

GISCI

Gruppo Italiano Studi di Oncologia

Convegno
Nazionale **GISCI**

MILANO 26-27 OTTOBRE 2023

Vaccinazione HPV: quale impatto sul test HPV e nella diagnostica citologica

Francesca Carozzi

Biologa

Università degli Studi di Firenze

Docente Citogenetica e Citopatologia

Gia Direttore Laboratorio Regionale Prevenzione Oncologica ISPRO Firenze e
responsabile implementazione HPV in Regione Toscana



GIscI

Gruppo Italiano Studi di Certificazione

Convegno
Nazionale **GIscI**

MILANO 26-27 OTTOBRE 2023

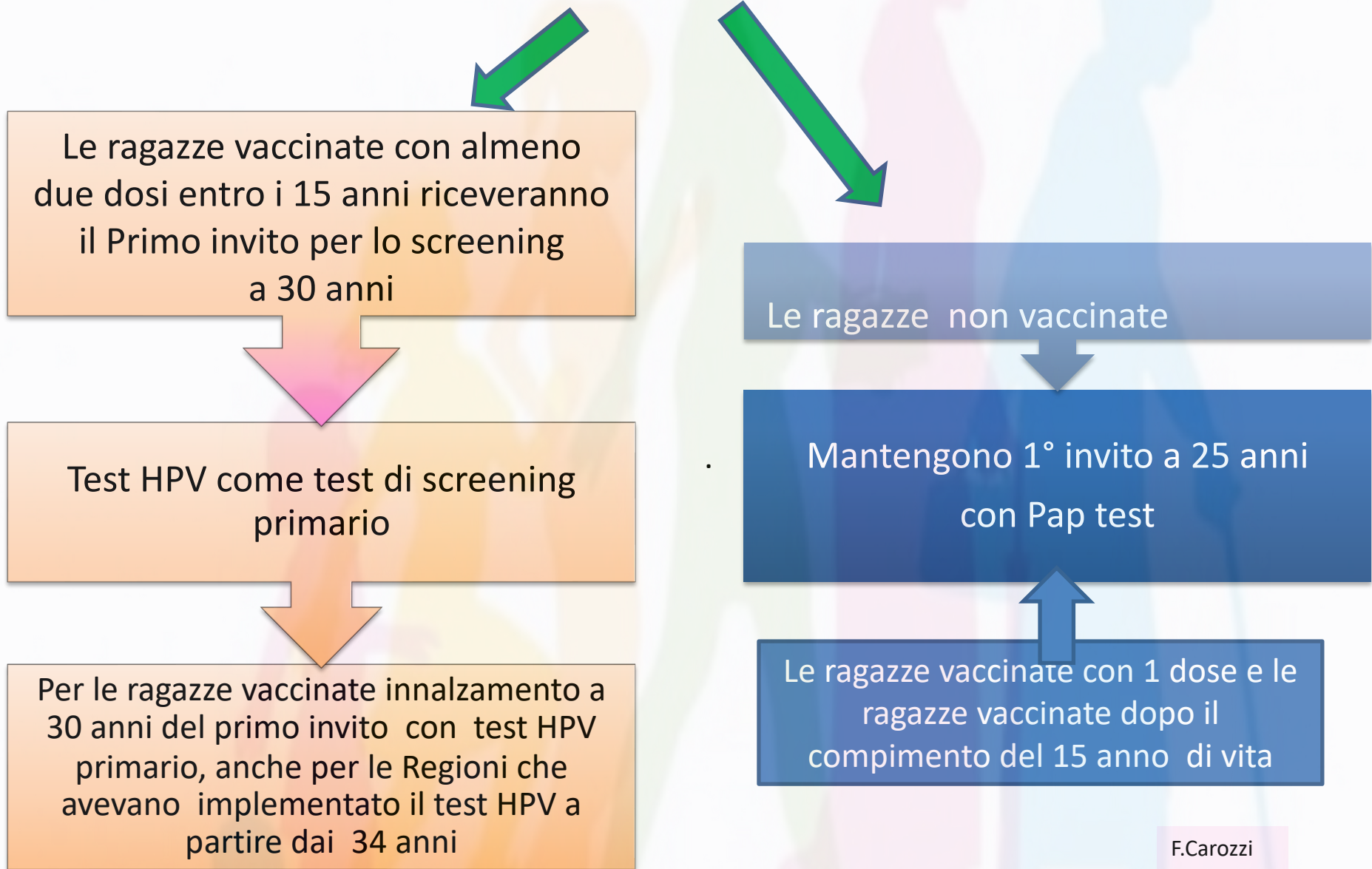
Il sottoscritto Francesca Maria Carozzi

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

dichiara

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

Dal 2021 Protocollo di screening differenziati in base allo stato vaccinale e all'età di vaccinazione

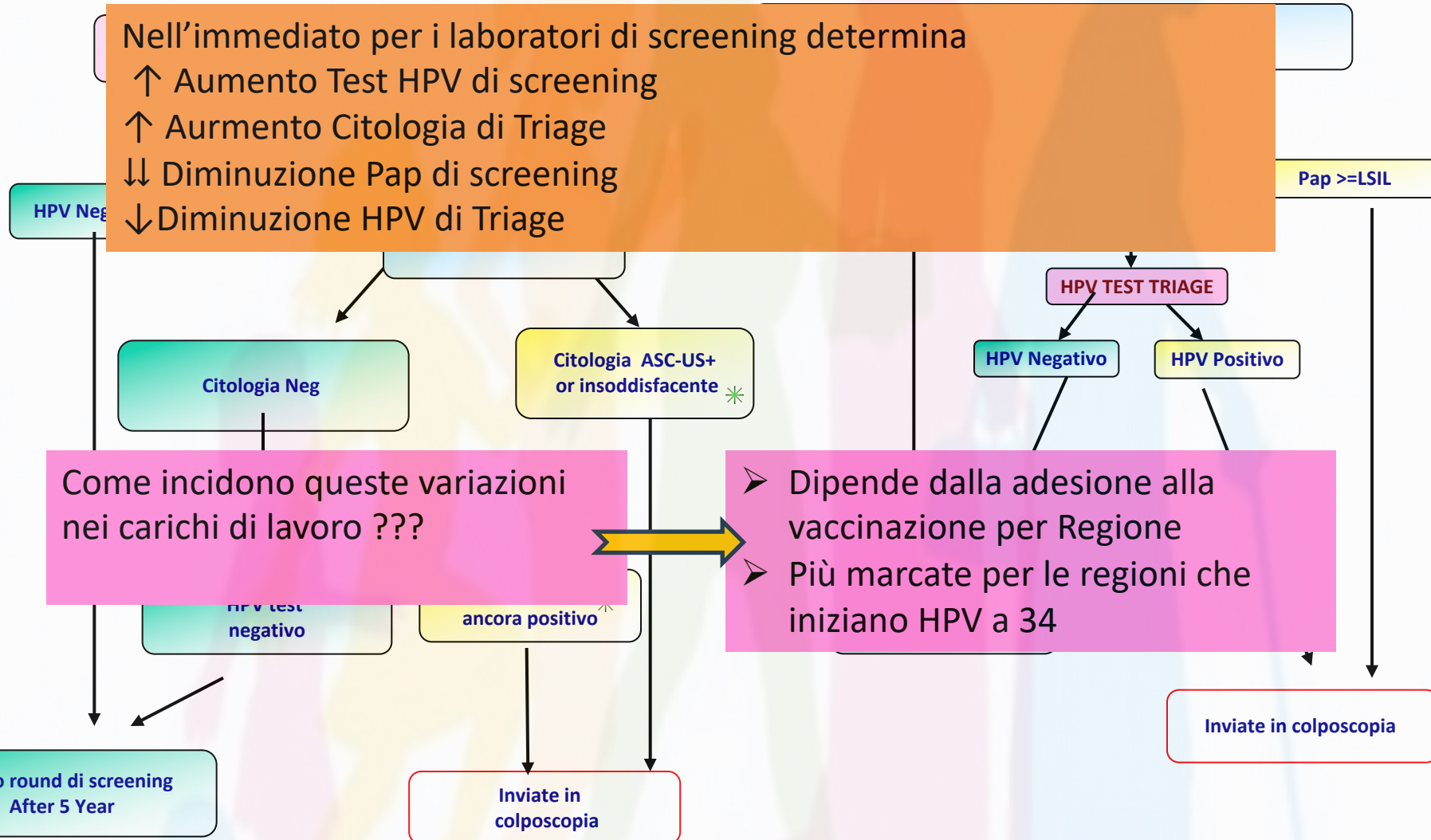


Lo Screening cervicale: 2 percorsi differenziati per età e per stato vaccinale

NON cambiano i protocolli

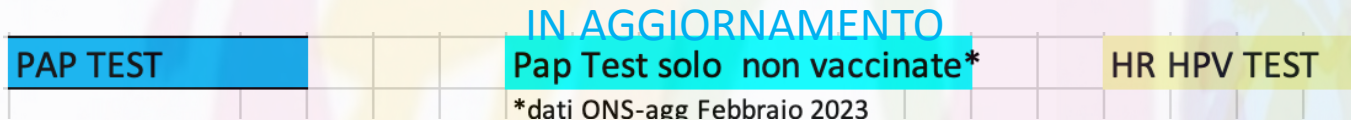
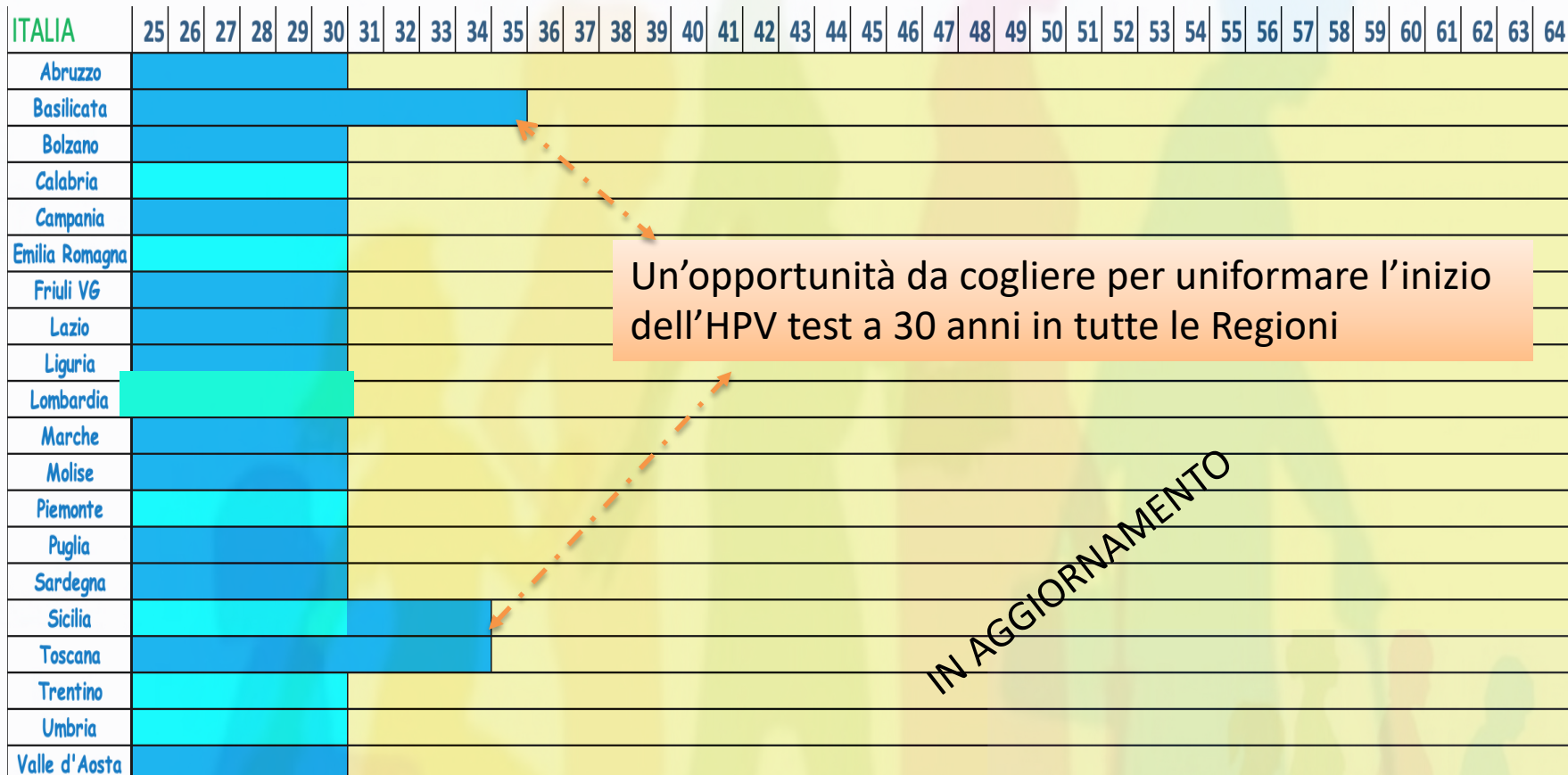
Nell'immediato per i laboratori di screening determina

- ↑ Aumento Test HPV di screening
- ↑ Aumento Citologia di Triage
- ⇓ Diminuzione Pap di screening
- ↓ Diminuzione HPV di Triage



Lo Screening In Italia per regione

Età Target Screening organizzato 25-64 anni



Coperture Vaccinali per coorte di nascita

DATI ESTRATTI DA REPORT ISS 2021- Ciclo completo

Regione	1999	2000	2001	2008
Piemonte	64,55	67,50	68,48		67,68
Valle d'Aosta	70,03	71,59	70,85		67,50
Lombardia	68,85	71,88	74,44		55,57
Prov. Aut. Bolzano	39,63	42,42	48,77		32,80
Prv. Aut. Trento	58,92	60,21	64,15		71,96
Veneto	76,91	79,31	78,62		47,67
Friuli-Venezia Giulia	69,07	70,74	70,30		25,85
Liguria	70,76	69,63	71,59		64,42
Emilia-Romagna	72,41	74,34	74,39		74,07
Toscana	78,20	80,44	80,96		69,72
Umbria	78,32	82,10	81,92		73,85
Marche	74,27	74,91	69,20		62,75
Lazio	69,54	70,68	71,16		47,52
Abruzzo	65,36	65,27	72,33		47,03
Molise	25,24	65,75	68,97		57,84
Campania	45,68	48,64	57,40		36,45
Puglia	77,07	78,00	77,06		62,40
Basilicata	64,21	71,02	69,86		54,07
Calabria	79,04	78,03	74,67		56,78
Sicilia	61,21	58,57	54,76		35,46
Sardegna	67,38	70,18	66,87		36,18
Italia	67,17	69,08	70,12		53,53

Coorte 1999
25 anni nel 2024
Vaccino bi-quadri

Coorte 2008
25 anni nel 2032
Vaccino nonavalente

Proiezioni RT
+20% HPV
-30% Pap

Lo screening nelle vaccinate



Ci sarà un effetto della
vaccinazione
sull'accuratezza dei test ?

Prevalenza HPV HR - Studio Consensus Tutte le infezioni (non gerarchico)

	Non vacc	Vacc 2+			
	%	%	RR	LOWIC	HIGHIC
Totale HPVHR	20.72%	17.40%	0.84	0.79	0.91
HPV16 o 18	5.15%	0.23%	0.05	0.03	0.07
HPV31 o 33 o 45	6.23%	2.65%	0.45	0.38	0.53
Positive altri hrHPV	20.19%	21.81%	1.08	1.00	1.17

HR HPV Totale Riduzione significativa del 16%

Aumento 8% altri HPV hr , borderline del punto di vista della significatività statistica

Unmasking analitico

Un apparente aumento dei tipi di HPV non vaccinali può verificarsi a causa di artefatti diagnostici ?

- La vaccinazione riducendo la prevalenza dei tipi di HPV mirati al vaccino potrebbe portare a un aumento della prevalenza di altri tipi di HPV non vaccinali.
- se c'è competizione tra i tipi di HPV vaccinali e non vaccinali per i reagenti (i primer) nei test in PCR che ad esempio usano primer consensus vs primer specifici .
Nelle infezioni multiple, 16/18 hanno più capacità di competere per i primers In questa situazione, è possibile che i tipi a minor carica non vengano individuati.
- Questo effetto di smascheramento potrebbe essere scambiato per un type replacement

Uno studio ha osservato che in campioni coinfezati con HPV16 e HPV18, -51, -52 o -58, la PCR di consenso spesso non è riuscita a rilevare questi ultimi tipi, in particolare con cariche virali più basse e per gli HPV 51 e 52.***

Rebolj Eurogin 2023

Risultato del test sulla componente non 16/18	genotipi non 16/18 Presenti	Genotipi non 16/18 non presenti
HPV Test +	X ↑	Y ↔ ?
HPV Test -	Z ↓	W ↔ ?

***Tota JE et al Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2015, Mori et al cancer Sc 2011, Cornell et al J virol Method 2015).

Table 1
2021 Proficiency panel composition and percentage of laboratories reporting correct HPV type, with no false positive HPV type detected.

HPV types	HPV IU or genome equivalents per 5 µl	Percent correct data sets ^a (N)
16	50	96.7 (204 / 211)
16	5	90.5 (191 / 211)
18	50	98.1 (207 / 211)
18	5	89.1 (188 / 211)
6	500	95.6 (152 / 159)
6	50	93.7 (149 / 159)
11	500	98.7 (157 / 159)
11	50	93.7 (149 / 159)
31	500	99.0 (208 / 210)
31	50	91.4 (192 / 210)
33	500	97.6 (205 / 210)
33	50	94.8 (199 / 210)
35	500	97.6 (205 / 210)
35	50	95.7 (201 / 210)
39	500	97.6 (205 / 210)
39	50	93.3 (196 / 210)
45	500	98.1 (207 / 211)
45	50	96.7 (204 / 211)
51	500	98.6 (206 / 209)
51	50	91.4 (191 / 209)
6, 31, 45, 52	500	95.3 (201 / 211)
6, 31, 45, 52	50	88.6 (187 / 211)
11, 33, 51, 58	500	91.9 (194 / 211)
11, 33, 51, 58	50	91.5 (193 / 211)
16, 56, 59, 68 ^{a,b}	500	93.4 (197 / 211)
16, 56, 59, 68 ^{a,b}	50	89.1 (188 / 211)
18, 35, 39, 68 ^b	500	93.4 (197 / 211)
18, 35, 39, 68 ^b	50	89.1 (188 / 211)
6, 31, 45, 52	500	95.3 (201 / 211)
6, 31, 45, 52	50	88.6 (187 / 211)
11, 33, 51, 58	500	91.9 (194 / 211)
11, 33, 51, 58	50	91.5 (193 / 211)
16, 56, 59, 68 ^{a,b}	500	93.4 (197 / 211)
16, 56, 59, 68 ^{a,b}	50	89.1 (188 / 211)
18, 35, 39, 68 ^b	500	93.4 (197 / 211)
18, 35, 39, 68 ^b	50	89.1 (188 / 211)
TE buffer with 10 ng/µl	0	97.2 (205 / 211)



Improving human papillomavirus (HPV) testing in the cervical cancer elimination era: The 2021 HPV LabNet international proficiency study

Laila Sara Arroyo Mühr^a, Carina Eklund^a, Camilla Lagheden^a, Ola Forslund^b, Karin Dahlin Robertsson^c, Joakim Dillner^{a,d,*}

Proficiency Panel WHO per test di genotipizzazione
➤ molti campioni con coinfezioni

Conclusioni : il mascheramento analitico è esistito in alcuni test, ma non risulta rilevabile per la maggior parte dei test. il laboratorio che esegue il test ha un grande impatto sulle prestazioni del test stesso, in particolare per alcuni test

First international proficiency study on human papillomavirus testing in cervical cancer screening

Journal of Clinical Virology 167 (2023) 105581

Ottobre

Emel Yilmaz^{a,b}, Carina Eklund^b, Camilla Lagheden^b, Karin Dahlin Robertsson^c, Marina Lilja^c,
Miriam Elfström^{a,b}, Laila Sara Arroyo Mühr^b, Joakim Dillner^{a,b,*}

Composition of HPV types and viral load present in the screening proficiency panel.

HPV types	Concentration / μ l
16	1 IU
16	10 IU
18	1 IU
18	
31	
33	
45	
52	1000 IU
58	1000 IU
31/33/45/52/58	100 ^a IU
35/39/51/56/59/68	100 ^a GE
Negative (TE buffer with 10 ng/ μ l human placenta DNA)	0

^a : 100 copies of each HPV type. IU: international units, GE: genome equivalents.

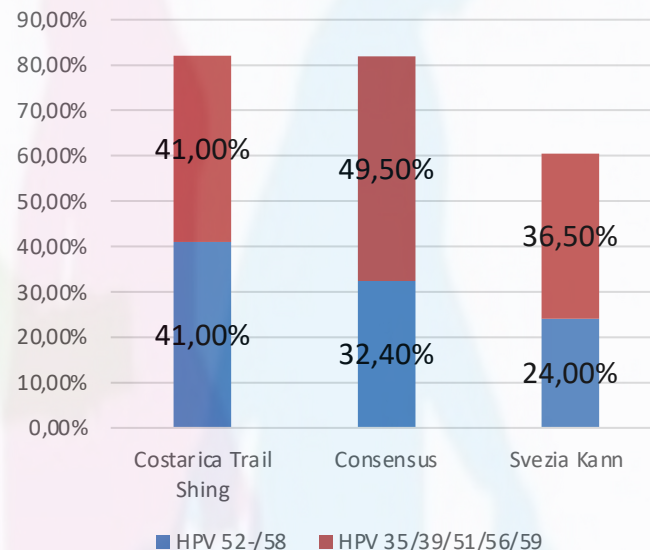
Proficiency 144/158 Labs= 91.1%

Tra i 144 , campioni educational a bassa concentrazione di HPV 31/33/45/52/58 (100 IU/ul) = proficiency 91.1% dei lab
35/39/51/56/ 59/68 (100 GE/ul) =proficiency 93.7% dei lab

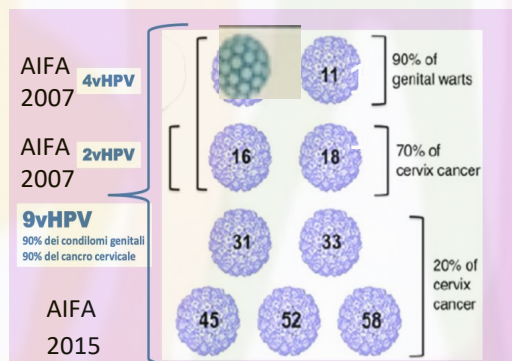
Studio Consensus per tipo di HPV

Per singolo tipo	Infezioni vaccinate vs non vaccinate		
	RR	95%IC	
Prevalenza HPV 16	0,18	0,14	0,24
Prevalenza HPV 18	0,32	0,22	0,46
Prevalenza HPV 31	0,56	0,50	0,64
Prevalenza HPV 45	0,69	0,58	0,83
Prevalenza HPV 33	0,89	0,76	1,06
Prevalenza HPV 68	0,90	0,80	1,02
Prevalenza HPV 52	0,98	0,88	1,08
Prevalenza HPV 39	1,04	0,92	1,16
Prevalenza HPV 58	1,05	0,93	1,18
Prevalenza HPV 66	1,05	0,94	1,18
Prevalenza HPV 56	1,07	0,95	1,19
Prevalenza HPV 51	1,07	0,97	1,18
Prevalenza HPV 59	1,09	0,98	1,22
Prevalenza HPV 35	1,21	0,94	1,54

% CIN2+ da 'HPV other' vaccinate
Studi a confronto

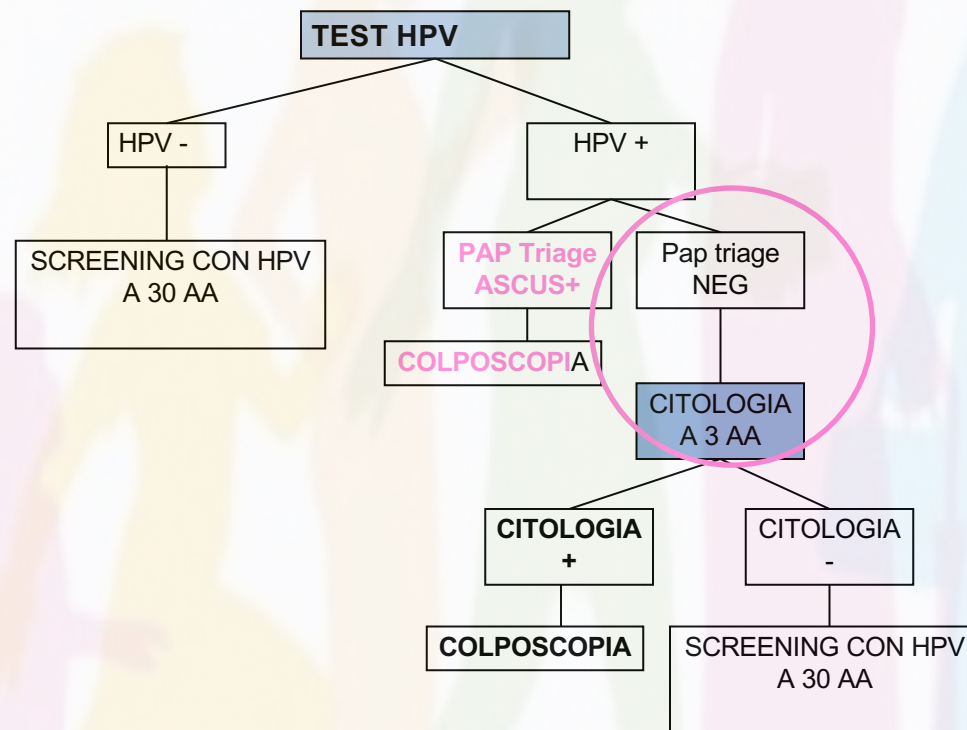


Consensus: dati preliminari
Costarica : Shing et al Lancet Oncol 2022
Svezia: Kann et al 2018



Protocollo Studio Consensus

donne che si presentano per il prelievo al primo round di screening



Non sono ancora disponibili i risultati del Pap a 3 anni nelle donne HPV+ Cito neg

Studio Consensus

Risultati Citologia di Triage Vaccinate vs non Vaccinate attribuzione gerarchica

	Totale*	NON VACC	VACC 2+	RR agg	IC 95 low	IC 95 high
Positive HPV16 o 18	34,60%	38,20%	36,40%	0,95	0,54	1,69
Positive HPV31 o 33 o 45		34,90%	29,70%	0,85	0,66	1,1
Positive altri hrHPV	30.6%	29,70%	30,80%	1,04	0,89	1,21
	* RR 0.88 (0.79-0.99)					

Distribuzione classi citologiche pap triage e VPP vaccinate vs non vaccinate su HPV HR OVERALL

Distribuzione classi Cito Triage in Tutti HPV HR POS

	Non vaccinate	Vaccinate 2+	RR	LOWIC	HIGHIC
	%	%			
2-ASC-US	11,10%	16,90%	1,51	1.05	2.17
3- LSIL	70,50%	74,80%	1,06	0.97	1.16
4-ASC-H	8,10%	4,30%	0,52	0.30	0.91
5- AGC	0,30%	0,20%	0,67	0.04	10.7
6- HSIL	9,90%	3,90%	0,39	0.22	0.67

Cito Triage HPV HR Overall classi citologiche accorpate

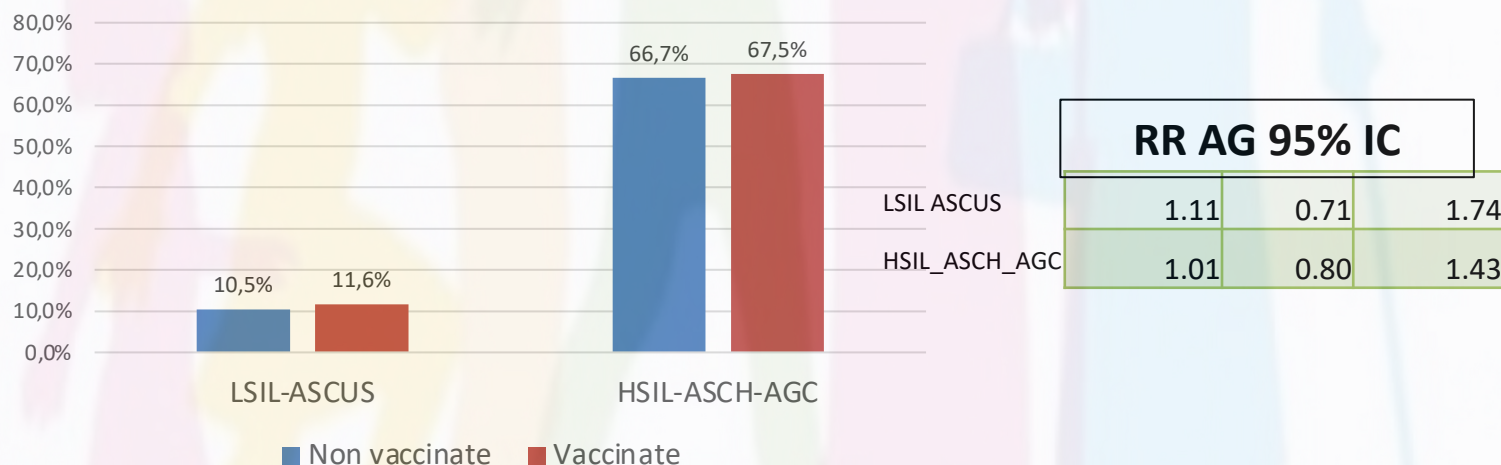
	RR Vaccinate 2+ vs Non vaccinate		
	RR	LOWIC	HIGHIC
ASCUS_LSIL	1,1	1,04	1,17
HSIL_ASC-h-AGC	0,45	0,31	0,65

VPP CIN2+ della citologia di Triage stratificata in 2 classi Approccio Gerarchico

Riduzione del VPP Cin2+ totale tra vaccinate e non vaccinate (-16%) non significativa

	Non vaccinate (0 dosi)			2 o 3 dosi			RR AG 95% IC		
	Tot	n	VPP %	tot	n	VPP %			
Totale	308	63	20.45%	466	75	16.09%	0.84	0.62	1.13

VPP CIn2+ totale per classi citologiche aggregate

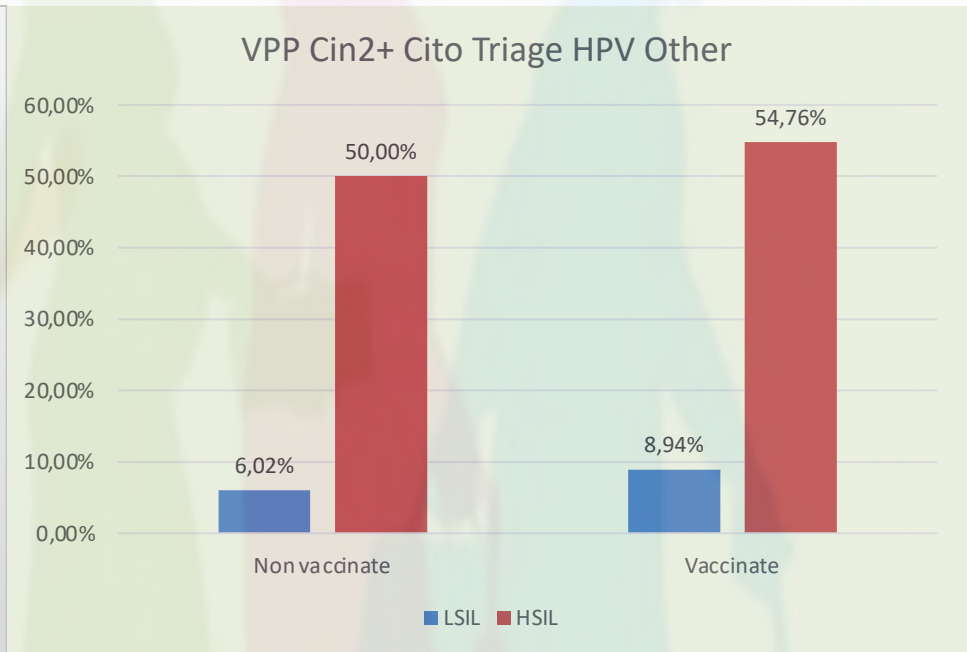
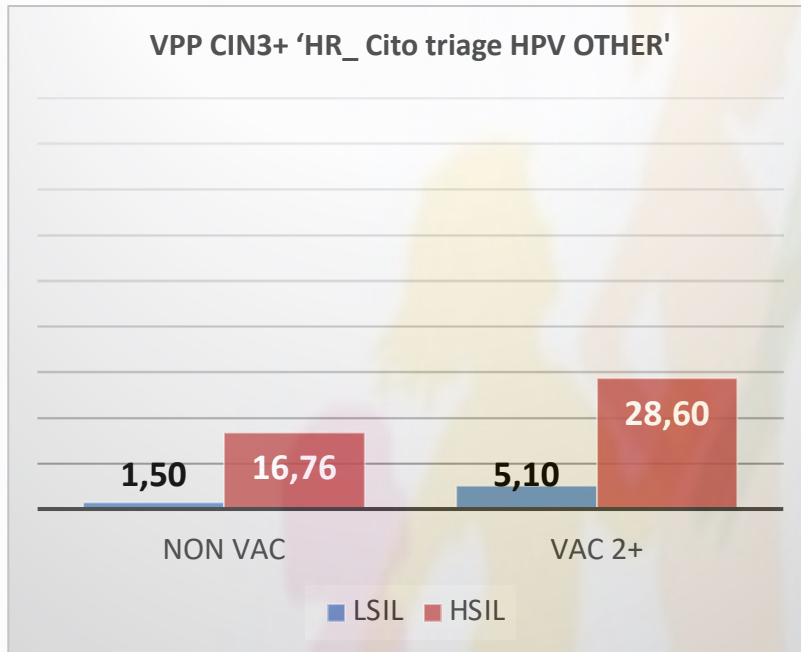


**VPP CIN3+ della citologia Basso Grado-LSIL (ASCUS, LSIL), Alto Grado (HSIL, AGC, ASCH) tra le donne aderenti alla colposcopia
RVPP aggiustato per centro e coorte- Approccio Gerarchico**

HR HPV TOTALE	Non vaccinate (0 dosi)			2 o 3 dosi			RR AG 95% IC
	Tot	n	%	tot	n	%	
Aderenti colposcopia							
Totale	308	32	10.39%	466	39	8.37%	0.84 0.54 1.31

Riduzione del VPP Cin3+ totale tra vaccinate e non vaccinate (-16%) non significativa

VPP CIN3+ citologia di triage stratificata per classe citologica nelle infezioni 'Other (gerarchica)

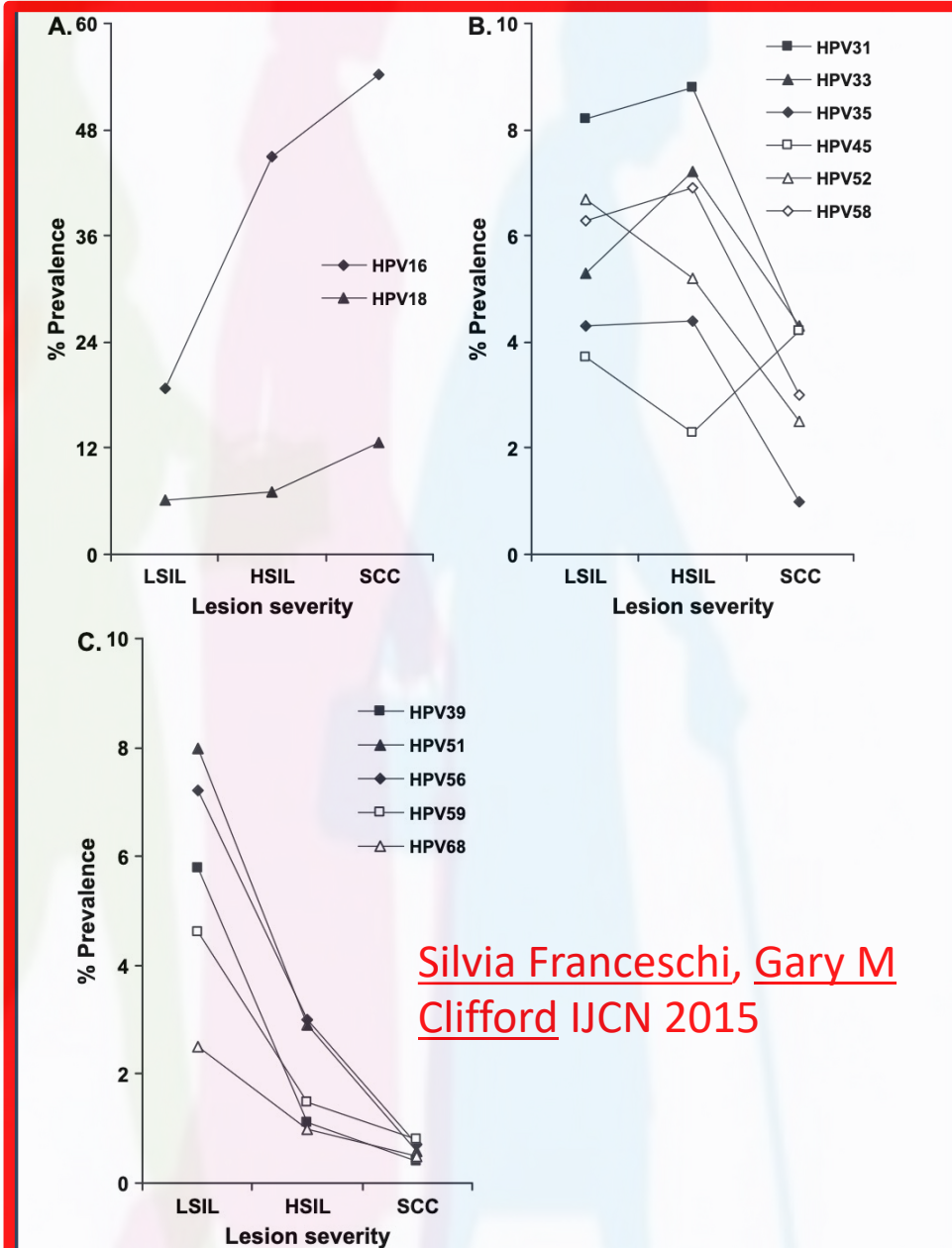


VPP CIN3+ vs VPP CIN2+ sia per le vaccinate che per le non vaccinate diminuisce e la differenza è statisticamente significativa
RR crude 2.0 IC95% (1.02-3,8)

Molte donne saranno ancora mantenute nei richiami precoci (per anni)

Maggior rischio di sovratrattamento di malattia non progressiva

ABBIAMO BISOGNO DI UNA MIGLIORE DEFINIZIONE DELLA MALATTIA 'CIn2+' post vaccinazione PER STUDIARE L'ACCURATEZZA DEI TEST



Consensus Conference

per la definizione del percorso di screening del cervicocarcinoma nelle donne vaccinate contro l'HPV

Responso della Giuria alla Domanda 2.2


Domanda 2.2) Quale test per lo screening delle donne vaccinate?

Proposta del Comitato Tecnico Scientifico:

Nelle ragazze vaccinate nel dodicesimo anno di età (inizio screening a 30 anni) il test di screening sarà il test HPV. Nelle coorti vaccinate nel quindicesimo anno od oltre (inizio screening a 25 anni) rimane inizialmente il Pap test. In queste coorti il VPP del Pap test si abbasserà, ma in termini assoluti rimarrà sopra quanto osservato attualmente in altre fasce di età, infatti la detection rate a questa età è generalmente 7-8 x 1000 e quindi, in un contesto dove circa la metà delle donne vaccinate erano già sessualmente attive, la prevalenza di lesioni si ridurrà di meno dell'atteso 60%. La riduzione della positività del Pap test sarà probabilmente inferiore, ma la relativamente alta prevalenza di lesioni manterrà il VPP entro valori simili a quelli osservati nelle fasce di età più alte.

PAP

- **la Giuria condivide l'opportunità di rivalutare il cut-off della citologia di triage per l'invio in colposcopia e di calcolare il VPP per CIN2+ delle categorie ASC-H e HSIL.**
- **Ritiene, inoltre, che l'accuratezza diagnostica della categoria LSIL dovrebbe essere valutata calcolando il suo VPP per CIN1+.**



La raccomandazione
delle LLGG italiane
è la più aggressiva:
Colpo per tutte le
citologie anormali

European guidelines for quality assurance
in cervical cancer screening
Second edition - Supplements

Recommendation 1.18-1.19: Referral of cytology positive

1.18 Women with ASC-H, HSIL, AIS or a more severe finding at cytology triage should be referred to colposcopy without further observation or testing **(III-A)**

1.19 Women with ASC-US, AGC, or LSIL at triage after an initial HPV primary test in a screening episode may be followed up by retesting, preferably after 6 - 12 months, or referred directly to colposcopy **(VI-C)**.

SERVE??? Dati non conclusivi –
X tipo HPV presente?

Per aumentare cut-off cito Vanno comunque modificati i i protocolli e indicazioni nazionali , ma l'indicazione già presente nelle Linee guida Europee

Consensus Conference

per la definizione del percorso di screening del
cervicocarcinoma nelle donne vaccinate contro l'HPV

Responso della Giuria alla Domanda 2.2

Domanda 2.2) Quale test per lo screening delle donne vaccinate?

Proposta del Comitato Tecnico Scientifico:

Nelle ragazze vaccinate nel dodicesimo anno di età (inizio screening a 30 anni) il test di screening sarà il test HPV. Nelle coorti vaccinate nel quindicesimo anno od oltre (inizio screening a 25 anni) rimane inizialmente il Pap test. In queste coorti il VPP del Pap test si abbasserà, ma in termini assoluti rimarrà sopra quanto osservato attualmente in altre fasce di età, infatti la detection rate a questa età è generalmente 7-8 x 1000 e quindi, in un contesto dove circa la metà delle donne vaccinate erano già sessualmente attive, la prevalenza di lesioni si ridurrà di meno dell'atteso 60%. La riduzione della positività del Pap test sarà probabilmente inferiore, ma la relativamente alta prevalenza di lesioni manterrà il VPP entro valori simili a quelli osservati nelle fasce di età più alte.

- La Giuria concorda, infine, sulle motivazioni e sulla proposta di valutare in una popolazione vaccinata l'uso di test di HPV validati per lo screening che permettano anche la rilevazione del tipo o tipi di HPV coinvolti, o almeno la distinzione di quelli oggetto della vaccinazione (attualmente HPV16 e 18).

HPV

Test validati per lo screening con genotipizzazione: sono davvero tutti uguali?

- 1
 - 1-Parziale 16/18
 - other 12 hr-hpv
- 2
 - 2-individual Hpv 16/
 - 4 groupes for 12 Hr HPV types
 - 18-45 31,33,35,52,58
 - 51-59. 39-56-66-68
- 3
 - 3-Tipizz individuale x 16/18/45
 - 2 groups for 11 other Hr HPV
 - 31-33-52-58;
 - 35-39-51-56-59-66-68
- 4
 - 4-individual results for 6 high-risk 16,18, 31,45,51,52
 - and 3 groups result for the remaining 8 high-risk genotypes:
 - 35-39-68 56-59-66 33-58
- 5
 - 5-Full individual genotyping 14 hr

	1	2	3	4	5
16	16	16	16	16	16
18	18	18	18	18	18
31	31	45	45	31	31
33	33	31	31	45	33
35	35	33	33	51	35
45	45	35	52	52	45
39	39	52	58	35	39
51	51	58	35	39	51
52	52	51	39	68	52
56	56	59	51	56	56
58	58	39	56	59	58
59	59	56	59	66	59
66	66	66	66	33	66
68	68	68	68	58	68

Per inserire la genotipizzazione nei protocolli necessarioun aggiornamento Linee Guida e poi dei protocollo



LINEE GUIDA BIOMARCATORI

SISTEMA NAZIONALE LINEE GUIDA DELL'ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ



Linee guida condivise per la prevenzione del carcinoma della cervice uterina.

Follow-up post trattamento per CIN3

Raccomandazione: vaccino anti-HPV post trattamento

Linea guida pubblicata nel Sistema Nazionale Linee Guida

Roma, 21 luglio 2020

Raccomandazioni per la gestione delle donne in follow-up post trattamento per CIN2 e CIN3

Raccomandazioni pubblicate nel Sistema Nazionale Linee Guida

Roma, 14 ottobre 2021

Biomarcatori nello screening cervicale con test HPV (9 società scientifiche)

Gennaio 2020 - Work in progress

Work in Progress



BUON LAVORO
e grazie per l'attenzione

francesca.carozzi@unifi.it

