GISCi

Gruppo Italiano Screening del Cervicocarcinoma

CONVEGNO NAZIONALE GISCi 2017
Ferrara 14-16 Giugno 2017

Lo screening HPV come modello: tra innovazione tecnologica e nuovi modelli organizzativi in sanità pubblica

Raccomandazioni sul test HR-HPV come test di screening primario

2^ Edizione

Versione elaborata dal Gruppo di lavoro GISCi 1° livello
"HPV test: formazione e valutazione degli indicatori di qualità"

Referenti: Francesca Maria Carozzi, Annarosa Del Mistro

Linee di lavoro e attività svolte dal Gruppo di lavoro primo livello test HPV

- **Proposta di un documento operativo**

Nella riunione 18/02/2015 si concorda di:

- **Preparare un documento operativo GISCi, partendo dal documento "Raccomandazioni sul test HR-HPV come test di screening primario" del 2010**

Il documento del 2010 era stato preparato in concomitanza con l'avvio dei progetti di fattibilità.

La Versione della 1^ Edizione era stata elaborata:

- **dal Gruppo di lavoro GISCi: "Rivisitazione del ruolo del Pap test e dell'HPV-DNA test nell'era della vaccinazione anti-HPV"**

Coordinatori: Donatella Beccati, Massimo Confortini Basilio Passamonti

- **e dal Gruppo di lavoro GISCi: "Studio di concordanza inter-laboratorio e VEQ per test HPV-DNA"**

Coordinatore: Francesca Carozzi

Preparazione documento

- Prima bozza condivisa all'interno di un gruppo ristretto il 22/4/2015
- Discussione durante il convegno GISCi 2015
- Nuova bozza avanzata condivisa all'interno di un gruppo ristretto il 10/9/2015
- Invio bozza a tutto il gruppo il 13/9/2016
- Riunione del Gruppo il 4 ottobre 2016 (15 partecipanti)
- Invio bozza aggiornata e successive revisioni al Gruppo
- Pubblicazione sul sito GISCi il 22 maggio 2017

. Obiettivi del documento

Il documento contiene elementi e raccomandazioni utili per i laboratori coinvolti nel percorso di screening per il carcinoma della cervice con test HPV come test primario.

Analizzare i diversi aspetti di competenza del laboratorio :

- dal prelievo alla fase analitica, linee di indirizzo gestione dei campioni, gestione dei campioni critici o risultati diversi dall'atteso

Definire quali aspetti specifici legati al nuovo programma devono essere implementati e come :

- quali dati analitici raccogliere nei sistemi informativi;
- come refertare test HPV di screening , inclusi i non valutabili pre-analitici e post-analitici;
- come raccogliere i dati dei controlli;
- quali controlli di qualità intra e inter-laboratorio utilizzare;
- gestione della qualità del nuovo percorso di centralizzazione, quality assurance, valutazione in itinere di performance e impatto.

Indice

1. Il programma di screening con test HPV e citologia di triage
2. Obiettivi del documento
3. Gestione dei campioni
3.1 Il prelievo nello screening con HPV primario
3.2 Identificazione dei campioni e tracciabilità
4. Il test molecolare HPV DNA nello screening
5. Centralizzazione delle analisi di primo livello (test HPV e citologia di triage)
5.1 Carichi di lavoro
5.2 L'organizzazione del laboratorio HPV
5.3 Movimentazione dei campioni HPV-positivi per la citologia di triage
5.4 Archiviazione e smaltimento dei campioni dopo l'esecuzione del test HPV
6. Formazione del personale
7. Procedure di controllo di qualità per i test molecolari
7.1 Controllo di qualità interno (CQI)
7.2 Caratteristiche dei programmi di valutazione esterna di qualità (VEQ) per test HPV di screening
8. Indicazioni per la refertazione del test HPV e della lettera di risposta alla donna
9. Indicatori prestazionali
9.1 Indicatori del processo pre-analitico, analitico e post-analitico
9.2 Verifica delle prestazioni del laboratorio mediante i cicli della VEQ e i controlli interni
9.3 Controllo periodico degli indicatori epidemiologici
10 BIBLIOGRAFIA

1. Il programma di screening con test HPV e citologia di triage

I risultati degli studi clinici randomizzati sull'applicazione di test molecolari per la ricerca di HPV nei programmi di screening hanno dimostrato che in donne di età superiore a 30 anni il test HPV è più efficace del pap test nel rilevare la presenza o il rischio di sviluppare carcinomi e lesioni di alto grado *(2)*.
Inoltre, i risultati dei progetti di fattibilità condotti dal 2007 in varie Regioni hanno dimostrato la fattibilità in termini organizzativi della strategia con test HPV e la buona accettazione da parte delle donne *(3-7)*.

Il nuovo Piano Nazionale della Prevenzione (PNP 2014-2018) prevede che le Regioni riconvertano i loro programmi di screening dal pap test al test HPV per le donne al di sopra dei 30-35 anni di età entro il 2018, seguendo il protocollo definito nel rapporto di Health Technology Assessment (HTA) pubblicato nel 2012 *(8)*.

Documenti di riferimento:

Ronco G, Biggeri A, Confortini M, et al. HTA report: Ricerca del DNA di papilloma virus umano (HPV) come test primario per lo screening dei precursori del cancro del collo uterino. Epidemiol Prev 2012;36 (3/4 suppl 1):e1-e72.

Von Karsa L, Arbyn M, De Vuyst H, et al. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Summary of the supplements on HPV screening and vaccination. Papillomavirus Res 2015;1:22-31.

Documento GISCi “Indicazioni per il prelievo nello screening del carcinoma cervicale”. 2016.

Documento GISCi “Test HPV validati per lo screening del carcinoma della cervice uterina”. 2016.

L’implementazione del DNA-HPV come test primario nei programmi italiani di screening del cervicocarcinoma. Indicazioni dai risultati del Progetto MIDDIR. Accessibile a: https://www.cpo.it/workspace/files/report-middir-aprile2016-571a18a7556a9.pdf

Documento GISCi “La citologia di triage nei programmi di screening con HPV come test primario”. 2013.

Documento GISCi “Il manuale degli indicatori per il monitoraggio dei programmi di screening con test HPV primario”. 2016.

Journal of Clinical Virology 76 (2016) S22–S28

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Clinical Virology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jcv

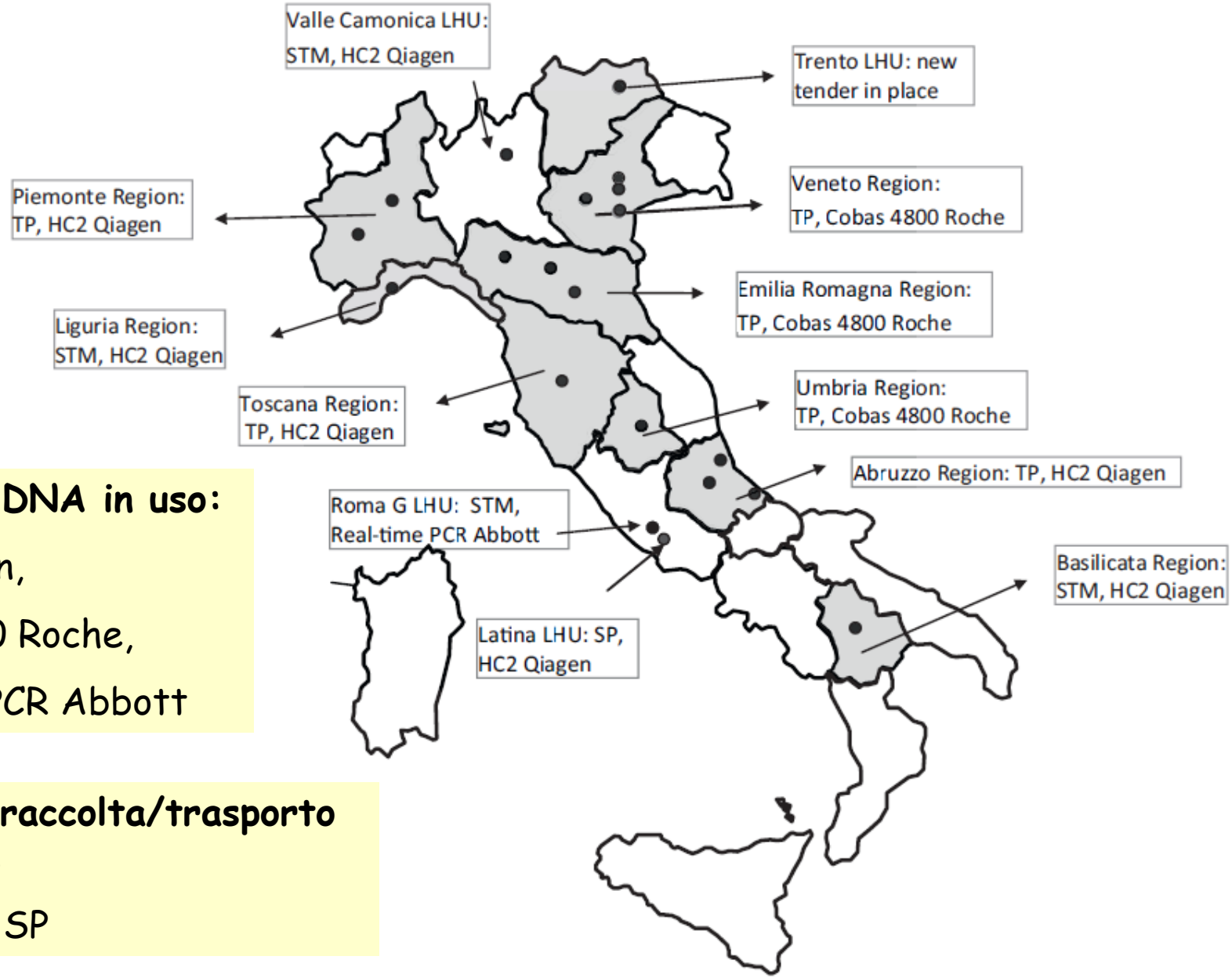
Review

HPV testing for primary cervical screening: Laboratory issues and evolving requirements for robust quality assurance

Francesca Maria Carozzi[a,*], Annarosa Del Mistro[b], Kate Cuschieri[c], Helena Frayle[b], Cristina Sani[a], Elena Burroni[a]

This document describes the following topics: (1) the characteristics of an HPV laboratory and the personnel training needs, to ensure an elevated quality of the entire process and the optimal use of the resources; (2) the Quality Assurance, as both internal (IQA) and external quality assessment (EQA) systems, to be implemented and performed, and the description of the existing EQAs, including limitations; (3) general considerations for an optimal EQA program for hrHPV primary screening

F.M. Carozzi et al. / Journal of Clinical Virology 76 (2016) S22–S28



Test HPV-DNA in uso:

HC2 Qiagen,

cobas 4800 Roche,

Real-time PCR Abbott

Mezzi di raccolta/trasporto utilizzati:

STM, TP, SP

3. Gestione dei campioni

Le modalità di prelievo e di identificazione dei campioni rappresentano un aspetto importante e vincolante per la gestione delle fasi preanalitiche ed analitiche in laboratorio; è fondamentale che i laboratori siano coinvolti nella valutazione preliminare dei sistemi di prelievo.

3.1 Il prelievo nello screening con HPV primario

Il programma con HPV primario prevede l'esecuzione del pap test di triage nei casi HPV positivi: le modalità di prelievo devono essere compatibili con questo processo.

Il prelievo può essere:

- unico, cioè essere adeguato sia per la ricerca dell'HPV sia per la lettura della citologia di triage, nel caso si utilizzi un contenitore (vial) con liquido preservante come quelli già in uso per la citologia in fase liquida,
- doppio, nel caso in cui il pap test sia allestito in modo convenzionale: in questo caso, viene fatto un primo prelievo per la citologia convenzionale (da colorare e leggere solo nel caso di test HPV positivo) ed un secondo prelievo per il test HPV.

3.2 Identificazione dei campioni e tracciabilità

Il campione deve essere identificato con un codice a barre associato in modo univoco all'anagrafica, alla provenienza e all'episodio di screening, assegnato al momento dell'invito. L'etichetta con il codice deve riportare anche nome e cognome e data di nascita.

Al fine di garantire la tracciabilità del campione, devono essere utilizzati strumenti informatici in grado di assicurare l'esatto abbinamento tra il campione e l'anagrafica dell'utente in tutte le fasi del percorso.

4. Il test molecolare HPV DNA nello screening

Nello screening cervicale il test HPV può essere usato come test di screening primario, come test di triage per ASC-US (e LSIL nelle donne >35 anni), e nel follow-up delle pazienti trattate per lesioni ≥CIN2-3. In qualsiasi contesto avvenga, il test HPV DNA utilizzato deve essere validato per lo screening (*12*, *8*).

Per l'elenco aggiornato dei test validati si rinvia al documento GISCi-ONS "Test HPV validati per lo screening del carcinoma della cervice uterina" (aggiornato a cadenza annuale) (*13*).
Il sistema utilizzato deve essere in grado di individuare tutto il gruppo di HPV ad alto rischio (HR-HPV: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) *(1)* come pool, mentre la genotipizzazione tipo specifica, anche parziale, non è inserita nell'attuale protocollo.
Oltre alle caratteristiche del test, è importante tenere anche conto del grado di automazione dei sistemi analitici e preanalitici nonché del numero di esami che possono essere eseguiti giornalmente dalla strumentazione *(14)*.

5. Centralizzazione delle analisi di primo livello (test HPV e citologia di triage)

La ricerca di sequenze HR-HPV come test primario dello screening deve essere effettuata in laboratori di strutture del SSN, accreditate secondo le normative ministeriali e regionali per l'attività di laboratorio in generale e per l'attività nell'ambito degli screening oncologici, laddove già predisposte.

La centralizzazione facilita l'efficienza e la specializzazione, consente un'elevata qualità nell'offerta del percorso di screening, una gestione programmabile e modulabile della fase di transizione da screening citologico a screening HPV e determina una riduzione dei costi, sia per quanto concerne l'acquisto/affitto dei macchinari, sia per il personale.
Il numero di campioni gestito nell'arco di un anno da un laboratorio HPV centralizzato dovrà essere non inferiore a 40.000 e fino a 100.000 o più.

- funzionale alle caratteristiche territoriali, alle necessità logistiche e agli spazi di cui il laboratorio dispone
- il laboratorio deve disporre di spazi idonei alla corretta conservazione dei campioni e dei reagenti
- nelle regioni di piccole dimensioni, il laboratorio unico centralizzato potrà effettuare un numero di test inferiori a quanto sopra indicato

5.1 Carichi di lavoro

A differenza di quanto avviene per la citologia di screening, per i test HPV non ci sono carichi stimati per il numero annuo massimo e minimo di test HPV di screening da eseguire e/o validare per ciascun professionista.

5.2 L'organizzazione del laboratorio HPV

5.3 Movimentazione dei campioni HPV-positivi per la citologia di triage

5.4 Archiviazione e smaltimento dei campioni dopo l'esecuzione del test HPV

6. Formazione del personale

La ricerca di sequenze HPV è basata su metodiche di biologia molecolare che richiedono una specifica competenza professionale. Il personale che effettua e referta il test HPV in ambito di screening deve avere esperienza consolidata in metodiche di biologia molecolare e deve ricevere un adeguato percorso formativo specifico.

La formazione deve essere contestualizzata al settore di applicazione, cioè a come il test è inserito nel processo dello screening (algoritmo dello screening, indicatori di performance di laboratorio e di percorso, modalità di raccolta e analisi dei dati).

E' inoltre fondamentale che il personale sia coinvolto e partecipi alle valutazioni dei programmi di screening effettuati in ambito nazionale (GISCi, ONS) e in ambito regionale.

7. Procedure di controllo di qualità per i test molecolari

Un programma di assicurazione di qualità è un processo complesso che deve ricomprendere le modalità di gestione dei campioni in tutte le fasi, l'esecuzione delle analisi, i controlli di qualità interni, il monitoraggio di indicatori di processo, la partecipazione a programmi di controllo di qualità esterno, la rivalutazione e analisi dei casi falsi-negativi o dei cancri di intervallo.

Ciascun laboratorio deve descrivere questi processi in appositi documenti (protocolli operativi o istruzioni operative)

7.1. Controllo di qualità interno (CQI)

In tutti i laboratori devono essere definiti e attivi controlli di qualità intra-laboratorio, archiviati giornalmente.

Il CQI consente di valutare e controllare le prestazioni analitiche di un sistema e di verificare la stabilità del metodo analitico nel breve, medio e lungo temine.

- materiali di controllo utilizzati
- controlli interni indipendenti (di terza parte)
- da usare sistematicamente (ogni giorno, in ogni piastra o set di piastre, ad ogni cambio di lotto del test in uso)
- materiali di controllo su almeno due livelli distinti (negativo/positivo; positivo debole/positivo forte)

7.2 Caratteristiche dei programmi di valutazione esterna di qualità (VEQ) per test HPV di screening

I laboratori hanno l'obbligo di partecipare a programmi di VEQ per tutti gli esami eseguiti e questo rappresenta anche un pre-requisito per i procedimenti di accreditamento e certificazione (ISO 15189). Le VEQ permettono di produrre dati che consentono al singolo laboratorio di confrontarsi con gli altri (accuratezza).

Scopi fondamentali dei programmi di VEQ sono la valutazione dell'uniformità dei risultati ottenuti in laboratori differenti, e la valutazione comparativa di metodi differenti.

In riferimento al test HPV usato nello screening, i programmi di VEQ attualmente disponibili presentano delle criticità, soprattutto in relazione al tipo di materiale utilizzato per la preparazione del panel da testare (preparazione sintetica o campione biologico; tipo di mezzo di conservazione; tipi HPV inclusi; carica virale), e all'analisi dei risultati (pochissimi programmi di VEQ per HPV disponibili sul mercato forniscono un'analisi specifica per test HPV eseguito in contesto di screening) (*18)*.

Table 1
HPV EQA, examples of available programs.

EQA program	Peculiarities	Advantages	Disadvantages
UK NEQAS	- Pooled material of clinical origin, in ThinPrep medium - 4 specimens, 3 times a year - HR HPV types - Scores on qualitative performance	- Samples representative of clinical specimens - Evaluation of all processing steps - Periodic evaluation	- No choice of medium - Results not elaborated taking into account semi-quantitative data
QCMD	- Cell line material and clinical samples - 8-10 specimens, in ThinPrep - HR types - Two kinds of samples: core and educational - Score assigned on core results	- Samples representative of clinical specimens - Evaluation of all processing steps - Clinical evaluation	- Annual panel, only one evaluation/year - No choice of medium - Missed untargeted HPV types scored as error
DicoCare	- Lyophilized clinical samples, to be resuspended in the medium in use - 8 specimens, shipped together, to be tested 2 × 4 times a year - HR HPV types	- Samples representative of clinical specimens - Evaluation of all processing steps - Choice of medium - Periodic evaluation	- Medium re-suspension may affect the final results and the comparison between labs
WHO HPV LabNet	- 46 specimens; 43 plasmid-based + 3 cell lines-based, in phosphate buffer - HR and 2 LR HPV types	- Stable material - Representative of most significant HPV types	- Mainly synthetic DNA samples -Designed for typing evaluation - High sensitivity - Annual panel, only one evaluation/year -Medium not representative of media used
Instand	- 10 specimens in two shipments - Lyophilized clinical samples, to be resuspended in the medium in use - HR and LR HPV types	- Samples representative of clinical specimens - Evaluation of all processing steps - Choice of medium - Periodic evaluation	- Medium re-suspension may affect the final results and the comparison between labs

Carozzi et al, J Clin Virol 2016;76:S22-S28

8 | Indicazioni per la refertazione del test HPV e della lettera di risposta alla donna

È auspicabile uniformare i moduli di risposta del test HPV utilizzati nei vari programmi di screening. Il risultato analitico del test HPV (trasferito dal sistema di analisi al gestionale di laboratorio con generazione di un referto che dovrebbe preferibilmente essere firmato digitalmente), deve poi essere trasferito nel gestionale di screening.

L'esito del test HPV di screening deve prevedere le opzioni descritte in Tabella 1.

Codice informatico	Esito test HPV associato	Descrittiva referti laboratorio	Descrittiva lettera di screening
1	Negativo	Negativo, cioè non è stata evidenziata la presenza di tipi ad alto rischio di Papilloma Virus	**Negativo, cioè non è stata evidenziata la presenza di tipi ad alto rischio di Papilloma Virus**
2	Positivo	Positivo, cioè è stata evidenziata la presenza di uno o più tipi ad alto rischio di Papilloma Virus	**Positivo, cioè è stata evidenziata la presenza di uno o più tipi ad alto rischio di Papilloma Virus**
3	Non eseguibile	Non eseguibile	**Non eseguibile^ ^Il campione può risultare non eseguibile per vari motivi: materiale insufficiente, provetta vuota, provetta non idonea, campione non conservato correttamente, prelievo non eseguito correttamente**
4	Inadeguato tecnico	Non valutabile	**Non valutabile^ ^Il campione può risultare non valutabile quando il materiale è insufficiente o non idoneo.**
5	**Non valutabile**	**Non valutabile**	**Non valutabile^ ^Il campione può risultare non valutabile quando il materiale è insufficiente o non idoneo.**

La lettera di risposta da inviare alla donna deve riportare i risultati di tutti i test effettuati (test HPV o test HPV e pap test di triage) ed il consiglio clinico che ne deriva:

- l'esito del test in modo semplice, con un linguaggio immediato "positivo/negativo/inadeguato/non valutabile" o con frasi del tipo "è stata/non è stata evidenziata la presenza di HPV ad alto rischio"
- l'esito dell'eventuale citologia di triage (stesse modalità di refertazione del pap test primario)
- il laboratorio in cui è stato effettuato il test HPV e dove è stato letto il pap test di triage (con relativo nome del professionista che ha refertato gli esami ed eventualmente anche del responsabile del laboratorio)
- il metodo 'validato per lo screening' utilizzato per la ricerca di HPV; l'elenco dei tipi HPV che il metodo può rilevare

- in caso di test HPV negativo, l'indicazione del successivo round di screening previsto dal programma
- in caso di test HPV positivo, l'indicazione del percorso successivo (invio in colposcopia o richiamo ad un anno)

9. Indicatori prestazionali

9.1. Indicatori del processo pre- analitico, analitico e post-analitico

Non conformità della fase pre-analitica
Sono da considerare tutte quelle situazioni per cui il campione non è idoneo per eseguire l'esame

Non conformità della fase-analitica
Uno o più campioni possono risultare non valutabili nel corso dell’analisi; a seconda della causa e del metodo in uso, il campione può essere ripetuto

Non conformità della fase post-analitica
Sono da considerare tutte quelle situazioni per le quali la trasmissione del dato non avviene regolarmente

9.2 Verifica delle prestazioni del laboratorio mediante i cicli della VEQ e i controlli interni

9.3 Controllo periodico degli indicatori epidemiologici

Referenti:
Francesca Maria Carozzi, Annarosa Del Mistro

Partecipanti:
Simone Barocci
Simonetta Bisanzi
Simonetta Bulletti
Elena Burroni
Daniela Butera
Stefania Cannistrà
Elena Cesarini
Dino Della Giustina
Laura De Marco
Elisabetta Depetrini
Giulia Fantacci
Helena Frayle
Cristina Fodero
Anna Gillio Tos
Alessandra Mongia
Manuela Monica
Giampaolo Pompeo
Maria Teresa Sandri
Cristina Sani
Ezio Venturino
Maria Zucca