



Valutazione del nuovo dispensatore automatico Tecan *Freedom EVO* per l'esecuzione del test Abbott *RealTime HPV-High Risk* su campioni clinici citologici

Daniela Barbieri¹, Simona Venturoli¹, Silvano Costa², Maria Paola Landini¹.

¹Azienda Ospedaliero-Universitaria S.Orsola-Malpighi, U.O. Microbiologia, Bologna;

²Consulente Istituto Superiore di Sanità (ISS), Roma

*e-mail: simona.venturoli@unibo.it

Area di pertinenza n.2: Test di primo livello

PREMESSE ed OBIETTIVI:

Numerosi studi hanno validato il test Abbott *RealTime HPV-High Risk* (ART) per lo screening primario, ma la gestione di un numero elevato di campioni raccolti in contenitori per citologia su strato sottile (LBC) necessita l'automazione della fase preanalitica.

L'obiettivo di questo studio era valutare il Tecan *Freedom Evo* (Tecan) per l'automazione della fase preanalitica associata al test ART.

METODI:

Tecan gestisce automaticamente le fasi di *vortexing*, *decapping*, *aliquoting* e *recapping* del campione raccolto in contenitori per LBC (30 min ogni 24 campioni) ed è stato testato su **199 campioni** cervicali raccolti in soluzione PreservCyt e precedentemente analizzati con il test ART nella routine diagnostica (Manual ART1).

Tutti i campioni sono stati rianalizzati svolgendo il test ART (sistema Abbott *m2000*) preceduto dalla preparazione preanalitica mediante l'uso del Tecan (Tecan+ART). Per ogni campione, una **aliquota da 1ml** è stata dispensata dal Tecan nelle provette specifiche per l'estrazione di DNA con il sistema ART.

Remind: Il test ART è un test molecolare basato su una real time-PCR multiplex con sonde specifiche per la rilevazione differenziata del DNA di HR-HPV16, HR-HPV18 e di altri 12 genotipi HR-HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68).

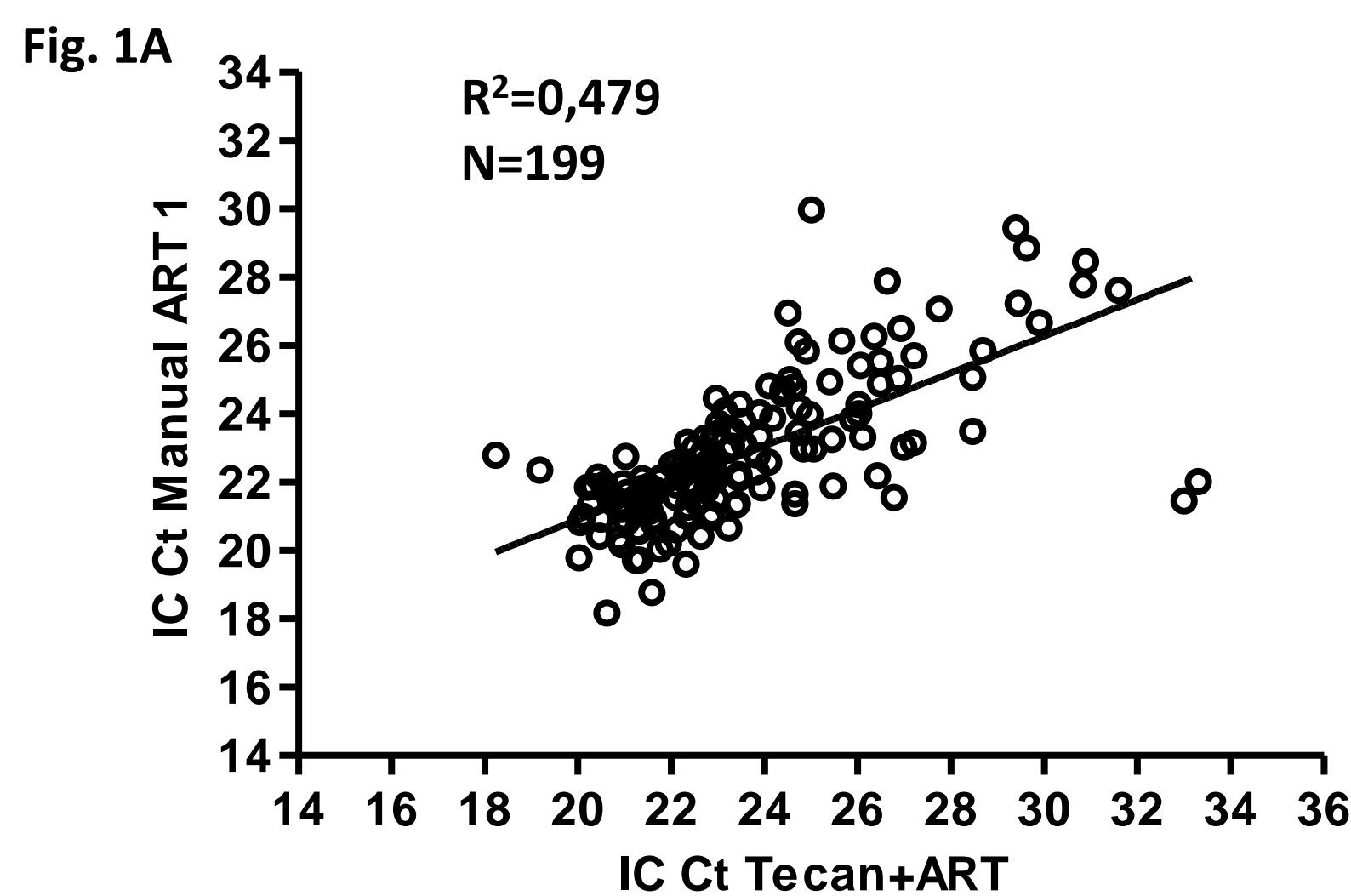
PUNTO DI VISTA QUALITATIVO

Tabella 1: Concordanza generale nell'esito finale del test ART tra la gestione preanalitica manuale e quella con Tecan

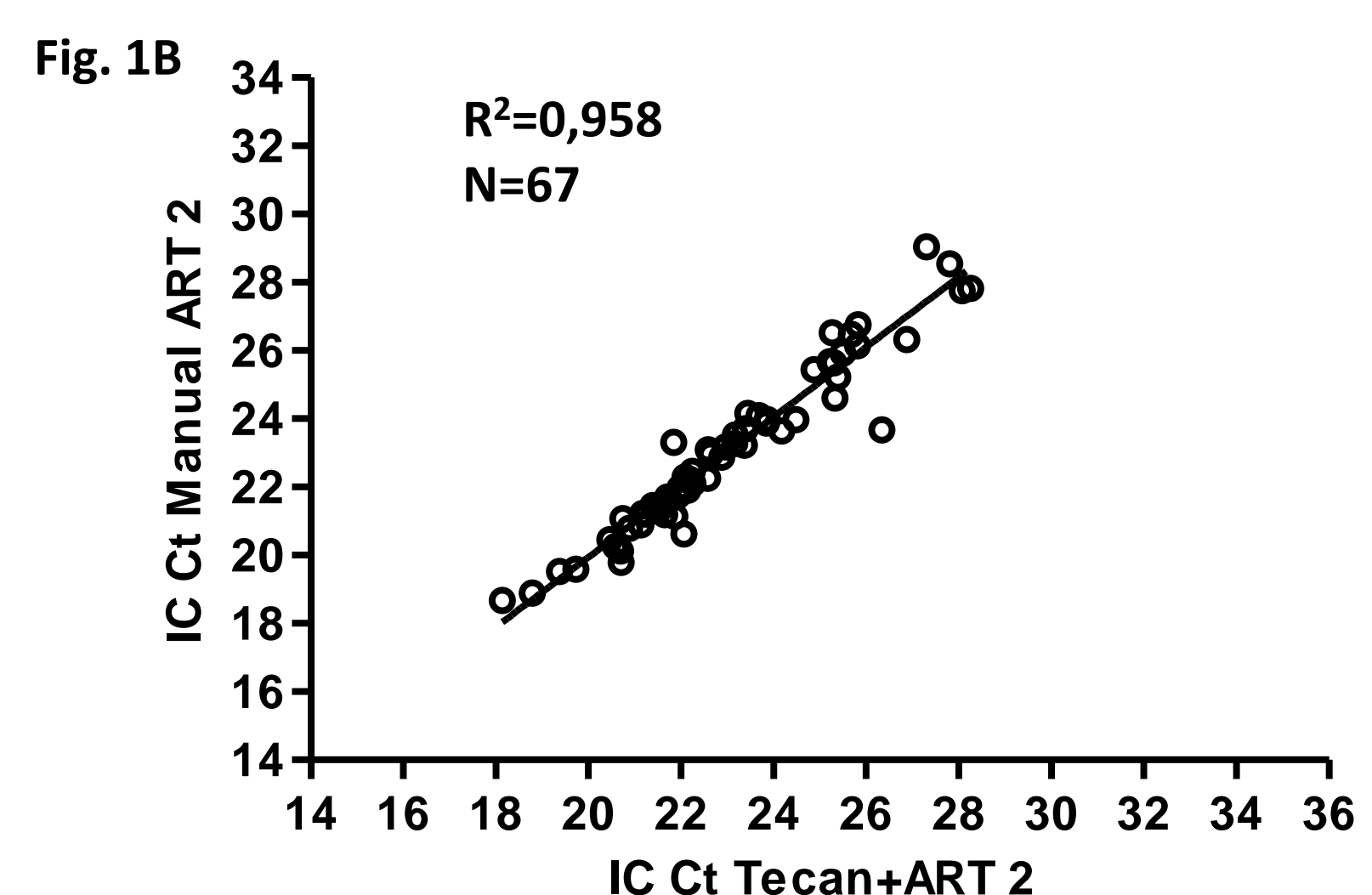
	Tecan+ART		Totale righe
	HPV-pos	HPV-neg	
Manual ART1	HPV-pos	70	71
	HPV-neg	9	119
Totale colonne		79	199
Overall Agreement	95.0%		
Cohen's k	0.893	95% CI	0.829-0.957

I 10 campioni discordanti sono stati rianalizzati in parallelo (preanalitica manuale e Tecan eseguite dallo stesso operatore nella stessa seduta ART) risultando concordanti in 7 casi. I 3 campioni ancora discordanti, presentavano una carica virale bassa, con un valore di Ct per HPV DNA vicino al limite soglia definito dalla metodica ART per la positività (Ct=32.0).

PUNTO DI VISTA QUANTITATIVO 1 (Figura 1)

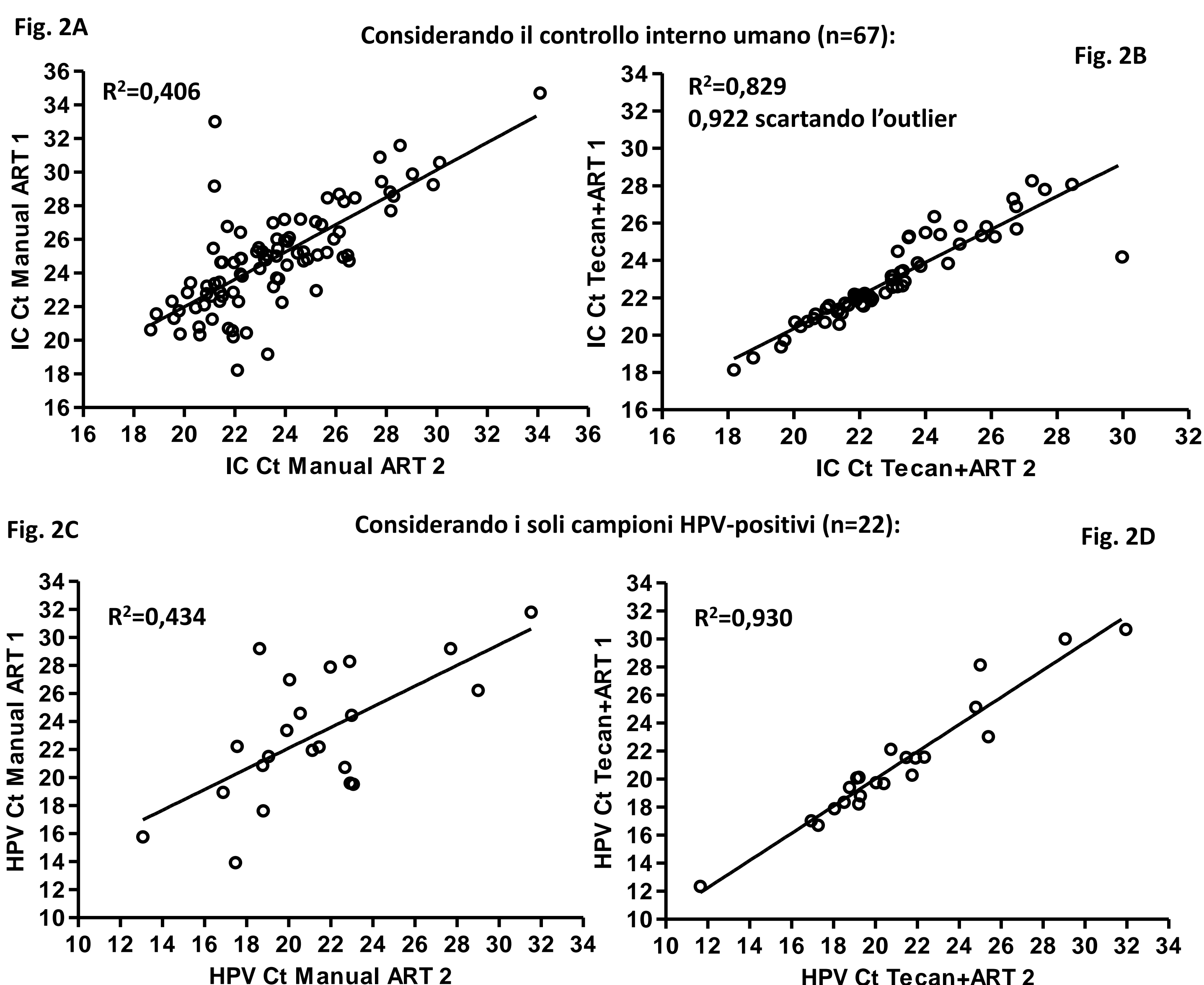


Osservata una bassa correlazione tra i valori di Ct del controllo interno umano (betaglobina) ottenuti dalla prima esecuzione manuale della fase preanalitica e quelli ottenuti a seguito della gestione Tecan.



Per valutare l'influenza della variabilità interoperatore nella gestione preanalitica manuale dei campioni e quella della conservazione, 67 sono stati rianalizzati in parallelo (preanalitica manuale 2 e Tecan 2 eseguite dallo stesso operatore nella stessa seduta ART). La correlazione tra i due protocolli di gestione dei campioni è risultata ottima.

PUNTO DI VISTA QUANTITATIVO 2: riproducibilità intersaggio (Figura 2)



La riproducibilità intersaggio della gestione preanalitica manuale, è risultata non ottimale sia per la correlazione tra i Ct del controllo interno umano ($R^2=0,406$, Fig. 2A) sia tra quelli del DNA di HPV per i campioni HPV-positivi ($R^2=0,434$, Fig. 2C). Dall'altro lato, quella del sistema automatico Tecan+ART è risultata molto buona sia per i Ct IC ($R^2=0,829-0,922$, Fig. 2B) sia per i Ct dell'HPV DNA ($R^2=0,930$, Fig. 2D).

Infine, analizzando contemporaneamente 23 campioni aliquotati in triplicato dal Tecan, è stato osservato per tutti un $CV < 3\%$ per il Ct del controllo interno e un $CV < 9\%$ per il Ct_{dell'HPV} DNA.

CONCLUSIONI:

- I dati riportati evidenziano una buona concordanza tra i risultati ottenuti dai campioni gestiti nella fase preanalitica secondo le modalità manuali indicate dal produttore e quelli gestiti automaticamente dal Tecan.
- Lo strumento Tecan offre il vantaggio di una ottima standardizzazione della gestione del campione LBC e, unitamente al sistema Abbott *m2000* e a un *middleware*, consente la completa tracciabilità del processo a partire dal prelievo fino alla refertazione.
- Inoltre, il sistema Tecan, impiegando circa 120 min per gestire automaticamente 96 campioni, consente all'operatore di svolgere altre mansioni in contemporanea, con un notevole recupero in termini di *hands-on-time*.