

GISCI

Gruppo Nazionale Studi degli Istituti Oncologici Italiani



PERCORSO
DIPLOMA in ONCOLOGIA



APPENDICE
ONCOLOGIA

Venezia, 27-28 maggio 2010
Scuola Grande San Giovanni Evangelista

GESTIRE IL CAMBIAMENTO



**Test HPV I livello:
come**

**Quali controlli di
qualità**

*Francesca Carozzi
Firenze*



Istituto Toscano Tumori



ISTITUTO PER LO STUDIO
E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA

HPV nello screening cervicale

- ✓ sufficiente nel contesto di protocolli di screening testare il gruppo di HPV ad alto rischio 'in toto'
- ✓ tipi di HPV ad alto e medio rischio Classificazione IARC 2009 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59 e 68
- ✓ cut-off di positività adeguato allo screening

La qualità di un test in ambito di screening

Il Sistema Qualità di un test di nello screening si applica alla prestazione *in toto*, ossia a tutti le fasi del processo

Test effettuato in laboratori accreditati dal SSN per lo screening

Standardizzazione delle procedure

- Garantire la completa tracciabilità del processo: dall'accettazione al referto

Istruzioni di Lavoro specifiche per il test in esame

- Definizione del metodo analitico in grado di garantire gli standard qualitativi richiesti dal programma di screening.
- Identificare ed indicare i parametri di qualità del processo
- Procedure controllo di qualità
-

- *“ ... il laboratorio deve svolgere programmi di Controllo Interno di Qualità e partecipare a programmi di Valutazione Esterna di Qualità promossi dalle Regioni o, in assenza di questi, a programmi validati a livello nazionale o internazionale ”*

D.P.R. 14 gennaio 1997 n.37 (Gazz.Uff. 20 febbraio 1997,n.42, S.O.). Decreto sui requisiti minimi strutturali, tecnologici ed organizzativi per l'esercizio delle attività sanitarie da parte delle strutture pubbliche e private (http://www.ministerosalute.it/imgs/C_17_normativa_1163_allegato.pdf).

HPV: Standard e unità di misura

- le unità di misura utilizzate per HPV : copie genomiche, equivalenti genomici, picogrammi, che rappresentano valori non confrontabili tra di loro
- Sarebbe auspicabile l'utilizzo come unità di misura le Unità Internazionali (UI): unità virtuali, assegnate dal WHO (*World Health Organization*) ad una preparazione di riferimento identificata come “standard internazionale”, in seguito a studi multicentrici internazionali
- Comparazione delle diverse metodiche utilizzate e definirne un uso appropriato nel programma di screening
- Gli standard non sono stati creati con finalità tecniche, ma per facilitare la comunicazione, ovverosia per consentire a più persone di parlare della stessa cosa

Establishment of the 1st World Health Organization international standards for human papillomavirus Type 16 DNA and Type 18 DNA

Dianna E. Wilkinson¹, Sally A. Baylis¹, David Padley¹, Alan B. Heath², Morag Ferguson¹, Sonia R. Pagliusi³, Wim G. Quint⁴

Study Participants: Dr. Robert D. Burk, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY, USA; Dr. Francesca Maria Carozzi, Cancer Prevention and Research Institute (ISPO), Analytical Cytology and Molecular Unit, Florence Italy; Dr. Bhudev Das, Institute of Cytology and Preventive Oncology (ICMR), Division of Molecular Oncology, Noida, India; Dr. Joakim Dillner and Dr. Ola Forslund, Department of Medical Microbiology and Immunology, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden; Dr. Robert W. Stevens, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC, USA; Dr. Robert W. Bourne, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC, USA; Dr. Renee M. Mariani, QIAGEN, Crawley, UK; Dr. Qiagen, Qiagen Inc., Crawley, UK; Dr. Pleasanton, CA, USA; Dr. Translacional- Plataforma de Diagnóstico de Cáncer, Hospital del Mar, Barcelona Spain; Dr. Jong-Sup Park, Dr. Jeong-Hoon Lee, Dr. Sung-Jong Lee and Dr. Eun-Mi Ho, Catholic Research Institute of Medical Science, Seoul St. Mary's Hospital, Department of Obstetrics and Gynecology, Seoul South Korea; Dr. Wim Quint, DDL Diagnostic Laboratory, Voorburg, The Netherlands; Dr. Roland Sahli, Molecular Biology Platform Institute of Microbiology, Lausanne Switzerland; Ms. Sukhon Sukvirach, Field Study Research Section, National Cancer Institute, Bangkok Thailand; Dr. Alexandra Sargent, Department of Clinical Virology, Manchester Royal Infirmary, Manchester UK; Dr. Elizabeth Unger and Dr. David C. Swan, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA; Dr. Luisa Lina Villa, Dr. Andrea Trevisan, Ms. Maria Cecilia Costa, Ms. Maria Antonietta Andreoli, Mr. José Carlos Mann Prado, Mr. João Simão Sobrinho, Ludwig Institute for Cancer Research, Hospital Alemão Oswaldo Cruz, São Paulo, SP Brazil; Dr. Cosette Wheeler, Ms. Cheri Peyton-Goodall, Ms. Norah Torrez-Martinez, Mr. George Montoya, Ms. Erika Ingersoll, Ms. Amanda Pearse, University of New Mexico Health Sciences Center, Department of Pathology, Albuquerque, NM, USA; Dr. Dianna E. Wilkinson, Division of Virology, National Institute for Biological Standards and Control, South Mimms, Hertfordshire UK; Professor Anna-Lise Williamson and Mr. Bruce R. Allan, Institute of Infectious Disease and Molecular Medicine, University of Cape Town, Cape Town, South Africa.

Grant sponsors: World Health Organization; University of New Mexico

DOI: 10.1002/ijc.25039

History: Received 17 Aug 2009; Accepted 21 Oct 2009; Online 10 Nov 2009

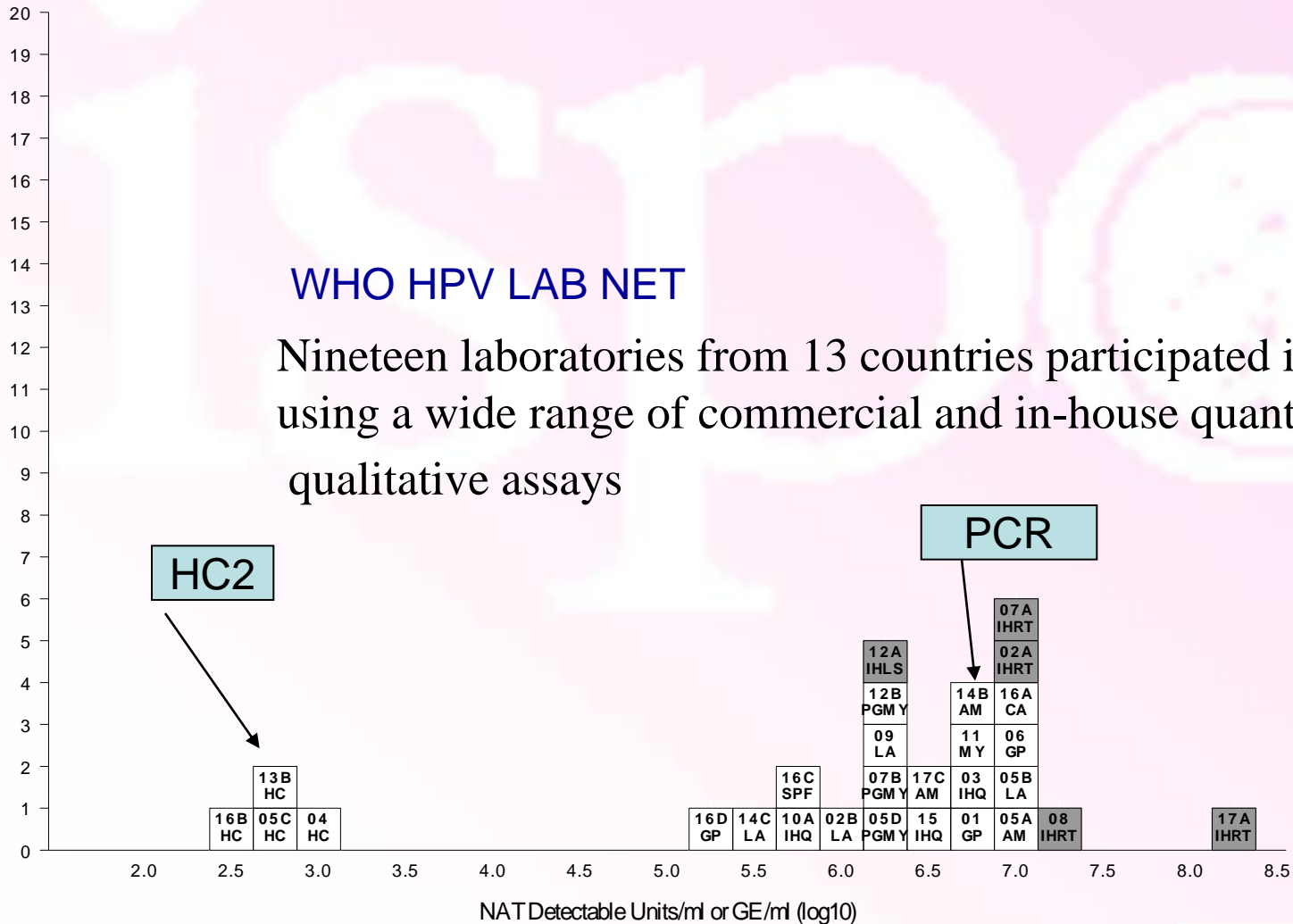
International standard for amount of HPV16DNA and HPV18 (IU) established.
Is for other types being developed

WHO Collaborative Study
to Establish WHO International Standards
for Human Papillomavirus (HPV) Type 16 DNA and HPV Type 18 DNA Nucleic Acid
Amplification Technology (NAT)-Based Assays

HPV16: 06/202

WHO HPV LAB NET

Nineteen laboratories from 13 countries participated in the study using a wide range of commercial and in-house quantitative and qualitative assays



Controllo di qualità fase analitica

CQI: effettuazione sistematica

- Permette il controllo delle prestazioni di un procedimento analitico fornendo un allarme non appena il processo non risulta più in grado di rispettare i **traguardi analitici definiti**
- Permette valutazioni a medio termine sulla **precisione** del test e garantire la **stabilità** delle prestazioni nel tempo

VEQ

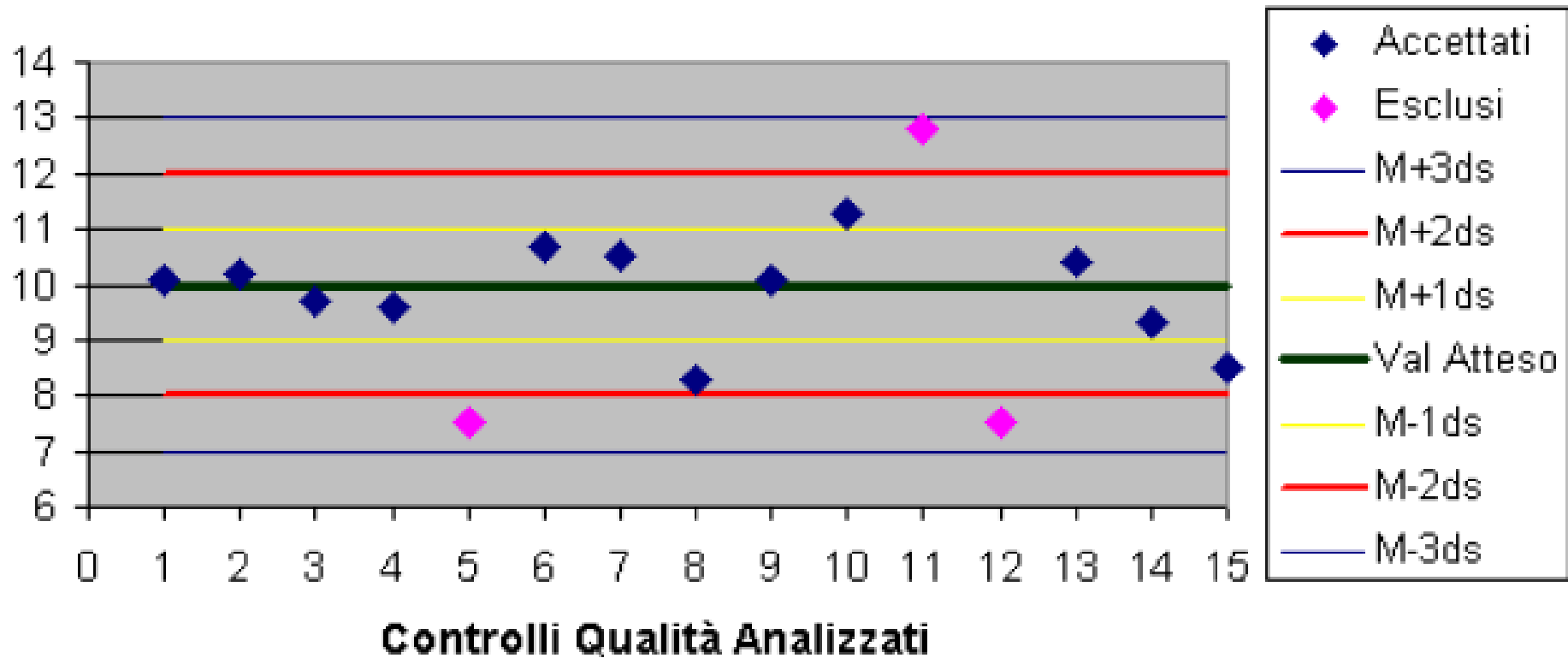
- confrontando il valore ottenuto per un determinato parametro con quello ottenuto da altri laboratori, Consente di verificare **l'accuratezza** nelle misure analitiche del singolo laboratorio rispetto agli altri laboratori partecipanti
- Valutare l'attendibilità dei risultati di un laboratorio utilizzando materiale di controllo uguale per tutti i partecipanti

Hr-HPV CQI

- Tutti i risultati del CQI devono essere registrati ed elaborati sotto forma di carte di controllo.
- È necessario che il laboratorio predisponga una procedura con la definizione delle regole di allarme e di rifiuto della serie analitica in base al valore del campione di controllo.
- Definizione delle azioni correttive da adottare in caso di mancato rispetto dei parametri di qualità.
- Tutti i dati di “fuori controllo” (non conformità) devono essere registrati, riportando: la data dell’avvenuta non conformità; il numero di lotto e la data di scadenza del reagente diagnostico; il valore trovato; la regola violata; l’intervento correttivo messo in opera; la firma di chi ha registrato la non conformità e la successiva validazione..

Suggerimenti operativi per l'impostazione dei CQI per hr-hpv test

- CQI in medium analogo ai campioni (STM, Surepath, TP) x ogni seduta
- 2 livelli di campione di controllo (positivo e negativo) con valori vicino al valore soglia (cut-off) , regione di massimo interesse analitico del test
- Vista la difficoltà di reperire dei materiali di controllo diversi da quelli forniti dalle ditte produttrici della strumentazione:
 - poolare ed aliquotare più CQI , Sovrapposizione tra CQI di lotti o preparazioni diverse
 - Inserire campioni analizzati nella seduta precedente possibilmente con valori prossimi al valore di cut off
- Definire l'imprecisione massima accettabile tra le diverse sedute analitiche



VEQ x HR- HPV nello screening

- In virologia con lo sviluppo dei metodi molecolari sono stati raggiunti livelli di sensibilità mai ottenuti con le altre tecniche di rilevazione tradizionali: cruciale per la rivelazione di un'infezione è la elevata sensibilità per il microrganismo che ne è responsabile
- il test applicato allo screening ha un cut-off che non corrisponde al livello minimo rilevabile del metodo ma un cut-off ottimizzato per sensibilità e specificità clinica
HC2 1pg/ml=5000 copie virali x test
- Sono 13 tipi da valutare : materiale cellulare con virus solo per alcuni ceppi, difficoltà reperire plasmidi

HPV Screening Test Reproducibility Kappa value for multiple raters

Table 4
Interlaboratory Quality Control*

Hybrid Capture 2 Result	ThinPrep Samples	STM Samples
Negative	0.91	0.93
Low-positive	0.60	0.87
High-positive	0.69	0.90
Overall	0.74	0.90

PC, positive control specimen; RLU, relative light units.

* κ values for multiple raters. Data were categorized as negative (<1 RLU/PC), low-positive (1 to <11 RLU/PC), and high-positive (\geq 11 RLU/PC [see the text]). For proprietary information, see the text.

Carozzi et al, AJCP 2005

Gisci

Il Gruppo di lavoro “Test di primo livello”

- Sottoprogetto : Studio di concordanza inter-laboratorio e VEQ per test HPV-DNA

Studio pilota di concordanza interlaboratorio del test HPV HR

utilizzato all'interno di programma screening cervicale

Su questa base è stato lanciato all'interno del gruppo GISCI uno studio di concordanza inter-laboratorio per il test HPV , simile a quello già effettuato e consolidato all'interno di NTCC; rivolto in questa fase iniziale ai laboratori che eseguono il test per la rilevazione in toto dei tipi HR e per la genotipizzazione. Sono stati distribuiti per questo primo pilota 8 campioni

I campioni dovrebbero essere testati in un'unica seduta secondo le indicazioni fornite ("protocollo CDQ esterno per HCII") ed i risultati inviati entro la fine di febbraio a f.carozzi@ispo.toscana.it, che provvederà alla elaborazione dei dati in modo anonimo indicando con acronimi i vari laboratori. Si prevede di inviare i risultati entro i primi di aprile

Invio campioni

centri	Data consegna	Modalità di conservazione	Modalità d'invio	Marteriale inviato
LABORATORIO 1	28.01.10	Temp ambiente	Consegnati	1X STM
LABORATORIO 2	28.01.10	4°C	consegnati	1X STM 1X Thin Prep
LABORATORIO 3	28.01.10	Temp ambiente	Consegnati	1X STM
LABORATORIO 4	21.02.10	4°C	Inviati	1X STM 1X Thin Prep
LABORATORIO 5	28.01.10	Temp ambiente	Consegnati	1X STM 1X Thin Prep
LABORATORIO 6	28.01.10	Temp ambiente	Consegnati	1X STM
LABORATORIO 7	28.01.10	Temp ambiente	Consegnati	1X STM 1X Thin Prep
LABORATORIO 8	01.03.10	4°C	Inviati	1X STM 1X Thin Prep
LABORATORIO 9	28.01.10	Temp ambiente	Consegnati	1X STM
LABORATORIO 10	12.02.10	Temp. ambiente	Consegnati	1X STM
LABORATORIO 11	28.01.10	Temp ambiente	Consegnati	1X STM 1X Thin Prep
LABORATORIO 12	21.02.10	4°C	Inviati	1X STM
LABORATORIO 13	15.02.10	4°C	Inviati	1X STM 1X Thin Prep
LABORATORIO 14	28.01.10	Temp ambiente	Consegnati	2X STM

13 hc2, 1 Amplicor

Pap test come test di triage

> specificità del test Hr-HPV

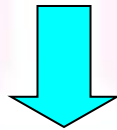
>riproducibilità del pap?

- Tutti i campioni sono HR-HPV pos : aumenta la riproducibilità della citologia ?
- Ci aspettiamo percentuali di Asc-us tra diversi lettori nello stesso lab molto simili
- Quale range \di ASC-US+ nei differenti programmi ?

Forte integrazione tra test di screening (Hr-HPV) e test di triage (pap-test) per ottimizzare il nuovo percorso di screening

Concludendo..

Nello screening è di fondamentale importanza rilevare le infezioni da HPV clinicamente rilevanti perché il test hr-HPV rappresenta un test di rischio oncogeno

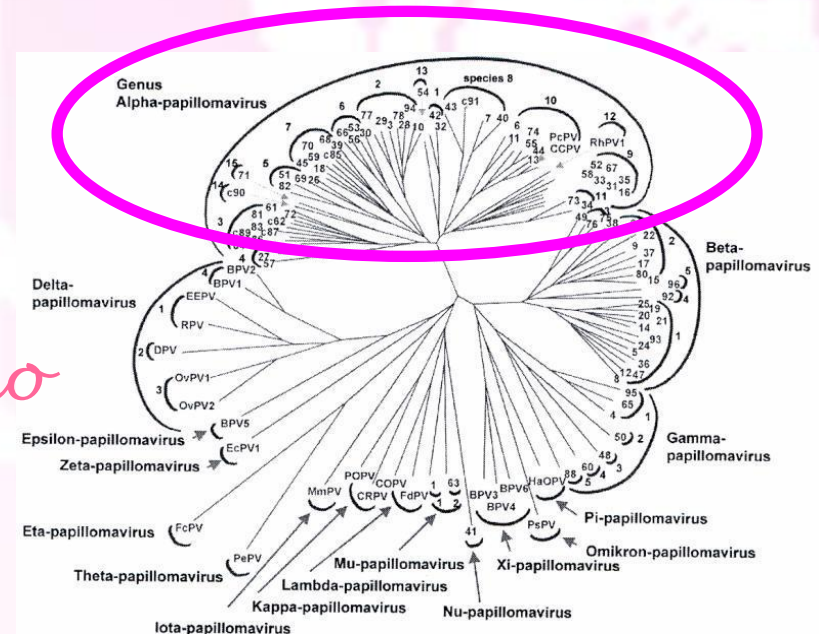


CQI e VEQ che consentano di valutare non solo la performance analitica ma la performance clinica legata alle finalità del test nei programmi di screening

HPV nello screening cervicale

HPV ad alto e medio rischio Classificazione IARC 2009
16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59

TEST HPV ?
o HPV Rischio Oncogeno
o hr-HPV o ...?



Avrà finito?



Speriamo
ritorni tra le
sue provette
!!!



GRAZIE a tutti PER L'ATTENZIONE