

RICERCA DI HPV DNA IN CAMPIONI CIN2+: DISPOSITIVI DIAGNOSTICI A CONFRONTO

M. Iacobellis¹, M. Santantonio², G. Notarachille², C. Violante¹, A. Gani², S. Mason², K. Bortolozzo²

¹ UOSVD Citopatologia Screening, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Presidio Ospedaliero Di Venere Via Ospedale Di Venere 1, Bari

² AB ANALITICA srl, Via Svizzera 16, 35127 Padova

INTRODUZIONE

L'identificazione dei genotipi del Papillomavirus umano (HPV) ad alto rischio oncogeno (o high risk, HR) è una delle più importanti indagini di diagnostica molecolare nella routine clinica. Il carcinoma della cervice uterina è infatti attribuibile all'infezione da HPV HR nella quasi totalità dei casi.

In questo studio sono stati confrontati i risultati ottenuti con due diversi metodi molecolari: l'High-Risk Hybrid Capture II (HR-HC2, QIAGEN), basato sull'amplificazione del segnale con sonde a RNA, e il REALQUALITY RQ-HPV HR Multiplex (AB ANALITICA) che utilizza sonde genotipo specifiche nelle regioni virali E6-E, in PCR Real Time.

METODI

HR-HC2 individua il DNA di 13 HPV HR (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68); RQ-HPV HR Multiplex identifica gli stessi genotipi con l'aggiunta di HPV 66 e la possibilità di genotipizzare HPV 16 e 18.

Lo studio è stato condotto su 73 campioni citologici (raccolti in PreservCyt, Hologic) con una classificazione istologica maggiore o uguale a CIN2.

Per l'utilizzo di HR-HC2 è stato eseguito il protocollo di conversione, necessario per l'eliminazione del fissativo, come da indicazione del produttore. Per RQ-HPV HR Multiplex, il DNA è stato estratto a partire da 400 µL di campione, con GENEQUALITY X120 Pathogen kit (AB ANALITICA). Il kit AMPLIQUALITY HPV- TYPE EXPRESS (AB ANALITICA), basato sull'amplificazione e tipizzazione nella regione virale L1, è stato utilizzato sui campioni discordanti.

RISULTATI

La concordanza tra i due diversi metodi di ricerca del DNA di HPV ad alto rischio oncogeno è risultata del 100%. Entrambi i test sono risultati positivi per il 97,2% dei campioni in analisi (71/73) e negativi per il 2,8% (2/73). Il 26% dei campioni in esame era classificato citologicamente come HSIL, il 34% come LSIL e il 37% come ASCUS. Erano inoltre presenti alcuni campioni di carcinoma squamoso e adenocarcinoma.

Dei due campioni risultati negativi ai test molecolari, uno era classificato come CIN2 ed uno come adenocarcinoma. Entrambi i campioni sono stati testati con il kit HPV TYPE EXPRESS, che ha rilevato HPV 73 nel primo ed ha confermato l'assenza di HPV DNA nel campione di adenocarcinoma.

CONCLUSIONI

Lo studio ha rilevato un'ottima concordanza tra i due test in esame. Gli approfondimenti eseguiti con un terzo metodo molecolare, in grado di rilevare un maggior numero di genotipi virali, hanno evidenziato la positività ad HPV 73 nel campione CIN2 risultato negativo. HPV 73 è considerato un possibile agente cancerogeno (gruppo 2B, classificazione IARC) e non è per tale motivo incluso nei test destinati allo screening oncologico.

E' stata inoltre confermata la negatività del campione di adenocarcinoma. Recenti studi condotti negli USA riportano che solo il 25% degli adenocarcinomi è positivo ad HPV HR.