



GI SCI  
**GI SCI**

*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. 6**

22 marzo 2021

Coordinatori Gruppo di lavoro:

Annarosa Del Mistro, Basilio Ubaldo Passamonti, Guglielmo Ronco

Documento redatto da:

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

Approvato dal Comitato di Coordinamento GISCI in data 22/03/2021

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, AUSL Umbria 1

Simonetta Bulletti, AUSL Umbria 1

Laura De Marco, CPO Torino

Anna Gillio Tos, CPO Torino

Simone Barocci, ASUR Marche AV2 Senigallia

Francesca Maria Carozzi, Università degli Studi, Firenze

Anna Iossa, ISPRO Firenze

Cristina Sani, ISPRO Firenze

Elena Burroni, ISPRO Firenze

Simonetta Bisanzi, ISPRO Firenze

Massimo Confortini, Firenze

Giampaolo Pompeo, ISPRO Firenze

Irene Paganini, ISPRO Firenze

Filippo Cellai, ISPRO Firenze

Maria Teresa Sandri, Bianalisi Milano

Simona Venturoli, Az. Osp.-Univ. Bologna

Paolo Giorgi Rossi, AUSL Reggio Emilia

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](mailto:segreteria@gisci.it)

La versione elettronica di questo documento è accessibile dai siti:

[www.osservatorionazionale screening.it](http://www.osservatorionazionale screening.it)- [www.gisci.it](http://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

## 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) o GP5+/6+ PCR-EIA

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.

NOTA: in caso di comparator diverso dai due test indicati sopra, verranno inserite opportune considerazioni.

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 (HC2 o GP5+/6+ PCR-EIA);
- specificità clinica per CIN2+, che deve essere non inferiore al 98% rispetto a quella del test di riferimento (HC2 o GP5+/6+ PCR-EIA);
- 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 data sheet 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 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](http://www.elsevier.com)), e in Scopus ([www.scopus.com](http://www.scopus.com)), e meta-analisi su altre banche dati, quali Medline ([www.nlm.nih.gov](http://www.nlm.nih.gov)), Cochrane Library ([www.cochranelibrary.com](http://www.cochranelibrary.com)), Center for Reviews and Dissemination ([www.crd.york.ac.uk](http://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.

## Bibliografia

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.

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

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

Piano Nazionale della Prevenzione 2014-2018.

[www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_2285\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2285_allegato.pdf)

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, Hillemanns P. HPV assays validated for primary cervical cancer screening. [www.HPVWORLD.com](http://www.HPVWORLD.com), 55

## Rapporto di aggiornamento N. 6

### 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](http://www.osservatorionazionalecreening.it) – [www.gisci.it](http://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 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.

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) da un gruppo di ricercatori e operatori di sanità pubblica europei.

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 sedici test per la ricerca di sequenze DNA dei tipi HPV ad alto rischio risultano validati (molti completamente validati in più studi, ma alcuni validati solo utilizzando dei valori soglia di positività ottimizzati a posteriori) ed utilizzabili come test primario di screening: HC2, GP5+/6+ EIA, Abbott RT, Cobas 4800, PapilloCheck, Risk-Assay, Cervista, Onclarity, Anyplex II, Xpert, RealQuality RQ-HPV, EUROArray, cobas 6800, HPVIR, Alinity m, HybriBio's HBRT-H14 (dettagliati nelle Tabelle 1 e 2).

Visto l'ampio utilizzo che hanno avuto i test HPV DNA validati per lo screening secondo le indicazioni di Meijer, verranno considerati accettabili come test comparator oltre a HC2 e GP5+/6+ EIA, anche altri test HPV DNA validati che abbiano avuto conferma dell'efficacia in studi longitudinali pubblicati. Per il test cobas 6800 HPV e il test HPVIR, il test di comparazione utilizzato dagli studi emersi dalla revisione sistematica è cobas 4800 HPV, considerato un comparator adeguato secondo i criteri sopra esposti sulla base di studi longitudinali pubblicati che hanno mostrato altissimo valore predittivo negativo a 3 e più anni (Passamonti et al 2017, Wright et al 2015).

Nel corso del 2020 è stato pubblicato uno studio di validazione per il test CLART HPV4S (Ejegod et al, 2020), fatto utilizzando GP5+/6+ PCR LMNX come test di comparazione; questo test è stato valutato nel 2014, in confronto a GP5+/6+ EIA, su casistica VALGENT, con risultato di non

inferiorità per sensibilità e specificità secondo i criteri di Meijer, ma senza valutazione della riproducibilità.

Siamo ancora in attesa dell'aggiornamento delle LG internazionali sui criteri di validazione dei test molecolari dello screening del tumore della cervice uterina.

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 1 o 2 tipi a probabile/possibile alto rischio (HPV 66, 68).

Per tutti sono rispettati i criteri definiti dal gruppo internazionale di esperti.

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.

Data ultima verifica dei lavori pubblicati: 01/03/2021.

## **Bibliografia generale di riferimento**

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

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

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.

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.

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.

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

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

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.

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.



**Tabella 1 del Rapporto N. 6 - Test HPV clinicamente validati al 01/03/2021**

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
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	
GP5+/6+ PCR-EIA (GP5+/6+ EIA)	Diassay, Olanda	PCR	Test di riferimento usato nel trial POBASCAM	
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.
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.
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.
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.
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	Test completamente validato.
HPV-Risk assay (HPV-Risk assay) (QIAscreen HPV PCR test)	Self-Screen, Olanda (commercializzato da Qiagen)	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.
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.
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.
RealQuality RQ-HPV	AB Analitica, Italia	Real-time PCR	Iacobellis et al, 2018 – Italia – retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato.

EUROArray HPV	EUROIMMUN, Germania	PCR – probe-based microarray detect.	Viti et al, 2018 – Slovenia (VALGENT 3) – retrosp. / ThinPrep	Test validato per la versione con 14 tipi di HPV e solo se viene applicata la soglia per HPV16 ottimizzata anziché la soglia standard.
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
HPVIR high-risk HPV test	Laboratory developed test (LDT)	Real-time PCR	Gustavsson et al, 2019 – Svezia – FTA cards	Test completamente validato
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	Test completamente validato
HBRT-H14	HybriBio, Cina	Real-time PCR	Xu et al, 2020 – Slovenia – retrosp. / ThinPrep	Test validato ma solo se si applicano le soglie di positività calcolate dopo 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

\*STM = Standard Transport Medium, Qiagen  
UCM = Universal Collection Medium

ThinPrep (TP) = PreservCyt, Hologic  
Huro Path = Huro Path solution, CelltraZone

SurePath (SP) = BD Diagnostics

PBS = Phosphate-Buffered Saline

**Tabella 2 del Rapporto N. 6 - Caratteristiche degli studi di validazione e risultati dei test di non inferiorità**

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-laboratorio	inter-laboratorio
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 $\geq 30$ 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 $\geq 30$ 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	concordanza 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 $\geq 30$ 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 (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
EUROArray HPV (EUROIMMUN)	Viti et al, 2018 – HC2	Screening (VALGENT-3, età ≥30 anni): 98 casi; 1009 controlli	0.95 <sup>a</sup> 0.98 <sup>b</sup>	0.120 <sup>a</sup> 0.0076 <sup>b</sup>	1.00 <sup>a</sup> 1.00 <sup>b</sup>	0.0009 <sup>a</sup> 0.0070 <sup>b</sup>	0.960	0.850
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 <sub>1</sub> value** = 0.97	AC <sub>1</sub> 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	--	--
HPVIR high-risk HPV test	Gustavsson et al, 2019 – cobas 4800 (FTA cards)	Screening (età 30-64 anni): 67 casi; 799 controlli	1.03	<0.0001	1.01	0.010	0.974	0.874
Alinity m HR HPV assay	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
HBRT-H14	Xu et al, 2020 – HC2	Screening (età 30-64); 127 casi; 1.065 controlli	0.99	0.006	1.02 <sup>c</sup>	<0.001 <sup>c</sup>	--	--

\*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

<sup>a</sup>solo donne ≥30 anni, con cut-off standard

<sup>b</sup>donne di tutte le età, con cut-off per HPV16 ottimizzato

\*\*AC<sub>1</sub> value: Gwet's agreement coefficient

<sup>c</sup>con cut-off ottimizzato per tutti i tipi

**Prossimo aggiornamento previsto a marzo 2022**

## **Bibliografia specifica degli studi di validazione clinica**

Carozzi FM, Burrone 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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

Boers A, Wang R, Slagter-Menkema L, van Hemel BM, Ghyssaert 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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

Gustavsson I, Aarnio R, Myrnas M, Hedlung-Lindberg J, Taku O, Meiring T, Wikstrom I, Enroth S, Williamson AL, Olovsson M, Gyllensten U. Clinical validation of the HPVIR high-risk HPV test on cervical samples according to the international guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for cervical cancer screening. *Virology J* 2019;16:107.

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.

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.

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.

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.

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.

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.



### Tabella 3 del Rapporto N. 6

#### Informazioni aggiuntive sui test HPV validati, non rientranti nei criteri di validazione clinica

TEST VALIDATO (NOME ABBREVIATO)	MEZZO DI PRELIEVO indicato dal produttore nelle schede tecniche <sup>#</sup>	STRUMENTAZIONE utilizzata negli studi di validazione (fase pre-analitica / fase analitica)
Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA test (HC2)	STM*, ThinPrep <sup>^</sup> , SurePath <sup>^^</sup>	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
PapilloCheck HPV-screening test (PapilloCheck)	PapilloCheck collection medium, any other liquid based cytology system	CheckExtractor / CheckScanner apparatus
Cervista HPV HR test (Cervista)	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) (QIAscreen HPV PCR test)	ThinPrep, SurePath, Pathtezt (methanol-based o ethanol-based)	Automated silica-based extract. system / ABI7500 Fast real-time PCR system
Anyplex II HPV HR Detection (Anyplex II)	ThinPrep, SurePath,	Microlab STARlet / CFX96 real-time thermocycler
Xpert HPV assay (Xpert)	ThinPrep	Trasferimento manuale dell'aliquota / INFINITY-80
RealQuality RQ-HPV (AB Analitica)	DNA estratto da cellule, tessuti e campioni FFPE***	ABI7500 Fast Dx real-time PCR system
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
HPVIR	FTA card	
Alinity m HR HPV (Abbott)	ThinPrep, SurePath, Abbott Alinity m Cervi-Collect	Alinity m System
HBRT-H14 (HybriBio)	ThinPrep; SurePath, Roche female swab sample kit, HybriBio female sample collection kit (dal product profile - Scheda tecnica non accessibile)	Non indicato

<sup>#</sup> le schede tecniche dei test sono state consultate il 12/02/2021; non trovata la scheda per HPVIR test (test sviluppato in laboratorio, non commercializzato).

\*STM = Standard Transport Medium, Qiagen

<sup>^</sup>ThinPrep (TP) = PreservCyt, Hologic

<sup>^^</sup>SurePath (SP) = BD Diagnostics

\*\*PBS = Phosphate-Buffered Saline

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