

CÁC PHƯƠNG PHÁP XÉT NGHIỆM TẾ BÀO CỘ TỬ CUNG

PGS. Hứa Thị Ngọc Hà
Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Tỷ lệ ung thư trên 100.000 dân

NAM

1. Gan 25,2
2. Phổi 23,7
3. Dạ dày 18,8
4. Đại tràng 13,8
5. Thực quản
6. Tuyến tiền liệt
7. Hốc miệng
8. Vòm hầu
9. Thanh quản
10. Da



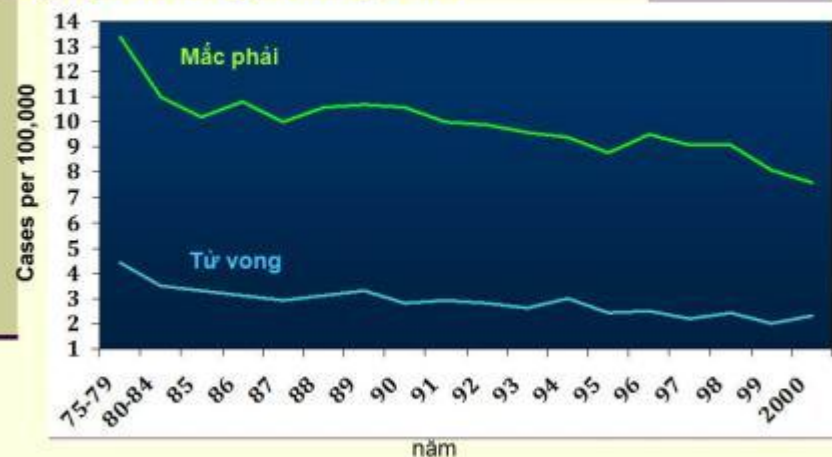
NỮ

1. Cổ tử cung 28
2. Vú 11,2
3. Đại tràng 9
4. Dạ dày 7,3
5. Phổi 5,6
6. Gan 6,4
7. Thân tử cung
8. Tuyến giáp
9. Buồng trứng
10. Hốc miệng

LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN TBH

- Năm 1928, George Papanicolaou giới thiệu PP TBH để phát hiện các sang thương ác tính và tiền ung thư CTC
- Thành công của Pap test là tiền đề phát triển các kỹ thuật chẩn đoán ung thư bằng TBH ở các cơ quan khác.

Tầm soát tế bào cổ tử cung làm giảm mạnh tỷ lệ tử vong do ung thư



Source: American Cancer Society, 2004.

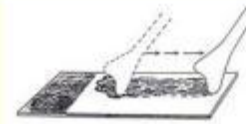
PHƯƠNG PHÁP CHUẨN BỊ TIÊU BẢN TẾ BÀO HỌC

Hai hình thức chính:

- Phết trực tiếp lên lam kính
- Các kỹ thuật tập trung tế bào: ly tâm, cell block, monolayer (Liquid based cytology: công nghệ TB dựa trên chất lỏng).

5

PAP TRUYỀN THỐNG - PHƯƠNG PHÁP CHUẨN BỊ TIÊU BẢN TẾ BÀO HỌC



Spatula:

Dàn trải mẫu một lần dọc theo 1 nửa lam kính với áp lực vừa phải để dàn và chất nhầy, tránh mỏng cụm tế bào, tránh dùng lực mạnh có thể phá hủy tế bào



Brush:

Lăn các sợi bàn chải lên 1 nửa lam kính bằng cách xoay cán bàn chải



Broom:

Dàn trải mẫu giống như quét sơn, quét 1 nửa slide bên này lật dụng cụ lại và trải sang bên còn lại

6

PAP TRUYỀN THỐNG



PHẾT TẾ BÀO



7

PAP TRUYỀN THỐNG

PHẾT TẾ BÀO



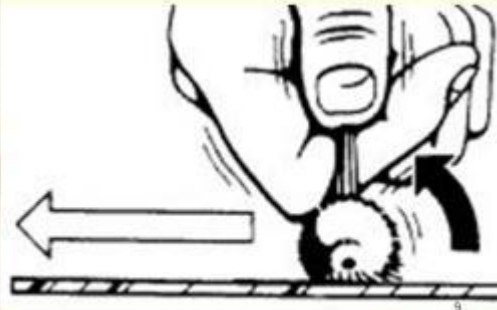
(c) 2006, Michael A. Kahn, D.D.S.

TẾ BÀO HỌC

PAP TRUYỀN THỐNG



CHẢI TẾ BÀO



TẾ BÀO HỌC

Hạn chế của Pap truyền thống

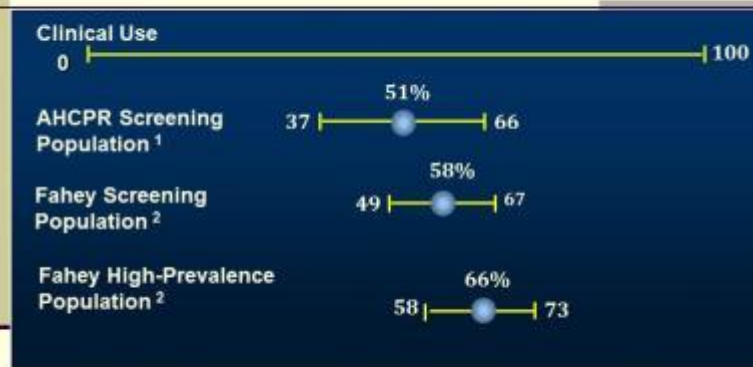
- Lấy mẫu /lỗi chuẩn bị mẫu ¹
 - Không lấy được tế bào bất thường
 - Lấy được nhưng không chuyển được tế bào lên lam kính
 - Tế bào không được bảo tồn tốt

2/3 Lỗi âm tính giả
- Lỗi tầm soát ^{2,3}
 - Người đọc bỏ sót tế bào bất thường
 - Không phân loại được tế bào một cách rõ ràng

1/3 Lỗi âm tính giả

1. Hutchinson ML, et al. *Am J Clin Pathol*. 1994;101:215-219.
 2. Linder J. *Arch Pathol Lab Med*. 1998;122:139-144.
 3. Agency for Health Care Policy and Research (AHCPR). *Evaluation of Cervical Cytology*. 1999.

Độ nhạy của Pap truyền thống

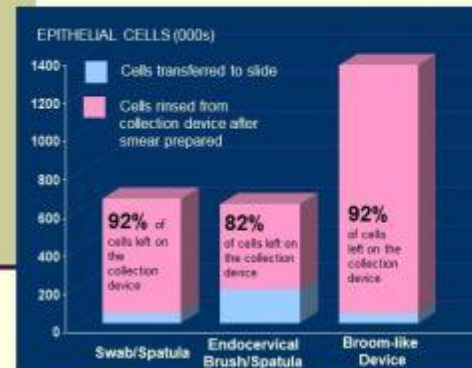


Mean Sensitivity of Conventional Pap Smear (%), 95% CI

1. Agency for Health Care Policy and Research (AHCPR). *Evaluation of Cervical Cytology*. 1999.
 2. Fahey MT, et al. *Am J Epidemiol*. 1995;141:680-689.

Hạn chế trong khâu lấy mẫu của Pap truyền thống

Phần trăm tế bào được chuyển lên Slide



Hơn 80% tế bào có thể bị loại bỏ theo dụng cụ lấy mẫu sau khi phết lên slide trong Pap truyền thống¹

¹ Hutchinson ML, et al. Homogeneous sampling accounts for the increased diagnostic accuracy using the ThinPrep® Processor. *Am J Clin Pathol* 1994, 215-219

CẢI TIẾN

- Lấy mẫu: Bệnh phẩm sau khi lấy từ CTC được súc rửa vào lọ dung dịch rồi chuyển tới phòng thí nghiệm
- Xử lý mẫu (ra lam):
 - Tự động bằng máy: ThinPrep, SurePap
 - Sử dụng máy ly tâm để tập trung bệnh phẩm → dùng pipet hút bệnh phẩm trải lên lam: Liqui Prep

13

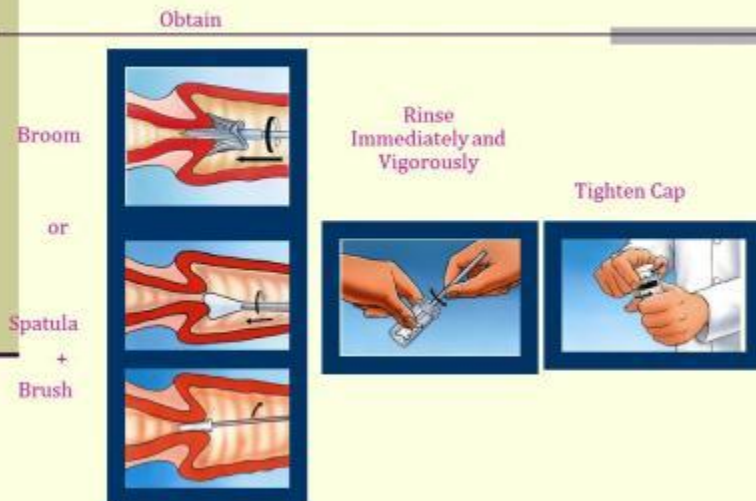
THE THINPREP PAP TEST

- Được FDA phê duyệt năm 1996
- Công ty Hologic, Mỹ



14

Quy trình lấy mẫu ThinPrep Pap Test



15

ThinPrep® Pap Test: QUY TRÌNH XỬ LÝ MẪU

Lấy mẫu



Xử lý mẫu



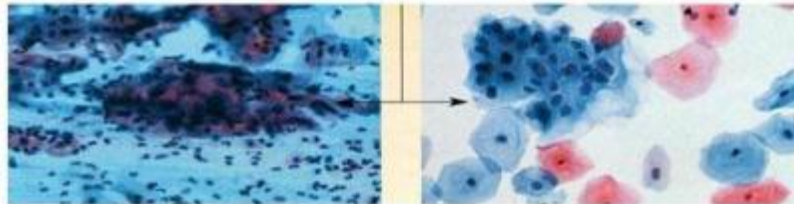
Kỹ thuật chuyển
tế bào bằng
màng lọc có kiểm
soát. tách tế bào
từ mẫu bệnh
phẩm



Phân tán / Thu thập / Chuyển tế bào lên slide

CÔNG NGHỆ NGHIÊN CỨU TB DỰA TRÊN CHẤT LỎNG

Liquid-Based Cytology



Conventional Smear

Liquid-Based



(c) 2006, Michael A. Kahn, D.D.S.

Hệ thống xử lý mẫu hoàn toàn tự động

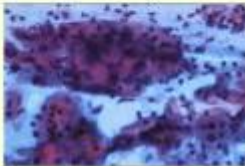
Máy ThinPrep 5000 có khả năng xử lý 20 mẫu bệnh phẩm gyn. hoặc non-gyn. trong một lần



19

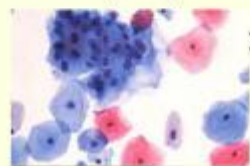
Ưu điểm của ThinPrep® Pap test

Pap Smear truyền thống



- Phần lớn các tế bào bị loại bỏ mà không được phân tích
- Không chuyển được hết các tế bào lên slide
- Tế bào tụ lại thành đám và chồng lên nhau
- Vi trường tối

ThinPrep Pap Test



- Thu thập được hầu hết các tế bào
- Phân tích ngẫu nhiên và điển hình các tế bào
- Các tế bào phân bố đồng đều
- Vi trường sáng

Source: Hutchinson ML, et al. *Am J Clin Pathol.* 1994;101:215-219.

19

ThinPrep® Pap Test: Các chứng cứ lâm sàng được FDA công nhận

- Hiệu quả trong việc phát hiện sớm ung thư cổ tử cung
- Mẫu tế bào được cải thiện cả về chất lượng và số lượng
- ThinPrep phát hiện được HSIL cao gấp hơn 2 lần so với Pap truyền thống (OR=2.26)
- Tăng tỷ lệ phát hiện HSIL
- Tăng tỷ lệ phát hiện tổn thương tế bào biểu mô tuyến, điều này đã được chứng minh bởi các nghiên cứu đa trung tâm.
- Cùng một mẫu bệnh phẩm có thể sử dụng cho test HPV, *Chlamydia trachomatis* and *N. gonorrhoeae*

Source: ThinPrep® Pap Test Package Insert, Cytyc Corporation, 2003

20

ThinPrep® Pap Test: Tăng tỷ lệ phát hiện HSIL

Selected Published Peer-Reviewed Literature Direct-to-Vial

Author, Date	Journal	% Increase HSIL over Conv. Pap	p value
Bolick, 1998	Acta Cytol	173%	<0.001
Papillo, 1998	Acta Cytol	55%	<0.01
Diaz-Rosario, 1999	Arch Pathol Lab Med	103%	<0.001
Guidos, 1999	Diagn Cytopathol	233%	<0.001
Yeoh, 1999	Hong Kong Med J	28%	<0.01
Ferris, 2000	J Fam Pract	119%	<0.001
Weintraub, 2000	Diagn Cytopathol	OR = 1.86; 244%	<0.001
Harkness, 2003	J Reprod Med	47%	<0.006
Limaye, 2003	Arch Pathol Lab Med	233%	<0.001

CP=Conventional Pap smear

Phát hiện AGC bằng ThinPrep® Pap Test

Schorge et al. *Cancer Cytopathol.* 2002

- Độ nhạy cao hơn trong phát hiện ung thư CTC và ung thư biểu mô nội mạc tử cung
 - 72.0% TP vs. 41.5% CP (p<0.001)
- Giảm tỷ lệ âm tính giả
 - 28.0% TP vs. 58.5% CP (p<0.001)
- Giảm “AGC – undetermined”
 - 26.2% TP vs. 50.0% CP (p<0.002)
- Độ nhạy cao hơn trong phát hiện ung thư biểu mô nội mạc tử cung
 - 65.2% TP vs. 38.6% CP (p<0.010)

22

Ung thư biểu mô nội mạc tử cung

ThinPrep® Pap Test so với Pap smear truyền thống:

- ThinPrep Pap Test có độ nhạy cao hơn trong phát hiện ung thư tế bào biểu mô gai CTC
 - 87.1% vs. 55.5% (p=0.108)
- ThinPrep Pap Test có độ nhạy cao hơn trong phát hiện ung thư tế bào biểu mô tuyến CTC
 - 42.3% vs. 11.8% (p=0.045)
- Kết quả sinh thiết cho thấy ThinPrep Pap Test phát hiện ung thư tế bào tuyến CTC cao hơn so với Pap smear truyền thống
 - 17.2% vs. 7.0% (p=0.083)

Schorge JO, et al. *Cancer Cytopathol.* 2002;96:338-343

23

Độ đặc hiệu với tổn thương tế bào tuyến

ThinPrep® Pap Test so với Pap smear truyền thống:

- *Guidos et al.*¹ --- 93% ca ung thư tế bào biểu mô khi làm ThinPrep Pap Test cho kết quả đúng khi làm sinh thiết
- *Bai et al.*² --- ThinPrep Pap Test đặc hiệu hơn đối với tổn thương biểu mô tuyến nội mạc tử cung
 - 14.3% vs. 2.8% (p<0.05)
- *Schorge et al.*³ --- Kết quả tế bào học ThinPrep Pap Test cho thấy khuynh hướng liên quan gần hơn với sinh thiết so với Pap truyền thống.
 - 45.9% vs. 32.4% (p=0.082)

1. Guidos, BJ. *Diagn Cytopathol.* 2000;23:260-265.
 2. Bai, H. *Diagn Cytopathol.* 2000;23:19-22.
 3. Schorge JO, et al. *Cancer Cytopathol.* 2002;96:338-343

24

Xu hướng sử dụng ThinPrep® Pap Test trên toàn cầu

- USA
 - ~90% sử dụng Liquid-based cytology (LBC) trong xét nghiệm Pap ở Mỹ
 - Trong đó ~ 87% bác sĩ sử dụng ThinPrep® Pap Test
- UK
 - Thay thế dần bằng phương pháp Liquid-based
- Chương trình tầm soát ung thư CTC Quốc gia sử dụng phương pháp LBC như là tiêu chuẩn chăm sóc sức khỏe
 - Switzerland
 - Hong Kong
 - The Netherlands
 - Ireland
 - New Zealand
 - Portugal
 - Spain
 - Belgium

25

ThinPrep

ThinPrep Like no other.



26

ThinPrep Imaging System

- Sử dụng kỹ thuật định lượng mục tiêu để đánh dấu những tế bào bất thường
- Chẩn đoán kép tự động bằng kỹ năng của nhà tế bào học
- Được FDA chấp thuận (June 6, 2003)
 - Tăng độ nhạy với ASCUS+
 - Tăng độ đặc hiệu với HSIL+

27

Lọ dung dịch ThinPrep dùng được cho cả xét nghiệm tế bào và phân tử

ThinPrep là xét nghiệm Liquid Based duy nhất được FDA công nhận cho Out-Of-Vial HPV Testing



28

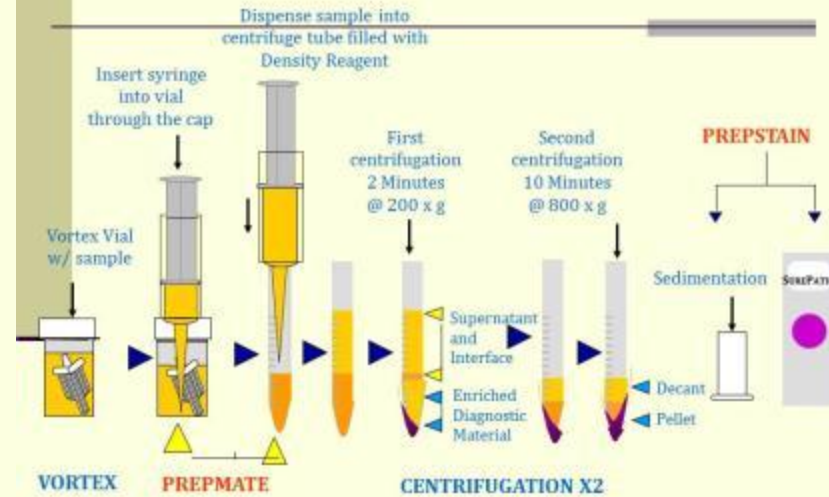
SurePath: Quy trình lấy mẫu

Sample Collection



Bê đầu chổi bỏ vào lọ dung dịch

SurePath: Quy trình xử lý mẫu



SurePath: Thiết bị



PrepMate™



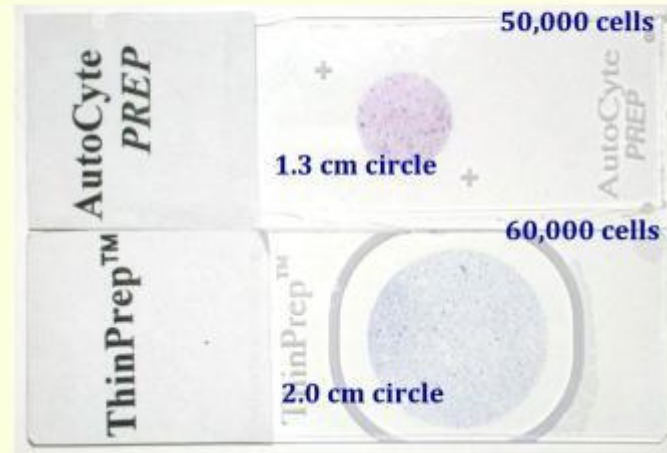
Centrifuge



PrepStain™

Vortex, Computer, Tube Vacuum, Vacuum Pump

ThinPrep vs. SurePath



FDA approved

- Cả ThinPrep® và SurePath™ đều được chỉ định thay thế Pap truyền thống.

INTENDED USE

The ThinPrep® 2000 System is intended as a replacement for the conventional method of Pap smear preparation for use in screening for the presence of atypical cells, cervical cancer, or its precursor lesions (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesions, High-grade Squamous Intraepithelial Lesions, and Cervical Intraepithelial Neoplasia) as defined by The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses.^{1, 2, 3, 4}

INTENDED USE

The PrepStain™ System (formerly the AutoCyte® PREP System) is a liquid-based thin layer cell preparation process. The PrepStain™ System produces SurePath™ slides that are intended as replacements for conventional gynecologic Pap smears. SurePath™ slides (formerly AutoCyte® PREP slides) are intended for use in the screening and detection of cervical cancer, pre-cancerous lesions, atypical cells and all other cytologic categories as defined by The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses.^{1, 2, 3, 4}

TP PI Page 1 and SP PI Page 1

FDA Labeling

- Hệ thống ThinPrep® 2000 cho hiệu quả cao hơn đáng kể so với Pap truyền thống...
- Tiêu bản SurePath™ được chuẩn bị bởi PrepStain™ System cho kết quả tương tự Pap truyền thống...

CONCLUSIONS

The ThinPrep® 2000 System is as effective as the conventional Pap smear in a variety of patient populations and may be used as a replacement for the conventional Pap smear method for the detection of atypical cells, cervical cancer, or its precursor lesions, as well as all other cytologic categories as defined by The Bethesda System.

The ThinPrep 2000 System is significantly more effective than the conventional Pap smear for the detection of Low-grade Squamous Intraepithelial Lesions and severe lesions in a variety of patient populations.

Specimen quality with the ThinPrep 2000 System is significantly improved over that of conventional Pap smear preparation in a variety of patient populations.

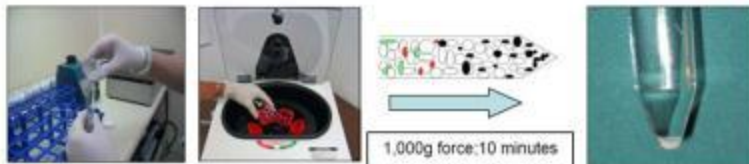
SurePath™ slides produced by the PrepStain™ System provide similar results to conventional Pap smears in split-sample comparisons in a variety of patient populations and laboratory settings. In addition, there were significantly fewer Unsatisfactory and SBCLB cases with SurePath™ slides as compared to conventional Pap smears. The SurePath™ slide may thus be used as a replacement for the conventional Pap smear for the detection of atypical cells, pre-cancerous lesions, cervical cancer, and all other cytologic categories defined by The Bethesda System.

TP PI Page 4 and SP PI page4

LIQUI-PREP

- Ra đời năm 2004.
- Công ty LGM, Mỹ
- Sử dụng tại: Brazil, Panama, Ecuador, S. Africa, India, Argentina, Trung Quốc,...

Liqui-*PREP* Cleaning Solution



LIQUI-PREP

- Sử dụng kỹ thuật ly tâm để tập trung tế bào và trải tế bào bằng pipet lên lam .
- Sử dụng:
 - Chất bảo quản (Preservative): Alcohol
 - DD làm sạch (Cleaning Solution): loại bỏ máu cũng như các mảnh vụn tế bào và một dung dịch giúp tế bào bám lên lam
 - DD kết nang (Cell base): gắn TB vào lam

Liqui-PREP : Quy trình lấy mẫu

- Đưa phần lông cứng ở giữa chổi vào tuyến cổ trong kênh cổ tử cung
- Xoay nhẹ nhàng chổi tế bào Cervex[®] năm vòng theo chiều kim đồng hồ
- Tháo đầu chổi cho vào lọ dung dịch bảo quản
- Vặn lọ thật chặt.

37

Liqui-PREP: Quy trình xử lý mẫu

1. Thêm 4 ml dung dịch làm sạch vào ống ly tâm đã đánh dấu.
2. Trộn kỹ mẫu bằng cách vortex.
3. Rót mẫu vào ống ly tâm.
4. Ly tâm 1000g trong 10 phút.
5. Đổ bỏ dịch nổi
6. Pha loãng cặn TB với dung dịch kết nang TB (tỉ lệ 1:3)
7. Trộn mẫu ngay trước khi đưa lên lam bằng cách vortex.
8. Dùng pipet hút tế bào đưa lên lam,
9. Để khô trong 20 phút, nhuộm và đọc mẫu.

38

Comparison of cytological and histological (biopsy) diagnosis concordant rate to Liqui-PREP with Pap-Smear

Histological diagnosis (biopsy)	Cytological diagnosis Liqui-PREP						Total
	ASC-H	LSIL	HSIL	AGC	GCC	SCC	
Total	98	567	183	13	6	57	924
Concordant	92	541	165	8	5	54	865
% of agreement	93.9	95.4	90.2	61.5	83.3	94.7	93.6

Histological diagnosis (biopsy)	Cytological diagnosis Pap-Smear						Total
	ASC-H	LSIL	HSIL	AGC	GCC	SCC	
Total	19	128	88	5	5	19	264
Concordant	15	101	67	3	4	17	207
% of agreement	80	78.9	76.1	60	80	89.5	78.4

ASC-H-High-grade squamous intraepithelial lesion; LSIL-Low-grade squamous intraepithelial lesions; HSIL - High-grade squamous intraepithelial lesions; AGC-Atypical glandular cells; GCC-Glandular carcinoma; SCC-Squamous cell carcinoma

Nguồn: [Hao Deshou](#), Clinical utility of Liqui-PREP™ cytology system for primary cervical cancer screening in a large urban hospital setting in China, 2009 .

Liqui-PREP

- Khác biệt chẩn đoán có ý nghĩa giữa 2 hệ thống CPS and LPT (93.6 vs. 78.4%, $P=0.001$).
- Khác biệt chẩn đoán có ý nghĩa trong chẩn đoán LSIL (95.4 vs. 78.9%, $P=0.001$) và HSIL (90.2 vs. 76.1%, $P=0.001$).
- Tăng tỷ lệ chẩn đoán ASC-H (93.9 vs. 80%) và Carcinôm TB gai (94.7 vs. 89.5).
- Khác biệt không có ý nghĩa trong chẩn đoán AGC (61.5 vs. 60%) và Carci nôm tuyến CTC (83.3 vs. 80%)

Nguồn: [Hao Deshou](#), Clinical utility of Liqui-PREP™ cytology system for primary cervical cancer screening in a large urban hospital setting in China, 2009 .

Liqui-PREP

- Độ sạch nền lam:
 - loại bỏ được hết hồng cầu và chất nhầy, nền lam sạch, tế bào được bảo quản tốt hơn, hiển thị rõ ràng, phân tán đều hơn, bạch cầu phân tán đều, không che lấp TB.
 - tỉ lệ lam không đạt yêu cầu chẩn đoán của phết nhúng dịch Liqui-PREP thấp hơn so với phết truyền thống (0.02% vs 0.05% tùy từng NC).

Nguồn: Gayer James et al. Evaluation of Liqui-PREP™ encapsulation method for liquid-based cytology: cell loss estimates during processing. 2004.

Liqui-PREP

- Thời gian đọc lam:

Liqui-PREP: TB được trải mỏng, đều trong một vòng tròn đường kính 17 ± 4 mm (diện tích khoảng $314,2 \text{ mm}^2$), giúp giảm bớt thời gian đọc mẫu so với phết truyền thống (diện tích khoảng 1500 mm^2)

Nguồn: Gayer James et al. Evaluation of Liqui-PREP™ encapsulation method for liquid-based cytology: cell loss estimates during processing. 2004.

Liqui-PREP

Hiệu quả sản phẩm:

- Chi phí mỗi xét nghiệm thấp, không cần thiết bị đặc biệt, thao tác thực hiện đơn giản
- Loại bỏ hồng cầu, chất nhầy, giảm sự chồng lấp tế bào, vùng kiểm tra trên lam nhỏ hơn => tăng tốc độ và tính chính xác cho việc đọc mẫu
- Giữ được hình thái tế bào ban đầu
- Bảo quản các tác nhân gây bệnh khác (nấm, vi khuẩn,...) → giúp phát hiện 1 số tác nhân gây nhiễm trùng: HPV, Chlamydia trachomatis, N. gonorrhoea,...
- Sử dụng toàn bộ mẫu, cho phép tiếp tục sử dụng cho các xét nghiệm khác (DNA, Protein)
- Được thiết kế cho cả những xét nghiệm không thuộc phụ khoa

SO SÁNH LIQUI-PREP & PAP TRUYỀN THỐNG



Table 1: Comparison of morphologic parameters

	Cellularity	Clean background	Uniform distribution	Artifacts	Cellular overlapping	Architectural	Cellular morphologic change
Liqui-PREP	Adequate	Clean	No	Rare	Yes	No	No
Pap-smear	2/3 patients required multiple samples	Not clean	Highly presented	Highly presented	Yes	Highly presented	More commonly

	%ASC-US	%ASC-H	%LSIL	%HSIL	AGC
LIQUI-PREP	6,8	0,31	1,8	0,58	0,41
Conventional Smear	2,3	0,06	0,41	0,28	0,06

Nguồn: Hao Deshou, Clinical utility of Liqui-PREP™ cytology system for primary cervical cancer screening in a large urban hospital setting in China, 2009.

So Sánh các LBC

	Liqui-Prep	ThinPrep	SurePap
Phân tán TB	++	+++	+++
Kỹ thuật ra lam	Thủ công	Tự động	Tự động
Đường kính vòng tròn lam	17 ± 4 mm	20 mm	13 mm
FDA phê duyệt	N/A	Yes	Yes
NCLS	+	+++	++
Giá thành/test	#300000VND	500000VND	150000VND

45

KẾT LUẬN

- Pap Smear truyền thống là xét nghiệm sàng lọc rất thành công trong khuôn khổ các chương trình tầm soát ung thư Cổ tử cung nhưng tỷ lệ âm tính giả cao.
- The ThinPrep Pap Test đã được FDA phê duyệt có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn Pap truyền thống trong việc phát hiện HSIL, LSIL và các tổn thương tế bào biểu mô tuyến.
- SurePap được FDA phê duyệt, tăng tỷ lệ phát hiện HSIL so với Pap truyền thống.
- Liqui-prep là kỹ thuật đơn giản, giúp cải thiện chất lượng mẫu so với Pap truyền thống.