

*I CONTROLLI DI QUALITA' NELLO SCREENING: CITOLOGIA E HPV
WEBINAR Gruppo 1° livello GISCI - 15 giugno 2023*

**Il controllo di qualità, perché utilizzarlo
e quali caratteristiche deve avere**

**Il punto di vista del
laboratorio HPV**

Annarosa Del Mistro

Immunologia e Diagnostica Molecolare Oncologica

Istituto Oncologico Veneto IOV - IRCCS, Padova



Il sottoscritto Annarosa Del Mistro

ai sensi dell'art. 3.3 sul Conflitto di Interessi, pag. 17 del Reg. Applicativo dell'Accordo Stato-Regione del 5 novembre 2009,

dichiara

che negli ultimi due anni NON ha avuto rapporti diretti di finanziamento con soggetti portatori di interessi commerciali in campo sanitario

La ricerca di sequenze HPV di tipi ad alto rischio come test primario dello screening:

- deve essere effettuata in **laboratori di strutture accreditate del SSN**
- **in modo centralizzato**, per garantire un ottimale utilizzo delle risorse e un'elevata qualità
- **in modo automatizzato** (piattaforme dedicate)
- devono essere utilizzati **test HPV clinicamente validati**

→ Risultato qualitativo = presenza / assenza di sequenze DNA o RNA di tipi HPV ad alto rischio, come pool

Test HPV come test primario di screening >30 anni

1. HPV neg

→ donne a rischio di patologia bassissimo

→ nuovo round a 5 anni

2. HPV pos / cito neg

→ donne a rischio di patologia intermedio

→ ripetizione test HPV a 1 anno

3. HPV pos / cito pos

→ donne a rischio di patologia elevato

→ invio a colposcopia

Compito del laboratorio HPV è effettuare le analisi con qualità tale da:

- garantire una performance ottimale dello screening
- soddisfare gli standard del percorso di screening
- soddisfare gli standard richiesti dagli organismi esterni di accreditamento

Assicurazione di qualità del laboratorio

L'assicurazione di qualità del laboratorio riguarda i processi organizzativi e le condizioni di come le attività del laboratorio sono pianificate, attuate, monitorate, registrate e riportate.

Gli obiettivi del sistema di assicurazione/gestione della qualità (SGQ) sono:

- prevenire i rischi
- rilevare le deviazioni
- correggere gli errori
- aumentare l'efficienza
- garantire la qualità e l'integrità dei dati

E' responsabilità del responsabile del laboratorio stabilire, attuare e garantire il rispetto del sistema di qualità.

Requisiti dei laboratori

- La procedura di esecuzione del test deve essere inserita nei **protocolli di qualità del laboratorio** (es. UNI EN ISO 9001:2015: organizzazione, manutenzione periodica della strumentazione, controllo dei reagenti) e descritta in una specifica istruzione operativa
- Il **personale che esegue il test deve essere opportunamente formato** sia sugli aspetti specifici di laboratorio che sui protocolli di screening (formazione continua)
- I **parametri di qualità** del test HPV devono essere **identificati e indicati nei protocolli**
- Deve essere garantita la **completa tracciabilità del processo** in tutte le fasi
- La **documentazione deve essere conservata** secondo quanto previsto nei protocolli

Strumenti e documenti

Indicatori per il monitoraggio dei programmi di screening con test HPV primario

A cura del Gruppo di lavoro sugli Indicatori dello screening con test HPV primario

Raccomandazioni Europee

International

- Regulatory Approval (CE/FDA)
- Peer reviewed trial data
- Assay performance characteristics benchmarked against international consensus

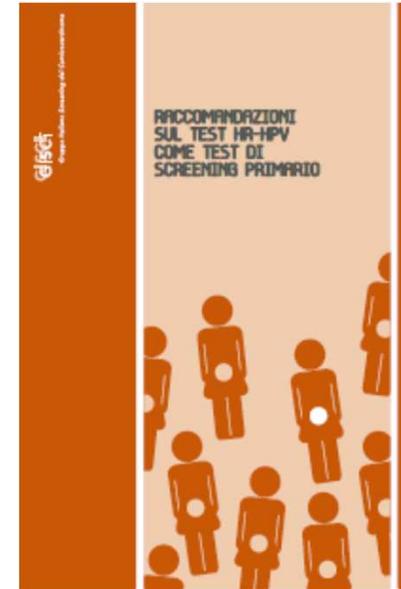
National

- Define assay/platform performance requirements
- Field based quality Assessment Programmes

Local

- Internal validation
- Annual verification
- Longitudinal quality monitoring (IQA, IQC, EQA)
- Commitment to accreditation

Sistema Gestione Qualità (ISO) per la gestione dei processi organizzativi e la tenuta sotto controllo delle attività del laboratorio



Raccomandazioni sul test HR-HPV come test di screening primario

Indice

1. Il programma di screening con test HPV e citologia di triage

2. Obiettivi del documento

3. Gestione dei campioni

3.1 Il prelievo nello screening con HPV primario

3.2 Identificazione dei campioni e tracciabilità

4. Il test molecolare HPV DNA nello screening

5. Centralizzazione delle analisi di primo livello (test HPV e citologia di triage)

5.1 Carichi di lavoro

5.2 L'organizzazione del laboratorio HPV

5.3 Movimentazione dei campioni HPV-positivi per la citologia di triage

5.4 Archiviazione e smaltimento dei campioni dopo l'esecuzione del test HPV

6. Formazione del personale

7. Procedure di controllo di qualità per i test molecolari

7.1 Controllo di qualità interno (CQI)

7.2 Caratteristiche dei programmi di valutazione esterna di qualità (VEQ) per test HPV di screening

8. Indicazioni per la refertazione del test HPV e della lettera di risposta alla donna

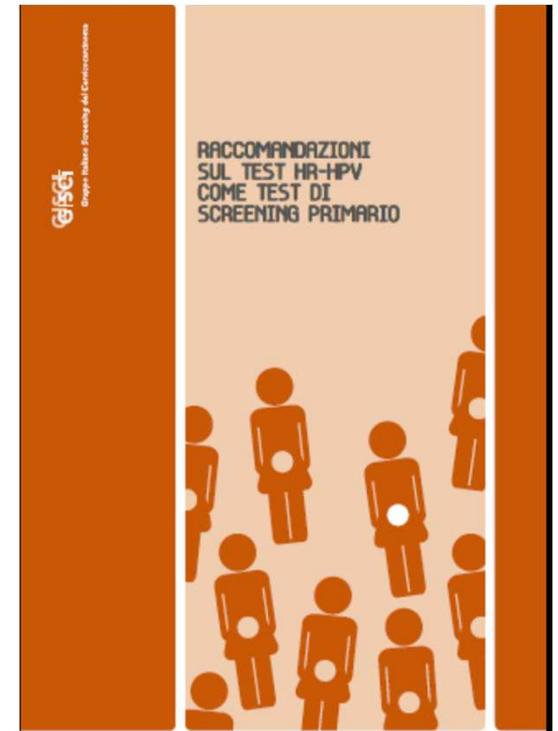
9. Indicatori prestazionali

9.1 Indicatori del processo pre-analitico, analitico e post-analitico

9.2 Verifica delle prestazioni del laboratorio mediante i cicli della VEQ e i controlli interni

9.3 Controllo periodico degli indicatori epidemiologici

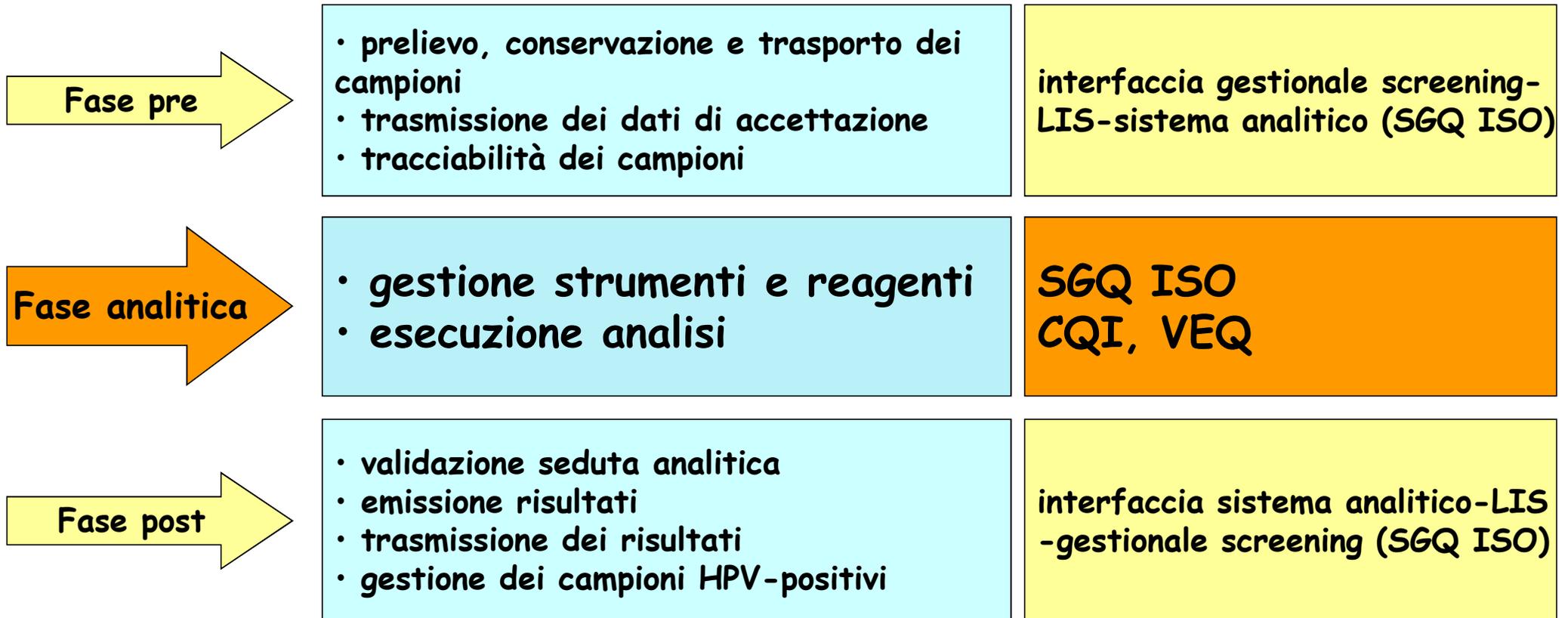
10 BIBLIOGRAFIA



Documento
approvato
al convegno
GISCi 2017

www.gisci.it

Cosa serve controllare



SGQ ISO

UOC IMMUNOLOGIA E DIAGNOSTICA MOLECOLARE ONCOLOGICA - IDMO		
ISTRUZIONE OPERATIVA		
RICERCA SEQUENZE HPV: TEST PRIMARIO NELLO SCREENING		
	pag. 1	di 9
Codice	I_IDM_IO12	
Revisione	07	
Data approvazione	16/05/2023	
Data entrata in vigore	22/05/2023	
Distribuzione	UOC Immunologia e Diagnostica Molecolare Oncologica, IDMO Segreterie screening quando richiesto per accreditamento	
Responsabile di processo	Responsabile laboratorio HPV	
Parole chiave	Screening, cervice, cervico-vaginali, test, HPV, software, accettazione, refertazione, qualità, NC, conformità	
Requisiti/Standard	OECI	ISO
	43	8.5.1 – 8.5.2

Test HPV di screening:

Registro informatico Non Conformità secondarie, con valutazione periodica

Legenda

Etichetta 1: barcode decentrato

Scambio: provetta mancante dal foglio di lavoro e provetta arrivata ma non presente sul foglio di lavoro

x480: pozzetto non piastrato

Codice regionale: non corrispondenza tra codice provetta e codice accettazione

Mancata accettazione: provetta presente, nominativo nel foglio di lavoro, manca solo accettazione in armonia

Etichetta 2: etichetta sbiadita

Etichetta 3: etichetta attaccata male

- File excel: una colonna / evento
- Registrazione della data in cui si verifica
- Valutazione periodica (analisi frequenza e tempistica di risoluzione)
- Apertura NC «formale» per eventi che si verificano con frequenza prestabilita come critica o non risolvibili nei tempi previsti

CQI, VEQ

Controlli di qualità

L'assicurazione di qualità analitica si basa su due sistemi:

- IL CONTROLLO DI QUALITA' INTERNO - CQI
- IL CONTROLLO DI QUALITA' ESTERNO - VEQ

I due sistemi non sono alternativi, ma INTEGRATIVI:

- Il CQI determina la validità dei risultati della seduta analitica e fornisce un controllo immediato
- La VEQ consente un confronto di qualità tra i laboratori da parte di un ente terzo

Controllo di qualità interno - CQI

Il CQI permette:

1. il controllo delle prestazioni analitiche di un metodo/sistema, in modo tale da **fornire allarmi** nel caso in cui quest'ultimo non stia più lavorando entro i limiti di errore (= differenza fra misurazione e valore vero) predefiniti
2. l'attivazione di azioni correttive, di entità commisurata all'anomalia rilevata, secondo protocolli predefiniti
3. la verifica della stabilità del metodo/sistema analitico a medio-lungo termine

Il CQI viene realizzato mediante **l'inclusione di materiali di controllo nella sequenza analitica** (analisi in multiplo di un campione già esaminato, o di un campione di parte terza).

Un materiale di controllo **deve essere inserito almeno una volta in ciascuna serie di analisi** e il valore ottenuto deve essere riportato su un diagramma di controllo (grafici tempo vs risultato), allo scopo di misurare gli errori a lungo termine.

CQI

Un **errore sistematico** si ha quando gli scostamenti della media dei controlli di qualità interni sono:

- graduali (trend) o
- bruschi.

Un **errore casuale** si ha quando le singole misure differiscono senza nessuna regola apparente al succedersi delle misure stesse.

Per evidenziare errori sistematici e casuali uno strumento utile è rappresentato dalla **deviazione standard rispetto alla media** ($\pm 1DS$, $\pm 2DS$ e $\pm 3DS$):

- i valori compresi tra 2 e 3 volte la deviazione standard devono coprire almeno il 95% del limite di confidenza \rightarrow almeno il 95% dei valori campionati devono cadere entro questa soglia
- circa il 99,7% dei valori dovrebbe comunque sottostare entro il limite di 3 volte il valore di deviazione standard
- i dati devono essere valutati in tempo reale e regolarmente registrati (grafico di Levey e Jennings)

Verifica esterna di qualità - VEQ

Valutazione delle performance di parte terza:

- **Importante per il monitoraggio della qualità del laboratorio e dei singoli operatori**
- **Identificazione dei problemi metodologici**
- **Comparabilità dei risultati (stessa metodologia in laboratori diversi, metodologie diverse)**
- **Diverse modalità: proficiency testing; re-testing di campioni ricevuti da un laboratorio referente; scambio di campioni fra laboratori**

VEQ

VEQ per test DNA-HPV

Una VEQ per la valutazione di test per la ricerca di hrHPV pone alcune problematiche specifiche legate a:

- Natura del campione (tipo e mezzo di raccolta/trasporto)
- Molteplicità di metodi in uso
- Necessità di controllare l'intero processo dell'analisi
- Specifico uso clinico (sensibilità/specificità clinica) (VEQ dedicata)
- Risultati qualitativi
- Modalità di analisi dei risultati e della relativa reportistica

VEQ

Table 1
HPV EQA, examples of available programs.

EQA program	Peculiarities	Advantages	Disadvantages
UK NEQAS	<ul style="list-style-type: none"> - Pooled material of clinical origin, in ThinPrep medium - 4 specimens, 3 times a year - HR HPV types - Scores on qualitative performance 	<ul style="list-style-type: none"> - Samples representative of clinical specimens - Evaluation of all processing steps - Periodic evaluation 	<ul style="list-style-type: none"> - No choice of medium - Results not elaborated taking into account semi-quantitative data
QCMD	<ul style="list-style-type: none"> - Cell line material and clinical samples - 8-10 specimens, in ThinPrep - HR types - Two kinds of samples: core and educational 	<ul style="list-style-type: none"> - Samples representative of clinical specimens - Evaluation of all processing steps - Clinical evaluation 	<ul style="list-style-type: none"> - Annual panel, only one evaluation/year - No choice of medium - Missed untargeted HPV types scored as error
DicoCare	<ul style="list-style-type: none"> - Score - Lyophilized clinical samples, to be resuspended in the medium in use - 8 specimens, in ThinPrep - 2 x 4 types - HR HPV types 	<ul style="list-style-type: none"> - Samples representative of clinical specimens - Evaluation of all processing steps - Choice of medium - Periodic evaluation 	<ul style="list-style-type: none"> - Medium re-suspension may affect the final results and the comparison between labs
WHO HPV LabNet	<ul style="list-style-type: none"> - 46 specimens - lines-b - HR and LR HPV types 	<ul style="list-style-type: none"> - Samples representative of clinical specimens - Evaluation of all processing steps - Choice of medium - Periodic evaluation 	<ul style="list-style-type: none"> - DNA samples - High resolution evaluation - High - Only one evaluation/year
Instand	<ul style="list-style-type: none"> - 10 specimens in two shipments - Lyophilized clinical samples, to be resuspended in the medium in use - HR and LR HPV types 	<ul style="list-style-type: none"> - Samples representative of clinical specimens - Evaluation of all processing steps - Choice of medium - Periodic evaluation 	<ul style="list-style-type: none"> - Medium not representative of media used - Medium re-suspension may affect the final results and the comparison between labs

→ I programmi di VEQ commerciali attualmente disponibili (anno 2016) non rispondono ancora completamente a questi requisiti.

Carozzi et al, J Clin Virol 2016;76:S22-S28

Dal 2016: programma italiano dedicato allo screening VEQ HPV-HR di screening, effettuato dall'ospedale Careggi in collaborazione con ISPRO (Firenze), implementato negli anni, comprende la valutazione della citologia di triage (e la raccolta dei dati analitici)

Conclusioni

- Lo screening con test HPV primario comprende un percorso complesso che coinvolge numerose figure
- I test HPV utilizzati nello screening sono diversi per metodologia e devono rispondere a definiti criteri di validazione clinica
- La verifica della qualità di tutto il percorso è necessaria per assicurare l'efficienza e l'efficacia del programma di screening
- L'assicurazione di qualità è un processo circolare ed il monitoraggio delle diverse fasi fornisce le indicazioni per il miglioramento
- Le procedure per il controllo della qualità devono essere pianificate e descritte in appositi documenti, le relative attività documentate e condivise con il personale del laboratorio
- La formazione continua degli operatori si avvale sia di eventi specifici per le diverse figure che di momenti di confronto multidisciplinare (es. riunioni annuali di tutti i programmi della regione; convegni e corsi GISCi)



Grazie per l'attenzione

www.gisci.it

annarosa.delmistro@iov.veneto.it

