



GISCI

Gruppo Italiano Screening del Cervicocarcinoma

TEST HPV VALIDATI PER LO SCREENING DEL CARCINOMA DELLA CERVICE UTERINA

- **Documento di presentazione**

- attività e modalità di lavoro

- **Rapporto N. 9, versione 9.1**

Revisione 24/01/2025

- **Aggiornato paragrafo “Validazione test HPV che forniscono genotipizzazione (parziale, estesa, completa)”**
- **il presente documento sostituisce il precedente**

Coordinatori Gruppo di lavoro:

Annarosa Del Mistro, Basilio Ubaldo Passamonti

Documento redatto da:

Annarosa Del Mistro, Paolo Giorgi-Rossi, Basilio Ubaldo Passamonti, Francesca Maria Carozzi, Laura De Marco.

Approvato dal Comitato di Coordinamento GISCI in data 24/01/2025

Elenco componenti del gruppo di lavoro:

Annarosa Del Mistro, IOV-IRCCS Padova
Helena Frayle, IOV-IRCCS Padova
Silvia Gori, IOV-IRCCS Padova
Basilio Ubaldo Passamonti, Perugia
Simonetta Bulletti, AUSL Umbria 1 Perugia
Laura De Marco, CPO Torino
Francesca Maria Carozzi, Firenze
Anna Iossa, Firenze
Cristina Sani, ISPRO Firenze
Elena Burroni, USL Toscana Sud Est – Arezzo
Stefano Galiberti, USL Toscana Sud Est – Arezzo
Simonetta Bisanzi, ISPRO Firenze
Serena Giunti, ISPRO Firenze
Giampaolo Pompeo, ISPRO Firenze
Irene Paganini, ISPRO Firenze
Ornella Cutaia, ISPRO Firenze
Sara Galastri, ISPRO Firenze
Alessandra Mongia, ISPRO Firenze
Maria Teresa Sandri, Bialalisi Milano
Paolo Giorgi Rossi, AUSL Reggio Emilia
Francesca Maria Anedda, ASL di Cagliari
Morena d’Avenia, ASL Bari
Clementina Cocuzza, Università Milano-Bicocca
Marianna Martinelli, Università Milano-Bicocca
Elisa Meroni, ASST Lecco
Concetta Fumia, Catanzaro
Francesco Genovese, ASP Palermo
Andrea Amico, Osp. S. Anna Ferrara

Le dichiarazioni relative al conflitto di interesse e di approvazione del documento sono conservate presso la Segreteria GISCI e consultabili su richiesta.

Per comunicazioni: Segreteria GISCI - segreteria@gisci.it

La versione elettronica di questo documento è accessibile dai siti:
www.osservatorionazionale screening.it- www.gisci.it

CRONOLOGIA:

Rapporto N.1: aprile 2016 - Rapporto N.1 versione 1.1: maggio 2016

Rapporto N.2: 29 dicembre 2016

Rapporto N.3: 29 dicembre 2017

Rapporto N.4: 17 gennaio 2019

Rapporto N.5: 31 marzo 2020

Rapporto N.6: 22 marzo 2021

Rapporto N.7: 10 giugno 2022

Rapporto N.8: 23 giugno 2023

Rapporto N.9: 3 luglio 2024 - Rapporto N.9 versione 9.1: gennaio 2025

Documento di presentazione

Mandato ONS

L'ONS ha dato mandato al GISCI di predisporre un aggiornamento periodico dei "Test HPV validati per lo screening" (documento di riferimento: Rapporto HTA HPV del 2012).

Il 21 maggio 2015 a Finalborgo (SV), nel corso del Convegno nazionale 2015, l'assemblea GISCI ha recepito con voto unanime il mandato dell'ONS al GISCI per questa attività.

Obiettivi

Il documento prodotto dal gruppo riporta quali test HPV possono essere considerati clinicamente validati per l'uso come test primario dello screening, e sarà uno strumento utile alle Regioni che implementeranno lo screening cervicale con HPV primario, secondo quanto riportato nel Piano Nazionale della Prevenzione (PNP) 2014-2018 (entro il 2019). L'implementazione prevede l'applicazione del protocollo descritto nel documento di indirizzo del Ministero della Salute del gennaio 2013, dove è specificato che per lo screening HPV devono essere utilizzati test a DNA validati secondo quanto riportato nel documento HTA HPV del 2012. A questo scopo, è necessario mantenere aggiornato l'elenco dei test clinicamente validati.

Modalità di lavoro per l'aggiornamento dell'elenco dei test validati.

Il documento è il risultato della revisione sistematica della letteratura sui test HPV validati per lo screening, fatta sulla base delle raccomandazioni di Meijer et al, 2009, che prevedono i seguenti componenti PICOS:

P (population): donne aderenti a programmi di screening cervicale, di età 30-64 anni

I (intervention): utilizzo di test hrHPV diverso da HC2 (Qiagen) e da GP5+/6+ PCR-EIA

C (comparator): HC2 (Qiagen), GP5+/6+ PCR-EIA [comparator di prima generazione]; Anyplex (Seegene), cobas 4800 (Roche), Onclarity (BD Diagnostics), RealTime (Abbott) [comparator di seconda generazione, vedi pag. 6 per dettagli]

O (outcome): sensibilità e specificità per CIN2+; riproducibilità intra- e inter-laboratorio

S (study): studi di validazione condotti secondo i criteri di Meijer et al, 2009.

L'aggiornamento avrà cadenza annuale.

Saranno presi in considerazione i seguenti dati:

- sensibilità clinica per CIN2+, che deve essere non inferiore al 90% rispetto a quella del test di riferimento (vedi sopra elenco comparator);
- specificità clinica per CIN2+, che deve essere non inferiore al 98% rispetto a quella del test di riferimento (vedi sopra elenco comparator);
- provenienza e composizione dei campioni utilizzati: deve trattarsi di campioni consecutivi e random da donne di età sopra i 30 anni che hanno partecipato a programmi di screening (è cruciale che i campioni siano rappresentativi della popolazione generale);
- riproducibilità intra- ed inter-laboratorio.

Ogni aggiornamento verrà identificato come "Rapporto N. 1...e seguenti", comprenderà un report descrittivo, con allegate due tabelle aggiornate, comprendenti le seguenti informazioni:

- Nome (completo e abbreviato) del test validato
- Produttore
- Metodologia utilizzata nel test
- Mezzo di prelievo indicato nel datasheet del test
- Riferimenti bibliografici specifici, con area geografica, tipo di studio effettuato e mezzo di prelievo testato in ogni studio

- Informazioni su: numero e origine dei casi e dei controlli analizzati nello studio di validazione, dati analitici su sensibilità e specificità clinica e riproducibilità intra- e inter-laboratorio.

Nell'elenco (relativo ai test HPV-DNA utilizzati su campioni prelevati da operatore) saranno riportate la data di pubblicazione e quella del successivo aggiornamento. Nel caso si renda necessario apportare modifiche al testo non legate ad una nuova revisione della letteratura (quindi prima della data prevista per l'aggiornamento successivo), verrà emessa una revisione che sarà identificata come "versione" del report in corso (es. Rapporto N. 1, versione 1.1).

L'analisi dei dati degli articoli (vedi regolamento più avanti) può richiedere l'esecuzione di calcoli aggiuntivi a quelli riportati, laddove siano presenti i dati necessari, in linea con le regole di Meijer (Int J Cancer 2009;124:516-520). Le eventuali analisi aggiuntive saranno descritte nel report di accompagnamento dell'aggiornamento.

Regolamento

1. Fonte degli articoli

Verranno ricercati articoli originali in PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), in Embase (www.elsevier.com), e in Scopus (www.scopus.com), e meta-analisi su altre banche dati, quali Medline (www.nlm.nih.gov), Cochrane Library (www.cochranelibrary.com), Center for Reviews and Dissemination (www.crd.york.ac.uk), utilizzando la stringa riportata nella revisione di Arbyn et al, 2015.

Una volta individuate le pubblicazioni che rispondono ai requisiti di selezione, si procederà ad un controllo incrociato delle referenze bibliografiche per verificare che non siano sfuggite delle pubblicazioni rilevanti, o perché non colte dalla stringa di ricerca o perché non indicizzate in PubMed. Nel caso di riviste non indicizzate in PubMed, si procederà ad un controllo dell'effettiva peer-review.

2. Valutazione qualità

Le pubblicazioni individuate saranno valutate per controllare se i metodi utilizzati rispecchino effettivamente i criteri per la validazione del test.

3. Esecuzione di ulteriori analisi

Il gruppo GISCI può decidere di effettuare calcoli aggiuntivi (secondo le linee-guida di Meijer), per test (es. di non inferiorità) non riportati nell'articolo, nei casi in cui i dati siano disponibili e sufficienti. Qualora fossero presenti più lavori con risultati non coerenti fra loro il gruppo potrà decidere di effettuare una meta-analisi dei dati.

4. Composizione del gruppo

Gruppo multidisciplinare composto da soci GISCI.

5. Conflitti di interesse

Autodichiarazione.

6. Validazione di test HPV non a DNA

La valutazione di test non basati sulla ricerca del DNA dei tipi HPV ad alto rischio non rientra negli scopi di questo documento.

L'attività del gruppo di lavoro è funzionale all'applicazione delle linee-guida italiane ed europee per lo screening cervicale che per ora raccomandano test a DNA e di conseguenza riguarderà solo la valutazione di test a DNA.

NOTA: le linee-guida internazionali (Meijer et al, 2009) sui test validati per lo screening sono in corso di aggiornamento, secondo quanto riportato in Arbyn & Hillemans, 2018. Ad oggi (data di pubblicazione di questo Rapporto), l'aggiornamento delle linee-guida internazionali non è ancora stato pubblicato, ma il gruppo di ricercatori e operatori di sanità pubblica europei autori della revisione sistematica pubblicata nel 2021 (Clin Microbiol Infect 2021;27:1083-1095) ha riportato quanto segue: *“Nonostante questi criteri di validazione cross-sectional siano stati sviluppati per i*

test HPV DNA, li abbiamo applicati anche per i test a mRNA.” “APTIMA, che rileva qualitativamente mRNA di E6 o E7 di 14 tipi ad alto rischio, soddisfa i criteri cross-sectional di Meijer, ma ulteriori dati longitudinali sulla sicurezza sono necessari per valutare la durata della rassicurazione fornita da un test negativo.” I dati relativi al secondo round del progetto pilota inglese di screening pubblicati il 31/05/2022 (BMJ 2022;376:e068776) rispondono a questo bisogno conoscitivo e dimostrano una sicurezza longitudinale dopo un test APTIMA negativo a 3-5 anni (intervallo di screening diversificato per età) sovrapponibile a quella dopo un test HPV-DNA (cobas 4800 o Real-time) negativo, sia misurandola con l'incidenza cumulativa di CIN3+, sia di cancri invasivi. Nella risposta degli autori a una *Letter to the Editor*, pubblicata in Lancet Oncology in ottobre 2022, viene confermata l'accettabilità di Aptima come test di screening primario se si adottano intervalli non superiori a 5 anni e un prelievo clinico in ambulatorio, cioè non per l'autoprelievo (Lancet Oncol 2022;23:e436; Lancet Oncol 2022;23:e437).

Nuove sfide/necessità nella validazione clinica dei test HPV per lo screening

L'aggiornamento delle linee-guida internazionali sono ancora in fase di stesura, ma si ritiene utile riportare alcune indicazioni emerse durante il recente convegno EUROGIN 2024 (13-16 marzo 2024, Stoccolma, Svezia).

A- Test di comparazione di seconda generazione

Secondo quanto presentato da Arbyn (Belgian Cancer Center, Sciensano, Brussels, Belgium), in rappresentanza del gruppo di lavoro che sta rivedendo le raccomandazioni per la validazione clinica, al convegno EUROGIN 2024 (presentazione “New guidelines for HPV test validation and current list of validated HPV tests”, sessione “Validation of HPV assays”), sono stati presentati i criteri per i test di comparazione di seconda generazione, che:

- devono rilevare tutti i 12 genotipi HPV inclusi nel gruppo I della IARC
- dovrebbero preferenzialmente non rilevare genotipi HPV probabilmente o possibilmente carcinogenici
- devono essere stati completamente validati secondo i criteri Meijer in almeno tre studi indipendenti pubblicati in riviste peer-reviewed (con valutazione della riproducibilità in almeno uno studio)
- come end-point, oltre a CIN2+, è richiesto anche CIN3+

e sono stati indicati i test che al momento soddisfano tali criteri: Anyplex (Seegene); cobas 4800 (Roche); Onclarity (BD Diagnostics); RealTime (Abbott). I dati sono poi stati pubblicati (Arbyn et al, 2024).

B- Validazione test HPV da utilizzare su campioni auto-prelevati

Le raccomandazioni del Consiglio Europeo indicano l'auto-prelievo come possibile strumento per aumentare la partecipazione delle donne che non aderiscono allo screening. Anche gli studi condotti in Italia hanno mostrato un incremento della partecipazione, ma non ci sono attualmente Linee Guida italiane specifiche. In un recente documento ONS – CBIG-SCREEN, l'offerta di auto-prelievo a donne vulnerabili (offerta opportunistica), è considerata una modalità promettente per aumentare la copertura di questa categoria e dovrebbe essere valutata in adeguate sperimentazioni. Al contrario, l'offerta dell'auto-prelievo come prima opzione a donne che avevano precedentemente aderito allo screening ha ottenuto una partecipazione molto inferiore all'invito standard in ambulatorio (questa strategia può quindi essere fatta solo nell'ambito di sperimentazioni controllate con modalità innovative e contesto-specifiche) (documento ONS – CBIG-SCREEN).

In riferimento alla validazione clinica dei test HPV da utilizzare su campioni auto-prelevati, devono essere considerati alcuni aspetti peculiari relativi a questo metodo di campionamento rispetto ai prelievi da operatore. In particolare:

- la validazione è specifica per mezzo di trasporto e dispositivo di prelievo

- le procedure di processazione del campione influenzano il risultato
- i criteri di validazione non sono ancora stati definiti.

Il protocollo VALHUDES (Arbyn et al, 2018) utilizzato finora per la validazione dei test HPV su campioni auto-prelevati è sostanzialmente diverso da quello di Meijer:

- è su popolazione referral e non su popolazione di screening (quindi con una diversa prevalenza di patologia);
- il numero di casi (CIN2+) e di controlli (CIN1-) è simile (anzichè molto più alto per i controlli);
- applica una soglia di non inferiorità per la specificità di 0.95 anzichè 0.98 (→ in una popolazione di screening questa diminuzione della specificità comporta un forte aumento dei falsi positivi);
- propone un doppio passaggio di non inferiorità, cioè A) validazione secondo Meijer del test su campione clinico verso un test reference, B) validazione con il protocollo VALHUDES del test su auto-prelievo come non inferiore a se stesso.

Per questi motivi, al momento, le linee guida di validazione di VALHUDES dono dunque da applicare a test che siano stati validati con le regole Meijer per il prelievo clinico, qualora si intenda applicare il test su auto-prelievo all'interno delle indicazioni attuali per il suo uso, cioè nelle non rispondenti. Al contrario, un uso dell'auto-prelievo su popolazioni differenti deve essere considerato solo all'interno di sperimentazioni strettamente monitorate; poichè i test validati secondo il protocollo VALHUDES, data la soglia di non inferiorità per la specificità relativa posta a 0.95, potrebbero determinare un forte aumento del numero delle colposcopie, devono essere localmente valutati i benefici e gli svantaggi, nonchè la sostenibilità del programma.

Nel presente rapporto non verrà riportata una lista dei test e relativi dispositivi di auto-prelievo validati con il protocollo VALHUDES, e si rimanda alle singole pubblicazioni, individuabili in PubMed utilizzando i seguenti termini di ricerca: self-sampling, HPV testing, clinical validation, VALHUDES.

Qualora le linee guida italiane venissero aggiornate in relazione all'uso dell'auto-prelievo, il gruppo di lavoro produrrà un aggiornamento del presente documento con indicazioni anche su questo aspetto.

C- Validazione test HPV che forniscono genotipizzazione (parziale, estesa, completa)

Secondo le linee-guida europee ed italiane, il protocollo di screening in uso è basato sulla presenza/assenza di tipi HPV ad alto rischio, ed è indipendente dal genotipo/i presente/i.

La validazione clinica secondo il protocollo Meijer valuta la performance sul risultato HPV positivo/negativo indipendentemente dalla possibilità del test di fornire un risultato di genotipizzazione (parziale, estesa o completa). Inoltre, al momento, a livello internazionale non sono ancora stati definiti criteri di validazione specifici per la genotipizzazione.

L'uso dei biomarcatori p16/ki67 e genotipizzazione (parziale ed estesa), potenzialmente utili nel triage delle donne HPV-positive, è stato valutato secondo il metodo GRADE e le "Raccomandazioni per l'utilizzo di biomarcatori nello screening cervicale con test HPV" sono state pubblicate il 29/08/2024 nelle linee-guida condivise sulla prevenzione del cervicocarcinoma (documento disponibile nei siti web del Sistema Nazionale Linee Guida (SNLG), del GISCI, dell'ONS) [links riportati in bibliografia]. La strategia individuata dal panel come più vantaggiosa prevede l'utilizzo della genotipizzazione estesa in aggiunta alla citologia o alla doppia colorazione p16/ki67, con invio a 3 anni delle donne negative al test morfologico (citologia o p16/ki67) e positive solo per genotipi a basso potenziale oncogeno (HPV 39-51-56-59-66-68), in quanto comporta una riduzione di colposcopie e di episodi, ed è sufficientemente sicura (rischio inferiore a quello dato dalla citologia negativa a 3 anni). Questa strategia è fattibile e sostenibile solo se il test HPV utilizzato per lo screening primario fornisce la genotipizzazione estesa. Come riportato in Tabella 1, fra i diciannove test clinicamente validati, tre forniscono genotipizzazione estesa (con diverse modalità di

raggruppamento dei tipi HPV-HR) e sette completa. Per i tipi HPV-HR individuati da ciascun test e gli eventuali raggruppamenti si rimanda ai manuali dei singoli test.

Bibliografia

Arbyn M, Snijders PJF, Meijer CJLM, Berkhof H, Cuschieri K, Kocjan BJ, Poljak M. Which high-risk HPV assays fulfil criteria for use in primary cervical cancer screening? *Clin Microbiol Infect* 2015;21:817-826. doi: 10.1016/j.cmi.2015.04.015.

Arbyn M, Peeters E, Benoy I, Vanden Broeck D, Bogers J, De Sutter P, Donders G, et al. VALHUDES: a protocol for validation of human papillomavirus assays and collection devices for HPV testing on self-samples and urine samples. *J Clin Virol* 2018;107:52-56.

Arbyn M, Hillemanns P. (2018) HPV assays validated for primary cervical cancer screening. www.HPVWORLD.com, 55.

Arbyn M, Simon M, Peeters E, Xu L, Meijer CJLM, Berkhof H, et al. 2020 list of human papillomavirus assays suitable for primary cervical cancer screening. *Clin Microbiol Infect* 2021;27:1083-1095. doi: 10.1016/j.cmi.2021.04.031.

Arbyn M, Canfell K, Pljak M, Berkhof J, de Sanjosè S, Wentzensen N. HPV mRNA testing in cervical cancer screening. *Lancet Oncol* 2022;23:e437.

Arbyn M. New guidelines for HPV test validation and current list of validated HPV tests. EUROGIN 2024 (13-16 marzo 2024, Stoccolma, Svezia; sessione Validation of HPV assays).

Giorgi Rossi P, Rebolj M. HPV mRNA testing in cervical cancer screening. *Lancet Oncol* 2022;23:e436.

Meijer CJ, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, Franco EL, Ronco G, Arbyn M, Bosch FX, Cuzick J, Dillner J, Heideman DA, Snijders PJ. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int J Cancer* 2009;124:516-20.

Osservatorio Nazionale Screening, CBIG-SCREEN Project. Indicazioni sull'uso dell'auto-prelievo nei programmi di screening del cancro della cervice: analisi delle opportunità e delle criticità. 2023. <https://www.osservatorionazionalescreening.it/sites/default/files/allegati/Executive%20Summary%20Progetto%20CBIG-%20SCREEN.pdf>.

Piano Nazionale della Prevenzione 2014-2018.

www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2285_allegato.pdf.

Rebolj M, Cuschieri K, Mathews CS, Pesola F, Denton K, Kitchener H. Extension of cervical screening intervals with primary human papillomavirus testing: observational study of English screening pilot data. *BMJ* 2022;376:e068776.

Ronco G, Biggeri A, Confortini M, Naldoni C, Segnan N, Sideri M, Zappa M, Zorzi M, Calvia M, Accetta G, Giordano L, Cogo C, Carozzi F, Gillio Tos A, Arbyn M, Meijer CJ, Snijders PJ, Cuzick J, Giorgi Rossi P. Health Technology Assessment report: HPV DNA based primary screening for cervical cancer precursors. *Epidemiol Prev.* 2012;36(3-4 Suppl 1):1-72. Italian

Ronco G, Arbyn M, Meijer CJLM, Snijders PJF, & Cuzick J (2015). Screening for cervical cancer with primary testing for human papillomavirus. S1. In: European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Second edition, Supplements. Anttila A, Arbyn M, De Vuyst H, Dillner J, Dillner L, Franceschi S, Patnick J, Ronco G, Segnan N, Suonio E, Törnberg S & von Karsa L (eds.). Office for Official Publications of the European Union, Luxembourg, pp. 1–68.

Von Karsa L, Arbyn M, De Vuyst H, Dillner J, Dillner L, Franceschi S, Patnick J, Ronco G, Segnan N, Suonio E, Tornberg S, Anttila A. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Summary of the supplements on HPV screening and vaccination. Papillomavirus Res 2015;1:22-31.

Arbyn M, Cuschieri K, Bonde J, Schuurman R, Cocuzza C, Vanden Broeke D, Zhao FH, Rezhake R, Gultekin M, de Sanjosé S, Canfell K, Hawkes D, Saville M, Hillemans P, Dillner J, Berkhof J, Prétet JL, Gheit T, Clifford G, Basu P, Almonte M, Wentzensen N, Pljak M. Criteria for second generation comparator tests in validation of novel HPV DNA tests for use in cervical cancer screening. J Med Virol 2024;96:e29881.

Linee guida condivise sulla prevenzione del cervicocarcinoma “Raccomandazioni per l’utilizzo di biomarcatori nello screening cervicale con test HPV”, 29/08/2024:

https://www.iss.it/documents/20126/8403884/LG_197_GISCI_Biomarcatori-screening-cervicale_29ago24.pdf/40999ebc-246c-fe99-d483-4da375d9f76a?t=1724836991806

https://gisci.it/documenti/linee-guida/LG_197_GISCI_Biomarcatori-screening-cervicale_29ago24.pdf

Rapporto di aggiornamento N. 9.1

Documenti e criteri di riferimento:

- Attività approvata nell'assemblea GISCI tenutasi in data 21/05/2015 a Finalborgo (SV)
- Modalità di lavoro illustrate nel documento di presentazione del gruppo, accessibile dai siti: www.osservatorionazionalecreening.it – www.gisci.it
- Linee-guida di riferimento: Meijer et al. Guidelines for human papilloma virus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int J Cancer* 2009;124:516-520 → Criteri di equivalenza di performance mediante studi trasversali in popolazioni di screening (sensibilità e specificità clinica per lesioni CIN2+, riproducibilità intra- ed inter-laboratorio)
- Linee guida europee: European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Second edition, Supplements (von Karsa et al, 2015).
- Rapporto HTA: Ronco et al. Health Technology Assessment. Ricerca del DNA di Papillomavirus Umano (HPV) come test primario per lo screening dei precursori del cancro del collo dell'utero. HPV DNA based primary screening for cervical cancer precursors. *EpidemiolPrev* 2012;36(3):S1
- Piano Nazionale della Prevenzione (PNP) 2014-2018
- Revisione della letteratura: Arbyn et al. Which high-risk HPV assays fulfil criteria for use in primary cervical cancer screening? *Clin Microbiol Infect* 2015;21:817-826.
- Revisione della letteratura: Arbyn et al. 2020 list of human papillomavirus assays suitable for primary cervical cancer screening. *Clin Microbiol Infect* 2021;27:1083-1095.
- Revisione sistematica e meta-analisi sulla specificità degli studi di validazione dei test Cervista e Onclarity, i cui risultati erano già riportati nell'Allegato 3 del Rapporto N.1.
- Relazioni presentate al convegno EUROGIN 2024 (13-16 marzo 2024, Stoccolma, Svezia).

L'aggiornamento della revisione sistematica fatto secondo la metodologia riportata sopra è in linea con quanto riportato nella revisione pubblicata nel 2015 (*Clin Microbiol Infect* 2015;21:817-826) e nel 2021 (*Clin Microbiol Infect* 2021;27:1083-1095) da un gruppo di ricercatori e operatori di sanità pubblica europei. Nella revisione sistematica più recente, gli autori hanno escluso dall'analisi i test sviluppati in-house in quanto non commercialmente disponibili e privi di registrazione da parte di un ente regolatore; hanno inoltre discusso e analizzato l'uso di test di comparazione diversi da HC2 e GP5+/6+, riconoscendo che serve una più ampia discussione sulla loro accettabilità, ma dimostrando la completa assenza di eterogeneità nell'accuratezza relativamente all'uso di test di comparazione differenti.

I test HPV a DNA Hybrid Capture 2 (HC2, Qiagen) e GP5+/6+ PCR-EIA (GP5+/6+ EIA; Diassay), validati in studi clinici randomizzati ed utilizzati come test di comparazione per gli altri test, sono riportati nelle prime due righe della Tabella 1.

Sulla base dei risultati degli studi clinici randomizzati e degli studi di comparazione fatti secondo i criteri sopra riportati e pubblicati in riviste con peer-review (vedi bibliografia specifica), ad oggi diciannove test per la ricerca di sequenze DNA dei tipi HPV ad alto rischio risultano completamente validati (molti in più studi): Abbott RT, Cobas 4800, PapilloCheck, HPV-Risk-Assay, Cervista, Onclarity, Anyplex II, Xpert, RealQuality RQ-HPV, cobas 6800, Alinity m, NeuMoDx, OncoPredict HPV SCR, HPV Selfy, Allplex HPV HR, Vitro HPV, OncoPredict HPV QT; due test risultano validati solo utilizzando dei valori soglia di positività ottimizzati a posteriori: EUROArray, HybriBio's HBRT-H14; per due test manca la valutazione della riproducibilità intra- ed inter-laboratorio: HybriBio's HBRT-H14, Papilloplex. Questi ultimi tre test sono considerati parzialmente validati.

Le caratteristiche e i dati degli studi di validazione sono dettagliati nelle Tabelle 1 e 2.

NOTE: 1) in linea con quanto riportato sopra, il test HPVIR (laboratory developed test) è stato tolto dalle Tabelle; 2) il test NeuMoDx Qiagen è la versione automatizzata del test HPV-Risk assay.

Nella Tabella 2 sono riportate informazioni su: numero e origine dei casi e dei controlli analizzati nello studio di validazione (in alcuni studi i range di età delle donne sono più ampi rispetto a quelli previsti nei criteri di Meijer, ma risultano compensati dalla maggiore numerosità), dati analitici su sensibilità e specificità clinica e riproducibilità intra- e inter-laboratorio.

Tutti i test validati rilevano i 12 tipi ad alto rischio (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59), più nella maggior parte dei test 1, 2 o 3 tipi a probabile/possibile alto rischio (HPV 66, 67, 68) (per le specifiche, vedere i datasheets dei test).

Sono state valutate solo le caratteristiche di validazione del dato clinico, mentre non rientrano in questo contesto gli aspetti legati all'automazione e alla produttività.

Nella Tabella 3 sono riportate, esclusivamente a puro titolo informativo, in quanto non rientrano nei criteri di validazione dei test, alcune informazioni generali sui sistemi strumentali di preanalitica ed analitica ed i mezzi di prelievo indicati in scheda tecnica dalla ditta produttrice del test.

Il test HPV si inserisce all'interno del protocollo di screening definito dalle linee guida europee e nazionali, ed i risultati di tutto il percorso vengono raccolti e monitorati.

Come indicato nel documento GISCI “Raccomandazioni sul test HR-HPV come test di screening primario” (https://gisci.it/documenti/documenti_gisci/Raccomandazioni_test_hr-hpv_2017.pdf), tutti i laboratori centralizzati per l'esecuzione dei test HPV di screening devono effettuare controlli di qualità interni e partecipare a programmi di verifica esterna di qualità.

Data ultima verifica degli articoli pubblicati: 30/04/2024.

Bibliografia generale di riferimento

Arbyn M, Snijders PJF, Meijer CJLM, Berkhof H, Cuschieri K, Kocjan BJ, Poljak M. Which high-risk HPV assays fulfil criteria for use in primary cervical cancer screening? *Clin Microbiol Infect* 2015;21:817-826. doi: 10.1016/j.cmi.2015.04.015. Epub 2015 May 1.

Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, Terry G, Liddle S, Wright C, Lyons D, Szarewski A. Comparing the performance of six human Papilloma virus tests in a screening population. *Br J Cancer* 2013;108:908-13. doi: 10.1038/bjc.2013.22. Epub 2013 Jan 31. PubMed PMID: 23370211; PubMed Central PMCID: PMC3590662.

Ejegod DM, Lagheden C, Bhatia R, Pedersen H, Alcaniz Boada E, Sundstrom K, Cortes J, Bosch Jose FX, Cuschieri K, Dillner J, Bonde J. Clinical validation of full genotyping CLART HPV4S assay on SurePath and ThinPrep collected screening samples according to the international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *BMC Cancer* 2020;20:396.

Garland SM, Iftner T, Cuschieri K, Kaufmann AM, Arbyn M, de Sanjosè S, et al. IPVS policy statement on HPV nucleic acid testing guidance for those utilising/considering HPV as primary precancer screening: quality assurance and quality control issues. *J Clin Virol* 2023;159:105349.

Geraets DT, Cuschieri K, de Koning MNC, van Doorn LJ, Snijders PJF, Meijer CJLM, Quint WGV, Arbyn M. Clinical evaluation of a GP5+/6+-based luminex assay having full high-risk human papillomavirus genotyping capability and an internal control. *J Clin Microbiol* 2014;52:3996-4002.

Meijer CJ, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, Franco EL, Ronco G, Arbyn M, Bosch FX, Cuzick J, Dillner J, Heideman DA, Snijders PJ. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int J. Cancer* 2009;124:516-20.

Passamonti B, Gustinucci D, Giorgi Rossi P, Cesarini E, Bulletti S, Carlini A, Martinelli N, Broccolini M, D'Angelo V, D'Amico MR, Di Dato E, Galeazzi P, Malaspina M, Spita N, Tintori B, Giaimo MD. Cervical human papilloma virus (HPV) DNA primary screening test: Results of a population-based screening programme in central Italy. *J Med Screen* 2017;24:153-162. doi: 10.1177/0969141316663580.

Ronco G, Biggeri A, Confortini M, Naldoni C, Segnan N, Sideri M, Zappa M, Zorzi M, Calvia M, Accetta G, Giordano L, Cogo C, Carozzi F, Gillio Tos A, Arbyn M, Meijer CJ, Snijders PJ, Cuzick J, Giorgi Rossi P. Health Technology Assessment report: HPV DNA based primary screening for cervical cancer precursors. *Epidemiol Prev.* 2012;36(3-4 Suppl 1):1-72. Italian

Ronco G, Arbyn M, Meijer CJLM, Snijders PJF, & Cuzick J (2015). Screening for cervical cancer with primary testing for human papillomavirus. S1. In: European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Second edition, Supplements. Anttila A, Arbyn M, De Vuyst H, Dillner J, Dillner L, Franceschi S, Patnick J, Ronco G, Segnan N, Suonio E, Törnberg S & von Karsa L (eds.). Office for Official Publications of the European Union, Luxembourg, pp. 1–68.

Szarewski A, Mesher D, Cadman L, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, Terry G, Liddle S, Young M, Stoler M, McCarthy J, Wright C, Bergeron C, Soutter WP, Lyons D, Cuzick J. Comparison of seven tests for high-grade cervical intraepithelial neoplasia in women with abnormal smears: the Predictors 2 study. *J Clin Microbiol* 2012;50:1867-73. doi: 10.1128/JCM.00181-12. Epub 2012 Mar 14. PubMed PMID: 22422852; PubMed Central PMCID: PMC3372127.

Wright TC, Stoler MH, Behrens CM, Sharma A, Zhang G, Wright TL. Primary cervical cancer screening with human papillomavirus: end of study results from the ATHENA study using HPV as the first-line screening test. *Gynecol Oncol* 2015;136:189-97. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.11.076.

Tabella 1 del Rapporto N. 9.1 - Test HPV sottoposti a validazione clinica su prelievo da operatore al 30/04/2024

TEST VALIDATO (NOME ABBREV.)	PRODUTTORE	METODOLOGIA	REFERENZE BIBLIOGRAFICHE degli STUDI DI VALIDAZIONE, area geografica, tipo di studio e mezzo di prelievo utilizzato negli studi di validazione	NOTE e COMMENTI sui risultati della validazione clinica	GENOTIPIZZAZIONE
Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA test (HC2)	Qiagen, USA	Ibridizzazione con amplificazione del segnale	Test di riferimento usato in molti studi clinici randomizzati, compreso NTCC		No **
GP5+/6+ PCR-EIA (GP5+/6+ EIA)	Diassay, Olanda	PCR	Test di riferimento usato nel trial POBASCAM		No
RealTime High Risk HPV test (Abbott RT hrHPV test)	Abbott, Germania	Real-time PCR	Carozzi et al, 2011 – Italia – retrospettivo / STM Poljak et al, 2011 – Slovenia – prospettico/ThinPrep Hesselink et al, 2013 – Olanda – retrosp. / non specificato	Test completamente validato.	Sì, parziale **
Cobas 4800 HPV test (Cobas 4800)	Roche, USA	Real-time PCR	Heideman et al, 2011 – Olanda – retrosp. / UCM Lloveras et al, 2013 – Spagna – retrosp. / ThinPrep Ejegod et al, 2020 – Danimarca – retrosp. / SurePath	Test completamente validato.	Sì, parziale
PapilloCheck HPV-screening test (PapilloCheck)	Greiner Bio-One, Germania	Tecnologia PCR – chip	Hesselink et al, 2010 – Olanda – retrosp. / PBS Heard et al, 2016 – Olanda – retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato per la versione con 14 tipi di HPV.	Sì, completa**
Cervista HPV HR test (Cervista)	Hologic, USA	Tecnologia invader	Boers et al, 2014 – Cina, Olanda – prosp. / ThinPrep Alameda et al, 2015 –Portogallo–retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato.	No
BD Onclarity HPV assay (BD Onclarity)	BD Diagnostics, USA	Real-time PCR	Ejegod et al, 2014 – Danimarca, Inghilterra – retrosp. / ThinPrep Cuschieri et al, 2015 – Scozia – retrosp. / ThinPrep Ejegod et al, 2016 – Danimarca – retrosp. SurePath Bonde et al, 2020 – Danimarca – retrosp. SurePath Ejegod et al, 2022 – Danimarca - retrosp. SurePath	Test completamente validato.	Sì, estesa **
HPV-Risk assay (HPV-Risk assay)	Self-Screen, Olanda (commercializzato da Fujirebio)	Real-time PCR	Hesselink et al, 2014 – Olanda – prosp. / ThinPrep Polman et al, 2017 – Olanda/Slovenia – retrosp. / ThinPrep Heideman et al, 2019 – Danimarca – retrosp. SurePath	Test completamente validato.	Sì, parziale
Anyplex II HPV HR Detection (Anyplex II)	Seegene, Korea	Real-time PCR	Hesselink et al, 2016 – Olanda – retrosp. / ThinPrep Jung et al, 2016 – Korea – retrosp. / Huro Path Ostrbenk et al, 2018 – Slovenia – retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato.	Sì, completa
Xpert HPV assay (Xpert)	Cepheid, USA	Cartridge-based real-time PCR assay	Cuschieri et al, 2016 – Scozia, Inghilterra - retrosp. / ThinPrep Akbari et al, 2018 – Belgio – retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato.	Sì, estesa

RealQuality RQ-HPV screen	AB Analitica, Italia	Real-time PCR	Iacobellis et al, 2018 – Italia – retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato.	Sì, parziale
Cobas 6800 HPV test (Cobas 6800/8800)	Roche, USA	Real-time PCR	Saville et al, 2019 – Australia – retrosp. / ThinPrep Frayle, Gori et al, 2019 – Italia – retrosp. / ThinPrep Sundström et al 2021 - Svezia – retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato	Sì, parziale
Alinity m HR HPV assay	Abbott Molecular, USA	Qualitative in vitro test for use with the automated Alinity m System	Ostrbenk Valencak et al, 2020 – Slovenia – retrosp. / ThinPrep Dhillon et al., 2021-Slovenia- retrosp / ThinPrep	Test completamente validato	Sì, estesa
NeuMoDx HPV assay	Qiagen, USA	Real-time PCR	Heideman DAM, 2022 – Slovenia – retrosp. / ThinPrep + SurePath	Test completamente validato	Sì, parziale
HPV Selfy assay	Ulisse BioMed	Real-time PCR e melting curve analysis	Avian A, 2022 – Italia retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato	Sì, completa
OncoPredict HPV SCR assay	Hiantis	Real-time PCR	Dhillon et al, 2022 – Scozia → Italia – retrosp. / ThinPrep VALGENT-2	Test completamente validato	Sì, parziale
OncoPredict HPV QT assay	Hiantis	Real-time quantitative PCR	Cocuzza et al, 2024 – Scozia → Italia – retrosp. / ThinPrep VALGENT-2	Test completamente validato	Sì, completa
Allplex HPV HR	Seegene	Real-time PCR	Ostrbenk et al, 2024 – Slovenia – retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato	Sì, completa
Vitro HPV screening assay	Vitro	Real-time PCR	Bellosillo et al, 2024 – Spagna – retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato	Sì, parziale
EUROArray HPV	EUROIMMUN, Germania	PCR – probe-based microarray detect.	Viti et al, 2018 – Slovenia (VALGENT 3) – retrosp. / ThinPrep	Test validato (non inferiore al comparator per sensibilità e specificità) solo: - per la versione con 14 tipi di HPV - se viene applicata la soglia per HPV16 ottimizzata anziché la soglia standard.	Sì, completa
HBRT-H14	HybriBio, Cina	Real-time PCR	Xu et al, 2020 – Slovenia – retrosp. / ThinPrep	-Test validato (non inferiore al comparator per sensibilità e specificità) solo se si applicano le soglie di positività calcolate dopo	Sì, parziale

				l'ottimizzazione a posteriori del cut-off per tutti i tipi e non le soglie standard. - Manca la valutazione della riproducibilità intra- ed inter-laboratorio	
Papilloplex HR-HPV test	Genefirst, Oxford, UK	Real-time PCR	Bhatia et al, 2023 – Danimarca – VALGENT-4 / SurePath (ePub ahead of print nel 2021)	Test validato (non inferiore al comparator per sensibilità e specificità). Manca la valutazione della riproducibilità intra- ed inter-laboratorio in entrambi gli studi	Sì, completa

*STM = Standard Transport Medium, Qiagen

ThinPrep (TP) = PreservCyt, Hologic

SurePath (SP) = BD Diagnostics

PBS = Phosphate-Buffered Saline

UCM = Universal Collection Medium

Huro Path = Huro Path solution, CelltraZone

**No = tutti i tipi in un unico pool; Sì, parziale = alcuni tipi rilevati in singolo e gli altri tipi in un unico pool; Sì, estesa = alcuni tipi rilevati in singolo e gli altri tipi in più gruppi;
Sì, completa = tutti i tipi rilevati in singolo

Tabella 2 del Rapporto N. 9.1 - Caratteristiche degli studi di validazione su prelievo da operatore e risultati dei test di non inferiorità e riproducibilità

TEST VALIDATO (NOME ABBREVIATO)	REFERENZE BIBLIOGRAFICHE degli STUDI DI VALIDAZIONE e test di comparazione	POPOLAZIONE STUDIATA: numero casi (CIN2+) e controlli	SENSIBILITA' del test in studio		SPECIFICITA' del test in studio		RIPRODUCIBILITA' kappa	
			relativa al test di comparaz.	p test di non-infer.	relativa al test di comparaz.	p test di non-infer.	intra- laboratori o	inter- laboratori o
RealTime High Risk HPV test (Abbott RT hrHPV test)	Carozzi et al, 2011 – HC2	Screening (età 25-64 anni): 84 casi; 914 controlli	0.99	0.0040	1.00	0.0087	0.969	--
	Poljak et al, 2011 – HC2	Screening (età 30-64 anni): 38 casi*; 3091 controlli	1.03	0.0112	1.02	0.0000	1.000	1.000
	Hesselink et al, 2013 – GP5+/6+ PCR	Screening (età 30-60 anni): 68 casi; 859 controlli	0.97	0.0278	1.00	0.0003	0.996	0.965
Cobas 4800 HPV test (Cobas 4800)	Heideman et al, 2011 – HC2	Screening (età 29-60 anni): 59 casi; 800 controlli	0.98	0.0216	1.00	0.0009	0.963	0.882
	Lloveras et al, 2013 – HC2	Campioni consecutivi da un lab. di riferimento per la citologia (età ≥30 anni): 60 casi; 898 controlli	1.00	0.0093	1.01	0.0012	0.963	0.962
	Ejegod et al, 2020 – GP5+/6+	Screening (età 30-64): 122 casi; 897 controlli	1.00	0.0006	1.02	<0.0001	--	--
PapilloCheck HPV- screening test (PapilloCheck)	Hesselink et al, 2010 – GP5+/6+ PCR	Screening (età 30-60 anni): 192 casi; 1437 controlli	0.99	<0.0001	0.99	0.0072	0.941	0.842
	Heard et al, 2016 – GP5+/6+ PCR	Screening + campioni donne con lesioni CIN2+ (età 18-68 anni): 102 casi; 747 controlli	1.02	0.0002	0.99	0.0970	--	--
Cervista HPV HR test (Cervista)	Boers et al, 2014 – HC2	Screening (età 30-59 anni): 78 casi; 7218 controlli	0.95	0.0043	1.03	<0.001	0.829	0.807
	Alameda et al, 2015 – HC2	Campioni consecutivi da un lab. di riferimento per la citologia (età 17-86 anni): 64 casi; 811 controlli	0.90	0.002	0.98	0.003	0.886	0.907
BD Onclarity HPV assay (BD Onclarity)	Ejegod et al, 2014 – HC2	Screening (+ referral) (età ≥30 anni): 156 casi; 4599 controlli	0.99	0.0009	0.99	0.0216	0.967	0.962
	Cuschieri et al, 2015 – HC2	Screening (età 18-68 anni): 102 casi; 744 controlli	1.02	<0.001	0.99	0.186**	--	--
	Ejegod et al, 2016 - HC2	Screening (età 30-80 anni): 61 casi; 1154 controlli	0.98	0.02	1.0	0.02	0.935	0.921

	Bonde et al, 2020 – GP5+/6+ EIA	Screening (età 30-59 anni): 97 casi;901 controlli	1.00	0.0006	1.04	<0.0001	concordanz a 98%	--
HPV-Risk assay (HPV-Risk assay)	Hesselink et al, 2014 – GP5+/6+ PCR	Screening (età 30-60 anni): 70 casi; 824 controlli	1.00	0.0056	1.00	0.0003	0.987	0.981
	Polman et al, 2017	Screening (età 30-64 anni): 98 casi; 990 controlli	0.97	0.010	1.02	<0.001	--	--
	Heideman et al, 2019 – GP5+/6+ EIA	Screening (età 30-59 anni): 97 casi;901 controlli	1.01	0.0006	1.04	<0.001	--	--
Anyplex II HPV HR Detection (Anyplex II)	Hesselink et al, 2016 – GP5+/6+ PCR-EIA	Screening (età 30-60 anni): 60 casi; 819 controlli	1.00	0.005	0.99	0.023	0.91	0.93
	Jung et al, 2016 – HC2	Campioni da un lab. di riferimento (età 18-96 anni): 72 casi (40 confermati istologicamente)*; 1065 controlli	1.01	0.005	0.99	0.04	0.953	0.940
	Ostrbenk et al, 2018 – HC2 Ostrbenk et al, 2018 – cobas	Screening (VALGENT-3, età ≥30 anni): 98 casi; 1011 controlli	1.01 1.00	0.001 0.002	1.01 1.02	0.000 <0.001	--	--
Xpert HPV assay (Xpert)	Cuschieri et al, 2016 – GP5+/GP6+ PCR o HC2	1) Screening + campioni donne con lesioni CIN2+ più 2) campioni screening (età ≥30 anni): 68 casi; 3206 controlli	0.984	0.019	1.006	<0.0001	0.925	0.948
	Akbari et al, 2018	Screening (VALGENT-2): 510 campioni	//	//	//	//	0.925	0.948
RealQuality RQ-HPV screen (AB Analitica)	Iacobellis et al, 2018 – HC2	Screening (età mediana 38 anni): 73 casi; 837 controlli	1.00	0.002	0.99	0.021	0.987	0.991
Cobas 6800 HPV test (Cobas 6800/8800)	Saville et al, 2019 – cobas 4800	Screening (età 25-64 anni): 60 casi; 805 controlli	0.98	0.016	0.99	0.04	AC ₁ value** = 0.97	AC ₁ value** = 0.98
	Frayle, Gori et al, 2019 – cobas 4800	Screening (età 30-64 anni): 60 casi; 925 controlli	0.98	0.016	0.99	0.005	0.967	0.969
	Sundström et al, 2021 – Cobas 4800	Screening (età 30-60 anni): 464 casi; (età 30-64 anni): 932 controlli	0.99	<0.0001	0.99	0.006	--	--
Alinity m HR HPV assay (Abbott)	Ostrbenk Valencak et al, 2020 – HC2	Screening (età ≥30 anni): 68 casi; 3077 controlli	1.00	0.0006	0.99	<0.0001	0.92	0.97
	Dhillon et al., 2021-HC2	Screening (età 25-64 anni) + campioni donne con lesioni CIN2+: 126 casi; 1212 controlli	1.02	0.0001	1.01	0.0006	--	--
NeuMoDx HPV assay (Qiagen)	Heideman DAM, 2022 – HC2 (ThinPrep) and HPV-Risk assay (SurePath)	Screening (età ≥30 anni): 68 casi e 827 controlli (ThinPrep); 106 casi + 842 controlli (SurePath)	0.98 1.00	0.018 0.0009	1.03 1.02	0.0001 <0.0001	0.90 --	0.87 --
	HPV Selfy assay (Ulisse BioMed)	Avian A, 2022 - HC2	Screening (età ≥30 anni)	0.98	0.017	1.00	0.004	0.87

OncoPredict HPV SCR assay	Dhillon et al, 2022 – GP5+/6+	Screening (VALGENT-2, età 20-60 anni): 95 casi; 720 controlli	1.01	<0.0005	1.02	0.0004	0.971	0.951
OncoPredict HPV QT assay	Cocuzza et al, 2024 – GP5+/GP6+	Screening (VALGENT-2), età <u>19-68</u> anni): 95 casi; 720 controlli	1.01	<0.0001	1.03	<0.0001	0.98	0.96
Allplex HPV HR	Ostrbenk et al, 2024 – HC2 (e Anyplex HPV HR)	Screening (età 30-64 anni): 110 casi; 863 controlli	1.01	0.0004	1.02	<0.00001	0.95	0.95
Vitro HPV screening assay	Bellosillo et al, 2024 – cobas 4800	Screening opportunistico (età >30 anni): 60 casi; 844 controlli	1.00	0.0049	1.00	<0.001	1.00	0.95
EUROArray HPV (EUROIMMUN)	Viti et al, 2018 – HC2	Screening (VALGENT-3, età >30 anni): 98 casi; 1009 controlli	0.95a 0.98b	0.120 a 0.0076 b	1.00 a 1.00 b	0.0009 a 0.0070 b	0.960	0.850
HBRT-H14	Xu et al, 2020 – HC2	Screening (età 30-64); 127 casi; 1.065 controlli	0.99	0.006	1.02c	<0.001c	--	--
Papilloplex HR-HPV test	Bhatia et al, 2023 – GP5+/6+	Screening (VALGENT-4, età >30 anni): 119 casi; 834 controlli	1.018	0.0001	1.003	0.0167	--	--

*numero di casi inferiore a quanto richiesto dalle raccomandazioni di Meijer et al, 2009 / **non validato per specificità → vedi meta-analisi in Allegato 3 del Rapporto N.1

^asolo donne ≥30 anni, con cut-off standard

^bdonne di tutte le età, con cut-off per HPV16 ottimizzato

**AC₁ value: Gwet's agreement coefficient

^ccon cut-off ottimizzato per tutti i tipi

Prossimo aggiornamento previsto a giugno 2025

Bibliografia specifica degli studi di validazione clinica

Akbari A, Vanden Broeck D, Benoy I, Padalko E, Bogers J, Arbyn M. Validation of intra- and inter-laboratory reproducibility of the Xpert HPV assay according to the international guidelines for cervical cancer screening. *Virology J* 2018;15:166.

Alameda F, Garrote L, Mojal S, Sousa C, Muset M, Lloveras B, Bellosillo B, Saldanha C, Carreras R, Serrano S. Cervista HPV HR Test for Cervical Cancer Screening: A Comparative Study in the Catalanian Population. *Arch Pathol Lab Med* 2015;139:241-4.

Arbyn M, Bonde J, Cuschieri K, Poljak M. Can HPV Selfy be considered as a clinically validated HPV test for use in cervical cancer screening? *J Transl Med* 2022;20:422.

Avian A, Clemente N, Mauro E, Isidoro E, Di Napoli M, Dudine S, Del Fabro A, et al. Correction: Clinical validation of full HR-HPV genotyping HPV Selfy assay according to the international guidelines for HPV test requirements for cervical cancer screening on clinician-collected and self-collected samples. *J Transl Med* 2023;21:49.

Avian A, Clemente N, Mauro E, Isidoro E, Di Napoli M, Dudine S, Del Fabro A, et al. Clinical validation of full HR-HPV genotyping HPV Selfy assay according to the international guidelines for HPV test requirements for cervical cancer screening on clinician-collected and self-collected samples. *J Transl Med* 2022;20:231. doi: 10.1186/s12967-022-03383-x.

Bellosillo B, Ibanez R, Roura E, Monfil L, Asensio-Puig L, Alvarez I, et al. Clinical validation of the Vitro HPV screening assay for its use in primary cervical cancer screening. *Cancers* 2024;16:1322

Bhatia R, Boada EA, Bonde JH, Quint WGV, Xu L, Ejegod DM, Cuschieri K, Arbyn M. Papilloplex HR-HPV test has non-inferior clinical performance for detection of human papillomavirus infection: assessment using the VALGENT framework. *J Clin Pathol* 2023;76:172-176.

Boers A, Wang R, Slagter-Menkema L, van Hemel BM, Ghysaert H, van der Zee AG, Wisman GB, Schuurin E. Clinical validation of the Cervista HPV HR test according to the international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical cancer screening. *J Clin Microbiol* 2014;52:4391-3.

Bonde JH, Pedersen H, Quint W, Xu L, Arbyn M, Ejegod DM. Clinical and analytical performance of BD Onclarity HPV assay with SurePath screening samples from the Danish cervical screening program using the VALGENT framework. *J Clin Microbiol* 2020;58:e01518-19.

Carozzi FM, Burroni E, Bisanzi S, Puliti D, Confortini M, Giorgi Rossi P, Sani C, Scalisi A, Chini F. Comparison of clinical performance of Abbott RealTime High Risk HPV test with that of Hybrid Capture 2 assay in a screening setting. *J Clin Microbiol* 2011;49:1446-1451.

Cocuzza CL, Dhillon SK, Martinelli M, Giubbi C, Njoku RC, Bhatia R, et al. Clinical performance of the novel full-genotyping OncoPredict HPV quantitative typing assay using the VALGENT framework. *Int J Cancer* 2024;154:538-547.

Cuschieri K, Geraets DT, Moore C, Quint W, Duvall E, Arbyn M. Clinical and analytical performance of the Onclarity HPV assay using the VALGENT framework. *J Clin Microbiol* 2015;53:3272-3279.

Cuschieri K, Geraets D, Cuzick J, Cadman L, Moore C, Vanden Broeck D, Padalko E, Quint W, Arbyn M. performance of a cartridge-based assay for detection of clinically significant human papillomavirus (HPV) infection: lessons from VALGENT (Validation of HPV Genotyping Tests). *J Clin Microbiol* 2016;54:2337-2342.

Dhillon SK, Cocuzza CE, Chung PYJ, Martinelli M, Giubbi C, Njoku RC, et al. Evaluation of the clinical performance of OncoPredict HPV SCR assay within the VALGENT-2 framework. *J Med Virol* 2022;e28417.

Dhillon SK, Oštrbenk Valenčak A, Xu L, Poljak M, Arbyn M. Clinical and Analytical Evaluation of the Alinity m HR HPV Assay within the VALGENT-3 Framework. *J Clin Microbiol*. 2021 May 19;59(6):e00286-21. doi: 10.1128/JCM.00286-21. PMID: 33731413; PMCID: PMC8316144.

Ejegod DM, Serrano I, Cuschieri K, Nussbaumer WA, Vaughan LM, Ahmad AS, Cuzick J, Bonde J. Clinical Validation of the BD Onclarity™ HPV Assay Using a Non-Inferiority Test. *J Med Microbiol Diagn* 2014;S3: 003: 1-4.

Ejegod D, Bottari F, Pedersen H, Sandri MT, Bonde J. the BD Onclarity HPV assay on samples collected in SurePath medium meets the international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *J Clin Microbiol* 2016;54:2267-2272.

Ejegod DM, Hansen M, Christiansen IK, Pedersen H, Quint W, Xu L, Arbyn M, Bonde J. Clinical validation of the Cobas 4800 HPV assay using cervical samples in SurePath medium under the VALGENT4 framework. *J Clin Virol* 2020;128:104336.

Ejegod DM, Pedersen H, Pedersen BT, Monceyron Jonassen C, Lie AK, Hulleberg LS, Arbyn M, Bonde J. Clinical validation of the Onclarity assay after assay migration to the high-throughput COR instrument using SurePath screening samples from the Danish cervical cancer screening program. *Am J Clin Pathol* 2022;157:390-398.

Frayle H, Gori S, Rizzi M, Graziani BN, Vian E, Giorgi Rossi P, Del Mistro A. HPV testing for cervical cancer screening: technical improvement of laboratory logistics and good clinical performance of the cobas 6800 in comparison to the 4800 system. *BMC Women's Health* 2019;19:47.

Heard I, Cuschieri K, Geraets DT, Quint W, Arbyn M. clinical and analytical performance of the PapilloCheck HPV-screening assay using the VALGENT framework. *J Clin Virol* 2016;81:6-11.

Heideman DA, Hesselink AT, Berkhof J, van KF, Melchers WJ, Fransen DN, Verkuijten M, Meijer CJ, Snijders PJ. Clinical validation of the cobas(R)4800 HPV Test for cervical screening purposes. *J Clin Microbiol* 2011;49:3983-5.

Heideman DAM, Xu L, Hesselink AT, Doorn S, Ejegod DM, Pedersen H, Quint W, Bonde JH, Arbyn M. Clinical performance of the HPV-Risk assay on cervical samples in SurePath medium using the VALGENT-4 panel. *J Clin Virol* 2019;121:104201.

Heideman DAM, Ostrbenk Valencak A, Doorn S, Bonde J, Hillemanns P, Gimpelj Domjanic G, Mlakar J, Hesselink AT, Meijer CJLM, Poljak M. Clinical validation of the fully automated NeuMoDx HPV assay for cervical cancer screening. *Viruses* 2022;14:893. doi: 10.3390/v14050893.

Hesselink AT, Heideman DAM, Berkhof J, Topal F, Pol RP, Meijer CJLM, Snijders PJF. Comparison of the clinical performance of PapilloCheck Human Papillomavirus detection with that of the GP5+/6+-PCR-enzyme immunoassay in population-based cervical cancer screening. *J Clin Microbiol* 2010;48:797-801.

Hesselink AT, Meijer CJ, Poljak M, Berkhof J, van Kemenade FJ, van der Salm ML, Bogaarts M, Snijders PJ, Heideman DA. Clinical validation of the Abbott RealTime High Risk (HR) HPV assay according to the guidelines for HPV DNA test requirements for cervical screening. *J Clin Microbiol* 2013;51:2409-10.

Hesselink A, Berkhof J, van der Salm ML, van Splunter AP, Geelen TH, van Kemenade FJ, Bleeker MGB, Heideman DAM. Clinical validation of the HPV-Risk assay: a novel, real-time PCR assay for the detection of high-risk human papillomavirus DNA by targeting the E7 region. *J Clin Microbiol* 2014;52:890-6.

Hesselink A, Sahli R, Berkhof J, Snijders PJF, van der Salm ML, Agard D, Bleeker MGB, Heideman DAM. Clinical validation of Anyplex II HPV HR Detection according to the guidelines for HPV test requirements for cervical cancer screening. *J Clin Virol* 2016;76:36-39.

Iacobellis M, Violante C, Notarachille G, Simone A, Scarfi R, Giuffrè G. Clinical validation of REALQUALITY RQ-HPV screen according to the international guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for cervical screening. *Virology J* 2018;15:48.

Jung S, Lee B, Lee KN, Kim Y, Oh EJ. Clinical validation of Anyplex II HPV HR detection test for cervical cancer screening in Korea. *Arch Pathol Lab Med* 2016;140:276-280.

Lloveras B, Gomez S, Alameda F, Bellosillo B, Mojal S, Muset M, Parra M, Palomares JC, Serrano S. HPV Testing by cobas HPV Test in a Population from Catalonia. *PLoS ONE* 2013;8:e58153.

Ostrbenk A, Xu L, Arbyn M, Poljak M. Clinical and analytical evaluation of the Anyplex II HPV HR detection assay within the VALGENT-3 framework. *J Clin Microbiol* 2018;56(11):e01176-18.

Ostrbenk Valencak A, Sterbenc A, Seme K, Poljak M. Alinity m HR HPV assay fulfills criteria for Human Papillomavirus test requirements in cervical cancer screening settings. *J Clin Microbiol* 2020;58:e01120-19.

Ostrbenk Valenkar A, Cuschieri K, Connor L, Zore A, Smrkolj S, Pljak M. Allplex HPV HR detection assay fulfills all clinical performance and reproducibility validation requirements for primary cervical cancer screening. *J Clin Virol* 2024;170:105638.

Poljak M, Ostrbenk A, Seme K, Ucakar V, Hillemanns P, Bokal EV, Jancar N, Klavs I. Comparison of clinical and analytical performance of the Abbott RealTime High Risk HPV test and Hybrid Capture 2 in population-based cervical cancer screening. *J Clin Microbiol* 2011;49:1721-1729.

Polman NJ, Ostrbenk A, Xu L, Snijders PJF, Meijer CJLM, Poljak M, Heideman DAM, Arbyn M. Evaluation of the clinical performance of the HPV-Risk assay using the VALGENT-3 panel. *J Clin Microbiol* 2017;55:3544-3551.

Saville M, Sultana F, Malloy MJ, Velentzis LS, Caruana M, Ip ELO, Keung MHT, Canfell K, Brotherton JML, Hawkes D. Clinical validation of the cobas HPV test on the cobas 6800 system for the purpose of cervical screening. *J Clin Microbiol* 2019;57:e01239-18.

Sundström K, Lamin H, Dillner J. Validation of the cobas 6800 human papillomavirus test in primary cervical screening. *PLoS ONE* 2021;16:e0247291. doi: 10.1371/journal.pone.0247291. eCollection 2021.

Viti J, Poljak M, Ostrbenk A, Bhatia R, Alcaniz Boada E, Cornall AM, Cuschieri K, Garland S, Xu L, Arbyn M. Validation of EUROArray HPV test using the VALGENT framework. *J Clin Virol* 2018;108:38-42.

Xu L, Valencak AO, Pljak M, Arbyn M. Evaluation and optimization of the clinical accuracy of HybriBio's 14 high-risk HPV with 16/18 genotyping assay within the VALGENT-3 framework. *J Clin Microbiol* 2020;58:e00234-20.

Tabella 3 del Rapporto N. 9.1

Informazioni aggiuntive (non rientranti nei criteri di validazione clinica) sui test HPV validati

TEST VALIDATO (NOME ABBREVIATO)	MEZZO DI PRELIEVO indicato dal produttore nelle schede tecniche [#]	STRUMENTAZIONE utilizzata negli studi di validazione (fase pre-analitica / fase analitica)
Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA test (HC2)	STM*, ThinPrep [^] , SurePath ^{^^}	Manuale / Rapid Capture System (RCS) + luminometro
GP5+/6+ PCR-EIA (GP5+/6+ EIA)	PBS**	Manuale / real-time PCR + ibridizzazione in micropiastra
RealTime High Risk HPV test (Abbott RT hrHPV test)	ThinPrep, SurePath, Abbott Cervi-Collect	m2000sp / m2000rt
Cobas 4800 HPV test (Cobas 4800) (Roche)	Cobas collection medium, ThinPrep, SurePath	p480 / x480 + z480 PRIME - p6800/8800
PapilloCheck HPV-screening test (PapilloCheck) (Greiner)	PapilloCheck collection medium, other validated liquid based cytology system	CheckExtractor / CheckScanner apparatus CX STARlet plus
Cervista HPV HR test (Cervista) (Hologic)	ThinPrep	Tigris (Panther)
BD Onclarity HPV assay (BD Onclarity)	SurePath, ThinPrep, BD Onclarity collection medium, self-sampling	Viper LT / sistema highthroughput BD COR
HPV-Risk assay (HPV-Risk assay) (Fujirebio)	ThinPrep, SurePath, Pathtezt (methanol-based o ethanol-based), self-collected vaginal brush samples	Automated silica-based extract. system / ABI7500 Fast real-time PCR system Mic qPCR Cycler (Bio Molecular Systems)
Anyplex II HPV HR Detection (Anyplex II) (Seegene)	ThinPrep, SurePath	Microlab STARlet / CFX96 real-time thermocycler
Xpert HPV assay (Xpert) (Cepheid)	ThinPrep, other validated transport medium	Trasferimento manuale dell'aliquota / INFINITY-80
RealQuality RQ-HPV screen (AB Analitica)	ThinPrep; DNA estratto da cellule, tessuti e campioni FFPE***	ABI7500 Fast Dx real-time PCR system AriaDx; CFX96; Rotor-Gene Q 6plex
EUROArray HPV (EUROIMMUN)	ThinPrep	QiaSymphony; ABI2720 thermal cycler – Microarray scanner EUROArrayScan software
Cobas 6800 HPV test (Cobas 6800/8800) (Roche)	Cobas PCR cell collection medium, ThinPrep, SurePath	p480 / p6800 PRIME - p6800/8800
Alinity m HR HPV (Abbott)	ThinPrep, SurePath, Abbott Alinity m Cervi-Collect	Alinity m System
HBRT-H14 (HybriBio)	ThinPrep, SurePath, HybriBio sample collection kit	Strumento per real-time PCR non specificato
Papilloplex HR-HPV test (Genefirst)	ThinPrep	CFX96; SLAN-96P; ABI7500
NeuMoDx HPV assay (Qiagen)	ThinPrep, SurePath	NeuMoDx Systems (288 o 96)
HPV Selfy assay (Ulisse BioMed)	ThinPrep, vaginal swab	QuantStudio 5 Real Time PCR machine
OncoPredict HPV SCR assay (Hiantis)	Scheda tecnica non disponibile	Fluent 480 / CFX384
Allplex HPV HR	Cervical swab; Liquid based cytology specimen (ThinPrep and SurePath) / da confermare	Microlab STARlet IVD instrument/ Seegene STARlet-AIOS; CFX96
Vitro HPV screening assay	ThinPrep (schede tecniche non reperibili)	MAIS automated system (Vitro S.A.), RNA/DNA Pathogen Extraction kit (Vitro S.A.) / Vitrocyler Real-time PCR device (Vitro S.A.)

OncoPredict HPV QT assay (Hiantis)	Scheda tecnica non disponibile	Fluent 480; CFX384
---------------------------------------	--------------------------------	--------------------

le schede tecniche dei test sono state consultate il 19/04/2024

*STM = Standard Transport Medium, Qiagen

^ThinPrep (TP) = PreservCyt, Hologic

^^SurePath (SP) = BD Diagnostics

**PBS = Phosphate-Buffered Saline

***FFPE = formalin-fixed, paraffin-embedded