GISCi

Gruppo Italiano Screening del Cervicocarcinoma

RACCOMANDAZIONI SUL TEST HR-HPV COME TEST DI SCREENING PRIMARIO E RIVISITAZIONE DEL RUOLO DEL PAP TEST

Versione elaborata:

- **dal Gruppo di lavoro GISCi: "Rivisitazione del ruolo del Pap test e dell'HPV-DNA test nell'era della vaccinazione anti-HPV"**
  Coordinatori:
  Donatella Beccati
  Massimo Confortini
  Basilio Passamonti

- **e dal Gruppo di lavoro GISCi: "Studio di concordanza inter-laboratorio e VEQ per test HPV-DNA"**
  Coordinatore:
  Francesca Carozzi

Componenti:

1 Claudio Angeloni
2 Paolo Barbarino
3 Maria Benevolo
4 Stefania Benini
5 Simonetta Billetti
6 Carla Cogo
7 Paolo Dalla Palma
8 Anna Rosa Del Mistro
9 Laura De Marco
10 Deborah French
11 Anna Gillio-Tos
12 Paolo Giorgi Rossi
13 Lucia Giovannelli
14 Anna Iossa
15 Amedeo Lattanzi
16 Vincenzo Maccalini
17 Iva Maestri
18 Morena Malaspina
19 Gioia Montanari
20 Federico Morigi
21 Irene Paganini
22 Antonella Pellegrini
23 Tatiana Reggi
24 Maria Teresa Sandri
25 Cristina Sani
26 Maria Luisa Schiboni
27 Vera Stornelli
28 M.Concetta Tufi
29 Manuel Zorzi

Versione definitiva discussa ed approvata nella riunione di consenso del 12 Aprile 2010 e successivamente ratificata dall'Assemblea GISCi il 28 maggio 2010

Progetto grafico:
EVIDENZIA immagine&comunicazione - Belluno

Indice

1 Introduzione

Il carcinoma della cervice uterina è attribuibile ad infezione da papilloma virus umano (HPV) praticamente nella totalità dei casi; la persistenza dell'infezione, inoltre, è necessaria per lo sviluppo delle lesioni intraepiteliali. Le evidenze a tale riguardo hanno suggerito l'applicazione di test molecolari per la ricerca di HPV ad alto rischio oncogeno (HR-HPV) nei programmi di screening.

Fin dal 2006, il Ministero della Salute ha introdotto il test HPV nei protocolli da adottare per la prevenzione del carcinoma della cervice uterina, in particolare per quanto riguarda l'utilizzo del test HR-HPV nel triage delle diagnosi citologiche di ASC-US e nel monitoraggio delle pazienti dopo trattamento di lesioni CIN2+ *(1)*. **Le Raccomandazioni del Ministero sottolineano inoltre l'importanza dei risultati dello studio italiano multicentrico NTCC** *(4/9)* **per la possibile introduzione del test HR-HPV come test di screening primario.**

Nel 2007 sono stati pubblicati i risultati di due trial randomizzati controllati che hanno paragonato la performance del test HR-HPV con quella del Pap test tradizionale nell'ambito dello screening del cervicocarcinoma *(2,3)*. Il **trial olandese** ha dimostrato che il test HR-HPV aumenta la capacità diagnostica di lesioni CIN3+ del 70% rispetto al Pap test, mentre dopo 5 anni da un test HR-HPV negativo si osserva una riduzione delle stesse lesioni del 55% rispetto a quelle osservate nelle donne con precedente Pap test negativo *(2)*. Dati analoghi sono stati osservati per le lesioni CIN2. Inoltre la somma di tali lesioni diagnosticate dalle due strategie in due episodi di screening (arruolamento nello studio e rescreening a cinque anni) è sovrapponibile. Questo dimostra che, per le donne al di sopra dei 30 anni, non vi è una sovradiagnosi significativa dovuta al test per l'HPV, ossia che le lesioni diagnosticate in più dal test HR-HPV all'arruolamento non sarebbero regredite spontaneamente. Pertanto la maggiore sensibilità del test HR-HPV osservata negli studi trasversali può essere interamente considerata come anticipazione della diagnosi rispetto al Pap test tradizionale, a patto che si seguano adeguati protocolli di gestione delle donne HR-HPV positive. Il **trial svedese** *(3)* riporta un incremento di sensibilità per lesioni CIN2+ del 51% all'arruolamento e, dopo 4 anni da un test HPV negativo, una riduzione di lesioni CIN2+ del 42% e di CIN3+ del 47%. Analogamente a quanto riportato nello studio olandese, anche in questa casistica non si è osservata alcuna sovradiagnosi.

In Italia si sta per concludere un trial multicentrico di grandi dimensioni **(NTCC)**, con circa 100.000 donne arruolate, sulla performance del test HPV. I dati relativi all'arruolamento in NTCC *(4/8)* hanno prodotto risultati sovrapponibili a quelli dei trial citati: il test HPV ha una sensibilità nettamente superiore rispetto al Pap test sia nelle donne di età compresa tra i 25 ed i 34 anni che in quelle di età superiore. Lo studio ha messo in evidenza che **la maggiore sensibilità del test HPV** si traduce in una maggiore prevenzione del carcinoma della cervice uterina, ragionevolmente dovuta al trattamento di CIN2/3 non individuati dal Pap-test. Anche in questo studio **la sovradiagnosi nelle donne al di sopra dei 35 anni è modesta.** Nelle donne **fra i 25 e i 35 anni, la sovradiagnosi è stata invece evidente,** in particolare quando si è adottato un protocollo con invio diretto in colposcopia per tutte le donne HR-HPV positive, ma anche quando si è applicato il protocollo con triage citologico *(9)*. Il progetto è stato condotto nell'ambito di programmi di screening organizzati.
I risultati preliminari relativi al rescreening mostrano che le donne con HR-HPV negativo all'arruolamento sono protette dalla malattia per un tempo più lungo rispetto ai tre anni previsti per il Pap test. Il consolidamento di questi dati ha portato a ipotizzare, in caso di screening con test HR-HPV, un **aumento dell'intervallo di screening da 3 a 5-6 anni,** grazie alla maggiore protezione fornita da questo test (anticipazione diagnostica e maggior sensibilità) rispetto al Pap test.
I progetti di fattibilità oggi in corso prevedono l'introduzione del test HPV come test di screening primario sia nella fascia 25-64 anni che nella fascia 35 anni-64 anni, in questo caso le donne della fascia d'età 25-34 anni sono invitate ad effettuare un Pap test.

Sulla base di queste evidenze scientifiche il Centro nazionale per la prevenzione ed il controllo delle malattie (CCM) del Ministero della Salute ha preso in considerazione l'ipotesi di modificare le Raccomandazioni del 2006 *(1)*. Il GISCi condivide tale posizione, che prevede l'introduzione del test HPV nello screening primario all'interno di applicazioni controllate con l'obiettivo di testarlo nella pratica.

2 Obiettivi

Questo documento, non basato su una revisione sistematica di tutta la letteratura, intende fornire una serie di **raccomandazioni in merito all'avvio di progetti di fattibilità sull'utilizzo di test HR-HPV come test primario di screening** del carcinoma della cervice uterina. La trasferibilità dei risultati dagli studi sperimentali di efficacia alla pratica di screening è basata sull'attivazione di progetti in grado di valutarne la fattibilità e le eventuali criticità. Si ritiene fondamentale che tali progetti coordinino fra loro l'attività e condividano dati, risultati e protocolli in modo tale da produrre una serie di dati conclusivi sull'applicabilità di tale strategia. Queste raccomandazioni saranno aggiornate, in relazione all'intervallo di screening e all'età di inizio dello screening con HR-HPV, sulla base delle linee guida europee di prossima pubblicazione e del loro recepimento da parte dello stato italiano.

Si ritiene inoltre di dover **vincolare tali progetti all'utilizzo di una serie di procedure** per i seguenti punti:

- algoritmo basato sul test HPV e sul successivo triage citologico;
- procedure univoche di gestione del prelievo a seconda della tecnica individuata, con conseguente modifica del percorso diagnostico-terapeutico integrato di screening secondo protocolli validati;
- utilizzo di test validati dalla letteratura scientifica;
- centralizzazione dell'analisi dei test molecolari e della lettura del Pap test identificando laboratori che siano dedicati e siano parte integrante del processo screening. I volumi di prestazioni devono essere tali da ottimizzare i costi e le procedure di automazione;
- adesione dei laboratori a programmi condivisi di controllo di qualità esterni;
- definizione di protocolli condivisi basati sull'algoritmo generato dal test HPV e dal triage citologico, in particolare per la gestione delle donne <35 anni;
- valutazione dell'impatto organizzativo sulla logistica, le procedure, i software gestionali, i sistemi informativi, ecc.;
- valutazione dei costi e delle risorse necessarie;
- valutazione dei risultati e della fattibilità sulla base degli indicatori oggi disponibili ed eventualmente di altri nuovi e specifici indicatori.

3 Algoritmo dello screening con test HR-HPV come test di screening primario

L'algoritmo raccomandato nei progetti di fattibilità è quello riportato in Figura 1 *(vedi pag. 14)*. ed è basato sul triage citologico dopo test HPV positivo. Allo stato attuale non sono previsti nell'algoritmo biomarcatori di specificità e progressione che, pur essendo estremamente promettenti *(8)*, sono tuttora oggetto di specifici studi sperimentali.

4 Procedure di gestione del prelievo

- Il **prelievo** può essere **unico** nel caso si utilizzi il contenitore con liquido preservante (vial) per la citologia in fase liquida, in modo da permettere sia la ricerca dell'HPV sia la lettura della citologia in strato sottile nel caso di test HPV positivo.
- Il **prelievo** deve essere **doppio** nel caso non si utilizzi la citologia in fase liquida: un primo prelievo da strisciare e fissare per la citologia convenzionale (da colorare e leggere solo nel caso di test HPV positivo), ed un secondo prelievo per il test HPV.

I vetrini strisciati di pazienti HPV negative non devono essere colorati o conservati. Dopo la lettura, i Pap test delle pazienti HPV positive devono essere conservati secondo la normativa vigente.
L'interpretazione citologica deve basarsi su sistemi di refertazione riconosciuti quali il Sistema Bethesda 2001 *(10)*.

5 Il test HR-HPV nei programmi di screening

5.1 | Caratteristiche del test HR-HPV

Negli screening il test HR-HPV può essere usato come test di screening primario nei progetti di fattibilità, come test di triage per ASC-US/LSIL, e nel follow-up delle pazienti dopo trattamento per lesioni CIN2-3. In qualsiasi contesto avvenga, l'uso del test HR-HPV non può prescindere da una valutazione sulle caratteristiche che deve avere il test.
I test molecolari applicabili in un contesto di screening devono essere standardizzati, validati ed avere una sensibilità e una specificità clinica ottimali per lesioni di alto grado. Nello screening infatti la **performance del test HR-HPV** non deve essere **misurata** su una maggior capacità di individuare poche copie virali, cioè sistemi con elevata sensibilità analitica, ma **sulla capacità di evidenziare le infezioni da HR-HPV clinicamente rilevanti.** È di fondamentale importanza sottolineare che, in questo contesto, la ricerca di HR-HPV rappresenta **un test di rischio oncogeno** e che il sistema utilizzato deve essere in grado di individuare il gruppo di HPV ad alto rischio. **La genotipizzazione tipo specifica non fornisce in questo contesto indicazioni aggiuntive,** non consente protocolli o intervalli differenziati e pertanto non è inserita nei protocolli dei progetti di fattibilità.
Attualmente le metodiche validate in trial di ampie dimensioni sono l'Hybrid Capture 2 (HC2; Qiagen, Gaithersburg, MD) e i metodi in PCR che prevedono l'uso di primer GP5+/GP6+ con metodica PCR-EIA *(11)*.
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.

5.2 | Caratteristiche della lettera di risposta

È auspicabile arrivare ad una armonizzazione dei moduli di risposta del test HPV-HR utilizzati nei vari programmi di screening.
In particolare per il test HR-HPV la risposta deve essere semplice e facilmente comprensibile per le donne. Deve inoltre essere esauriente per i ginecologi e gli altri operatori degli screening, e non dare adito a problematiche interpretative.

La risposta dovrebbe riportare:
- l'elenco dei tipi di HR-HPV che il metodo può rilevare (dodici tipi);
- l'esito del test in modo semplice, con un linguaggio dicotomico "positivo/negativo" o con frasi del tipo "è stata/non è stata evidenziata la presenza di HPV";
- il metodo utilizzato per la ricerca HR-HPV.

Inoltre la risposta del test HR-HPV deve risultare parte integrante del processo del programma di screening e, così come è stato per il Pap test, deve comprendere:
- in caso di HR-HPV negativo, l'indicazione del prossimo round di screening previsto dal programma;
- in caso di HR-HPV positivo, un'unica risposta che comprenda non solo l'esito del test virale ma anche quello della citologia di triage e l'indicazione del percorso successivo (invio in colposcopia o richiamo ad un anno). Inoltre dovrebbero essere inserite informazioni aggiuntive semplici e chiare sul perché, in presenza di un test HR-HPV positivo e citologia negativa, il protocollo del programma preveda un richiamo ad un anno.

Il cut-off del test HR-HPV dovrà essere esplicitato solo se viene utilizzato un cut- off diverso da quello per il quale il test è approvato in scheda tecnica. Nel caso di metodi in grado di fornire un dato semi-quantitativo, questo valore non dovrebbe essere riportato nella risposta. Nel caso di test HPV ripetuti (sia per triage ASC-US, follow-up o test di screening primario), un valore 'semi-quantitativo' aumentato rispetto ad un esame precedente non indica necessariamente un aumento della carica virale perché il dato non è normalizzato rispetto alla cellularità. Questi concetti, assolutamente scontati per gli addetti ai lavori, potrebbero indurre ripetizioni del test dopo un periodo di tempo inferiore rispetto a quanto sia in realtà necessario o indurre a sovra-trattamento.

5.3 | Procedure di controllo di qualita` per i test molecolari

L'incorporazione del test HR-HPV nei programmi di screening può aumentarne l'efficienza nell'identificare precocemente il carcinoma e le lesioni CIN2/3. Il grande sviluppo di nuove metodologie diagnostiche basate sull'utilizzo di tecniche di biologia molecolare, rende però sempre più attuale l'esigenza di una standardizzazione delle procedure e un controllo dei risultati prodotti.
Per ora l'HR-HPV test rappresenta una nuova tecnologia, confinata in ambiti ristretti e controllati. Ma la rapida diffusione dei laboratori che eseguono il test rende necessario un programma di assicurazione di qualità per monitorare e confermare l'accuratezza dei risultati. Infatti l'ingresso del test HR-HPV nei protocolli dei programmi di screening ha una ricaduta sulla gestione della donna e sull'efficacia dell'intervento di prevenzione.

In tutti i laboratori devono essere attivi **controlli di qualità intra-laboratorio** archiviati giornalmente (**controlli di qualità interni, CQI,** almeno un'esecuzione per ogni sessione analitica - precisione). Il CQI consente di valutare e controllare le prestazioni analitiche di un sistema, e di verificare la stabilità del metodo analitico nel breve, medio e lungo temine. In particolare, il CQI consente di evidenziare variazioni e fornire allarmi in tempo reale, così da attivare immediatamente azioni prima dell'emissione dei referti relativi ai campioni analizzati nel corso della seduta. È importante sottolineare che nessun programma di CQI può migliorare la qualità analitica del test HR-HPV utilizzato. I materiali di controllo utilizzati dovrebbero avere caratteristiche chimico-fisiche il più possibile simili ai campioni dei pazienti. Dovrebbero inoltre comprendere l'intera fase di processazione effettuata per i vari tipi di materiali utilizzati per i pazienti. Il laboratorio deve organizzarsi in modo da usare lo stesso lotto di materiale di controllo per un arco di tempo il più lungo possibile. Il cambio di lotto dei controlli deve sempre essere pianificato prevedendo la sovrapponibilità all'ultimo lotto utilizzato.

È inoltre necessario che il laboratorio predisponga una procedura con la definizione delle regole di allarme e di rifiuto della serie analitica. Occorre infine una precisa definizione delle azioni correttive da adottare in caso di mancato rispetto dei parametri di qualità.

Accanto ai CQI, i **controlli di qualità inter-laboratorio** sono un irrinunciabile strumento per promuovere la qualità delle prestazioni: essi infatti permettono di produrre dati che consentono al singolo laboratorio di confrontarsi con gli altri (accuratezza).
La partecipazione ad un programma di **valutazione esterna di qualità (VEQ)** aiuta nella scelta del migliore metodo di indagine. Scopi fondamentali dei programmi di VEQ sono la valutazione dell'uniformità dei risultati ottenuti in laboratori differenti, e la valutazione comparativa di metodi differenti.
Il problema maggiore dei programmi di VEQ è che essi forniscono una valutazione di performance analitica dei metodi applicati all'analisi dei materiali di controllo. In alcuni metodi tali materiali tendono a comportarsi in maniera diversa rispetto al materiale biologico da paziente. Quindi, a volte, la performance verificata con questi materiali può non coincidere con la performance analitica nell'analisi dei campioni da paziente, cioè, in definitiva, con quello che interessa conoscere. In ogni caso, i programmi di VEQ rappresentano un indispensabile complemento dei programmi di CQI, perché forniscono una valutazione comparativa della qualità analitica del singolo laboratorio rispetto a quella del gruppo di laboratori partecipanti. Tuttavia, un avveduto utilizzo dei risultati di VEQ può condurre ad una selezione di metodi che portino ad uniformare i risultati ottenuti da un gruppo di laboratori differenti all'interno dei programmi.
L'esecuzione di programmi di CQI e la partecipazione a programmi di VEQ è obbligatoria (linee guida ministeriali). Rappresenta anche un requisito per i procedimenti di accreditamento e di certificazione.
Pertanto uno degli obiettivi che il GISCi si propone è promuovere la partecipazione dei centri di screening a programmi per la verifica esterna della qualità specifici per le caratteristiche che il test HR-HPV ha nel programma di screening.

6 Triage citologico

Il triage citologico rappresenta il punto fondamentale dell'algoritmo dello screening con test HR-HPV come test di screening primario *(Figura 1 - pag. 14)*. Il triage, infatti, permette di riportare la specificità del test HR-HPV a livelli accettabili. Come test filtro, la citologia deve essere in grado di stratificare le pazienti HPV positive in pazienti a basso rischio di patologia, da inviare ad un controllo annuale, e pazienti ad alto rischio di patologia, da inviare a colposcopia.
Nel triage citologico è essenziale monitorare costantemente le percentuali di citologie negative ed il valore predittivo positivo delle diagnosi ASC-US+.

6.1 | Controlli di qualita`

Si deve sottolineare che nel triage citologico la presenza di falsi negativi dovrebbe essere estremamente limitata, e legata ad errori di interpretazione o di campionamento. Trattandosi di una casistica selezionata dal test HR-HPV positivo, l'errore di attenzione dovrebbe essere completamente assente.
Eventuali errori di interpretazione possono essere monitorati con:

- un controllo di qualità **(CdQ) retrospettivo**, basato sulla revisione di eventuali falsi negativi CIN 2+ individuati nei follow-up colposcopici ripetuti dopo un anno per HPV persistente;
- un **CdQ prospettico**, basato sulla revisione collegiale (peer-review) dei casi borderline/positivi all'interno del laboratorio e fra laboratori.

Nello screening con test HR-HPV come test di screening primario, i casi citologici saranno ad alta prevalenza di citologia anormale. È ipotizzabile che la frequenza di anormalità si attesti tra il 30 e il 50% dei casi esaminati. Tenendo conto che nel 2008 la media nazionale di invio al secondo livello colposcopico è stata del 2,4% *(13)*, la possibilità di trovare anormalità nel triage è più che decuplicata.
Di conseguenza, vi è la necessità di adattare il CdQ a questa nuova situazione, in cui il citologo dovrà leggere vetrini di pazienti a rischio aumentato di patologia. Nello stesso tempo si deve evitare di inviare troppe pazienti al secondo livello, aumentando così il rischio di sovradiagnosi.

È auspicabile inoltre l'implementazione di sistemi di refertazione comuni, e l'utilizzo di criteri diagnostici condivisi attraverso strumenti tecnologici adeguati, quali l'uso delle immagini digitali.

I controlli di qualità dovrebbero basarsi sulle tipologie elencate nella Tabella 1.

Tabella 1: Controlli di qualità nel triage citologico.

	Standard accettabile	Standard desiderabile
Laboratorio dedicato al triage citologico	**Controllo interno** Monitoraggio statistico Predittività classi diagnostiche Peer review Revisione falsi negativi	**Controllo interno** Monitoraggio statistico Predittività classi diagnostiche Peer review Revisione falsi negativi Rilettura rapida di tutto il vetrino anche con l'ausilio di sistemi computer - assistiti
	Controllo esterno Peer review	**Controllo esterno** Peer review Lettura set di immagini digitali /set operativi

Standard accettabile

Uno standard accettabile deve essere inteso come livello minimo di procedure di CdQ alle quali deve attenersi un laboratorio dedicato al triage citologico.
Il monitoraggio statistico, la predittività per classi diagnostiche e la revisione dei falsi negativi vengono proposti come standard minimo accettabile. La valutazione della frequenza delle diverse classi diagnostiche è un parametro indispensabile per valutare la riproducibilità inter-intralaboratorio.
L'adozione di un sistema comune di refertazione è fondamentale per poter effettuare un confronto fra laboratori, in particolare per un confronto nella distribuzione delle citologie per classi diagnostiche.
Scostamenti eccessivi dalle medie sono indicativi di un utilizzo di criteri diagnostici difformi e richiedono l'adozione di efficaci correttivi in grado di implementare il livello di riproducibilità.
Anche l'analisi della predittività delle classi diagnostiche è un parametro indispensabile di verifica della congruità dei criteri morfologici utilizzati nelle diagnosi di "anormalità".
La lettura collegiale dei casi borderline e positivi permette di migliorare l'uniformità dei criteri diagnostici e conseguentemente i livelli di sensibilità e specificità.

Standard desiderabile

Oltre alle procedure indicate come standard accettabile possono essere previsti ulteriori metodi di controllo di qualità al fine di raggiungere standard ottimali.
La rilettura rapida è in grado di migliorare il livello di riproducibilità intralaboratorio e di recuperare una percentuale di falsi negativi. Con questa metodica vengono revisionati, a basso ingrandimento e per 30-60 secondi, tutti i Pap test visionati dal primo lettore per i quali non è prevista una revisione collegiale. La rilettura rapida può essere effettuata anche con l'utilizzo di sistemi computer-assistiti.
Le procedure di peer-review dovrebbero basarsi su una lettura collegiale al microscopio multiplo di tutti i casi complessi di difficile valutazione, i borderline ed i casi positivi. Al fine di ridurne il numero si consiglia di sottoporre a questa procedura anche i casi giudicati in prima istanza inadeguati.

La scelta dei CdQ deve basarsi sul carico di attività del laboratorio dedicato al triage. La notevole riduzione degli esami citologici dovrà comportare la centralizzazione delle letture. Sarà inoltre essenziale l'adozione di rigidi controlli di qualità interlaboratorio in grado di permettere un confronto continuo sulle diagnosi citologiche. La lettura di set operativi di vetrini o immagini digitali risulta lo strumento più idoneo per migliorare la riproducibilità e per avere una stima di sensibilità. La circolazione dei set di vetrini/immagini digitali fra laboratori ed i risultati ottenuti sono infatti fondamentali per una valutazione obiettiva dei livelli di uniformità raggiunta. Sono anche fortemente indicativi dell'accuratezza di un laboratorio.

6.2 | La formazione del citologo

Il personale impegnato nella lettura di esami citologici di triage deve ricevere una adeguata formazione mirata ad un corretto atteggiamento diagnostico, rivolto a donne non più di screening (popolazione apparentemente sana), ma a donne ad elevato rischio di patologia. Il passaggio fondamentale è la formazione di una figura professionale che, partendo dall'esperienza maturata nello screening primario, sia in grado di selezionare fra le pazienti HR-HPV positive quelle con anormalità citologiche a reale rischio di presenza di lesioni CIN2+.

7 Centralizzazione dell'analisi dei test molecolari e della lettura del Pap test

L'utilizzo del test HR-HPV nello screening primario richiede la **centralizzazione dell'analisi degli esami** in laboratori in grado di eseguire in modo automatizzato almeno 20.000 test annui. Richiede inoltre che sia garantito non solo il monitoraggio della qualità analitica dei test, ma anche il loro corretto e coerente inserimento nel processo di screening. Questo deve avvenire non solo perseguendo la massima accuratezza, attraverso le procedure ed i controlli di qualità, ma anche valutando la performance ottimale del test, sulla base di indicatori di processo legati alla qualità dello screening.

Anche la **lettura citologica** dovrebbe essere **centralizzata** per più programmi di screening di aree omogenee, al fine di ottimizzare il numero di letture che **orientativamente dovrebbe attestarsi sul 6-8% dei test HPV eseguiti**.

8 Follow up delle pazienti HPV+ / citologia+ e colposcopia negativa

L'utilizzo del test HR-HPV nello screening primario comporta che, sia dopo un test di 1° livello, sia dopo un richiamo ad un anno, possano esserci delle pazienti con colposcopia negativa generata da HPV positivo e citologia positiva *(Figura 1 - pag. 14)*. Tali pazienti dovrebbero essere seguite sulla base dei protocolli locali già utilizzati dai programmi per le pazienti con diagnosi citologica di screening di ASC-US, ASC-H, AGC, LSIL e HSIL+ e colposcopia negativa.
In caso di test HPV ripetuto dopo 1 anno e risultato positivo, il vetrino sarà letto. In questo caso però, contrariamente al primo anno, la risposta citologica non influirà sull'invio alla colposcopia, che sarà automatico, ma sarà utile per programmare il follow-up più adeguato per le donne con colposcopia negativa.

Un'ipotesi di studio per le pazienti con colposcopia negativa successiva ad un HPV persistente ad un anno potrebbe essere l'effettuazione di un test di genotipizzazione o l'analisi di altri biomarcatori. Questo consentirebbe di individuare i genotipi a rischio e di basare i successivi controlli sul diverso genotipo. Il test, in questo caso, non prevede il richiamo della paziente, ma l'utilizzo del residuo materiale biologico dopo il test HPV DNA HR.

9 Valutazione dei risultati e della fattibilita`

L'implementazione di un nuovo test di screening primario che sostituisca il collaudato Pap test in un programma organizzato deve essere preceduto, oltre che da solide prove di efficacia, anche da prove di fattibilità sul campo. In particolare bisogna valutare l'impatto sul servizio sanitario e sulle utenti.

I principali aspetti da valutare sono:

- l'impatto sull'organizzazione del servizio sanitario: logistica, software gestionali, ecc.;
- l'accettabilità da parte dei professionisti, che si riflette nella congruenza con quanto previsto dai protocolli e ciò che viene effettivamente raccomandato alla donna in termini di intervalli fra i test e di approfondimenti necessari;
- l'accettabilità da parte della popolazione sia del test che dei protocolli di gestione;
- la valutazione dei costi e delle risorse assorbite e liberate dal cambiamento di test primario.

Nelle sezioni successive sono riportate le informazioni da raccogliere per monitorare correttamente un progetto di fattibilità.

9.1 | Valutazione dell'accettabilita`

Un aspetto cruciale da monitorare è **l'adesione al re-invito ad un anno** da parte delle **donne HPV positive con citologia negativa.** Infatti il principale rischio nell'implementazione di un programma di screening con HPV come test primario è quello di indurre sovratrattamento. Questo rischio è particolarmente elevato nelle donne più giovani risultate positive al test HPV ma con citologia negativa. È stato dimostrato che se queste donne sono inviate direttamente in colposcopia, è elevato il rischio di diagnosticare lesioni ad alto tasso di regressione. Dunque è molto importante non solo monitorare la loro adesione al protocollo di screening, ma anche valutare quante di loro hanno effettuato approfondimenti di secondo livello precoci presso altri centri.

Gli indicatori da utilizzare sono:
- adesione al re-invito ad 1 anno (ottenibile con i dati di routine);
- motivo di non adesione al reinvito a 1 anno (l'informazione può essere raccolta mediante intervista telefonica alle donne HPV positive con citologia negativa non aderenti al richiamo).

Altri aspetti importanti da monitorare nello screening con HPV sono:
- l'adesione delle donne invitate a uno screening diverso da quello con Pap test: questa valutazione sarà particolarmente rilevante per i progetti pilota che prevedono un braccio di controllo;
- l'adesione all'invito per classe d'età.

9.2 | Valutazione dei costi e delle risorse necessarie

Per un confronto con il modello di screening attuale devono essere misurati:
- il tempo ostetrica per il prelievo (inclusa l'informazione alla paziente sui possibili esiti del test);
- il tempo del personale di laboratorio per l'effettuazione del test;
- il costo del kit;
- i costi di altri materiali consumabili;
- il tempo lettura del Pap-test di triage.

9.3 | Valutazione dell'impatto sull'organizzazione del servizio

Per valutare l'impatto sull'organizzazione del servizio bisognerà monitorare il carico di lavoro indotto per il coordinamento, il laboratorio e il servizio di colposcopia.

Gli indicatori da utilizzare sono:
- la percentuale di donne da richiamare per prelievi inadeguati;
- la percentuale di donne positive all'HPV;
- la percentuale di donne positive al Pap test;
- l'invio in colposcopia al reclutamento;
- la percentuale di positività all'HPV nelle donne richiamate a un anno;
- i tempi d'attesa per le risposte negative HPV;
- i tempi d'attesa per le risposte positive HPV negative alla citologia;
- i tempi d'attesa per le risposte positive HPV e alla citologia;
- i tempi d'attesa per la colposcopia.

10 Indicatori per la valutazione della qualita` dei programmi che utilizzano il test HR-HPV come test di screening primario

L'Allegato 1 riporta gli indicatori già raccomandati dal GISCi per lo screening citologico e i nuovi indicatori specifici per lo screening mediante test HPV.
Gli indicatori sono presentati per livello,e sono già stati più volte citati nei paragrafi precedenti.

Allegato 1:

Indicatori da rilevare nello screening con test HR-HPV come test di screening primario.

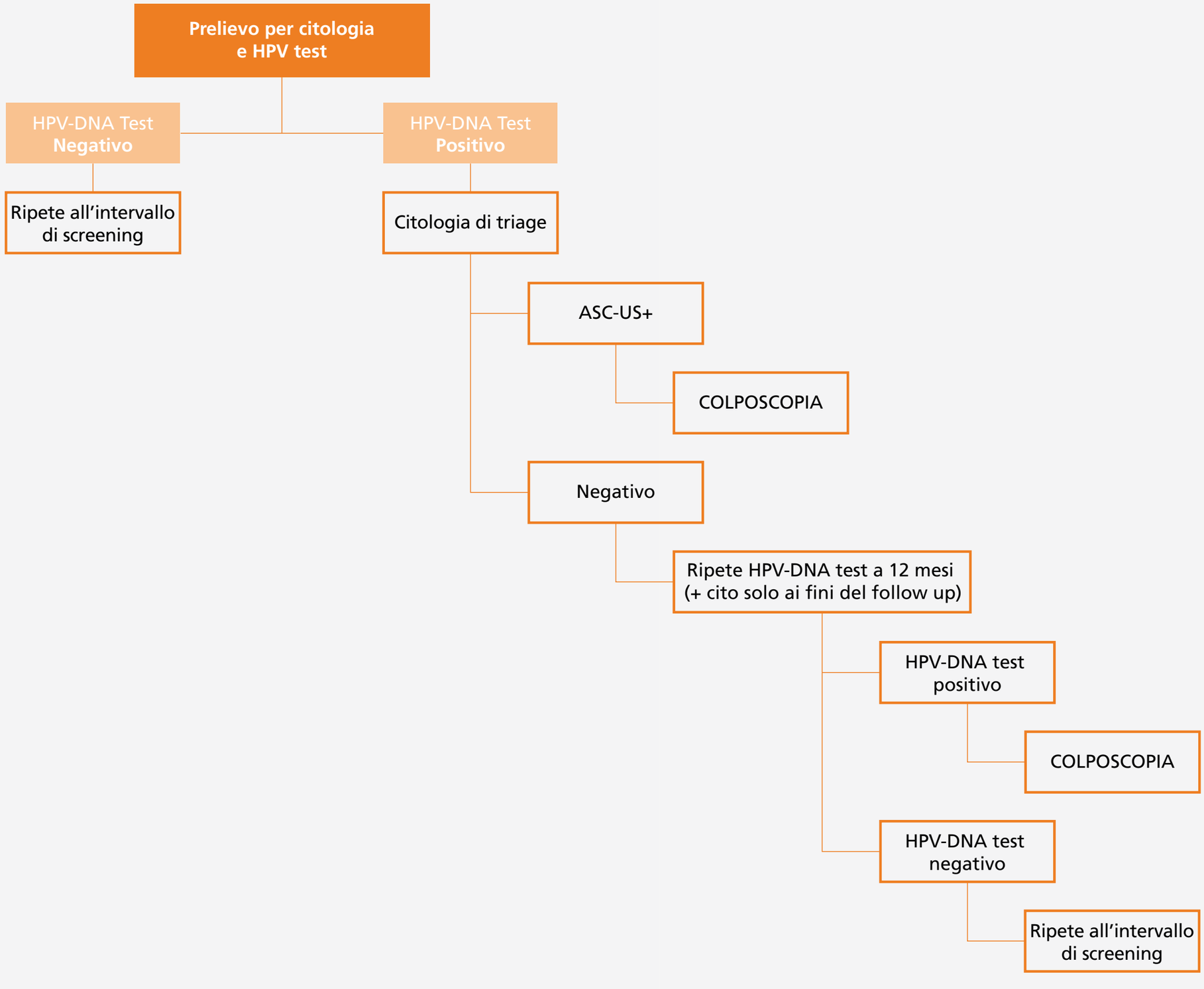
Tutti gli indicatori vanno rilevati con cadenza semestrale.

Indicatore	Formula	Dati necessari	Note
Primo livello			
1. Estensione degli inviti	Donne invitate / target nel periodo *100	Donne residenti Donne invitate	Target nel periodo: residenti / 3 (annuale), residenti / 6 (semestrale)
2. Adesione corretta all'invito	Donne aderenti / (Donne invitate - inviti inesitati - Donne escluse dopo l'invito per test recente) *100	Donne invitate Inviti inesitati Donne escluse dopo l'invito per test recente Donne aderenti	Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64
3. Proporzione di test HPV positivi	HPV positivi / HPV totali *100	HPV totali HPV positivi	Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64
4. Proporzione di test HPV smarriti o vuoti	HPV smarriti o vuoti / HPV totali *100	HPV totali HPV smarriti o vuoti	Registrare a parte eventuali piastre inadeguate
5. Proporzione di Pap test positivi	Pap test positivi / Pap test totali *100	Pap test totali Pap test positivi	Sono letti i Pap test delle donne HPV+ Pap test positivo: ASC-US+ Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64
6. Proporzione di Pap test inadeguati	Pap test inadeguati / Pap test totali *100	Pap test totali Pap test inadeguati	

Secondo livello			
7. Tasso di richiamo a colposcopia	Donne inviate a colposcopia / donne screenate *100	Donne screenate (=aderenti) Donne inviate a colposcopia	Sono inviate a colposcopia le donne HPV+ Pap+ Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64
8. Adesione alla colposcopia	Donne aderenti alla colposcopia / donne inviate a colposcopia *100	Donne inviate a colposcopia Donne aderenti alla colposcopia	Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64
9. VPP di HPV+ / Pap+ alla colposcopia	Donne sottoposte a colposcopia con diagnosi CIN2+ / donne sottoposte a colposcopia *100	Donne aderenti alla colposcopia Donne con diagnosi CIN2+	Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64
10. Tasso di identificazione di lesioni istologiche CIN2+ al reclutamento	Donne con diagnosi CIN2+ / donne screenate *1000	Donne screenate (=aderenti) Donne con diagnosi CIN2+	Per tipo di lesione (CIN2, CIN3) Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64
Richiamo a 1 anno dopo HPV+ Pap-			
11. Tasso invio a 1 anno	Donne inviate a 1 anno / donne screenate *100		Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64
12. Adesione al richiamo	Donne aderenti al richiamo a un anno dopo HPV+ Pap- / Donne HPV+ Pap- *100	Donne HPV+ Pap- Donne HPV+ Pap- aderenti al richiamo a un anno	Non si contempla la correzione per test recente, che è una mancata adesione al modello. Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64
13. Distribuzione per intervallo effettivo del richiamo dal test indice	Donne che effettuano il richiamo a 6-9, 10-12, 13-15, ecc mesi dal test indice / Donne aderenti al richiamo	Totale richiami eseguiti Tempo intercorso tra il test indice ed il richiamo	Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64
14. Proporzione di test HPV positivi al richiamo	HPV positivi / totale richiami eseguiti *100	Totale richiami eseguiti HPV positivi al richiamo	Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64 Per intervallo dal test indice

15. Proporzione di Pap test positivi in colposcopia	Pap test positivi / Pap test totali in colposcopia *100	Pap test totali Pap test positivi	Per categoria diagnostica Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64
16. Adesione alla colposcopia dopo richiamo	Donne aderenti alla colposcopia / donne inviate a colposcopia dopo richiamo *100	Donne inviate a colposcopia dopo richiamo Donne aderenti alla colposcopia dopo richiamo	Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64
17. VPP di HPV+ alla colposcopia dopo richiamo	Donne sottoposte a colposcopia con diagnosi CIN2+ / donne sottoposte a colposcopia dopo richiamo *100	Donne aderenti alla colposcopia dopo richiamo Donne con diagnosi CIN2+ dopo richiamo	Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64
18. Tasso di identificazione di lesioni istologiche CIN2+ al richiamo	Donne con diagnosi CIN2+ / totale richiami eseguiti *1000	Totale richiami eseguiti Donne con diagnosi CIN2+ al richiamo	Per tipo di lesione (CIN2, CIN3) Per classe quinquennale d'età e nelle due classi 25-34 e 35-64
Tempi dello screening			
20. Tempo fra test di screening ed esecuzione del test	Donne con esecuzione del test entro 21 (15) giorni di calendario / donne screenate *100	Data di esecuzione del prelievo Data di esecuzione del test	
21. Tempo fra test di screening e invio richiamo ad 1 anno	Donne con invio del richiamo ad 1 anno per HPV+ e Pap- entro 21 (15) giorni di calendario / donne con test di screening HPV+ e Pap- *100	Data di esecuzione del prelievo Data di invio del richiamo ad 1 anno per HPV+ e Pap-	
22. Tempo fra test positivo ed esecuzione dell'approfondimento	Donne che effettuano la colposcopia entro 30 giorni dalla data del prelievo di primo livello / donne che effettuano la colposcopia *100	Data di esecuzione del prelievo Data di esecuzione della colposcopia	

Figura 1:
Algoritmo dello screening con test HR-HPV come test di screening primario.



RACCOMANDAZIONI SUL TEST HR-HPV COME TEST DI SCREENING PRIMARIO E RIVISITAZIONE DEL RUOLO DEL PAP TEST

11 Bibliografia

1 Raccomandazioni per la pianificazione e l'esecuzione degli screening di popolazione per la prevenzione del cancro della mammella, del cancro della cervice uterina e del cancro del colon retto. A cura dei Gruppi di lavoro nominati dai Decreti del Ministro della Salute (3/11/2004 e 18/10/2005), in applicazione della L. 138/2004 (art. 2 bis), Dipartimento Generale delle Prevenzione, Ministero della Salute. Roma, 2006.

2 Bulkmans N, Berkhof J, Rozendaal L et al. Human papillomavirus DNA testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial. Lancet 370(9601): 1764-72.

3 Naucler P, Ryd W, Törnberg S, et al. Human papillomavirus and Papanicolaou tests to screen for cervical cancer. N Engl J Med 2007; 357: 1589-97.

4 Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F et al Human papillomavirus testing and liquid-based cytology in primary screening of women younger than 35 years: results at recruitment for a randomised controlled trial. Lancet Oncol 2006; 7: 545-53.

5 Ronco G, Segnan N, Giorgi-Rossi P et al. Human Papillomavirus testing and liquid-based cytology in primary cervical screening: results at recruitment from the New Technologies for Cervical Cancer randomized controlled trial. J Natl Cancer Inst 2006; 98: 765-74.

6 Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, et al. Results at Recruitment from a Randomized Controlled Trial Comparing Human Papillomavirus Testing Alone to Conventional Cytology as the Primary Cervical Cancer Screening Test. J Natl Cancer Inst 2008; 100: 492-501.

7 Ronco G, Cuzick J, Segnan N, et al. HPV triage for low grade (L-SIL) cytology is appropriate for women over 35 in mass cervical cancer screening using liquid based cytology. Eur J Cancer 2007; 43: 476-80.

8 Carozzi F, Confortini M, Palma et al. The New Technologies for Cervical Cancer screening (NTCC) working group.Use of p16-INK4A overexpression to increase the specificity of human papillomavirus testing: a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. Lancet Oncol 2008; 9 (10): 937-945.

9 Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F et al. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2010 Mar; 11(3): 249-57.

10 Solomon D, Davey D, Kurman R et al. Bethesda 2001 Workshop: The 2001 Bethesda System. Terminology for reporting results of Cervical Cytology. JAMA 2002; 287(16): 2114-9.

11 Meijer C, Berkhof J, Castle PE et al. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervicalcancer screening in women 30 years and older. Int. J Cancer. 2009; 124: 516-20.

12 Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi et al. A review of human carcinogens- Part B: Biological agents. Lancet Oncol 2009; 10 (4): 331-332.

13 Gisci Gruppo Italiano Screening del Cervicocarcinoma www.gisci.it.