

Riproducibilità del test HPV-DNA di screening: Hybrid Capture 2 e COBAS 4800 HPV test

Laura De Marco¹, Cristina Fodero², Elena Allia¹, Raffaella Rizzolo³, Teresa Rubino², Giuliana Sartori², Manuela Monica², Laura Bulgarelli²,
Vincenza Semeraro², Luigia Macrì¹, Anna Gillio Tos¹

1 Centro Unico Screening Cervico Vaginale – SGAS, Torino, 2 Citologia Cervico-Vaginale di Screening, AO RE Arcispedale S. Maria Nuova, Reggio Emilia, 3 SC Epidemiologia dei Tumori, CPO Piemonte, Torino

e-mail: gilliotos.demarco@cpo.it

INTRODUZIONE

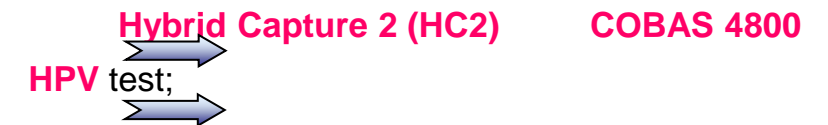
Nell'ambito dei programmi di screening per il cervicocarcinoma l'interazione tra Centri di Riferimento è fondamentale per il monitoraggio dell'accuratezza del risultato erogato.

In questo modo si identificano le eventuali aree di miglioramento che possono portare ad una maggiore tutela dell'assistita.

OBIETTIVI

Valutare:

- La riproducibilità in due Centri di Riferimento regionale (Torino e Reggio Emilia) dei risultati ottenuti al test HPV analizzando lo stesso campione con i due metodi di screening HPV più utilizzati a livello nazionale:



- La riproducibilità di campioni borderline HC2;
- La correlazione tra Ratio (HC2) e cT (COBAS)

MATERIALI E METODI

POPOLAZIONE DELLO STUDIO:

➤ aprile 2016: serie continuativa di **100** campioni cervicali in PreservCyt (Hologic) ottenuti da donne richiamate a ripetere il test HPV dopo 1 anno, è stata raccolta e analizzata nel Centro di Riferimento di Torino. Il materiale residuo è stato inviato al Centro di Riferimento di Reggio Emilia.

➤ Test utilizzati: **HC2** (Qiagen) Centro di Riferimento di Torino
COBAS 4800 HPV (Roche) Centro di Riferimento di Reggio Emilia



HC2: estrazione di 2,5 ml di materiale tutto l'estratto in piastra di ibridazione
COBAS 4800 HPV: estrazione di 400 uL di materiale 25 uL di estratto Real time PCR

➤ riproducibilità del risultato ottenuto con i due sistemi analitici, espresso in Ratio (RLU/CO) per HC2 e in crossing Threshold (cT) per COBAS, è stata valutata con

- ✓ *k* di concordanza Cohen,
- ✓ test McNemar

METODO	N° TIPI HPV RILEVATI	TIPI HPV RILEVATI
Digene	12 + 1	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68
Cobas-4800	12 + 2	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68

RISULTATI

➤ 100 campioni cervicali consecutivi:

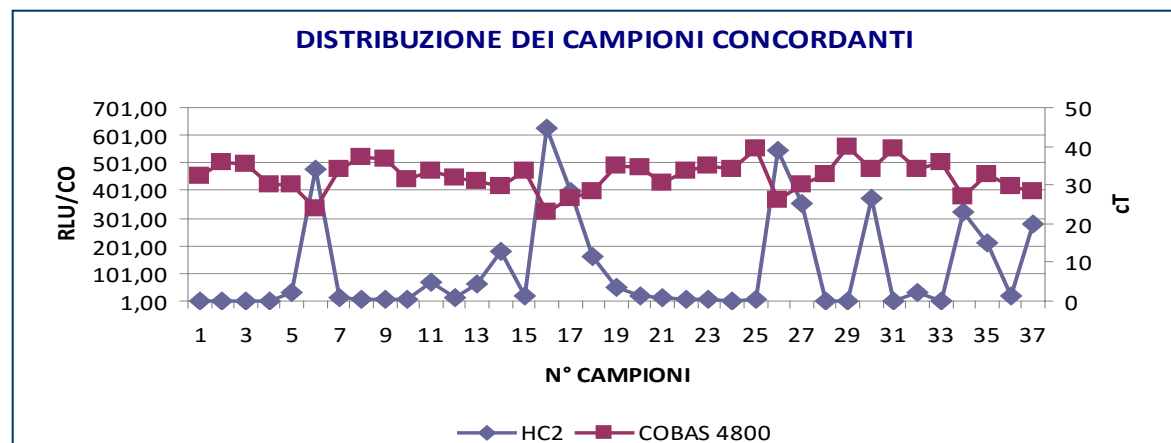
➤ 41 sono risultati positivi e 41 negativi con entrambi i test

➤ risultano in totale: 82 concordanti e 18 discordanti

Concordanza complessiva : 82%

k Cohen: 0.65 (IC: 0.50-0.78)

p di Mc Nemar: 0.0047



➤ negativi HC2 con RLU/CO:0.40-0.90 negativi con COBAS;

➤ 7 negativi HC2 con RLU/CO:0.90-0.99, 6 negativi con COBAS.

➤ campioni negativi con HC2

➤ hanno con COBAS un valore rilevabile di b-globina

↓
accuratezza del prelievo.

CAMPIONI DISCORDANTI

#	res HPV HC2	ratio HC2	res HPV Cobas	cT COBAS*	esito citologia (colposcopia)
11	P	1,19	N	33,8	Negativo
14	P	1,92	N	29,2	Negativo
15	P	2,20	N	28,7	Negativo
16	P	1,59	N	29,2	Negativo
22	P	777,38	N	30,9	in attesa
25	P	9,97	N	33,4	in attesa
37	P	6,78	N	28	in attesa
41	P	4,04	N	30,5	in attesa
45	P	181,57	N	27,9	in attesa
46	P	2,54	N	28,8	in attesa
55	P	1,40	N	27,7	Negativo
57	P	2,99	N	29,6	in attesa
60	P	1,16	N	28,9	Negativo
66	P	5,55	N	31,2	in attesa
73	P	21,12	N	32,5	Negativo
86	N	0,15	Pother	32,7	--
88	N	0,26	Pother, P16	39,7/38	--
91	N	0,92	Pother	39,5	--

* in corsivo sono espressi i valori di cT riferiti alla b_globina

15 campioni positivi con HC2 negativi con COBAS:

- 6 con valori RLU/CO:1-2.5;
- ✓ 6 con RLU/CO:2.5-10;
- ✓ 3 con RLU/CO>10.

12 campioni borderline (RLU/CO 1-2.5) con HC2,
✓ 6 positivi anche con COBAS.

3 campioni HC2 negativi positivi con COBAS (cT >33)
✓ 1 con HPV16 → limite soglia di positività (cT= 38).

CONCLUSIONE

- L'analisi di concordanza rileva una riproducibilità del risultato buona con i due sistemi analitici, indice di buona performance dei due test.
 - HC2 identifica una positività maggiore ad HPV-DNA rispetto a COBAS, in parte dovuta alla maggiore quantità di materiale in PreservCyt testato, in parte alla descritta cross-reazione con ceppi HPV non ad alto rischio.
 - I campioni con risultato borderline hanno scarsa riproducibilità.
 - Gli approfondimenti diagnostici non hanno rilevato al momento lesioni di alto grado nei campioni discordanti.
-