



---

# *Il TEST HPV come test primario nello Screening Cervicale*

## *L'esperienza del Centro Unificato Screening di Torino*

*Anna Gillio Tos*

*Centro Unificato per lo Screening Cervico Vaginale  
Ospedale S. Giovanni Antica Sede - Torino*

*Epidemiologia dei Tumori - Università di Torino*

---

## Innovazioni nello Screening Cervicale

---

### Raccomandazioni

1. creazione di **Centri Unificati** per lo Screening cervicale  
⇒ Centri Riferimento

DGR 12 – 9941 del 3/11/2008  
adozione modello Centro Unico

### Punti di forza

- Elevato numero di analisi → monitoraggio statistico delle diagnosi  
→ previsione delle classi diagnostiche  
→ ottimizzazione gestione del rischio
  - Garanzia di qualità → revisione collegiale e controlli di qualità periodici
  - Specializzazione operatori → formazione
  - Lancio di un **Centro Pilota** per la sperimentazione dell'applicazione del **test HPV**
-

## Centro Unificato Screening Cervico-vaginale (2009) *Resp. Prof A. Sapino*

- Realizzato in **Torino Città**
- Sede (**locali**) dedicata e attrezzata
- Compartecipazione attiva dei **patologi**
- Disponibilità del personale alla **mobilità**
- Disponibilità delle Aziende Sanitarie alla **condivisione del personale**

### AO San Giovanni Antica Sede



**Pap Test  
Citologia**

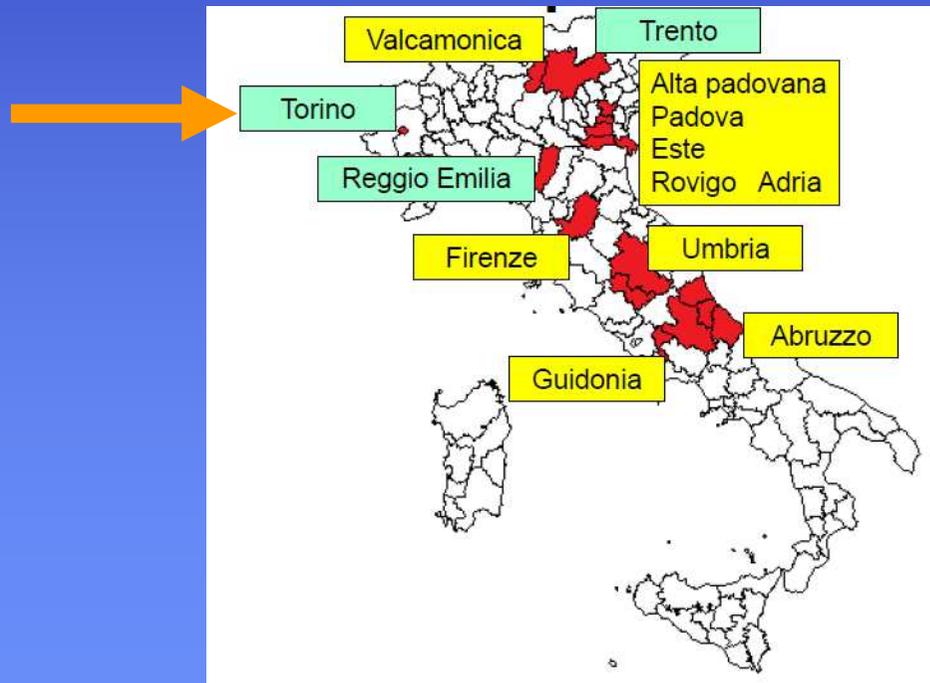
**HPV Test  
Molecolare**

<b>A.S.L. TO1</b>	A.P. Osp. Martini <i>Dott. Laura Viberti</i>
<b>A.S.L. TO2</b>	A.P. Osp. Maria Vittoria <i>Dott. Stefano Taraglio</i>
	A.P. Osp. S. Giovanni Bosco <i>Dott. Sergio Coverlizza</i>
<b>A.O. OIRM-S.Anna</b>	A.P. Osp. Sant'Anna <i>Dott. Bruno Ghiringhello</i>
<b>A.O.U. San Giovanni Battista</b>	A.P. Osp. SGAS <i>Dott. Ester Berardengo</i>
	A.P. Osp. Molinette <i>Prof. Gianni Bussolati</i>

## Innovazioni nello Screening Cervicale

### Raccomandazioni

2. allestimento di **Studi di Fattibilità ed Efficacia** per valutare applicazione del **test HPV** come test primario di screening



↓  
**Studi  
Pilota HPV**

Allestimento di **Studi di Fattibilità ed Efficacia** → Test Hpv come test primario

Selezione del test analitico per HPV

Quale Test molecolare ?



**Test Validati**  
secondo linee guida europee

*Devono essere utilizzati test per il DNA di HPV oncogeni  
validati in trials per sensibilità e specificità clinica per lesioni di alto grado*

*Int. J. Cancer: 124, 516–520 (2009)*

© 2008 Wiley-Liss, Inc.

#### **FAST TRACK**

**Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older**

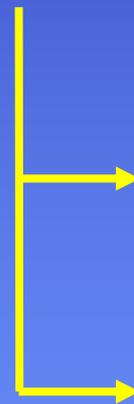
**Chris J.L.M. Meijer<sup>1\*</sup>, Johannes Berkhof<sup>2</sup>, Philip E. Castle<sup>3</sup>, Albertus T. Hesselink<sup>1</sup>, Eduardo L. Franco<sup>4</sup>, Guglielmo Ronco<sup>5</sup>, Marc Arbyn<sup>6,7</sup>, F. Xavier Bosch<sup>8</sup>, Jack Cuzick<sup>9</sup>, Joakim Dillner<sup>10</sup>, Daniëlle A.M. Heideman<sup>1</sup> and Peter J.F. Snijders<sup>1</sup>**

## Selezione del test analitico per HPV

---

Il test non è un test virale ma un test di rischio oncogeno

Il test deve permettere l'identificazione delle infezioni HPV con potenziale rischio di indurre trasformazione tumorale nella cellula



Non interessa un test che identifica la singola copia di virus

Interessa un test che segnali la presenza di un virus HPV il cui numero di copie abbia raggiunto una soglia di rischio di trasformazione neoplastica

---

## Selezione del test analitico per HPV

---

Il test deve permettere la determinazione  
nel campione dei **ceppi HPV oncogeni**

*Bouvard V. et al. WHO IARC in Cancer Monograph Working Group.  
Lancet Oncol. 2009;10:321-322.*



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



NO raccomandazione per genotipizzazione

---

## Selezione del test analitico per HPV

---

- **Riproducibilità**

Capacità di ottenere  
**RISULTATI SOVRAPPONIBILI**  
in sedute di analisi differenti e  
in laboratori differenti

- **Sensibilità**  
(NO falsi neg)

Capacità di individuare come **POSITIVI**  
tutti i soggetti **"CON PATOLOGIA"**

- **Specificità**  
(NO falsi pos)

Capacità di individuare come **NEGATIVI**  
i soggetti **"SANI"**

---

## Selezione del test analitico per HPV

Trials randomizzati controllati **1°** Round di Screening : HPV vs Citologia

<b>Studio</b>	<b>Test primario Braccio sper.</b>	<b>Test HPV</b>	<b>Gestione donne HPV+</b>	<b>Sensibilità relat. (RR) HPV vs Cit</b>
<b>SVEZIA</b> SWEEDSCREEN Età 30-69	HPV e Citol. conv.	GP5/6 PCR EIA	Triage Citologico	<b>1.42</b> (1.06, 1.91)
<b>OLANDA</b> POBASCAM Età 29-56	HPV e Citol. conv.	GP5/6 PCR EIA	Triage Citologico	<b>1.64</b> (1.17, 2.31)
<b>INGHILTERRA</b> ARTISTIC Età 20-64	HPV e LBC	<b>HC2</b>	Triage Citologico	<b>1.47</b>
<b>ITALIA</b> NTCC fase 1 Età 35-60	HPV e LBC	<b>HC2</b>	Colposcopia	<b>1.43</b> (1.00, 2.04)
<b>ITALIA</b> NTCC fase 2 Età 35-60	solo HPV	<b>HC2</b>	Colposcopia	<b>1.92</b> (1.28, 2.87)
<b>CANADA</b> CCCaST Età 30-69	HPV e Citol. conv	<b>HC2</b>	Colposcopia	<b>1.69</b> (0.83, 3.45)
<b>FINLANDIA</b> FINNISH RCT Età 30-60	solo HPV	<b>HC2</b>	Triage Citologico	<b>1.43</b> (1.12, 1.84)

## Performance test HYBRID CAPTURE 2 (HC2) in screening cervicale

- **Riproducibilità** → **alta riproducibilità intra ed inter – laboratorio 90%**  
*Carozzi et al. Am J Clin Pathol 2005;124:716-721*
- **Sensibilità**  
(NO falsi neg)
  - 1. **analitica** 1 pg/ml = 5000 copie hr- HPV
  - 2. **clinica** > 95 % per CIN2+ (> 40% citologia)
- **Specificità**  
(NO falsi pos)
  - 1. **analitica** > 97% per hr- HPV
  - 2. **clinica** ~ 90 % per CIN2+ (96,3% citologia)

## Selezione del test analitico per HPV

secondo linee guida europee

*Devono essere utilizzati test per il DNA di HPV oncogeni  
validati in trials per sensibilità e specificità per lesioni di alto grado*

*Int. J. Cancer: 124, 516–520 (2009)*

© 2008 Wiley-Liss, Inc.

### FAST TRACK

**Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older**

Chris J.L.M. Meijer<sup>1\*</sup>, Johannes Berkhof<sup>2</sup>, Philip E. Castle<sup>3</sup>, Albertus T. Hesselink<sup>4</sup>, Eduardo L. Franco<sup>5</sup>, Guglielmo Ronco<sup>6</sup>, Marc Arbyn<sup>6,7</sup>, F. Xavier Bosch<sup>8</sup>, Jack Cuzick<sup>9</sup>, Joakim Dillner<sup>10</sup>, Daniëlle A.M. Heideman<sup>1</sup> and Peter J.F. Snijders<sup>1</sup>

**Nuovi Test Validati**

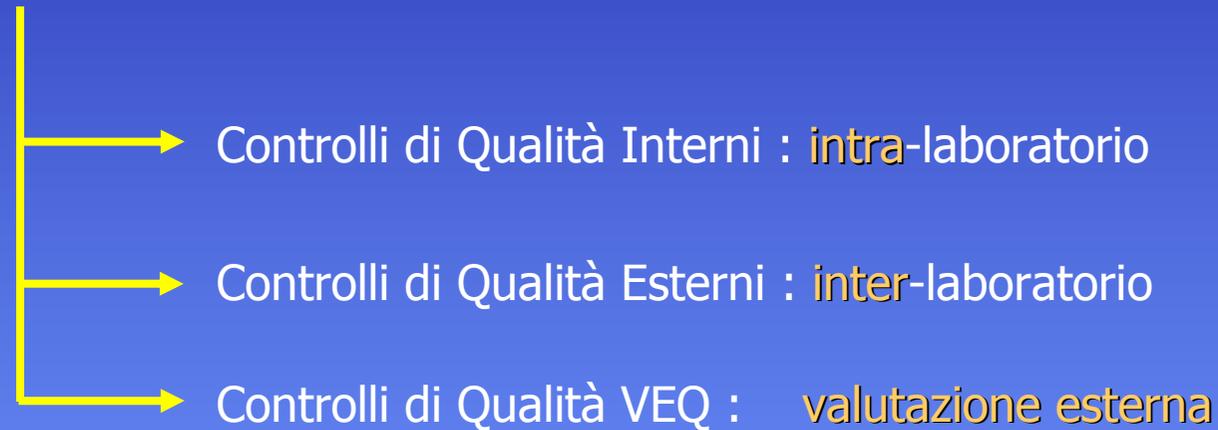
Sensibilità per CIN2+ : > 90% Hybrid Capture 2

Specificità per CIN2+ : > 98% Hybrid Capture 2

## Studi di Fattibilità ed Efficacia: Progetto Pilota HPV Torino

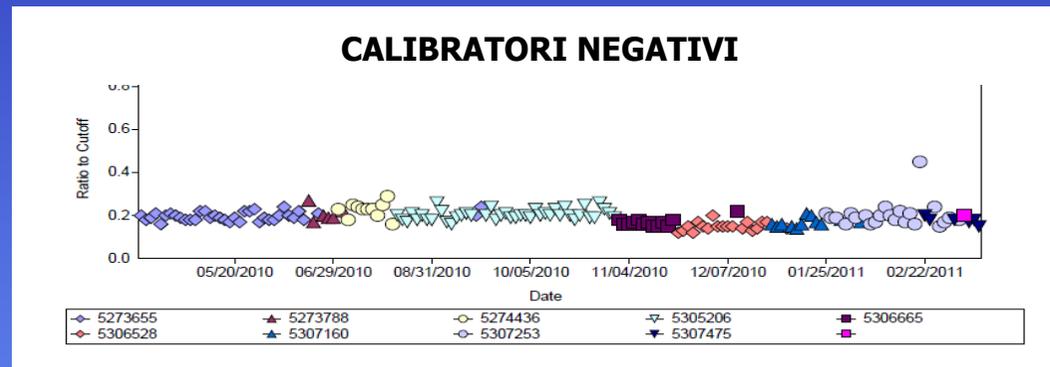
---

### Istituzione di Controlli di Qualità

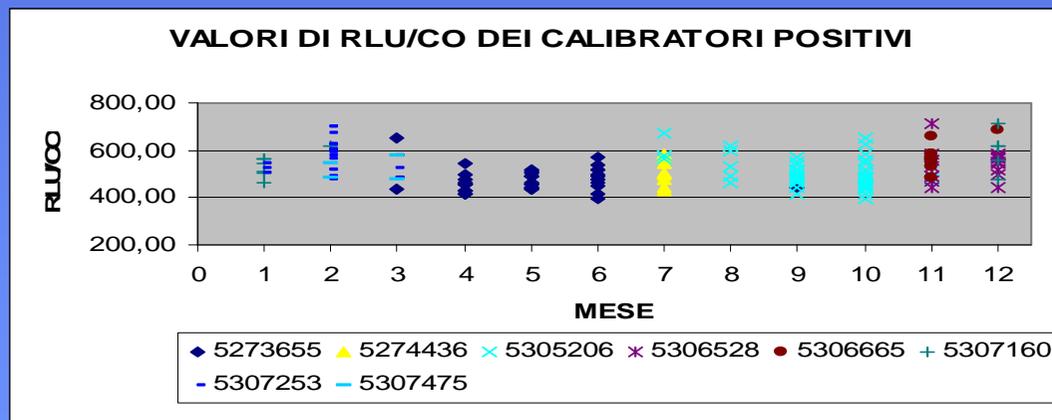


# Progetto Pilota HPV Torino

## Controlli di Qualità Interni



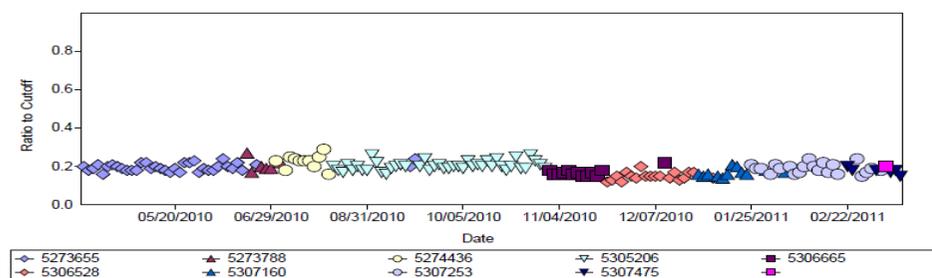
Valore atteso  
< 1



## Progetto Pilota HPV Torino

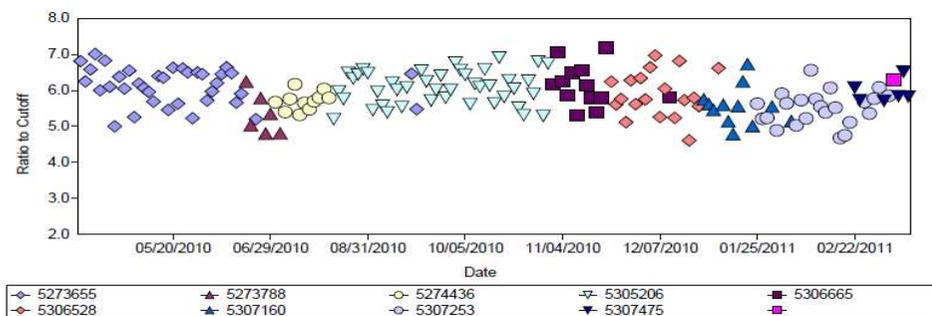
### Controlli di Qualità Interni

#### CONTROLLO PER HPV A BASSO RISCHIO (HPV 6)



Valore atteso  
< 1

#### CONTROLLO PER HPV AD ALTO RISCHIO (HPV 16)

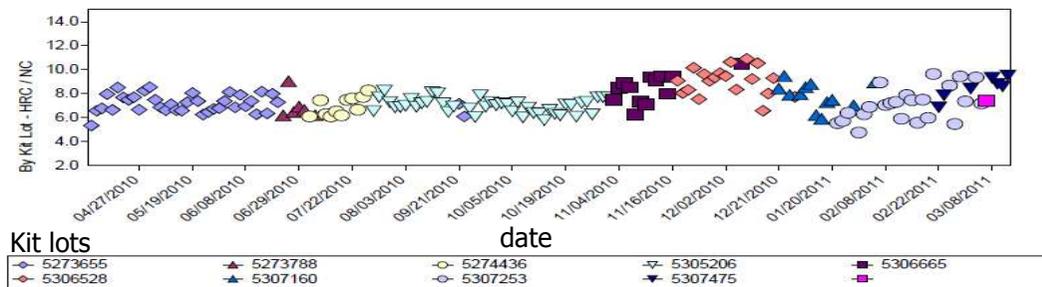


Valore atteso  
2-8

# Progetto Pilota HPV Torino

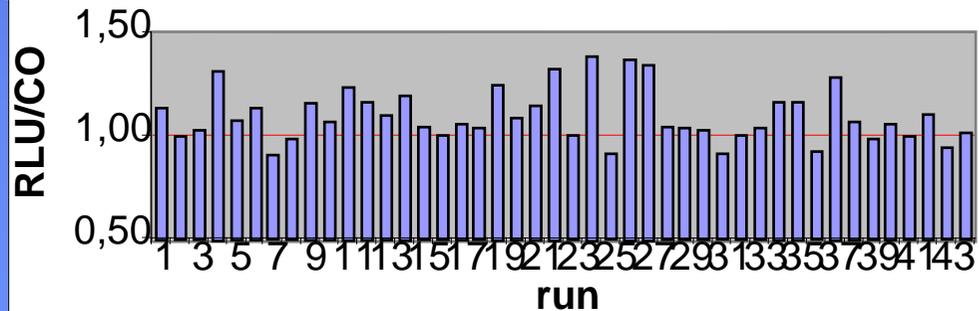
## Controlli di Qualità Interni

### RAPPORTO TRA CALIBRATORI POSITIVI E CALIBRATORI NEGATIVI



Valore atteso  
2 - 15

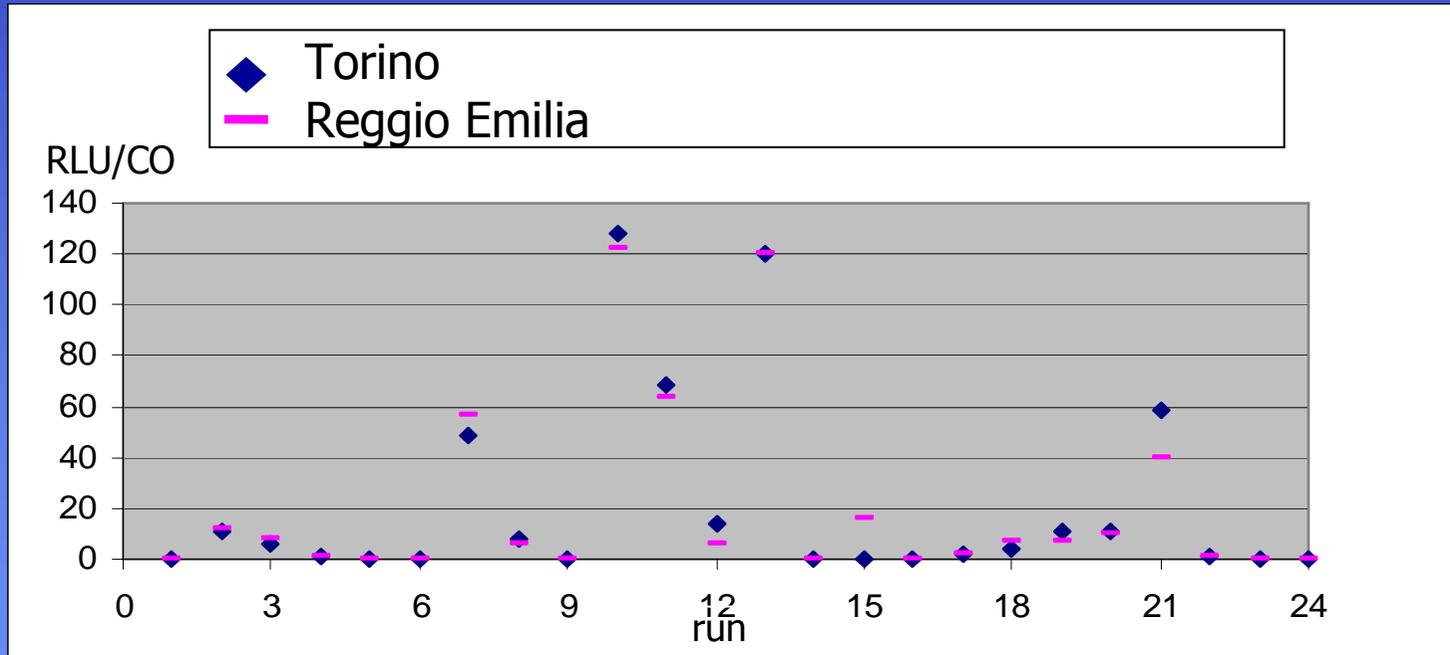
### RIPETIZIONE CALIBRATORE POSITIVO



Valore atteso  
= 1

## Allestimento di Studi di Fattibilità ed Efficacia → Progetto Pilota HPV Torino

### Controlli di Qualità Esterni



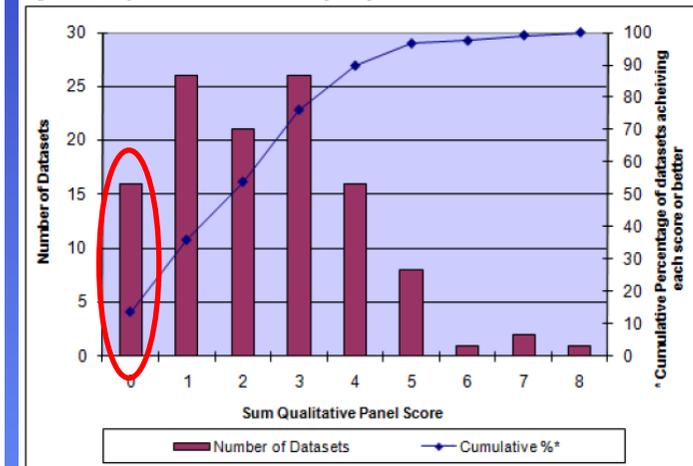
# Allestimento di Studi di Fattibilità ed Efficacia → Progetto Pilota HPV Torino

## Controlli di Qualità VEQ: Valutazione Esterna

Table 2: Your laboratory's qualitative results and performance scores

Sample	Sample Content	Qualitative		
		Sample Status	Your qualitative result	Your qualitative score
HPVDNA09-06	HPV 16 in CaSki	Frequently detected	positive	0
HPVDNA09-08	HPV 16 in CaSki	Frequently detected	positive	0
HPVDNA09-02	HPV 16 in CaSki	Detected	positive	0
HPVDNA09-01	HPV 16 in CaSki	Detected	positive	0
HPVDNA09-09	HPV 16 in CaSki	Detected	positive	0
HPVDNA09-04	HPV 16 in CaSki	Infrequently detected	positive	0
HPVDNA09-10	HPV 16 in CaSki	Infrequently detected	positive	0
HPVDNA09-03	HPV 18 in HeLa	Detected	positive	0
HPVDNA09-07	HPV 67 in Cc11	Detected	positive	0
HPVDNA09-05	HPV Negative	Negative	negative	0
Sum Qualitative Panel Score				0

Figure 1: Sum Qualitative Panel Scores for all participants



The number of Qualitative datasets analysed :  
 The sum of the Qualitative Panel Score for your dataset is : 0  
 This maximum score was achieved by : 13.7 % of all datasets

0 = corretto

1 = errore

0 = corretto

> 1 = errore

## Innovazioni nello Screening Cervicale

---

- Rapporto HTA : donne >35

### Efficacia test HPV nella prevenzione dei tumori invasivi del collo dell'utero:

Elevata sensibilità per lesioni cerv clinicamente significative

Test clinicamente validati per il DNA di ceppi HPV oncogeni con un protocollo di screening appropriato sono più sensibili della citologia

### Effetti indesiderati

Minore specificità con rischio di sovra-diagnosi e sovra-trattamento di lesioni spontaneamente regressive

→ sufficientemente limitati

→ triage

- Ronco et al. *Lancet* 2014;383:524 Analisi pooled carcinomi invasivi rilevati in 4 trials europei  
Prevenzione carcinomi invasivi: HPV test >60% rispetto alla citologia
-

## Innovazioni nello Screening Cervicale

---

### Raccomandazioni

3. introduzione del **test HPV** come **test primario** di screening

→ **DGR 21-5705** del 23 aprile 2013

donne **30** – 64 anni



## Introduzione del **test HPV** come **test primario** di screening

---

### Il nuovo algoritmo

**Rovesciare attuale algoritmo:**

 **Pap Test – Test HPV – colposcopia**  
**Test HPV – Pap Test – colposcopia**



*Triage con Test filtro per ottenere  
valori accettabili di specificità*

---

## Introduzione del **test HPV** come **test primario** di screening

---

### Il nuovo algoritmo



### Stratificazione popolazione in 3 categorie

- 1. Donne a rischio di patologia bassissimo** ↔ **HPV neg**
  - 2. Donne a rischio di patologia medio** ↔ **HPV pos**  
**Cito neg**
  - 3. Donne a rischio di patologia elevato** ↔ **HPV pos**  
**Cito pos (ASC-US +)**
-

## Il prelievo per il Test HPV: l'accoglienza dell'ostetrica

### RICORDARE CHE :



- più del 70% delle donne contrae infezione da HPV nel corso della vita  
**AVERE INFEZIONE HPV NON E' UN FATTO GRAVE**
- generalmente è un'infezione che **regredisce** e guarisce da sola senza conseguenze: solo in una piccola percentuale persiste e dà lesioni
- si propone un **test molecolare** che è risultato **più sensibile** e **più efficace** del Pap Test nell'identificare lesioni di alto grado, favorendone una identificazione più precoce rispetto al Pap Test
- che il **test HPV** ha dimostrato di **prevenire i carcinomi invasivi** con efficacia 60-70% maggiore rispetto al Pap Test
- l'intervallo di **5 anni è sicuro** perché è il rischio di avere una lesione dopo un esito HPV negativo in questo intervallo è bassissimo
- **in caso di esito HPV positivo è molto importante sottoporsi ai controlli suggeriti nei tempi indicati**

## Studi di Fattibilità ed Efficacia → Progetto Pilota HPV Torino

**Donne HPV pos /Cito neg – (rischio intermedio)**

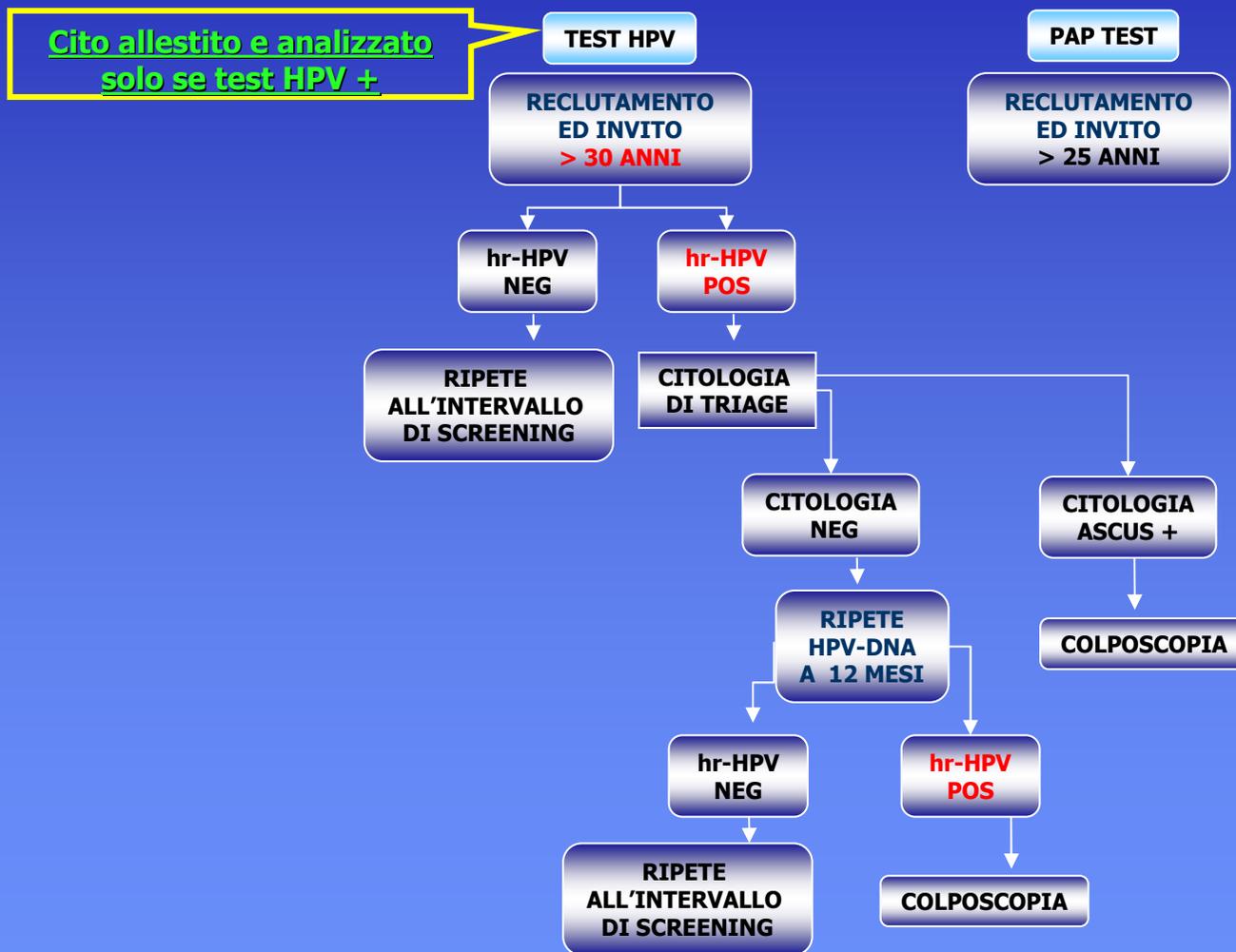
Adesione alla ripetizione test HPV dopo 1 anno  
(Mar 2010 – Mag 2012)

Centro	<b>Adesione</b> ripetiz a 1 anno	<b>HPV +</b> ripetiz a 1 anno	HPV neg ripetiz a 1 anno
Torino	889/953 <b>93.2%*</b>	538/889 <b>60.5%</b>	351/889 39.5%

\* media Italiana 75-80%

- CIN1 : 17 casi
- CIN2 : 11 casi
- CIN3 : 6 casi

# Applicazione DGR 21-5705 : Introduzione Test HPV come test primario



## Applicazione **DGR 21-5705** : Test HPV come test primario

In Piemonte



analisi molecolari e di triage citologico saranno **centralizzate** in due centri :  
**Torino e Borgomanero (NO)**

Test primario screening HPV:  
**Hybrid Capture 2**



**1 prelievo**

PreservCyt - ThinPrep  
(Hologic)



## Il prelievo per il Test HPV: sistema di raccolta e trasporto

---

PreservCyt Thin Prep  
(Hologic)



Conservazione : 4 °C – 30 °C

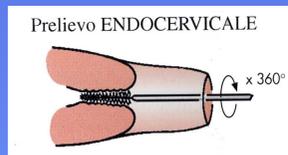
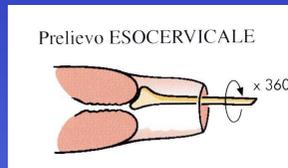
Distribuzione :

ThP + spatole e cytobrush  
sia per Test HPV che per Citologia  
tramite magazzino di riferimento

Etichette con codici a barre  
per Test HPV

---

## Il prelievo ThP per il Test HPV



## IMPORTANTE

per adeguatezza prelievo

- Risciacquare la spatola di Ayre nel liquido Preservcyt **vigorosamente** 10 volte.
- Poi **eliminare** la spatola.

## Nello stesso contenitore:

- Risciacquare il cytobrush roteandolo nel liquido Preservcyt **vigorosamente** 10 volte e premendo contro le pareti interne del contenitore
- Poi **eliminare** il cytobrush.

## Il prelievo: conservazione e flusso operativo

---



Chiudere il contenitore **avvitando bene il tappo** in modo possibilmente che la linea nera sul tappo combaci con quella di riferimento sul contenitore

e **immediatamente**



dotarlo dell' etichetta con codice a barre  
posizionata **verticalmente** da abbinare  
all'anagrafica della donna

Il campione può essere **conservato a 4°C – 30 °C** e  
analizzato **entro 6 settimane** dal prelievo

---

## Il prelievo: Etichette codice a barre

### Lettores codici a barre



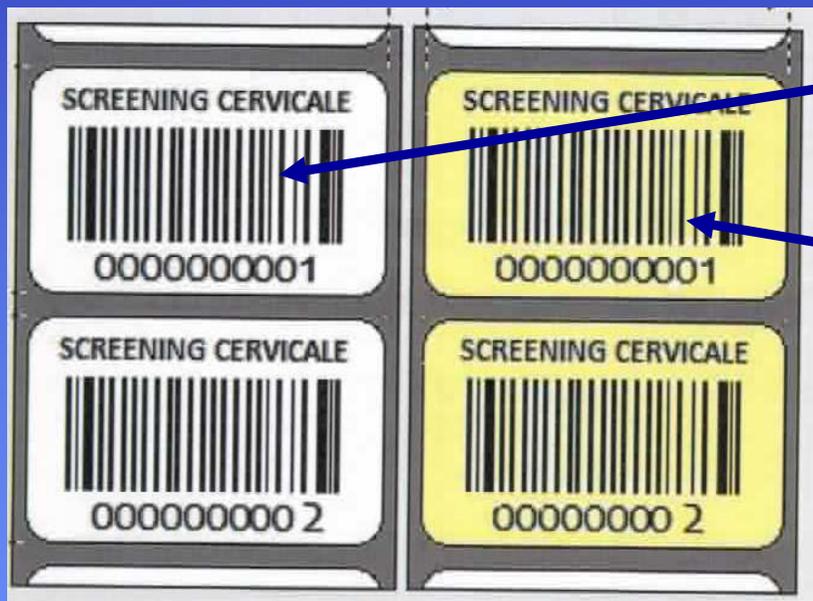
### E' indispensabile provarlo

- Inserire cavo da un capo nel lettore e dall'altro nella porta USB del PC.
- Aprire su pc  
Start → programmi → accessori → blocco note (o word pad)
- Posizionare il lettore su etichetta con codice a barre e azionarlo.
- Controllare che il codice a barre venga trasferito sullo schermo.
- In caso di problemi o non funzionamento comunicarlo a [piera.vicari@cpo.it](mailto:piera.vicari@cpo.it) o 011 633 3865

**N.B. Conservare la scatola**

## Il prelievo: Etichette codice a barre

Per HPV TEST :



### BIANCA

apporre verticale sul ThP

### GIALLA

- normalmente NON USARE
- solo se EMERGENZA INFORMATICA, apporre su verifica attività giornaliera cartacea

## Il prelievo: conservazione e flusso operativo

---

Il campione verrà inviato al **centro di raccolta** (ove previsto)

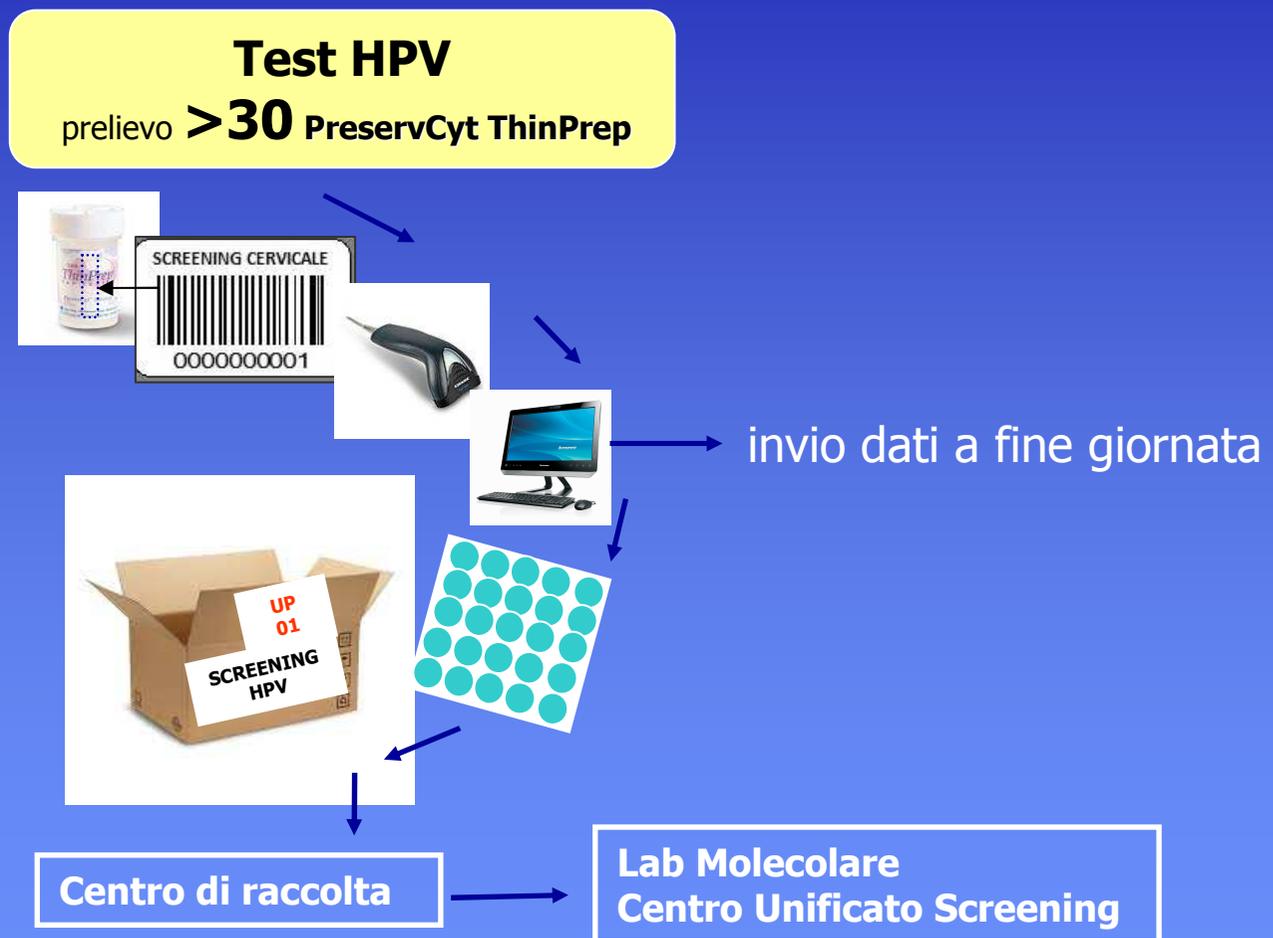


I campioni verranno **presi dal centro di raccolta e inviati periodicamente** al laboratorio molecolare del **Centro Unificato Screening** per l'esecuzione del test HPV

I prelievi risultati positivi per HPV-DNA verranno selezionati e avviati all'allestimento del vetrino su strato sottile e successiva colorazione di **Papanicolaou** per la **lettura citologica di Triage**

---

## Flusso operativo





# Il test HPV: flusso operativo

## Fase 1 Pre-analitica



- \* accettazione
- \* agitazione su vortex
- \* apertura
- \* deposizione aliquote in provette



Qiaensemble  
Decapper System

## Fase 2 Pre-analitica

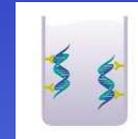


- \* lisi cellulare
- \* isolamento del DNA (biglie magnetiche)



QiaSymphony SP

## Fase 3 Analitica



- \* Ibridazione con sonde HPV Hybrid Capture 2 (13 ceppi HPV ad alto rischio)



Rapid Capture System

## Fase 4 Post-analitica

Alcun	Dignos	K11.1.1.7		Vast		Dignos		Positive		Negative	
		Dignos	127203	Yes	Yes	491.65	491.65	491.65	491.65	491.65	491.65
Line	SampleNumber	Q	Ref	Nov	Ref	NCV	Ref	Ref	Ref	Ref	Comment
A1	TC	0									
B1	TC	0									
C1	NC	73	0.08	4.35	1.14						
D1	NC	4.6									
E1	NC	495									
F1	NC	01	491.65	1.00	1.00						PC
G1	NC	01	80.0	ref	ref	1.14					
H1	NC	01	80.0	ref	ref	1.14					
I1	NC	01	100.0	0.00	0.00						
J1	NC	01	100.0	0.00	0.00						
K1	NC	01	100.0	0.00	0.00						High Risk

- \* Interpretazione dei risultati

Invio degli esiti

**350 test al giorno  
7500 al mese**

## DGR 21-5705 : Test HPV come test primario **Torino**

### Donne testate [Feb 2014 - Set 2014]

#### Centro Unico Screening Cervico Vaginale

> 30 anni

> 35 anni

	Test HPV eseguiti	HPV+ (%)	HPV+ Pilota (%)
<b>I livello</b>	<b>9792</b>	<b>741 (7.6 %)</b>	<b>6.0 %</b>
Ripetizioni a 1 anno	314	181 (57.6 %)	59 %
Test HPV in Colposcopia	185	87 (47.1 %)	41 %
Test HPV Follow up	322	156 (48.5 %)	44%
<b>Totale</b>	<b>10613</b>	<b>1165 (10,9 %)</b>	

Grazie per l'attenzione

