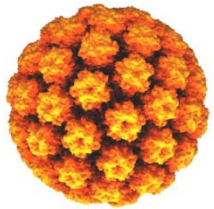
GISCi 2014 – Giornata precongressuale – Workshop ONS
Firenze, 11 giugno 2014

Validazione dei test HPV



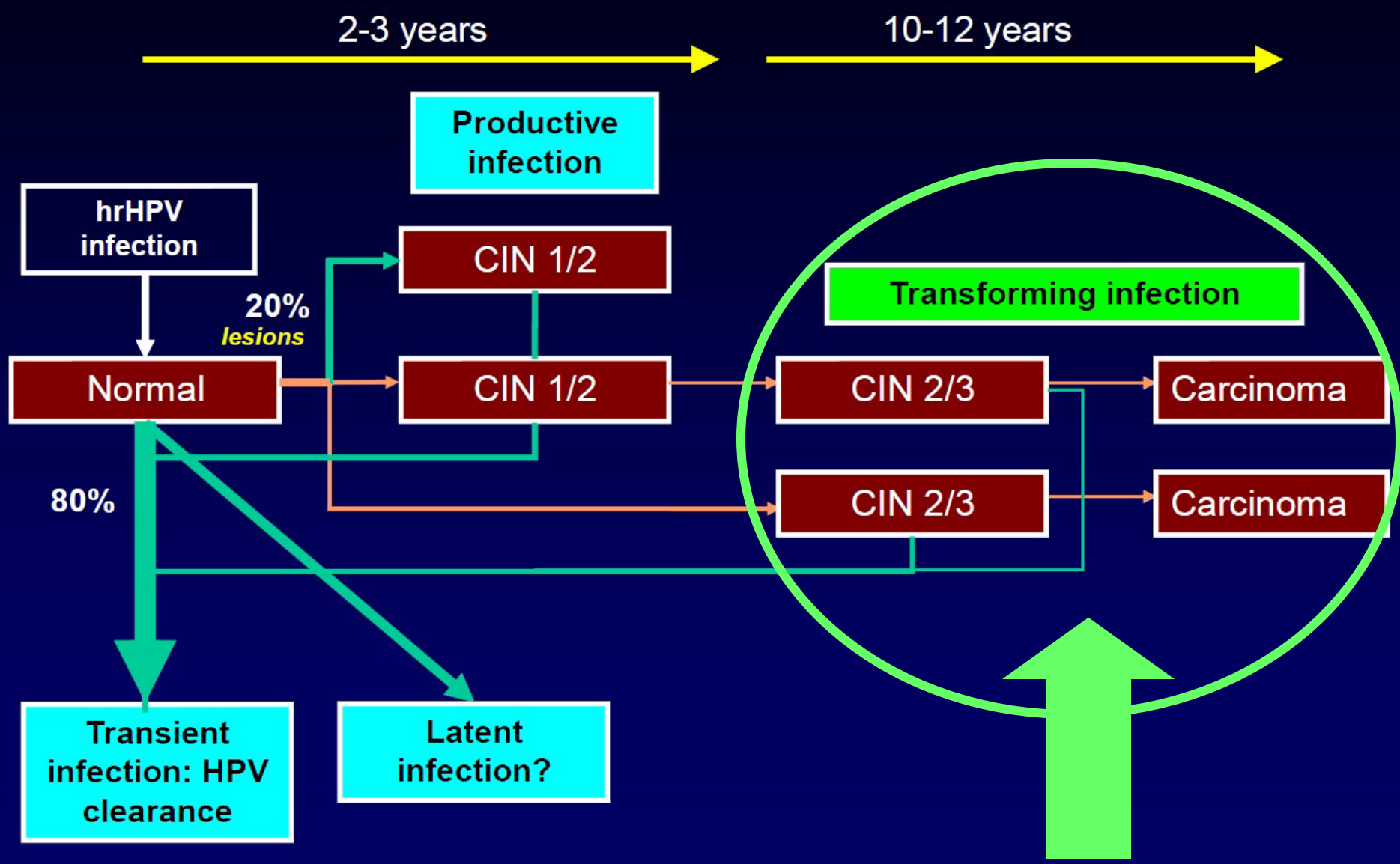
Annarosa Del Mistro
Istituto Oncologico Veneto IOV - IRCCS, Padova

Programma di Screening organizzato

L'efficacia dello screening è legata a:

- efficacia nel raggiungere tutte le donne della popolazione target
- efficacia nella gestione delle donne con test non negativo
- efficacia dei test utilizzati

Potential outcomes of hrHPV exposure cervix



Quali tipi di HPV è utile rilevare?

Sulla base dei risultati degli studi randomizzati condotti su donne invitate a programmi di screening organizzati

→ tipi ad alto rischio (hrHPV)

→ individuazione come pool senza identificazione dei singoli tipi

Classificazione degli HPV in alto e basso rischio

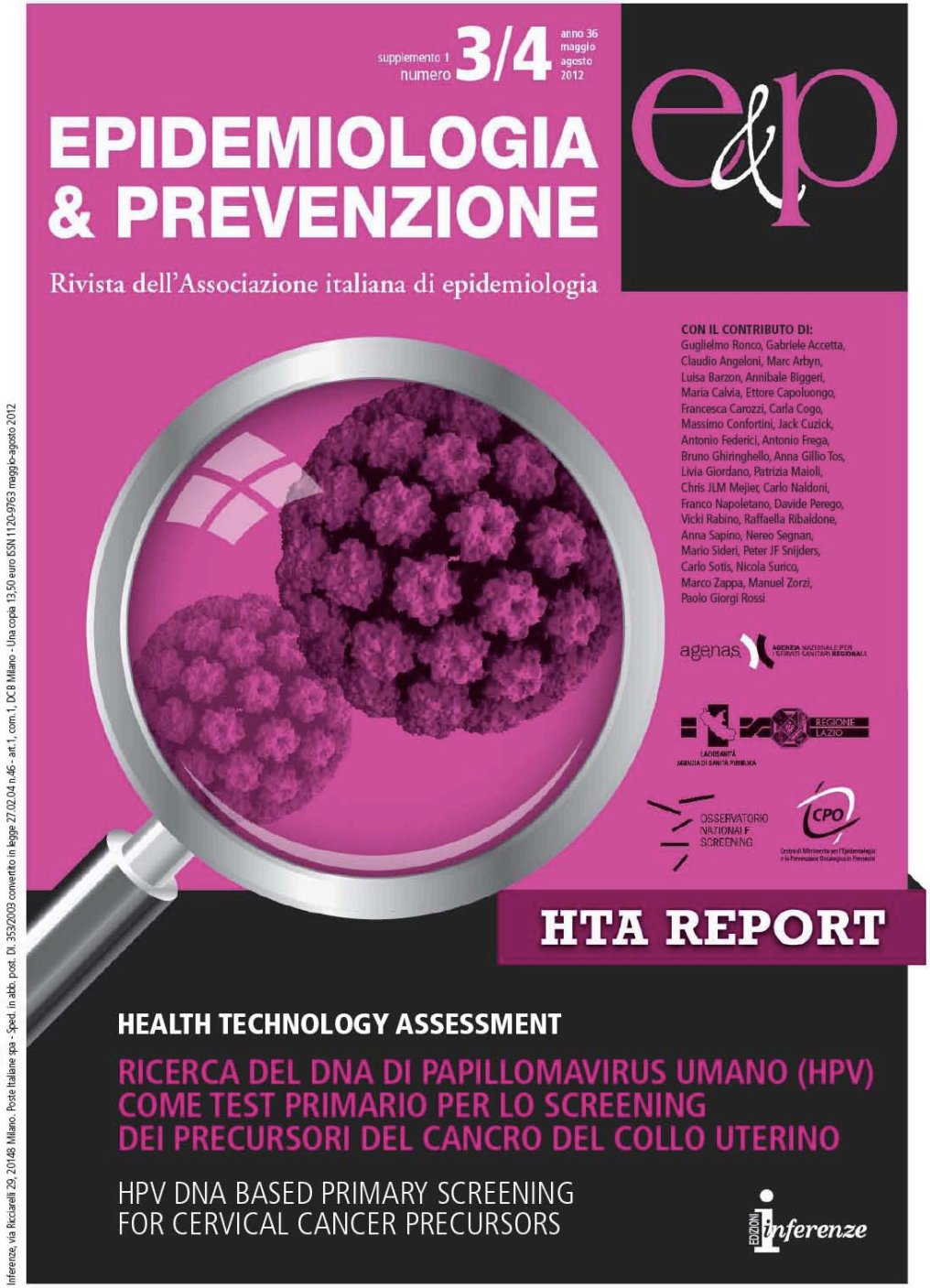
1. osservazione epidemiologica di associazione con lesioni benigne o maligne
2. dimostrazione di diversa capacità dei diversi virus di interferire con la proliferazione e la stabilità genomica della cellula infettata

- tipi 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 sono *cancerogeni per la specie umana;*
- tipo 68 *probabilmente cancerogeno,*
- tipi 26, 53, 66, 67, 70, 73, 82 *possibilmente cancerogeni*

(Bouvard et al. Lancet Oncol 2009;10:321-2)

HTA report italiano:
Luglio 2012.
Contiene
un'anticipazione
ufficiale delle LLGG
EU
Gennaio 2013
documento
Ministero della
Salute di supporto
alla programmazione
regionale.

www.epiprev.it



Sommario esecutivo Rapporto HTA

Only tests for the DNA of oncogenic HPV, validated according to the European guidelines as for sensitivity and specificity for high-grade lesions, should be applied.

There is no evidence that double testing with cytology and HPV is more protective than stand-alone HPV as primary test,…… For this reason, if HPV is used as primary screening test, it is recommended not to add cytology in parallel.

Cosa intendiamo per validazione clinica?

- **Sensibilità e specificità analitica di un test HPV**
  - rileva qualsiasi infezione da hrHPV, incluse le infezioni transienti, che sono clinicamente non rilevanti

- **Sensibilità e specificità clinica di un test HPV**
  - rileva infezioni hrHPV associate con lesioni CIN2+ (infezioni hrHPV clinicamente rilevanti)

➔ **la rilevazione di infezioni hrHPV nello screening cervicale è utile solo quando associata con la presenza o lo sviluppo di lesioni CIN2+**

Effetti dell'uso di un test HPV non-clinicamente validato

- **Sensibilità troppo alta**:
  - specificità troppo bassa, troppi falsi positivi
  - molte donne senza lesioni inviate ad approfondimenti
- **Specificità troppo alta, sensibilità non ottimale**:
  - non tutte le lesioni CIN2+ vengono rilevate: casi persi

Strategia di validazione per test hrHPV DNA

(Meijer et al. Int J Cancer 2009;124:516-20 / J Clin Virol 2009;46:S1-S4)

Analisi comparativa del test candidato con HC2 o GP5+/6+ PCR-EIA su campioni derivanti da una coorte di screening organizzato di popolazione (donne ≥30 anni)

- **Noninferiority score testing for CIN2+:**

  → **sensibilità clinica** non inferiore al 90% di quella del test HC2 (almeno 60 campioni derivati da un gruppo rappresentativo di donne con CIN2+ istologicamente confermata)

  → **specificità clinica** non inferiore al 98% di quella del test HC2 (almeno 800 campioni derivati da un gruppo random di donne senza CIN2+)

  → **riproducibilità intra-laboratorio e concordanza inter-laboratorio** non inferiore all'87% di quella del test HC2 (almeno 500 campioni , 30% dei quali risultati positivi)

TESTS VALIDATI PER RICERCA hrHPV DNA

come da rapporto HTA [Epidemiol Prev 2012;36(3-4) suppl 1: e31-72]

Test	Metodologia	Note sulla validazione
HR-HC2 (Qiagen)	Ibridizzazione con amplificazione del segnale (12HR+68)	Test usato in molti studi clinici randomizzati (test di riferimento insieme a GP5+/6+ EIA)
Cobas 4800 HPV test (Roche)	Real-time PCR (12HR+68+66)	Heideman et al, J Clin Microbiol 2011; Gage et al, J Clin Microbiol 2011
HR-HPV test (Abbott)	Real-time PCR (12HR+68+66)	Poljak et al, J Clin Microbiol 2011; Carozzi et al, J Clin Microbiol 2011
PapilloCheck (Greiner Bio-one)	PCR - chip technology (12HR+68+66)(+altri)	validato solo con scoring positività ristretto ai 14 tipi ad alto rischio Hesselink et al, J Clin Microbiol 2010
Cervista HR HPV (Hologic)	Invader technology (12HR+68+66)	test di non inferiorità per CIN3+, Belinson et al, Am J Clin Pathol 2011 per CIN2+ solo dati su poster, King et al, abstract EUROGIN 2011
Onclarity (BD)	Real-time PCR (12HR+68+66)	Ejegod et al, J Med Microb Diagn 2013 + abstract EUROGIN 2013

Greiner Bio-One PapilloCheck assay

→ broad-spectrum (E1 region) PCR-based method with DNA chip technology
→ simultaneous detection and genotyping of 24 types

→ **Samples randomly selected from the baseline round of the POBASCAM trial:**

- 192 cases (women 30-60 yrs old with histologically confirmed CIN3+)

- 1473 controls (women 40-60 yrs old with normal cytology and without CIN2+ development during follow-up)

Results of noninferiority test relative to GP5+/GP6+ PCR-EIA

PapilloCheck (14 hrHPV, the same recognized by GP5+/6+ PCR-EIA)

- Clinical sensitivity: 95.8% → noninferior
- Clinical specificity: 96.7% → noninferior

→ **Assay clinically validated**

PapilloCheck (17 hrHPV, additional types: 53,73,82)

- Clinical sensitivity: 95.8% → noninferior
- Clinical specificity: 96.7% → inferior

→ Assay clinically not validated

Hesselink et al, J Clin Microbiol 2010

Hologic Cervista HR-HPV assay

→ invader technology (signal amplification method)
→ simultaneous detection of 14 types

→ Samples from the SHENCCAST II study (self-sampling specimens in PreservCyt):
- 8556 women 25-59 yrs old (233 cases of CIN2+; 141 cases of CIN3+)

Results of noninferiority test relative to HC2

Clinical validation for CIN3+ (Belinson et al, Am J Clin Pathol 2011)
- Clinical sensitivity: 95.1% → noninferior
- Clinical specificity: 90.3% → noninferior

→ Assay clinically validated

Clinical validation for CIN2+ (King et al, abstract at EUROGIN 2011)
- Clinical sensitivity: 92.9% → noninferior
- Clinical specificity: 91.2% → noninferior

→ Assay clinically validated (?)

Nello screening

il test HPV non è un test virale
ma un <u>test di rischio oncogeno</u>

- **Buon bilanciamento fra sensibilità e specificità clinica** per minimizzare le procedure di follow-up non necessarie
- Cautela verso i tentativi di raggiungere una sensibilità clinica del 100% aumentando la sensibilità clinica:
  - **un piccolo guadagno in sensibilità risulterà in una drammatica riduzione della specificità clinica (aumento dei falsi positivi)**

Vaccine 30S (2012) F100–F106

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Vaccine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vaccine

Review

Nucleic Acid Tests for the Detection of Alpha Human Papillomaviruses

Mario Poljak[a,*], Jack Cuzick[b], Boštjan J. Kocjan[a], Thomas Iftner[c], Joakim Dillner[d], Marc Arbyn[e]

Identificati almeno 125 diversi test HPV e almeno 84 varianti dei test originali

Per tipi rilevati, metodologia, automazione, solo alcuni di questi possono essere considerati come test primario nello screening

5.1 Caratteristiche del test HR-HPV

……

Per la validazione e introduzione di nuovi test HR-HPV in ambito di screening primario vengono pertanto recepite le indicazioni contenute in un recente articolo di C. Meijer, che stabilisce i criteri per la validazione di nuovi test consentendo il confronto del 'nuovo test' rispetto al 'test validato' *(11)*. **I dati relativi alle validazioni di nuovi test devono essere pubblicati su riviste in Medline.**

….da un capitolato di gara:

…"caratteristiche cliniche per l'identificazione di lesioni cervicali di alto grado CIN2+ conformi alle linee guida europee……

…attraverso documentazione di **avvenuta pubblicazione di articoli su riviste scientifiche internazionali "peer reviewed" comprovanti** l'adeguamento del sistema diagnostico ai suddetti criteri di non inferiorità indicati dalle linee guida pubblicate da Mejier e collaboratori (Int J Cancer 2009;124:516-20), come da raccomandazione riportata nel rapporto italiano di Health Technology Assessment (2012)"

Elenco test hrHPV clinicamente validati

- Come mantenerlo aggiornato?
- Chi lo fa?
- Con quale frequenza?
- Come renderlo disponibile?
- Come valutare i dati che saranno pubblicati?

Becton Dickinson Onclarity HPV assay

→ broad-spectrum (E6/E7 regions) Real-time PCR
→ simultaneous detection of 14 HR types and individual genotyping on 6 types

→ **Samples randomly selected from a screening population (St. Mary's Hospital, London)** (Ejegod et al, J Med Microb Diagn, 2013) :
- **156 cases (women 30+ yrs old with histologically confirmed CIN2+)**
- **4599 controls (women 30+ yrs old without CIN2+ development during follow-up)**

→ **Samples randomly selected from women referred for colposcopy (Denmark)** (Ejegod et al, abstract EUROGIN 2013) :
- **274 cases (102 with histologically confirmed CIN2+; 132 with ≤CIN1; 20 with "CIN not otherwise specified")**

Results of noninferiority test relative to HC2

Onclarity on Viper XTR (Ejegod et al, J Med Microb Diagn, 2013)
- Clinical sensitivity: 93.0% → noninferior
- Clinical specificity: 87.7% → noninferior

Onclarity on Viper LT System (Ejegod et al, abstract EUROGIN 2013)
- Clinical sensitivity: 99.0% for both Onclarity and HC2
- Clinical specificity: 16% Onclarity vs 20% HC2

Considerazioni finali

- I nuovi test HR-HPV devono essere validati clinicamente secondo le linee guida di Mejier (sensibilità, specificità, riproducibilità, concordanza inter-laboratorio) per l'utilizzo come test primario di screening
- I dati di validazione devono essere pubblicati in riviste con peer-review
- Serve familiarità con i dettagli tecnici per valutare le discrepanze nella performance e l'applicabilità allo screening (mezzo di prelievo, automazione, fase pre-analitica,…)

→ **Proposta ONS: costituire un gruppo tecnico e definire un protocollo per l'aggiornamento periodico dell'elenco dei test clinicamente validati**