

HPV DNA test nello screening: STUDIO NTCC

Patrizia Schincaglia
Centro Prevenzione Oncologica - Ravenna

Ferrara, 14 ottobre 2008

Epidemiologia dell'HPV e del Cervicocarcinoma

- L'HPV ad alto rischio è causa necessaria ma non sufficiente del carcinoma della cervice uterina; quelli a basso rischio non hanno nessuna relazione con il cancro della cervice uterina (IARC, 2005)
- Il carcinoma della cervice uterina è un esito molto raro di una infezione molto comune; (IARC, 2005)
- Le uniche infezioni rilevanti sono quelle persistenti ovvero che durano per diversi anni.
- Il 9% delle donne italiane di età fra i 25 e i 60 anni è infetta, solo 3 su 1000 hanno una lesione precancerosa di alto grado (le uniche per cui sia raccomandato il trattamento).
- Il semplice stato di infezione non è una malattia per la donna e in più del 90% dei casi non si ha nessuna lesione rilevante.

Premesse

- Il test HPV e la citologia in fase liquida aumentano la sensibilità nell'individuare lesioni di alto grado
- Ma non si può escludere che le lesioni identificate in eccesso siano destinate a regredire

Premesse

■ L'infezione da HPV precede di parecchio la comparsa di lesioni di alto grado, quando la citologia è ancora normale

- Ylitalo, Sorensen, Josefsson et al.
Lancet 2000; 355:2194-8
- Carozzi, Ronco, Confortini et al.
Br.J. Cancer 2000; 83:1462-1467

Premesse

- Lo screening convenzionale del cervicocarcinoma è già molto protettivo.
- La semplice aggiunta di un nuovo test con gli stessi intervalli porterebbe plausibilmente a un rapporto costi benefici sfavorevole

STUDIO NTCC

- AMPIO TRIAL RANDOMIZZATO IN UNA POPOLAZIONE DI SCREENING
- VALUTAZIONE A LUNGO TERMINE DI DIVERSE STRATEGIE DI SCREENING RISPETTO ALLA DIAGNOSI DI CIN E K
- VALUTAZIONE EFFICACIA E ACCETTABILITA' DEL TEST HPV

STUDIO NTCC

- Trial randomizzato Multicentrico
- Pap test convenzionale vs. sperimentale
2 fasi:
 - Sperimentale fase 1: HPV (HCII) + citologia in fase liquida (Thin Prep)
 - Sperimentale fase 2: solo HPV (HCII)
- Per entrambi i bracci di entrambe le fasi controllo dopo 3 anni con citologia convenzionale

STUDIO NTCC

- Outcome secondario: confronto del numero di lesioni trovate nel braccio sperimentale e nel braccio convenzionale al reclutamento.
- Razionale: in base a ciò che conosciamo della storia naturale della malattia, ci aspettiamo di trovare un maggior numero di lesioni con il test HPV.

STUDIO NTCC

- Outcome principale: confronto della **detection rate** (numero di lesioni trovate per mille donne screenate) fra i bracci **dopo 3 anni**
- Razionale: se HPV trova un maggior numero di lesioni persistenti e clinicamente rilevanti, nel braccio sperimentale dopo 3 anni si devono trovare meno lesioni che nel braccio convenzionale

STUDIO NTCC

- Se HPV trova lesioni transitorie, che sarebbero regredite, dopo 3 anni avremo di nuovo un numero simile di lesioni nel braccio sperimentale e convenzionale.
- Dunque l'HPV avrebbe prodotto solo sovradiagnosi e sovratrattamento.

Braccio sperimentale

■ Test HPV

Hybrid Capture II – ceppi ad alto-medio rischio

Test molecolare che consente la determinazione semiquantitativa del DNA dei ceppi virali a diverso rischio oncogeno

■ Citologia in strato sottile

Thin Prep (permette valutazione citologica e molecolare su un unico prelievo)

Criteri di reclutamento

- Età 25-60 anni
- Invitate per un nuovo round di screening
- Esclusione:
 - In follow-up dopo un Pap insoddisfacente o positivo o post colposcopico
 - Trattamento per CIN o Carcinoma della cervice nei 5 anni precedenti
 - Isterectomizzate
 - Gravidanza
- Randomizzazione individuale, dopo la firma del consenso informato

Centri Partecipanti

Programmi organizzati di screening:

- **Piemonte:** Torino
- **Trentino:** Trento
- **Veneto:**
 - Verona e Padova
- **Emilia Romagna:**
 - Imola, Ravenna e Bologna
- **Toscana:** Firenze
- **Lazio:** Viterbo

POPOLAZIONE RANDOMIZZATA

94.370 donne reclutate

- **I FASE: 45.174 suddivise per braccio**
- **II FASE: 49.196 suddivise per braccio**

NTCC - Reclutamento Fase I

Donne di screening

età 25-60

61209

Elegibili

(dopo anamnesi)

58700 (95.9%)

Randomizzate

45174 (77%)

Braccio

convenzionale

22466 (49.7%)

Braccio

sperimentale

22708 (50.3%)

NTCC - Reclutamento Fase II

Donne di screening

età 25-60

72076

Elegibili

(dopo anamnesi)

69326 (96.2%)

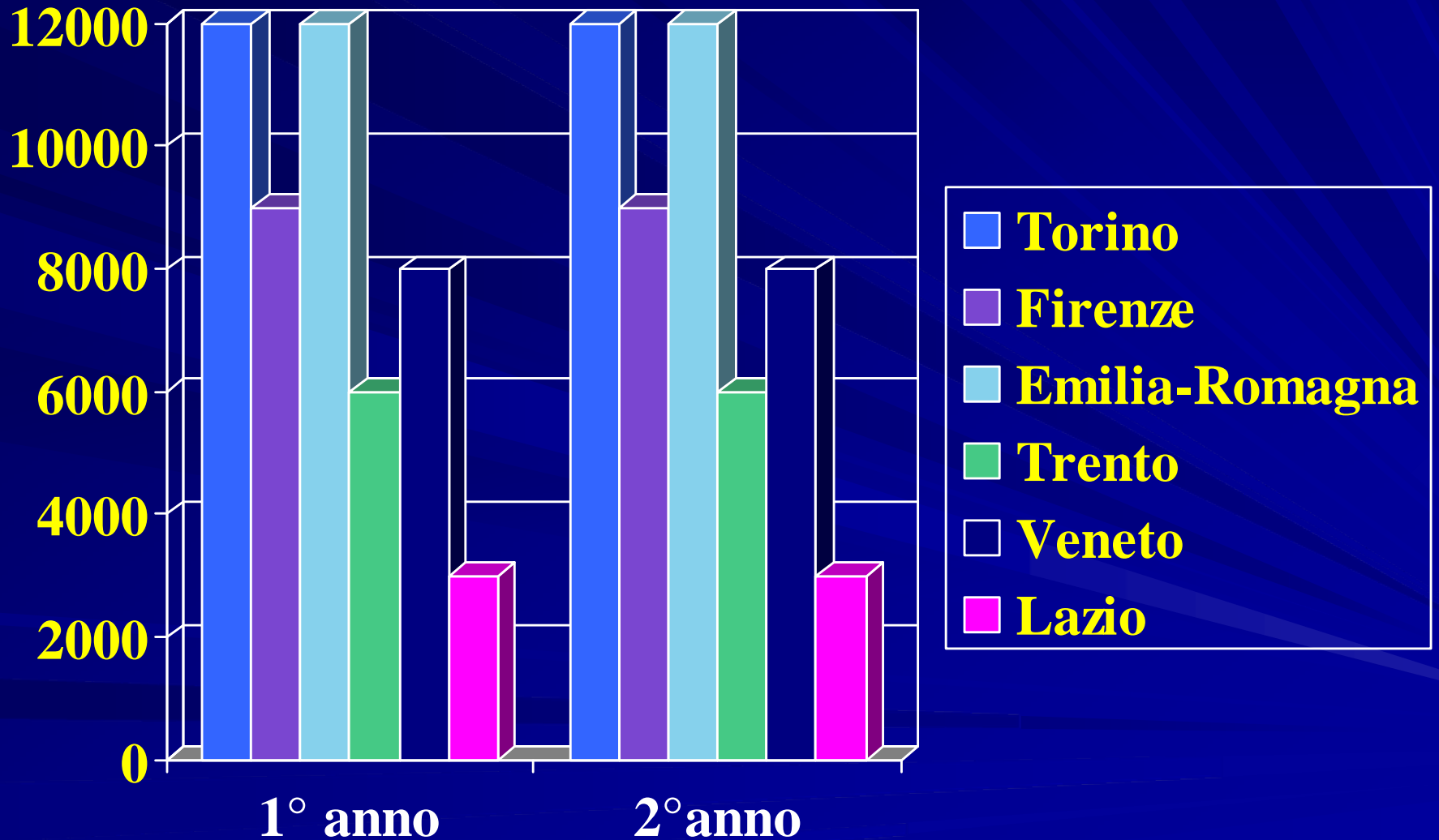
Randomizzate

49196 (71%)

**Braccio
convenzionale**
24535 (49.9%)

**Braccio
sperimentale**
24661 (50.1%)

POPOLAZIONE RANDOMIZZATA PER CENTRO



BRACCIO CONVENZIONALE

PROTOCOLLO I – II FASE

- COLPOSCOPIA SE CITOLOGIA \geq ASCUS
- PROTOCOLLO LOCALE DI CIASCUN CENTRO

PROTOCOLLO HPV+ / Citologia-

- **Età ≥ 35 \longrightarrow colposcopia**
- **Età < 35 \longrightarrow ripetizione dopo 1 anno**
 - **se HPV persiste o citologia + \longrightarrow colposcopia**
 - **se HPV regredisce \longrightarrow intervallo standard**

Protocollo II Fase

BRACCIO SPERIMENTALE
Solo HPV

HPV -

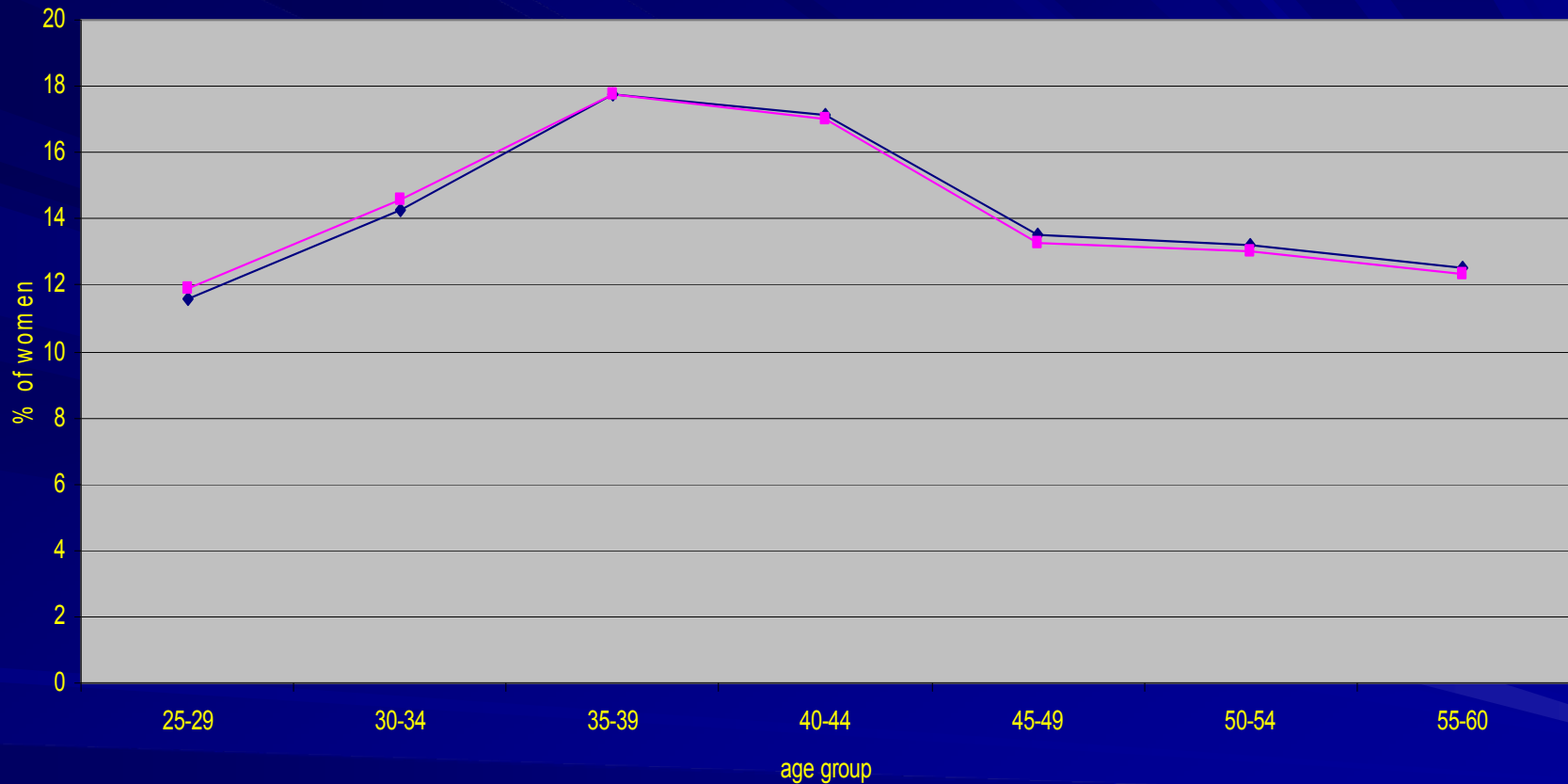
SCREENING
A 3 ANNI

HPV +

COLPO + CITO

NTCC - Fase I

Distribuzione per età e per braccio di randomizzazione

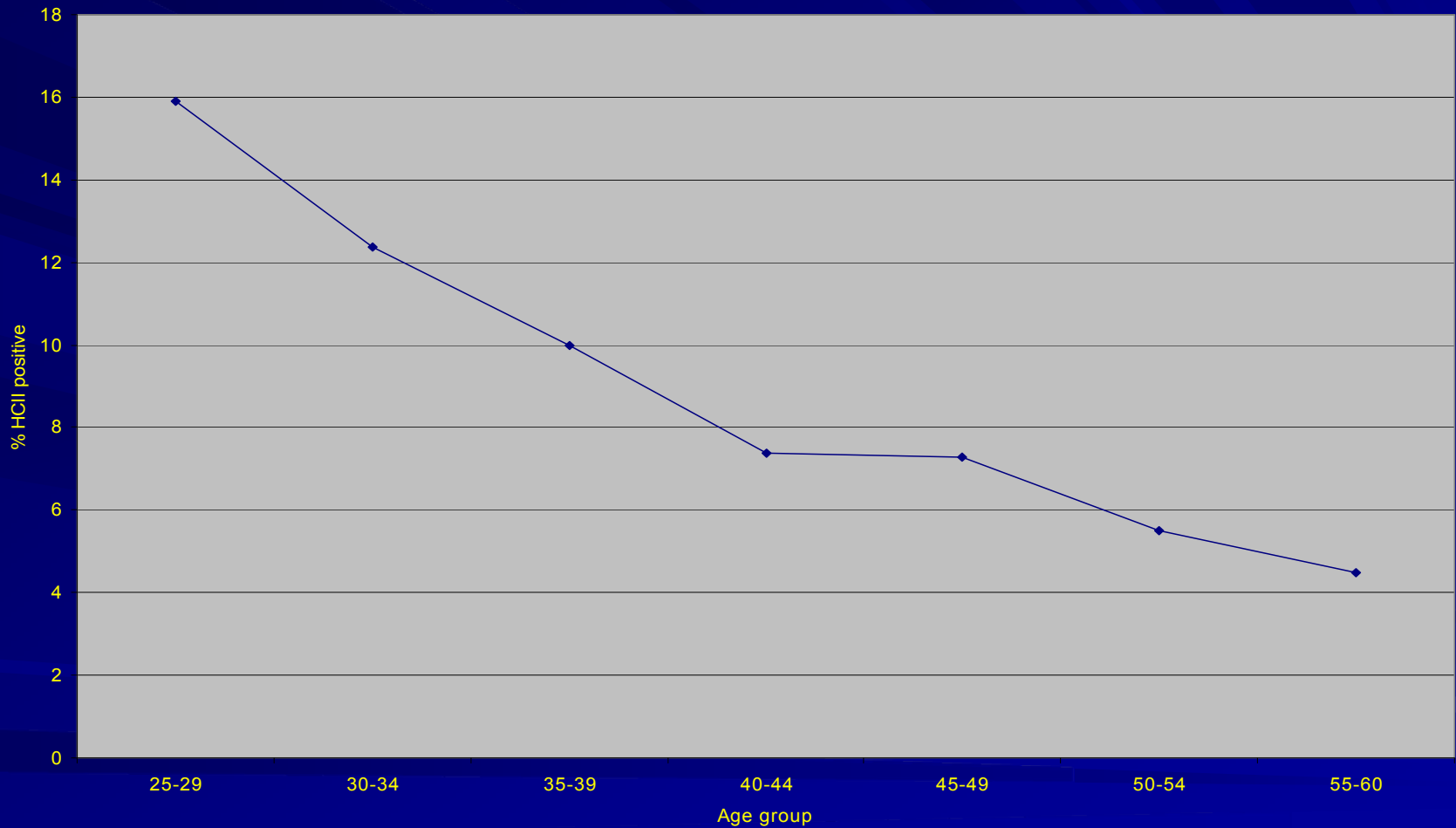


$\chi^2_{6df} = 2.98, p=0.81$

—◆— conventional arm —■— experimental arm

NTCC - Fase I

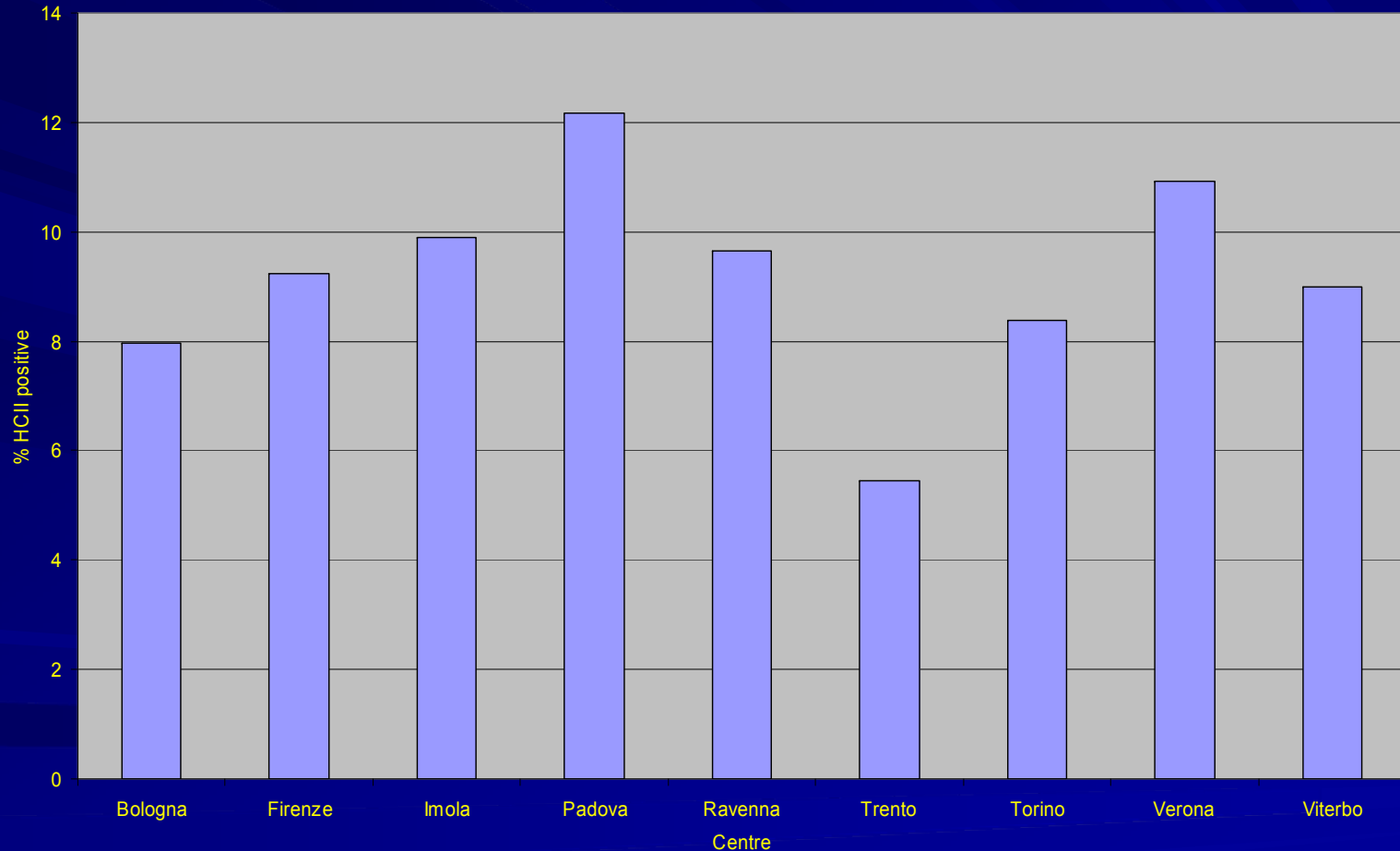
Prevalenza di donne positive al test HPV per età



NTCC - Fase I

Prevalenza di donne positive al test HPV per centro

Figure 3.
Proportion of women positive to HCII by centre



RISULTATI FASE I

Risultati citologici per braccio

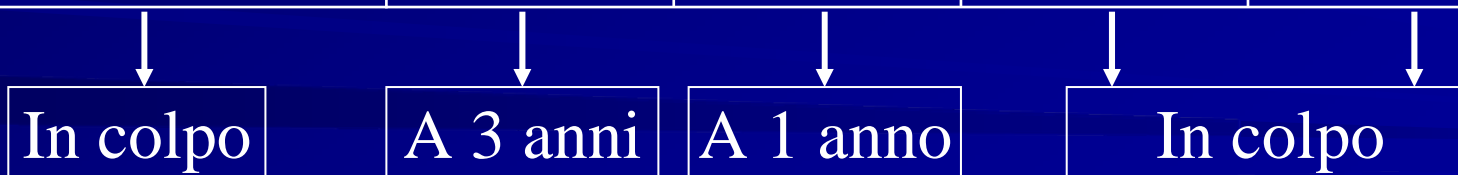
Età 35-60 anni, tutti i test prima della colposcopia

CITOLOGIA	Convenzionale	Sperimentale
Negativo/Alterazioni benigne	15444 (92,7%)	15384 (92%)
Inadeguato per infiammazione oscurante	325 (2%)	71 (0,4%)
Inadeguato per altri motivi	295 (1,8%)	347 (2,1%)
ASCUS	382 (2,3%)	553 (3,3%)
LSIL	170 (1%)	297 (1,8%)
HSIL o +	42 (0,25%)	54 (0,3%)
Totale	16658	16706

NTCC - **Fase I** Donne 25-34 anni

Risultati HPV e citologici al reclutamento

Braccio Convenzionale	Braccio Sperimentale				Totale Donne
citologia +	HPV- citologia -	HPV+ citologia -	HPV+ citologia +	HPV- citologia +	
261/5808 (4,5%)	4824 (80.4%)	510 (8.5%)	319 (5.3%)	207 (3.4%)	6002



Delle 510 donne HPV+ Cito- :

- 14 sono andate in colposcopia (no CIN2+)
- 339 (66.4%) sono state ri-testate circa un anno dopo

NTCC - **Fase I** Donne 25-34 anni
Ripetizione: HPV clearance

Intervallo (giorni)	N° donne	N° HPV negative	% clearance (O.R.95%)
< = 365	112	56	50%
>365	222	134	60%
Totale	334 *	190	57% (51.6-62.2)

* Test completi su 339

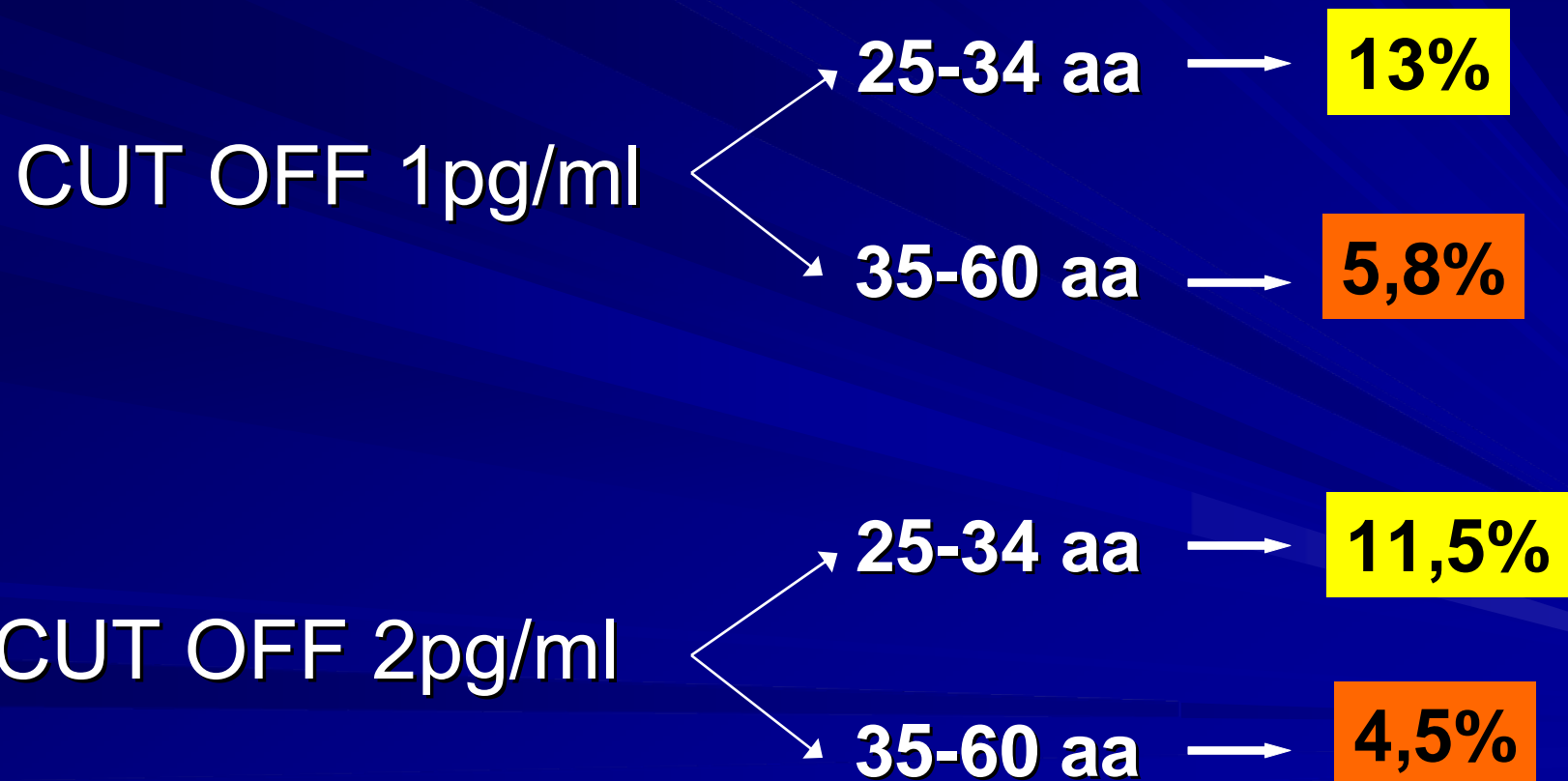
POSITIVI II FASE

Tasso d'invio in colposcopia

	Tutte le età	Età 25-34	Età 35-60
N° donne			
Convenzionale	24535	6788	17747
Sperimentale	24661	6937	17724
% Richiamo FASE I			
Convenzionale	3,8%	4,5%	3,6%
Sperimentale	10,9%	11,6%	10,7%
% Richiamo			
Convenzionale	3.4%	4.0%	3.1%
Sperimentale	7.8%	13.1%	5.8%

Studio NTCC - **Fase II** - RISULTATI
Braccio Sperimentale

HPV Test Positivo % di Richiamo



Studio NTCC - Fase I

Lesioni confermate istologicamente per braccio ed età

	Tutte le età		Età 25-34		Età 35-60	
	Convenzionale	Sperimentale	Convenzionale	Sperimentale	Convenzionale	Sperimentale
CIN I	101	289	38	119	63	170
CIN II	Tutte le età Convenzionale 84 CIN2+		11	31	20	36
CIN III +	53	Tutte le età Sperimentale 120 CIN2+		14	31	39

Lesioni confermate istologicamente per braccio ed età

	Tutte le età		Età 25-34		Età 35-60	
	Convenzionale	Sperimentale	Convenzionale	Sperimentale	Convenzionale	Sperimentale
CIN I	110	236	43	133	67	103
CIN II	Tutte le età Convenzionale 55 CIN2+	78	Tutte le età Convenzionale 19 CIN2+	44	19	34
CIN III +	26	Tutte le età Sperimentale 137 CIN2+	9	Tutte le età Sperimentale 68 CIN2+	17	35

RISULTATI 1^a e 2^a FASE

NTCC - DONNE 35-60 anni

Detection rate, sensibilità relativa del Test HPV vs. la citologia convenzionale per CIN2+

TEST	FASE 2	FASE 1	
	DetectionRate per 1000	LBC FASE 1 SENSIBILITA' 1.06 + 6%	
Braccio Sperimentale HPV ≥ 1 pg/ml	3.89	+ 92%	+ 43%
Braccio Sperimentale HPV ≥ 2 pg/ml	3.67	+ 81%	+ 41%
Citologia Convenzionale ≥ ASCUS	2.03	1.00	1.00

NTCC - DONNE 35-60 anni

Valore Predittivo Positivo relativo del Test HPV vs. la citologia convenzionale per CIN2+

TEST	FASE 2		FASE 1
	PPV %	PPV % (95% CI)	
Braccio Sperimentale HPV ≥ 1 pg/ml	7.2	- 20%	- 42%
Braccio Sperimentale HPV ≥ 2 pg/ml	8.8	- 1%	- 25%
Citologia Convenzionale \geq ASCUS	8.9	1.00	1.00

LBC FASE 1
VPP 0.57 → - 43%

Donne 35-60 anni

HPV TEST : 1^a e 2^a FASE COMBinate

**SENSIBILITA' + 63% con cutoff a 1pg/ml
+ 57% con cutoff a 2pg/ml**

PER CIN2+

**SENSIBILITA' + 52% con cutoff a 1pg/ml
+ 50% con cutoff a 2pg/ml**

PER CIN3+

**VALORE PREDITTIVO - 33% con cutoff a 1pg/ml
- 15% con cutoff a 2pg/ml**

NTCC - DONNE 25-34 anni

Detection rate, sensibilità relativa del Test HPV vs. la citologia convenzionale per CIN2+

TEST	FASE 2		FASE 1
	DetectionRate per 1000	Sensibilità Relativa (95%CI)	Sensibilità Relativa (95%CI)
Braccio Sperimentale HPV ≥ 1 pg/ml	9.80	+250%	+58%
Braccio Sperimentale HPV ≥ 2 pg/ml	9.66	+250%	+58%
Citologia Convenzionale \geq ASCUS	2.80	1.00	1.00

NTCC - DONNE 25-34 anni

Valore Predittivo Positivo relativo del Test HPV vs. la citologia convenzionale per CIN2+

TEST	FASE 2		FASE 1
	PPV %	PPV % Relativo (95%CI)	PPV % Relativo (95%CI)
Braccio Sperimentale HPV ≥ 1 pg/ml	8.0	- 11%	- 22%
Braccio Sperimentale HPV ≥ 2 pg/ml	9.0	- 1%	- 16%
Citologia Convenzionale \geq ASCUS	9.0	1.00	1.00

CONCLUSIONI

- I risultati dello studio NTCC sono rappresentativi della realtà di screening (70% circa donne arruolate)
 - La randomizzazione individuale su un campione così ampio è garanzia che la diversa D.R. riscontrata nei 2 bracci è da attribuirsi alla sensibilità dei test e non a differenze nel rischio di popolazione
 - Rafforzamento dell'uso del test HPV nel triage con citologia ASCUS: nessuna diagnosi CIN2+ nelle 845 donne con esito Cito+ HPV-
- Triage possibile anche nelle L-SIL se l'età è > 35 anni

CONCLUSIONI

- Messa a punto di un sistema di Q.A. per il test HPV utilizzabile come modello per l'attività routinaria
- La citologia liquida non ha mostrato un aumento di sensibilità per lesioni di alto grado rispetto alla citologia convenzionale, mostrando invece una riduzione del VPP. Riduce tuttavia il numero di Pap-test inadeguati per flogosi

CONCLUSIONI TRIAL

Donne 35-60 anni

- Donne HPV Positive: la sensibilità non cambia in maniera significativa tra le due fasi
- La sensibilità del Test HPV è molto superiore al Pap Test convenzionale
- Utilizzando un cutoff di 2 Rlu, il VPP migliora notevolmente
- Su 70.000 donne randomizzate la sensibilità per diagnosi CIN2 e CIN3 del Test HPV è aumentata del 50% con non significativa riduzione del VPP (perdita del 15-20%)

CONCLUSIONI TRIAL

Donne 25-34 anni

- Diverso protocollo: Fase 1 → Colposcopia se Ascus +
Fase 2 → Colposcopia sempre se Hpv+
- La sensibilità relativa del Test Hpv è molto più elevata rispetto al Pap test convenzionale
- Grande differenza nel numero di Lesioni di Alto Grado diagnosticate nelle due fasi dello studio
- Probabile regressione spontanea delle Lesioni CIN2-3 entro 1 anno

CONCLUSIONI TRIAL

Donne 25-34 anni

- Il notevole incremento della sensibilità dell'HPV Test vs. la citologia ottenuto con l'invio in colposcopia rappresenta un overtreatment di lesioni destinate a regredire

→ Necessario TRIAGE CITOLOGICO

RISULTATO PRINCIPALE STUDIO: Detection Rate (CIN2+) nel Rescreening dopo 3 anni

RESCREENING DELLE DONNE RISULTATE NEGATIVE AL RECLUTAMENTO DI ENTRAMBE LE FASI E BRACCI

- Se dopo 3 anni osserveremo una riduzione della detection rate nel braccio sperimentale (rispetto alle lesioni trovate nel braccio convenzionale) avremo la prova che le lesioni in più trovate adesso non erano regressive.
- Se la detection rate che osserveremo nel braccio sperimentale sarà molto bassa, si avrà la prova che la protezione offerta dal test HPV è di maggior durata rispetto a quella del Pap test e quindi è possibile allungare l'intervallo di screening.

HPV TEST COME TEST PRIMARIO NELLO SCREENING

- Hybrid Capture II con cut-off a 2pg/ml senza aggiunta della citologia
- Se HPV test risulta positivo:
 - Donne di età ≥ 35 anni → Invio in colposcopia
 - Donne di età < 35 anni → Triage citologico e retesting dopo 1 anno se la citologia è negativa
- Allungamento intervallo di Screening se HPV test risulta negativo

Centri partecipanti allo Studio

Torino (CPO Piemonte)

G. Ronco

N. Segnan

A. Gillio Tos

L. DeMarco

B. Ghiringhello

R. Volante

Emilia Romagna

C. Naldoni

GP. Casadei

R. Nannini

P. Schincaglia

M. Serafini

M. Manfredi

C. Sintoni

S. Folicaldi

Londra (Cancer Research UK)

J. Cuzick

Firenze (CSPO)

M. Confortini

F. Carozzi

M. Zappa

A. Iossa

Veneto

M. Vettorazzi

M. Zorzi

AR. Delmistro

D. Minucci

G. Nardo

M. Lestani

Trento

P. Dalla Palma

A. Pojer

E. Polla

Lazio

S. Brezzi

P. Giorgi Rossi

ML. Schiboni

A. Pellegrini

P. Raggi

GRAZIE PER L'ATTENZIONE