



GISCI

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. 8**

Coordinatori Gruppo di lavoro:

Annarosa Del Mistro, Basilio Ubaldo Passamonti

Documento redatto da:

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

Approvato dal Comitato di Coordinamento GISCI in data 23/06/2023

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, Perugia
Simonetta Bulletti, AUSL Umbria 1
Laura De Marco, CPO Torino
Francesca Maria Carozzi, Firenze
Anna Iossa, ISPRO Firenze
Cristina Sani, ISPRO Firenze
Elena Burroni, ULS Toscana Sud Est - Arezzo
Simonetta Bisanzi, ISPRO Firenze
Serena Giunti, ISPRO Firenze
Giampaolo Pompeo, ISPRO Firenze
Irene Paganini, ISPRO Firenze
Filippo Cellai, ISPRO Firenze
Maria Teresa Sandri, Bialisi Milano
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

La versione elettronica di questo documento è accessibile dai siti:

www.osservatorionazionale screening.it- 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
Rapporto N.7: 10 giugno 2022
Rapporto N.8: 23 giugno 2023

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), e in Scopus (www.scopus.com), e meta-analisi su altre banche dati, quali Medline (www.nlm.nih.gov), Cochrane Library (www.cochranelibrary.com), Center for Reviews and Dissemination (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. Ad oggi (data di pubblicazione di questo Rapporto), l'aggiornamento delle linee-guida internazionali non è ancora stato pubblicato, ma il gruppo di ricercatori e operatori di sanità pubblica europei autori della revisione sistematica pubblicata nel 2021 (Clin Microbiol Infect 2021;27:1083-1095) ha riportato quanto segue: *“Nonostante questi criteri di validazione cross-sectional siano stati sviluppati per i test HPV DNA, li abbiamo applicati anche per i test a mRNA.”* *“APTIMA, che rileva*

qualitativamente mRNA di E6 o E7 di 14 tipi ad alto rischio, soddisfa i criteri cross-sectional di Meijer, ma ulteriori dati longitudinali sulla sicurezza sono necessari per valutare la durata della rassicurazione fornita da un test negativo.” I dati relativi al secondo round del progetto pilota inglese di screening pubblicati il 31/05/2022 (BMJ 2022;376:e068776) rispondono a questo bisogno conoscitivo e dimostrano una sicurezza longitudinale dopo un test APTIMA negativo a 3-5 anni (intervallo di screening diversificato per età) sovrapponibile a quella dopo un test HPV-DNA (cobas 4800 o Real-time) negativo, sia misurandola con l’incidenza cumulativa di CIN3+, sia di cancri invasivi. Nella risposta degli autori a una *Letter to the Editor*, pubblicata in Lancet Oncology in ottobre 2022, viene confermata l’accettabilità di Aptima come test di screening primario se si adottano intervalli non superiori a 5 anni e un prelievo clinico in ambulatorio, cioè non per l’autoprelievo (Lancet Oncol 2022;23:e436; Lancet Oncol 2022;23:e437).

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

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, 55

Arbyn M, Simon M, Peeters E, Xu L, Meijer CJLM, Berkhof H, et al. 2020 list of human papillomavirus assays suitable for primary cervical cancer screening. *Clin Microbiol Infect* 2021;27:1083-1095. doi: 10.1016/j.cmi.2021.04.031

Rebolj M, Cuschieri K, Mathews CS, Pesola F, Denton K, Kitchener H. Extension of cervical screening intervals with primary human papillomavirus testing: observational study of English screening pilot data. *BMJ* 2022;376:e068776

Giorgi Rossi P, Rebolj M. HPV mRNA testing in cervical cancer screening. *Lancet Oncol* 2022;23:e436

Arbyn M, Canfell K, Pljak M, Berkhof J, de Sanjosè S, Wentzensen N. HPV mRNA testing in cervical cancer screening. *Lancet Oncol* 2022;23:e437

Rapporto di aggiornamento N. 8

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 – 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 della letteratura: Arbyn et al. 2020 list of human papillomavirus assays suitable for primary cervical cancer screening. *Clin Microbiol Infect* 2021;27:1083-1095.
- 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) e nel 2021 (*Clin Microbiol Infect* 2021;27:1083-1095) da un gruppo di ricercatori e operatori di sanità pubblica europei. Nella revisione sistematica più recente, gli autori hanno escluso dall'analisi i test sviluppati in-house in quanto non commercialmente disponibili e privi di registrazione da parte di un ente regolatore; hanno inoltre discusso e analizzato l'uso di test di comparazione diversi da HC2 e GP5+/6+, riconoscendo che serve una più ampia discussione sulla loro accettabilità, ma dimostrando la completa assenza di eterogeneità nell'accuratezza relativamente all'uso di test di comparazione differenti.

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 tredici test per la ricerca di sequenze DNA dei tipi HPV ad alto rischio risultano completamente validati (molti in più studi): Abbott RT, Cobas 4800, PapilloCheck, HPV-Risk-Assay, Cervista, Onclarity, Anyplex II, Xpert, RealQuality RQ-HPV, cobas 6800, Alinity m, NeuMoDx, OncoPredict HPV SCR; due test risultano validati solo utilizzando dei valori soglia di positività ottimizzati a posteriori: EUROArray, HybriBio's HBRT-H14; per due test manca la valutazione della riproducibilità intra- ed inter-laboratorio: HybriBio's HBRT-H14, Papilloplex; Questi ultimi tre test sono considerati parzialmente validati. Nello studio per il test HPV Selfy sono state rilevate incongruenze, e a questo riscontro è seguita una correzione da parte degli autori dello studio: il test risulta validato per il prelievo clinico e non validato per l'autoprelievo (NOTA: gli autori del gruppo

europeo che studia i criteri di validazione per i test HPV hanno notato che 16 autori su 30 sono affiliati alla ditta produttrice Ulisse BioMed, dunque considerano lo studio su HPV Selfy come una validazione non indipendente, conseguentemente, applicando i criteri che hanno aggiornato nel 2020 per considerare anche l'indipendenza dello studio, il test è considerato solo parzialmente validato). Le caratteristiche e i dati degli studi di validazione sono dettagliati nelle Tabelle 1 e 2.

NOTE: 1) in linea con quanto riportato sopra, il test HPVIR (laboratory developed test) è stato tolto dalle Tabelle; 2) il test NeuMoDx Qiagen è la versione automatizzata del test HPV-Risk assay.

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 (riconosciuti nell'ultima revisione sistematica come non o meno comunemente utilizzati nella pratica corrente dello screening), anche altri test HPV DNA validati che abbiano avuto conferma dell'efficacia in studi longitudinali pubblicati. Per il test cobas 6800 HPV, 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).

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, 2 o 3 tipi a probabile/possibile alto rischio (HPV 66, 67, 68).

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.

Il test HPV si inserisce all'interno del protocollo di screening definito dalle linee guida europee e nazionali, ed i risultati di tutto il percorso vengono raccolti e monitorati.

Come indicato nel documento GISCI "Raccomandazioni sul test HR-HPV come test di screening primario" (https://gisci.it/documenti/documenti_gisci/Raccomandazioni_test_hr-hpv_2017.pdf), tutti i laboratori centralizzati per l'esecuzione dei test HPV di screening devono effettuare controlli di qualità interni e partecipare a programmi di verifica esterna di qualità.

Data ultima verifica dei lavori pubblicati: 30/03/2023.

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.

Garland SM, Iftner T, Cuschieri K, Kaufmann AM, Arbyn M, de Sanjosè S, et al. IPVS policy statement on HPV nucleic acid testing guidance for those utilising/considering HPV as primary precancer screening: quality assurance and quality control issues. *J Clin Virol* 2023;159:105349.

Tabella 1 del Rapporto N. 8 - Test HPV sottoposti a validazione clinica al 30/03/2023

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 sui risultati della validazione clinica
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 Ejegod et al, 2022 – Danimarca - retrosp. SurePath	Test completamente validato.
HPV-Risk assay (HPV-Risk assay)	Self-Screen, Olanda (commercializzato da Fujirebio)	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 screen	AB Analitica, Italia	Real-time PCR	Iacobellis et al, 2018 – Italia – retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato.
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
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 Dhillon et al., 2021-Slovenia- retrosp / ThinPrep	Test completamente validato
NeuMoDx HPV assay	Qiagen, USA	Real-time PCR	Heideman DAM, 2022 – Slovenia – retrosp. / ThinPrep + SurePath	Test completamente validato
OncoPredict HPV SCR assay	Hiantis	Real-time PCR	Dhillon et al, 2022 – Scozia → Italia – retrosp. / ThinPrep VALGENT-2	Test completamente validato
EUROArray HPV	EUROIMMUN, Germania	PCR – probe-based microarray detect.	Viti et al, 2018 – Slovenia (VALGENT 3) – retrosp. / ThinPrep	Test validato (non inferiore al comparator per sensibilità e specificità) solo: - per la versione con 14 tipi di HPV - se viene applicata la soglia per HPV16 ottimizzata anziché la soglia standard.
HBRT-H14	HybriBio, Cina	Real-time PCR	Xu et al, 2020 – Slovenia – retrosp. / ThinPrep	-Test validato (non inferiore al comparator per sensibilità e specificità) 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
Papilloplex HR-HPV test	Genefirst, Oxford, UK	Real-time PCR	Bhatia et al, 2021 – Danimarca – retrosp. / SurePath Bhatia et al, 2023 – Danimarca – VALGENT-4 / SurePath	Test validato (non inferiore al comparator per sensibilità e specificità). Manca la valutazione della riproducibilità intra- ed inter-laboratorio in entrambi gli studi
HPV Selfy assay	Ulisse BioMed	Real-time PCR e melting curve analysis	Avian A, 2022 – Italia retrosp. / ThinPrep	Test validato per prelievo da operatore, ma non per auto-prelievo VEDI Arbyn et al, 2022 e Avian et al, 2023

*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. 8 - Caratteristiche degli studi di validazione e risultati dei test di non inferiorità e riproducibilità

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 ≥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 ≥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 ≥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 screen (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
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 ₁ value** = 0.97	AC ₁ 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	--	--
Alinity m HR HPV assay (Abbott)	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
	Dhillon et al., 2021-HC2	Screening (età 25-64 anni) + campioni donne con lesioni CIN2+: 126 casi; 1212 controlli	1.02	0.0001	1.01	0.0006	--	--
NeuMoDx HPV assay (Qiagen)	Heideman DAM, 2022 – HC2 (ThinPrep) and HPV-Risk assay (SurePath)	Screening (età ≥30 anni): 68 casi e 827 controlli (ThinPrep);	0.98	0.018	1.03	0.0001	0.90	0.87
		106 casi + 842 controlli (SurePath)	1.00	0.0009	1.02	<0.0001	--	--
HPV Selfy assay (Ulisse BioMed)	Avian A, 2022 - HC2	Screening (età ≥30 anni) 98 casi e 791 controlli	0.98	0.017	1.00	0.004	0.87	0.85
EUROArray HPV (EUROIMMUN)	Viti et al, 2018 – HC2	Screening (VALGENT-3, età >30 anni): 98 casi; 1009 controlli	0.95a 0.98b	0.120 a 0.0076 b	1.00 a 1.00 b	0.0009 a 0.0070 b	0.960	0.850

HBRT-H14	Xu et al, 2020 – HC2	Screening (età 30-64); 127 casi; 1.065 controlli	0.99	0.006	1.02c	<0.001c	--	--
Papilloplex HR-HPV test	Bhatia et al, 2021 – GP5+/6+	Screening (VALGENT-4, età >30 anni): 119 casi; 834 controlli	1.018	0.0001	1.003	0.0167	--	--
	Bhatia et al, 2023 – GP5+/6+	Screening (VALGENT-4, età >30 anni): 119 casi; 834 controlli – valutata la concordanza dei singoli tipi HPV	1.018	0.0001	1.003	0.0167	--	--
OncoPredict HPV SCR assay	Dhillon et al, 2022 – GP5+/6+	Screening (VALGENT-2, età 20-60 anni): 95 casi; 720 controlli	1.01	<0.0005	1.02	0.0004	0.971	0.951

*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

^asolo donne ≥30 anni, con cut-off standard

^bdonne di tutte le età, con cut-off per HPV16 ottimizzato

**AC₁ value: Gwet's agreement coefficient

^ccon cut-off ottimizzato per tutti i tipi

Prossimo aggiornamento previsto a marzo 2024

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, Ghysaert H, van der Zee AG, Wisman GB, Schuurung 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.

Dhillon SK, Oštrbenk Valenčak A, Xu L, Poljak M, Arbyn M. Clinical and Analytical Evaluation of the Alinity m HR HPV Assay within the VALGENT-3 Framework. *J Clin Microbiol*. 2021 May 19;59(6):e00286-21. doi: 10.1128/JCM.00286-21. PMID: 33731413; PMCID: PMC8316144.

Iacobellis M, Violante C, Notarachille G, Simone A, Scarfì 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.

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 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33606755/> - [affiliation-1](#), 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.

Bhatia R, Alcaniz Boada E, Bonde JH, Quint WGV, Xu L, Ejegod DM, Cuschieri K, Arbyn M. Papilloplex HR-HPV test has non-inferior clinical performance for detection of human papillomavirus infection: assessment using the VALGENT framework. *J Clin Pathol* 2021;0:1-5, doi:10.1136/jclinpath-2021-207864.

Ejegod DM, Pedersen H, Pedersen BT, Monceyron Jonassen C, Lie AK, Hulleberg LS, Arbyn M, Bonde J. Clinical validation of the Onclarity assay after assay migration to the high-throughput COR instrument using SurePath screening samples from the Danish cervical cancer screening program. *Am J Clin Pathol* 2022;157:390-398.

Heideman DAM, Ostrbenk Valencak A, Doorn S, Bonde J, Hillemanns P, Gimpelj Domjanic G, Mlakar J, Hesselink AT, Meijer CJLM, Poljak M. Clinical validation of the fully automated NeuMoDx HPV assay for cervical cancer screening. *Viruses* 2022;14:893. doi: 10.3390/v14050893.

Avian A, Clemente N, Mauro E, Isidoro E, Di Napoli M, Dudine S, Del Fabro A, et al. Clinical validation of full HR-HPV genotyping HPV Selfy assay according to the international guidelines for HPV test requirements for cervical cancer screening on clinician-collected and self-collected samples. *J Transl Med* 2022;20:231. doi: 10.1186/s12967-022-03383-x.

Arbyn M, Bonde J, Cuschieri K, Poljak M. Can HPV Selfy be considered as a clinically validated HPV test for use in cervical cancer screening? *J Transl Med* 2022;20:422

Avian A, Clemente N, Mauro E, Isidoro E, Di Napoli M, Dudine S, Del Fabro A, et al. Correction: Clinical validation of full HR-HPV genotyping HPV Selfy assay according to the international guidelines for HPV test requirements for cervical cancer screening on clinician-collected and self-collected samples. *J Transl Med* 2023;21:49

Bhatia R, Boada EA, Bonde JH, Quint WGV, Xu L, Ejegod DM, Cuschieri K, Arbyn M. Papilloplex HR-HPV test has non-inferior clinical performance for detection of human papillomavirus infection: assessment using the VALGENT framework. *J Clin Pathol* 2023;76:172-176

Dhillon SK, Cocuzza CE, Chung PYJ, Martinelli M, Giubbi C, Njoku RC, et al. Evaluation of the clinical performance of OncoPredict HPV SCR assay within the VALGENT-2 framework. *J Med Virol* 2022;e28417

Tabella 3 del Rapporto N. 8

Informazioni aggiuntive (non rientranti nei criteri di validazione clinica) sui test HPV validati

TEST VALIDATO (NOME ABBREVIATO)	MEZZO DI PRELIEVO indicato dal produttore nelle schede tecniche [#]	STRUMENTAZIONE utilizzata negli studi di validazione (fase pre-analitica / fase analitica)
Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA test (HC2)	STM*, ThinPrep [^] , SurePath ^{^^}	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 PRIME - p6800/8800
PapilloCheck HPV-screening test (PapilloCheck) (Greiner)	PapilloCheck collection medium, other validated liquid based cytology system	CheckExtractor / CheckScanner apparatus CX STARlet plus
Cervista HPV HR test (Cervista) (Hologic)	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) (Fujirebio)	ThinPrep, SurePath, Pathtest (methanol-based o ethanol-based), self-collected vaginal brush samples	Automated silica-based extract. system / ABI7500 Fast real-time PCR system Mic qPCR Cycler (Bio Molecular Systems)
Anyplex II HPV HR Detection (Anyplex II) (Seegene)	ThinPrep, SurePath	Microlab STARlet / CFX96 real-time thermocycler
Xpert HPV assay (Xpert) (Cepheid)	ThinPrep, other validated transport medium	Trasferimento manuale dell'aliquota / INFINITY-80
RealQuality RQ-HPV screen (AB Analitica)	ThinPrep; DNA estratto da cellule, tessuti e campioni FFPE***	ABI7500 Fast Dx real-time PCR system AriaDx; CFX96; Rotor-Gene Q 6plex
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 PRIME - p6800/8800
Alinity m HR HPV (Abbott)	ThinPrep, SurePath, Abbott Alinity m Cervi-Collect	Alinity m System
HBRT-H14 (HybriBio)	ThinPrep, SurePath, HybriBio sample collection kit	Strumento per real-time PCR non specificato
Papilloplex HR-HPV test (Genefirst)	ThinPrep	CFX96; SLAN-96P; ABI7500
NeuMoDx HPV assay (Qiagen)	ThinPrep, SurePath	NeuMoDx Systems (288 o 96)
HPV Selfy assay (Ulisse BioMed)	ThinPrep, vaginal swab	QuantStudio 5 Real Time PCR machine
OncoPredict HPV SCR assay (Hiantis)	Scheda tecnica non disponibile	Fluent 480; CFX384

[#] le schede tecniche dei test sono state consultate il 12/04/2023

*STM = Standard Transport Medium, Qiagen

[^]ThinPrep (TP) = PreservCyt, Hologic

^{^^}SurePath (SP) = BD Diagnostics

**PBS = Phosphate-Buffered Saline

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