

IDENTIFICAZIONE DI 22 GENOTIPI DI PAPILLOMA VIRUS UMANO (HPV) IN PCR REAL TIME

A. Gani², S. Coassin², G. Costanzi², L. Rosa Gastaldo², G. Giuffrè¹, S. Mason²

¹A.O.U. Policlinico G. Martino, Dipartimento di Patologia Umana, Pad D, Viale Gazzi, 98125 Messina, Italia

²AB ANALITICA srl, Via Svizzera 16, 35127 Padova, Italia

INTRODUZIONE

L'identificazione dei genotipi HPV ad alto rischio oncogeno viene ritenuta una delle più importanti indagini di diagnostica molecolare nella routine clinica. Il virus infatti, oltre ad essere riconosciuto come causa del carcinoma della cervice uterina, è ritenuto responsabile anche di altre neoplasie genitali (vulva, vagina, ano, pene) e neoplasie extra-genitali (tumore testa collo).

In questo studio sono state verificate le prestazioni di un nuovo dispositivo diagnostico in PCR Real time per l'identificazione di tutti i genotipi HPV ad alto rischio oncogeno secondo la classificazione International Agency for Research on Cancer (IARC) e dei 2 principali genotipi HPV a basso rischio oncogeno, mediante l'amplificazione dei geni E6 ed E7 (REALQUALITY RQ-HPV HR/LR Multiplex, AB ANALITICA).

METODI

Il kit REALQUALITY RQ-HPV HR/LR Multiplex rileva, in due reazioni PCR Real time, la presenza di 20 genotipi HPV ad alto rischio oncogeno (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 26, 53, 67, 70, 73, 82) e 2 genotipi HPV a basso rischio oncogeno (HPV 6, 11).

Il lavoro è stato condotto su 540 DNA estratti da tamponi genitali e tamponi buccali precedentemente testati con AMPLIQUALITY HPV-TYPE EXPRESS v 3.0 (AB ANALITICA), basato su tecnologia Reverse Line Blot ed in grado di individuare e genotipizzare 40 diversi tipi di HPV, tra cui i 22 riconosciuti dal saggio in validazione. La specificità analitica del dispositivo è stata valutata su campioni positivi a genotipi HPV diversi da quelli identificati dal dispositivo in esame e campioni positivi ad altri patogeni potenzialmente cross-reattivi. Per valutare la sensibilità analitica del dispositivo è stato inoltre utilizzato il 2013 WHO LabNet Proficiency Panel.

RISULTATI

La sensibilità diagnostica di REALQUALITY RQ-HPV HR/LR Multiplex risulta pari a 99,3% e 97,8% rispettivamente per la reazione 1 e la reazione 2. La specificità diagnostica calcolata è rispettivamente del 98,9% per la reazione 1 e del 99,2% per la reazione 2. Nessun campione positivo ad altri patogeni o ad altri genotipi HPV potenzialmente cross-reattivi risulta positivo al kit.

Il dispositivo è stato inoltre in grado di identificare correttamente tutti i campioni inclusi nel 2013 WHO LabNet Proficiency Panel.

CONCLUSIONI

Il kit REALQUALITY RQ-HPV HR/LR Multiplex possiede sensibilità e specificità idonee al suo utilizzo nella pratica diagnostica per l'identificazione dei principali genotipi HPV riconosciuti come causa di neoplasie genitali ed extra-genitali. E' risultato in grado di identificare efficacemente la presenza di HPV sia in tamponi genitali che in quelli buccali. La scelta dei geni E6-E7 come target per l'identificazione di HPV assicura la massima affidabilità diagnostica, consentendo di escludere eventuali falsi negativi dovuti ad un possibile evento di integrazione virale con perdita di materiale genetico.