

## WMDP-richtlijn "Het gebruik van moleculaire HPV testen in het BVO" in het kader van de HPV diagnostiek bij preventie van baarmoederhalskanker.

In 2007 heeft de werkgroep Moleculaire Diagnostiek in de Pathologie (WMDP) een richtlijn opgesteld "Validatie HPV-testen t.b.v. HPV-triage". De NVVP-commissie Cytologie heeft aan de hand van deze richtlijn een specifieke HPV prestatie gedestilleerd voor de toepassing van gevalideerde HPV testen in het triage traject dat was vastgelegd in de Praktijkrichtlijn BVO Cervix, versie 17 mei 2006 ([www.pathology.nl](http://www.pathology.nl)). In de WMDP-richtlijn werd behalve de voorwaarden waaraan een HPV test moet voldoen, ook omschreven wat de minimale eisen zijn waaraan een lab moet voldoen om de kwaliteit van de gebruikte HPV test te waarborgen.

Op verzoek van de NVVP-commissie Cytologie, is deze richtlijn op basis van recente ontwikkelingen aangepast waarbij in het bijzonder aangegeven wordt waaraan (nog) niet-gevalideerde HPV testen moeten voldoen om gebruikt te mogen worden als moleculaire test voor de detectie van HPV in de BVO triage.

De subcommissie HPV van de WMDP is voor het opstellen van deze aangepaste richtlijn uitgegaan van:

- a) De Nederlandse situatie voor het bevolkingsonderzoek naar baarmoederhalskanker.
- b) De literatuurgegevens tot maart 2010.
- c) De recent gepubliceerde Europese Richtlijn met voorwaarden voor HPV testen t.b.v. primaire screening voor baarmoederhalskanker in vrouwen van 30 jaar en ouder (Meijer et al. 2009a).

### **HPV detectie t.b.v. HPV-triage versus primaire screening in BVO**

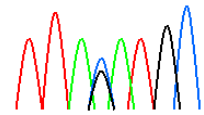
Uit onderzoek van de laatste jaren is komen vast te staan dat het testen op hoog-risico humaan papillomavirus (HPV) niet alleen van waarde is als triage middel bij vrouwen met geringe cytologische afwijkingen (Bais et al., 2005; Berkhof et al., 2006; Rebolj et al., 2007; Rijkaart et al., 2010) maar ook als primair screeningsmiddel in het bevolkingsonderzoek (BVO) naar baarmoederhalskanker. Met betrekking tot het laatste is uit verscheidene grote, gerandomiseerde trials, waaronder de Nederlandse POBASCAM trial, naar voren gekomen dat het gebruik van de HPV test leidt tot de detectie van aanzienlijk meer  $\geq$ CIN2 afwijkingen (tenminste 38% meer dan met cytologie wordt gevonden), en daardoor tot een aanzienlijke afname van CIN2/3 en cervixcarcinoom in de volgende screeningsronde (Bulk et al., 2007; Bulkman et al., 2007; Naucler et al., 2007; Ronco et al., 2010). Aangezien de HPV testvereisten niet verschillen tussen gebruik voor triage- dan wel primaire screeningsdoeleinden, gelden onderstaande HPV testrichtlijnen voor beide toepassingen.

### **Welke test te gebruiken?**

Voor triage- en screeningsdoeleinden kunnen alleen **klinisch gevalideerde HPV testen** worden gebruikt die voldoen aan testrichtlijnen. Zulke richtlijnen zijn recent door een internationaal consortium opgesteld (Meijer et al., 2009a,b). Uitgangspunt daarbij is geweest dat de diverse HPV testen nogal kunnen verschillen met betrekking tot klinische sensitiviteit/specificiteit voor CIN2/3 afwijkingen en baarmoederhalskanker ( $\geq$ CIN2,  $\geq$ CIN3). Een optimale balans tussen deze parameters is geboden om enerzijds zoveel mogelijk onnodige en overbodige follow-up procedures te voorkomen, en anderzijds een voldoende hoge sensitiviteit en negatief voorspellende waarde voor  $\geq$ CIN2/ $\geq$ CIN3 te garanderen.

De testen die dit in grote longitudinale studies hebben laten zien en als zodanig klinisch gevalideerd zijn, zijn de Hybrid Capture 2 (HC2; Qiagen; Terry et al., 2001) en de GP5+/6+-PCR-EIA (Snijders et al., 2005) testen voor hoog-risico HPV typen (Arbyn et al., 2006; Bulk et al., 2007; Ronco et al., 2006a,b; 2010; Mayrand et al., 2007; Cuzick et al., 2006). Daarnaast hebben deze testen een hoge inter- en intra-laboratorium reproduceerbaarheid laten zien (Castle et al., 2004; Carozzi et al., 2005; Jacobs et al., 1999).

*Andere kandidaat HPV testen kunnen zonder de noodzaak van grote longitudinale studies worden goedgekeurd voor triage/screeningsdoeleinden, indien volgens onderstaande specificaties is*



vastgesteld dat ze klinisch niet inferieur zijn aan de bovengenoemde klinisch gevalideerde HPV testen.

### **Aan welke eisen moet een kandidaat HPV test voldoen?**

1. De **klinische sensitiviteit voor  $\geq$ CIN2** bij vrouwen van 30 jaar of ouder is niet lager dan 90% van de klinische sensitiviteit van de hoog-risico HPV HC2 methode.

Dit garandeert een hoge negatief voorspellende waarde van de HPV test, waardoor verlenging van het screeningsinterval van testnegatieve vrouwen mogelijk is.

2. De **klinische specificiteit voor  $\geq$ CIN2** bij vrouwen van 30 jaar of ouder is niet lager dan 98% van de klinische specificiteit van de hoog-risico HPV HC2 methode.

Deze hoge drempelwaarde is gekozen om het aantal foutpositieve test uitslagen en daarmee samenhangende overbodige follow-up en onnodige angst, bezorgdheid en stigmatisering te beperken.

3. De **intra-laboratorium reproduceerbaarheid en inter-laboratorium overeenkomst** zij niet lager dan 87%.

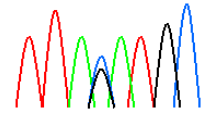
Dit verzekert een robuuste en betrouwbare uitvoering van de test in de screening/klinische praktijk.

Om vast te stellen of kandidaat HPV testen voldoen aan bovenstaande criteria dient ten minste het volgende validatie traject te zijn doorlopen.

1. Een relatieve sensitiviteit voor  $\geq$ CIN2 van tenminste 90% ten opzichte van de hoog-risico HPV HC2 test moet zijn vastgesteld met behulp van een 'non-inferiority' score test (Tang et al., 2003; Meijer et al., 2009a). Hiervoor dienen tenminste 60 uitstrijkjes (power: 80%) van een representatieve groep vrouwen uit het BVO met een  $\geq$ CIN2 laesie te worden geanalyseerd met de kandidaat test. Deze uitstrijkjes moeten zijn getest met HC2 en cytologie. Aangezien tenminste ongeveer 38% van de door de HPV test detecteerbare  $\geq$ CIN2 laesies door cytologie worden gemist, moet het representatieve karakter van deze groep blijken uit het feit dat van deze 60 uitstrijkjes er tenminste 17 cytologisch normaal zijn.
2. Een relatieve specificiteit voor  $\geq$ CIN2 van tenminste 98% ten opzichte van de hoog-risico HPV HC2 test moet zijn vastgesteld met behulp van een non-inferiority test. Hiervoor dienen uitstrijkjes van een representatieve groep vrouwen uit het BVO waarbij *geen*  $\geq$ CIN2 laesie is gediagnosticeerd, te worden geanalyseerd met de kandidaat test. De uitstrijkjes van deze vrouwen moeten ook zijn getest met HC2 én zijn bij voorkeur cytomorfologisch normaal. Om een power van 80% te verkrijgen onder de veronderstelling dat de kandidaat test en referentie test een gelijkwaardige specificiteit hebben en een goede overeenkomst laten zien (kappa waarde van tenminste 0,7), is het noodzakelijk om 800 uitstrijkjes te testen voor deze 'non-inferiority' analyse.
3. De intra-laboratorium reproduceerbaarheid in de tijd en inter-laboratorium overeenkomst moeten worden vastgesteld door tenminste 500 uitstrijkjes te evalueren, waarvan er in de HPV test 30% positief zijn bevonden in een referentie laboratorium met een klinisch gevalideerde test. Dit moet resulteren in een overeenkomst waarvan de ondergrens van het betrouwbaarheidsinterval niet lager is dan 87% (kappa waarde van tenminste 0,5). Voor de analyse van de intra-laboratorium reproduceerbaarheid dienen de monsters tweemaal te worden getest met een tussenpoos van enkele weken.

Alle hierboven genoemde uitstrijkjes kunnen prospectief worden verkregen uit nieuwe studies waarbij alle vrouwen worden getest met HC2. Tevens kunnen ook goed gepreserveerde, opeenvolgende uitstrijkmonsters uit biobanken van eerder uitgevoerde studies worden gebruikt, vooropgesteld dat ze kwalitatief voldoende adequaat zijn om de kandidaat HPV test uit te voeren (Arbyn et al., 2008).

Momenteel worden volgens de bovenstaande criteria in Nederland alleen de Hybrid Capture 2 en de GP5+/6+-PCR-EIA formeel als **klinisch gevalideerde** HPV testen beschouwd. Alle (nieuwe) klinisch gevalideerde HPV testen ten behoeve van de HPV-detectie in het BVO zullen op de website van de NVVP-commissie Cytologie worden gepubliceerd. Alvorens een nieuwe HPV test (die niet in deze lijst voorkomt) geïmplementeerd kan worden, dienen specificaties en/of literatuurgegevens van de betreffende HPV test, waaruit blijkt dat deze test voldoet aan de testrichtlijnen, ter goedkeuring als **klinisch gevalideerde** HPV test te worden voorgelegd aan de NVVP-commissie Cytologie.



### **Hoe wordt een juiste toepassing van een HPV test voor triage doeleinden getoetst?**

Om het juiste gebruik van de (klinisch-gevalideerde) HPV test t.b.v. HPV-detectie in kader van HPV-triage te toetsen en daarmee de kwaliteitscontrole te waarborgen, dient de uitvoering van de HPV test aan de volgende criteria te voldoen:

**Interne monitoring.** Het advies voor het gebruik van HPV triage, zoals dat is vastgelegd in de praktijkrichtlijnen betreft een negatieve triage op basis van een aanvullend HPV testresultaat op het uitstrijkje afgenomen na 6 maanden, waarbij vrouwen met Pap2/3a1 op t=0, die na 6 maanden zowel cytologisch als HPV negatief zijn, worden terugverwezen naar de volgende screeningsronde. Bij een Pap2/3a1 prevalentie van 1,5% of hoger zal bij het gebruik van een klinisch gevalideerde HPV test grofweg 82-86% van de cytologisch normale uitstrijkjes na 6 maanden HPV negatief zijn (Bulk et al., 2007). Dit betekent dat, bij inachtneming van een 99% betrouwbaarheidsinterval, er na het testen van minimaal 100 normale 6-maands uitstrijkjes van vrouwen met Pap2/3a1 op t=0, er tenminste 70% HPV negatief moeten zijn wanneer een gevalideerde HPV test kwalitatief afdoende wordt uitgevoerd. De NVVP-commissie Cytologie heeft een formulier opgesteld om deze interne monitoring te documenteren (formulier is te downloaden op [www.pathology.nl](http://www.pathology.nl)). Het ingevulde formulier dient ieder jaar te worden opgestuurd naar uw RCP vóór 1 oktober of eerder indien u de 100, telling beginnend vanaf 1 januari, heeft bereikt.

**Externe validatie.** Voor de externe validatie is deelname aan de landelijke QC-rondzendingen verplicht. Deze QC-rondzendingen worden jaarlijks vastgesteld en gecoördineerd door de QC-commissie van de WMDP, en aangeboden via de SKML en/of WMDP. Bij het gebruik van een klinisch gevalideerde HPV test in de diagnostiek dient succesvol geparticipeerd te worden in een dergelijke rondzending. Deelnemende laboratoria dienen de resultaten van elke QC-rondzending in het jaarverslag van hun afdeling te publiceren.

De resultaten van de externe validatie en de interne monitoring dienen beschikbaar te zijn voor eventuele inzage door bijvoorbeeld de RCP van het BVO, visitatiecommissie en/of auditors voor accreditatiedoelinden.

Subcommissie HPV van de WMDP,

Prof. dr. P.J.F. Snijders, dr. E. Thunnissen, dr. E. Schuurung

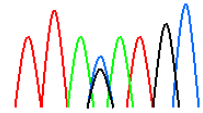
Namens de Werkgroep "Moleculaire Diagnostiek in de Pathologie"

Correspondentie: Ed Schuurung  
Email: [info@moleculaire-pathologie.nl](mailto:info@moleculaire-pathologie.nl)  
Tel 050 36 19623 (bgg 14684)  
[www.moleculaire-pathologie.nl](http://www.moleculaire-pathologie.nl)

*Deze versie is ook door het bestuur van de werkgroep "Moleculaire Diagnostiek in de Pathologie" geaccordeerd op 6 april 2010.*

Deze versie is geaccordeerd en onderschreven door de NVVP in de commissie Cytologie (d.d. 22 juni 2010). De volgende opmerkingen zijn specifiek door de commissie Cytologie toegevoegd:

- In geval een validatie onder auspiciën door de WMDP met succes is doorlopen, wordt de NVVP commissie Cytologie verwittigd, die vervolgens de validatie op de website plaatst als "gevalideerde HPV tests voor triage gebruik".
- De spiegelindicator van hrHPV voor triagegebruik (conform de richtlijn cervixcytologie) dient jaarlijks aan de RCP te worden gezonden.
- De RCP zien erop toe dat laboratoria de hrHPV validatierichtlijn volgen en dat de spiegelgegevens jaarlijks worden aangeleverd.



## Literatuur

Arbyn M, Anttila A, Jordan J, Ronco G, Schenck U, Segnan N, Wiener H, Daniel J, von Karsa L, editors. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. 2nd ed. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2008. pp. 1-291.

Arbyn M, Sasieni P, Meijer CJ, Clavel C, Koliopoulos G, Dillner J. Chapter 9: Clinical applications of HPV testing: A summary of meta-analyses. *Vaccine* 2006;24 Suppl 3:S78-S89.

Bais AG, Rebolj M, Snijders PJ, de Schipper FA, van der Meulen DA, Verheijen RH, Voorhorst F, van Ballegooijen M, Meijer CJ, Helmerhorst TJ. Triage using HPV-testing in persistent borderline and mildly dyskaryotic smears: proposal for new guidelines. *Int J Cancer*. 2005 Aug 10;116(1):122-9.

Berkhof J, de Bruijne MC, Zielinski GD, Bulkman NW, Rozendaal L, Snijders PJ, Verheijen RH, Meijer CJ. Evaluation of cervical screening strategies with adjunct high-risk human papillomavirus testing for women with borderline or mild dyskaryosis. *Int J Cancer*. 2006 Apr 1;118(7):1759-68.

Bulk S, Bulkman NW, Berkhof J, Rozendaal L, AJ PB, Verheijen RH, Snijders PJ, Meijer CJ. Risk of high-grade cervical intra-epithelial neoplasia based on cytology and high-risk HPV testing at baseline and at 6-months. *Int.J.Cancer* 2007;121:361-7.

Bulkman N, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade F, Boeke A, Bulk S, Voorhorst F, Verheijen R, van Groningen K, Boon M, Ruitinga W, van Ballegooijen M et al. Human papillomavirus DNA testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial. *Lancet* 2007;370(9601):1764-72.

Carozzi FM, Del Mistro A, Confortini M, Sani C, Puliti D, Trevisan R, De Marco L, Tos AG, Girlando S, Palma PD, Pellegrini A, Schiboni ML, et al. Reproducibility of HPV DNA Testing by Hybrid Capture 2 in a Screening Setting. *Am J Clin Pathol* 2005;124:716-21.

Castle PE, Wheeler CM, Solomon D, Schiffman M, Peyton CL, ALTS Group. Interlaboratory reliability of Hybrid Capture 2. *Am J Clin Pathol* 2004;122:238-45.

Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, Szarewski A, Birembaut P, Kulasingam S, Sasieni P, Iftner T (2006) Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 119:1095-1101.

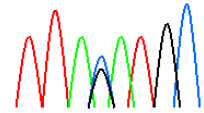
Dillner L, Dillner J. International quality assurance of human papillomavirus testing. *Cent Eur J Public Health* 2008;16: S18-S20.

Jacobs MV, Snijders PJ, Voorhorst FJ, Dillner J, Forslund O, Johansson B, von Knebel Doberitz M, Meijer CJ, Meyer T, Nindl I, Pfister H, Stockfleth E, et al. Reliable high risk HPV DNA testing by polymerase chain reaction: an intermethod and intramethod comparison. *J Clin Pathol* 1999;52:498-503.

Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A, Ratnam S, Coutlée F, Franco EL. Canadian Cervical cancer Screening Trial Study Group. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med*. 2007;357:1579-88.

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* 2009a;124(3):516-20.

Meijer CJ, Berkhof H, Heideman DA, Hesselink AT, Snijders PJ. Validation of high-risk HPV tests for primary cervical screening. *J Clin Virol* 2009b; 46,S1-S4.



Richtlijn "Gebruik moleculaire HPV testen in het BVO  
Advies van de WMDP (d.d. 22 juni 2010)

Naucler P, Ryd W, Tornberg S, Strand A, Wadell G, Elfgren K, Radberg T, Strander B, Forslund O, Hansson BG, Rylander E, Dillner J. Human papillomavirus and Papanicolaou tests to screen for cervical cancer. *N.Engl.J.Med.* 2007;357(16):1589-97.

Quint WG, Pagliusi SR, Lelie N, De Villiers E-M, Wheeler CM. WHO Human Papillomavirus DNA International Collaborative Study Group. Results of the first world health organization international collaborative study of detection of human papillomavirus DNA. *J Clin Microbiol* 2006;44: 571-9.

Rebolj M, Bais AG, van Ballegooijen M, Boer R, Meerding WJ, Helmerhorst TJ, Habbema JD. Human papillomavirus triage of women with persistent borderline or mildly dyskaryotic smears: Comparison of costs and side effects of three alternative strategies. *Int J Cancer.* 2007 Oct 1;121(7):1529-35.

Rijkaart DC, Berkhof J, van Kemenade FJ, Rozendaal L, Verheijen RH, Bulk S, Herreilers ME, Verweij WM, Snijders PJ, Meijer CJ. Comparison of HPV and cytology triage algorithms for women with borderline or mild dyskaryosis in population-based cervical screening (VUSA-screen study). *Int J Cancer* 2010 May 1;126(9):2175-81.

Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Confortini M, Palma PD, Del Mistro A, Ghiringhello B, Girlando S, Gillio-Tos A, De Marco L, Naldoni C, Pierotti P, Rizzolo R, Schincaglia P, Zorzi M, Zappa M, Segnan N, Cuzick J; the New Technologies for Cervical Cancer screening (NTCC) Working Group. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2010 Mar;11(3):249-257.

Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Dalla Palma P, Del Mistro A, De Marco L, de Lillo M, Naldoni C, Pierotti P, Rizzolo R, Segnan N, Schincaglia, et al. New Technologies for Cervical Cancer Working Group. Human papillomavirus testing and liquid-based cytology in primary screening of women younger than 35 years: results at recruitment for a randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2006a;7:547-55.

Ronco G, Segnan N, Giorgi-Rossi P, Zappa M, Casadei GP, Carozzi F, Dalla Palma P, Del Mistro A, Folicaldi S, Gillio-Tos, A, Nardo G, Naldoni C, et al. New Technologies for Cervical Cancer Working Group. Human Papillomavirus testing and liquid-based cytology: results at recruitment from the New Technologies for Cervical Cancer randomized controlled trial. *J Natl. Cancer Inst* 2006b;98:765-74.

Snijders PJF, Van den Brule AJC, Jacobs MV, Pol RP, Meijer CJLM (2005) HPV DNA detection and typing in cervical scrapes by general primer GP5+/6+ PCR. In: Davy CE, Doorbar J (Eds.). *Methods in Molecular Medicine; Human papillomaviruses-methods and protocols.* Humana Press (Totowa, USA), volume 119, chapter 9, pp. 101-114.

Tang NS, Tang ML, Chan IS. On tests of equivalence via non-unity relative risk for matched-pair design. *Stat Med* 2003; 22:1217-33.

Terry G, Ho L, Londesborough P, Cuzick J, Mielzynska-Lohnas I, Lorincz A (2001) Detection of high-risk HPV types by the hybrid capture 2 test. *J Med Virol* 65:155-162.