L'ADEGUATEZZA DEL CAMPIONE BIOPTICO NEL *GRADING & STAGING* DELLE EPATITI CRONICHE VIRALI

A Cura del Gruppo di Studio
- ASSOCIAZIONE ITALIANA PER LO STUDIO DEL FEGATO (A.I.S.F.) -
- GRUPPO ITALIANO PATOLOGI DELL'APPARATO DIGERENTE (G.I.P.A.D.) DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI ANATOMIA PATOLOGICA & CITOPATOLOGIA (S.I.A.P.E.C.) -

L'ADEGUATEZZA DEL CAMPIONE BIOPTICO NEL *GRADING* & *STAGING* DELLE EPATITI CRONICHE VIRALI

A Cura del Gruppo di Studio
ASSOCIAZIONE ITALIANA PER LO STUDIO DEL FEGATO (A.I.S.F.)
GRUPPO ITALIANO PATOLOGI DELL'APPARATO DIGERENTE (G.I.P.A.D.) DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI ANATOMIA PATOLOGICA & CITOPATOLOGIA (S.I.A.P.E.C.)

INDICE

PREMESSA.....5

Approccio alla diagnostica istologica delle epatiti croniche virali.....5

Il campionamento agobioptico.....6

L'errore di campionamento.....6

Grading, Staging e dimensioni del campione agobioptico.....8

CONCLUSIONI.....9

REFERENZE.....11

PREMESSA

In corso di epatite cronica virale, l'esame istologico del fegato è generalmente richiesto per conoscere la gravità delle lesioni necro-infiammatorie (grading) e la estensione della fibrosi (staging). Molti studi hanno valutato la possibilità di utilizzare test non invasivi per la graduazione e stadiazione delle epatiti croniche virali, alternativi alla biopsia epatica. Al momento, nessuno di questi test è sufficientemente standardizzato per essere introdotto nella pratica clinica. Pertanto, ove sia clinicamente utile conoscere il grado e lo stadio di una epatite virale, l'esame istologico rimane il gold standard.

Il campionamento del tessuto epatico è di regola ottenuto mediante agobopsia percutanea. Il metodo agobioptico consente di ottenere una porzione di tessuto che rappresenta una piccola parte del volume dell'intero organo (circa 1/50.000 – 1/100.000). In presenza di patologie di tipo "diffuso" (quale è l'epatite cronica virale), nelle quali è possibile ipotizzare che le lesioni non siano uniformemente distribuite in tutto l'organo, si pone il problema di quanto il frammento bioptico sia rappresentativo della patologia dell'organo. Questo problema definisce il cosiddetto "errore di campionamento" e costituisce elemento cruciale nella problematica relativa all'appropriatezza della biopsia epatica nel management delle epatiti croniche virali.

Il mandato del gruppo di studio AISF – GIPAD/SIAPEC è stato quello di definire, sulla base delle evidenze disponibili, le caratteristiche di un campione bioptico idoneo ai fini del grading e staging di epatiti croniche virali. Ogni altra questione inerente la pratica della biopsia epatica più in generale (i.e. indicazioni, controindicazioni, complicanze, costi, ecc.) esula dagli obiettivi di questo documento ed è rimandata alla letteratura specifica.

APPROCCIO ALLA DIAGNOSTICA ISTOLOGICA DELLE EPATITI CRONICHE VIRALI

Il ruolo della biopsia epatica in corso di epatite cronica virale si è modificato negli anni, in seguito ai progressi raggiunti nell'identificazione dei principali fattori etiologici. Nella gestione dei pazienti, la caratterizzazione etiologica rappresenta oggi elemento centrale che, con l'integrazione degli aspetti morfologici, guida la prognosi e la terapia ([1,2]). Poiché esistono test virologici e sierologici affidabili e standardizzati, la diagnosi di epatite cronica e la definizione della etiologia non costituiscono più il fine principale dell'esame morfologico, se non in specifici contesti clinici, quali quelli caratterizzati da situazioni di immunodepressione (soggetti con infezione HIV, soggetti trapiantati) o nel sottogruppo di soggetti portatori di infezione da virus C con transaminasi persistentemente normali([3]).

Lo studio delle epatiti virali B e C ha chiarito il significato prognostico delle lesioni necroinfiammatorie e della fibrosi nella evoluzione della epatite a cirrosi([4,5]) producendo l'abbandono della classificazione tradizionale([6-10]) basata su criteri istologici**,** a favore di un approccio classificativo integrato, clinico-patologico([2]). La valutazione della gravità della necrosi/infiammazione (i.e. *grading*) e della fibrosi (i.e. *staging*) è oggi la principale indicazione ad eseguire una biopsia epatica in corso di epatite cronica virale([1,2,11-13]). Nella pratica clinica, la valutazione istologica di *grading* e *staging* è realizzata con differenti sistemi di score semiquantitativi ([14-18]). Studi di riproducibilità diagnostica hanno dimostrato che l'accordo tra patologi è accettabile per la valutazione del *grading* (con migliore riproducibilità dei sistemi che usano un numero minore di categorizzazioni) e quasi perfetto per la valutazione dello *staging*, indipendentemente dal sistema di score utilizzato ([19-21])**.** Gli articoli originali nei quali i differenti sistemi di *grading* e *staging* sono stati proposti non hanno però affrontato il problema dell'errore di campionamento nella applicazione dei sistemi stessi.

IL CAMPIONAMENTO AGOBIOPTICO

La biopsia percutanea, con o senza assistenza e/o guida ecografica, è la tecnica più utilizzata per il campionamento di lesioni epatiche diffuse e per il *grading* e lo *staging* delle epatiti virali croniche ([22]). L'uso della agobiopsia a cielo aperto o in laparoscopia è oggi ristretto al campionamento di lesioni focali occasionalmente identificate in corso di intervento chirurgico ([23]).

Attualmente sono in uso due tipi di aghi: tranciante (tipo Tru-cut) o a suzione (tipo Menghini)([24]). Gli aghi trancianti producono in generale biopsie non frammentate, ma il loro uso è stato associato ad un più alto rischio di complicanze. Con la tecnica di suzione, invece, è tradizionalmente segnalato un rischio maggiore di frammentazione del campione, anche se la pratica clinica attuale sembra suggerire che questo rischio sia molto basso con l'utilizzo di aghi tipo Menghini di più recente concezione. La grandezza del campione bioptico dipende da calibro e lunghezza dell'ago. Il campionamento con ago sottile (<21G) è unanimemente consigliato nella diagnostica "tumorale", mentre il suo uso nelle patologie diffuse è ancora controverso ([25]).

La biopsia epatica comporta un rischio, sia pure minimo, di complicanze, che è stato correlato alle condizioni cliniche del paziente, all'esperienza dell'operatore, al tipo di ago e al numero dei passaggi. Per un approfondimento della problematica si rimanda alla letteratura specifica ([22,26-30]).

L'ERRORE DI CAMPIONAMENTO

Un modello ideale di studio finalizzato alla valutazione della rappresentatività di un campione agobioptico in una patologia di tipo diffuso, dovrebbe prevedere la possibilità di confrontare le lesioni istologiche rilevate nel campione con quelle dell'intero organo. Per ovvie ragioni, un tale modello non è costruibile in vivo. La precisione diagnostica della agobiopsia epatica è stata oggetto di indagini cliniche già negli anni '50, nelle fasi iniziali di adozione del test[31].

La maggior parte degli studi che hanno investigato la rappresentatività del campione agobiotico di fegato, sebbene ancora oggi largamente citati, sono studi datati e riconducibili ad una epoca precedente l'introduzione dei sistemi di *grading* e *staging*. In questi studi sono stati utilizzati due differenti tipi di approccio: nel primo è stata valutata la accuratezza diagnostica dell'agobiopsia, confrontando gli aspetti morfologici di campioni agobioptici prelevati in differenti porzioni dello stesso organo; nel secondo modello di studio l'accuratezza della biopsia percutanea nella diagnosi di cirrosi è stata confrontata con la accuratezza diagnostica della laparoscopia, da sola o associata a campionamento bioptico. Il confronto tra questi studi è reso difficoltoso dalla loro eterogeneità in termini di numerosità delle casistiche, tipo di studio, tipo di tecnica agobioptica e criteri morfologici adottati. Inoltre, un importante limite di molti di questi studi, consiste nel non avere valutato la riproducibilità diagnostica inter- ed intra-osservatore.

Nello studio di Soloway[32] 19 soggetti furono sottoposti a 3 o 5 biopsie epatiche consecutive ad intervalli di 6-12 mesi dopo una prima diagnosi "certa" di cirrosi (il razionale era rappresentato dal postulato della irreversibilità della cirrosi); in 13 pazienti, biopsie simultanee furono eseguite in differenti porzioni del fegato. Lo studio riporta che l'entità delle lesioni epatitiche osservate nei campioni simultanei provenienti da sedi differenti è completamente sovrapponibile, mentre la presenza ed "il grado" della cirrosi mostra discrepanze, sia nei campioni simultanei, che in quelli consecutivi. Costituiscono limiti metodologici di questo studio: il basso numero dei casi studiati, la mancata definizione del *gold standard* verso il quale la diagnosi istologica agobioptica è stata testata, la assenza di informazione sulla dimensione dei campioni bioptici e in particolare sulle dimensioni dei campioni consecutivi o simultanei confrontati tra loro, l'utilizzo di un non definito sistema di "graduazione" della cirrosi. In uno studio effettuato su serie autoptica[33] l'accuratezza nella diagnosi di cirrosi è riferita pari a 80%, se basata sulla osservazione di un singolo campione, e pari al 100% se basata sulla osservazione di tre campioni ottenuti in differenti aree epatiche. Nessuna differenza è riportata nella diagnosi qualitativa di steatosi, epatite alcolica, epatite non specifica ed epatite fulminante. In questo studio la dimensione di ciascuna agobiopsia è di mm 25, mentre il diametro del campione non è riferito. Nello studio di Baunsgaard[34] è riportato un errore di circa il 20% nella diagnosi istologica di cirrosi. Lo studio definisce la lunghezza minima dei campioni (cm 1 per i campioni composti da 1 a 3 frammenti e cm 1.5 per quelli composti da 4 o più frammenti), ma non riferisce il diametro e il numero degli spazi portali compresi nell'intera serie di preparati esaminati, né se i campioni ottenuti dalle differenti porzioni del fegato fossero di grandezza paragonabile. Lo studio, inoltre, non riporta le indicazioni per le quali la biopsia epatica era effettuata. Lo studio di Pagliaro e coll[35]. confronta l'accuratezza diagnostica della agobiopsia percutanea con l'accuratezza diagnostica di una biopsia ottenuta in laparoscopia, suggerendo che l'esame istologico di biopsie percutanee può comportare sottostima di cirrosi in circa 20% dei casi. I risultati di questo studio non si possono considerare oggi applicabili per le seguenti considerazioni metodologiche: non è indicato il *gold standard* verso il quale i differenti metodi diagnostici sono stati testati; le biopsie percutanee e le biopsie laparoscopiche sono state eseguite in soggetti differenti; la lunghezza minima dei campioni accettati nello studio è riferito pari a cm 1, ma non è riportata la lunghezza media e la

deviazione standard di tutti i campioni esaminati, dei quali non è inoltre riferito il diametro. È pure di rilievo che le valutazioni laparoscopiche e istologiche furono eseguite da coppie di operatori, ma la riproducibilità diagnostica fra operatori fu valutata solo per l'esame laparoscopico. In un uno studio successivo([36]), è riportato un "errore" nella diagnosi istologica di cirrosi su agobiopsia, in 32% di soggetti nei quali la diagnosi certa di cirrosi era stata ottenuta con laparoscopia. Va tuttavia considerato che questo studio includeva patologie di differente natura, compresa la cirrosi biliare primitiva e la colangite sclerosante primitiva per le quali è noto che lesioni in differente stadio di progressione possono essere rilevate in aree differenti di tessuto epatico([37]). Nello studio di Picciotto *et al*.([38]), al contrario degli studi precedentemente esaminati, la accuratezza diagnostica di una biopsia percutanea è riferita del 100%, utilizzando come *gold standard* la diagnosi basata sulla combinazione degli aspetti laparoscopici con quelli istologici di tre biopsie epatiche ottenute simultaneamente da differenti porzioni di parenchima epatico. I campioni bioptici inclusi in questo studio dovevano avere lunghezza non inferiore a cm. 2,5. Nello studio di Gaiani e coll([39]). la diagnosi ultrasonografica è stata confrontata con la diagnosi istologica su agobiopsia, concludendo per la superiorità del primo sul secondo metodo diagnostico. Tuttavia il disegno dello studio non prevedeva di testare i due metodi diagnostici verso un *gold standard* esterno, rendendo pertanto non interpretabili le discordanze diagnostiche osservate.

Solo 4 studi, tutti eseguiti in soggetti con epatite cronica HCV-correlata, hanno affrontato il questione della rappresentatività del campione bioptico dopo l'introduzione dei sistemi di *grading* e *staging*. Lo studio di Fanning([40]) ha avuto come obiettivo principale la verifica della variabilità tessutale della carica virale dimostrando che questa è identica in porzioni di tessuto prelevate in aree differenti. Lo studio ha però segnalato una differenza diagnostica maggiore di 2 punti di grado e stadio, rispettivamente nel 33% (4/12) e nel 25% (3/12) delle biopsie. Lo studio tuttavia, includeva solo un piccolo numero di casi, non riferiva la grandezza dei campioni né il numero medio di spazi portali dell'intera serie e non valutava l'accordo diagnostico *inter* e *intra-observer*. Nello studio di Regev([41]) sono state confrontate le biopsie epatiche ottenute, in corso di laparoscopia, dal lobo destro e dal lobo sinistro in 124 soggetti con epatite cronica C. Lo studio ha rilevato una differenza di un punto di *grading* nel 24.2% dei casi e di un punto di *staging* nel 30.6%. Il campione bioptico è stato considerato adeguato quando la lunghezza non era inferiore a cm 1.5 o contenente non meno di 5 spazi portali. Tuttavia, non è riferito se le coppie di biopsie confrontate fossero di uguale lunghezza e/o comprendessero un eguale numero di spazi portali. Lo studio di Persico e coll([42]). ha documentato una perfetta sovrapponibilità delle diagnosi basate su campioni agobioptici ottenuti simultaneamente, per via percutanea, dal lobo destro e sinistro di 52 soggetti consecutivi con epatite cronica C. Lo studio istologico era stato effettuato da due patologi separatamente con un accordo diagnostico dimostrato pari al 90%. La lunghezza dei campioni dell'intera serie era pari a cm 2.8±1.1 per il lobo destro e cm2.5±0.9 per il lobo sinistro. Uno studio molto recente([43]) riporta una discordanza diagnostica inaspettatamente elevata (69% e 62% rispettivamente per *grading* e *staging*) in 29 coppie di biopsie valutate con il metodo di Knodell. Tutti i campioni esaminati comprendevano un numero massimo di 4 o 5 spazi portali. È verosimile che le peculiarità del sistema di Knodell (nel quale la scala dei punteggi non è continua) possa rendere ragione di differenze cosi elevate, come gli stessi autori sottolineano nei loro commenti.

GRADING, *STAGING* E DIMENSIONI DEL CAMPIONE AGOBIOPTICO

Indipendentemente dalla specifica finalità dell'indagine istologica, è stato tradizionalmente definito "adeguato" un campione agobioptico di fegato della lunghezza di cm. 1,5 e/o contenente un numero minimo di 4-6 spazi portali([1,23]). Questo standard di adeguatezza è stato introdotto in epoca antecedente la utilizzazione dei sistemi di score per il *grading* e lo *staging* delle epatiti croniche.
Sono qui di seguito analizzati gli studi che hanno espressamente avuto come finalità quella di valutare l'accuratezza diagnostica in relazione alle dimensioni del campione bioptico.
Lo studio pionieristico di Holund e coll([44]). ha dimostrato che la diagnosi di epatite acuta può essere accuratamente formulata anche in frammenti bioptici di lunghezza pari a cm. 0,5, mentre la accuratezza nella diagnosi di cirrosi si incrementa con l'aumentare della lunghezza del campione bioptico. In questo studio, nel quale 100 agobiopsie venivano rivalutate in sessioni differenti in cui la lunghezza era modificata mascherando parte del campione, il *gold standard* era rappresentato dal campione intero, la cui lunghezza minima era pari a cm.2.5. Lo stesso gruppo di autori, ha successivamente valutato([45]), con metodologia analoga alla precedente, l'accuratezza nella diagnosi di epatite cronica attiva (basata, secondo i criteri tradizionali, sul rilievo di necrosi *piecemeal*). Questo studio ha dimostrato che l'accuratezza della diagnosi di ECA aumenta con l'aumentare della lunghezza del campione: 1.5 cm rappresenta la minima lunghezza adeguata per la diagnosi di ECA. È importante sottolineare che nello stesso studio la stessa lunghezza non risultava idonea per la diagnosi di cirrosi. Lo studio di Vargas-Tank([46]) ed il successivo di Colombo([47]), hanno riportato che campioni ottenuti con ago tranciante consentono maggiore accuratezza nella diagnosi di cirrosi rispetto a campioni ottenuti con ago tipo Menghini. Tuttavia il diametro degli aghi trancianti utilizzati nello studio di Colombo era differente da quello degli aghi di Meneghini.
Per ciò che concerne più specificamente i rapporti tra *grading, staging* e campione bioptico, è stato recentemente suggerito([48]) che un campione ottenuto con ago sottile è adeguato ai fini del *grading* e *staging* della epatite cronica C. Questo studio presenta limiti metodologici che ne rendono non pienamente condivisibili le conclusioni. In particolare, i due tipi di campione agobioptico valutati non sono stati testati verso un comune *gold standard* e sono stati ottenuti in soggetti diversi. Poiché lo studio è retrospettivo, la scelta del tipo di ago da utilizzare è stata verosimilmente condizionata dal contesto clinico. In uno studio più recente di Brunetti e coll.([49]), eseguito con adeguata metodologia, si dimostra che l'utilizzo di ago sottile nella epatite cronica C comporta una costante sottostima del grado e dello stadio della malattia
Nello studio di Colloredo e coll([50]). una serie consecutiva di 160 biopsie (tutte di lunghezza superiore a cm 3 e di diametro pari a cm 1.4) ottenute da soggetti con epatite cronica B o C, è stata rivalutata per il *grading* e lo *staging* in sessioni multiple nelle quali le dimensioni del campione venivano ridotte sia in lunghezza che in spessore. Il *gold standard* era rappresentato dell'intero campione bioptico. Lo studio ha dimostrato che campioni più corti e più sottili contengono un numero di spazi portali "completi" significativamente inferiore a quello rilevato nell'intero campione. L'esame di campioni più corti e più sottili comporta sottostima del *grading* e dello *staging*. Lo studio identifica in 11 il numero di spazi portali completi al di sotto del quale la entità del danno epatico è significativamente sottostimata, sia in termini di grado che di stadio Tale numero minimo è contenuto nel 94% dei campioni di lunghezza pari a cm. 2.
Uno studio recente([51]) ha sostanzialmente confermato i risultati dello studio di Colloredo e coll, valutando lo stadio della fibrosi nell'epatite cronica C, attraverso l'analisi di immagine, in un gran numero di biopsie "virtuali" di differente grandezza. In questo studio, è dimostrato che nel 65% delle biopsie di lunghezza pari a cm 1,5 lo stadio è in accordo con quello ottenuto sul campione chirurgi-

co che costituisce il *gold standard*. L'accuratezza si eleva al 75% in campioni di cm 2,5 e questa dimensione viene suggerita come la minima indispensabile per una più accurata stadiazione della epatite C. È importante segnalare che, al contrario dello studio di Colloredo precedentemente citato, nel quale lo spessore dei campioni è di mm1.4, lo studio francese utilizza campioni virtuali analoghi a quelli ottenibili con un ago da 18G e quindi di diametro di mm 1,2 circa. È verisimile che questa differenza renda ragione della differente lunghezza "minima" considerata adeguata dai due studi.

CONCLUSIONI

La revisione critica dei dati di letteratura dimostra che, in corso di patologia epatica diffusa, le lesioni morfologiche osservate in campioni agobioptici sono "qualitativamente" rappresentative del processo patologico dell'intero organo. In termini pratici, ciò significa che l'agobiopsia epatica rappresenta un accertamento diagnostico affidabile per la diagnosi di lesioni epatiche diffuse in generale e di epatite cronica, in particolare, anche con campioni della lunghezza di cm.0.5.

Per ciò che concerne la valutazione "quantitativa" delle lesioni necro-infiammatorie e della fibrosi, tanto gli studi di vecchia data, quanto i più recenti, confermano il principio generale *bigger is better*([52]). Principio che deve ovviamente essere temperato con l'altrettanto generale principio di salvaguardare la incolumità del paziente. L'analisi della letteratura dimostra che molti studi (in particolare quelli eseguiti in epoca precedente l'introduzione dei sistemi di score semiquantitativi) contengono problemi metodologici, tali da sollevare perplessità sui risultati. In particolare, la nozione di adeguatezza riferita a campioni della lunghezza di cm 1.5 e/o contenenti 4-6 spazi portali non può essere applicata al *grading* e *staging* delle epatiti croniche virali. Tutti gli studi che hanno utilizzato questi standard dimostrano risultati inconsistenti e quelli che hanno confrontato campioni di lunghezza differente, dimostrano che la minore lunghezza si associa ad una sottostima del danno (vedi sopra).

In pratica, al fine di minimizzare il rischio di sottostima dell'attività e dello stadio di una epatite cronica virale, e, considerate le evidenza della letteratura, si ritiene che un campione agobioptico debba contenere un numero minimo di spazi portali completi compreso tra 11-15. A tal fine è opportuno ottenere campioni della lunghezza minima di cm 2 e dello spessore minimo di mm1.4, o campioni di lunghezza non inferiore a cm 2,5 se di spessore pari a mm 1,2. Si raccomanda di includere sempre nel referto istologico il numero di spazi portali completi presenti nel materiale in esame, così da consentire al clinico un giudizio sulla "adeguatezza" del campionamento bioptico..

REFERENZE

1. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. N Engl J Med 2001; 344:495-500
2. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, et al. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. Hepatology. 1994;19:1513-20
3. Puoti C, Guido M, Mangia A, Persico M, Prati D: Committee on HCV carriers with normal alanine aminotransferase levels of the Italian Association for the Study of the Liver. *Clinical management of HCV carriers with normal aminotransferase levels*. Dig Liver Dis 2003;35: 362-9
4. Yano M, Kumada H, Kage M, Ikeda K, et al. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. Hepatology 1996; 23:1334-40
5. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. Lancet 1997; 349(9055): 825-32
6. Gerber MA. Chronic hepatitis C: the beginning of the end of a time honored nomenclature? Hepatology 1992; 15: 733-734
7. Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for a reassessment. J hepatol 1991; 13:372-374
8. Schmid M, Flury R, Buhler H, Havelka J, et al. Chronic viral hepatitis B and C: an argument against the conventional classification of chronic hepatitis. Virchows Arch. 1994; 425:221-226
9. Ludwig J. The nomenclature of chronic active hepatitis: an obituary. Gastroenterology 1993; 105:274-278
10. Batts KB, Ludwig J. Chronic hepatitis. An update on terminology and reporting. Am J Surg Pathol 1995; 19:1409-1417
11. Dienstang JL. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. Hepatology 2002; 36: S152-S160
12. Saadeh S, Cammell G, Carey WD, Younossi Z, et al. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. Hepatology 2001; 33:196-200
13. Gebo KA, Herlong HF, Torbenson MS, Jenckens MW, et al. Role of liver biopsy in management of chronic hepatitis C: A systematic review. Hepatology 2002; 36: S161-172
14. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS; et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. Hepatology 1981; 1:431-435
15. The French METAVIR cooperative study group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. hepatology 1994;20: 15-20
16. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. J hepatol 1995; 22:696-9
17. Guido M, Faa G. Morphological diagnosis of chronic hepatitis. Minimal requirements for histopathological referral. Pathologica. 1998; 2:176-82
18. Brunt EM. Grading and staging the histopathological lesions of chronic hepatitis: the Knodell histology activity index and beyond. Hepatology. 2000;31: 241-6.
19. Goldin RD, Goldin GJ, Burt AD, Dhillon AD, et al. Intra-observer and inter-observer variation in the histopathological assessment of chronic viral hepatitis. J Hepatol 1996; 25:649-654
20. Westin J, Lagging LM, Weistal R, Norkrans G, et al. Interobserver study of liver histopathology using the Ishak score in patients with chronic hepatitis C virus infection. Liver 1999; 19: 183-187.
21. Gronbek K, Christensen PB, Hamilton-Dutoit S, et al. Interobserver variation in interpretation of serial liver biopsies from patients with chronic hepatits C. J Viral Hep 2002; 9: 443-449
22. Van Leeuwen DJ, Wilson L, Crowe DR. Liver biopsy in the mid-1990s: questions and answers. Sem Liv Dis 1995; 15: 340-358
23. Sherlock S, Dooley J. Diseases of the liver and biliary system. 4th ed. London: Blackwell Scientific, 1997
24. Lebrec D Various approaches to obtaining liver tissue: choosing the biopsy technique. J Hepatol 1996; 25 (S1): 20-24
25. A.J. Demetris, Ruppert K. Pathologist's perspective on liver needle biopsy size? J Hepatol 2003; 39:275-277
26. Piccinino F, Sagnelli E, Pasquale G, Giusti G. Complications following percutaneous liver biopsy. A multicentre retrospective study on 68,276 biopsies. J Hepatol. 1986;2:165-73
27. McGill DB, Rakela J, Zinsmeister AR, Ott BJ. A 21-year experience with major hemorrhage after percutaneous liver biopsy. Gastroenterology. 1990;99:1396-400.
28. Tobkes AI, Nord HJ. Liver biopsy: review of methodology and complications. Dig Dis 1995; 13: 267-274
29. Terjung B, Lemnitzer I, Ludwig-Dumoulin F, Effenberger W, et al. Bleeding complications after percutaneous liver biopsy. An analysis of risk factors. Digestion 2003; 67: 138-145
30. Froehlich F, Lamy O, Fried M, Gonvers JJ. Practice and complication of liver biopsy: result of a national survey in Switzerland. Dig Dis Sci 1993; 38:1480-1484

31. Menghini G, Orlandi F. Rappresentatività del reperto bioptico. In: G meneghini e F Orlandi. La puntura-biopsia epatica. Strumenti, metodi, pratica clinica. Il Pensiero scientifico ed. Roma 1957
32. Soloway RD, Baggenstoss AH, Schoenfield LJ, Summerskill WHJ. Observer error and sampling variability tested in evaluation of hepatitis and cirrhosis by liver biopsy. Dig Dis 1971; 16: 1082-1086
33. Abdi W, Milln JC, Mezey E. sampling variability on percutaneous liver biopsy. Arch Intern Med 1979; 139: 667-9
34. Baunsgaard Philip, Sanchez GC, Lundborg CJ. The variation of pathological changes in the liver evaluated by double biopsies. Acta Path Microbial Scand (Sec A) 1979; 87: 51-57
35. Pagliaro L, Rinaldi F, Craxi A, Di Piazza S, et al.. Percutaneous blind biopsy versus laparoscopy with guided biopsy in diagnosis of cirrhosis. A prospective, randomized trial. Dig Dis Sci. 1983 Jan;28(1):39-43
36. Poniachik J, Bernstein DE, Reddy KR, Jeffers LJ, et al. The role of laparoscopy in the diagnosis of cirrhosis. Gastrointest Endosc. 1996 ;43(6):568-71.
37. Scheuer PJ, Lefkowitch JH. Liver biopsy interpretation. 6th ed. WB Saunders ed. London 2000
38. Picciotto A, Ciravegna G, Lapertosa G, Celle G. Percutaneous or laparoscopic needle biopsy in the evaluation of chronic liver disease? Am J Gastroenterol 1984; 79: 567-568
39. Gaiani S, Gramantieri L, Venturoli N, Piscaglia F, et al. What is the criterion for differentiating chronic hepatitis from compensated cirrhosis? A prospective study comparing ultrasonography and percutaneous liver biopsy. J Hepatol 1997; 6:979-9985
40. Fanning L, Loane J, Kenny-Walsh E, Sheehan M, et al. Tissue viral load variability in chronic hepatitis C. Am J Gastroenterol 2001; 96: 3384-3389
41. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. Am J Gastroenterol 2002; 97: 2614-2618
42. Persico M, Palmentieri B, Vecchione R, Torella R, et al. Diagnosis of chronic liver disease: reproducibility and validation of liver biopsy. Am J Gastroenterol 2002; 97: 491-492
43. Siddique I, El-Naga A, Madda JP, Memon A et al. Sampling variability on percutaneous liver biopsy in patients with chronic hepatitis C virus infection. Scand J Gastroenterol 2003; 4: 427-432
44. Holund B, Poulsen H, Schlichting P. Reproducibility of liver biopsy diagnosis in relation to the size of the specimen. Scand J Gastroenterol. 1980;15(3):329-35
45. Schlichting P, Holund B, Poulsen H. Liver biopsy in chronic aggressive hepatitis. Diagnostic reproducibility in relation to size of specimen. Scand J Gastroenterol. 1983 Jan;18(1):27-32.
46. Vargas-Tank L, Martinez V, Jiron MI, Soto JR, et al. Tru-Cut and Menghini needles: different yield in histological diagnosis of liver diseases. Liver 1985; 5:178-181
47. Colombo M, Del Ninno E, De Franchis R, De Fazio C et al. Ultrasound-assisted percutaneous liver biopsy: superiority of the Tru-cut over the Menghini needle for diagnosis of cirrhosis. Gastroenterology 1988; 95: 487-489
48. Petz D, Klauck S, Rohl FW, Malfertheiner P, et al.. Feasibility of histological grading and staging of chronic viral hepatitis using specimens obtained by thin-needle biopsy. Virchows Arch. 2003 Mar;442(3):238-44.
49. Brunetti E, Silini E, Pistorio A, et al. Corse vs. fine needle aspiration biopsy for the assessment of diffuse liver disease from hepatitis C virus-related chronic hepatitis. J Hepatol 2004; 40: 501-506
50. Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. J Hepatol. 2003;39:239-44.
51. Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. Hepatology. 2003 Dec; 38(6): 1449-57.
52. Scheuer PJ. Liver biopsy size matters in chronic hepatitis: bigger is better. Hepatology. 2003; 38(6): 1356-8.

L'ADEGUATEZZA DEL CAMPIONE BIOPTICO NEL *GRADING* & *STAGING* DELLE EPATITI CRONICHE VIRALI

Raccomandazioni dell'Associazione Italiana per lo Studio del Fegato & del Gruppo Italiano dei Patologi dell'Apparato Digerente (GIPAD-SIAPEC)

Responsabile della stesura:
Maria Guido

Esperti, revisori del testo: Alfredo Alberti (Padova), Paola Ceppa (Genova), Guido Colloredo (Bergamo), Massimo Colombo (Milano), Gioacchino Leandro (Castellana Grotte), Massimo Roncalli (Milano), Massimo Rugge (Padova), Aurelio Sonzogni (Bergamo)

Si ringraziano il Prof. F Orlandi e la Prof. Anne Marie Jezequel per la lettura critica del testo

Il documento è stato realizzato con il contributo del "Gruppo di Cooperazione A.I.S.F.-Industrie"
Bayer Diagnostics S.r.l., GiEnne Pharma SpA, Gilead Sciences S.r.l., GlaxoSmithKline S.p.A., Hardis S.p.A., Industrie Farmaceutiche Serono S.p.A., Roche S.p.A., Schering-Plough S.p.A.