

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



P. Mancuso<sup>1</sup>, P. Giorgi Rossi<sup>1</sup>, F. Venturelli<sup>1,2</sup>, E. Allia<sup>3</sup>, G. Ronco<sup>4</sup>, D. Gustinucci<sup>5</sup>, S. Bulletti<sup>5</sup>, E. Cesarini<sup>5</sup>, F. Carozzi<sup>6</sup>, S. Bisanzi<sup>6</sup>, T. Rubino<sup>7</sup>, G. Carlinfante<sup>7</sup>, N. Marchi<sup>8</sup>, A. Farruggio<sup>8</sup>, T. Pusiol<sup>9</sup>, F. Rollo<sup>10</sup>, M. Benevolo<sup>10</sup> e il Gruppo di lavoro NTCC2

<sup>1</sup> Servizio di Epidemiologia, Azienda Unità Sanitaria Locale – IRCCS Reggio Emilia, Italia

<sup>2</sup> Clinical and experimental medicine PhD program, Università di Modena e Reggio Emilia

<sup>3</sup> Centro Unificato Screening Cervico-vaginale, Torino

<sup>4</sup> CPO, Torino

<sup>5</sup> AUSL Umbria1, Perugia

<sup>6</sup> ISPRO, Firenze

<sup>7</sup> Centro di Citologia Cervico-Vaginale, Azienda Unità Sanitaria Locale - IRCCS Reggio Emilia

<sup>8</sup> ULSS 17, Este-Monselice

<sup>9</sup> APSS, Trento

<sup>10</sup> Istituto Nazionale Tumori Regina Elena IRCCS, Roma

## 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® 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.

Laboratori coinvolti 7: 4 per la preparazione, immunocolorazione e lettura e 3 per la sola lettura.

Sono stati letti 3100 vetrini per un totale di 9300 letture.

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

# Risultati - 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>Letture</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> | 5763 (62.0)*  | 794 (58.7)         | 891 (68.6)         | 861 (61.6)         | 888 (74.2)         | 850 (65.5)         | 617 (43.5)         | 862 (64.3)         |
| <i>Positive</i> | 2632 (28.3)*  | 421 (31.1)         | 350 (26.9)         | 389 (27.8)         | 220 (18.4)         | 401 (30.9)         | 577 (40.7)         | 274 (20.4)         |
| 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 letture valutabili: Positive (31.4%) e Negative (68.6%)

# Risultati - Analisi della concordanza

|                              | Valutabilità (valutabile/non valutabile) |              |                       | Positività (positivo/negativo) |            |                       |
|------------------------------|--|--------------|-----------------------|--------------------------------|------------|-----------------------|
|                              | N vetrini                                | % valutabili | Kappa (95% CI)        | N vetrini                      | % positivi | Kappa (95% CI)        |
| <b>Totale*</b>               | 3100                                     | 77.8         | 0.224 (0.183 - 0.263) | 2413                           | 22.0       | 0.583 (0.556 - 0.610) |
| <b>Ordine di lettura**</b>   |  |              |                       |                                |            |                       |
| I - II                       | 3100                                     | 84.7         | 0.345 (0.292 - 0.398) | 2627                           | 23.8       | 0.662 (0.631 - 0.692) |
| I - III                      | 3100                                     | 82.2         | 0.184 (0.135 - 0.232) | 2549                           | 25.8       | 0.564 (0.530 - 0.597) |
| II - III                     | 3100                                     | 83.4         | 0.145 (0.096 - 0.193) | 2585                           | 22.8       | 0.547 (0.514 - 0.581) |
| <b>Lab di allestimento**</b> |  |              |                       |                                |            |                       |
| PG                           | 889                                      | 73.2         | 0.312 (0.237 - 0.379) | 651                            | 23.8       | 0.479 (0.423 - 0.530) |
| FI                           | 801                                      | 78.7         | 0.212 (0.138 - 0.286) | 630                            | 17.3       | 0.559 (0.502 - 0.608) |
| IFO                          | 593                                      | 77.2         | 0.163 (0.091 - 0.251) | 458                            | 24.5       | 0.702 (0.654 - 0.761) |
| TO                           | 817                                      | 82.5         | 0.124 (0.056 - 0.208) | 674                            | 22.8       | 0.613 (0.566 - 0.663) |
| <b>Presenza di CIN2+*</b>    |  |              |                       |                                |            |                       |
| CIN2+                        |  |              |                       | 158                            | 67.7       | 0.487 (0.429 - 0.534) |
| Non CIN2+                    |  |              |                       | 1549                           | 20.9       | 0.549 (0.525 - 0.571) |

\* Kappa multiple reader (tre lettori per ogni vetrino)

\*\* Kappa multiple reader (due lettori per ogni vetrino)

CIN2+ n=**176** (18 vetrini non valutabili)

## 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.