Superiore di Sanità eseguire e coordinare gran parte di queste attività di ricerca che sono mirate a valutare i limiti del sistema e sperimentare nuovi flussi informativi, inclusa la fattibilità di un sistema di sorveglianza parallelo basato sulle notifiche da parte del laboratorio, come avviene nella maggior parte dei paesi europei. Nel condurre tale analisi, verrà stimata l'entità della sottonotifica, in modo da quantificare la reale diffusione della tubercolosi nel paese.

L'incidenza di infezione rappresenta un indicatore molto più sensibile e accurato della circolazione del micobatterio nella comunità, rispetto all'incidenza di malattia. Un obiettivo del progetto è, quindi, rappresentato dall'esecu-

zione di indagini sulla frequenza di cutipositività in popolazioni "sentinella".

In Italia non esistono dati a livello nazionale sui gruppi di popolazioni a maggior rischio di TB (immigrati, soggetti HIV⁺ ed altri). Sembra quindi prioritario ottenere stime su tale fenomeno e valutare l'opportunità di sistemi di sorveglianza attiva in tali gruppi di popolazione.

Nonostante siano noti i principali fattori di rischio associati all'infezione o malattia tubercolare, vi sono ancora molti quesiti in attesa di risposta. E' quindi importante approfondire i fattori che influenzano la trasmissione di tubercolosi in soggetti ad alto rischio e nella popolazione generale e i fattori associati con la progressione a malattia tubercolare.

2) *Diagnosi dell'infezione tubercolare.* La messa a punto di protocolli diagnostici che consentano sia una rapida identificazione di *M. tuberculosis* dopo l'isolamento microbiologico che il riconoscimento del batterio direttamente dal campione clinico è di fondamentale importanza, dati i lunghi tempi di crescita del micobatterio, non solo per poter iniziare una terapia adeguata nel singolo paziente ma anche per evitare la diffusione dell'infezione nella comunità. Tali metodi hanno, inoltre, solitamente il vantaggio di non necessitare di lunghe manipolazioni del campione come quelle richieste dai metodi tradizionali e sono in grado, pertanto, di garantire un minor livello di rischio per l'operatore.

Negli ultimi anni sono stati messi a punto svariati sistemi commerciali basati su sonde specifiche e sulla PCR. Finora tuttavia l'impatto di queste nuove metodiche sulla diagnostica è stato abbastanza modesto, sia per la bassa sensibilità dei metodi che utilizzano sonde di DNA (di poco superiore ad un esame batterioscopico), sia d'altra parte per l'estrema sensibilità della PCR che rende difficilmente correlabile la positività al test con la diagnosi clinica di malattia. Un ulteriore problema è poi rappresentato dalla grande variabilità di risultati ottenuti con la PCR fra un

laboratorio e l'altro, nonché le false positività. Vi sono quindi ampi spazi di ricerca sia per un miglioramento della specificità e semplificazione di queste tecniche sia per studi multicentrici di valutazione dell'affidabilità dei test commerciali e dei controlli di qualità inerenti a tutte le nuove procedure utilizzate.

Un'altra via da esplorare è quella della risposta anticorpale dell'ospite a componenti batteriche. In passato tale approccio non ha dato i risultati sperati sia per la non specificità degli antigeni scelti, sia per la difficoltà di discriminare i malati dai tubercolino-positivi, in base al livello di risposta sierologica, sia anche per la difficile reperibilità degli antigeni purificati. L'utilità dei test sierologici come possibile completamento della diagnostica microbiologica avanzata è quindi da rivedere alla luce delle acquisizioni di biologia molecolare che rendono possibile la preparazione, in quantità utili, di antigeni purificati, e della messa a punto di reazioni sierologiche di elevata sensibilità e specificità, nonché della produzione e uso di anticorpi monoclonali per rilevare nei materiali biologici antigeni micobatterici.

3) *Patogenesi e immunità.* Nonostante che tubercolosi e micobatteri tubercolari siano conosciuti e studiati da molti anni, molti degli eventi importanti nel rapporto ospite-parassita sono tuttora da chiarire. Non conosciamo ancora, ad esempio, quali siano i meccanismi di adesione e di ingresso del batterio nelle cellule bersaglio, come esso sopravviva ai meccanismi citocidi del macrofago, attraverso quali specifici eventi patologici a livello di tessuti e organi possa provocare la malattia e la morte. Non sono neppure chiare quali siano le differenze, in termini molecolari, che portano ad una diversa patogenicità del BCG rispetto ai micobatteri tubercolari.

Negli ultimi anni si è dato nuovo impulso allo studio di biologia cellulare e molecolare dei componenti batterici, sia ai fini della comprensione della regolazione delle funzioni metaboliche, che nella loro qualità di possibili fatto-

ri di virulenza. Il tentativo di individuare epitopi protettivi, clonandone i relativi geni o sequenze geniche, spinge ad approfondire sempre più lo studio della risposta immunitaria dell'ospite; la caratterizzazione delle risposte T ai diversi componenti antigenici del micobatterio tubercolare (in particolare, ai componenti di stress), i pattern di produzione di citochine e fattori di regolazione della risposta immunitaria antitubercolare, il ruolo della risposta anticorpale nella modulazione della risposta immunitaria sono tutti argomenti da indagare, in particolare in soggetti a rischio quali i soggetti HIV⁺. Lo studio, attraverso adeguati modelli *ex vivo* e *in vivo* del rapporto ospite-parassita, può condurre da un lato all'elaborazione di strategie e strumenti per interventi mirati sia di prevenzione che terapeutici basati sull'uso di vaccini e immunomodulatori, dall'altro alla messa a punto, in sostituzione della tubercolina, di sistemi innovativi in grado di differenziare fra la risposta all'infezione tubercolare e quella al BCG o fra ipersensibilità ritardata e protezione.

4) *Terapia*. L'emergenza negli Stati Uniti di ceppi resistenti ai farmaci antitubercolari ha dato un nuovo impulso alla ricerca e allo sviluppo di nuovi chemioterapici in questo settore o all'uso, da soli o in associazione, di prodotti solitamente adoperati per altri tipi di infezione.

Un particolare interesse dovrà essere dedicato allo studio di enzimi e vie metaboliche di *M. tuberculosis*, e alla loro caratterizzazione genetica, in specie per la biosintesi di costituenti potenziali nuovi bersagli selettivi della chemioterapia.

La ricerca in quest'area dovrebbe primariamente identificare i meccanismi di resistenza dei micobatteri e come rilevarli precocemente e rapidamente, in modo da studiare protocolli terapeutici che consentano di evitarla. Dovrebbe inoltre identificare quali nuove sostanze possano essere utilmente impiegate come seconda scelta nei casi di manifesta resistenza alla terapia standard e stabilire la

durata e le modalità di terapie di mantenimento nei pazienti immunodepressi, in particolare HIV⁺. Grande importanza riveste anche lo studio del potenziale terapeutico di immunomodulatori, *in primis* citochine e antagonisti (anticitochine e recettori) nell'infezione e nella malattia tubercolare, e se sia possibile instaurare protocolli di terapia combinata fra chemioterapici ed immunomodulatori.

Sono inoltre da studiare strategie atte a migliorare la "compliance" dei pazienti ai nuovi protocolli terapeutici come pure alle variazioni o diversi fattori di modifica dei tradizionali trattamenti terapeutici.

5) *Prevenzione*. Mentre si riconosce il valore dei regimi di chemioprolifassi attuali e del vaccino BCG per la profilassi dell'infezione tubercolare, inclusa quella dei contatti, è indubbio che molti passi devono essere fatti nell'identificazione degli antigeni protettivi di *M. tuberculosis*, per poterli utilizzare magari arricchiti o trasferiti nello stesso BCG od altri vettori. E' importante altresì l'identificazione di fattori soppressivi o modulatori della risposta a *M. tuberculosis*, affinché il vaccino non induca effetti immunosoppressivi. Nonostante vari scetticismi, si ritiene che l'apporto degli anticorpi alla protezione antitubercolare non sia stato finora valutato appieno e debba quindi essere seriamente preso in considerazione.

Studi sono anche necessari per approfondire e innovare i regimi di chemioprolifassi per i soggetti altamente reattivi alla tubercolina e a rischio di infezione tubercolare polmonare ed extra-polmonare, in particolare nel soggetto HIV. Tali regimi dovrebbero anche valutare l'efficacia profilattica di nuovi farmaci, e delle modalità di nuovi schemi terapeutici atti a migliorare la "compliance" del paziente che è critica sia per il successo della profilassi nel singolo paziente, sia per evitare o limitare al minimo l'insorgenza di resistenza ai chemioterapici.

6) *Clinica e assistenza*. Sono in particolare da investigare in quest'area le nuove presentazioni cliniche che la

tubercolosi assume nel soggetto HIV⁺. E' stato già osservato come in questo soggetto le forme extra-polmonari prevalgano su quelle più classiche, e spesso si associno a epidemie di tubercolosi ospedaliera. Aspetti da approfondire ulteriormente, anche ai fini della messa in atto di nuove procedure diagnostiche e terapeutiche, sono le presentazioni cliniche nei soggetti alle varie fasce d'età, e i rapporti reciproci fra la malattia da infezione primaria recente, da riattivazione endogena o da reinfezione esogena. E' compito di questo settore la programmazione e l'esecuzione di trial diagnostici, clinico-terapeutici e/o profilattici atti a valutare nuovi metodi di diagnosi, nuovi farmaci e/o nuove combinazioni di trattamenti nel paziente tubercolotico. Per questi trial, saranno favorite le proposte multicentriche formulate sotto l'egida di gruppi di ricerca clinica già operanti nel settore.

Progetto
Valutazione dell'efficacia
a lungo termine,
dell'immunità cellulo-mediata,
della prevenzione secondaria
nei contatti familiari,
e dell'effetto della dose
di richiamo dei vaccini
acellulari contro la pertosse
(Studio PROPER)
Responsabile scientifico:
Stefania Salmaso

La sperimentazione clinica sui vaccini antipertosse terminata recentemente in Italia (Progetto "Pertosse") ha fornito una misura rigorosa dell'efficacia assoluta di 3 vaccini antipertosse somministrati a bambini entro i 6 mesi di età in tre dosi. I due vaccini acellulari utilizzati, somministrati con una formulazione trivalente DTaP (prodotti uno da Chiron Biocine e un altro da SmithKline Beecham, entrambi contenente PT, FHA e pertactina), si sono dimostrati altamente efficaci (ognuno all'84%) nel prevenire la pertosse clinica confermata con criteri di laboratorio, e associati con una bassa frequenza di effetti collaterali. Al contrario, il vaccino a cellule intere utilizzato nello studio (prodotto dalla Connaught Laboratories) ha dimostrato una bassa efficacia (36%) ed è risultato associato ad un'alta frequenza di effetti collaterali comuni e rari.

Sulla base di questi e di altri risultati dello studio, ci si aspetta che i nuovi vaccini acellulari rimpiazzeranno in

modo estensivo il vaccino a cellule intere per l'immunizzazione primaria in tutto il mondo. Comunque, rimane da determinare quale sia la persistenza della elevata protezione clinica. Ciò è importante per formulare appropriate raccomandazioni sull'uso e l'epoca delle dosi di richiamo nei programmi vaccinali dell'Italia e di altri paesi. In attesa di ulteriori informazioni, le autorità sanitarie in molti paesi formuleranno tali raccomandazioni sulla base di ciò che viene eseguito con il vaccino a cellule intere. Le evidenze disponibili circa la durata della protezione dalla pertosse nei bambini vaccinati con il prodotto a cellule intere sono contraddittorie, ma la maggior parte di esse suggerisce una diminuzione nel tempo.

La prima analisi dei dati del Progetto "Pertosse" è stata effettuata per valutare l'efficacia assoluta dei vaccini nei bambini con età media di 23 mesi. Per questa analisi, la sorveglianza ha tenuto conto degli episodi di tosse con inizio fino al 31 dicembre 1994. Tale fase è stata chiamata Stadio I del Progetto "Pertosse". Il periodo compreso tra il 1° gennaio 1995 al 30 novembre 1995 è stato chiamato Stadio II, ed è stato disegnato per esaminare l'efficacia relativa dei vaccini acellulari in condizioni ancora in cieco in un periodo di alta incidenza, a livello nazionale. Nel 1996 le osservazioni sono proseguite con metodi inalterati, ma in condizioni non cieche. Tale prosecuzione dello studio è stata denominata Stadio III del Progetto "Pertosse" o Studio PROPER.

La struttura generale per la raccolta dei dati e dei campioni biologici nello studio PROPER è stata mantenuta e riorganizzata nel 1996: in particolare, è stata mantenuta la sorveglianza attiva continuativa della maggior parte dei bambini che hanno originariamente ricevuto uno dei vaccini antipertosse acellulari, è stato ricostituito un gruppo di controllo di bambini non vaccinati che sono stati arruolati

nello studio osservazionale, dopo verifica dell'assenza di anticorpi per pertosse. Inoltre, è stata avviata un'ulteriore valutazione della risposta immune cellulo-mediata nei bambini vaccinati con i prodotti acellulari in confronto ai bambini non vaccinati che hanno contratto l'infezione da *B. pertussis* confermata con metodi di laboratorio.

La prosecuzione del Progetto "Pertosse" nello Studio III ha ricevuto l'approvazione etica del comitato *ad hoc* istituito presso l'ISS. Un "grant" dai National Institutes of Health statunitensi copre circa il 65% delle risorse necessarie alla conduzione dello studio. Il resto del finanziamento è stato richiesto all'ISS nel capitolo dei fondi 1% del 1996 (non ancora disponibili) e alle regioni partecipanti (una regione ha stipulato una convenzione con fondi 1996).

L'obiettivo primario del PROPER è la valutazione dell'efficacia in epoca prescolare (fino ai sei anni di età) della vaccinazione eseguita nel primo anno di vita con i nuovi vaccini antipertosse, che sono ora di largo uso in Italia. Di fatto lo studio PROPER è l'unico studio al mondo in grado di fornire dati scientifici in base ai quali decidere la necessità e i tempi della somministrazione di dosi di richiamo dei due vaccini acellulari antipertosse europei. I risultati del PROPER quindi sono attesi anche a livello internazionale, dato l'acceso dibattito corrente circa i calendari e i vaccini da adottare per la prevenzione della pertosse.

L'attività prevista per il prossimo triennio, fino al 1999, sarà incentrata sulla sorveglianza della pertosse e su valutazioni di immunogenicità e immunità cellulo-mediata a distanza. Inoltre è allo studio la proposta di effettuare una dose di vaccino come richiamo, in epoca prescolare, per i bambini della coorte che a settembre 1998 inizieranno la scuola elementare. Tale offerta di vaccinazione, se eseguita con vaccini omologhi a quelli utilizzati nella sperimentazione iniziale, permetterà la valutazione della reattogenicità alla quarta dose di vaccino.

Progetto
Valutazione della lettura
dei preparati citologici
cervico-vaginali mediante
analisi automatica
delle immagini
con PAPNET.
Progetto VALPAP
Responsabile scientifico:
Margherita Branca

E' stato dimostrato che programmi di screening ben organizzati sono efficaci nel ridurre incidenza e mortalità del cervico-carcinoma invasivo. Lo screening è in grado di individuare le lesioni precorritrici del carcinoma cervicale (SIL di basso grado e SIL di alto grado), prima che queste possano evolvere in forme invasive. Componente fondamentale dei programmi di screening è il monitoraggio sistematico dell'accuratezza e riproducibilità diagnostica. La lettura al microscopio è un processo complesso il cui risultato dipende completamente dal giudizio umano. Da un punto di vista tecnico la lettura prevede che i citologi e il supervisore siano specificamente addestrati in centri accreditati e competenti. Va sottolineata l'importanza della formazione continua dei professionisti sanitari: a questo proposito va sottolineata l'importanza dei "test di competenza" periodici (aptitude test), che sono anche suggeriti da norme europee. Test di competenza sperimentati secondo le norme CEE per citotecnici e per anatomopatologi nel campo della citodiagnostica da screening (cervico-vaginale) sono già stati effettuati in numerosi paesi europei e anche in Italia, presso l'Istituto Superiore di Sanità e alcune università italiane (Padova, Torino, Sassari, Napoli), con il patrocinio dell'Associazione Italiana di Citologia (AIC), della Società Italiana di Anatomia Patologica e Citopatologia Diagnostica (SIAPEC) e dello European Community Training Project for Cervical Cancer Screening (ECTP/CCS), ora divenuto European Federation of Cytology Societies/Committee of Quality Assurance Training and Education (EFCS/QUATE).

Il carico di lavoro per singolo citologo non dovrebbe superare i 50 vetrini al giorno. Al lettore è richiesta la massima attenzione, soprattutto perché talora le cellule anormali presenti in uno striscio sono relativamente scarse.

Numerosi studi hanno dimostrato come le diagnosi citologiche possano presentare notevoli variazioni e come a volte nei laboratori possa essere elevata la percentuale dei falsi negativi (5-45%). Altri studi hanno dimostrato come la

riproducibilità delle diagnosi tra laboratori diversi presenta a volte indici kappa di concordanza piuttosto bassi.

Il raggiungimento di alti livelli di qualità diagnostica citologica è possibile se vengono sistematicamente adottati programmi di monitoraggio di qualità che tengono sotto controllo le principali cause di errore: a) errore di tecnica di prelievo; b) errore di allestimento del vetrino; c) errore di prima lettura (screening); d) errore di supervisione.

Il controllo di qualità si distingue in "interno" ed "esterno". Il controllo di qualità interno si riferisce a tutte quelle procedure di controllo che si attuano quotidianamente all'interno del laboratorio, come il riesame dei negativi, il confronto, nei casi positivi, delle diagnosi citologiche precedenti dello stesso soggetto, la correlazione cito-istologica e il monitoraggio statistico delle diagnosi per singolo citologo. Il controllo di qualità esterno si basa essenzialmente nella distribuzione di vetrini a più centri e nel confronto delle diagnosi sui medesimi vetrini.

Per quanto riguarda il rescreeing dei negativi, la soluzione ottimale sarebbe il loro riesame totale, pratica piuttosto onerosa. A questo proposito è stata suggerita la revisione casuale di una parte dei negativi (10%): tale necessità è piuttosto controversa. Si sostiene che la resa di questo controllo (il numero di vetrini falsi negativi identificati) è molto bassa e che il tempo di lavoro del supervisore è troppo prezioso per impiegarlo in questo modo. Al metodo della revisione del 10% si preferisce attualmente, specialmente in Gran Bretagna, il sistema cosiddetto della "revisione rapida". Tutti i vetrini (con l'aggiunta eventuale di qualche vetrino positivo "seminato", vengono passati in rassegna rapidamente a piccolo ingrandimento (obiettivo 10 X) per un tempo medio di 30 secondi per vetrino da parte di tecnici appositamente addestrati.

Un rescreeing totale dei negativi potrebbe essere effettuato in alternativa col sistema automatico PAPNET. Il PAPNET consiste di 2 sottosistemi indipendenti l'uno dal-

l'altro e con funzioni distinte:

1) lo "scanner" localizzato in una stazione centrale di analisi, che seleziona, in ciascun striscio cervicale, 2 set di 64 (128) campi di immagine o "formelle", che vengono poi registrate su nastro digitale.

2) la "review station", situata in un laboratorio di citologia, che viene utilizzata dal citologo per esaminare le formelle in cui lo scanner ha riscontrato la presenza di cellule anormali.

Alcuni autori, tra i quali Rilke, Kish, Slagel, Kharazi e Mango, hanno pubblicato lavori di valutazione della sensibilità e specificità del sistema nel rescreeing degli strisci cervico-vaginali.

I vantaggi del rescreeing attuato con il supporto del PAPNET possono essere così riassunti: 1) il citologo osserva immagini non più in movimento, ma statiche, con minore probabilità di commettere errori per stanchezza; 2) le cellule anormali, provenienti da varie parti dello striscio, compaiono nelle formelle l'una accanto all'altra; 3) si attua un risparmio di tempo per il rescreeing, in quanto in una giornata si possono esaminare un maggior numero di strisci.

Il progetto di ricerca multicentrico VALPAP, in fase di attuazione, ha confermato questi aspetti positivi.

D'altra parte, da alcuni dati preliminari della sperimentazione in corso risulta che il sistema PAPNET può presentare alcuni svantaggi: 1) impossibilità di eseguire la scansione di tutto il preparato quando questo sia strisciato su di un'area molto ampia che supera i limiti previsti dal sistema, o quando esso sia in parte coperto dal codice a barre; 2) difficoltà di identificazione degli elementi anormali in presenza di abbondante materiale ematico/necrotico che sembra "accecare" il sistema; 3) talora i quadri presentati nelle formelle PAPNET non corrispondono ai quadri maggiormente significativi nel medesimo vetrino; si è notato ad esempio, in alcuni casi, che quadri patognomnici di infezione virale od altro si trovano nelle immediate vicinan-

ze dell'elemento prescelto dall'apparecchio; 4) una certa predilezione per la scelta degli artefatti, in particolare i cosiddetti "cornflake"; 5) selezione preferenziale di campi con molti leucociti e/o istiociti; 6) costi elevati.

Il Progetto VALPAP è uno studio multicentrico promosso e coordinato dall'ISS, con finanziamento 1% del Fondo Sanitario Nazionale. Partecipano al progetto 8 Centri di riferimento di citopatologia, ciascuno fornito di stazione PAPNET: 1) Department of Cytopathology and Cytogenetics, St. Mary Hospital Medical School, London; 2) Servizio di Anatomia, Istologia Patologica e Citodiagnostica, Università di Trieste; 3) Dipartimento di Scienze Biomediche e Oncologia Umana, Università di Torino; 4) Servizio di Anatomia Patologica e di Citopatologia, Ospedale S. Pietra Ligure, Savona; 5) Servizio di Anatomia Patologica e di Citodiagnostica, Ospedali Riuniti S. Chiara, Pisa; 6) Dipartimento di Medicina Sperimentale, I^a Cattedra di Citopatologia, Università "La Sapienza", Roma; 7) Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica, Unità di Citopatologia cervico-vaginale, Istituto Superiore di Sanità, Roma; 8) Servizio di Anatomia Patologica e di Citopatologia, Università Federico II, Napoli.

Partecipano, inoltre, 20 Laboratori pubblici selezionati in modo casuale e rappresentativi delle varie regioni italiane, sprovvisti di stazione PAPNET: 1) Servizio di Anatomia ed Istologia Patologica, USL 3, Foggia; 2) Servizio di Anatomia ed Istologia Patologica, Ospedale "Maggiore della Carità", Novara; 3) Servizio di Anatomia Patologica e di Diagnostica Istocitopatologica, Ospedale "Padre A. Micone", USL 3, Genova; 4) Servizio di Anatomia Patologica, Ospedale Regionale Valle d'Aosta, Aosta; 5) Centro Citologico, USL 5, Terni; 6) Centro Prevenzione Tumori, Azienda Ospedaliera "S. Filippo Neri", Roma; 7) Servizio di Colposcopia e Patologia cervico-vaginale, Azienda Sanitaria 10, Camerino (Macerata); 8) Servizio di Anatomia Patologica, Ospedale Grande degli Infermi, Viterbo; 9)

Servizio di Anatomia Patologica, Azienda Sanitaria 9, Sondrio; 10) Servizio di Anatomia Patologica, USL 28, Vimercate (Milano); 11) Servizio di Anatomia Patologica, Ospedale degli Infermi, Rimini; 12) Servizio di Anatomia Patologica, Ospedale Civile di Palmanova (Udine); 13) Servizio di Anatomia Patologica, Catania; 14) Servizio di Anatomia ed Istologia Patologica, Presidio Ospedaliero "Macedonio Melloni", Milano; 15) Servizio di Anatomia Patologica, Azienda Ospedaliera di Viareggio (Lucca); 16) Servizio di Anatomia Patologica, Ospedale Civile S. Maria delle Croci, Ravenna; 17) Servizio di Anatomia ed Istologia Patologica e Citologia, Azienda USL 28, Cagliari; 18) Servizio di Anatomia Patologica, USL 35, Castellammare di Stabia (Napoli); 19) Servizio di Anatomia Patologica, USL 2 di Gallipoli (Lecce); 20) Servizio di Anatomia Patologica, Ospedale S. Giovanni e Paolo, USL 11, Venezia.

Gli obiettivi del progetto possono essere così riassunti: 1) valutazione della sensibilità e specificità del sistema PAPNET rispetto alle diagnosi effettuate con screening convenzionale; 2) controllo della capacità del sistema combinato, lettura convenzionale più lettura automatica, di assicurare la riproducibilità diagnostica.

Rispetto a studi precedenti, il Progetto VALPAP mostra le seguenti caratteristiche: a) è multicentrico, comprendente 2 tipologie di laboratori; b) è effettuata la lettura in cieco (rispetto alle notizie cliniche e alla diagnosi originariamente effettuata) dei vetrini al PAPNET e al microscopio; c) prevede la revisione collegiale delle immagini dei preparati "da rivedere", ove esista discrepanza.

E' stata adottata la seguente metodologia:

a) Scelta dei vetrini. Ciascuno degli 8 laboratori di riferimento ha fornito 200 vetrini (170 negativi e 30 positivi) e ciascuno dei 20 laboratori ASL ne ha forniti 75 (60 negativi e 15 positivi). Sono stati così raccolti 1.600 vetrini consecutivi provenienti dagli 8 centri di riferimento e 1.500

vetrini consecutivi provenienti dai 20 laboratori ASL scelti in modo casuale. Il totale dei 3.100 vetrini è stato inviato ad Amsterdam per la scansione.

b) Elaborazione della scheda standardizzata. Per la lettura al PAPNET è stata approntata un'apposita scheda standardizzata in cui sono elencati i motivi per la revisione al microscopio ottico. La lettura al PAPNET e quella al microscopio ottico vanno riportate in codice nella classificazione approntata secondo il sistema Bethesda.

Lo studio si svolge in tre fasi:

1) Fase di addestramento. Ogni laboratorio di riferimento ha letto a rotazione 300 vetrini scelti consecutivamente.

2) Fase di lettura di screening. Ogni laboratorio di riferimento sottopone al PAPNET "in cieco" rispetto alla diagnosi originaria: 200 vetrini propri; 200 vetrini provenienti da un altro laboratorio di riferimento; 375 vetrini provenienti da 5 laboratori ASL, per un totale di 775 vetrini. Ogni vetrino è classificato come "negativo" o "da rivedere". Per ogni vetrino classificato "da rivedere" vengono specificati i motivi di tale decisione secondo le classificazioni riportate nella scheda di risposta. Viene richiesta una diagnosi provvisoria al sistema PAPNET per i vetrini "da rivedere" prima di passare all'esame microscopico. Sia la diagnosi provvisoria che quella al microscopio sono classificate in base alle categorie diagnostiche della scheda.

3) Seconda diagnosi al microscopio. Tutti i preparati, tranne i casi "negativi" alla diagnosi originale e al PAPNET e i casi "da rivedere" non positivi per SIL sia alla diagnosi originaria sia alla diagnosi del laboratorio partecipante, verranno rivisti da un citopatologo degli 8 centri di riferimento, "in cieco" rispetto alla diagnosi iniziale e alla diagnosi del laboratorio partecipante. In caso di discordanza tra le diagnosi, il preparato verrà rivisto indipendentemente da un secondo citopatologo e quindi i 3 citopatologi cercheranno di raggiungere una diagnosi di consenso.

Alla fine dello studio verranno effettuate analisi statistiche, al fine di valutare sensibilità e specificità della lettura dei preparati citologici cervico-vaginali mediante analisi semiautomatica delle immagini con PAPNET in rapporto alla lettura convenzionale al microscopio.

In conclusione, in un laboratorio di citopatologia è indispensabile l'adozione di sistemi di controllo di qualità intra- e interlaboratorio.

Va sottolineato come l'utilizzo attuale del sistema PAPNET per la revisione dei negativi e quindi come metodica di controllo di qualità è possibile a due condizioni: conoscenza approfondita e grande esperienza citopatologica del lettore al microscopio ottico; b) esperienza e confidenza di lettura al PAPNET, raggiungibile solo con un periodo di addestramento al video di almeno 300-500 campioni.

La sperimentazione proposta approfondirà e chiarirà, nel suo prosieguo, altri aspetti dell'utilizzo del sistema PAPNET (ad esempio l'utilizzo in prima istanza come screening primario).

PAGINA BIANCA