

# RIPRODUCIBILITÀ DEL TEST HYBRID CAPTURE 2 CON SET DI PRELIEVO (STM E PRESERV CYT) E PROCEDURE PRE-ANALITICHE DIFFERENTI

De Marco L<sup>1,2</sup>, Larato C<sup>3</sup>, Maso D<sup>1</sup>, Rizzolo R<sup>3</sup>, Segnan N<sup>3</sup>, Ghiringhella B<sup>1,4</sup>, Macrì L<sup>1</sup>, Sapino A<sup>1</sup>, Ronco G<sup>3</sup>, Gillio-Tos A<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Centro Unificato Screening Cervico-Vaginale, AO Città della Salute e della Scienza - SGAS, Torino; <sup>2</sup> Epidemiologia dei Tumori- CeRMS- Università di Torino; <sup>3</sup> Centro per la Prevenzione Oncologica, Torino; <sup>4</sup> AO Città della Salute e della Scienza Presidio OIRM-S.Anna, Torino

## INTRODUZIONE

In Piemonte la DGR 2157-05 del 23 aprile 2013 introduce ufficialmente il test HPV come test primario di screening nel programma di prevenzione del tumore del collo dell'utero per le donne tra 30 e 64 anni.

Il Centro Unificato Screening Cervico Vaginale è stato individuato come uno dei due centri di riferimento regionali, e la strumentazione molecolare in essere è stata di conseguenza rinnovata con l'acquisizione di strumentazioni automatizzate.

La differenza sostanziale tra lo studio pilota (2010-febbraio 2014) e lo screening secondo DGR è l'esecuzione di un singolo prelievo con mezzo di trasporto valido sia per il test HPV che per la citologia in fase liquida → passaggio da prelievo in STM (*Qiagen*) a prelievo in PreservCyt (*Hologic*).

## OBIETTIVI

Valutare la riproducibilità del test Hybrid Capture2 (HC2) (*Qiagen*) in coppie di prelievi cervicali raccolti nella stessa seduta con mezzi di trasporto (STM e PreservCyt) differenti e sottoposti a procedure pre-analitiche dedicate.

## METODI

L' algoritmo diagnostico di screening prevede che

donne (>35 nello studio pilota) hrHPV+ e citologia positiva al reclutamento siano inviate in colposcopia.

➤ controllo colposcopico dopo 9 mesi: 2 prelievi cervicali (solo nello studio pilota)



➤ Il risultato del campione in STM è stato confrontato con quello del corrispondente residuo del prelievo in PreservCyt, dopo allestimento del vetrino citologico.

➤ **Fase pre-analitica:**

- STM** ➤ sistema manuale
- denaturazione di tutto il materiale prelevato (1ml + 500 uL denaturante)
- denaturazione a 65° per 45'

- PreservCyt** ➤ estrattore automatico QIASymphony (*Qiagen*)
- estrazione di 2,5 ml di materiale
- estrazione: 2,5h per 88 campioni

➤ **Test analitico:**

HC2 (*Qiagen*) su piattaforma semiautomatica RCS (*Rapid-Capture-System, Qiagen*)

➤ **STM:** utilizzati per il test HC2 75 uL del materiale denaturato

➤ **PreservCyt:** utilizzato per il test HC2 tutto il materiale estratto

➤ **Analisi statistiche:**

- ✓ k Cohen,
- ✓ test McNemar

## CONCLUSIONI

Questo studio valuta per la prima volta la riproducibilità dei risultati ottenuti mediante test HC2 su RCS comparando i due mezzi di trasporto con le due procedure di preparazione del DNA consigliate.

La concordanza eccellente del sistema automatico di estrazione da prelievo con PreservCyt confrontato con la metodica standard con STM, valida la procedura.

Tuttavia si osserva aumento del rate di positività utilizzando il PreservCyt come soluzione di trasporto. Possibili giustificazioni possono essere:

1. l'effettiva quantità di materiale testato con HC2 da PreservCyt è pari a 2.5 volte quella da STM, pertanto i campioni che in STM hanno un RLU/CO  $\geq 0.40$  possono risultare positivi da PreservCyt a parità di densità cellulare;
2. il prelievo in STM è di regola eseguito come secondo prelievo e può avere una minore densità cellulare.

Nello screening in corso, questo aumento del rate di positività sembra non modificare la percentuale di donne inviate in colposcopia (dati preliminari).

## RISULTATI

➤ sono stati raccolti 238 doppi prelievi tra Maggio 2013 e Febbraio 2014:

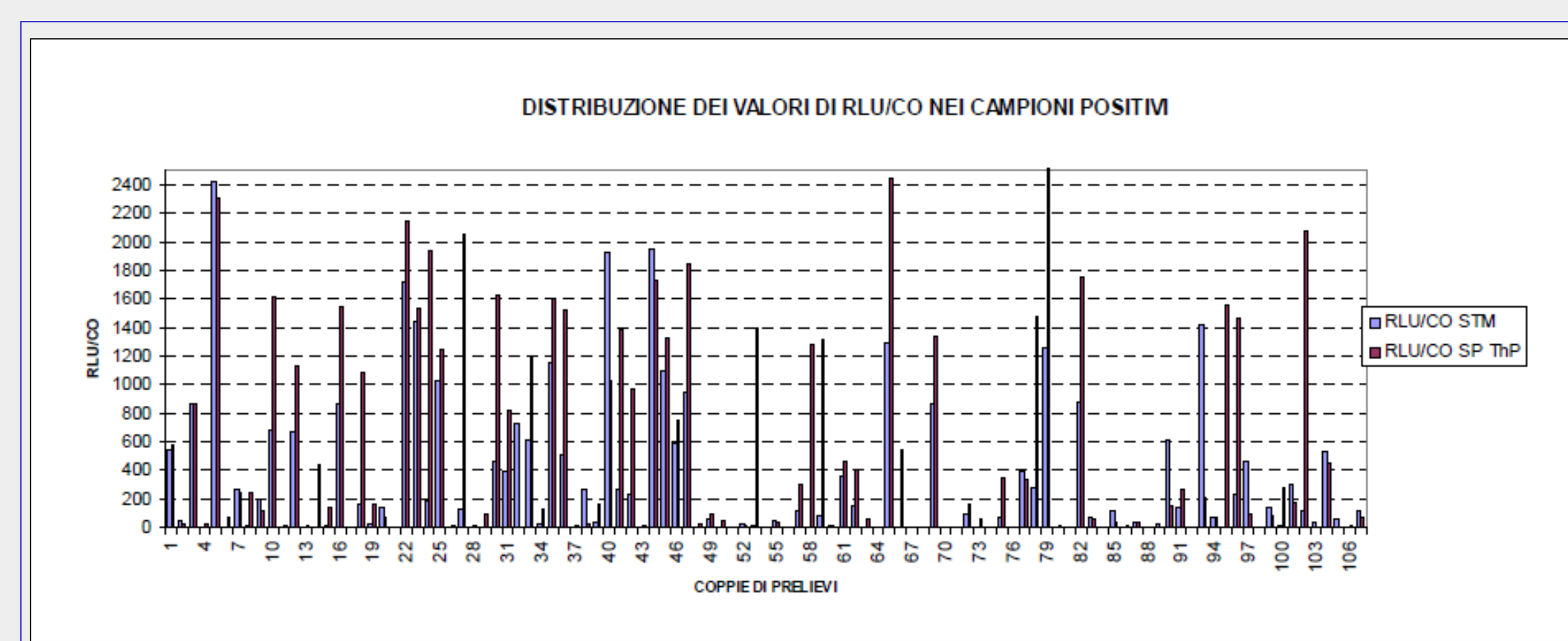
➤ 107 sono risultati positivi e 114 sono risultati negativi in entrambi i prelievi

➤ risultano in totale: 221 concordanti e 17 discordanti

➤ Concordanza complessiva: **93%**

➤ k Cohen: **0.85; 95% IC: 0.78- 0.91**

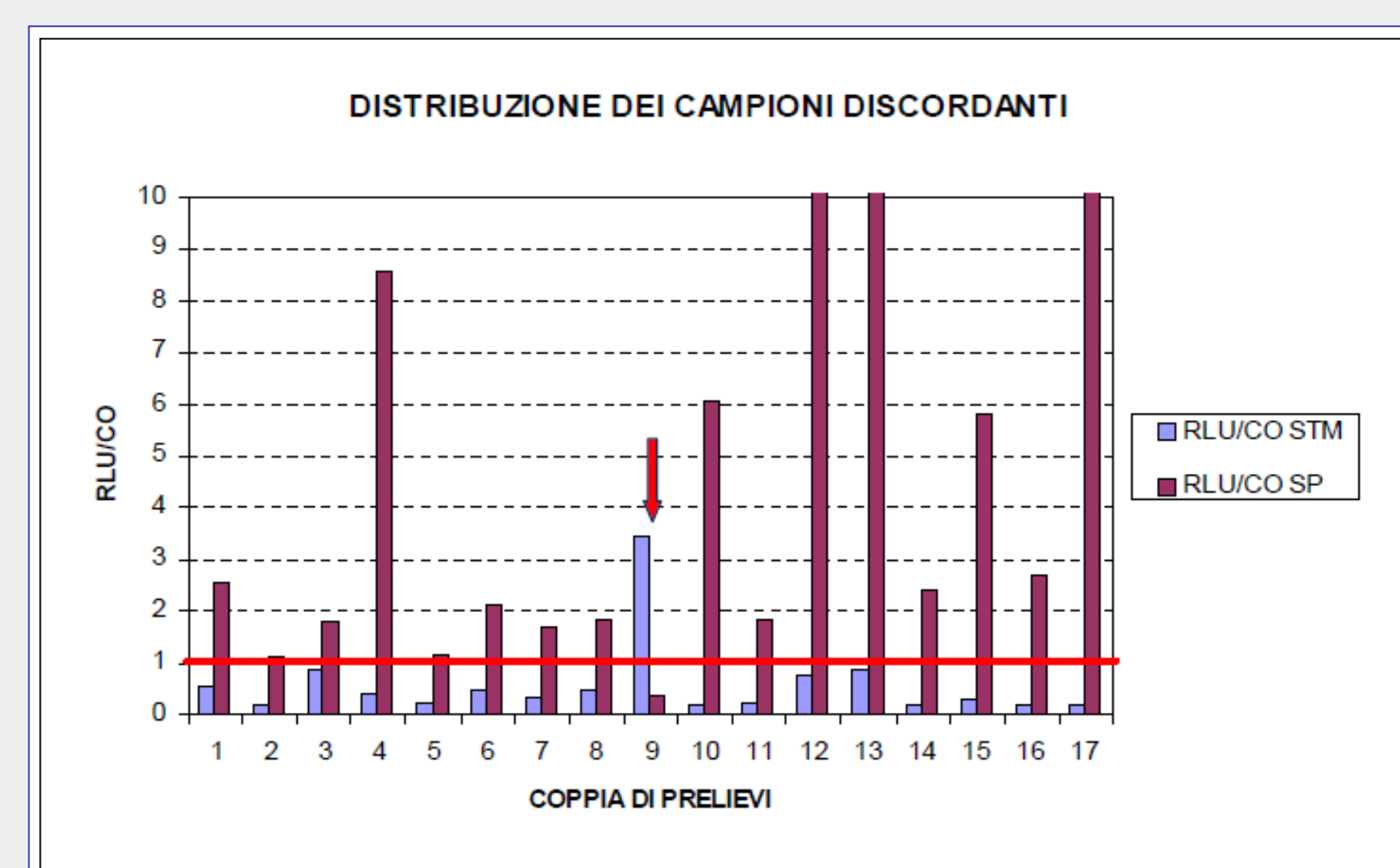
➤ p di Mc Nemar: **0.0002**



➤ 16 dei 17 campioni discordanti risultano negativi in STM e positivi in PreservCyt:

- 6 con RLU/CO tra 1 e 2
- 4 con RLU/CO tra 2 e 5
- 6 con RLU/CO >5

➤ 1 prelievo positivo in STM (RLU/CO=3.43) è risultato negativo in PreservCyt.



➤ Rapporto tra i rate di positività: **1.14**