



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 di aggiornamento N. 1, versione 1.1**

Revisione 23/05/2016:

- **modificati i riferimenti ai sistemi di prelievo**
- **il presente documento sostituisce il precedente**

Coordinatori Gruppo di lavoro:

Annarosa Del Mistro, Ubaldo Passamonti, Guglielmo Ronco

Documento redatto da:

Annarosa Del Mistro, Paolo Giorgi-Rossi, Ubaldo Passamonti, Guglielmo Ronco, Francesca Carozzi.

Approvato dal Comitato di Coordinamento GISCI in data 15 Marzo 2016.

Elenco componenti del gruppo di lavoro:

Annarosa Del Mistro, IOV-IRCCS Padova

Helena Frayle, IOV-IRCCS Padova

Manuel Zorzi, Registro Tumori del Veneto - Regione Veneto

Ubaldo Passamonti, AUSL Umbria 1

Elena Cesarini, AUSL Umbria 1

Simonetta Bulletti, AUSL Umbria 1

Guglielmo Ronco, CPO Torino

Laura De Marco, CPO Torino

Antonella Pellegrini, AO S. Giovanni Roma

Simone Barocci, ASUR Marche AV2 Senigallia

Francesca Maria Carozzi, ISPO Firenze

Alessandra Mongia, ISPO Firenze

Anna Iossa, ISPO Firenze

Cristina Sani, ISPO Firenze

Elena Burroni, ISPO Firenze

Giulia Fantacci, ISPO Firenze

Simonetta Bisanzzi, ISPO Firenze

Massimo Confortini, ISPO Firenze

Maria Teresa Sandri, IEO Milano

Silvano Costa, Ginecologo - Bologna

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

La versione elettronica di questo documento è accessibile dai siti:

www.osservatorionazionalescreening.it- www.gisci.it

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.

Tale iter consentirà alle Regioni di utilizzare i documenti prodotti dal GISCI come materiale di riferimento nell'espletamento delle gare per l'acquisizione della fornitura dei test HPV per lo screening cervicale.

Obiettivi

Il documento prodotto dal gruppo riporterà 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 entro il 2018, secondo quanto riportato nel Piano Nazionale della Prevenzione (PNP) 2014-2018. 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 sarà il risultato della revisione sistematica della letteratura sui test HPV validati per lo screening, fatta sulla base dei 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.

L'aggiornamento avrà cadenza annuale, con disponibilità da parte del gruppo a rispondere, nei limiti delle possibilità, dei tempi e delle risorse disponibili, a richieste di chiarimento e specifiche da parte di enti pubblici.

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

Come indicato in Meijer et al. (IntJ Cancer 2009) e nel supplemento alle linee guida europee, per definire la durata del periodo a basso rischio dopo un test negativo sono necessari dati longitudinali, ovvero studi che permettano di seguire le donne per un lungo periodo raccogliendo tutte le lesioni che insorgono dopo un test negativo. Non è possibile dunque applicare i criteri di validazione di un test per l'identificazione del DNA di HPV a test che hanno come target altre molecole o meccanismi cellulari o molecolari collegati all'infezione da HPV. L'attività del gruppo di lavoro è

funzionale all'applicazione delle linee-guida italiane ed europee che per ora raccomandano test a DNA e di conseguenza riguarderà solo la valutazione di test a DNA.

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

Rapporto di aggiornamento N. 1

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. doi: 10.1016/j.cmi.2015.04.015. Epub 2015 May 1.

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 dell'Allegato 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), e sulla base della recente meta-analisi pubblicata da Arbyn et al. (in cui sono state utilizzate le stesse modalità di lavoro già concordate dal gruppo GISCI), ad oggi nove test per la ricerca di sequenze DNA dei tipi HPV ad alto rischio risultano completamente validati ed utilizzabili come test primario di screening: HC2, GP5+/6+ EIA, Abbott RT, Cobas 4800, PapilloCheck, Risk-Assay, Cervista, Onclarity e Anyplex II (dettagliati nelle tabelle in Allegato 1 e Allegato 2).

Nella tabella dell'Allegato 2 sono riportate 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.

Poiché nella revisione della letteratura sopra riportata (Arbyn et al, 2015) Cervista e Onclarity vengono riportati come parzialmente validati in quanto nei rispettivi due studi di validazione clinica non è concordante il risultato del test di non inferiorità per la specificità clinica, il gruppo ha deciso di effettuare una revisione sistematica ed una meta-analisi sulla specificità di questi studi. I risultati, riportati in dettaglio nell'Allegato 3, dimostrano per entrambi i test la non-inferiorità della specificità del test in esame rispetto al test di riferimento.

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.

I mezzi di prelievo/trasporto/conservazione riportati nella tabella dell'Allegato 1 sono quelli utilizzati negli studi di validazione, con l'aggiunta dei mezzi specifici/dedicati disponibili per alcuni dei test.

Data ultima verifica dei lavori pubblicati: 14 Marzo 2016.

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 Mar 5;108(4):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 Jun;50(6):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.

ALLEGATO 1 al Rapporto N.1

TEST VALIDATO (NOME ABBREVIATO)	PRODUTTORE	METODOLOGIA	MEZZO DI PRELIEVO* utilizzabile indicato dal produttore nel data sheet	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	STM, ThinPrep, SurePath	Test di riferimento usato in molti studi clinici randomizzati, compreso NTCC	
GP5+/6+ PCR-EIA (GP5+/6+ EIA)	Diassay, Olanda	PCR	PBS	Test di riferimento usato nel trial POBASCAM	
RealTime High Risk HPV test (Abbott RT hrHPV test)	Abbott, Germania	Real-time PCR	ThinPrep, SurePath, Abbott Cervi-Collect	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. Risultati concordanti nei tre studi.
Cobas 4800 HPV test (Cobas 4800)	Roche, USA	Real-time PCR	Cobas collection medium, ThinPrep, SurePath	Heideman et al, 2011 – Olanda – retrosp. / UCM Lloveras et al, 2013 – Spagna – retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato. Risultati concordanti nei due studi.
PapilloCheck HPV-screening test (PapilloCheck)	Greiner Bio-One, Germania	Tecnologia PCR – chip	PapilloCheck collection medium, ThinPrep, SurePath	Hesselink et al, 2010 – Olanda – retrosp. / PBS	Test completamente validato per la versione con 14 tipi di HPV.
Cervista HPV HR test (Cervista)	Hologic, USA	Tecnologia invader	ThinPrep	Boers et al, 2014 – Cina, Olanda – prosp. / ThinPrep Alameda et al, 2015 –Portogallo–retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato. Risultati concordanti nei due studi.
BD Onclarity HPV assay (BD Onclarity)	BD Diagnostics, USA	Real-time PCR	SurePath, ThinPrep, BD Onclarity collection medium	Ejegod et al, 2014 – Danimarca, Inghilterra – retrosp. / ThinPrep Cuschieri et al, 2015 – Scozia – retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato. Dati discordanti tra i due studi, vedi ri-analisi in Allegato 3.
HPV-Risk assay (HPV-Risk assay)	Self-Screen, Olanda	Real-time PCR	ThinPrep, SurePath	Hesselink et al, 2014 – Olanda – prosp. / ThinPrep	Test completamente validato.
Anyplex II HPV HR Detection (Anyplex II)	Seegene, Korea	Real-time PCR	ThinPrep, SurePath	Hesselink et al, 2016 – Olanda – retrosp. / ThinPrep	Test completamente validato.

*STM = Standard Transport Medium, Qiagen ThinPrep (TP) = PreservCyt, Hologic SurePath (SP) = BD Diagnostics PBS = Phosphate-Buffered Saline
UCM = Universal Collection Medium

Prossimo aggiornamento previsto a Dicembre 2016

ALLEGATO 2 al Rapporto N.1

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
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
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**	--	--
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
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

*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 presente rapporto

Prossimo aggiornamento previsto a Dicembre 2016

Bibliografia specifica degli studi di validazione clinica

Carozzi FM, Burrone E, Bisanzio 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.

Boers A, Wang R, Slagter-Menkema L, van Hemel BM, Ghysaert 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 Catalonian 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 frame work. *J Clin Microbiol* 2015, in press, doi:10.1128/JCM.01366-15.

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.

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.

ALLEGATO 3 al Rapporto N.1

Non-inferiorità della Specificità di Cervista HPV HR test e BD Onclarity HPV Assay rispetto ai test validati da studi longitudinali: revisione sistematica e meta-analisi degli studi.

Caratteristiche degli studi individuati per il Cervista HPV HR test

Studio	Popolazione	Numerosità	Specificità test di riferimento	Specificità Cervista HPV HR test	Non-inferiority test specificità (98%)
Alameda et al., Arch Pathol Lab Med, 2015, 139:241;	Età media 44,8 (range 17-86 anni), accesso spontaneo e screening, sintomatologia non nota, Spagna	811 donne	HC2 86,4% (IC95%: 84,2-88,7)	85,2% (IC95%: 82,9-87,6)	T=2,75; p=.003
Boers et al., Jour Clinic Microb, 2014, 52(12):4391.	Età ≥ 30 anni. Population-based clinical trial SHENCAST II, Cina	7218 donne	HC2 89% (IC95%: 88,0-89,5)	91% (IC95%: 90,5-91,8)	T=17,73; p=.0001

Entrambi gli studi analizzati concordano per la non-inferiorità della specificità del test Cervista HPV HR rispetto ad Hybrid Capture 2 (HC2, Qiagen)

Caratteristiche degli studi individuati per il BD Onclarity HPV Assay

Studio	Popolazione	Numerosità	Specificità test di riferimento	Specificità BD Onclarity HPV Assay	Non-inferiority test specificità (98%)
Ejegod et al., J Med Microb Diagn, 2013, S3;	Età ≥ 30 anni, in screening, PREDICTORS II/III study, Inghilterra	4599 donne	HC2 88,8%% (IC95%: 87,9-89,7)	87,7% (IC95%: 86,8-88,7)	T=2,02; p=.02164 Specificità relativa 0,99
Cuschieri et al., Jour Clinic Microb, 2015, 53(10):3272.	Età ≥ 30 anni, in screening, VALGENT-2 panel, Scozia	631 donne	GP5+/6+ EIA 92,4% (IC95%: 90,4-94,4)	91,3% (IC95%: 89,2-93,4)	T=1,02; p=0.1551; Specificità relativa 0,99

Lo studio di Ejegod et al. mostra la non-inferiorità della specificità di BD Onclarity HPV Assay rispetto ad HC2.

Nello studio di Cuschieri et al., pur mostrando una specificità relativa superiore al 98% (99%) di BD Onclarity HPV Assay rispetto a GP5+/6+ LMNX Assay, il test di non-inferiorità non raggiunge la significatività statistica. Lo studio è però sottodimensionato, con un campione di 631 donne senza CIN2, numero inferiore rispetto alle 800 richieste dalle linee guida Meijer et al. per avere una potenza dell'80% (1100 per avere una potenza del 90%).

I due studi hanno risultati consistenti per la specificità relativa dei test confrontati: 99% per entrambi. Sebbene utilizzino due test di confronto differenti, si è deciso di effettuare comunque una meta-analisi pooled, che conferma la non-inferiorità della specificità di BD Onclarity HPV Assay rispetto ai *gold standard* ($T=2,22$; $p=0,013$).

Si conclude pertanto per la non-inferiorità della specificità di BD Onclarity HPV Assay rispetto a Qiagen Hybrid Capture 2 e a GP5+/6+ LMNX Assay.