

Valutazione economica dell'impatto organizzativo di differenti tecniche di ibridazione in situ per la determinazione dello stato di HER2 nel carcinoma alla mammella

Roberto Ravasio¹, Davide Paolini², Matteo Dionisi², Vincenzo Arena³

¹ Health Publishing & Services Srl, Milano - Italy

² Roche Diagnostics S.p.A., Monza - Italy

³ Fondazione Policlinico Universitario "A. Gemelli", Roma - Italy

Economic evaluation of the organizational impact of adopting different in situ hybridization technologies to assess HER2 gene amplification in breast cancer

Objective: Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) status identification is established by immunohistochemistry and in situ hybridization (ISH). Silver in situ hybridization (SISH) is an alternative technique to the fluorescence in situ hybridization (FISH). The American Society of Clinical Oncology (ASCO) and College of American Pathologists (CAP) 2013 guidelines recommend both methods. The primary aim of this analysis is to evaluate the economical and organizational impact of adopting FISH or SISH methods for HER2 testing.

Methods: We conducted an analysis to evaluate costs, staff times (laboratory working hours) and laboratory-space to process a sample using the manual method (FISH) compared to the automated system (SISH). The analysis was performed from the pathology laboratory perspective. We analysed the complete workflow (laboratory personnel and medical resource used) to perform the two tests (FISH and SISH) during pathology laboratory standard working days. The time required to test one sample was timed for each methodology separately and the pertaining costs were calculated. The working dimension of the two technologies and of the instruments needed was also measured.

Results: The hands-on time for SISH was 80% lower than for FISH and the dedicated space needed to carry out the SISH test was 45% less than FISH. Finally, the costs of laboratory personnel (operator + pathologist) using an automated SISH system were lower than FISH (-58%).

Conclusion: As highlighted by the significant reduction of laboratory staff working hours, medical resources used and pathology laboratory spaces, the use of SISH technique to identify HER2 status is a cost-saving alternative to FISH from the perspective of the pathology laboratory.

Keywords: Cost, FISH, HER2, Hybridization, Pathology laboratory, SISH

Introduzione

Nel carcinoma della mammella il gene HER2 è amplificato nel 25-30% dei casi (1). I tumori con sovraespressione o con una comprovata amplificazione del gene HER2 sono classificati come "HER2 positivi" e da ciò, oltre a implicazioni pro-

gnostiche, conseguono fondamentali indicazioni in merito all'approccio terapeutico.

Attualmente le metodiche approvate per la determinazione dello stato di HER2 sono rappresentate dall'immunohistochimica (IHC) e dall'ibridazione in situ (ISH), quest'ultima nelle varianti fluorescente (FISH) o campo in chiaro (SISH/CISH) (2, 3). Entrambe le metodiche, se effettuate in condizioni standardizzate e validate, sono altamente specifiche e riproducibili.

Le linee guida dell'*American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists* (ASCO/CAP) raccomandano l'impiego combinato di entrambe le metodiche; in particolare, l'IHC viene considerata come test di prima scelta finalizzato alla valutazione iniziale dello status di HER2, mentre le tecniche di ibridazione in situ sono utilizzate per dirimere i casi in cui la precedente determinazione abbia fornito risultati equivoci (IHC 2+) (2). Problematiche di ordine propriamente stru-

Accepted: June 9, 2017

Published online: July 5, 2017

Corresponding author:

Roberto Ravasio
Health Publishing & Services Srl
Piazza Duca d'Aosta 12
20124 Milano, Italy
rravasio@aboutpharma.com

mentale/tecnico e possibili difficoltà nell'interpretazione dei risultati possono dare luogo a situazioni in cui sussiste una discordanza di lettura dello status di HER2 e la letteratura riporta per la metodica FISH valori di discordanza dell'ordine del 20% (4). Tale metodica, pur rappresentando una delle tecniche di riferimento, presenta quindi alcune criticità quali: i) necessità di attrezzature costose, specifiche e dedicate; ii) perizia del lettore; iii) decadimento del fluorocromo nel tempo; iv) perdita di dettagli isto-morfologici dovuta alla lettura in campo scuro.

La SISH (*Silver In Situ Hybridization*) è una metodica di ibridazione in situ in campo chiaro alternativa alla FISH, che prevede l'utilizzo del comune microscopio ottico per la lettura del reperto e può pertanto facilitare la correlazione con gli aspetti morfologici e rendere più agevole il confronto con la colorazione immunoistochimica per HER2.

In letteratura la concordanza tra le metodiche FISH e SISH, valutata utilizzando le linee guida ASCO/CAP, è superiore al 90%, con discrepanze legate essenzialmente all'eterogeneità delle aree tumorali (5).

Obiettivo

La presente valutazione è stata condotta con la finalità di stimare l'impatto economico/organizzativo comparando due differenti tecniche di ibridazione in situ, FISH e SISH, per la determinazione dello stato di HER2 nel carcinoma alla mammella.

Metodi

L'analisi è stata condotta considerando i consumi e i costi generati dall'attività di determinazione dello stato HER2 nel carcinoma mammario presso il Policlinico Universitario A. Gemelli di Roma. In particolare sono stati confrontati tempi, costi e spazi (comprensivi della lettura e refertazione) associati all'esecuzione delle due metodiche di ibridazione in situ, una manuale (IQ-FISH) e una automatizzata (Ventana HER2 Dual ISH).

La valutazione economica è stata condotta secondo la prospettiva del laboratorio di anatomia patologica del Centro Ospedaliero, luogo preposto all'esecuzione di tale attività; al fine di raccogliere i dati utili alla valorizzazione economica, si è proceduto con l'analisi del flusso di lavoro durante giornate lavorative standard. In primo luogo sono stati identificati i processi utili alla lavorazione dei campioni in FISH e in SISH dalla presa in carico della sezione allestita su vetrino sino alla refertazione. Ogni singolo passaggio è stato registrato e cronometrato a fronte dell'effettiva attività eseguita dal personale del laboratorio. In via conservativa è stato considerato un numero complessivo di otto vetrini per batch con entrambe le metodiche.

Oltre all'attività svolta dal tecnico di laboratorio è stata misurata e valutata anche quella impiegata dal patologo per leggere e interpretare i risultati di un batch (otto vetrini) prodotto mediante FISH e SISH. Poiché i tempi di processazione di un batch in FISH o in SISH sono dettati da protocolli standard, si è ritenuto sufficiente misurare i tempi di lavorazione di un solo batch per metodologia. Differentemente, considerando la potenziale variabilità dei tempi di lettura e refertazione dei campioni, si è proceduto con la misurazione dei tempi di lettura e

refertazione di 48 test FISH e 48 test SISH. Il tempo dedicato al processo di ibridazione dal tecnico di laboratorio o all'attività di lettura dal patologo è stato valorizzato considerando per queste due figure professionali i rispettivi costi lordi orari a carico del Centro Ospedaliero, pari a €24,55 per il tecnico e a €54,13 per il patologo. Sono stati poi identificati e valorizzati i materiali non consumabili necessari per processare ogni singolo batch (stufa, bagnetto, microscopio ottico o microscopio a fluorescenza). Tra i materiali non consumabili utilizzati nella metodica SISH non è stato considerato alcun costo per la piattaforma Ventana, in quanto concessa "in service" dall'azienda produttrice alla struttura sanitaria. I materiali consumabili, utilizzati in entrambe le metodiche, non sono stati considerati perché la loro valorizzazione è legata al sistema delle gare locali/regionali che determina prezzi spesso soggetti a un'elevata variabilità e quindi non idonei a rappresentare dei costi standard.

In ultimo, sono stati stimati gli spazi fisici (metri quadrati) occupati nel laboratorio di anatomia patologica dalle attrezzature necessarie per condurre e portare a termine la FISH o la SISH.

Risultati

Complessivamente, indipendentemente dal numero di test eseguiti, nel caso di utilizzo della metodica SISH i processi svolti dall'operatore necessari per eseguire un'attività di ibridazione sono risultati essere 12, mentre il loro numero sale a 36 (+300%) con la metodica FISH (Tab. I).

Dall'analisi dei tempi di lavorazione si evince che la SISH assorbe minore tempo del tecnico per portare a termine i processi pre-ibridazione (28 minuti vs 201 minuti) e post-ibridazione (25 minuti vs 44 minuti), mentre la FISH è caratterizzata dal minor tempo necessario per effettuare l'ibridazione vera e propria/*overnight* (120 minuti vs 780 minuti) (Tab. I).

Mediamente il tempo complessivo necessario per portare a termine un processo di ibridazione mediante FISH è di 364 minuti (circa 6 ore) e di 833 minuti (circa 14 ore) con la SISH (Tab. I). Il tempo dedicato dal tecnico di laboratorio per svolgere le specifiche attività riguardanti i processi pre- e post-ibridazione è risultato cinque volte maggiore per la metodica FISH (88 minuti) rispetto a quella SISH (18 minuti).

Per quanto concerne la refertazione, mediamente servono 32 minuti al patologo per leggere otto vetrini SISH (tempo medio per campione 4', minimo 3' 10", massimo 4' 26"), mentre il tempo dedicato alla lettura dei campioni processati con la metodica FISH sale a 56 minuti (+75%) (tempo medio per campione 7', minimo 5' 25", massimo 8' 31") (Tab. II). Tale differenza di tempo è ascrivibile al fatto che l'operatore deve svolgere l'attività di lettura in una stanza dedicata e, in caso di rilettura, dovrà rivedere il vetrino immunoistochimico (con microscopio ottico) e il vetrino di ibridazione (con microscopio a fluorescenza), lavorando su due vetrini e due microscopi solitamente posizionati in stanze differenti. Quest'ultimo aspetto determina un aumento del tempo medio di rilettura rispetto a quello di sola lettura nella metodica FISH. Tale differenza in termini di tempo dedicato si traduce in un *saving* pari a €49,97 sui costi/operatore. In particolare, si ha una riduzione di €28,63 sui costi del tecnico (€7,31 vs €35,94) e di €21,33 sui costi del patologo/batch (€28,87 vs €50,20) (Tab. III).

La Tabella IV indica il costo medio per batch dei materia-

TABELLA I - Processi e tempi di esecuzione: SISH vs FISH

Batch di ibridazione (8 test)	SISH	FISH	Variatione SISH vs FISH
Numero processi	12	36	-67%
Tempo processi pre-ibridazione, min.	28	201	-86%
Tempo ibridazione/ <i>overnight</i> , min.	780	120	550%
Tempo processi post-ibridazione, min.	25	44	-42%
Tempo totale, min.	833	364	129%
Tempo totale operatore, min.	18	88	-80%

FISH = *Fluorescence In Situ Hybridization*; SISH = *Silver In Situ Hybridization*.

TABELLA II - Tempo di refertazione/batch: SISH vs FISH

Lettura del batch	Tempo patologo (min)
Metodica SISH	
Lettura	32
Totale	32
Metodica FISH	
Preparazione microscopio a fluorescenza	1
Lettura	23
Rilettura	32
Totale	56

FISH = *Fluorescence In Situ Hybridization*; SISH = *Silver In Situ Hybridization*.

TABELLA III - Costo del personale per batch (8 test): SISH vs FISH

	SISH	FISH	Differenza
Tecnico di laboratorio	€7,31	€35,94	-€28,63
Patologo	€28,87	€50,20	-€21,33
Totale	€36,18	€86,14	-€49,97

FISH = *Fluorescence In Situ Hybridization*; SISH = *Silver In Situ Hybridization*.

li non consumabili, pari a €4,99 (per test: €0,62) per la SISH e a €76,78 (per test: €9,60) per la FISH. Tali costi sono stati determinati sulla base del prezzo di acquisto dei materiali non consumabili, del relativo numero di anni di ammortamento e del numero di test che sono mediamente eseguiti in un anno presso il laboratorio oggetto di questo studio (Tab. IV).

Infine, lo spazio occupato nel laboratorio di anatomia patologica dalle attrezzature per eseguire una completa procedura di ibridazione con la metodica SISH è risultato del 45% inferiore a quello dedicato per la FISH (3,99 m² vs 7,29 m²) (Tab. V).

Discussione e conclusioni

Questa analisi è stata finalizzata a valutare l'impatto, espresso in termini economici e organizzativi, derivante dall'utilizzo della FISH o della SISH, due differenti tecniche di ibridazione in situ per la determinazione dello stato di HER2 nel carcinoma della mammella.

Grazie alle informazioni raccolte nel presente studio, è stato dapprima possibile identificare in dettaglio tutte le attività utili all'esecuzione di un'ibridazione con metodica FISH o SISH e successivamente associare a ognuna di esse il tempo dedicato dalle figure professionali (tecnico di laboratorio e patologo), le attrezzature utilizzate e i materiali consumati.

Il tempo dedicato dal tecnico di laboratorio per svolgere il processo di ibridazione con SISH è risultato essere quasi cinque volte inferiore a quello impiegato dalla stessa figura professionale per la FISH (18 minuti vs 88 minuti). Anche il tempo richiesto al patologo per leggere i risultati del processo di ibridazione è risultato sensibilmente inferiore in presenza della metodica SISH (32 minuti vs 56 minuti). Tali dati sono pienamente in linea con quanto indicato in letteratura, dove la metodica FISH è definita come "time-consuming" (6).

Complessivamente, il processo di ibridazione effettuato con tecnica SISH richiede l'esecuzione di 12 passaggi, rispetto ai 36 necessari per portarlo a compimento con metodica FISH. Il tempo complessivo impiegato dalle due metodiche è risultato di 833 minuti per la SISH e di 364 minuti per la FISH. Questo dato, tuttavia, deve tenere in considerazione che, nel caso della SISH, la totalità del tempo richiesto dall'ibridazione riguarda procedure automatizzate, solitamente eseguite *overnight*, non gravando quindi sulle attività di laboratorio.

Dal punto di vista organizzativo è bene evidenziare come la metodica FISH crei il bisogno di accorpate più campioni per essere processati in un unico batch al fine di ammortizzare il lavoro del tecnico di laboratorio, a differenza della SISH, che consente l'esecuzione anche di un solo test, senza necessità di accorpamenti e conseguenti ritardi nella processazione del campione/diagnosi.

Dal punto di vista dei costi, la FISH determina il maggiore costo medio per batch, pari a €162,92 rispetto a €41,17 per la SISH, considerando i costi dei materiali "non consumabili" e dell'operatore (tecnico + patologo). Va rimarcato anche in questa sede che nell'analisi non sono stati considerati i costi

TABELLA IV - Materiali non consumabili utilizzati per l'esecuzione di un batch (8 test) con metodica FISH o SISH

Materiali non consumabili	Attrezzature			Test eseguiti in un anno		
	Quantità	Costo	Ammortamento (anni)	Costo/anno	N./anno	Costo unitario
Metodica SISH						
Stufa	1	€2.290	15	€153	416	€ 0,37
Microscopio ottico	1	€1.600	15	€107	416	€0,26
Totale per test						€0,62
Totale per batch						€4,99
Metodica FISH						
Stufa	1	€2.290	15	€153	416	€0,37
Bagnetto	2	€2.000	15	€267	416	€0,64
HYBrite	1	€5.000	15	€333	416	€0,80
Microscopio ottico	1	€1.600	15	€107	416	€0,26
Microscopio a fluorescenza + PC	1	€47.000	15	€3.133	416	€7,53
Totale per test						€9,60
Totale per batch						€76,78

FISH = Fluorescence In Situ Hybridization; SISH = Silver In Situ Hybridization.

TABELLA V - Spazio dedicato: SISH vs FISH

Descrizione spazi	SISH	FISH	Differenza
Banco per strumentazione dedicata, m ²	1,62	1,44	13%
Stufa, m ²	0,56	0,56	0%
Cappa, m ²	1,08	1,08	0%
Frigo/freezer, m ² *	0,48	0,51	-6%
Camera scura + microscopio, m ²	0,25	3,7	-93%
Totale spazio, m²	3,99	7,29	-45%

FISH = Fluorescence In Situ Hybridization; SISH = Silver In Situ Hybridization.

* Nella metodica FISH viene utilizzato un frigo/freezer (FISH: 85x60), mentre nella SISH viene utilizzato un frigo (SISH: 80x60).

dei materiali "consumabili" poiché soggetti a dinamiche di gara che non consentono di produrre un dato trasferibile a tutte le realtà italiane.

Infine, si è cercato di verificare quanto spazio sia effettivamente occupato nel laboratorio di anatomia patologica dalla strumentazione dedicata allo svolgimento del processo di ibridazione; la metodica SISH occupa circa la metà dello spazio richiesto da quella FISH (3,99 m² vs 7,29 m²), consentendo quindi una migliore gestione degli spazi del laboratorio di anatomia patologica.

In conclusione, alla luce dei risultati della presente valutazione, possiamo affermare che nel processo di identificazione dell'amplificazione del gene HER2, la significativa riduzione del tempo per il personale, delle risorse utilizzate e degli spazi occupati, pone l'uso della SISH come un'alternativa costo-efficiente rispetto alla FISH.

Disclosures

Financial support: This research was made possible by an educational grant from Roche Diagnostics S.p.A.

Conflict of interest: R.R and V.A. declare that they have no conflicts of interest in this research. M.D. and D.P. are full-time employees of Roche Diagnostics S.p.A.

Meeting presentation: Results from this study have been partly presented previously in abstract form at the International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research (ISPOR) 18th Annual European Congress, 7-11 November 2015, Milan, Italy.

Bibliografia

- Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*. 1987;235(4785):182-91.
- Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol*. 2013;31:3997-4013.
- BICE 2014 - Best possible care in breast cancer: le nuove linee guida ASCO CAP. Disponibile a: <https://testbiomolecolari.it/news/bice-best-possible-care-breast-cancer-le-nuove-linee-guida-asco-cap> (ultima consultazione marzo 2017).
- Dowsett M, Hanna WM, Kockx M, et al. Standardization of HER2 testing: results of an international proficiency-testing ring study. *Mod Pathol*. 2007;20(5):584-91.
- Hofmann M, Stoss O, Shi D, et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology*. 2008;52:797-805.
- Lim SJ, Cantillep A, Carpenter PM. Validation and workflow optimization of human epidermal growth factor receptor 2 testing using INFORM HER2 dual-color in situ hybridization. *Hum Pathol*. 2013;44:2590-6.