



Regione del Veneto
Istituto Oncologico Veneto
Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico



Convegno Nazionale GISCI – GESTIRE IL CAMBIAMENTO
Venezia, 27-28 maggio 2010

Test HPV I livello: quali test? Il punto di vista analitico

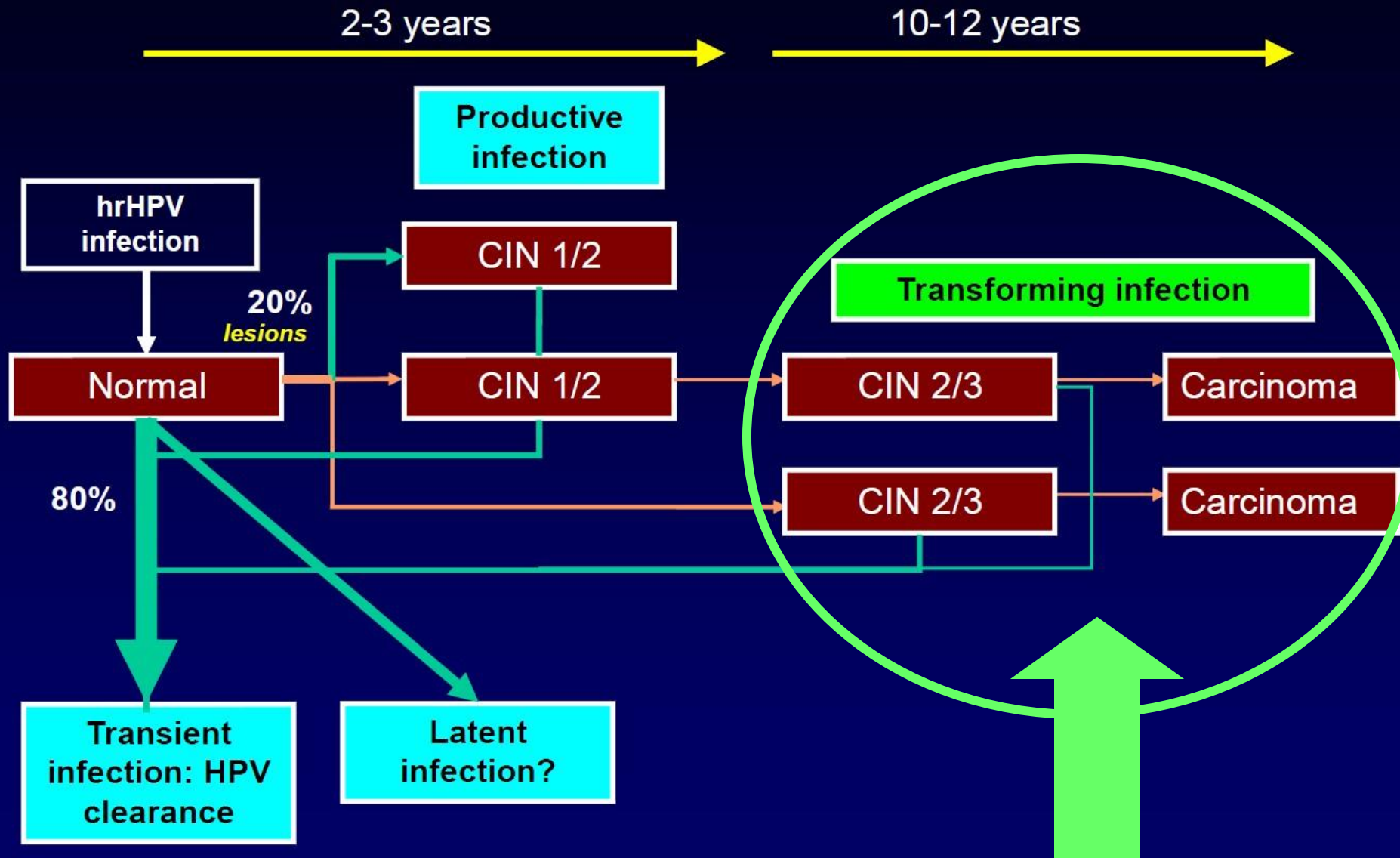
Annarosa Del Mistro
Istituto Oncologico Veneto IRCCS - Padova
UOC Immunologia Diagnostica Molecolare Oncologica

Programma di Screening organizzato

L'efficacia dello screening è legata a:

- efficacia nel raggiungere tutte le donne della popolazione target
- efficacia nella gestione delle donne con test non negativo
- efficacia dei test utilizzati

Potential outcomes of hrHPV exposure cervix



Nello screening è di fondamentale
importanza rilevare le

infezioni da HPV clinicamente rilevanti
(= infezioni associate allo sviluppo di
lesioni CIN2/3+)

perché

il test HPV non è un test virale ma un
test di rischio oncogeno

Sensibilità e specificità analitica → rilevazione di tutte le infezioni da HPV

Sensibilità e specificità clinica → rilevazione delle sole infezioni da HPV associate a lesioni CIN2+/3+ (lesioni clinicamente rilevanti)

Effects of a non-clinically validated HPV test as screening test

- **Sensitivity too high:**
 - too many "false-positives": many women without disease referred to colposcopy
- **Specificity too high:**
 - not all CIN2+ detected, cases missed, increase of screening interval not safe

→ **Clinical validation of HPV tests necessary**

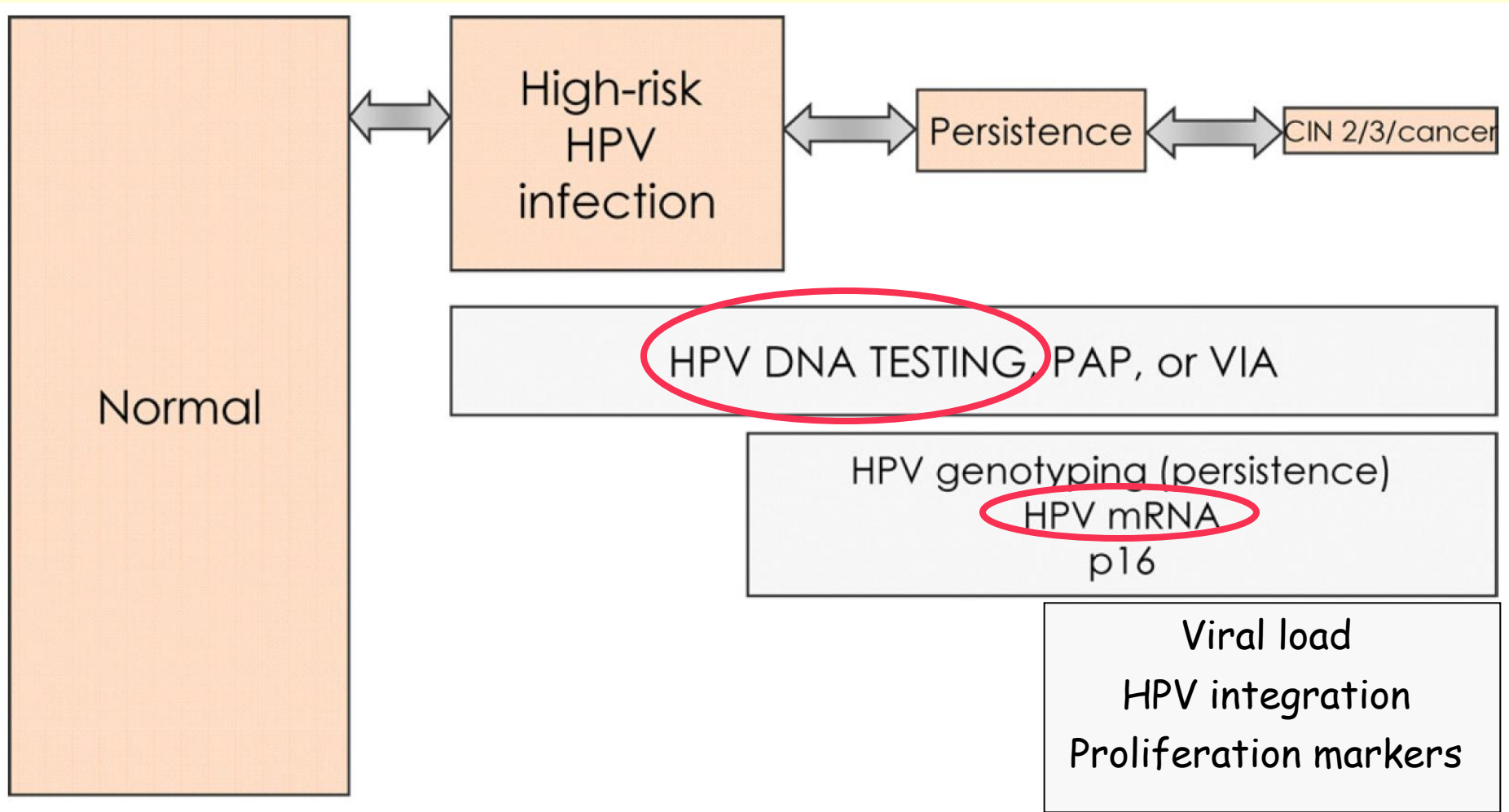
Validation strategy for candidate hrHPV DNA assays

(Meijer et al. Int J Cancer 2009;124:516-20 / J Clin Virol 2009;46:S1-S4)

- Comparative analysis of the candidate test with HC2 or GP5+/6+ PCR-EIA on samples originating from a population-based screening cohort (women ≥ 30 yrs)
- **Noninferiority score testing for CIN2+:**
 - **clinical sensitivity** not less than 90% of that of HC2 test (at least 60 samples derived from a representative group of women with histologically confirmed CIN2+)
 - **clinical specificity** not less than 98% of that of HC2 test (at least 800 samples derived from a random group of women without CIN2+)

Screening: infezione/malattia

Tecnologie vecchie e nuove



Che caratteristiche deve avere un test HPV di screening?

- **tipi di HPV rilevati**
- modalità di prelievo, raccolta e processazione dei campioni (fissativo nel mezzo di trasporto, DNA/RNA)
- **giusto trade-off tra sensibilità clinica e specificità clinica**
- riproducibilità
- automazione (carichi di lavoro)
- costi

I Papillomavirus Umani sono tutti uguali?

- Esistono più di 100 tipi di Papillomavirus Umani, e 30-40 infettano la cervice uterina.

I tipi 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 sono cancerogeni per la specie umana

Per questo sono detti "tipi ad alto rischio" (hrHPV)

il tipo 68 è *probabilmente cancerogeno*, altri tipi sono *possibilmente cancerogeni* (Bouvard et al. Lancet Oncol 2009;10:321-2)

- Circa 10 di questi, invece, possono provocare condilomi e lesioni di basso grado.

Sono i "tipi a basso rischio"

Quali tipi di HPV è utile rilevare?

Sulla base dei risultati degli studi randomizzati condotti su donne invitate a programmi di screening organizzati

- tipi ad alto rischio (hrHPV)
- individuazione come pool senza identificazione dei singoli tipi
- genotipizzazione non necessaria

Studio NTCC cut-off test HPV HC2, sonda hrHPV

Fase 2 (n=24.661)	HC2 >1pg/ml	HC2 >2pg/ml
Donne 25-34 anni	13.1%	11.5% (perso 1 CIN2)
CIN3+ sensibilità rel.	2.61	2.61
PPV	0.66	0.75
Donne 35-60 anni	5.8%	4.5% (persi 4 CIN2)
CIN3+ sensibilità rel.	2.06	2.06
PPV	0.86	1.22

Example of clinical validation of an HPV test for use in cervical cancer screening

(Hesselink et al, J Clin Microbiol 2010;48:797-801)

Greiner Bio-One PapilloCheck assay

- broad-spectrum (E1 region) PCR-based method with DNA chip technology
- simultaneous detection and genotyping of 24 types

Application of published guidelines (Meijer et al, Int J Cancer 2009;124:516-20)

- Noninferiority test relative to the results of the GP5+/GP6+ PCR-EIA:
- Samples randomly selected from the baseline round of the POBASCAM trial:
 - 192 cases (women 30-60 yrs old with histologically confirmed CIN3+)
 - 1473 controls (women 40-60 yrs old with normal cytology and without CIN2+ development during follow-up)

GP5+/GP6+ PCR-EIA (14 hrHPV)

- Clinical sensitivity: 96.4%
- Clinical specificity: 97.7%

Results of noninferiority test relative to GP5+/GP6+ PCR-EIA

PapilloCheck (14 hrHPV, the same recognized by GP5+/6+ PCR-EIA)

- Clinical sensitivity: 95.8% → noninferior
- Clinical specificity: 96.7% → noninferior

→ Assay clinically validated

PapilloCheck (17 hrHPV, additional types: 53,73,82)

- Clinical sensitivity: 95.8% → noninferior
- Clinical specificity: 96.7% → inferior

→ Assay clinically not validated

mRNA ANALYSES

- **HR-HPV E6 and E7 proteins** are necessary for cell transformation, and are **stably expressed in carcinomas** and high grade lesions, but in only a subset of low grade lesions and ASCUS
- mRNA expression can be evaluated by different methods (in-house or commercial): **RT-PCR; NASBA (HPV-Proof, Norchip, E6/E7 of 5 types); Transcription Mediated Amplification (APTIMA, Gen-Probe, E6/E7 of 14 types)**
- **RNA preservation is critical**
- the majority of the available data have been obtained by HPV-Proof
- lower correlation of E6/E7 mRNA expression with high grade lesions has been observed in **women younger than 30 years**

HPV-DNA and RNA (Proofer) PREVALENCE*

	DNA	RNA
ASCUS	47%	23%
LSIL	77%	29%
CIN2+	95%	77%
SCC	97%	92%

Proofer accuracy of detecting CIN2+*

	NPP	PPV
HPV-DNA	97-100%	4-40%
HPV-RNA	98-100%	10-63%

(*average figures from the literature)



Prospective randomized trials will be useful to evaluate the clinical performance and the feasibility of a HPV mRNA assay as primary screening test

Grazie per l'attenzione a tutti