

HPV TEST: RAPPORTI FRA LABORATORIO E PROGRAMMA DI SCREENING



VITTORIO SAMBRI

U.O. MICROBIOLOGIA - CENTRO SERVIZI AUSL DELLA ROMAGNA

DIMES – Università di Bologna



U.O. MICROBIOLOGIA
Pievevestina



**SERVIZIO SANITARIO REGIONALE
EMILIA-ROMAGNA**
Azienda Unità Sanitaria Locale della Romagna



HPV-DNA COME SCREENING PRIMARIO



PROTOCOLLO DIAGNOSTICO TERAPEUTICO
DELLO SCREENING PER LA PREVENZIONE
DEI TUMORI DEL COLLO DELL'UTERO
NELLA REGIONE EMILIA-ROMAGNA

V edizione – Anno 2014

L'effettuazione del test HPV nell'ambito del programma di screening della Regione Emilia-Romagna sarà centralizzata in tre laboratori, uno per ogni Area Vasta (AVEN, AVEC e Romagna).

■ AREA VASTA EMILIA NORD:

U.O. Anatomia Patologica
Centro di Citologia Cervico Vaginale di Screening
Reggio Emilia

■ AREA VASTA EMILIA CENTRALE:

U.O. Anatomia Patologica
Arcispedale S.Anna - Ferrara

■ AUSL ROMAGNA:

U.O. Microbiologia
Laboratorio Unico - Pievesestina



HPV TEST IN EMILIA ROMAGNA

Anno	AVEN	AVEC	Romagna	RER
2015	7.208			7.208
2016	39.291	20.068	20.222	79.581
2017	76.590	37.880	40.608	155.078
2018	96.288	48.830	48.806	193.924

Dati AVEN: Teresa Rubino

Dati AVEC: Carolina Buriani

HPV TEST IN EMILIA ROMAGNA

cobas[®] 4800 HPV test

- Test **QUALITATIVO** per la rilevazione in vitro di **HPV-DNA** mediante **PCR real-time**.
- Identifica in modo specifico i tipi **HPV16** e **HPV18** e contestualmente **altri HPV-HR (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52,56, 58, 59, 66 e 68)**.
- Convalida **CE IVD** per la determinazione di **livelli di infezione clinicamente rilevanti** per la definizione di **rischio oncogeno** in campioni **cervicali in fase liquida**.

PREANALITICA: P 480

- Stappatura*
- Miscelazione
- Ritappatura

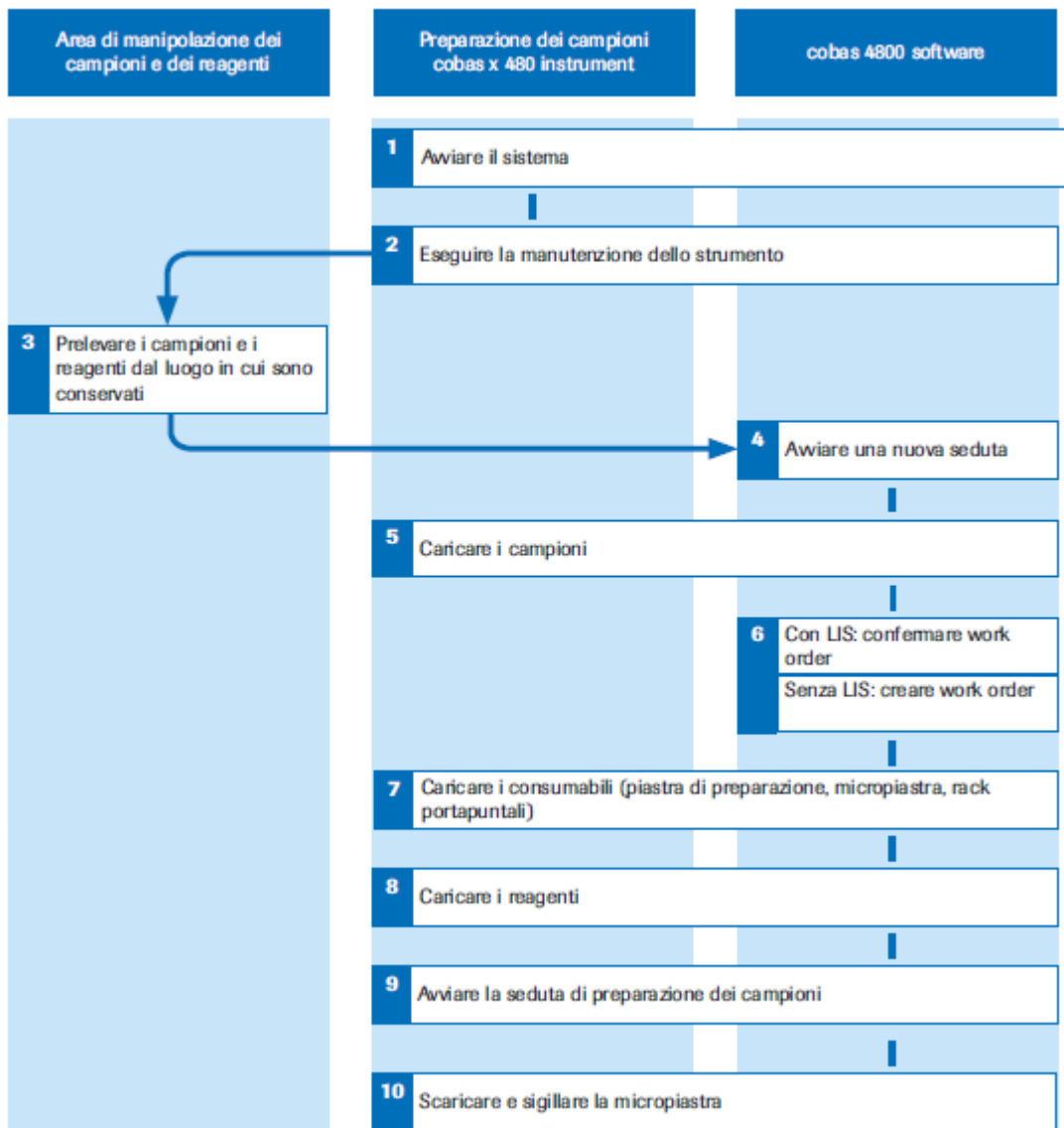


* Circa *40 minuti* per *94 campioni*

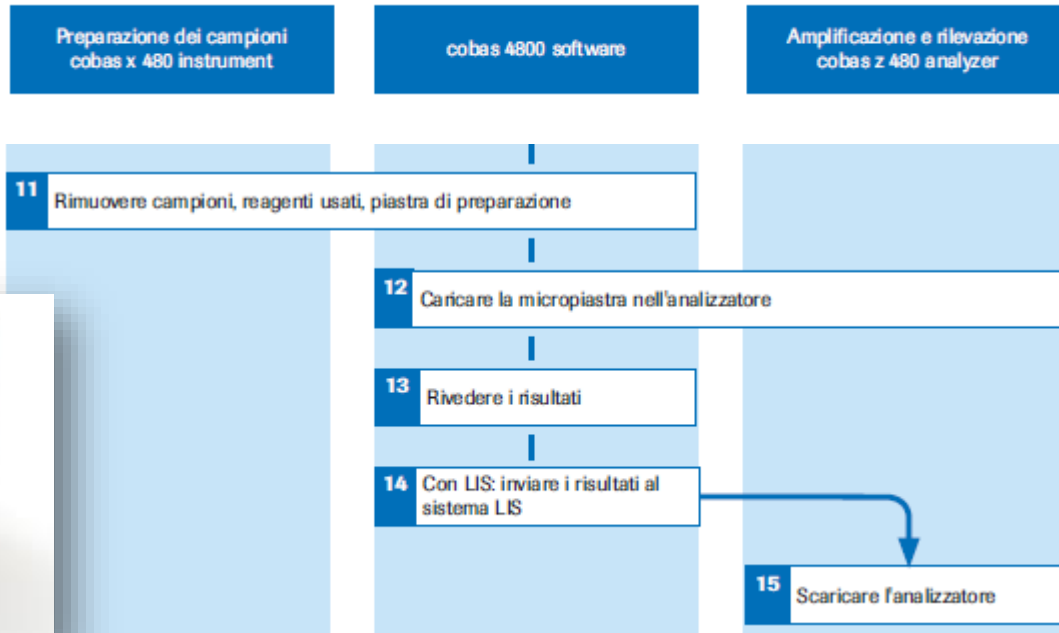
x 480



Lo strumento è destinato alla preparazione dei campioni. Sullo strumento vengono caricati i campioni, i consumabili e i reagenti. Al termine della preparazione dei campioni, la micropiastra contenente i campioni pronti per la PCR viene scaricata dallo strumento, sigillata con una pellicola adesiva e trasferita sull'analizzatore, dove i campioni vengono sottoposti ad amplificazione e rilevazione mediante Real-time PCR.



z 480

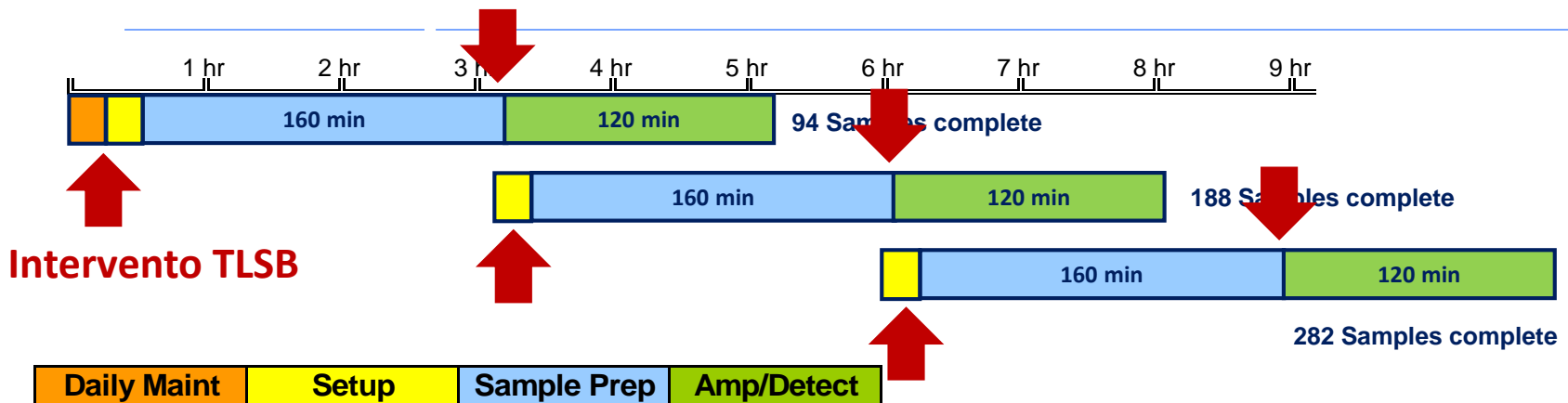


L'analizzatore cattura il segnale di fluorescenza rilevando gli acidi nucleici amplificati con la tecnica Real-time PCR.

L'operatore interviene soltanto per applicare la pellicola adesiva, caricare e scaricare la micropiastra.

Daily Maintenance	Daily Maintenance takes app. 10-20 minutes to complete
Instrument Set Up	Up to 30 minutes to load samples, reagents and consumables for up to 96 samples/controls
Sample Preparation & PCR Set Up	~ 160 minutes for 96 samples
Real-Time Amplification & Detection	120 minutes
Result Reporting	Results are shown and can be printed out

WORKFLOW STRUMENTALE



ORGANIZZAZIONE ATTIVITÀ HPV

	N° sedute/giorno	TLSB	Dirigenti
AVEN	4,5	3 +1 part-time Sedute HPV + accettazione dei campioni, allestimento e colorazione pap.	HPV e Pap test: Biologi dell'U.O.
AVEC	3	5 Sedute HPV (1 TLSB) + citodiagnostica (screening, citologia vaginale ed extravaginale)	HPV e Pap test: Biologi dell'U.O. + 1 citotecnico
Romagna	3	1 (+ ½ ?) Sedute HPV + citologia fase liquida	HPV: Biologi dell'U.O. Microbiologia Pap test: Biologi delle Anatomie Patologiche 4 ambiti

VEQ E CQI

A. Programmi VEQ

- UK NEQAS
- INSTAND
- ISPRO (Istituto per lo Studio, la Prevenzione e la rete Oncologica)

B. CQI

- Accurun Seracare

ACCURUN

ACCURUN 372 Series 600 is formulated for use with laboratory tests that detect Human Papillomavirus (HPV) DNA in human cervical samples. ACCURUN 372 Series 600 is manufactured from cultured human epithelial cells (SiHa) containing an integrated genome of HPV type 16. SiHa cells are mixed with non-infected cultured human cells and suspended in solution. Vial of diluent also supplied.

- ➔ Inserito in OGNI seduta analitica, in posizione variabile
- ➔ Gestione statistica tramite software InterQC (da luglio 2018)

interQC

LOGIN

Identificatore laboratorio

Username

Password

ENTRA

Home | Risultati e lotti | **Statistiche e grafici** | Reports | Note | QC Director | Errori acquisizione | Configurazione

Mostra tutti i record ⚠ Lab./Rep./Strum. 2545-Laboratorio Unico / HPV AVR

Dal 11/02/2019 00:00:00 Controllo/livello/lotto vial ACC378-Accurun 378 Serie 5000

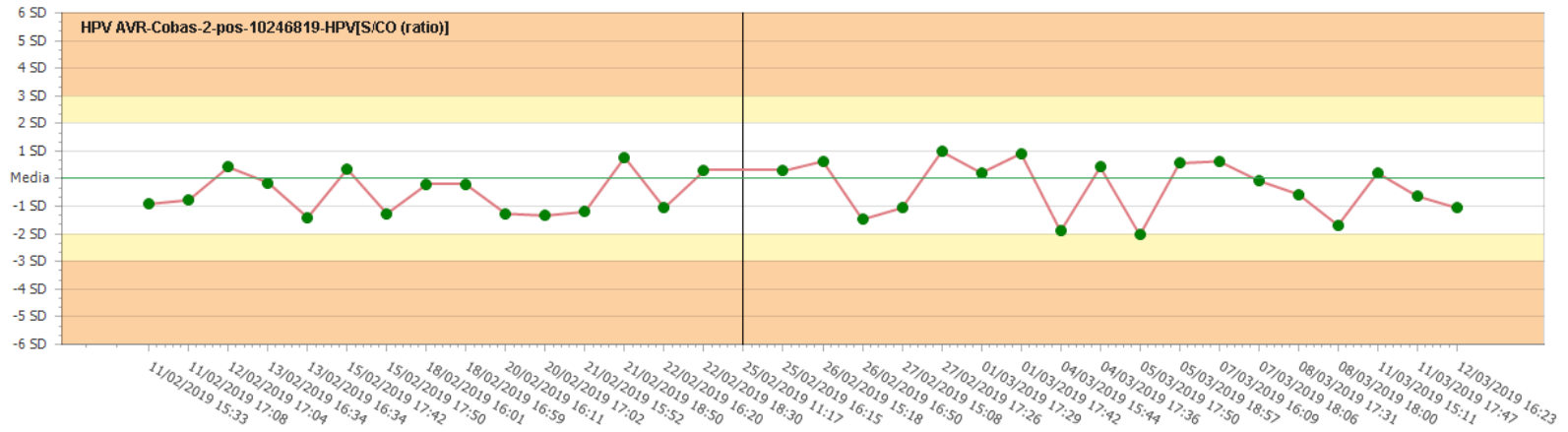
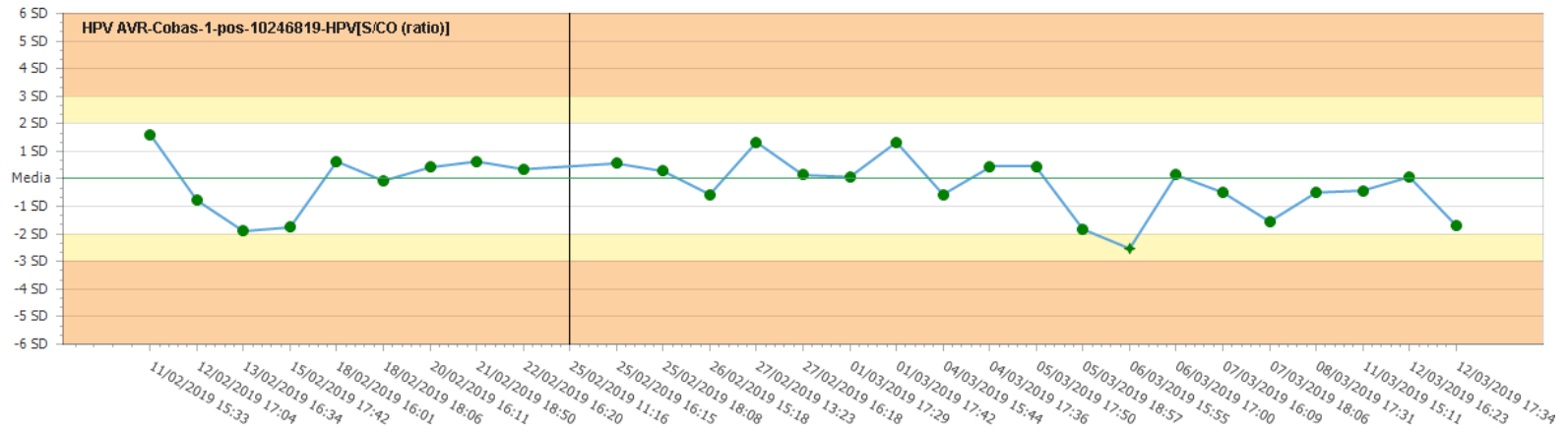
Al 13/03/2019 23:59:59 Analita HPV-HPV DNA [s/co]

GRAFICI | **Levey-Jennings**

Stato* Accettato, In sospeso, Rifiutato, Escluso | Scala Relativo | Rif. Rif. analisi | Punti di dati

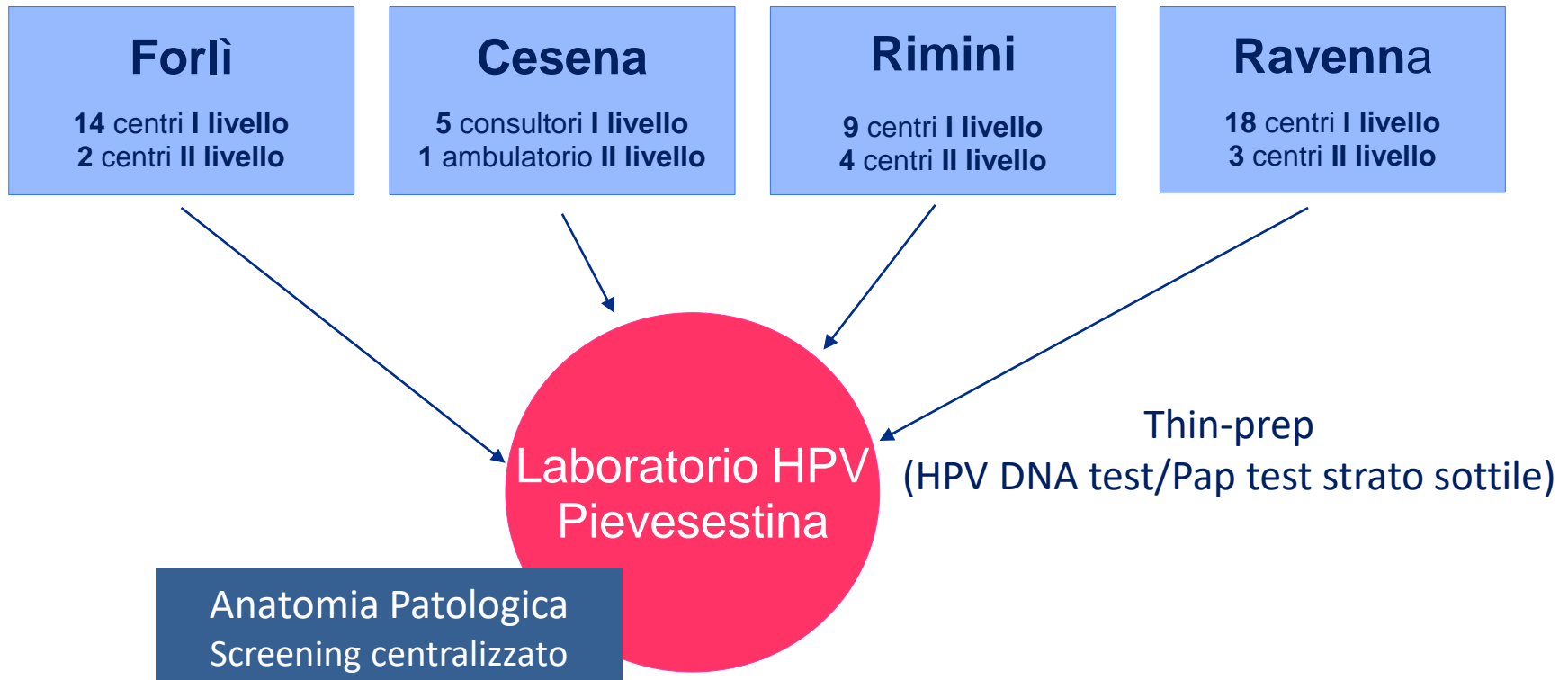
0 50 100

Mostra etichette Mostra Legenda Zoom automatico

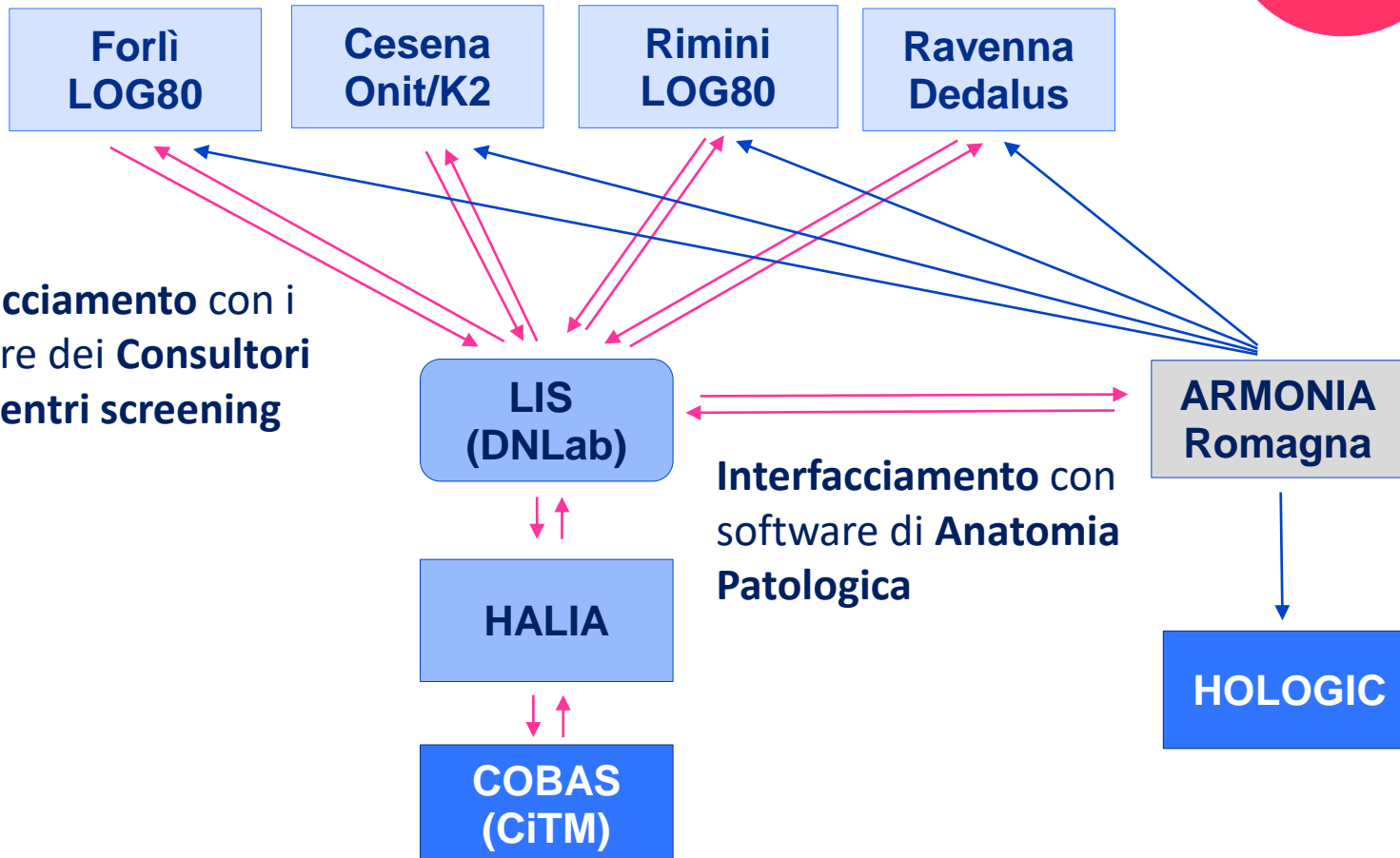


LA CENTRALIZZAZIONE

AUSL Romagna



FLUSSO INFORMATICO



GESTIONE CAMPIONI

Laboratorio HPV
Pievesestina

- Arrivo dei campioni al Front-End del Laboratorio Unico Ausl Romagna
- Trasporto campioni dal Front-End al Laboratorio HPV
- Sample-Seen su LIS del Laboratorio
- Check-in al momento della seduta

	gg PRELIEVO e SAMPLE-SEEN	gg SAMPLE- SEEN e CHECK-IN	gg CHECK-IN e VALIDAZIONE
Minimo	0	0	0
Massimo	15	10	5
Media	5	2	0

➔ Invio giornaliero di una mail ad una mailing list di referenti dei centri di screening e di prevenzione per segnalazioni e richieste di informazioni relative ai campioni

AUDIT

■ AVEN:

Audit periodici con i centri screening 1/2 volte l'anno. Da gennaio 2019 viene fornito mensilmente al centro screening un report con tutta l'attività svolta (tempistica di arrivo campioni e refertazione) suddivisa per provincia ed un elenco delle non conformità.

■ AVEC:

A Ferrara è attivo un Gruppo Tecnico multidisciplinare del programma di Screening (che si incontra ogni sei mesi), creato per supportare l'analisi della qualità del Programma e proporre le possibili soluzioni per eventuali criticità di percorso, oltre che per l'adeguato soddisfacimento dei requisiti indicati dai documenti regionali di accreditamento degli Screening.

■ AUSL Romagna:

Audit periodici (3/anno) del gruppo di lavoro screening cervicale (1° e 2° livello) per presentazione dei dati di attività di citologia e HPV test, principali questioni organizzative, discussione di casi clinici.

Commercially available molecular tests for human papillomaviruses (HPV): 2015 update

Mario Poljak*, Boštjan J. Kocjan, Anja Oštrbenk, Katja Seme

Journal of Clinical Virology 76 (2016) S3–S13

With such an exceptionally high number of commercial HPV tests on the market, alpha-HPVs are currently still among most attractive microbial targets for molecular diagnostic companies.

Unfortunately, today's HPV test global market is one of the most confusing and least regulated, and with most divergent diagnostic products on the market, sometimes colloquially described as the "Wild West."



In addition, we can predict with high certainty that the number and diversity of commercial HPV tests will continue to increase over the next 5 years due to the promising marketing opportunities for manufacturers around the world.



110/193 (57.0%) of HPV tests on the market in 2015 had at least one publication in peer-reviewed literature as of August 31, 2015. However, only 69/193 (35.7%) of HPV tests on the market in 2015 had a documented performance evaluation (analytical and/or clinical) in peer-reviewed literature as of August 31, 2015 in contrast to the remaining 41 HPV tests, for which only descriptive studies can be found in the literature.



TEST HPV VALIDATI PER LO SCREENING DEL CARCINOMA DELLA CERVICE UTERINA

- Documento di presentazione

- attività e modalità di lavoro

- Rapporto di aggiornamento N. 4

17 gennaio 2019

Tabella 1 del Rapporto N. 4 - Test HPV clinic

TEST VALIDATO (NOME ABBREVIATO)	PRODUTTORE	METODOLOGIA
Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA test (HC2)	Qiagen, USA	Ibridizzazione con amplificazione del segnale
GP5+/6+ PCR-EIA (GP5+/6+ EIA)	Diassay, Olanda	PCR
RealTime High Risk HPV test (Abbott RT hrHPV test)	Abbott, Germania	Real-time PCR
Cobas 4800 HPV test (Cobas 4800)	Roche, USA	Real-time PCR
PapilloCheck HPV-screening test (PapilloCheck)	Greiner Bio-One, Germania	Tecnologia PCR - chip
Cervista HPV HR test (Cervista)	Hologic, USA	Tecnologia invader
BD Onclarity HPV assay (BD Onclarity)	BD Diagnostics, USA	Real-time PCR
HPV-Risk assay (HPV-Risk assay)	Self-Screen, Olanda	Real-time PCR
Anyplex II HPV HR Detection (Anyplex II)	Seegene, Korea	Real-time PCR
Xpert HPV assay (Xpert)	Cepheid, USA	Cartridge-based real-time PCR assay
RealQuality RQ-HPV	AB Analitica, Italia	Real-time PCR
EUROArray HPV	EUROIMMUN, Germania	PCR - probe-based microarray detection

APTIMA HPV ASSAY

- Test **QUALITATIVO** per la rilevazione in vitro di **HPV-mRNA** mediante amplificazione mediata da trascrizione (Transcription-Mediated Amplification, TMA).
- Target: RNA messaggero (mRNA) virale **E6/E7**
- Ricerca, ma non differenzia **14 tipi** di **HPV-HR: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68.**
- Uso previsto: **test primario** per lo screening, **co-testing, triage** pap-test ASCUS.

PREANALITICA: TOMCAT

- Trasferimento automatizzato del campione dal contenitore ThinPrep ad una **provetta secondaria barcodata con tappo perforabile**
- **Caricamento continuo** dei campioni

- Barcode validation
- Vortexing
- De-capping
- Aliquoting
- Capping
- Reagent addition (when desired)
- Incubation (when desired)
- Racking of completed samples for molecular testing



Turnaround Time

As fast as 90 sec/sample

Throughput

Processes as many as 300 samples within an 8-hour shift

Sample and Waste Capacity

64 input samples 8 racks of 8 samples

120 output samples 8 racks of 15 samples

192 samples processed before unloading waste

Manutenzione e allestimento dello strumento :**10 minuti**

ANALITICA: PANTHER

➔ Tutte le fasi analitiche (estrazione, amplificazione e rilevazione) su un unico strumento.

Campioni:

- Caricamento a bordo fino a 120 campioni contemporaneamente
- Dopo 2 ore è possibile caricare altri 120 campioni

Risultati:

- Primi risultati dopo 3,5 h
- A seguire 1 risultato/minuto



Reagenti:

- Fino a 4 kit a bordo da 100 o 250 (Max 1000 test)
- Kit stabili a bordo fino a 72h

Consumabili:

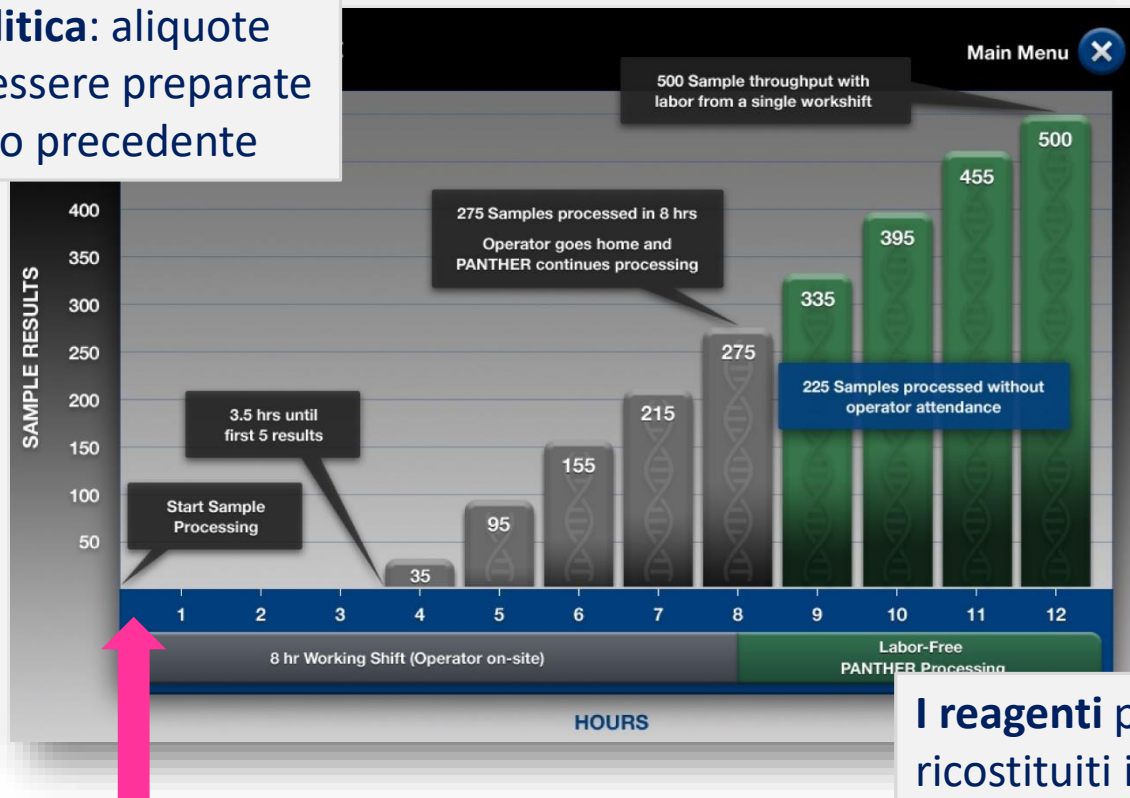
- Puntali e provette di reazione caricabili in continuo

Fluidi (estrazione):

- Autonomia fino a 2000 reazioni

ANALITICA: PANTHER

Preanalitica: aliquote possono essere preparate il giorno precedente



Con una buona organizzazione di manutenzioni e caricamento reattivi e consumabili, l'operatore non deve intervenire durante la sessione analitica, se non per caricare nuovi campioni

I reagenti possono essere ricostituiti il giorno precedente

Preparazione strumento, caricamento reattivi, caricamento primi 120 campioni: **10 minuti**

Barbara Ceccarelli

Rosario Romano

Vilma Sternini

Carmen Vulcano

Giorgia Scatasta

Patrizia Farabegoli

Simona Semprini

Sperimentazione Hologic: Elena Montanari

Dati statistici AUSL Romagna: Michela Fantini

