

SERVIZIO SANITARIO REGIONALE  
EMILIA-ROMAGNA  
Azienda Unità Sanitaria Locale di Reggio Emilia  
IRCCS Istituto in tecnologie avanzate e modelli assistenziali in oncologia



# Riproducibilità inter-laboratorio della doppia colorazione p16<sup>ink4a</sup>/Ki-67 in donne HPV positive: risultati dello studio NTCC2

Pamela Mancuso

Azienda Unità Sanitaria Locale – IRCCS Reggio Emilia

# Obiettivo

Valutare la riproducibilità inter-laboratorio della lettura del test p16<sup>ink4a</sup>/Ki-67 tra i campioni raccolti in NTCC2.

# Metodi

I campioni di citologia in fase liquida ThinPrep, derivati da 3180 donne positive al HPV-DNA di baseline, sono stati immunocolorati con CINtec<sup>®</sup> PLUS Assay (Roche Diagnostics).

I risultati di immunocolorazione sono stati classificati come positivi (almeno una cellula con doppia colorazione p16<sup>ink4a</sup>/Ki-67), negativi o inadeguati.

Ogni vetrino immunocolorato è stato analizzato e valutato in modo indipendente da tre diversi laboratori.

E' stata calcolata la Kappa di Cohen (K) per l'accordo complessivo tra lettori utilizzando il metodo bootstrap con correzione di bias.

# Schema di circolazione dei vetrini

Centro che arruola	Blocco vetrini (n)	Centro che legge (I LETTURA)	Centro che legge (II LETTURA)	Centro che legge (III LETTURA)
VENETO (N=593)	120	IFO	VE	TN
	87	IFO	VE	TN
	145	IFO	PG	RE
	157	IFO	PG	RE
	84	IFO	VE	TN
FIRENZE (N=801)	300	FI	RE	VE
	150	FI	RE	TO
	106	FI	IFO	PG
	100	FI	PG	IFO
	145	FI	RE	VE
PERUGIA (N=889)	250	PG	IFO	TO
	150	PG	IFO	FI
	100	PG	IFO	FI
	189	PG	VE	TN
	200	PG	RE	TO
TORINO (N=789)	149	TO	VE	TN
	151	TO	TN	FI
	150	TO	TN	FI
	142	TO	VE	TN
	100	TO	TN	RE
	97	TO	VE	TN
TRENTO (N=28)	28	TO	VE	TN

Laboratori coinvolti:

**4** per la preparazione, immunocolorazione e lettura (IFO, FI, PG, TO)

**3** per la sola lettura (VE, RE, TN)

Totale vetrini: **3100**

Totale letture: **9300**

Periodo di lettura

Ottobre 2016 – Maggio 2019

# Descrizione del campione

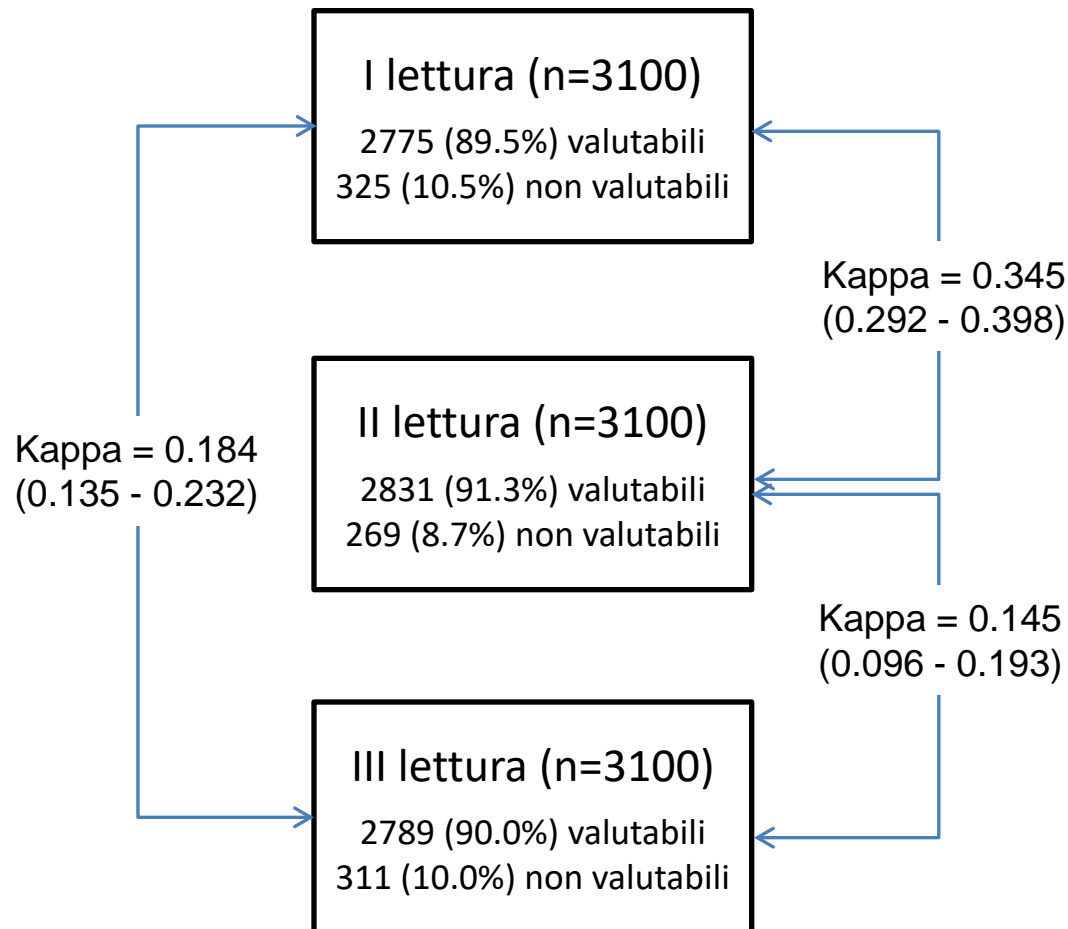
	<b>Totale</b>	<b>FI</b>	<b>IFO</b>	<b>PG</b>	<b>RE</b>	<b>TN</b>	<b>TO</b>	<b>VE</b>
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>
<b>Lettere</b>	<b>9300</b>	<b>1352 (14.5)</b>	<b>1299 (14.0)</b>	<b>1397 (15.0)</b>	<b>1197 (12.9)</b>	<b>1297 (13.9)</b>	<b>1417 (15.2)</b>	<b>1341 (14.4)</b>
Valutabili	8395 (90.3)	1215 (89.9)	1241 (95.5)	1250 (89.5)	1108 (92.6)	1251 (96.5)	1194 (84.3)	1136 (84.7)
<i>Negative</i>	<i>5763 (62.0)*</i>	<i>794 (58.7)</i>	<i>891 (68.6)</i>	<i>861 (61.6)</i>	<i>888 (74.2)</i>	<i>850 (65.5)</i>	<i>617 (43.5)</i>	<i>862 (64.3)</i>
<i>Positive</i>	<i>2632 (28.3)*</i>	<i>421 (31.1)</i>	<i>350 (26.9)</i>	<i>389 (27.8)</i>	<i>220 (18.4)</i>	<i>401 (30.9)</i>	<i>577 (40.7)</i>	<i>274 (20.4)</i>
Non valutabili	905 (9.7)	137 (10.1)	58 (4.5)	147 (10.5)	89 (7.4)	46 (3.5)	223 (15.7)	205 (15.3)
I lettore	3100	801 (59.2)	593 (45.7)	889 (63.6)	-	-	817 (57.7)	-
II lettore	3100	-	606 (46.7)	402 (28.8)	795 (66.4)	401 (30.9)	-	896 (66.8)
III lettore	3100	551 (40.8)	100 (7.7)	106 (7.6)	402 (33.6)	896 (69.1)	600 (42.3)	445 (33.2)

\* *Sul totale delle lettere valutabili: Positive (31.4%) e Negative (68.6%)*

# Analisi della concordanza sulla valutabilità

**Kappa (95% CI) = 0.224 (0.183 - 0.263)**

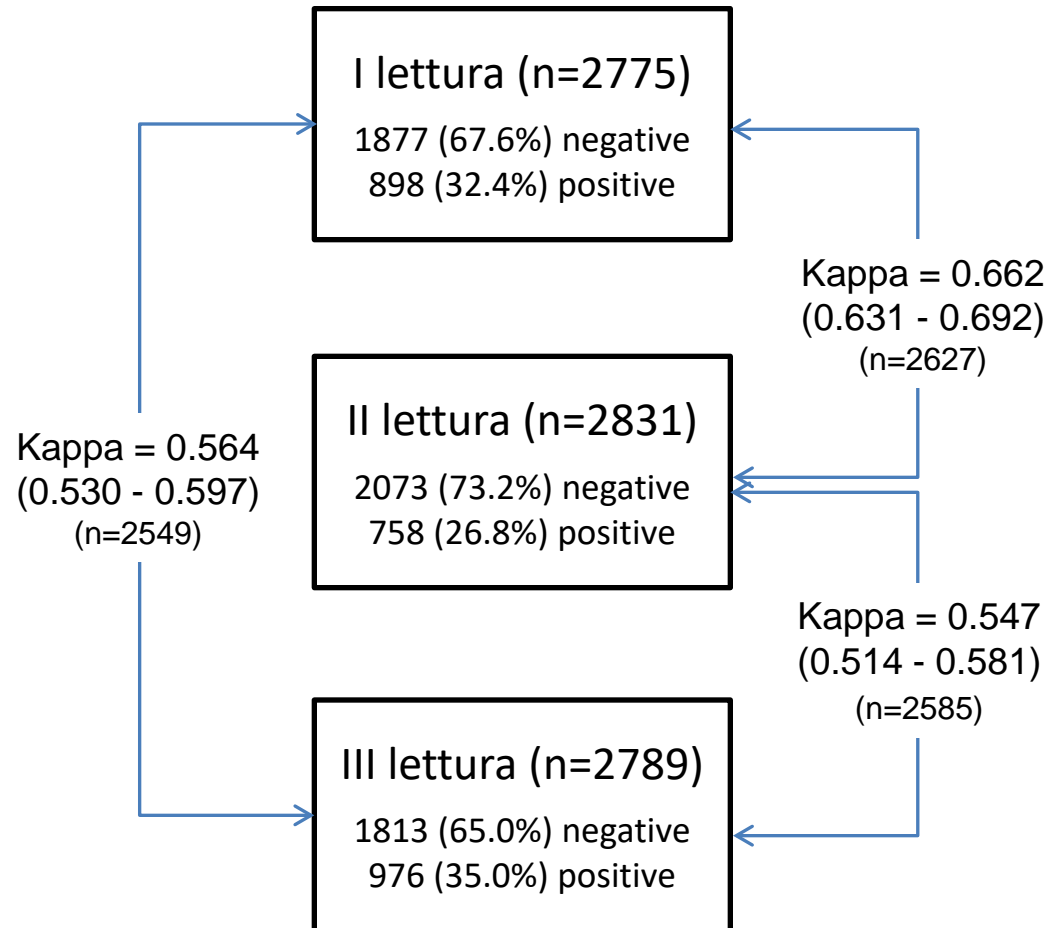
## Confronto per ordine di lettura



# Analisi della concordanza sulla positività

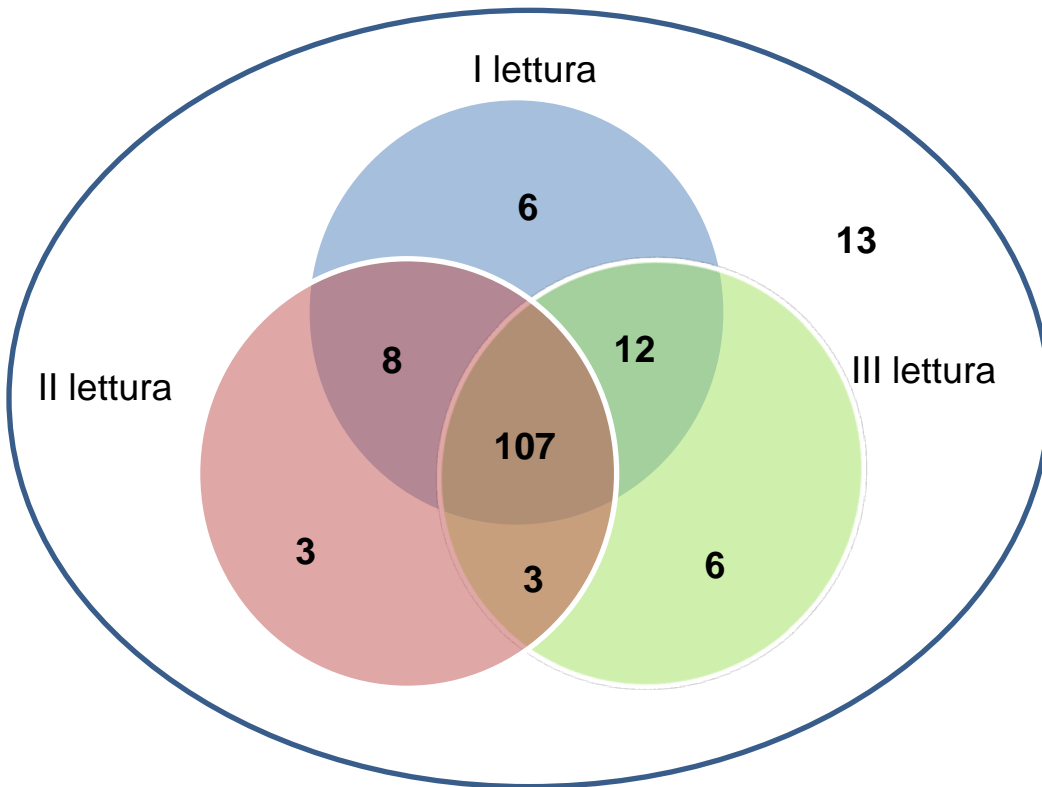
**Kappa (95% CI) = 0.583 (0.556 - 0.610)**

## Confronto per ordine di lettura



# Analisi della concordanza: CIN2+

CIN2+: **176**



18 vetrini non valutabili

## Concordanza sulla positività

**CIN2+** (n=158)

**Kappa = 0.487 (0.429 - 0.534)**

**Non CIN** (n=1549)

**Kappa = 0.549 (0.525 - 0.571)**

## Sensibilità per numero di letture positive

3 letture positive = **67.7%**

almeno 2 su 3 = **82.3%**

almeno 1 su 3 = **91.8%**

# Conclusioni

La doppia colorazione p16<sup>ink4a</sup>/Ki-67 ha mostrato una moderata riproducibilità molto simile a quella del pap test.

NTCC2 è il primo studio che ha valutato in maniera sistematica la riproducibilità dell'interpretazione della doppia colorazione tra più laboratori nella real practice.

Per l'introduzione del test p16 come test di triage in alternativa al pap test o ad altri test molecolari saranno fondamentali, oltre ai dati di riproducibilità, i risultati di sensibilità, specificità, VPP, Dr e, non ultimo, i costi.



**Grazie per l'attenzione**

**Grazie a tutti i componenti  
dell'NTCC2 WORKING GROUP**

*pamela.mancuso@ausl.re.it*