

Laboratori unificati per il test HPV: problemi di organizzazione e controlli di qualità'

Laura De Marco¹, Anna Gillio Tos¹, Carla Contessa²

*¹ Centro Unificato Screening Cervico Vaginale, AOU Città della Salute e della Scienza
S.C. Anatomia Ed Istologia Patologica Della Donna, Del Bambino E Dei Tumori Rari – Torino*

*² Centro Unificato per lo screening cervico-vaginale del Piemonte Orientale
S.C. Anatomia Patologica e Citologia Diagnostica Asl NO – Borgomanero*

WORKSHOP

**“ PROGRAMMA REGIONALE DI SCREENING PER IL CERVICOCARCINOMA PREVENZIONE SERENA ”
23 NOVEMBRE 2015**

IL PASSAGGIO ALLO SCREENING CON HPV COME TEST PRIMARIO

RACCOMANDAZIONI

DGR 12 – 9941 del 3/11/2008 → creazione di **Centri Unificati** per lo Screening cervicale

DGR 2157-05 del 23 aprile 2013:



- ✓ introduzione ufficiale del test HPV come test primario di screening (30 e 64 anni; round 5 anni)
- ✓ identificazione 2 centri di riferimento → centralizzazione analisi molecolari e letture citologiche di primo livello per il territorio Piemontese
- ✓ primo centro:

Centro Unificato Screening Cervico Vaginale (Torino)
(rinnovo della strumentazione molecolare - gara regionale)

DGR 10-7040 del 27 gennaio 2014 → secondo centro regionale:
S.C. Anatomia Patologica e Citologia Diagnostica Asl No (Presidio di **Borgomanero**)

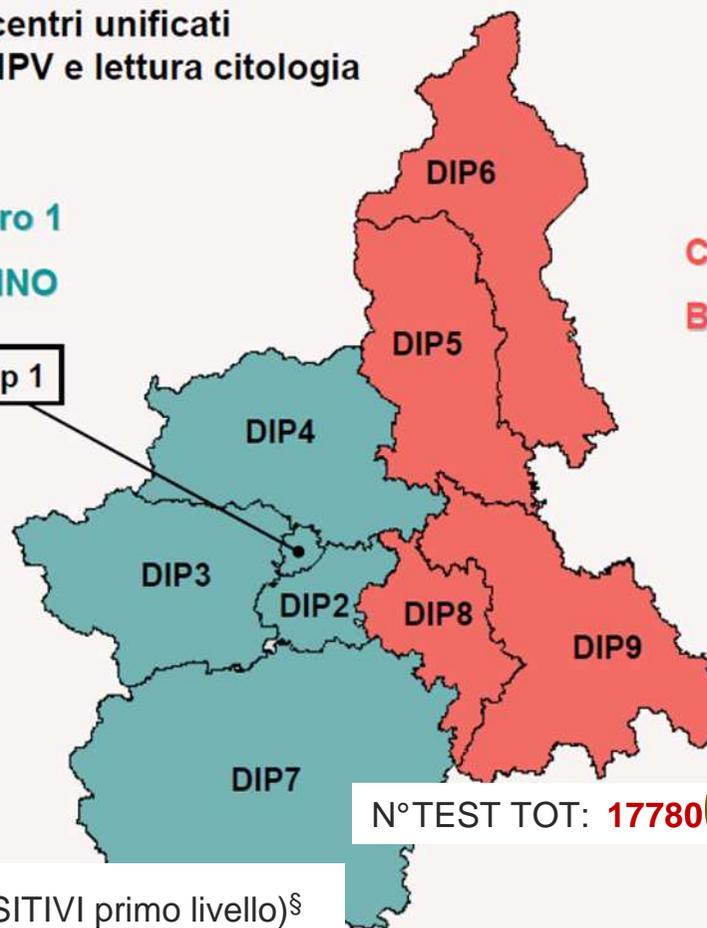
PROGRAMMA DI AVVIO HPV COME TEST PRIMARIO DI SCREENING

Bacini di utenza centri unificati
esecuzione test HPV e lettura citologia
di triage

Centro 1
TORINO

Centro 2
BORGOMANERO

Dip 1



N°TEST TOT: 17780 (7,4% HPV POSITIVI primo livello)[§]

N°TEST TOT: 34793 (7,3% HPV POSITIVI primo livello)[§]

* *Proseguimento diretto pilota*

[§] *Dati aggiornati al 13/11/2015*

PROGRAMMA DI AVVIO HPV COME TEST PRIMARIO DI SCREENING

Bacini di utenza centri unificati

CENTRO UNIFICATO SCREENING VAGINALE TORINO

DIPARTIMENTO	DATA AVVIO
1 Torino *	24 febbraio 2014
2 Moncalieri	2 maggio 2014
3 Rivoli	1 ottobre 2014
4 Ivrea	15 giugno 2014
7 Cuneo	entro il 2015

N°TEST TOT: **34793** (7,3% HPV POSITIVI primo livello)[§]

* *Proseguimento diretto pilota*

ANATOMIA E ISTOLOGIA PATOLOGICA ASL NO BORGOMANERO

DIPARTIMENTO	DATA AVVIO
5 Vercelli Biella	07 gennaio 2015
6 Novara VCO	24 novembre 2014
8 Asti	11 dicembre 2014
9 Alessandria	15 dicembre 2014

N°TEST TOT: **17780** (7,4% HPV POSITIVI primo livello)[§]

§ *Dati aggiornati al 13/11/2015*

DAL PILOTA ALL'APPLICAZIONE DGR: COSA È CAMBIATO

- età: >35 **vs** >30
- acquisizione di strumentazioni automatizzate
- un singolo prelievo con mezzo di trasporto valido sia per il test HPV sia per la citologia in fase liquida (gara già espletata)
 - ❖ STM (*Qiagen*) ➡ PreservCyt (*Hologic*)

- **Identificazione campione:** scritto a mano ➡ codici a barre
- **Fase pre-analitica:** manuale ➡ piattaforme automatiche
- **Metodo analitico:** **HC2, colorazione Papanicolaou**
- **Triage citologico:** ricerca vetrino ➡ selezione campione HPV+

TEST HPV COME TEST PRIMARIO: FLUSSO OPERATIVO

Pre-analitica

- * ricezione file informatici
- * accettazione



QIAensemble

Decapper System

- * agitazione su vortex
- * apertura
- * deposizione aliquote in provette

2 QIA Symphony SP

- * isolamento del DNA
(biglie magnetiche)

Analitica

Rapid Capture System

- * Ibridazione con sonde HPV
Hybrid Capture 2
(13 ceppi HPV ad alto rischio)

Post-analitica

- * Interpretazione e validazione dei risultati
- * Invio degli esiti

TORINO PERSONALE PART-TIME

2 Biologi molecolari
2 citotettori (riconversione)

BORGOMANERO PERSONALE TEMPO PIENO

1 Biologo molecolare
2 tecnici TSLB

350 test al giorno
7500 al mese

IL CONTROLLO DI QUALITÀ IN LABORATORIO

Con questa espressione sono indicati una serie di accorgimenti che attualmente vengono utilizzati nel laboratorio di analisi per rendere attendibili i risultati

L'attendibilità di un risultato dipende:

- dall'efficacia della strumentazione usata;
- dai reattivi, dalla correttezza del prelievo;
- dal metodo di analisi utilizzato;
- dalla capacità dell'operatore.

PERCHE' IL SISTEMA DI QUALITA'

Obblighi di legge e Requisiti di Accreditemento e di Certificazione

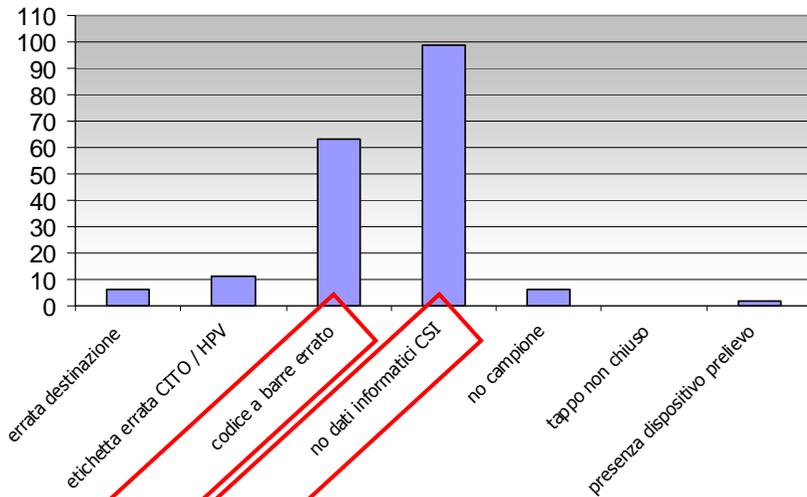
Esecuzione di programmi di Controllo di Qualità Interno (CQI) e partecipazione a programmi di Valutazione Esterna di Qualità (VEQ) ➡ **OBBLIGATORIA** (Linee Guida ministeriali).

OBBLIGO dei laboratori a partecipare ai cicli di VEQ per tutti i test per i quali erogano prestazioni e per i quali esistono specifici programmi di VEQ .

Esecuzione di CQI partecipazione a VEQ ➡ requisito per i procedimenti di accreditamento e di certificazione.

test **HPV DNA** ➡ soggetto alle specifiche di qualità previste per le analisi di laboratorio eseguite dai laboratori operanti per il SSN.

Gennaio - Ottobre 2015
Non Conformità in accettazione
TORINO



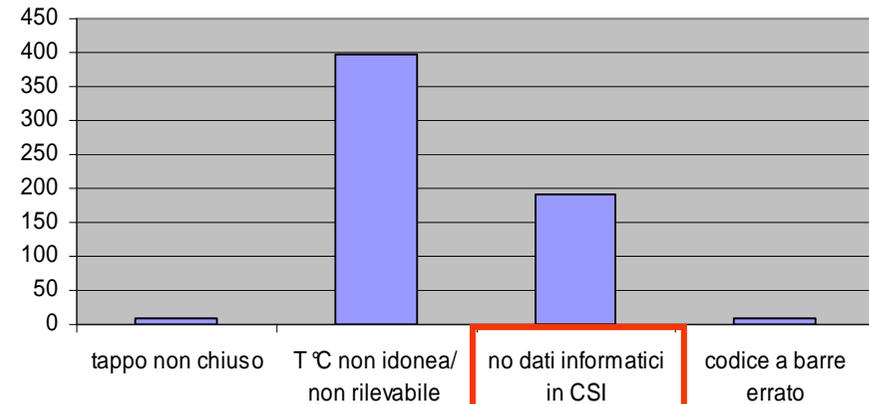
RIMEDI

fare sempre invio dati a fine seduta
 controllare schermata della singola donna sia completa e chiusa

RIMEDI

posizionarsi bene col cursore all'inizio del campo
 controllare che tutti i 10 caratteri compaiano

Marzo - Novembre 2015
Non Conformità in accettazione
BORGOMANERO



RIMEDI

fare sempre invio dati a fine seduta
 controllare schermata della singola donna sia completa e chiusa

ADEGUATEZZA DEL LABORATORIO

MONITORAGGIO DELLA QUALITÀ DEL TEST

allestimento programmi di controllo di qualità

intra- ed inter-laboratorio

*Carozzi et al. Am J Clin Pathol 2005;124:716
(Trial NTCC:)*



RIPRODUCIBILITÀ E AFFIDABILITÀ MONITORAGGIO CON CDQ

1. Confronto periodico intra-laboratorio

- Valori Medi calibratori e controlli interni
- Percentuali positività ad HPV

2. Confronto periodico inter-laboratorio

- Scambio di campioni tra laboratori

3. Partecipazione a programmi VEQ (Valutazione Esterna Qualità)

Un ente esterno prepara e spedisce a differenti laboratori lo stesso panel di campioni, restituendo risultati di performance specifiche e cumulative secondo limiti di accettabilità del risultato predefiniti ed elaborando una graduatoria di merito dei partecipanti.

TEST HPV COME TEST PRIMARIO: CONTROLLI DI QUALITA' INTRA-LABORATORIO

Riproducibilità test HC2 in sedute diverse e con operatori diversi

VALORI ATTESI

- Calibratori negativi (3 replic): **NC**
- Calibratori positivi (3 replic.): **HRC**
- Controllo Low Risk HPV: **Q-LR**
- Controllo High Risk HPV: **Q-HR**

- 1 campione seduta precedente
(Ratio RLU/CO: 1-10)

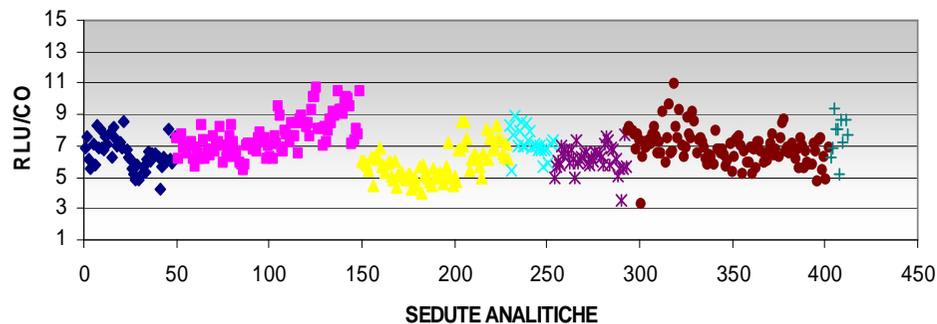
RLU	Ratio RLU/HRC	CV replic.
10 -250	<1.0	< 25%
CP/CN: 2-15	1.0	< 25%
<150	<1.0	
>300	2 – 8	
	1-10	

TEST HPV COME TEST PRIMARIO: CONTROLLI DI QUALITA' INTRA-LABORATORIO

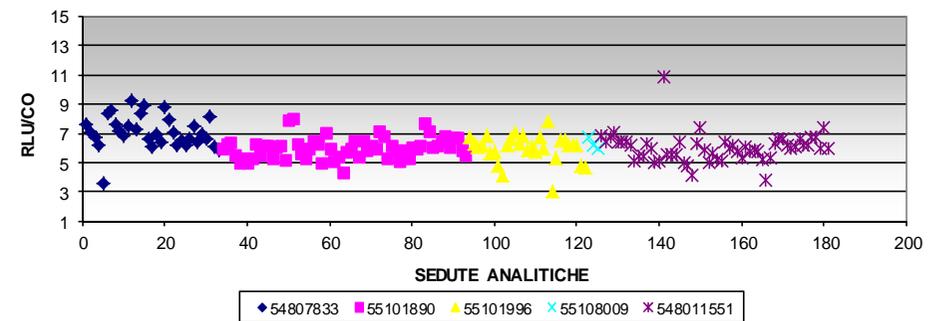
DISTRIBUZIONE DEI VALORI HRC/NC

Valore atteso 2 - 15

TORINO



BORGOMANERO



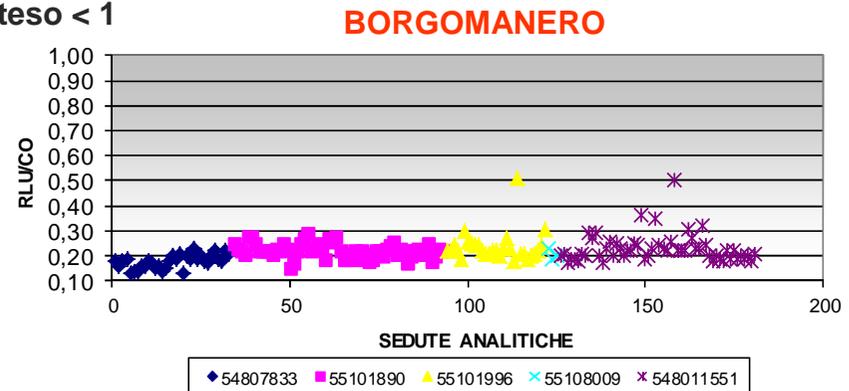
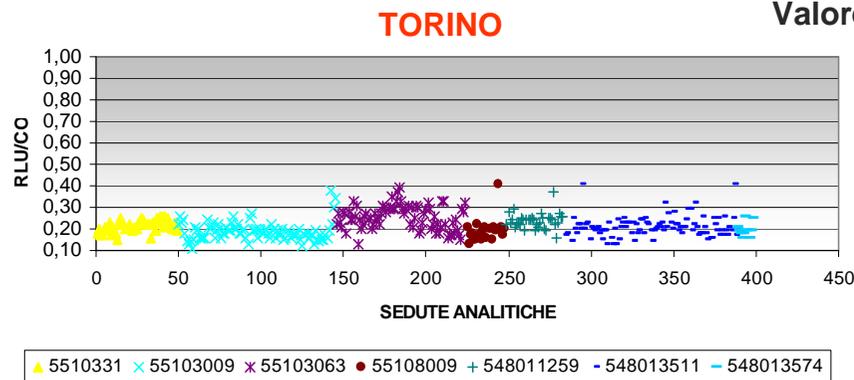
◆ 5510331 ■ 55103009 ▲ 55103063 × 55108009 * 548011259 • 548013511 + 548013574

◆ 54807833 ■ 55101890 ▲ 55101996 × 55108009 * 548011551

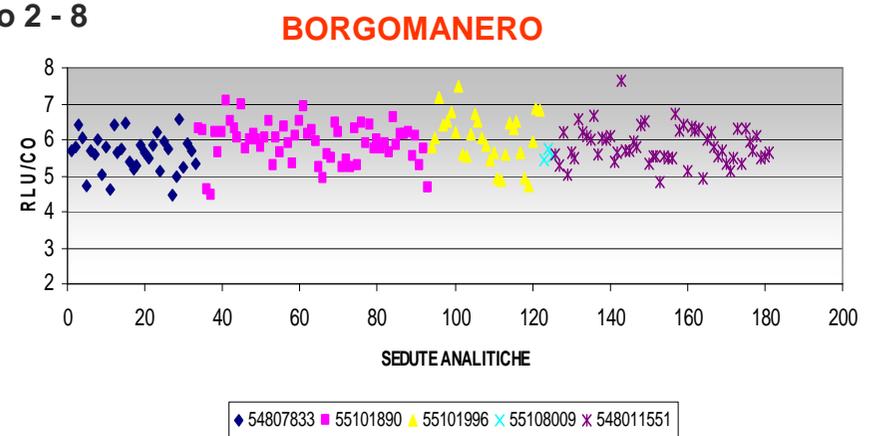
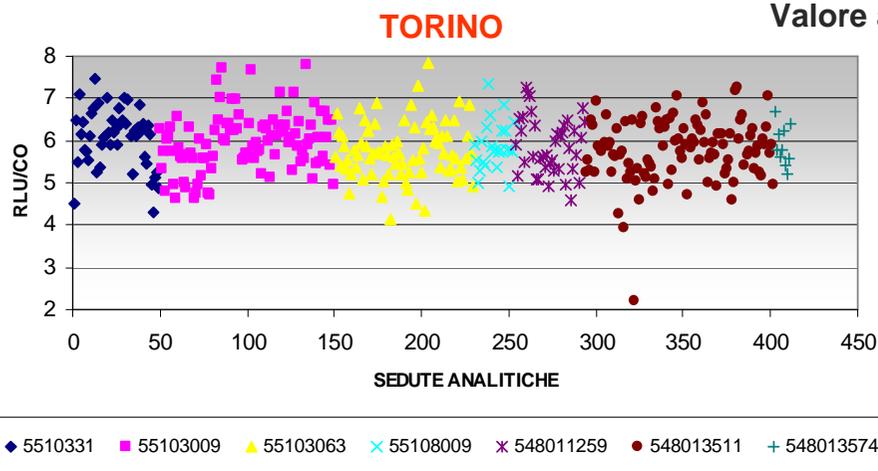
Valori nel range definito dal produttore

TEST HPV COME TEST PRIMARIO: CONTROLLI DI QUALITA' INTRA-LABORATORIO

DISTRIBUZIONE DEI VALORI DI RLU/CO CDQ LR (HPV 6; 5pg/ml)



DISTRIBUZIONE DEI VALORI DI RLU/CO CDQ HR (HPV 16; 5pg/ml)



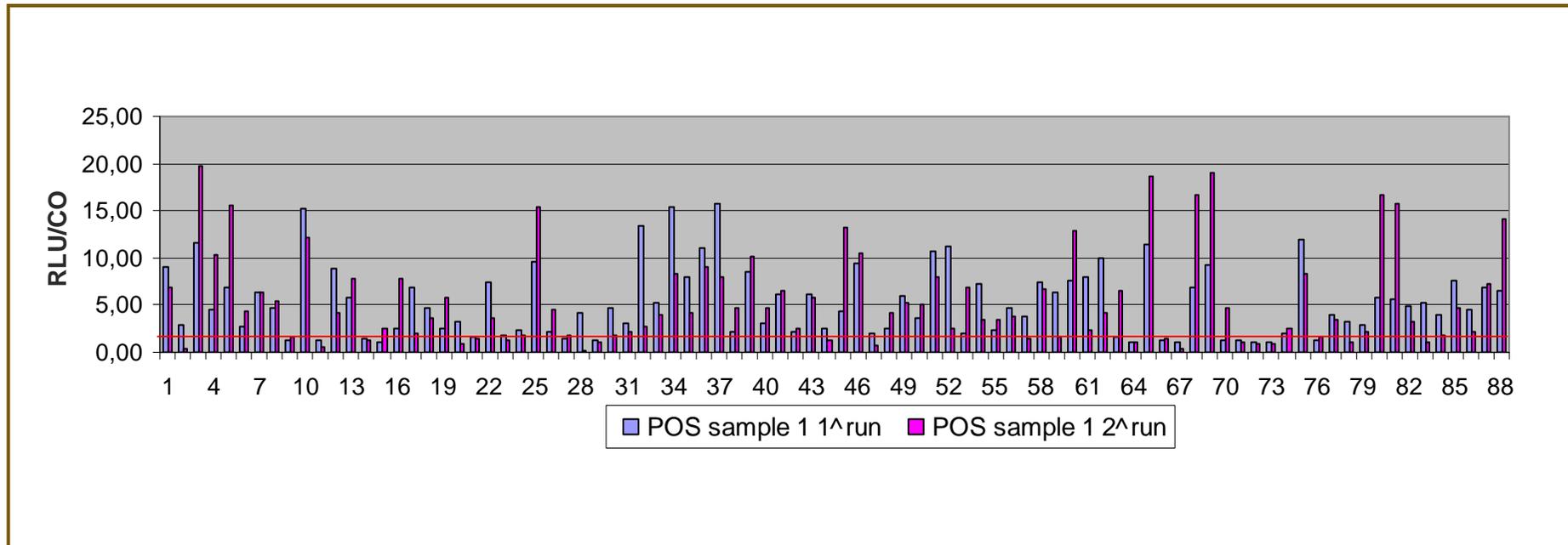
Valori nel range definito dal produttore

TEST HPV COME TEST PRIMARIO: CONTROLLI DI QUALITA' INTRA-LABORATORIO

RIPETIZIONE CAMPIONE POSITIVO

PreservCyt

RLU/CO: 1 - 10

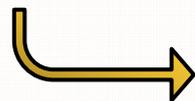


CONTROLLO DI QUALITA' INTER-LABORATORIO

ISTITUITO A GENNAIO 2015

**Monitoraggio di accuratezza e riproducibilità dei risultati al test per HPV-DNA
(test HC2, linea di strumentazioni automatiche)**

➤ **2015** invio trimestrale (poi ogni 6 mesi): Torino ➡ Borgomanero (NO)



4 controlli

1 NEGATIVO

1 o 2 «BORDER-LINE»

1 o 2 FRANCAMENTE POSITIVO

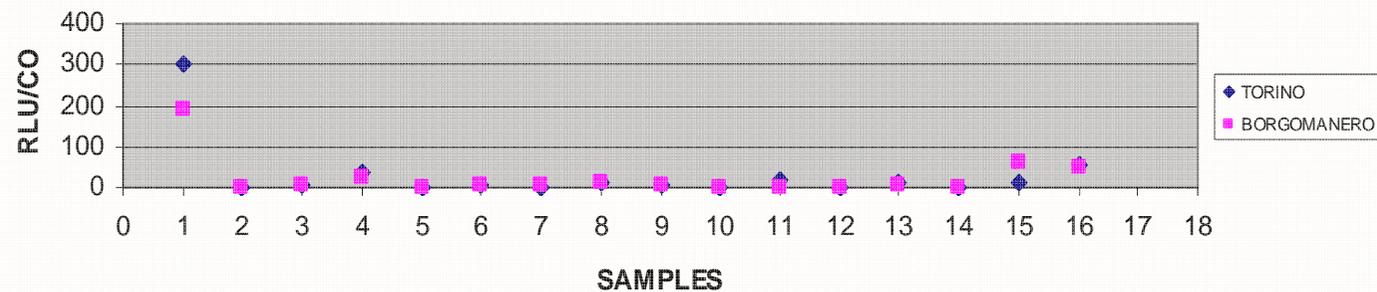
➤ Torino ➡ gestione invii aliquote campioni

➡ registrazione dei risultati dei centri,

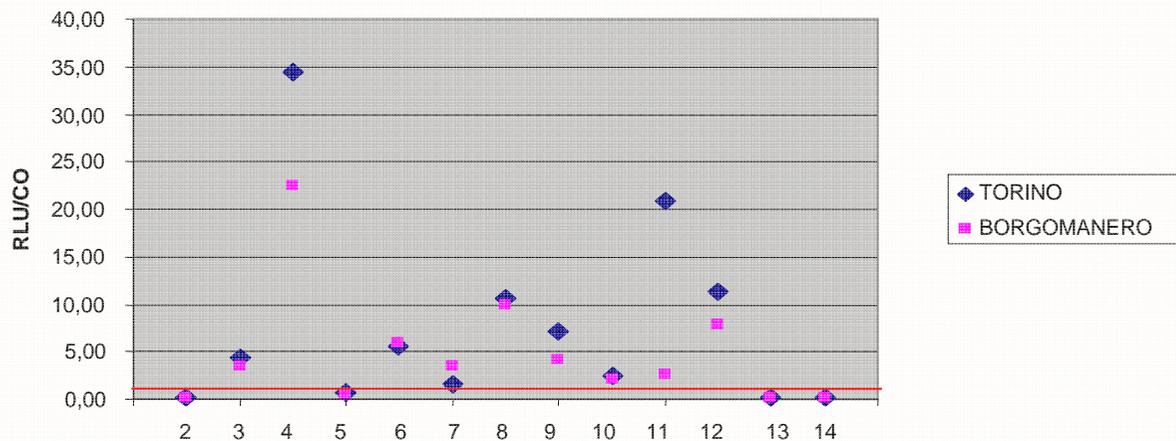
➡ condivisione periodica dei risultati

CONTROLLO DI QUALITA' INTER-LABORATORIO

DISTRIBUZIONE DEI VALORI DEI CDQ INTER LABORATORIO



DISTRIBUZIONE DEI VALORI DEI CDQ INTER LABORATORIO
DETTAGLIO RLU/CO < 40



- ✓ grado di precisione molto soddisfacente
- ✓ ottimo in termini di accuratezza
- ✓ $k = 0,96$ (CI: 0.88-1)

TEST HPV COME TEST PRIMARIO: CONTROLLO DI QUALITA' ESTERNO VEQ

Monitoraggio test HC2, linea di strumentazioni automatiche completa

TORINO

- QCMD*: 1 invio annuale, partecipazione al programma dal 2009
- 2014: eseguito su QIASymphony SP e Rapid Capture System

Sample	Sample Content	Qualitative			
		Sample Status	Sample Type	Your qualitative result	Your qualitative score
HPV14-02	HPV16 (Caski)	Positive	Core	positive	0
HPV14-06	HPV18 (Hela)	Positive	Core	positive	0
HPV14-01	HPV45 (CC10b)	Positive	Core	positive	0
HPV14-09	HPV16/18 (Caski/Hela)	Positive	Core	positive	0
HPV14-10	Low Viral Load HPV16 (SiHa)	Positive	Educational	negative	1
HPV14-08	HPV51&52 (clinical sample)	Positive	Educational	positive	0
HPV14-04	HPV52&56 (clinical sample)	Positive	Educational	positive	0
HPV14-07	HPV54&56 (clinical sample)	Positive	Educational	positive	0
HPV14-03	HPV Negative (BSM)	Negative	Core	negative	0
HPV14-05	HPV Negative (BSM)	Negative	Core	negative	0
Sum Qualitative Panel Score					1

The core proficiency samples in this EQA programme were:
HPV14-01, HPV14-02, HPV14-03, HPV14-05, HPV14-06, HPV14-09
You reported 6/6 (100.0 %) of the core samples correctly.
Of the total datasets reported by all participants in this EQA programme, 87.2% reported correct results for all core proficiency samples.

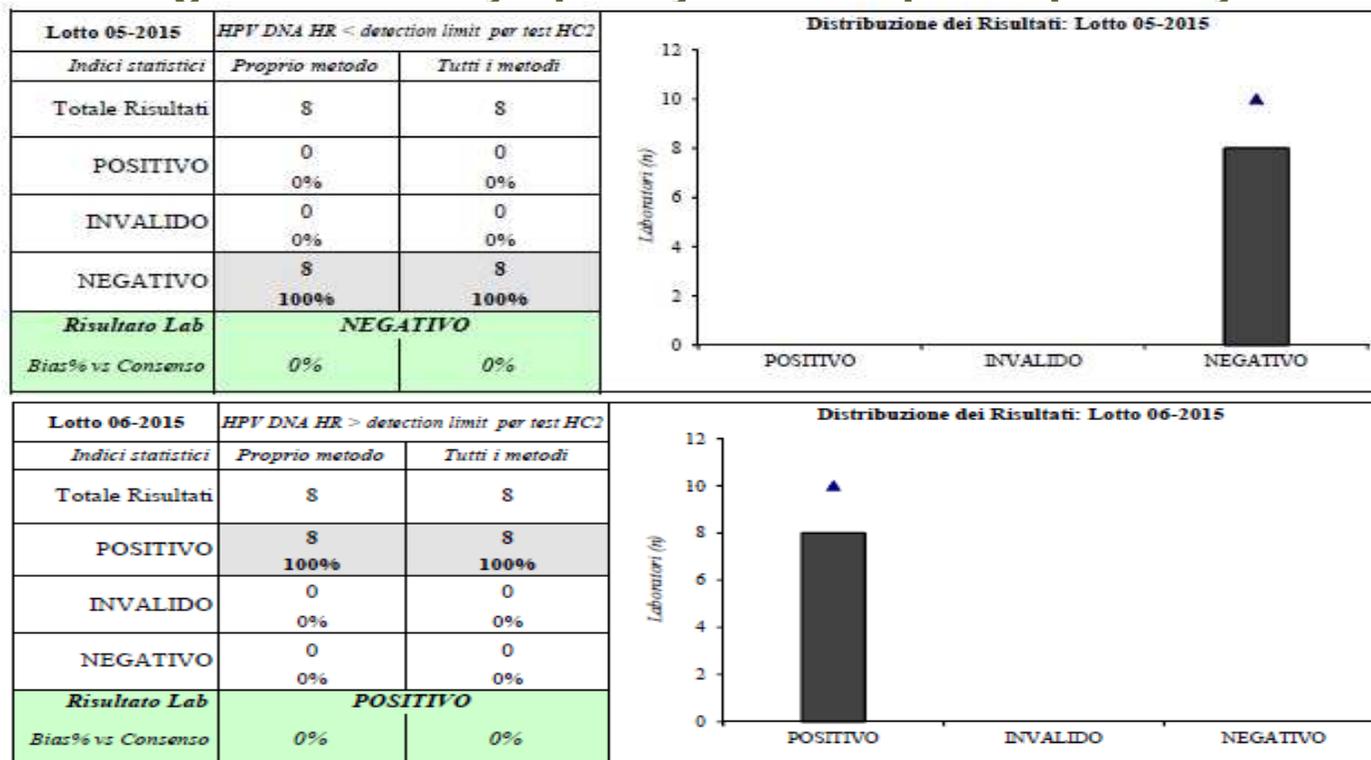
*Quality Control for Molecular Diagnostics (Scotland, UK)

TEST HPV COME TEST PRIMARIO: CONTROLLO DI QUALITA' ESTERNO VEQ

Monitoraggio test HC2, linea di strumentazioni automatiche completa

BORGOMANERO

- DicoCARE* VEQ: 4 invii l'anno, partecipazione al programma dal 2010
- 2015: eseguito su QIASymphony SP e Rapid Capture System



* Medical System (Genova, IT)

CONCLUSIONE

I CQ rilevano un'ottima **RIPRODUCIBILITÀ** e **ACCURATEZZA** dei risultati ottenuti nei due laboratori

WORK IN PROGRESS...

- Gruppo di lavoro Gisci su CQ: progetto allestimento VEQ
- Allestimento QC intra-laboratorio a concentrazione nota da utilizzare per più sedute analitiche
- Valutazione dei campioni border-line



GRAZIE PER L'ATTENZIONE...



WORKSHOP
“ PROGRAMMA REGIONALE DI SCREENING PER IL CERVICOCARCINOMA PREVENZIONE SERENA ”
23 NOVEMBRE 2015