

## **HPV test come test primario di screening.**

Preparazione del personale prelevatore dello screening del cervico-carcinoma  
Prevenzione Serena - estensione a tutta la Regione Piemonte.  
(Codice E.C.M. 300-18134)

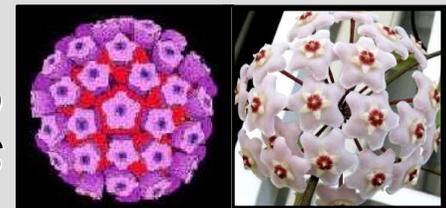


# **Papillomavirus umano: cosa è importante ricordare e comunicare**

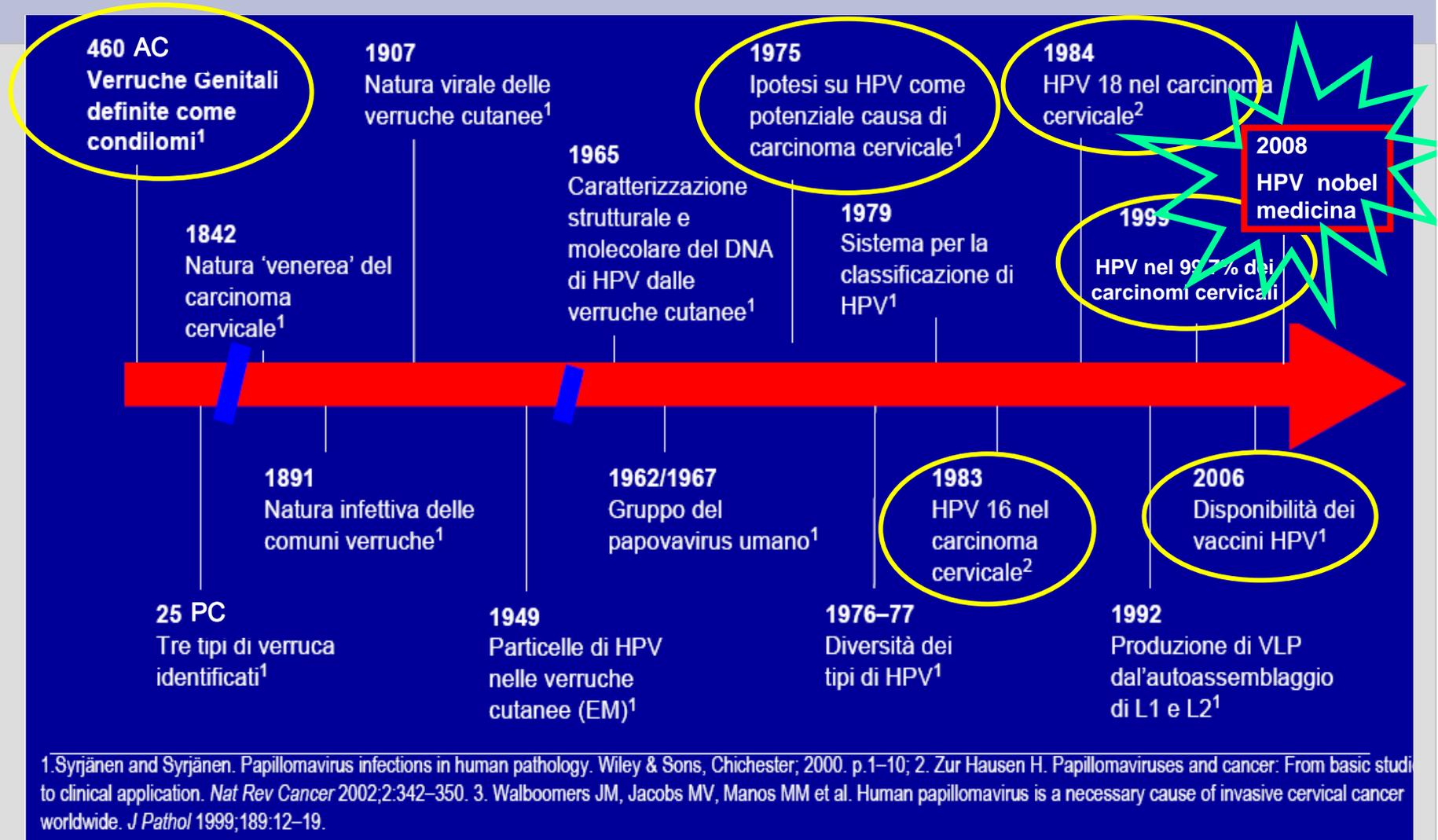
***Laura De Marco***

***Centro Unificato per lo Screening Cervico Vaginale  
A.O. Città della Salute e della Scienza di Torino  
Presidio S. Giovanni Antica Sede***

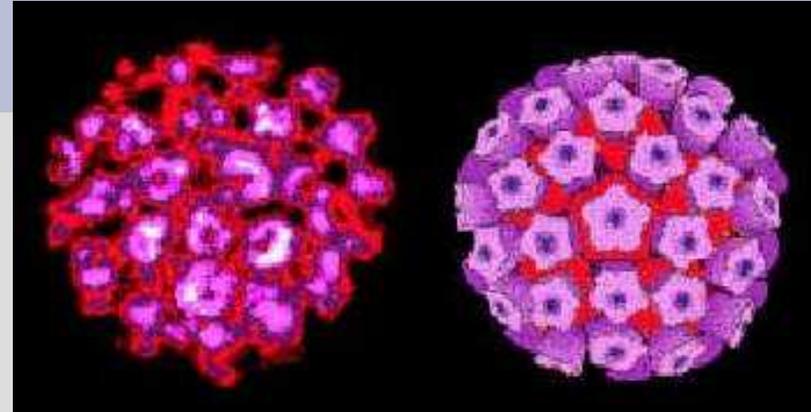
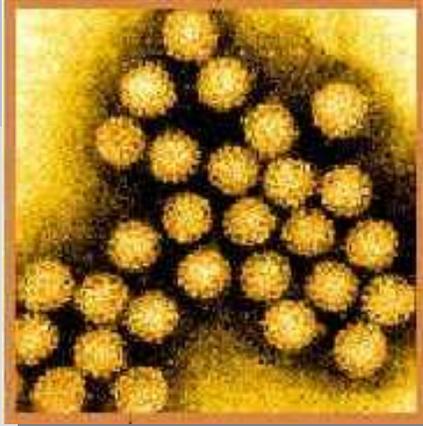
***Epidemiologia dei Tumori - Università di Torino  
Laboratorio Epidemiologia Molecolare - CeRMS***



# HPV: MILESTONES NELLA RICERCA



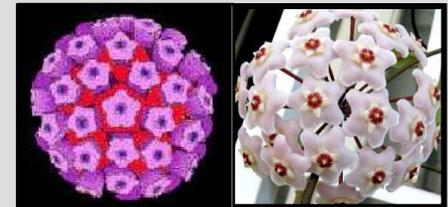
# CHE COS' E' IL PAPILLOMA VIRUS?



- Famiglia : *Papillomaviridae*; Genere: Papillomavirus
- Piccoli virus nudi a simmetria icosaedrica
- DNA doppia elica di circa 8000 bp → geni L e E
- Capside icosaedrico diametro 52 – 55 nm
- Specie specifici
- Tropismo per cellule epiteliali
- Virus oncogeni

*Syrjänen and Syrjänen. Papillomavirus infections in human pathology. Wiley & Sons 2000, Chichester:11–46.*

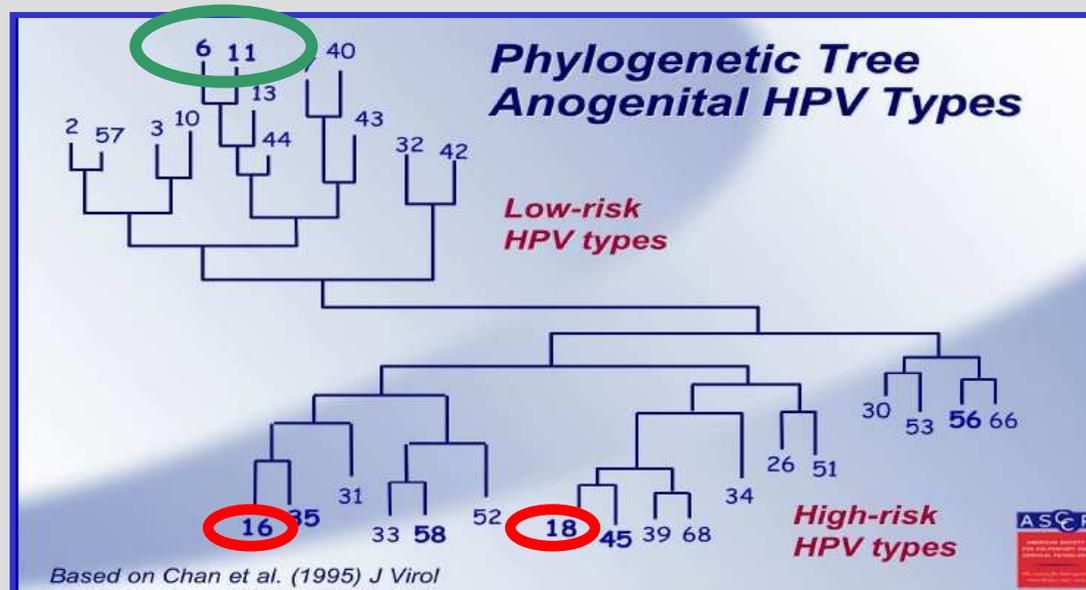
***TUTTI GLI HPV SONO  
ONCOGENICI?***



# HPV: CLASSIFICAZIONE

■ HPV possono infettare cellule epiteliali basali della cute o lo strato esterno dei tessuti e sono quindi classificati in:

- ◆ **Tipi cutanei:** epidermotropi → cute delle mani e dei piedi
- ◆ **Tipi mucosali:** mucosa orale, gola apparato respiratorio ed epitelio anogenitale



■ Più di 120 tipi di HPV sono stati identificati

- ◆ 40 sono mucosali, 12 sono stati classificati come oncogenici

# HPV GENITALI E RISCHIO ONCOGENICO

Group	HPV types	Comments
<b>Alpha HPV types</b>		
1	16	Most potent HPV type, known to cause cancer at several sites
1	18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59	Sufficient evidence for cervical cancer
2A	68	Limited evidence in humans and strong mechanistic evidence for cervical cancer
2B	26, 53, 66, 67, 70, 73, 82	Limited evidence in humans for cervical cancer
2B	30, 34, 69, 85, 97	Classified by phylogenetic analogy to HPV types with sufficient or limited evidence in humans
3	6, 11	..
<b>Beta HPV types</b>		
2B	5 and 8	Limited evidence for skin cancer in patients with epidermodysplasia verruciformis
3	Other beta and gamma types	..

Table 2: Human papillomavirus (HPV) types assessed by the IARC Monograph Working Group

HPV 6, 11: - 90% dei condilomi genitali  
- Lesioni cervicali CIN 1 (da 4 a 25%)

**ATT.: la presenza di HPV ad alto rischio è necessaria, ma non sufficiente per l'insorgenza di un carcinoma**

- 25% CIN1



# COME SI TRASMETTE L'INFEZIONE DA HPV?

HPV resistente al calore ed all'essiccamento (*Burd, 2003*)

## Contatto sessuale

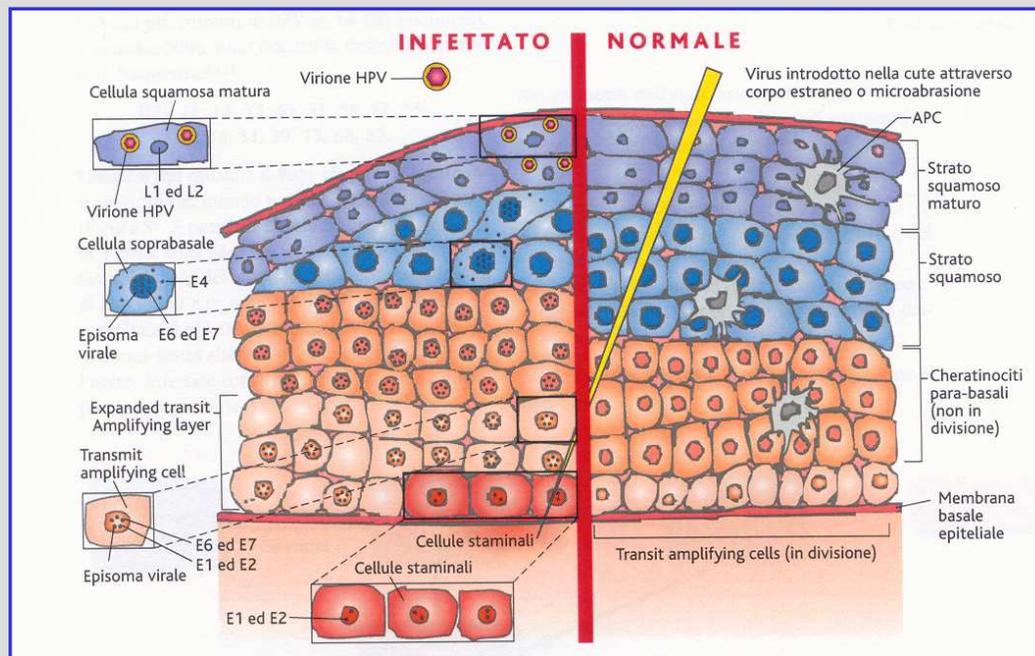
- Rapporti sessuali
- Genitale-genitale, manuale-genitale, orale-genitale
- La trasmissione può avvenire anche tramite contatto cutaneo nell'area genitale

## IL PRESERVATIVO PROTEGGE DALL'INFEZIONE?

- Il preservativo può ridurre il rischio di trasmissione, ma non è completamente protettivo.

# HPV: COME "INFETTA" E COME SI REPLICA?

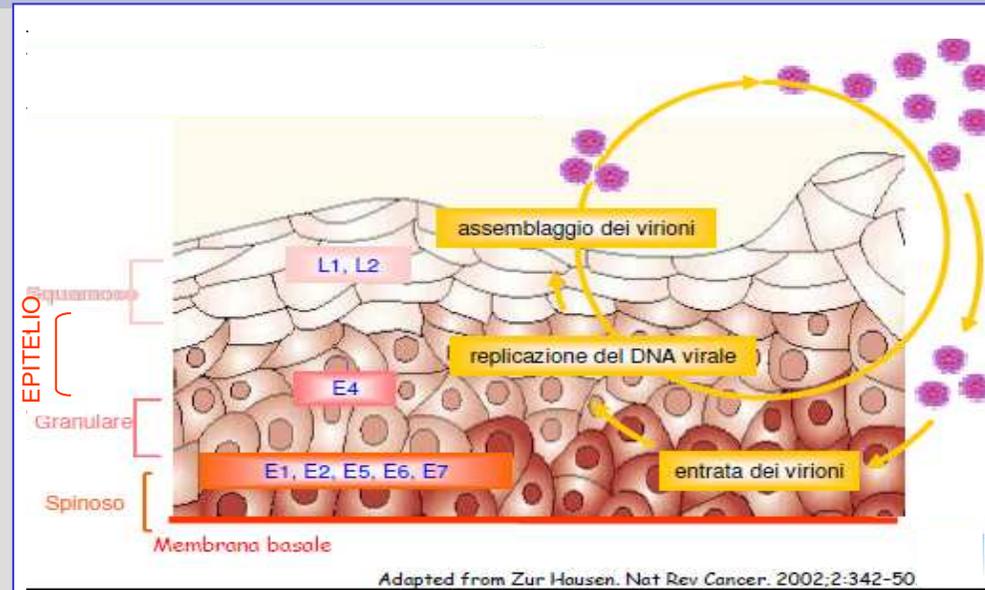
L'infezione non produce viremia, l'HPV resta localizzato a livello epiteliale e mucosale



- penetra nell'epitelio attraverso microabrasioni e raggiunge, infettando, le cellule dello strato basale.
- HPV si replica all'interno dell'epitelio squamoso stratificato
- è in grado di sfruttare la differenziazione cellulare per regolare la propria replicazione.

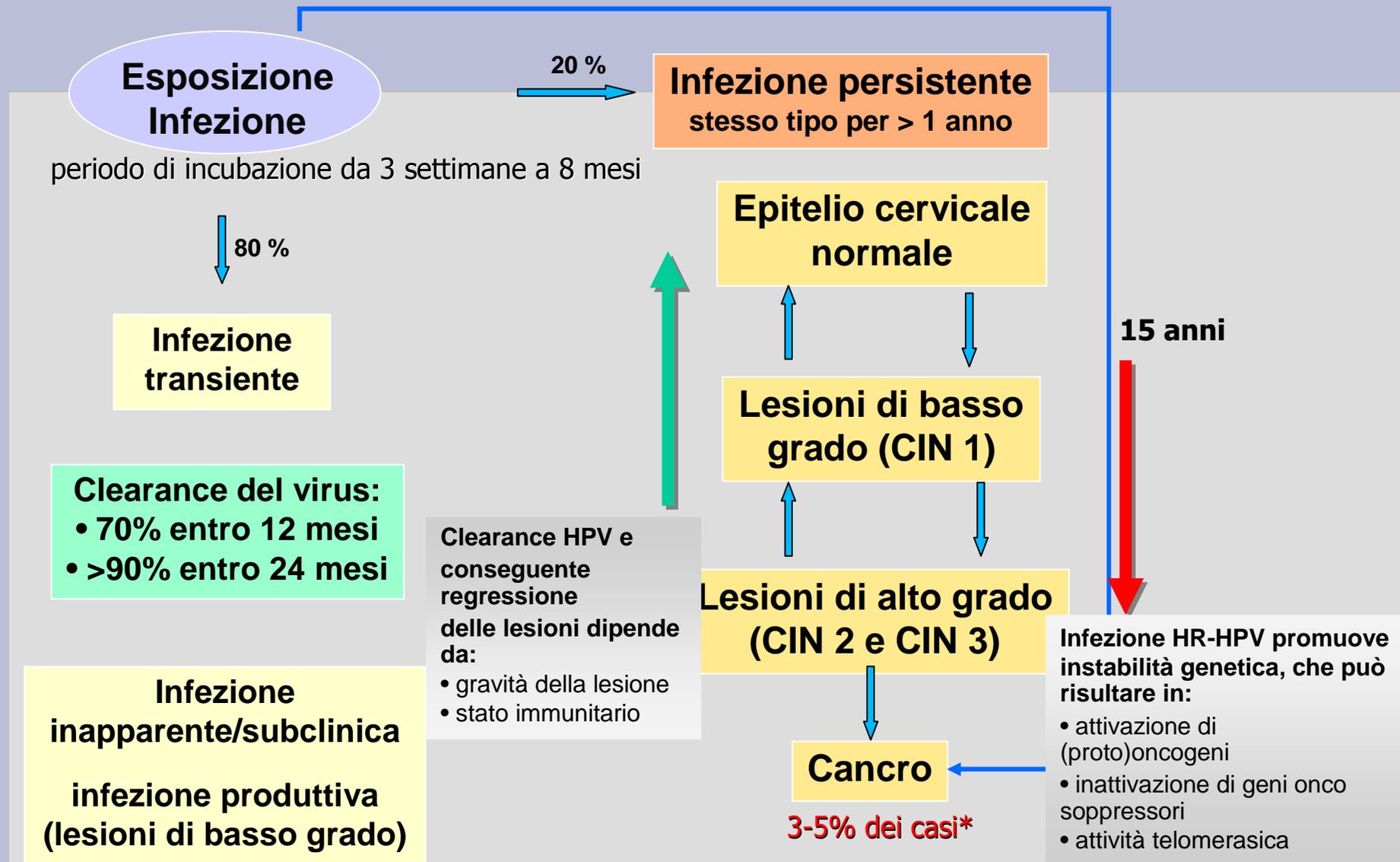
# HPV: CICLO REPLICATIVO ed ESPRESSIONI GENICHE

L'infezione avviene attraverso lo strato basale



- Il virus può rimanere silente in forma episomale all'interno della cellula ospite questo può spiegare le recidive e anche la fluttuazione nel tempo della presenza di HPV DNA nei tessuti.
- Può replicarsi e indurre la proliferazione dell'epitelio squamoso → forme vegetanti (condilomi).
- Può integrarsi nel genoma della cellula inducendo con maggior frequenza lesioni di grado elevato.

# CHE COSA PROVOCA L'INFEZIONE DA hrHPV?



da: Meijer CJL, 2000 modificato, \* Meijer CJL, 2009

# CHE COSA PROVOCA L'INFEZIONE DA hrHPV?

## COSA RICORDARE

1. molti guariscono dall'infezione

2. tempi necessari per la progressione molto lunghi:

- displasia lieve → CIS: 4 – 7 anni
- CIS → carcinoma invasivo: quasi 10 anni

Tali tempi consentono l'identificazione delle lesioni precancerose nelle donne che partecipano regolarmente ai programmi di screening.

3. sviluppo di un tumore può essere un processo lento

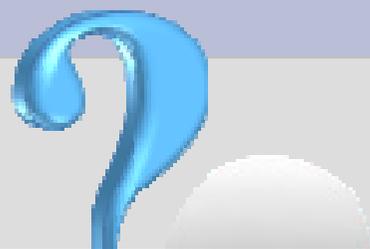
- non tutti i passaggi sono necessariamente irreversibili
- la regressione appare essere l'evenienza predominante

**IL CANCRO DEL COLLO DELL'UTERO È UN ESITO RARO DI UN'INFEZIONE COMUNE !!**

# ***FATTORI DI RISCHIO per la PERSISTENZA e PROGRESSIONE al TUMORE:***

- **HR-HPV persistente**
- **Screening per tumore cervicale: mai o raramente**
- **Immunosoppressione**
- **Fumo**
- **Uso di contraccettivi orali per lungo tempo**
- **Co-infezioni (Chlamydia trachomatis e HSV type 2)**
- **Numero di gravidanze**
- **Dieta**

# HPV: DOMANDE APERTE



***Dopo un'infezione gli anticorpi formati proteggono da una nuova infezione da HPV dello stesso genotipo?***

L'esposizione naturale all'HPV:

- **non produce viremia**, resta localizzato a livello epiteliale e mucosale

Conseguentemente:

- **Il livello di protezione conferito dall'infezione naturale è variabile**
- sono **possibili le reinfezioni o nuove infezioni**

## *Cosa vuol dire, per la donna, avere un test hrHPV positivo?*



*Mario Sideri  
estratto dalla presentazione Gisci 2014*

**Dove l'ho preso?**

**Il papillomavirus è un virus ubiquitario**

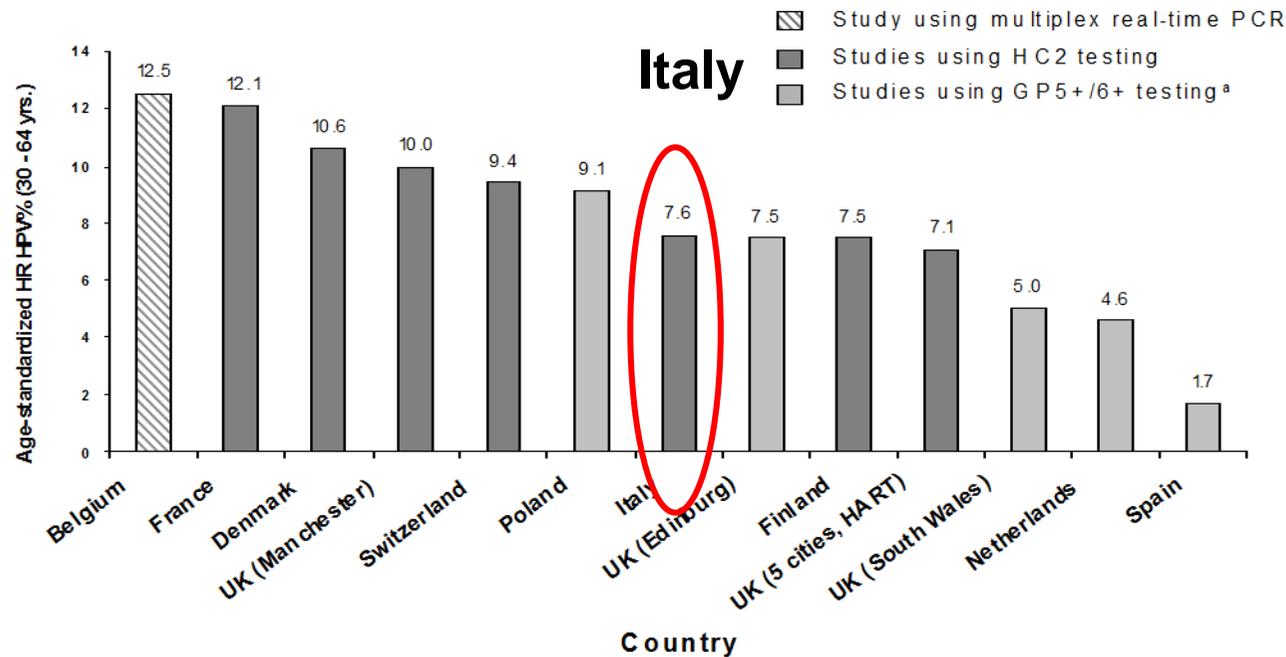
Cioè tutti hanno il virus, anche in forma latente

Il test non serve sapere chi ha il virus, ma chi ha la pre-cancerosi che contiene una quantità e qualità di virus specifica.

Quindi il test non è positivo al papillomavirus ma al rischio di avere una precancerosi

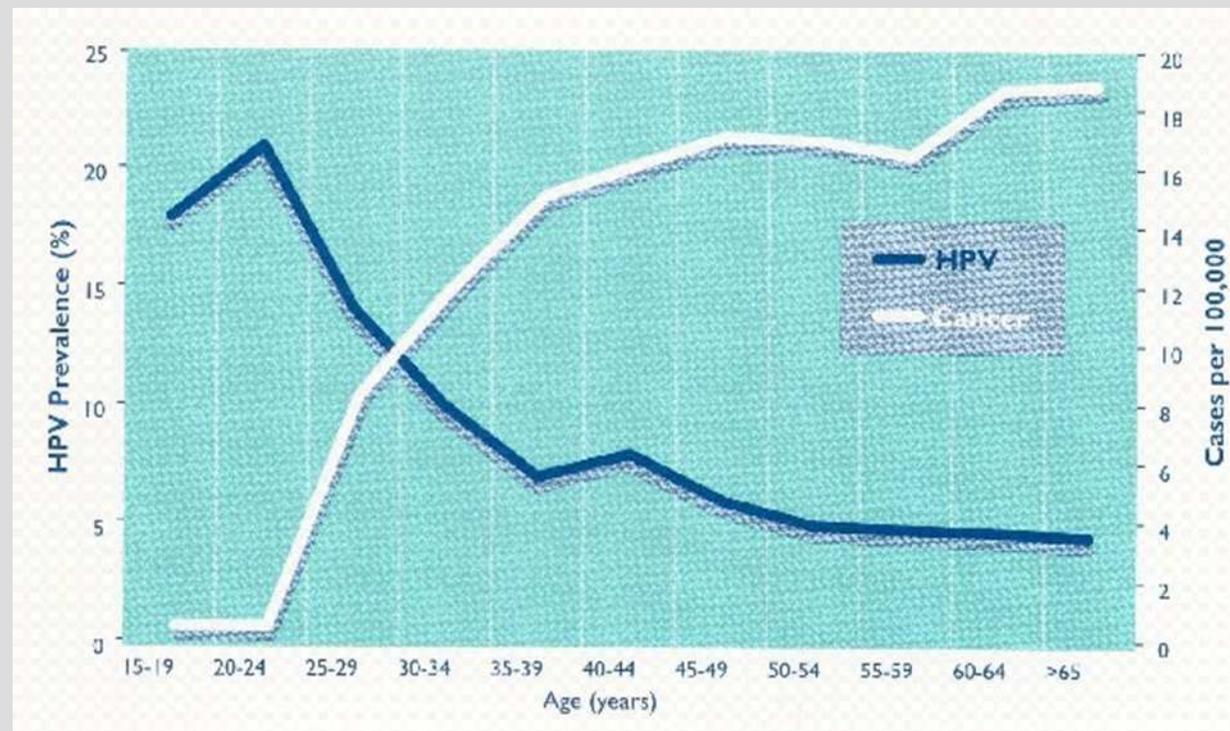
# QUANTO FREQUENTE È L'INFEZIONE DA HPV?

**Infezione a trasmissione sessuale più frequente:  
75% della popolazione attiva sessualmente è stata  
infettata da HPV**



# HPV: PREVALENZA DELLE INFEZIONI

- Correlata al **numero** e alla **frequenza** dei partner
- Correlata all'età (massima tra i 15 e i 25 anni)



# HPV : EPIDEMIOLOGIA CARCINOMA CERVICALE

- Il carcinoma della cervice è il **terzo** tumore più frequente e la **quarta causa di morte** nel mondo per tumore tra le donne (*Arbyn 2011*)
- **~1.000.000 nuovi casi** di carcinoma della cervice uterina ogni anno nel mondo (*Arbyn 2011*)
- e un tasso di mortalità variabile in base all'area geografica da <3 a >55 / 100.000 (*Arbyn 2011*)
- Il **80%** dei nuovi casi e delle morti colpiscono donne che vivono nei paesi in via di sviluppo

# HPV : EPIDEMIOLOGIA CARCINOMA CERVICALE

JOURNAL OF PATHOLOGY  
*J. Pathol.* 189: 12–19 (1999)

## HUMAN PAPILLOMAVIRUS IS A NECESSARY CAUSE OF INVASIVE CERVICAL CANCER WORLDWIDE

JAN M. M. WALBOOMERS<sup>1\*</sup>, MARCEL V. JACOBS<sup>1</sup>, M. MICHELE MANOS<sup>2</sup>, F. XAVIER BOSCH<sup>3</sup>, J. ALAIN KUMMER<sup>1</sup>, KIERTI V. SHAH<sup>2</sup>, PETER J. F. SNIJDERS<sup>1</sup>, JULIAN PETO<sup>4</sup>, CHRIS J. L. M. MEIJER<sup>1</sup> AND NUBIA MUÑOZ<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathology, University Hospital Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands

<sup>2</sup>Department of Molecular Microbiology and Immunology, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, U.S.A.

<sup>3</sup>Institute Catala d'Oncologia, Barcelona, Spain

<sup>4</sup>Institute of Cancer Research, Belmont, Surrey, U.K.

<sup>5</sup>Unit of Field and Intervention Studies, IARC, Lyon, France

- Prevalenza del **99.7%** di DNA di HPV nei carcinomi della cervice (in PCR) (*Walboomers, 1999; Meijer, 2000*)
- Il **50-55%** dei carcinomi della cervice correlati ad HPV sono **associati al 16**, il **15-20% al 18**, il 9% al 45, il 6% al 31 e il 3% al 33 (*IARC, 2000; Meijer, 2009*)

# *STRATEGIE DI PREVENZIONE DEL CARCINOMA CERVICALE*

## SCREENING DI MASSA

### OBIETTIVO

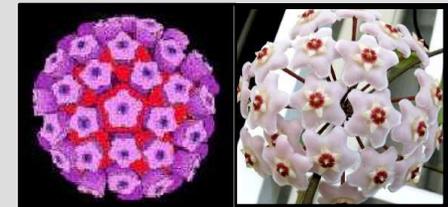
- identificare e trattare le lesioni precancerose
- Prevenire i trattamenti non necessari
- Minimizzare i costi

## VACCINAZIONE

# *PREVENZIONE DEL TUMORE CERVICALE: APPROCCI NEI PAESI SVILUPPATI*

- Screening
  - Citologia con colorazione di Papanicolaou (Pap-Test)
  - HPV test
- Valutazione di secondo livello delle donne positive:
  - colposcopia o biopsia cervicale
- Trattamento delle donne con diagnosi istologica di alto grado

# ***COME SI FA LA DIAGNOSI DELL'INFEZIONE?***



# SISTEMI INDIRETTI

- Indagine clinica e colposcopica
- Esame microscopico:

PAP-TEST (cellule esfoliate)

COILOCITI

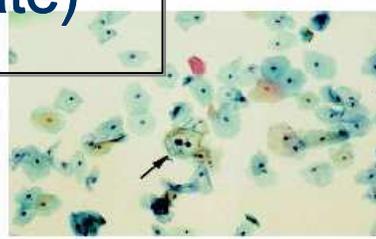


FIG. 4. ThinPrep Pap Smear showing abnormal squamous cells with HPV cytopathic effect (arrow), consistent with LSIL.

tessuto bioptico

*Cellule con grossi vacuoli perinucleari e addensamento di citoplasma → patognomoniche*

- Indagine microscopica di preparati istologici
- Microscopia elettronica

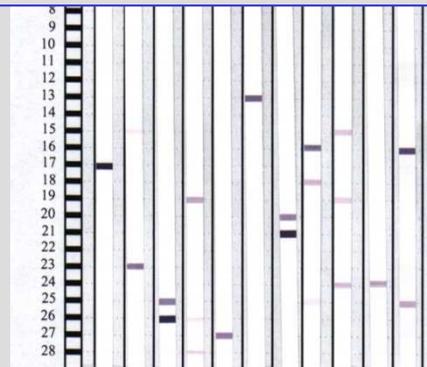
# SISTEMI MOLECOLARI - DIRETTI

Esistono 3 sistemi utilizzabili per la valutazione della presenza di HPV in un campione biologico

Ibridazione con sonde

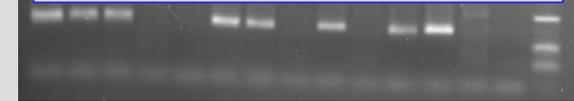


Identificazione di HPV DNA H-L rischio  
Genotipizzazione



PCR

Identificazione di HPV DNA  
Quantificazione di HPV DNA  
Quantificazione di HPV mRNA



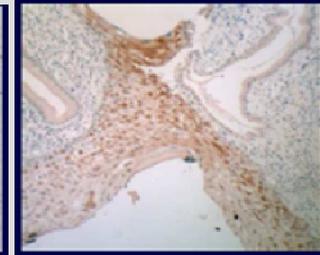
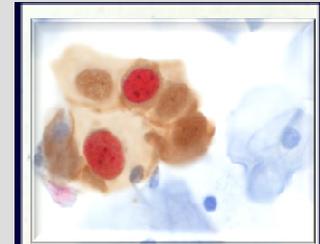
Amplificazione del segnale



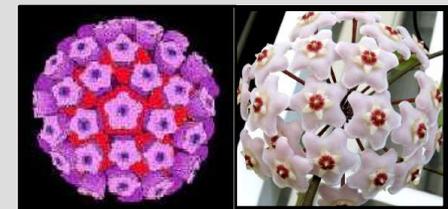
# HPV: DIAGNOSI DI INFEZIONE

## Nuovi tests molecolari ed immunologici

- Persistenza di HPV
- Viral load/real time PCR
- mRNA E6/E7 di HPV ad alto rischio
- HPV integrazione / delezione HPV E2
- HPV subtyping, sequenziamento regione E6
- Marcatori tumorali:
  - p16/INK4a, DNA methylation
- Risposta immune anti HPV:
  - IgG. IgA

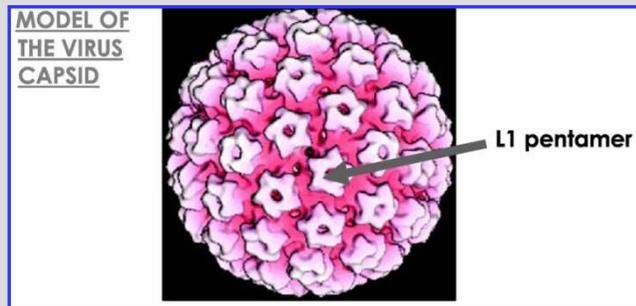


# ***PREVENZIONE DEL TUMORE CERVICALE : VACCINI***

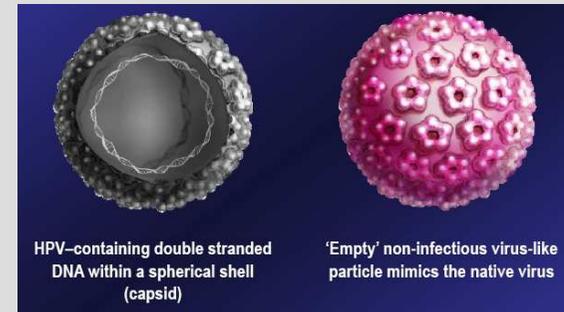
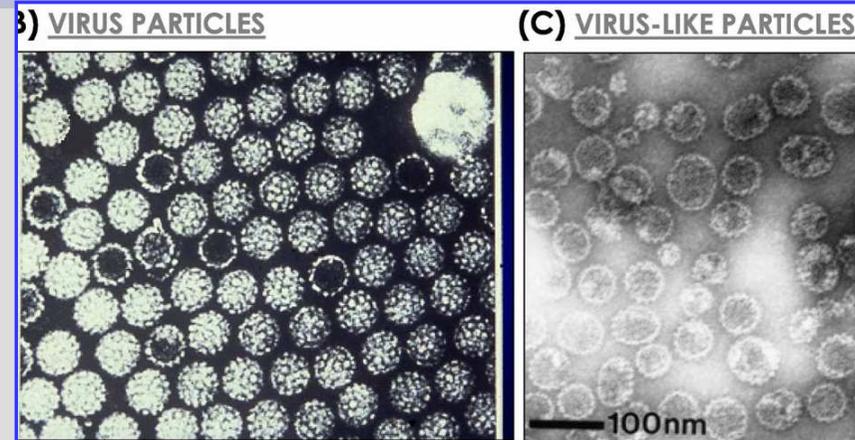


# COMPOSIZIONE DEI VACCINI HPV

particelle simil-virali ("Virus-like Particles", o VLP) + Adjuvanti



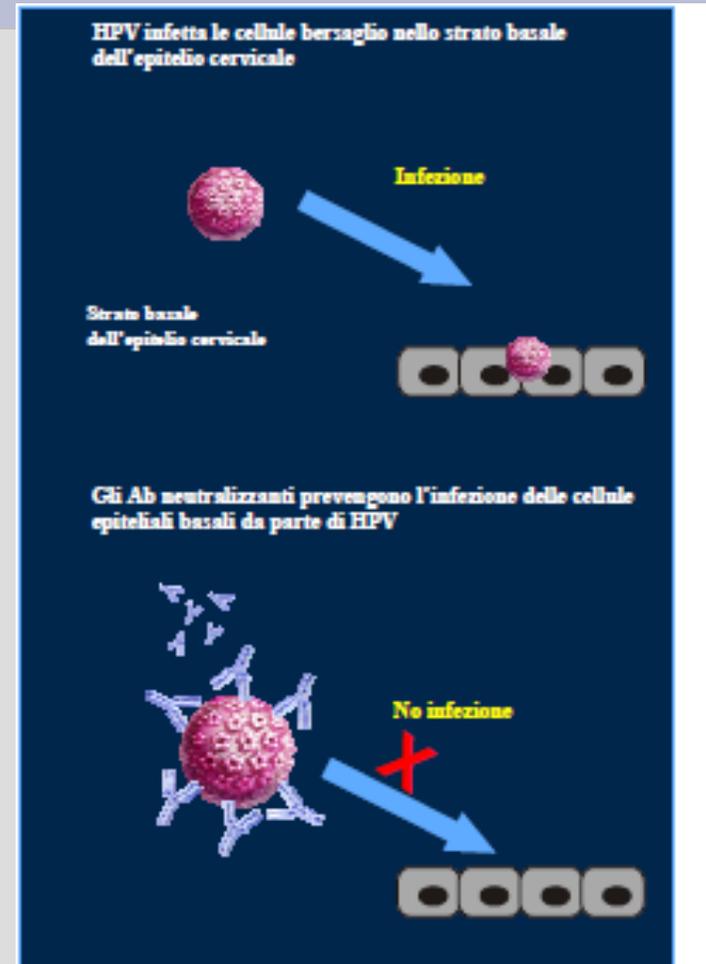
*M. Stanley et al. / Vaccine 24S3 (2006) S3/106–S3/113*



Ad oggi sono disponibili due vaccini in grado di prevenire l'infezione da HPV; entrambi sono costituiti da proteine capsidiche L1 e da un adiuvante.

# VACCINI PREVENTIVI CONTRO HPV

- L1 ha più alto potere immunogenico con produzione di anticorpi HPV specifici nell'ospite
- La vaccinazione previene l'infezione mediante l'induzione alla produzione di anticorpi neutralizzanti
- Gli anticorpi neutralizzanti si legano a siti presenti sul capside virale e prevengono l'infezione della cellula ospite<sup>1</sup>



1. Stanley M *et al.* *Vaccine* 2006;24 Suppl 3:S106-S113;  
2. WHO Department of Immunization, Vaccines and Biologicals 2007.

# VACCINI PREVENTIVI CONTRO HPV

## **Cervarix (Glaxo SmithKline)**

- Bivalente (tipi 16/18)
- Via intra muscolo in 3 dosi (0, 1 e 6 mesi)
- VLPs prodotte in cellule di insetto (*Trichoplusia ni*) con vettore Baculovirus
- Adjuvante: AS04 (idrossido di alluminio e MPL®)
- Autorizzato per l'uso (EMA), registrato in Italia

## **Gardasil (Sanofi Pasteur MSD/Merck)**

- Quadrivalente (16/18/6/11)
- Via intra muscolo in 3 dosi (0, 2 e 6 mesi)
- VLPs prodotte in cellule di *S. cerevisiae*
- Adjuvante: alluminio idrossifosfato solfato amorfo (AAHS)
- Autorizzato per l'uso (FDA, EMA), registrato in Italia

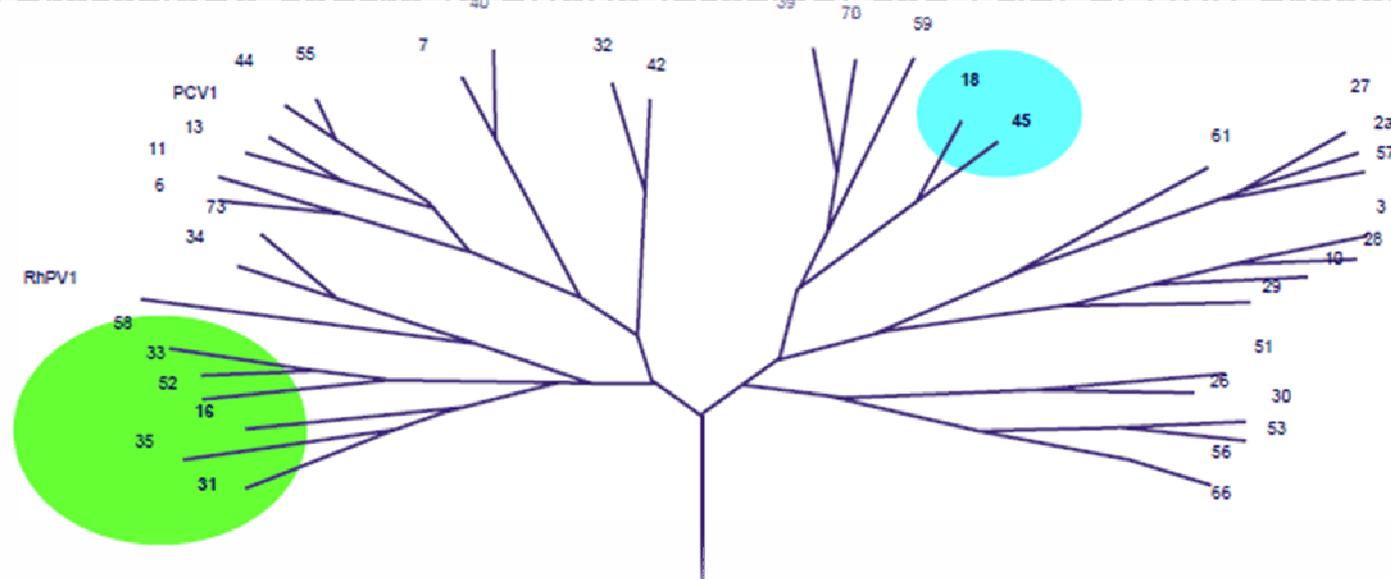
# VACCINI PREVENTIVI CONTRO HPV

## SCOPO

- prevenzione di circa:
  - 70% di tutte le CIN 2/3 e dei casi di cancro cervicale (bivalente-quadrivalente)
  - 90% di tutti i condilomi (quadrivalente)
  - 35-50% circa di tutti i casi di CIN 1
- efficacia del vaccino valutata in clinical trials (fase II e III) coinvolgendo donne tra i 16-26 anni

# RISULTATI SPERIMENTALI

- Buona risposta anticorpale, consistentemente più alta dell'immunità naturale
- Buona protezione contro le nuove infezioni per i tipi di HPV presenti nel vaccino
- Prevenzione delle lesioni precancerose
- No effetto sulle infezioni preesistenti
- Cross-protezione per i tipi di HPV non presenti nel vaccino



## I RISCHI DA EVITARE

- ✓ Falsa sicurezza verso altre infezioni sessualmente trasmesse
- ✓ Minore adesione allo screening → *partecipazione anche se vaccinate*



- Copertura per 9 tipi di HPV:

16/18/6/11 + 31,33,45,52,58

**SCOPO:**

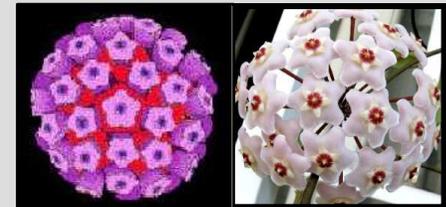
- potenziale di prevenzione del 90%



20% in più del quadrivalente

- Studi di valutazione costo/efficacia quadri. vs nonavalente pubblicati  
(Drolet M. *Int. J Cancer*, 2013)

# ***HPV-DNA: IL TEST MOLECOLARE***



# Test Hybrid Capture ® 2 (HC2) - Qiagen

## CHE COS' E'?

- ✓ **HYBRID CAPTURE** e' una tecnologia a segnale amplificato, basata sulla rilevazione dell'acido nucleico tramite chemiluminescenza
- ✓ il test **HYBRID CAPTURE 2** e' stato per anni l'unico test di rilevazione di HPV-DNA approvato dalla **FDA**
- ✓ il test **HYBRID CAPTURE 2** ha conseguito il marchio **CE, IVD**

✓ metodo qualitativo

✓ **13 (12 + 1)** ceppi ad alto rischio oncogenico

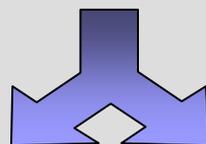
16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68

# *Test Hybrid Capture ® 2 (HC2) - Qiagen*

**IL SISTEMA HC2 E' STANDARDIZZATO  
PER LE SEGUENTI TIPOLOGIE di PRELIEVO  
con RELATIVE SOLUZIONI DI TRASPORTO**



**ThinPrep**



**STM** (Specimen Transport Medium)

# TAKE HOME MESSAGES

HPV è un'infezione,  
non una malattia  
ed è molto comune (1/2)

Essere HPV positive  
non vuol dire essere  
"malate"

La maggior parte  
delle infezioni hr HPV  
si risolve spontaneamente  
in 6-18 mesi

Il vaccino è solo profilattico,  
non è efficace in chi ha già  
il virus  
o lesioni associate

Il carcinoma è un  
esito raro per  
un'infezione comune



# GRAZIE PER L'ATTENZIONE!!!

*Hoya carnosa*: pianta rampicante della famiglia delle **Asclepiadaceae**. Spesso i fiori vengono chiamati fiori di cera o fiori di porcellana.