

*Convegno GISCi 2015 – WORKSHOP PRECONGRESSUALE*

*Il test HPV nella pratica:*

*dall'analisi del dato di laboratorio alla centralizzazione*

*Finalborgo (SV), 20 maggio 2015*



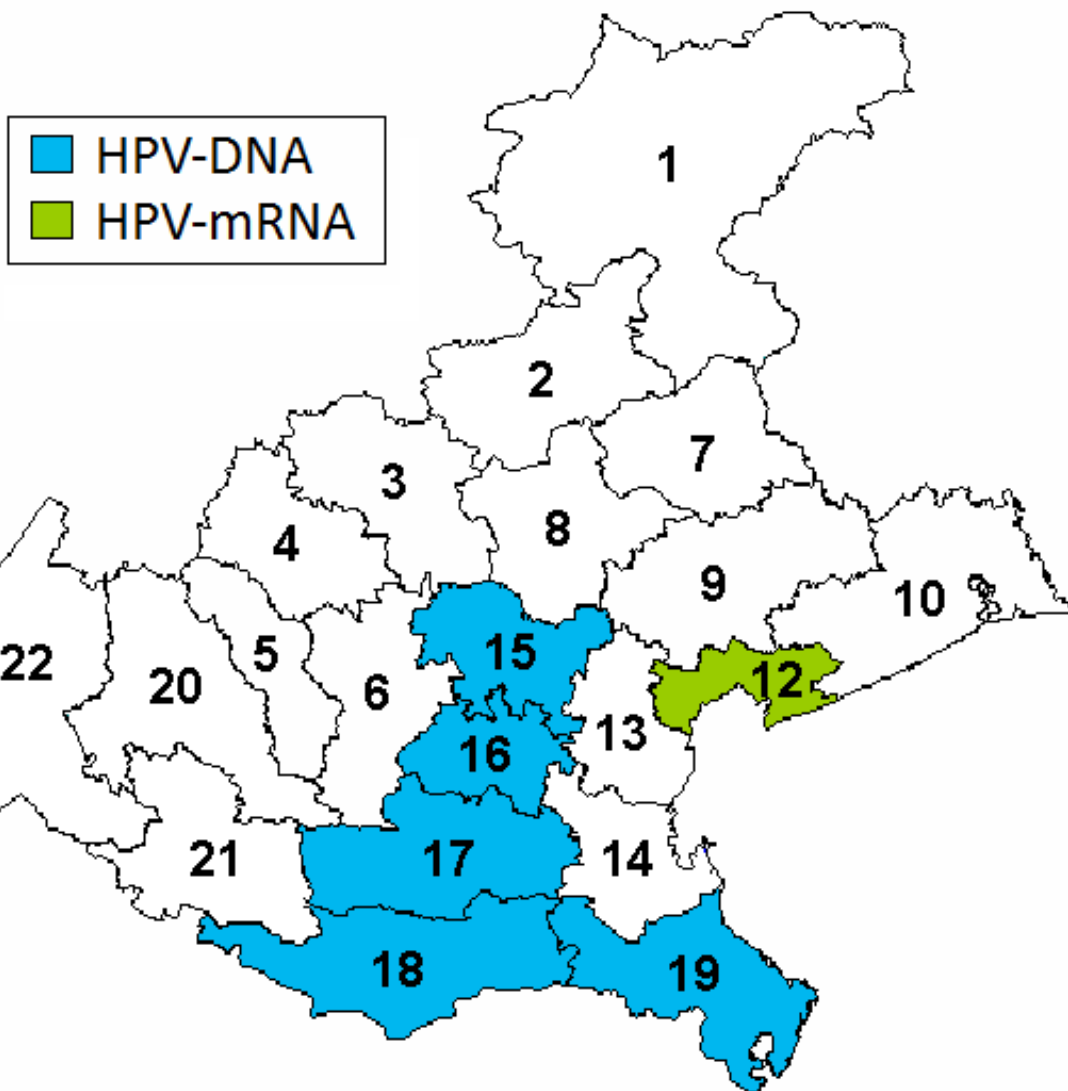
# **Screening con HPV in Veneto: esperienza con HC2 e STM**



**Annarosa Del Mistro**

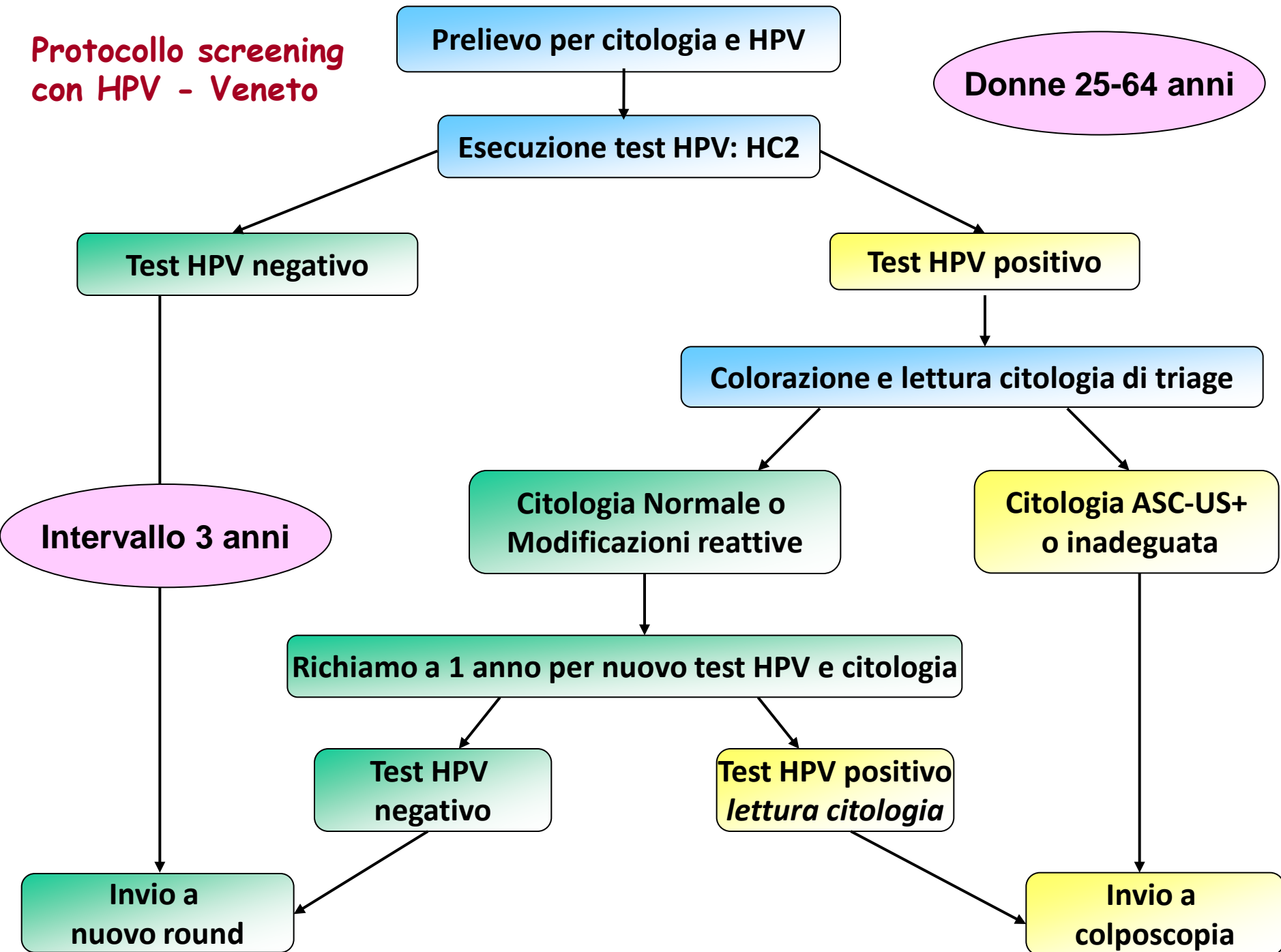
**Istituto Oncologico Veneto IOV - IRCCS, Padova**

# Programmi con test HPV in Veneto



Provincia	ULSS	Target 25-64 aa
Padova	Alta padovana	71.000
	Padova	142.000
	Este	52.000
Rovigo	Rovigo	50.000
	Adria	21.000
<b>TOTALE</b>		<b>336.000</b>

**Protocollo screening  
con HPV - Veneto**



# Progetto pilota screening HPV DNA - Veneto

Unico software regionale screening oncologici

Doppio prelievo (citologia convenzionale + STM)

Coinvolti 5 programmi di screening (province PD e RO)

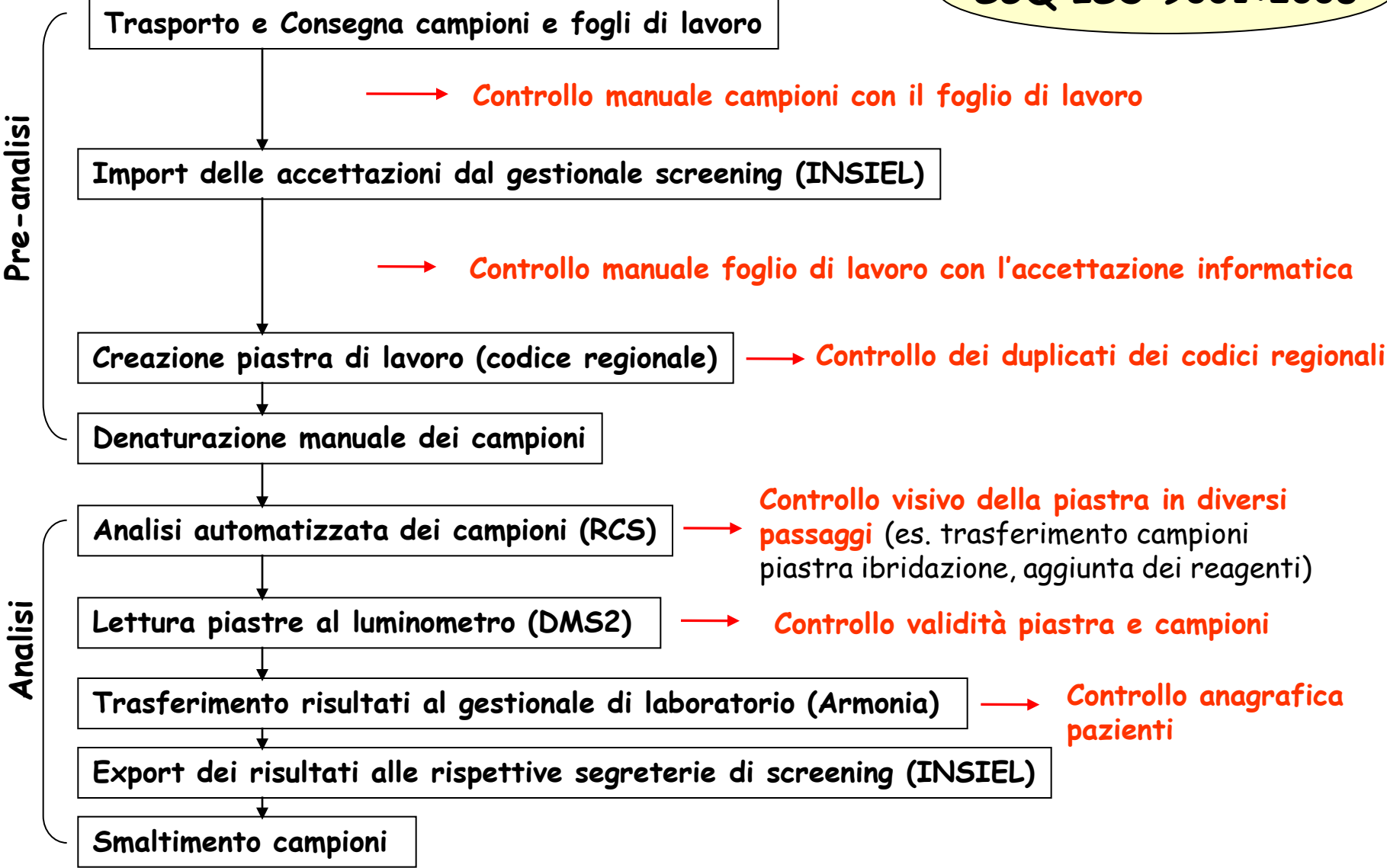
Test HPV HC2 HR:

- esecuzione centralizzata in due laboratori
- piattaforma RCS

Citologia non centralizzata

# Flowchart screening HPV - laboratorio IOV-IRCCS Padova

SGQ ISO 9001:2008

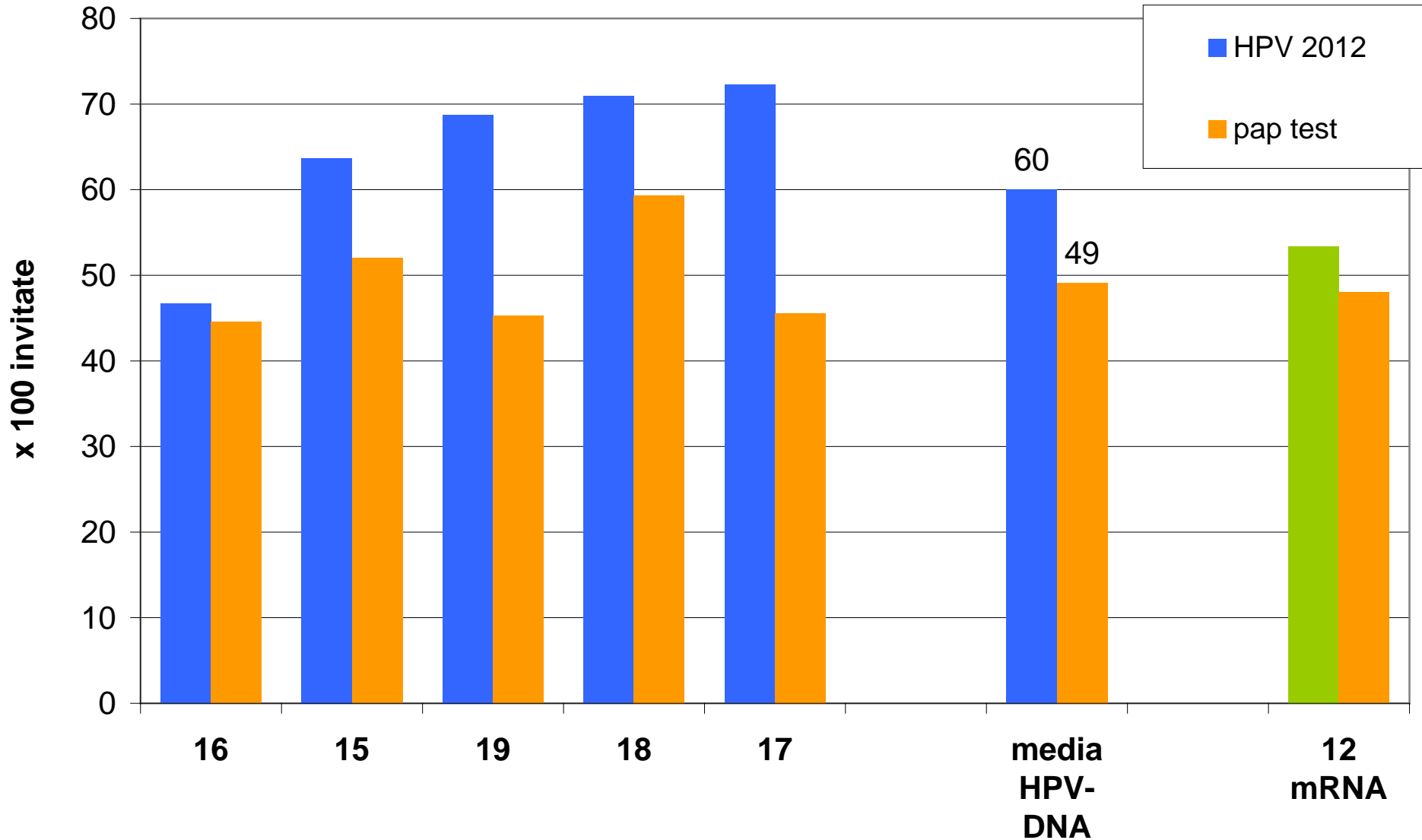


# PROGETTO PILOTA VENETO

## Dati di riferimento programmi provincia di PD

<b>Programma</b>	<b>Avvio programma pilota HPV</b>	<b>Screenate nel primo round</b>	<b>Avvio re-screening HPV</b>	<b>Screenate nel secondo round al 08/04/2015</b>
15 - Alta padovana	Lug-2010	30.325	Lug-2013	8.010
16 - Padova	Giu-2011	38.563	Giu-2014	5.697
17 - Este	Apr-2009	19.173	Apr-2012	9.383
<b>Totale</b>		<b>88.061</b>		<b>23.090</b>

# Veneto - Adesione corretta all'invito vs Pap test, per programma



## Dati al baseline - primo round - Coorte 2012

	15 - Alta Padovana	16 - Padova	17 - Este
Positività test HPV (%)	6,5	6,5	7,4
Positività PT di triage (x 100 HPV+)	45,2	59,6	21,9
- invio a colposcopia (%)	3,1	3,9	1,7
- richiamo a 1 anno (%)	3,3	2,2	6,1
Tassi di identificazione CIN2+ (x 100 esaminate)	5,8	9,9	2,6



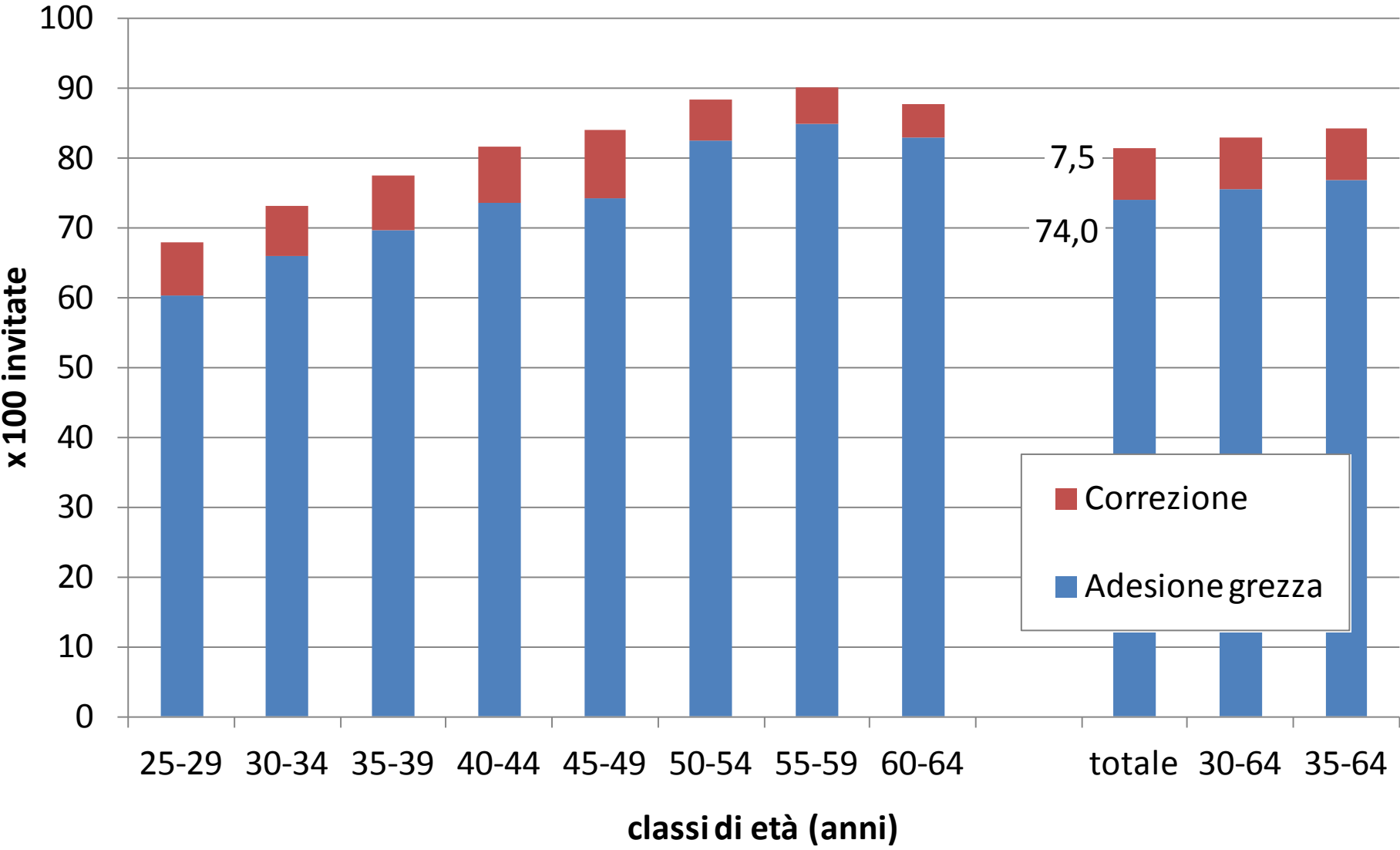
## Dati alla ripetizione a 1 anno - primo round Coorte 2012

	15 - Alta Padovana	16 - Padova	17 - Este
Adesione grezza (%)	87,6	80,2	75,7
Positività test HPV (%)	48,7	49,8	64,1
Invio a colposcopia cumulativo (%)	4,5	4,8	4,5
Tasso di identificazione CIN2+ cumulativo (x 100 esaminate)	6,6	10,8	3,3

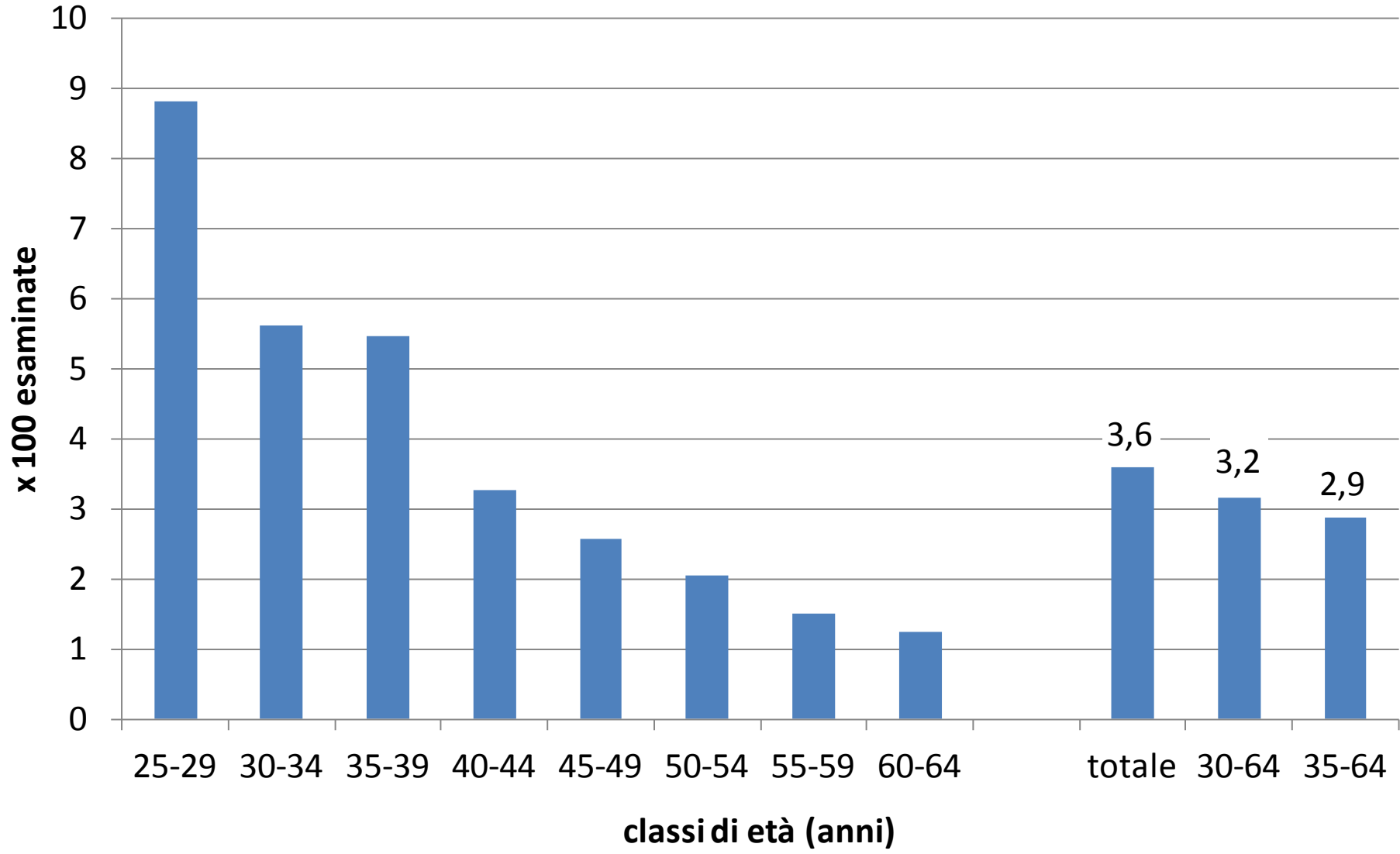
# Re-screening (secondo round) con test HPV Az. USL 15 e 17

Programma	Avvio programma pilota	Screenate nel primo round con esito HPV-	Invitate al secondo round al 8/4/2015	Aderenti all'invito secondo round
15 - Alta padovana	lug-2010	27.031	11.453	8.010
17 - Este	apr-2009	17.117	12.180	9.383
<b>Totale</b>		<b>44.148</b>	<b>23.633</b>	<b>17.393</b>

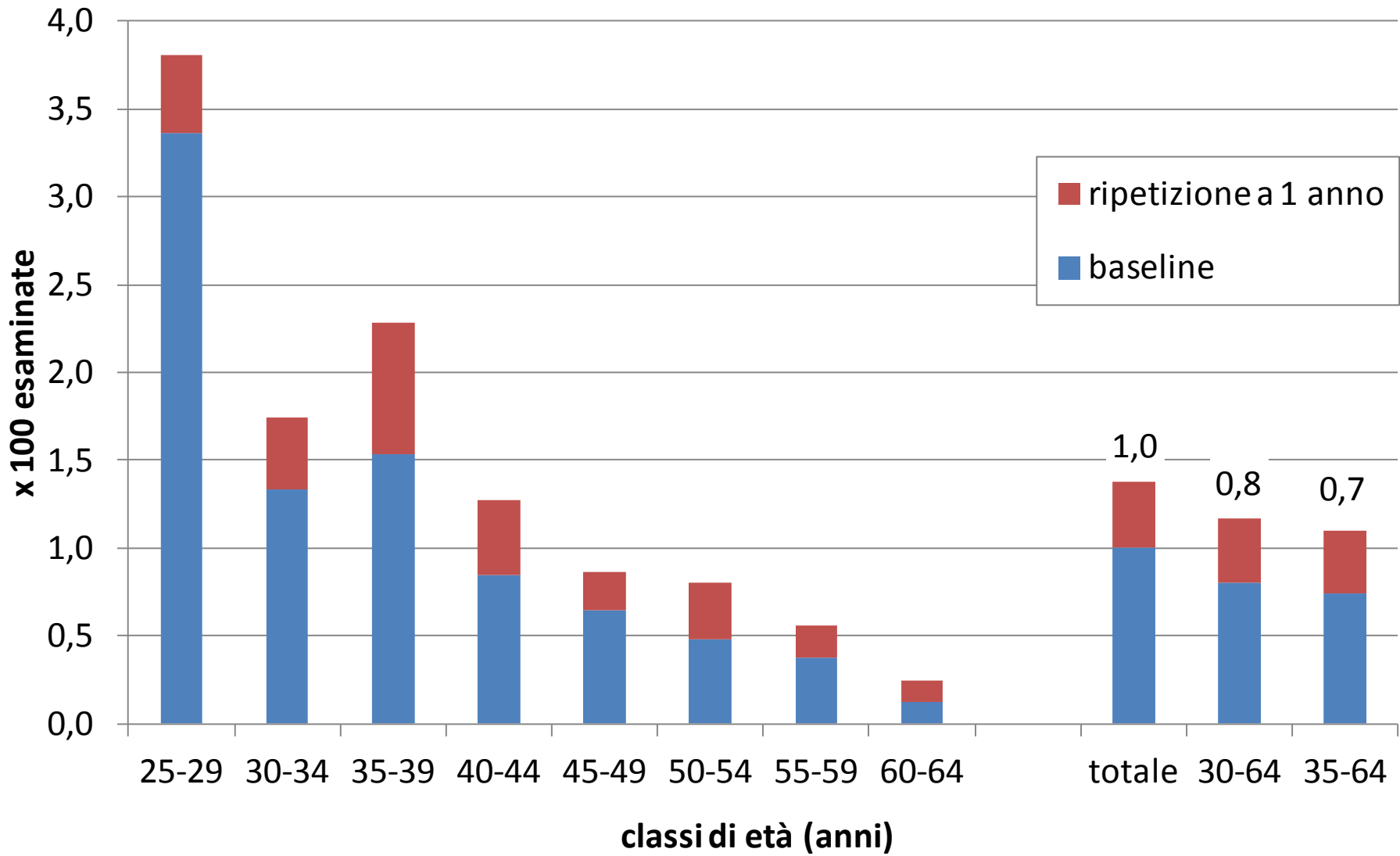
### Adesione all'invito, per età



### Positività al test HPV, per età

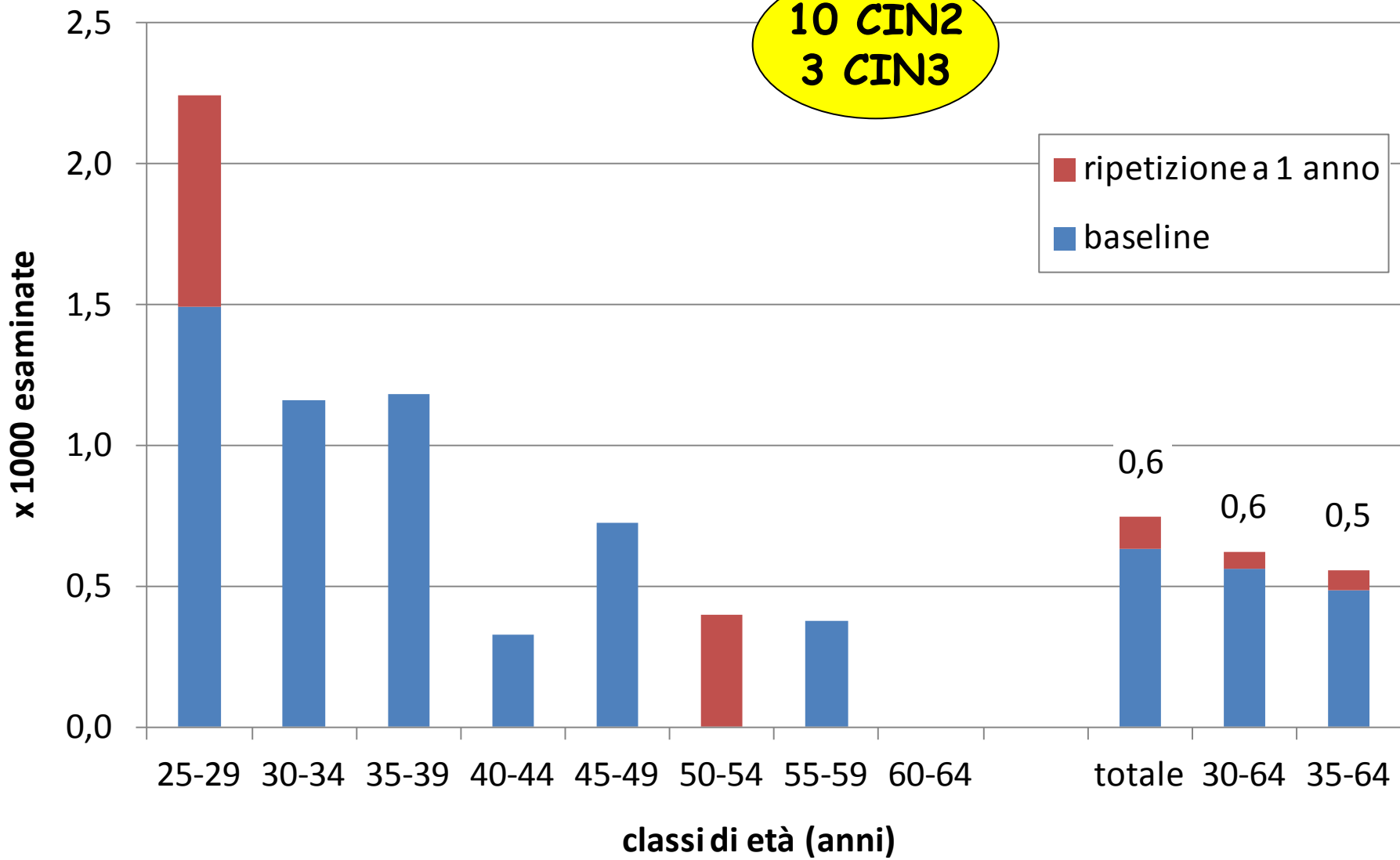


### Invio a colposcopia cumulativo, per età



### Tassi di identificazione di CIN2+, per età

**10 CIN2  
3 CIN3**



# Conclusioni - 1° round e 2° round

- Adesione maggiore rispetto allo screening con Pap
- Buona adesione anche alla ripetizione a 1 anno
- Persistenza di HPV a 12 mesi maggiore del previsto
- Carico rilevante per la colposcopia del richiamo a 1 anno
- Contributo importante ai tassi di identificazione complessivi del richiamo a 1 anno (15%)
- Sovradiagnosi di CIN2+ nelle donne 25-29 → uso del test HPV in donne >30 anni
- al 2° round dopo 3 anni frequenza di infezione da HPV e di patologia molto basso → serve intervallo 5 anni

# Controlli di qualità - test HC2

**In ogni piastra:** Calibratori positivo e negativo (in triplicato) e controlli (LR e HR) del kit HC2

**Ad ogni cambio di lotto del kit:**

- Panel corso formazione RCS
- Ripetizione dei calibratori e dei controlli del lotto precedente

## Programmi di VEQ

Da aprile 2009 ad aprile 2015:

- sono stati utilizzati 35 diversi lotti,
- per un totale di 1710 piastre fatte
- e 150.480 campioni testati



# Analisi dei dati di laboratorio - CQI 1

Utilizzo del "Training panel HC2, cat. N° 5101-1500"  
(campioni in STM, da denaturare, conservati a -20°C):  
risultati di ratio RLU/PC di 35 ripetizioni

	Panel A HR HPV+	Panel B LR HPV+	Panel C Chlamidia+	Panel D Negativo
Media	4,97	0,19	0,13	0,12
Mediana	5,02	0,20	0,13	0,12
Range	3,09-6,50	0,09-0,27	0,07-0,21	0,09-0,18

# Analisi dei dati di laboratorio - CQI 2

**Ripetizione calibratori e controlli del lotto precedente**

(campioni già denaturati e tenuti a  $-20^{\circ}\text{C}$ ):

risultati di ratio RLU/PC di 33 ripetizioni

	<b>NC Negative calibrator</b>	<b>HRC High risk calibrator</b>	<b>QC LR Quality control LR (0,00-0,99)</b>	<b>QC HR Quality control HR (2,00-8,00)</b>
<b>Media</b>	<b>0,15</b>	<b>1,19</b>	<b>0,17</b>	<b>4,92</b>
<b>Mediana</b>	<b>0,15</b>	<b>1,16</b>	<b>0,17</b>	<b>5,02</b>
<b>Range</b>	<b>0,09-0,25</b>	<b>0,99-1,64</b>	<b>0,10-0,27</b>	<b>3,90-6,45</b>

# Analisi dei dati di laboratorio - VEQ

## Caratteristiche dei campioni e considerazioni sui programmi di VEQ a cui abbiamo partecipato

	Numero campioni	Tipologia campioni	Valutazione dei risultati	Note
<b>Studio di concordanza GISCI</b>	10 campioni totali, 2 invii (anno 2010)	Campioni in STM, 7 sintetici, 3 biologici (uno già denaturato)	Analisi di concordanza	Studio inter-laboratorio. Valutazione fasi pre-analitica
<b>DicoCARE HPV DNA HR</b>	3 campioni, 2010; 8 campioni (4 invii), 2011 e 2014	Campioni biologici liofilizzati (--> risospesi in STM)	Analisi di concordanza	Commerciale. Valutazione fasi pre-analitica. Analisi "quantitativa"
<b>QCMD</b>	9 campioni, 2012; 10 campioni, 2014	Campioni biologici in TP; 3/9 e 4/10 a bassa carica virale (educational)	Analisi di concordanza	Commerciale. Mezzo di conservazione diverso da quello in uso. Sensibilità clinica.

# Valutazione dei dati analitici:

## 1- relativi ai calibratori

Rapporto HRC/NC (criterio di validazione della piastra: 2,00-15,0)

Negative calibrator (NC)

- media di tre replicati
- outliers

High risk calibrator (HRC)

- media di tre replicati x fatt. conversione = valore di cut-off
- outliers

## 2- relativi ai risultati dei campioni

Campioni BL e positivi deboli (ratio 0,90-1,99):

- frequenza
- ripetizione in due piastre successive → riproducibilità

# Test HPV hrHC2 - rapporto HRC/NC

Instituto Oncologico Veneto  
Immunologia Diagnostica Molecolare Oncologica  
Via Gattamelata 64, 35128 Padova

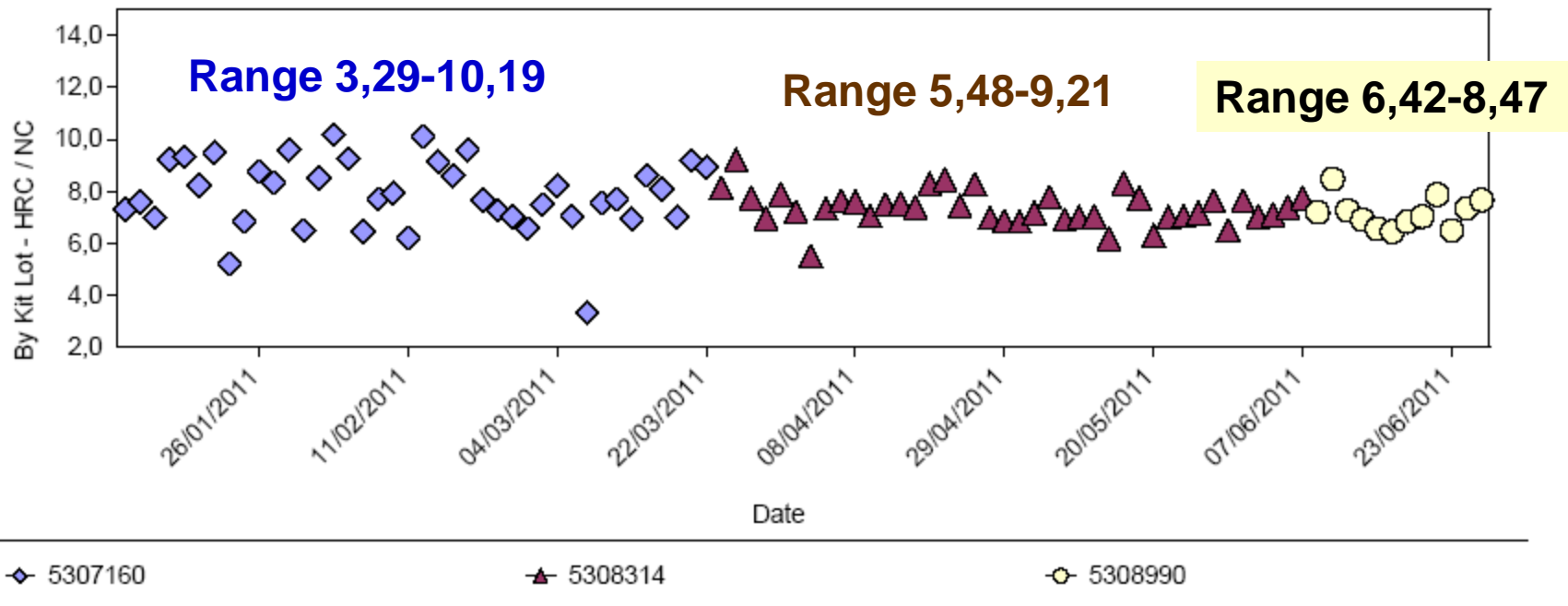
Page 4 of 4

## Calibrator Trending - By Kit Lot - HRC / NC

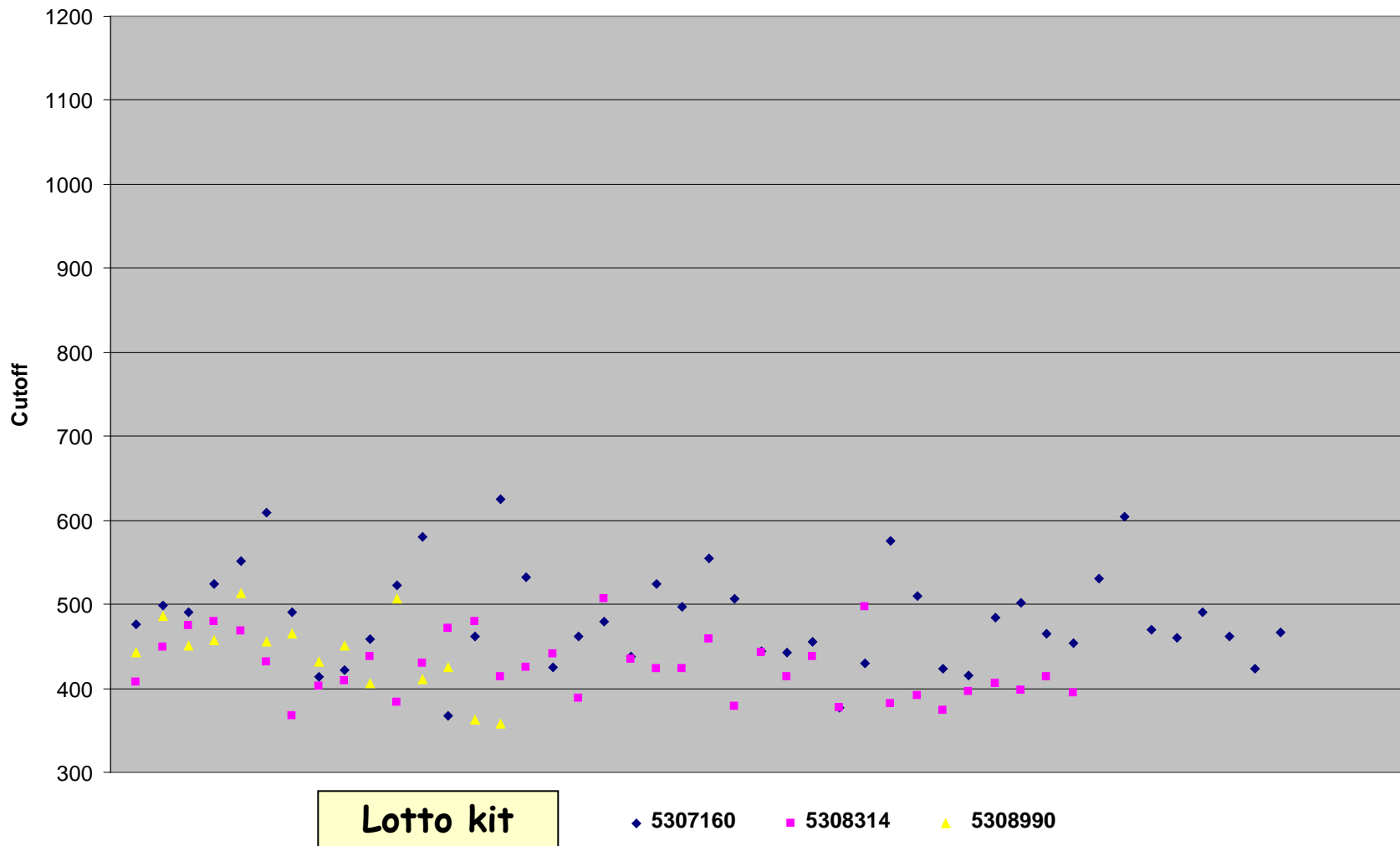
Protocol: RCS-HR-NoRT:

Upper Bound: 15,0  
Lower Bound: 2,0

January – June 2011



# Andamento valori di cut-off in piastre successive di lotti diversi



# Frequenza campioni con ratio RLU/PC 0,90-1,99 nel primo round di screening\* - progetto pilota Veneto

	ULSS 15 – Alta Padovana			ULSS 16 - Padova			ULSS 17 - Este		
	0,90 - 1,99	Tot POS	Tot Screen	0,90 - 1,99	Tot POS	Tot Screen	0,90 - 1,99	Tot POS	Tot Screen
I anno	68	485	8328	60	598	9277	49	329	5096
II anno	92	787	11225	102	922	12247	81	570	7113
III anno	84	801	10772	182	1373	17039	66	641	6964
<b>Totale</b>	<b>244</b>	<b>2073</b>	<b>30325</b>	<b>344</b>	<b>2893</b>	<b>38563</b>	<b>196</b>	<b>1540</b>	<b>19173</b>
%borderline/Totale	<b>0,80%</b>			<b>0,89%</b>			<b>1,02%</b>		

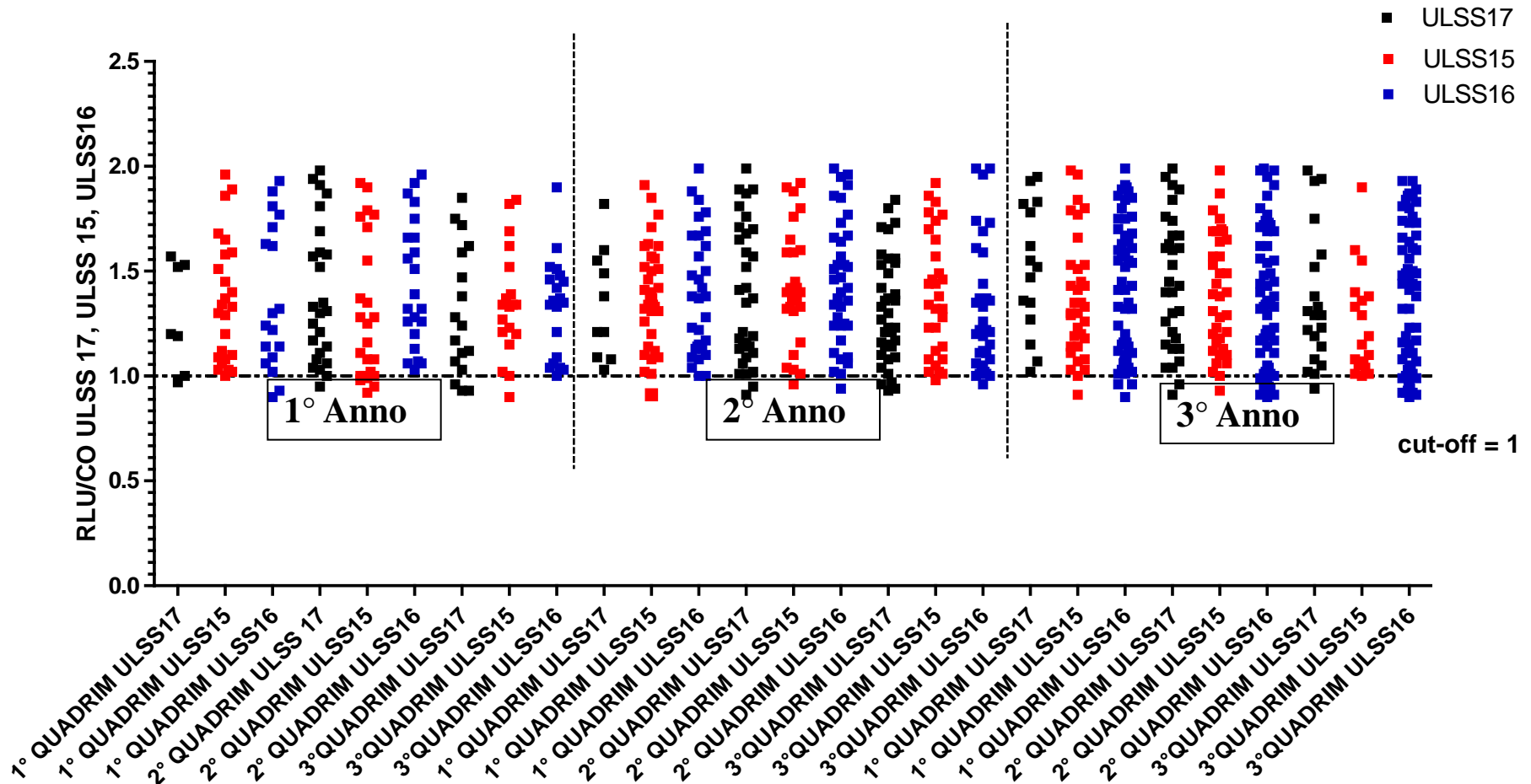
\*Considerati tutti i campioni testati (baseline + richiamo a 1 anno)

Test HR HC2

**% campioni con ratio 0,90-1,99 sul totale donne screening:  
784/88.061 = 0,9%**

# Test HR-HPV HC2 (STM)

Frequenza campioni con ratio RLU/PC compreso fra 0,90 e 1,99





# Riproducibilità risultati - test HC2

Risultato e valore al 1° test	N	Risultato e valore alla ripetizione
Negativo <0,49	20	Negativo 20/20 [ $<0,58$ ]
Negativo 0,50-0,89	84	Negativo 81/84 [0,50-0,99] Positivo 3/84 [1,06-1,12] (3.6%)
Negativo 0,90-0,99	122	Negativo 100/122 [0,13-0,96] Negativo 14/122 [repl. discord.] Positivo 8/122 1,00-1,85 (6.6%)
Positivo 1,00-1,09	30	Positivo 6/30 (18.75%)
1,10-1,29	11	Positivo 4/11 (36,4%)
1,31-1,99	14	Positivo 13/14 (93%)

# Analisi dei risultati di inizio 2012

- Aumento del valore di cut-off (da 300-500 a 300-800)
  - Aumento del numero di piastre con calibratore outlier (5% vs 1-3%)
  - Aumento del rapporto HRC/NC
  - Aumento dei campioni con valori 1,00-1,99
  - Minore riproducibilità dei risultati 0,90-1,99
- 
- Nessuna piastra non valida
  - Ripetuti numerosi campioni con valori vicino al cut-off
  - Fatto manutenzioni straordinarie della strumentazione
  - Sezionato il protocollo di lavoro dell'RCS e verificate le diverse fasi

# Considerazioni finali - test HC2 su STM

- **Personale formato (su percorso screening, metodologia, sistema di gestione qualità) e dedicato**
- **Inserimento del test nel programma di gestione della qualità (Istruzione Operativa dedicata; gestione strumenti, reagenti, campioni e documentazione)**
- **Importante la collaborazione tra laboratorio e segreterie dei programmi di screening**
- **Buona operatività e performance del sistema**
- **Possibilità di monitorare diversi parametri analitici**
- **Utilità dei controlli di qualità e del monitoraggio dei risultati dei campioni**



Grazie a:

Helena Frayle

Martina Rizzi

Lorena Baboci

Rossana Trevisan

**Grazie per l'attenzione**