

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

***Laura De Marco<sup>1</sup>, Anna Gillio Tos<sup>1</sup>, Carla Contessa<sup>2</sup>***

*<sup>1</sup> 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*

*<sup>2</sup> 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**)

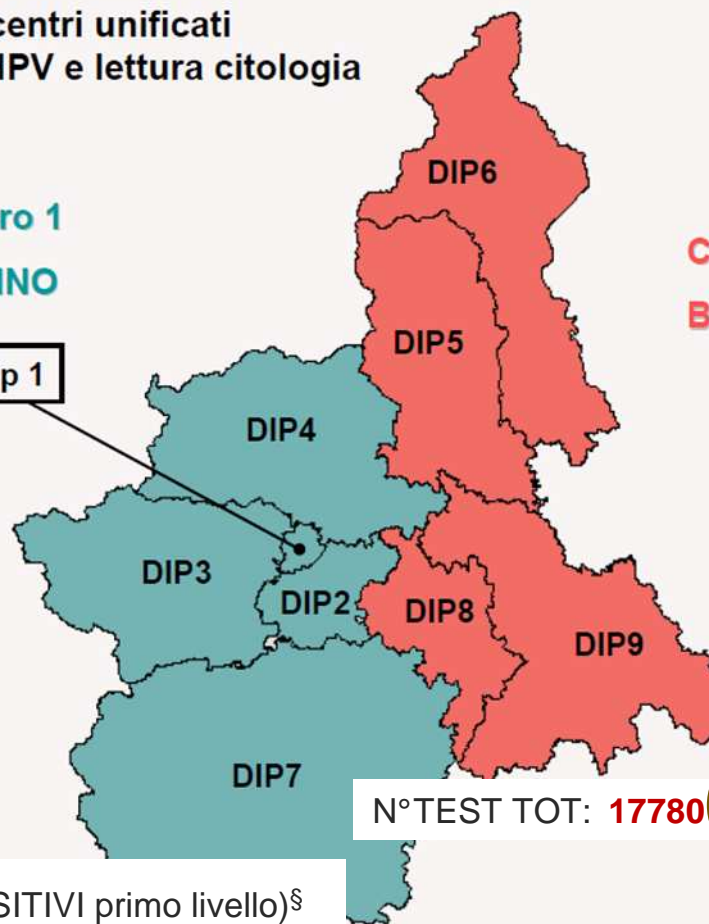
# PROGRAMMA DI AVVIO HPV COME TEST PRIMARIO DI SCREENING

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)<sup>§</sup>

N°TEST TOT: 34793 (7,3% HPV POSITIVI primo livello)<sup>§</sup>

\* *Proseguimento diretto pilota*

<sup>§</sup> *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)<sup>§</sup>

\* *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)<sup>§</sup>

§ *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).

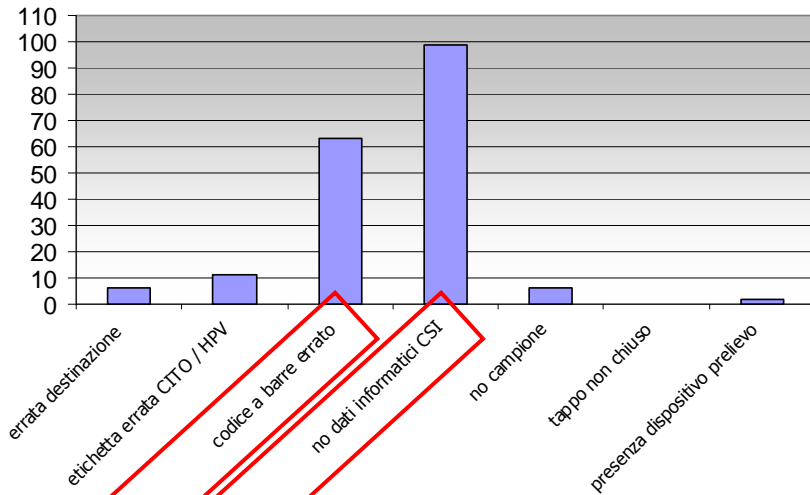
**OBBLIGO** dei laboratori a partecipare ai cicli di VEQ per tutti i test per i quali erogano prestazioni e per i quali esistono specifici programmi di VEQ .

Esecuzione di CQI partecipazione a VEQ ➡ requisito per i procedimenti di accreditemento 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**



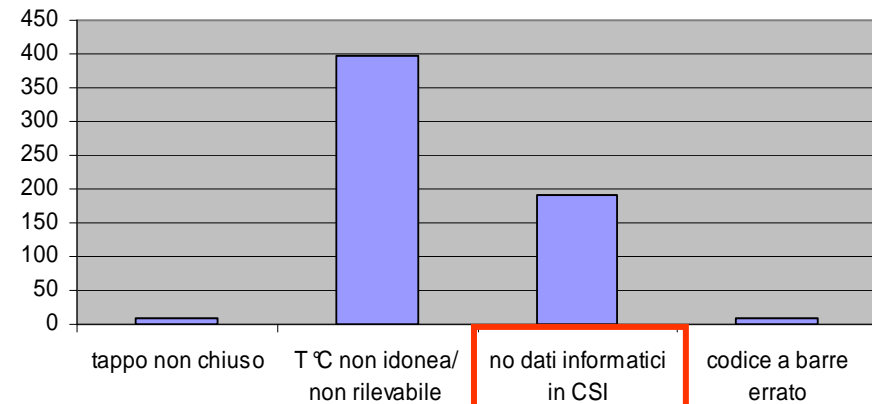
**RIMEDI**

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)

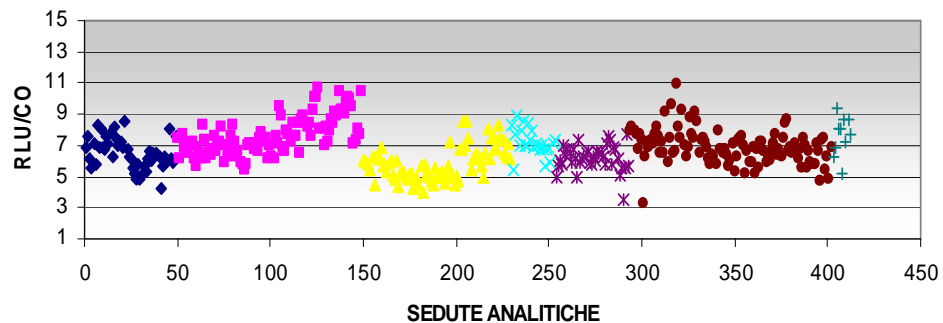
RLU	Ratio RLU/HRC	CV replic.
10 -250	<1.0	< 25%
CP/CN: 2-15	1.0	< 25%
<150	<1.0	
>300	2 – 8	
	1-10	

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

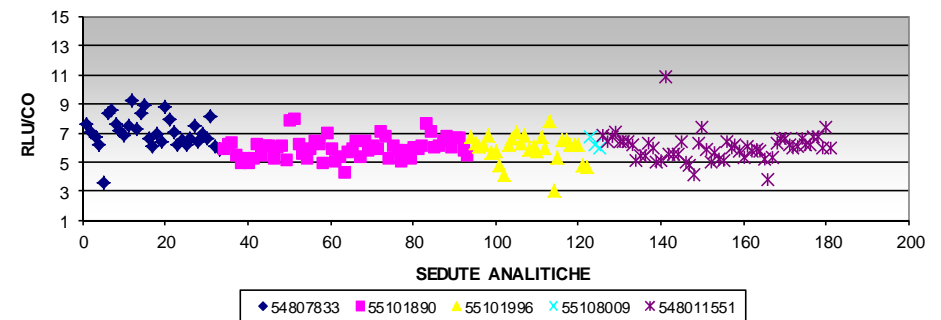
## DISTRIBUZIONE DEI VALORI HRC/NC

Valore atteso 2 - 15

**TORINO**



**BORGOMANERO**



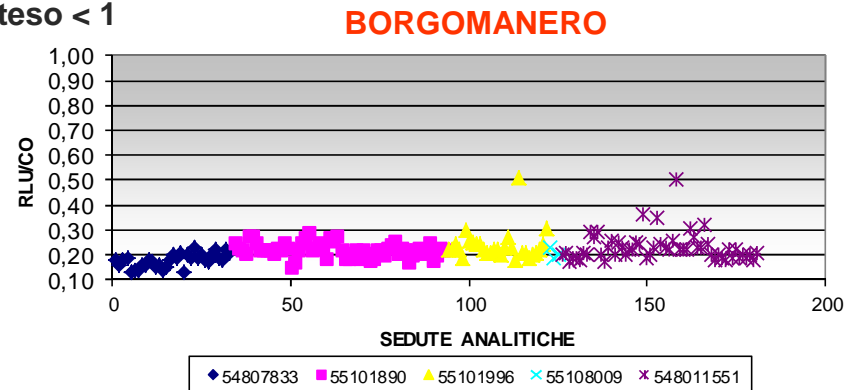
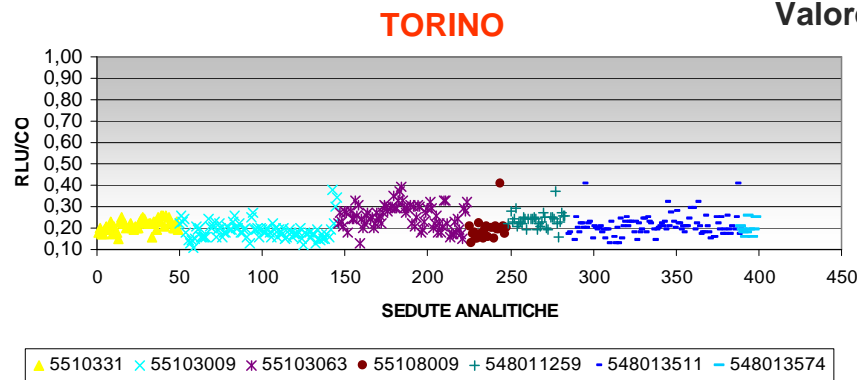
◆ 5510331 ■ 55103009 ▲ 55103063 × 55108009 \* 548011259 • 548013511 + 548013574

◆ 54807833 ■ 55101890 ▲ 55101996 × 55108009 \* 548011551

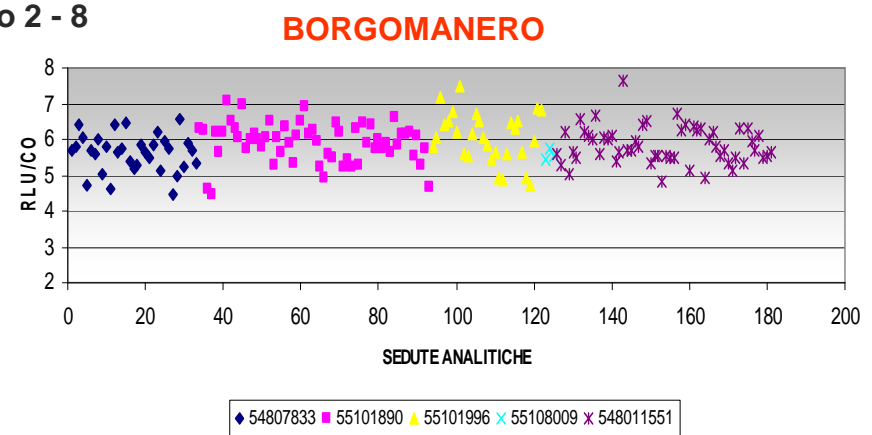
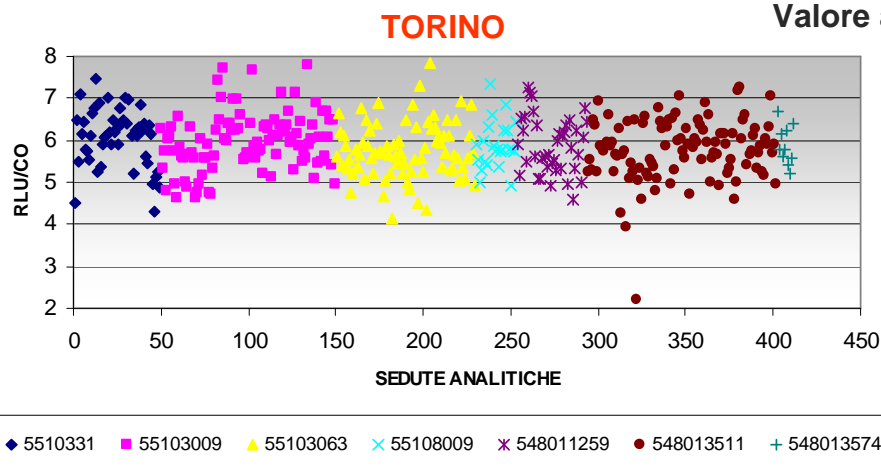
**Valori nel range definito dal produttore**

# 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)



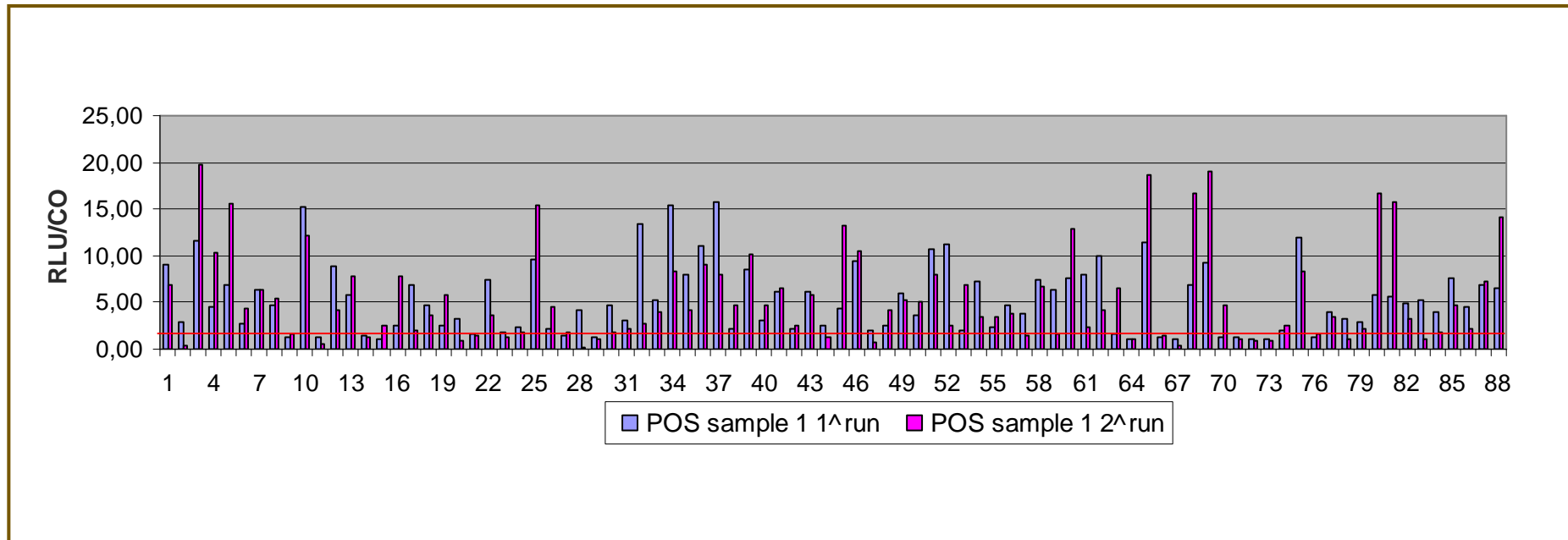
**Valori nel range definito dal produttore**

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

## RIPETIZIONE CAMPIONE POSITIVO

PreservCyt

RLU/CO: 1 - 10

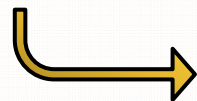


# CONTROLLO DI QUALITA' INTER-LABORATORIO

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

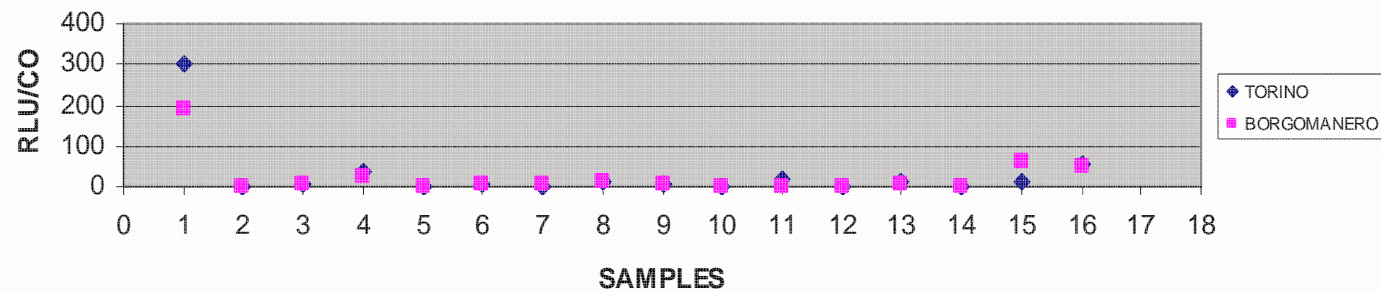
➡ registrazione dei risultati dei centri,

➡ condivisione periodica dei risultati

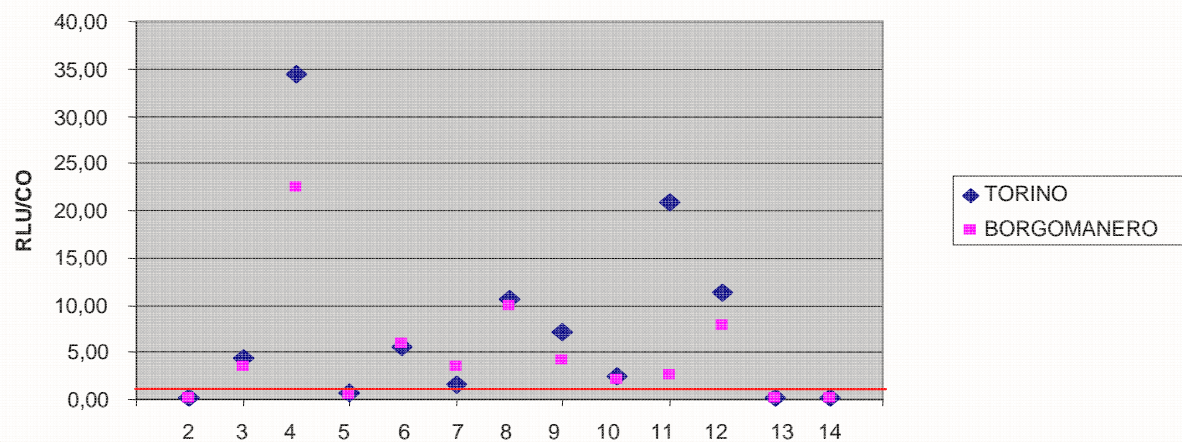


# CONTROLLO DI QUALITA' INTER-LABORATORIO

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
<b>Sum Qualitative Panel Score</b>					<b>1</b>

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.

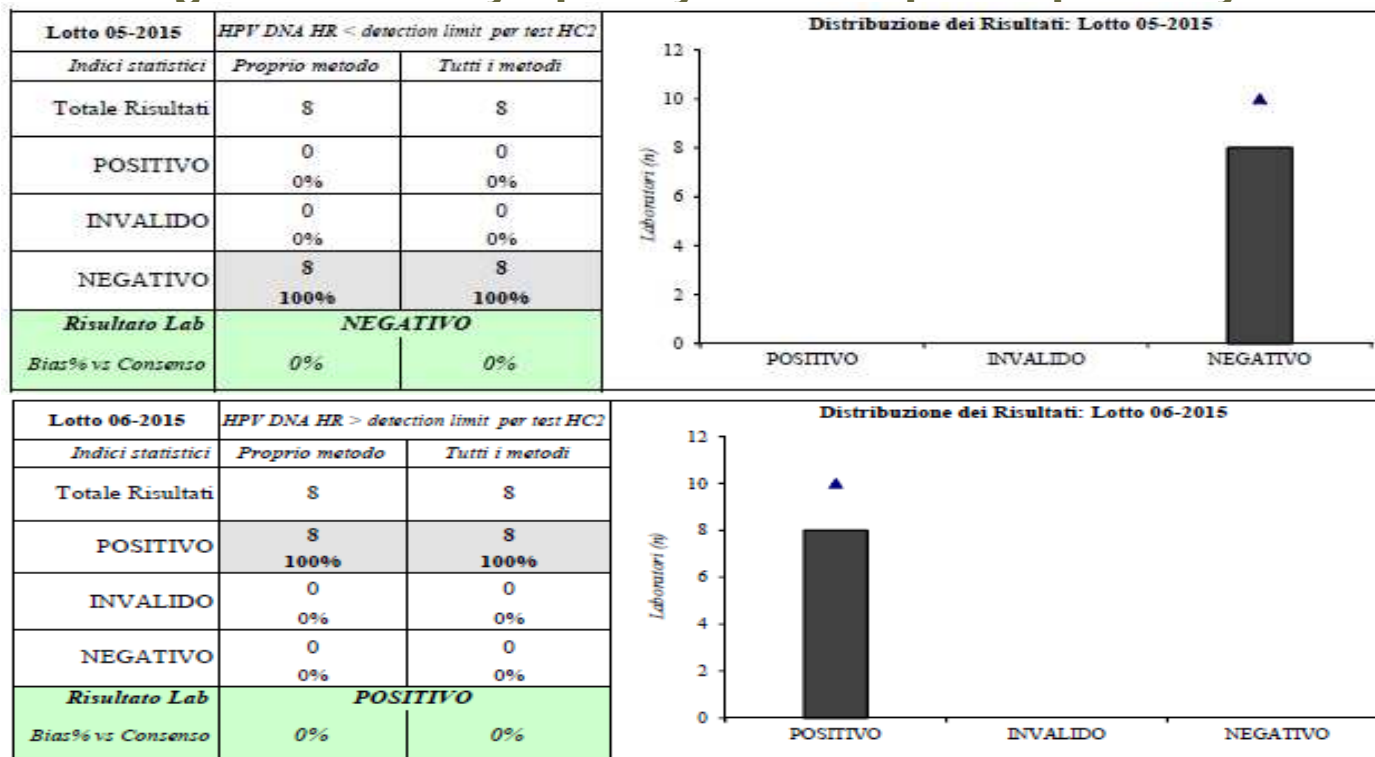
\*Quality Control for Molecular Diagnostics (Scotland, UK)

# 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

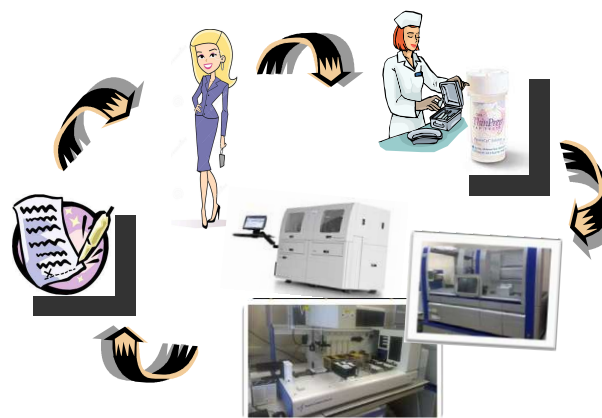
I CQ rilevano un'ottima **RIPRODUCIBILITÀ** e **ACCURATEZZA** dei risultati ottenuti nei due laboratori

## 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**