

## Relazione Tecnica del test BD Onclarity™ HPV

### Cos'è lo screening con test HPV

Il Test BD Onclarity™ HPV, è un test dedicato allo screening del tumore del collo dell'utero. Lo screening per il carcinoma del collo dell'utero è un intervento sanitario che ha lo scopo di diagnosticare le lesioni pre-tumorali o il tumore in fase precoce, cioè prima che compaiano sintomi, in modo da prevenire lo sviluppo del tumore e migliorarne la prognosi. I virus HPV hanno un ruolo causale riconosciuto per il carcinoma del collo dell'utero: si tratta del primo tumore definito dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) come chiaramente riconducibile ad una infezione. Il Prof. Harold Zur Hausen nel 2008 vinse il premio Nobel per questa scoperta fatta nel 1976. Esistono circa 120 tipi di virus HPV, ma solo 12 causano il carcinoma del collo dell'utero e per questo motivo sono chiamati oncogeni (o ad alto rischio). A essere possibile causa di tumore è, però, solo l'infezione che persiste nel tempo potendo così determinare l'insorgenza di lesioni pre-tumorali e, successivamente, il carcinoma. Lo screening per il carcinoma del collo dell'utero ha quindi l'obiettivo di individuare le infezioni persistenti da tipi oncogeni. Fino ad oggi, in Italia, il test di screening per la prevenzione del carcinoma del collo dell'utero è stato il Pap Test, un esame che rileva le alterazioni delle cellule del tessuto epiteliale prelevato dalla cervice. La comunità scientifica ha però dimostrato che il test HPV è più efficace del Pap Test per la prevenzione del cervicocarcinoma, e così anche in Italia sono stati avviati i primi programmi di screening con test HPV, un esame molecolare di laboratorio che consente di individuare la presenza del virus prima che provochi alterazioni pretumorali nei tessuti. In questi nuovi programmi il Pap test non scompare, ma diventa un esame di completamento (Pap Test di triage) che viene preso in considerazione solo nelle donne risultate positive al test HPV. Il Piano Nazionale di Prevenzione 2014-2018 prevede che entro il 2018 tutti i programmi di screening italiani passino dal Pap test al test HPV come test primario per le donne dai 30-35 anni, in modo progressivo e programmato. Un test molecolare per lo screening HPV identifica con precisione l'infezione, ricercando e tipizzando il materiale genico virale e stabilendo quale genotipo HPV abbia infettato la cervice della paziente. Alcuni sierotipi virali risultano maggiormente associati a neoplasie della cervice uterina, in primis HPV 16 e HPV 18, responsabili da soli di un 70% dei carcinomi cervicali.

### Cos'è e come funziona il test BD Onclarity™ HPV

Per il virus HPV è possibile riconoscere oltre 100 genotipi diversi, ma solo 40 infettano il tratto genitale. I 40 genotipi tipici del tratto genitale sono suddivisibili in: alto rischio, probabile alto rischio e basso rischio come descritto di seguito:

- Genotipi HPV ad alto rischio oncogeno: HPV 16, HPV 18, HPV 31, HPV33, HPV 35, HPV 39, HPV 45, HPV 51, HPV 52, HPV 56, HPV 58, HPV 59, HPV 66, HPV 68
- Gli HPV 26, 53 e 66 sono catalogati come "genotipo a probabile alto rischio"
- Gli altri genotipi HPV, in particolare il 6 e l'11 (i più diffusi), presentano un bassissimo rischio di degenerazione in tumore, sono genotipi coinvolti nella formazione di condilomi genitali.

Il test BD Onclarity™ HPV è un nuovo test che si esegue in PCR Real Time. Il test rileva simultaneamente 14 genotipi HPV, fornendo informazioni di genotipizzazione su sei genotipi individuali (HPV 16, 18, 31, 45, 51 e 52) e riportando gli otto genotipi HPV rimanenti in tre gruppi distinti (33/58, 56/59/66 e 35/39/68) come mostrato in figura 1.

Sei genotipi individuali HR HPV						Tre gruppi di genotipi HR HPV		
16	18	45	31	51	52	33,58	35,39,68	56,59,66
✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Fig.1

Il test Onclarity è il primo test clinico HPV che rileva direttamente le sequenze geniche per le proteine oncovirali E6 e E7 (geni virali precoci) allo scopo di eliminare i falsi negativi dovuti a integrazione del DNA virale in quello cellulare. La possibilità di *cross reattività* con i genotipi a basso rischio è stata azzerata durante la progettazione del test grazie agli studi effettuati in coltura con lieviti, batteri e virus e valutazione singola di ogni cross-reagente. Il test è sicuro anche rispetto a possibili interferenze da parte di molecole esogene ed endogene presenti nei campioni cervicali, poiché in fase di validazione sono stati testati contraccettivi, lubrificanti, antimicotici, detergenti, ormoni, sperma, componente cellulare ematica e sangue intero. Il test è inoltre in grado di rilevare la copresenza di più genotipi HPV in caso di coinfezione.

### Risultati del Test BD Onclarity™ HPV

Le donne che hanno una risposta di test HPV positivo sono controllate finché l'infezione non scompare. La presenza di infezioni da HPV nelle donne, specialmente le più giovani, è abbastanza frequente e non deve preoccupare. Quando il test HPV è positivo è consigliato eseguire il Pap Test, e se anche questo fosse positivo il passo successivo è un esame chiamato colposcopia. Nel caso in vece in cui il Pap Test fosse negativo, cioè non mostrasse alterazioni cellulari, la donna dovrà dopo un anno eseguire un nuovo test HPV. La maggior parte di tali infezioni regrediscono spontaneamente nell'arco dei 12 mesi, e solo le donne che dopo un anno avessero ancora il test HPV positivo per la persistenza dell'infezione dovranno sottoporsi a colposcopia. Le indicazioni riportate in questa relazione tecnica seguono le linee guida del gruppo GISCI (Gruppo Italiano Screening del Cervicocarcinoma).

Pag. 2 di 3

## Informazioni tecniche

Il saggio BD Onclarity Human Papillomavirus (HPV) è progettato per l'uso con il kit di raccolta del campione cervicale BD Onclarity HPV. Il campione subisce una fase di pre-riscaldamento per omogeneizzare la matrice, lisare le cellule e rilasciare il DNA per l'amplificazione. Dopo il raffreddamento, i campioni vengono caricati sul sistema BD Viper LT che procede all'estrazione e all'amplificazione del DNA bersaglio. Il test BD Onclarity HPV utilizza primer e sonde progettate per real time PCR. Il test rileva ad ogni corsa 14 genotipi HPV e un campione di controllo interno. Il test estrae, amplifica e rileva un frammento del gene della beta-globina umana come un controllo interno per valutare il trattamento, l'estrazione e l'amplificazione del campione e indicare la presenza degli inibitori PCR. Se il segnale specifico per HPV è superiore alla soglia di un ciclo, il controllo interno viene utilizzato dall'algoritmo nell'interpretazione del risultato. Tutti i calcoli vengono eseguiti automaticamente dal software BD Viper LT. La presenza o l'assenza di DNA HPV clinicamente rilevante è determinata dal ciclo PCR (CT) in cui il segnale supera una soglia prestabilita. Se il segnale specifico per HPV è inferiore o uguale alla soglia di un ciclo, il controllo interno viene ignorato dall'algoritmo.

## Bibliografia

1. Ejegod et al., J Med Microb Diagn 2013 (<https://www.omicsonline.org/open-access/clinical-validation-of-the-bd-onclarity-hpv-assay-using-a-noninferiority-test-2161-0703.S3-003.pdf>)
2. C.J.L.M. Meijer et al. Int J Cancer. 2009 February 1; 124(3): 516–520. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2789446/>)
3. Ronco et al. Epidemiol Prev 2012; 36 (5) suppl 2: e1-33 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23139163>)
4. Test hpv validati per lo screening del carcinoma della cervice uterina. Gisci 2017 ([http://gisci.it/documenti/documenti\\_gisci/Aggiornamento\\_test\\_HPV\\_validati\\_Rapporto\\_N.3.pdf](http://gisci.it/documenti/documenti_gisci/Aggiornamento_test_HPV_validati_Rapporto_N.3.pdf))
5. [http://www.who.int/biologicals/areas/human\\_papillomavirus/WHO\\_HP\\_V\\_LabNet/en/](http://www.who.int/biologicals/areas/human_papillomavirus/WHO_HP_V_LabNet/en/)
6. Arbyn et al., J Clin Virol. 2016 Mar;76 Suppl 1:S14-S21 ([https://www.journalofclinicalvirology.com/article/S1386-6532\(15\)00683-6/fulltext](https://www.journalofclinicalvirology.com/article/S1386-6532(15)00683-6/fulltext))
7. [https://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/pdf16/P160037a.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf16/P160037a.pdf)