

Poročilo o poteku študije za uvajanje tekočinske tehnologije v Sloveniji

Veronika Kloboves Prevodnik¹, Mojca Florjančič², Tine Jerman², Jerneja Kos¹,
Urška Ivanuš²

¹ Oddelek za citopatologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška 2, 1000 Ljubljana

² Državni program ZORA, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška 2, Ljubljana

Povzetek

Evropske smernice za zagotavljanje kakovosti v presejanju za raka materničnega vratu (RMV) iz leta 2015 so državam članicam Evropske zveze naložile, naj proučijo možnost spremembe presejalne politike v organiziranih presejalnih programih za raka materničnega vratu. Pri ženskah, starejših od 35 let in cepljenih proti okužbi s HPV, naj bi namesto citološkega pregleda brisa materničnega vratu (BMV) uporabljal test HPV in refleksno triažo pri HPV pozitivnih ženskah. V Sloveniji z obstoječo tehnologijo, ki jo uporabljamo v državnem programu za zgodnje odkrivanje predrakavih sprememb materničnega vratu (DP ZORA), ta sprememba zaenkrat ni mogoča. Zato smo v DP ZORA leta 2016 pripravili strokovno srečanje z naslovom »Sodobne rešitve v presejanju za RMV«, da bi ginekologe, patologe, presejalce in druge, ki sodelujejo v DP ZORA, seznanil z novostmi na področju primarnega HPV presejanja, triažo HPV pozitivnih žensk in s pomenom tekočinske citologije (TC). Ker smo se v DP ZORA zavedali, da bo brez lastnih izkušenj težko sprejemati odločitve o spremembah presejanja za RMV, smo pričeli razmišljati o idejni zasnovi študije, s katero bi pridobili lastne izkušnje na področju primarnega HPV presejanja, triaže HPV pozitivnih žensk in TC, ki je predpogoj za uvajanje primarnega HPV presejanja in refleksne triaže HPV pozitivnih žensk. Priprave na študijo so potekale 2 leti. V tem času smo pripravljali protokole za študijo in se pogovorili s proizvajalci tekočinske tehnologije, ki bi bili pripravljene sodelovati v študiji. Odločili smo se, da bo študija potekala v dveh delih. Namen prvega dela študije je bila pripraviti učne zbirke preparatov za učenje TC in usposobiti slovenske presejalce in citopatologe za ocenjevanje preparatov TC. Namen drugega dela pa je bil testirati, kateri od štirih komercialnih transportnih medijev (SurePath, ThinPrep, Novaprep® HQ+ in LBC medium Roche) je najprimernejši za triažo HPV+ žensk. Prvi del študije »Pilotna raziskava za umestitev TC v državni presejalni program za zgodnje odkrivanje predrakavih sprememb materničnega vratu ZORA« se je pričel septembra 2019 z uvodno mikroskopsko delavnico »Diagnostika predrakavih in rakavih sprememb na materničnem vratu v vzorcih TC«. Delavnico sta vodila priznana strokovnjaka iz Združenih držav Amerike prof. Cristopher VandenBussche iz Johns Hopkins University School of Medicine in prof. Michael J. Thrall iz Houston Methodist Hospital. Na delavnici so slovenski presejalci in citopatologi dobili prve izkušnje z ocenjevanjem preparatov ginekološke TC. V začetku leta 2020 so se pričeli zbirati vzorci v transportni medij SurePath. Zaradi epidemije COVID-19 se je v marcu zbiranje vzorcev povsem ustavilo, kasneje pa je po ponovnem začetku zbiranja zaradi težkih razmer v slovenskih bolnišnicah potekalo zelo počasi. Kljub temu smo v DP ZORA v prvi polovici 2021 uspeli organizirati delavnico za ocenjevanje preparatov TC SurePath, ki jo je vodila Anneke van Driel iz Nizozemske. Teoretični del delavnice je potekal preko spleta, praktični del pa v živo v Sloveniji z mikroskopiranjem preparatov TC SurePath. Poleti 2021 se je zaključilo zbiranje vzorcev v transportni medij SurePath. V DP ZORA smo organizirali ocenjevanje preparatov TC SurePath v slovenskih citoloških laboratorijih, ki za DP ZORA pregledujejo BMV. Ker je zaradi epidemije COVID 19 zbiranje vzorcev TC potekalo zelo počasi, smo se v DP ZORA odločili, da je treba študijo pospešiti, zato se je v marcu 2021 pričelo zbiranje vzorcev v transportni medij ThinPrep. Med potekom raziskave sta dva proizvajalca odstopila od raziskave, zato je bila sprejeta odločitev, da bomo študijo izvedli v skladu s protokolom le z dvema transportnima medijema, SurePath (BD) In ThinPrep (Hologic). Pričakujemo, da bo prvi del študije zaključen do konca leta 2022, ko predvidevamo tudi začetek drugega dela študije.

Ključne besede: presejanje RMV, program ZORA, tekočinska citologija (TC), pilotna raziskava

Uvod

Odkritje, da je okužba z visoko tveganim genotipom HPV nujen predpogoj za nastanek RMV, je omogočilo razvoj številnih molekularnih testov, ki temeljijo na določanju prisotnosti DNA/RNA HPV v BMV (1). Izsledki randomiziranih kliničnih poskusov in metaanaliz, ki so pokazali, da je test HPV bolj občutljiv za odkrivanje CIN2+ v primerjavi s citologijo (2, 3), so vodili v nova priporočila (4). Tako Evropske smernice za zagotavljanje kakovosti v presejanju za RMV (angl. *European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening*) državam članicam Evropske zveze predlagajo, da proučijo možnost spremembe presejalne politike v organiziranih presejalnih programih za RMV. Pri ženskah, starejših od 35 let in cepljenih proti okužbi s HPV, naj bi namesto citološkega pregleda BMV uporabljali test HPV. Svetujejo refleksno testiranje, kar pomeni, da se iz enega vzorca naredi presejalni HPV-test in triažni test (citologijo, dvojno p16/Ki-67 imunocitokemično barvanje (ICK), genotipizacijo HPV16 in HPV18 ali kak drug obetaven molekularni test) (4). Tega v Sloveniji z obstoječo tehnologijo, ki jo uporabljamo v državnem programu za zgodnje odkrivanje predrakavih sprememb materničnega vratu (DP ZORA), zaenkrat ni mogoče narediti.

V Sloveniji še vedno uporabljamo konvencionalno citologijo. Za uvajanje TC do sedaj ni bilo potrebe, saj smo s konvencionalno citologijo dosegali odlične rezultate. Zaradi novih smernic in vstopa prvih generacij deklic, cepljenih proti HPV v program ZORA, se tudi v Sloveniji pripravljamo na spremembo presejalne politike za odkrivanje RMV in uvedbo primarnega presejanja s testom HPV pri izbranih skupinah žensk, pri čemer je predpogoj uvedba TC, ki omogoča refleksno testiranje, kjer iz enega vzorca naredimo presejalni test in enega ali več triažnih testov.

Tehnologija TC se je razvila, ker ima konvencionalna citologija nekatere omejitve. Pri TC se celice po odvzemu BMV namesto na steklo prenesejo v tekočinski medij. Po svoji sestavi je medij fiksativ, ki ohrani morfološke, antigenske in molekularne lastnosti celic. Celice, suspendirane v mediju, se nato z metodo filtracije ali sedimentacije v posebnem aparatu naneajo na stekelca in pobarvajo po metodi Papanicolaou. Najpogosteje uporabljena medija pri metodi TC sta ThinPrep (Hologic, Marlborough, MA, ZDA) in BD SurePath™ (BD, Franklin Lakes, NJ, ZDA). Na tržišču sta dostopna še medija Roche Cell collection medium podjetja Roche (Basel, Švica) ter NOVAPrep podjetja Novacyt (Vélizy-Villacoublay, Francija), ki je sedaj v

lasti Palex Medical (Barcelona, Španija). Čeprav uporaba TC zmanjša število neuporabnih vzorcev, nima večjega učinka na občutljivost in specifičnost testa. Nizka občutljivost je tako še vedno glavna omejitev tako konvencionalne kot TC (5). Dodatna omejitev je slaba ponovljivost rezultatov, ki je posledica razlik v ocenjevanju morfoloških lastnosti celic v preparatih, tako med laboratoriji kot med ocenjevalci. Zato se občutljivost in specifičnost citologije pomembno razlikujeta med različnimi laboratoriji in med ocenjevalci (6).

Ocenjevanje preparatov, narejenih iz tekočinskih vzorcev, je specifično, saj se morfološke značilnosti celic v preparatih TC in pri konvencionalni citologiji, ki jo uporabljamo v Sloveniji, razlikujejo. Zato je slovenske presejalce in citopatologe nujno izšolati za ocenjevanje preparatov, narejenih iz tekočinskega vzorca. Izkušnje iz tujine kažejo, da se ob prehodu na TC lahko zmanjšata tako občutljivost kot predvsem specifičnost, še posebej, če so bili rezultati konvencionalne citologije zelo dobri. Z uvedbo TC v Slovenijo in v DP ZORA se občutljivost in specifičnost citologije za odkrivanje CIN2+ ne smeta zmanjšati, saj bi s tem ogrozili zdravje slovenskih žensk in dobre rezultate DP ZORA. Zato smo pripravili pilotno študijo, s katero želimo TC varno umestiti v vse citopatološke laboratorije, ki sodelujejo v DP ZORA. Poleg tega se pripravljamo tudi na nadaljevanje študije, ker se želimo seznaniti z validiranimi molekularnimi testi, primernimi za primarno HPV- presejanje in opredeliti triažo HPV-pozitivnih žensk, ki bi bila najbolj primerna za slovenske razmere.

Priprave na študijo

V Evropskih smernicah za zagotavljanje kakovosti v presejanju za RMV leta 2015 (4), so državam članicam Evropske zveze priporočili, naj preučijo možnost za zamenjavo citološkega presejalnega testa (PAP-test) za odkrivanje RMV, z bolj učinkovitim testom HPV. Takrat smo tudi v DP ZORA ugotovili, da se bomo morali v naslednjih nekaj letih odločiti o pomembnih spremembah presejalne sheme, kar bo povezano s spremembami v organizaciji dela izvajalcev in s spremenjenimi stroški programa. Vzrok za spremembe so nova spoznanja in razvoj tehnologije na področju okužb s HPV, pa tudi vstop cepljenih generacij deklic v presejalni program.

Zato smo na DP ZORA na pobudo dr. Urške Ivanuš in prof. dr. Maria Poljaka, že konec poletja 2016 pripravil strokovno srečanje »Sodobne rešitve v presejanju



Slika 1. Predstavitev testa Xpert HPV (Cepheid) na delavnici »Sodobne rešitve v presejanju za raka na materničnem vratu«.

za raka na materničnem vratu«, ki je potekalo na Onkološkem inštitutu Ljubljana (Slika 1). Namen srečanja je bil ginekologe, patologe, presejalce in druge, ki sodelujejo v DP ZORA, seznaniti z novostmi na področju primarnega HPV presejanja, triaže HPV pozitivnih žensk in s pomenom TC. Na srečanje smo povabili številne proizvajalce validiranih testov HPV, testa p16/Ki-67 in TC, da so predstavili svoje rešitve za presejanje za RMV (7).

Avstralija in Nizozemska sta bili prvi državi, ki sta za presejanje za RMV leta 2017 namesto citologije pričeli uporabljati test HPV. V obeh državah so se na spremembo presejalne politike pripravljali dalj časa. Opravili so številne študije, da bi ugotovili, kakšna presejalna politika bi bila najučinkovitejša za zmanjševanje bremena RMV in hkrati tudi stroškovno vzdržna. Čeprav se iz izkušenj držav, ki so v presejalne programe že uvedle primarno HPV presejanje, lahko veliko naučimo, pa je presejanje za RMV v vsaki državi specifično. Zato v državah Evropske zveze kjer se pripravljajo na primarno HPV presejanje, potekajo študije, s katerimi želijo države ugotoviti, kateri presejalni testi HPV in kakšna triaža HPV pozitivnih žensk bi bili najučinkovitejši za njihovo državo. Tudi v DP ZORA smo se zavedali, da bomo brez lastnih izkušenj težko sprejemali odločitve o spremembi presejalne politike za RMV. Zato smo doc. dr. Urška Ivanuš (sedanja vodja DP ZORA), prof. dr. Mario Poljak in prof. dr. Veronika Kloboves Prevodnik, (člana molekularne skupine pri DP ZORA), skupaj z Anjo Oštrbenk Valenčak in mlado raziskovalko Jernejo Kos pričeli razmišljati o idejni zasnovi študije, s katero bi pridobili lastne izkušnje na področju primarnega HPV-presejanja, triaže HPV pozitivnih žensk in TC, ki je predpogoj za uvajanje primarnega HPV-presejanja in refleksne triaže HPV pozitivnih žensk. Zavedali smo se, da bo študija velik finančni zalogaj, zato smo k sodelovanju

v študiji povabili vodilne proizvajalce na področju avtomatiziranega presejanja za RMV s testi HPV in TC. Pripravili smo idejno zasnovo študije in k sodelovanju povabili štiri proizvajalce: Hologic, Becton Dickenson (BD), Roche ter Novacyt, ki je sedaj v lasti Palex Medical. Pogovori s proizvajalci so potekali od spomladi 2018 do jeseni 2019.

Idejna zasnova študije, ki je bila podlaga za pogovore s proizvajalci, je imela dva dela. Namen prvega dela je bil pripraviti učno zbirko preparatov za učenje TC in usposobiti slovenske presejalce in citopatologe za ocenjevanje preparatov TC. Namen drugega pa je bil testiranje primernosti štirih komercialnih transportnih medijev (SurePath, ThinPrep, Novaprep® HQ+ in LBC medium Roche) za triažo HPV+ žensk. Značilnosti in dosežke presejalnega programa ZORA ter idejno zasnovo študije smo predstavili proizvajalcem, da bi jih pridobili za sodelovanje v študiji. Z vsemi proizvajalci smo imeli več zahtevnih in težkih pogovorov, da smo uskladili zasnovo študije. Dogovorili smo se, da sta predpogoja za sodelovanje v študiji lasten tekočinski medij in aparat za pripravo vzorcev TC, ki ga bo za potrebe študije potrebno inštalirati na Onkološkem inštitutu Ljubljana. Po uspešnih pogovorih so se proizvajalci zavezali, da bodo študijo finančno podprli s potrebnimi reagenti, aparati in učnimi delavnicami. Dogovorili smo se, da bo študija v skladu z njeno idejno zasnovo potekala v dveh delih in da je pogoj za začetek drugega dela uspešno zaključen prvi del.

Po dogovoru s proizvajalci smo za prvi del študije pripravili vlogo za Komisijo Republike Slovenije za medicinsko etiko (KME), ki jo je pregledal in odobril strokovni svet DP ZORA. Za vodjo študije je bila imenovana Veronika Kloboves Prevodnik. KME je ocenila, da je raziskava z naslovom »Pilotna raziskava za umestitvev TC v državni presejalni program za zgodnje odkrivanje predrakavih sprememb materničnega vratu ZORA« etično sprejemljiva in za njeno izvedbo 16. julija 2019 (št. 0120-329/2019/8) izdala svoje soglasje. Po izdanem soglasju KME je Onkološki inštitut Ljubljana (OIL), ki je nosilec DP ZORA, s proizvajalci podpisal pogodbe o sodelovanju v študiji. Sodelujočim v DP ZORA smo študijo predstavili na različnih strokovnih srečanjih: i) Mikroskopska delavnica ginekološke TC, 17. september 2019, ii) Sestanek za ginekologe, 30. september 2019, iii) Izobraževalni dan programa ZORA, 12. november 2019. Pred začetkom študije in tudi med njenim izvajanjem smo organizirali številna kratka izobraževanja za vse sodelujoče v študiji, da bi zagotovili njen optimalen potek in dobre rezultate.

Cilji in povzetek protokola prvega dela študije »Pilotna raziskava za umestitev TC v Državni presejalni program za zgodnje odkrivanje predrakavih sprememb materničnega vratu ZORA«

V prvem delu študije smo si zastavili naslednje cilje:

- ugotoviti, kateri transportni mediji in aparati za pripravo tekočinskih citoloških vzorcev so najprimernejši za pripravo vzorcev za TC in obenem najbolj prilagojeni slovenskim razmeram in značilnostim presejalnega programa z vidika kompleksnosti in časa priprave vzorcev, sledljivosti in stroškov preiskave;
- pridobiti prve izkušnje z ginekološko TC v Sloveniji;
- izdelati nacionalno učno zbirko preparatov konvencionalne in TC za citološko oceno (vsaka ženska ima konvencionalni bris in preparat TC);
- usposobiti slovenske presejalce in citopatologe za zanesljivo ocenjevanje preparatov ginekološke citopatologije, pripravljene iz tekočinskih vzorcev;
- pripraviti preparate za validacijo dvojnega p16/Ki-67 ICK barvanja iz vzorcev, shranjenih v različnih transportnih medijih.

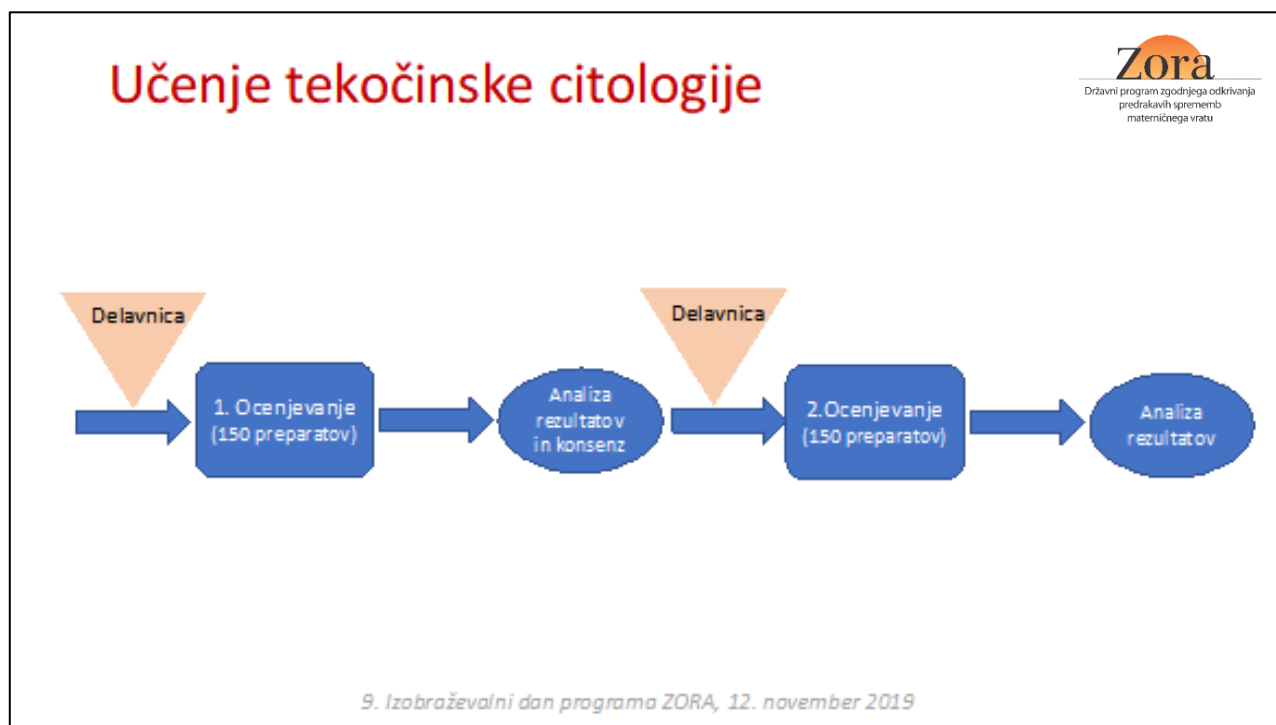
V študijo smo želeli vključiti 1.200 žensk, od tega 800 žensk, ki bodo v skladu s slovenskimi smernicami napotene na kolposkopijo in 400 žensk, ki bodo v skladu s smernicami prišle na presejalni pregled ZORA. Ginekolog naj bi vsaki ženski, ki bo prostovoljno pristala

na sodelovanje v raziskavi, odzvel dva BMV, enega za klasično citologijo in drugega za TC. Načrtovali smo, da bomo v študijo vključili štiri transportne medije ThinPrep (Hologic), BD SurePath™ (BD), Roche Cell collection medium (Roche) ter NOVAprep (Novacyt, ki je sedaj v lasti Palex Medical). Za vsako vrsto medija naj bi pridobili 300 vzorcev (Slika 2). Iz vzorca TC bi nato pripravili en preparat z ustreznim aparatom za pripravo vzorcev TC za citološko oceno in enega za validacijo dvojnega p16/Ki-67 ICK barvanja. Preostanek vzorca bi razdelili na manjše dele (aliquotirali) in jih shranili na -70°C za nadaljnje raziskave. Vse ženske, vključene v raziskavo, so pred tem podpisale Izjavo o zavestni in svobodni privolitvi za sodelovanje v raziskavi po pojasnilu (8).

K ocenjevanju vzorcev TC smo povabili vse presejalce in citopatologe, ki sodelujejo v DP ZORA. Pred začetkom ocenjevanja preparatov bo na sedežu DP ZORA organizirano šolanje za oceno preparatov TC (Slika 3). Preparate TC bodo ocenjevali na enak način kot konvencionalne BMV. Imeli bodo podatke o starosti ženske, menstrualnem ciklusu in razlogih za odvzem BMV. Po zaključenem ocenjevanju bomo za vse ocenjevalce preverili skladnost citoloških ocen med ocenjevalci in laboratoriji ter ocenili zanesljivost testa za detekcijo CIN2+. Ženske bodo na nadaljnjo obravnavo napotene v skladu s smernicami, obravnavana žensk se zaradi raziskave ne bo spremenila. Ocenjevanje preparatov TC bo potekalo v vseh citopatoloških laboratorijih, ki so vključeni v DP ZORA (8).



Slika 2. Shematski prikaz poteka prvega dela študije.



Slika 3. Shematski prikaz ocenjevanja preparatov TC.

Uvodni teoretični in praktični delavnici bo sledilo pregledovanje prvih 150 preparatov TC. Preparate bodo pregledali vsi presejalci in citopatologi, ki sodelujejo v DP ZORA. Sledila bo analiza rezultatov ocenjevanja, ki bo služila za pripravo nadaljevalne delavnice, kjer si bodo presejalci in citopatologi lahko ogledali preparate, s katerimi so imeli v prvem ocenjevanju največ težav. Sledilo bo ocenjevanje drugih 150 preparatov in analiza rezultatov.

Cilji in predlog protokola drugega dela študije

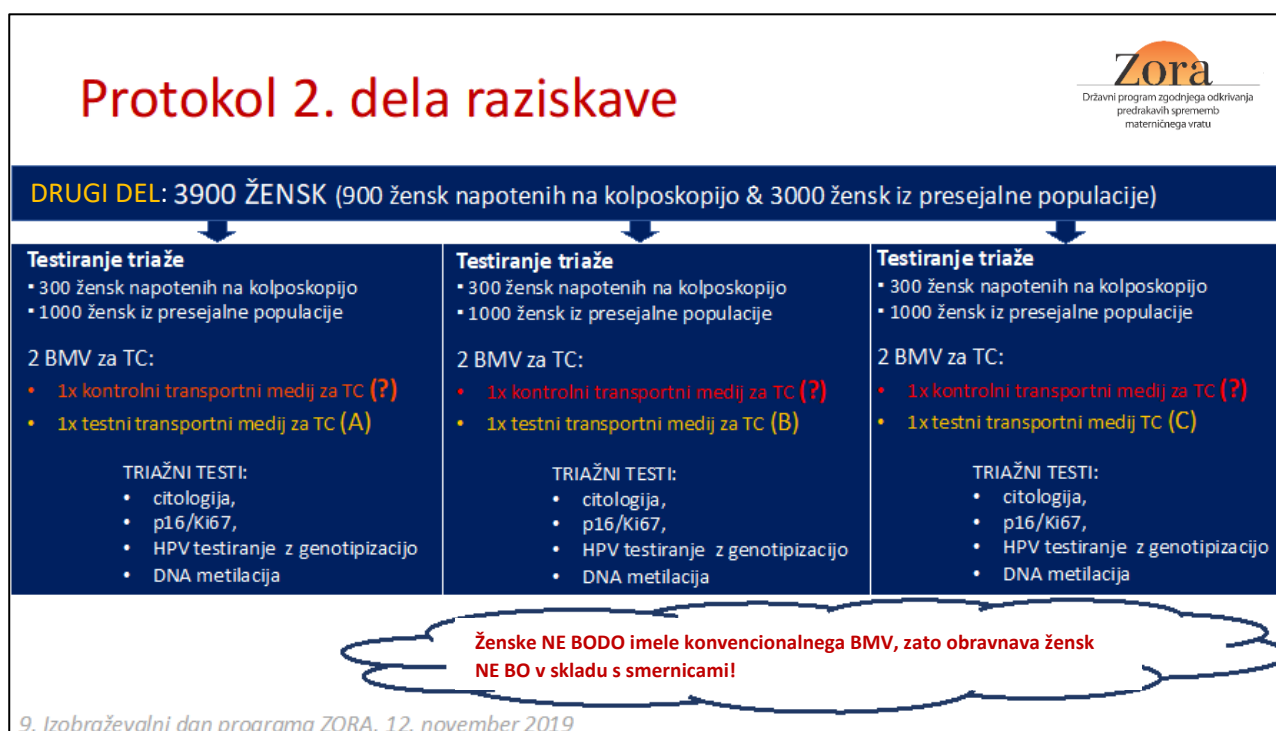
Za drugi del študije smo si zastavili naslednje cilje:

- ugotoviti zanesljivost citologije, p16/Ki-67 dvojnega ICK barvanja, HPV testiranja z genotipizacijo in DNA metilacije za triažo HPV pozitivnih žensk in žensk mlajših od 35 let v različnih komercialnih transportnih medijih;
- ugotoviti kateri HPV test in sistem za izdelavo preparatov TC je uporabniku najbolj prijazen z vidika avtomatizacije, enostavnosti priprave vzorcev, sledljivosti in stroškov preiskave;
- ugotoviti ali je možna izvedba testa metilacije na ostankih vzorca za vse testirane tekočinske medije (zadosten volumen).

V drugi del študije smo želeli vključiti 3.900 žensk, od tega 900 žensk, ki bodo v skladu s slovenskimi smernicami napotene na kolposkopijo, in 3.000 žensk, ki

bodo v skladu s smernicami prišle na presejalni pregled ZORA. Ginekolog bo vsaki ženski, ki bo prostovoljno pristala na sodelovanje v raziskavi, odvzel dva BMV za TC, enega v testni medij in drugega v kontrolni medij. Načrtovali smo, da bomo v študijo vključili štiri transportne medije ThinPrep (Hologic), BD SurePath™ (BD), Roche Cell collection medium (Roche) ter NOVAprep (Novacyt, ki je sedež v lasti Palex Medical). Za vsako vrsto medija bomo pridobili 1.300 vzorcev, za referenčni medij pa bo vzorcev 3.900 (Slika 4). Iz vzorca TC bomo nato pripravili en preparat z ustreznim aparatom za pripravo vzorcev TC za citološko oceno. Preostanek vzorca bomo uporabili za testiranje primernosti štirih komercialnih transportnih medijev za triažo HPV+ žensk s TC, p16/Ki-67 dvojnem barvanjem, HPV genotipizacijo in DNA metilacijo.

Ženske, ki bodo sodelovale v drugem delu študije, bomo presejali s TC, zato njihova obravnava ne bo potekala v skladu z veljavnimi smernicami. Odločitev o njihovi nadaljnji obravnavi bomo sprejeli po zaključku prvega dela študije, ko bo znano, kakšna je zanesljivost ocenjevanja preparatov TC v slovenskih citoloških laboratorijih. Prav tako bomo šele takrat lahko pripravili dokončni protokol drugega dela študije in vlogo za KME.



Slika 4. Shematski prikaz poteka drugega dela študije.

Potek prvega dela študije »Pilotna raziskava za umestitev TC v Državni presejalni program za zgodnje odkrivanje predrakavih sprememb materničnega vratu ZORA«

Za uradni začetek prvega dela študije štejemo 17. september 2019, ko je DP ZORA na Inštitutu za patologijo Medicinske fakultete Ljubljana organiziral uvodno mikroskopsko delavnico »Diagnostika predrakavih in rakavih sprememb na materničnem vratu v vzorcih TC« (9). Delavnico, ki je imela teoretični in praktični del, sta vodila priznana strokovnjaka iz Združenih držav Amerike prof. Christopher Vandenburg iz Johns Hopkins University School of Medicine in prof. Michael J. Thrall iz Houston Methodist Hospital. Namenjena je bila spoznavanju diagnostičnih meril za oceno patoloških sprememb na materničnem vratu v vzorcih TC, shranjenih v transportnem mediju SurePath. Praktični del delavnice je bil namenjen individualnemu mikroskopiranju, kjer so slovenski presejalci in citopatologi dobili prve izkušnje z ocenjevanjem preparatov TC (Slika 5). Delavnica je bila zelo uspešna, udeleženci so jo na lestvici 1–5 ocenili odlično, s povprečno oceno 4,3, in izrazili željo, da DP ZORA organizira še več podobnih strokovnih srečanj (9). Na delavnici so se udeleženci delavnice seznanili tudi s »Pilotno raziskavo za umestitev TC v DP ZORA«. Študija je bila nato konec septembra 2019 predstavljena še ginekologom, ki sodelujejo v raziskavi in novembra na 9. Izobraževalnem dnevu programa ZORA še vsem ostalim sodelavcem DP ZORA in drugi zainteresirani javnosti.

Ker smo se v DP ZORA zavedali, da bo študija organizacijsko in logistično izjemno zahteven projekt, smo oblikovali ožjo raziskovalno skupino (Mojca Florjančič, Tine Jerman, Jerneja Kos, Urška Ivanuš, Veronika Kloboves Prevodnik), ki skrbi za:

1. pripravo in usklajevanje protokolov študije s strokovnimi skupinami DP ZORA:
 - protokol za obravnavo žensk na ginekološkem pregledu opisuje:
 - osnovne podatke v raziskavi;
 - koordinacijo dela in delitev nalog;
 - vključitvena in izključitvena merila;
 - obravnavo ženske v raziskavi (pred pregledom, anketa, ginekološki pregled in odvzem vzorcev, izpolnjevanje obrazcev, priprava ovojnic z izpolnjenimi obrazci in odvzetimi vzorci);
 - reševanje zapletov;
 - priloge k protokolu (pojasnilo o raziskavi, privolitev po pojasnitvi, identifikacijski list, kolposkopski izvid, opomnik s koraki ginekološke preiskave, seznam vsebine ovojnice in protokol za izmenjavo ovojnic).
 - protokoli za transport vzorcev opisujejo:
 - transport ovojnic v ginekološke ambulante;
 - transport ovojnic z vzorci TC in pripadajočo dokumentacijo v citološki laboratorij na OIL in Inštitut za patologijo Medicinske fakultete v Ljubljani za ZD Ljubljana;

- transport ostankov vzorcev TC na Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo (IMI).
 - protokol sprejema, priprave in pošiljanja vzorcev TC v citološkem laboratoriju opisuje:
 - sprejem vzorca;
 - postopanje z vzorci;
 - pošiljanje vzorcev;
 - validacijo ICK določanja p16/Ki-67.
 - protokol učenja ocenjevanja preparatov TC opisuje:
 - proces učenja;
 - učne delavnice za pripravo preparatov in napotnic v prvi in drugi fazi učenja in organizacijo kroženja preparatov;
 - ocenjevanje preparatov;
 - organizacijo pregledovanja BMV;
 - konsenz;
 - končno diagnozo BMV;
 - odgovorne osebe.
2. pripravo ovojnic,
 3. nadzor nad potekom študije in transportom vzorcev in preparatov TC,
 4. organizacijo učnih delavnic o načinu odvzema vzorcev TC za ginekologe in medicinske sestre,
 5. organizacijo učnih delavnic o načinu ocenjevanja vzorcev TC za presejalce in citopatologe,
 6. organizacijo konsenza,
 7. pripravo in urejanje projektne baze podatkov,
 8. analizo rezultatov,
 9. komunikacijo.

Za koordinatorja študije je bila imenovana Mojca Florjančič.

Transportni medij SurePath

V januarju 2020 smo pričeli s pripravami na zbiranje vzorcev v prvi transportni medij. Odločili smo se, da bomo vzorce najprej zbrali v transportni medij SurePath (BD). K tej odločitvi je precej prispevalo dejstvo, da se je aparat za pripravo teh vzorcev že rutinsko uporabljal na oddelku za citopatologijo OIL za urine, kjer so imeli z aparatom že precej izkušenj. Poleg tega je bil to edini aparat za pripravo vzorcev TC, ki je bil takrat na voljo v državi (Slika 6).

Za sodelovanje za odvzem vzorcev TC smo se dogovorili z ginekologi v Zdravstvenem domu Ljubljana in ginekologi iz Ginekološke klinike Univerzitetnega kliničnega centra (UKC) Ljubljana. Ginekologe in medicinske sestre smo o raziskavi, protokolih za odvzem in transport vzorcev TC seznanili na uvodnih delavni-



Slika 5. Mikroskopska delavnica, ki jo je DP ZORA organiziral na začetku študije za umestitev TC v DP ZORA.



Slika 6. Aparat za pripravo vzorcev TC BD Totalys SlidePep (BD).

cah, ki smo jih zaradi posebnosti pri odvzemu presejalnih in kolposkopskih BMV organizirali za vsako ustanovo posebej. Za odvzem vzorcev smo pripravili 300 ovojnic z obrazci in materiali za odvzem vzorca (Slika 7). Na vsako ovojnico smo že vnaprej označili starostno skupino ženske in indikacijo za odvzem BMV, ker so bile ženske, ki smo jih želeli vključiti v študijo predhodno uravnotežene po starosti in indikaciji za odvzem BMV. V študijo smo želeli vključiti enako število žensk starih 20–29, 30–39, 40–49 in 50–64 let. V kolposkopskih ambulantah smo v vsako starostno skupino želeli vključiti 2/3 žensk z napotno diagnozo visoke stopnje in 1/3 žensk nizke stopnje. Uravnoteženje študijskih skupin po starosti in indikacijah za kolposkopijo je upočasnilo vključevanje žensk v študijo, vendar je bilo nujno potrebno zaradi verodostojnosti rezultatov.

Ginekologi v Zdravstvenem domu Ljubljana so v februarju 2020 zbrali vseh 100 vzorcev v transportnem mediju SurePath.



Slika 7. Vsebina ovojnice z obrazci in materiali.

Na oddelku za citopatologijo OIL smo iz vzorcev v transportnem mediju SurePath takoj po sprejemu v laboratorij pripravili preparate za TC z aparatom BD Totalys SurePath (BD). Kakovost preparatov smo sprti preverjali, da bi v primeru, če ni bila primerna, izdelali dodatne preparate. Tak način dela nam je tudi omogočil, da smo lahko ginekologe opozorili na težave, ki so nastale zaradi ne najboljše odvzetih vzorcev. Na naše veliko zadovoljstvo težav z odvzemom vzorcev ni bilo, kakovost preparatov pa je bila zelo dobra. Ostanke vzorcev v transportnem mediju SurePath smo v skladu s protokolom študije poslali na IMI na Medicinski fakulteti v Ljubljani, da so jih zmrznili in shranili na -70°C za kasnejše raziskave.

V marcu 2020 so ginekologi na Ginekološki kliniki UKC Ljubljana pričeli zbirati vzorce v kopskopskih ambulantah. Najprej so zbrali 20 vzorcev v pilotni študiji »Pilot 20«. Namen Pilota 20 je bila validacija p16/Ki-67 dvojnega ICK barvanja. Posebnost tega dela raziskave je bila, da je ginekolog iz BMV, ki ga je odvezel za konvencionalno citologijo, naredil dva preparata, enega za citologijo in enega za p16/Ki-67 dvojno ICK barvanje. V citološkem laboratoriju so iz vzorca v transportnem mediju SurePath prav tako naredili 2 preparata, enega za citologijo in drugega za p16/Ki-67 ICK barvanje. Validacijo dvojnega p16/Ki-67 ICK barvanja na preparatih SurePath smo uspešno izvedli s pomočjo strokovnjakov iz podjetja Roche. Po zaključku pilota 20 smo nadaljevali z zbiranjem vzorcev v skladu s protokolom študije.

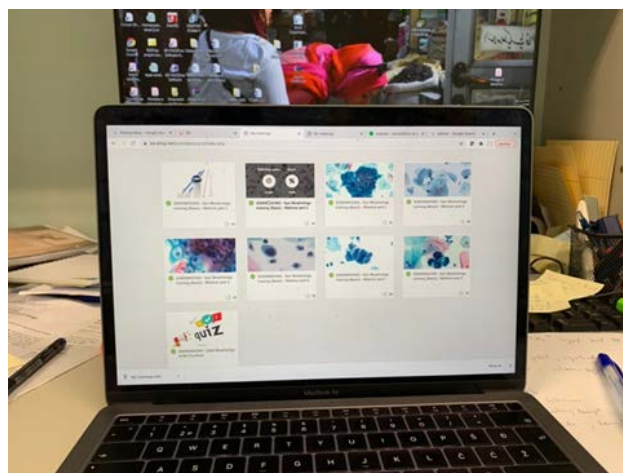
Sredi marca nas je neprijetno presenetila epidemija COVID-19. Trinajstega marca je vlada Republike Slovenije razglasila epidemijo, ki ji je sledilo popolno zaprtje države. Ustavljeno je bilo tudi izvajanje vseh treh presejalnih programov za zgodnje odkrivanje raka (ZORA, DORA, SVIT). Zato je Urška Ivanuš, vodja

DP ZORA, začasno ustavila izvajanje prvega dela študije. Vzorca za študijo so se ponovno pričeli zbirati šele poleti, po koncu prvega vala epidemije. Zaradi težkih razmer v bolnišnicah, ki so nastale zaradi COVID-19 in poletnih dopustov, zbiranje vzorcev nikakor ni steklo tako, kot smo si želeli. Zato smo konec poletja k sodelovanju v raziskavi povabili še ginekologe iz Univerzitetnega kliničnega centra Maribor, ki so študiji dali nov zagon. Tudi za ginekologe v UKC Maribor smo organizirali delavnico za odvzem vzorcev, ki so jih shranili v transportni medij SurePath. Zaradi epidemije, ki se je potegnila v zimo in pomlad v letu 2021, se je zbiranje vzorcev v transportni medij SurePath spet zelo upočasnilo. Na Ginekološki kliniki UKC Ljubljana so morali poslati 20 % medicinskih sester in 5 % zdravnikov na COVID-oddelke. Hkrati so bili največja COVID porodnišnica v Sloveniji, kjer se vodijo bolnice po prebolelem COVIDU v nosečnosti. Tudi v UKC Maribor je bila situacija zelo težka, saj je bila ginekološka klinika spremenjena v COVID bolnišnico. Zato smo spomladi z ginekologi, ki so sodelovali v študiji, organizirali sestanek, da bi pospešili zbiranje vzorcev in k sodelovanju povabili še ginekologa Luka Roškarja iz Splošne bolnišnice Murska Sobota. Ginekolog Luka Roškar nam je v študijo pomagal vključiti številne ženske iz starostnih skupin, kjer je incidenca predrakavih sprememb na materničnem vratu nizka in pripomogel, da smo zbrali vseh 150 vzorcev, ki smo jih potrebovali za organizacijo uvodne mikroskopske delavnice za učenje ocenjevanje preparatov TC SurePath.

Že poleti 2019 smo se s proizvajalcem BD pričeli pogovarjati o izvedbi uvodne delavnice za pregled preparatov TC SurePath, saj smo optimistično predvidevali, da bo zbiranje vzorcev v transportni medij SurePath potekalo po programu in da bomo delavnico lahko izvedli že oktobra 2019. Ogledali smo si možne lokacije za izvedbo delavnice. Odločili smo se, da bo delavnica potekala v Radisson Blu Plaza hotel Ljubljana. Skupaj s proizvajalcem BD smo pripravili program delavnice in udeležencem poslali vabilo za delavnico. Zaradi slabšanja epidemiološke situacije in drugega vala epidemije COVID-19 smo morali delavnico odpovedati. Že novembra smo se pričeli pogovarjati o različnih možnostih za organizacijo delavnice med epidemijo. Zaradi omejitve gibanja in prepovedi zbiranja smo pričeli razmišljati o delavnici preko spleta. Da bi preverili možnost pregledovanja digitaliziranih preparatov z oddeljenim dostopom, so nam na Inštitutu za patologijo Medicinske fakultete Ljubljana skenirali 6 preparatov TC SurePath, ki smo jih zbrali med študijo. Digitalizirane slike preparatov smo poslali v BD, da jih je pogledala vodja delavnice

dr. Anneke van Driel iz Nizozemske, svetovalka BD za področje citologije. Strinjala se je, da je kakovost digitaliziranih preparatov primerna za organizacijo delavnice preko spleta. Nato smo želeli preveriti, ali bi udeleženci delavnice lahko do digitaliziranih preparatov dostopali preko spletne platforme ZORA. Žal se je izkazalo, da to ne bo mogoče, saj tehnično nismo mogli zagotoviti nemotenega prehoda med različnimi fokusi za kakovostno ocenjevanje.

S proizvajalcem BD smo spomladi 2021 nadaljevali intenzivne pogovore o možnostih za organizacijo delavnice. Zaradi slabe epidemiološke situacije smo se strinjali, da delavnico lahko organiziramo le na daljavo, preko spleta. V skladu s protokolom študije smo se dogovorili, da bo imela delavnica dva dela, teoretični in praktični del. V prvem teoretičnem delu bi si vsak udeleženec pogledal 8 posnetih predavanj, ki jih podjetje BD uporablja za učenje morfoloških značilnosti celic v preparatih ginekološke TC BD SurePath. Predavanja so v angleškem jeziku, skupaj trajajo okrog 5 ur. Vodi jih dr. Anneke van Driel iz Nizozemske. Predavanja pokrivajo naslednje vsebine in se zaključijo s testom: 1.) Uvod v TC BD SurePath in priprava vzorca za mikroskopski pregled, 2.) Splošne značilnosti, način pregledovanja preparatov, uporabnost, 3.) Normalen BMV in reaktivne spremembe, 4.) Mikroorganizmi, 5.) Atipične ploščate celice neopredeljene (APC-N), Atipične ploščate celice verjetno neoplastične (APC-VS), Ploščatocelična intraepitelijska lezija nizke stopnje (PIL-NS), 6.) Ploščatocelična intraepitelijska lezija visoke stopnje (PIL-VS) in ploščatocelični karcinom, 7.) Morfologija endocervikalnih celic: benignih in (pre)malignih, 8.) Morfologija endometrijskih celic; benignih in (pre)malignih (Slika 8). Članici strokovne skupine za citologijo pri DP ZORA Ana Pogačnik in Veronika Kloboves Prevodnik sta si predavanja ogledali, da bi ocenili, ali sta vsebina in način podajanja vsebin primerni za uvodno delavnico v prvem delu študije. Obe sta se strinjali, da so predavanja odlična in primerna za teoretični del delavnice. Na DP ZORA smo za udeležence delavnice uredili dostope do predavanj preko platforme ZORA, tako da proizvajalec ni imel vpogleda v osebne podatke udeležencev. Teoretični del delavnice je potekal od 20. maja do 4. junija. Udeležilo se je 53 udeležencev, 44 udeležencev je delavnico v celoti zaključilo, 4 le delno, 5 udeležencev si je tečaj le ogledalo. Delavnico so na lestvici 1–5 ocenili s povprečno oceno 4,7. Večini so bila predavanja v angleščini primerna ali sprejemljiva (94 %), izvedba delavnice preko spleta pa je bila več udeležencem v primerjavi z izvedbo v živo boljša (42 %), kakor slabša (21 %) (10).



Slika 8. Teoretični del delavnice je potekal preko spleta, kar je udeležencem omogočilo, da so si 8 vnaprej posnetih predavanj lahko ogledali, ko jim je to dopuščal čas. Delavnico so zaključili z zaključnim testom.

Za organizacijo praktičnega dela delavnice smo razmišljali o treh možnostih rešitev: 1) delavnica preko spleta 2) kombinirana delavnica, ki bi deloma potekala preko spleta, deloma v mikroskopirnici, 3) klasična mikroskopska delavnica. Proizvajalec BD si je več mesecev prizadeval, da bi našel rešitev za digitalizacijo svojih učnih zbirk preparatov, kar bi omogočilo organizacijo spletne delavnice. Žal je pri tem našel na več problemov, zato je postalo kmalu jasno, da delavnice na tak način ne bo mogoče organizirati pravočasno. Ker je bila epidemiološka situacija še vedno slaba, smo se začeli pripravljati na organizacijo kombinirane delavnice. Zato je BD v ta namen v Slovenijo poslal učno zbirko preparatov ginekološke TC SurePath. Zamislil smo si, da bi dr. Anneke van Dier delavnico vodila preko spleta, udeleženci delavnice pa bi imeli možnost mikroskopiranja preparatov TC v mikroskopirnici. Na srečo se je v začetku poletja epidemiološka situacija tako izboljšala, da je vodja delavnice lahko prišla v Slovenijo in smo delavnico lahko organizirali v živo od 22.–24. 6. 2021 na Inštitutu za patologijo Medicinske fakultete v Ljubljani. Zaradi omejitve zbiranja, smo delavnico morali organizirati trikrat zapored za manjšo skupino udeležencev. Vsak udeleženec se je delavnice lahko udeležil le enkrat. Delavnica je bila sestavljena iz kratkega teoretičnega dela, kjer je vodja delavnice ponovila merila za ocenjevanje patoloških sprememb v preparatih ginekološke TC SurePath, diskusije zanimivih preparatov s pomočjo videomikroskopa in individualnega mikroskopiranja preparatov (Slika 9). Delavnice se je udeležilo 29 presejalcev, 12 citopatologov in 3 drugi. Udeleženci so delavnico na lestvici 1–5 ocenili s povprečno oceno 4,1. Večina anketiranih (97 %) je prikazane strokovne vsebine ocenila kot aktualne, vsi



Slika 9. Utrinek iz praktičnega dela uvodne delavnice "Diagnostika predrakavih in rakavih sprememb materničnega vratu v vzorcih TC SurePath".

pa so jih ocenili kot pomembne za njihovo delo in predstavljene na razumljen način. Prav tako bi vsi udeležbo v prihodnje priporočili njihovim kolegom (11).

Po uspešno zaključeni delavnici so ginekologi 28. 7. 2021 odvzeli zadnji vzorec v tekočinski medij SurePath, v DP ZORA pa smo se pričeli pripravljati na oceno prvih 150 preparatov ginekološke TC SurePath. Ker je bil pred nami čas poletnih dopustov, je bila to še posebej težka naloga, ki pa jo je Mojca Florjančič odlično izpeljala. Na strokovnem svetu DP ZORA smo najprej izžrebali vrstni red, po katerem so laboratoriji dobili preparate v oceno. Dogovorili smo se, da bomo preparate poslali v dva laboratorija hkrati, polovico v enega in polovico v drugega. Oba laboratorija sta imela za pregled vseh 150 preparatov na voljo dva tedna, za to sta si morala konec prvega tedna med seboj zamenjati preparate. Izmenjava vseh preparatov je potekala preko DP ZORA, kjer so skrbeli, da so laboratoriji preparate pravočasno dobili v pregled, jih pogledali in vrnili na sedež DP ZORA, in da so bile oznake na preparatih izbrisane. Preparati TC so presejalci in citopatologi ocenjevali v skladu s klasifikacijo po Bethesdi, na enak način kot konvencionalne BMV v rednem presejanju. Imeli so podatke o starosti ženske, menstruacijskem ciklusu z datumom zadnje menstruacije in datumu odvzema BMV. Ocene preparatov so vnašali v elektronski obrazec na spletni strani DP ZORA, ki ga je pripravil Tine Jerman. Obrazec je bil v osnovi enak izvidu BMV, ki ga uporabljamo v rednem presejanju. Razlika je bila le v dodatnih vprašanjih o kakovosti, ki smo jih dodali na konec obrazca. Odgovoriti je bilo treba, ali je preparat dobre kakovosti (DA/NE). V kolikor je bil odgovor NE, je bilo treba označiti še naslednje odgovore:

- barvanje ni ustrezno,
- celice ležijo v več slojih in se prekrivajo
- del oziroma večina celic je odpadla iz stekla
- drugo _____

Z odgovori na dodatna vprašanja o kakovosti preparata TC bodo slovenski presejalci in citopatologi pripomogli pri odločitvi, kateri tekočinski medij je najprimernejši za ocenjevanje preparatov TC v DP ZORA. Presejalcem in citopatologom, ki zaradi letnih dopustov niso mogli oceniti preparatov, smo preparate v oceno poslali po zaključku prvega kroga ocenjevanja, v septembru in oktobru. Tako smo vsem, ki so želeli, omogočili sodelovanje v študiji. Do 19. oktobra je 25/30 presejalcev in 8/14 citopatologov ocenilo vseh 150 preparatov TC SurePath. Načrtujemo, da bodo do 11. izobraževalnega dneva ZORA 17. 11. 2021, skoraj vsi presejalci in citopatologi, ki so želeli sodelovati v študiji, ocenili vse preparate.

V novembru, po zaključku 11. izobraževalnega dneva ZORA, se bomo lotili analize rezultatov ocenjevanja prvih 150 preparatov TC SurePath. Preparati, ki so jih ocenjevalci-citopatologi različno ocenili vsaj za eno stopnjo (ali pri katerih je eden od ocenjevalcev-citopatologov ocenil spremembe visoke stopnje, drugi pa negativno ali nizke stopnje) bodo na večglavem mikroskopu ponovno ocenile članice skupine za konsenz, ki jo sestavljajo članice strokovne skupine za citologijo pri DP ZORA: Ana Pogačnik, Margareta Strojani Fležar, Alenka Repše Fokter, Vivijana Snoj in Veronika Kloboves Prevodnik. Preparati bodo ocenjevali v skladu z Navodili za citološke izvide BMV – klasifikacija po Bethesdi (12) in za vsak preparat s konsenzom postavile končno diagnozo, ki bo imela zgolj raziskovalen pomen in se ne bo sporočala ginekologu, ki je odvzel BMV. Izjemoma se članice citološke skupine pri DP ZORA na konsenzu lahko dogovorijo, da je treba spremenjeno oceno BMV sporočiti ginekologu, če le ta pomembno vpliva na nadaljnje zdravljenje.

Preparati, ki jih bodo članice citološke skupine pri DP ZORA ponovno ocenile na konsenzu, bomo uporabili za pripravo nadaljevalne delavnice »Diagnostika predrakavih in rakavih sprememb materničnega vratu v vzorcih TC SurePath«. Delavnica bo imela teoretični in praktični del, vodila jo bo dr. Anneke van Dier, ki je vodila že uvodno delavnico. V teoretičnem delu delavnice bo poudarek na patoloških spremembah v preparatih TC SurePath, ki so presejalcem in citopatologom med ocenjevanjem prvih 150 preparatov delale največ težav. Praktični del delavnice bo namenjen individualnemu mikroskopiranju preparatov, ki

so bili obravnavani na konsenzu. Po zaključku delavnice bomo organizirali ocenjevanje dodatnih 150 preparatov TC, z namenom, da bomo ocenili napredek pri ocenjevanju preparatov TC SurePath. Drugo, nadaljevalno delavnico načrtujemo v začetku leta 2022. Takoj po zaključku delavnice bomo v skladu s protokolom študije pričeli z ocenjevanjem dodatnih 150 preparatov TC SurePath, ki bo potekalo tako kot ocenjevanje prvih 150 preparatov.

Transportni medij Thin Prep

Po podpisu pogodbe za sodelovanje v prvem delu raziskave »Pilotna raziskava za umestitev TC v državni presejalni program za zgodnje odkrivanje predrakavih sprememb materničnega vratu ZORA«, smo se s podjetjem Hologic že konec leta 2019 pričeli dogovarjati za postavitve aparata za pripravo vzorcev TC ThinPrep v Slovenji. Zaradi začetka organiziranega presejanja za RMV v Nemčiji in s tem velikega povpraševanja po aparatih za pripravo preparatov TC ThinPrep, dobava aparatov v študijske namene ni bila možna do poletja 2020. Sedemindvajsetega avgusta 2020 smo aparat za pripravo vzorcev TC ThinPrep 5000 Autoloader System (Hologic) postavili v laboratorij Oddelka za citopatologijo OIL (Slika 10). Aparat je za delo pripravil serviser podjetja HOLOGIC Pim Augustinus iz Nizozemske. Sabrina Lieder, specialistka za področje citologije pri podjetju Hologic iz Nemčije, pa je izvedla izobraževanje za delo z aparatom, ki so se ga udeležile mladi raziskovalki Jerneja Kos in Simona Miceska, Špela Cerar, presejalnica in Nataša Nolde, samostojni analitik. Z aparatom ThinPrep Autoloader System (Hologic) so pripravile prve testne preparate ginekološke TC ThinPrep in jih poobarvale po Papanicolaou v barvalcu Leica ST 5010 autostainer (Leica) po protokolu in z barvili, ki omogočajo oceno digitaliziranih preparatov s ThinPrep Imaging system (Hologic). Pri pregledu testnih preparatov smo ugotovili, da v nekaterih preparatih ni bilo zadosti celic za citološko oceno. Sabrina Lieder nam je pojasnila, da je to posledica nepravilnosti pri odvzemu vzorcev.

Zaradi posebnosti pri odvzemu vzorcev v transportni medij ThinPrep smo se skupaj s proizvajalcem Hologic dogovorili, da se najprej zaključi zbiranje vzorcev v transportni medij SurePath. Ko smo imeli v začetku leta 2021 zbranih več kot polovico vzorcev v transportnem mediju SurePath, smo se odločili, da je študija, ki je zaradi epidemije COVID-19 potekala zelo počasi, potrebno pospešiti. Odločili smo se, da bomo začeli zbirati vzorce v transportni medij ThinPrep v



Slika 10. Aparat za pripravo vzorcev TC ThinPrep 5000 Autoloader System (Hologic).

Zdravstvenem domu Ljubljana in na Ginekološki kliniki UKC Ljubljana, v UKC Maribor in v SB Murska Sobota pa bomo najprej dokončali zbiranje vzorcev v transportni medij SurePath in šele potem pričeli z zbiranjem transportni medij ThinPrep. V marcu 2021 smo najprej preverili delovanje aparata ThinPrep 5000 Autoloader System (Hologic), ker od zagona v avgustu 2020 ni bil v uporabi 7 mesecev. Ponoven zagon aparata so uspešno opravile Jerneja Kos, Simona Miceska in Špela Cerar pod vodstvom Sabine Lieder iz Hologica, ki je zaradi epidemije COVID-19 delo z aparatom nadzorovala preko spleta. To je bil tudi za Hologic prvi zagon aparata, ki je potekal preko spleta. V marcu smo za ginekologe iz Zdravstvenega doma Ljubljana pripravili tudi delavnice za odvzem vzorcev TC ThinPrep. Zaradi epidemije je izobraževanje potekalo preko spleta v večernih urah. Ginekologe in druge sodelujoče v študiji smo ponovno seznanili z raziskavo in s protokoli za odvzem in transport vzorcev TC ThinPrep. Poseben poudarek je bil na odvzemu vzorcev, ki se nekoliko razlikuje od odvzema vzorcev v transportni medij SurePath. Ta del delavnice je vodila Sabrina Lieder iz Hologica. Povedala je, da se način odvzema BMV za transportna medija ThinPrep in SurePath ne razlikuje, razlike so le pri prenosu celic v transportni medij. Pri prenosu celic v transportni medij ThinPrep moramo biti še posebej pazljivi, ker se ob nepravilnem postopanju celice prilepijo na krtačko in se ne prenesejo v transportni medij. Preparat, ki ga naredimo iz takega transportnega medija, ne vsebuje dovolj celic in je neustrezen za citološko oceno. Zato je potrebno krtačko z vzorcem takoj po odvzemu vstaviti v odprt loček s transportnim medijem ter jo 10 x močno pritisniti ob dno lon-

čka ter nato še nekajkrat močno zavrteti v lončku. Krtačko je nato potrebno iz ločka odstraniti, zavreči in zapreti lonček.

Ginekologi v ZD Ljubljana so odvzeli prvi vzorec v transportni medij ThinPrep 26. marca 2021. Dogovorili smo se, da bo vsak ginekolog najprej odvil le 2 vzorca, da bi preverili kakovost odvzetih vzorcev. Iz vzorcev smo pripravili preparate, jih poslikali in slike poslali v oceno Sabrini Lieder iz Hologic. Ocenila je, da so preparati primerno celularni in da je kakovost preparatov ustrezna. Ginekologi iz ZD Ljubljana so nato v skladu s protokolom študije v enem mesecu odvzeli 100 presejalnih BMV v transportni medij ThinPrep. Med rednim spremljanjem kakovosti preparatov TC ThinPrep smo ugotovili, da so nekateri preparati neustrezni zaradi obilice krvi. Sabrina Lieder iz Hologic nam je svetovala, da preparate pripravimo po protokolu za lizo eritrocitov. Ker je bila zaradi epidemije dobava reagentov podjetja Hologic iz ZDA v Evropo motena, smo reagent za lizo eritrocitov dobili šele poleti in uspešno rešili težave s pravo krvavih vzorcev.

Delavnico za odvzem vzorcev v transportni medij ThinPrep smo za ginekologe in medicinske sestre iz Ginekološke klinike UKC Ljubljana pripravili 17. maja. Ko se je 28. julija končalo zbiranje vzorcev v tekočinski medij SurePath, smo delavnice pripravili še za ginekologe iz UKC Maribor in Splošne bolnišnice Murska Sobota. Zaradi epidemije zbiranje vzorcev poteka počasi, vendar pričakujemo, da bomo do spomladi 2022 zbrali tudi vseh 300 vzorcev v transportni medij ThinPrep. Načrtujemo tudi, da bomo do takrat zaključili z ocenjevanjem preparatov TC SurePath, pričeli z ocenjevanjem preparatov TC ThinPrep in pripravili protokole za drugi del raziskave.

Transportna medija Roche Cell collection medium in NOVAPrep

Med raziskavo sta dva proizvajalca odstopila od sodelovanja v raziskavi. V enem primeru je prišlo do prodaje podjetja, v drugem pa aparata za izdelavo preparatov TC za potrebe študije niso mogli pripeljati v Slovenijo. Zato smo se odločili, da bomo študijo izvajali v skladu s protokolom le na dveh tekočinskih medijih, SurePath (BD) in ThinPrep (Hologic).

Zaključek

Pilotna raziskava za umestitev TC v državni presejalni program za zgodnje odkrivanje predrakavih spre-

memb materničnega vratu ZORA bo pomembno vplivala na odločitve o spremembah presejanja za RMV v Sloveniji. Z raziskavo bomo dobili lastne izkušnje s tehnologijo TC, ki je predpogoj za uvedbo primarnega HPV presejanja za RMV in refleksne triaže HPV pozitivnih žensk. Rezultati raziskave bodo odločilni tudi za načrtovanje drugega dela študije, kjer želimo testirati primernost komercialnih transportnih medijev za triažo HPV pozitivnih žensk. Zaradi epidemije COVID-19 študija poteka zelo počasi. Kljub temu nam je z veliko požrtvovalnostjo vseh sodelujočih v raziskavi uspelo zbrati vse vzorce v prvi transportni medij SurePath, organizirati uvodno učno delavnico za oceno preparatov TC SurePath ter oceniti prvih 150 preparatov TC SurePath. Zbiramo tudi vzorce v drugi tekočinski medij ThinPrep. Ker sta dva proizvajalca tekočinskih medijev odstopila od raziskave, bomo v skladu s protokolom v prvi in drugi del študije vključili le dva tekočinska medija SurePath (BD) in ThinPrep (Hologic). Načrtujemo, da bomo prvi del študije zaključili do konca leta 2022 in pričeli z drugim delom študije, kjer želimo testirati primernost komercialnih transportnih medijev SurePath (BD) in ThinPrep (Hologic) za triažo HPV pozitivnih žensk.

Zahvala

Zaradi epidemije COVID-19 prvi del študije »Pilotna raziskava za umestitev TC v državni presejalni program za zgodnje odkrivanje predrakavih sprememb materničnega vratu ZORA« poteka v izrednih razmerah. Le veliki požrtvovalnosti vseh, ki sodelujejo v študiji, gre zasluga, da smo zbrali vseh 300 vzorcev v transportni medij SurePath, organizirali uvodno delavnico za oceno preparatov TC SurePath in ocenjevanje prvih 150 preparatov TC SurePath v slovenskih citoloških laboratorijih ter pričeli z zbiranjem vzorcev v transportni medij ThinPrep. Zato se DP ZORA na tem mestu zahvaljuje vsem, ki sodelujejo v študiji:

- ginekologom v Zdravstvenem domu Ljubljana: Urški Gašper Oblak, Petri Eržen Vrlič Mojci Grebenc, Slađani Malić Vončina, Renati Toff, Leni Žigon, Vidi Dimnik in Katji Miličević;
- ginekologom na Ginekološki kliniki UKC Ljubljana: Leonu Megliču, Andreju Zoretu, Nini Jančar in Špeli Smrkolj;
- ginekologom v UKC Maribor: Andreju Cokanu, Tatjani Kodrič, Leyli Al Mahdawi, Maji Pakiž, Andražu Dovník in Juretu Knezu;
- ginekologu v SB Murska Sobota, ki v študiji sodeluje z Ginekološko kliniko UKC Ljubljana: Luki Roškarju;
- medicinskim sestram ZD Ljubljana: Jožici Ločičnik, Olgi Kambič, Sonji Fujan, Špeli Eržen, Tanji

- Kranjec, Andreji Čebela, Karin Komerički Kordež, Mateji Rošer, Barbari Kralj, Evi Ropotar, Mariji Murgelj, Maji Kračun, Tanji Koncilija, Mojci Čuk in Uli Perne;
- medicinskim sestram UKC LJ: Bernardi Juvan, Jožici Hartman, Vidi Jelenc, Katji Jakopič in celotni ekipi medicinskih sester v specialističnih ambulantah GK;
 - medicinskim sestram UKC Maribor: Mateji Bohorč in Aleksandri Muhič in
 - kurirjem ZD Ljubljana.
 - Presejalcem in citopatologom v slovenskih citoloških laboratorijih:
 - UKC Maribor: Kristini Gornik Kramberger, Simoni Hutter Čelik, Danijeli Antunovič, Barbari Jelen Ul, Maji Fras, Nevenki Štiglic Toš, Patriciji Pernat in Saši Praznic;
 - SB Murska Sobota: Danijeli Oštrič, Editi Dominko in Tadeji Dolenšek;
 - SB Celje: Alenki Repše Fokter, Branku Antoloviču, Daši Podgoršek, Lidiji Salobir, Nini Irgel in Aleksandri Pečovnik;
 - BGP Kranj: Marjeti Koželj in Ireni Ferjan Tuljak;
 - SB Novo mesto: Tinki Mohar Hajnšek, Mirjani Beretič Radoš, Brigiti Medle in Andreji Rebolj;
 - Onkološki inštitut Ljubljana: Ulriki Klopčič, Zorici Čekić, Živi Gramc, Anji Jeričević, Veroniki Kloboves Prevodnik, Janji Zalar, Mojci Založnik in Špeli Cerar;
 - Inštitut za patologijo Medicinske fakultete Ljubljana: Margareti Strojjan Fležar, Damjani Cimerman, Andreji Legen, Alenki Oblak, Barbari Žakelj Bric, Elviri Krovinovič, Juliji Blatnik in Simoni Uhan Kastelic;
 - UKC Ljubljana, Ginekološka klinika: Marji Lenart, Ireni Košorok, Jolandi Simerl Tamše, Nataši D. Puhani in Petru Zabukovniku;
 - SB Izola: Sandri Jezeršek, Sabrini Zajec in Urški Ferletič.
 - Oddelku za citopatologijo OIL: Jerneji Kos, Simoni Miceska, Špeli Cerar, Nataši Nolde in Veroniki Kloboves Prevodnik;
 - Inštitutu za patologijo Medicinske fakultete v Ljubljani: Margareti Strojjan Fležar in Renati Rakovec;
 - Oddelku za citopatologijo UKC MB: Slavici Vužem in Andreji Špes;
 - Inštitutu za Mikrobiologijo in imunologijo: Jani Mlakar, Danijeli Fabjan, Anji Ošterbenk Valenčak in Mariu Poljaku;
 - Oddelku za citopatologijo UKC Ljubljana: Marji Lenart in Kaji Ferk;
 - Registru ZORA: Urški Ivanuš, Mojci Florjančič, Tinetu Jermanu, Tini Šercer, Blažu Podobniku, Kaji Batista in Mariji Sabrini Kvartuh;
 - Ožji raziskovalni skupina pri DP ZORA: Mojci Florjančič, Tinetu Jermanu, Jerneji Kos, Urški Ivanuš in Veroniki Kloboves Prevodnik;
 - Strokovnemu svetu pri DP ZORA: Urški Ivanuš, Špeli Smrkolj, Urški Gašper Oblak, Ani Pogačnik, Veroniki Kloboves Prevodnik, Margareti Strojjan Fležar, Mojci Florjančič, Maji Primic Žakelj in Igorju Josipoviću.

Literatura

1. Tota JE, Bentley J, Blake J, Coutlée F, Duggan MA, Ferenczy A, et al. Introduction of molecular HPV testing as the primary technology in cervical cancer screening: Acting on evidence to change the current paradigm. *Prev Med.* 2017;98:5–14.
2. Ronco G, Dillner J, Elfström KM, Tunesi S, Snijders PJ, Arbyn M, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials. *Lancet.* 2014;383(9916):524–32.
3. Koliopoulos G, Nyaga VN, Santesso N, Bryant A, Martin-Hirsch PP, Mustafa RA, et al. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;8:CD008587.
4. von Karsa L, Arbyn M, De Vuyst H, Dillner J, Dillner L, Franceschi S, et al. European guidelines for quality assurance in cervical cancers screening. Summary of the supplements on HPV screening and vaccination. *Papillomavirus Res.* 2015;1:22–31.
5. Sigurdsson K: Is a liquid-based cytology more sensitive than a conventional Pap smear? *Cytopathology.* 2013;24:254–63.
6. Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer.* 2006;119:1095–101.
7. Spletna stran državnega programa ZORA. Delavnica Sodobne rešitve v presejanju za RMV. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2021 [cited 2022 Jan 18]. Available from: <https://zora.onko-i.si/za-stroko/izobrazevanja/delavnica-sodobne-resitve-v-presejanju-za-rmv>.
8. Kloboves-Prevodnik V, Poljak M, Oštrbenk Valenčak A, Varl J, Strojjan Fležar M, Smrkolj Š, et al. Umestitev tekočinske citologije v program ZORA: predstavitev pilotne raziskave. In: Ivanuš U, ur. Zbornik predavanj: 9. izobraževalni dan Programa ZORA; 2019 Nov 12; Brdo pri Kranju, Slovenija. V Ljubljani: Onkološki inštitut; 2019. p. 31–35. <https://zora.onko-i.si/filead>

min/user_upload/publikacije/izobrazevanja/2019_09ZD_zbornik/4._Kloboves_Raziskava_LBC.pdf.

9. Spletna stran državnega programa ZORA. Diagnostika predrakavih in rakavih sprememb na vratu maternice v vzorcih tekočinske citologije. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2021 [cited 2022 Jan 18]. Available from: <https://zora.onko-i.si/za-stroko/izobrazevanja/diagnostika-predrakavih-in-rakavih-sprememb-maternicnega-vratu-v-vzorcih-tekocinske-citologije>.
10. Spletna stran državnega programa ZORA. Diagnostika predrakavih in rakavih sprememb materničnega vratu v vzorcih tekočinske citologije BD SurePath, 1. del. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2021 [cited 2022 Jan 18]. Available from: <https://zora.onko-i.si/za-stroko/izobrazevanja/diagnostika-predrakavih-in-rakavih-sprememb-maternicnega-vratu-v-vzorcih-tekocinske-citologije-bd-surepath>.
11. Spletna stran državnega programa ZORA. Diagnostika predrakavih in rakavih sprememb materničnega vratu v vzorcih tekočinske citologije BD SurePath, 2. del. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2021 [cited 2022 Jan 18]. Available from: <https://zora.onko-i.si/za-stroko/izobrazevanja/diagnostika-predrakavih-in-rakavih-sprememb-maternicnega-vratu-v-vzorcih-tekocinske-citologije-bd-surepath>.
12. Pogačnik A, Strojjan Fležar M, Fokter Repše A, Snoj V, Kirbiš Srebotnik I, Primic Žakelj M. Navodila za citološke izvide brisov materničnega vratu - klasifikacija po Bethesda. Ljubljana: Onkološki inštitut; 2011 [cited 2022 Jan 18]. Available from: https://zora.onko-i.si/fileadmin/user_upload/dokumenti/strokovna_priporocila/2011_Navodila_za_citologijo_web_1_.pdf.