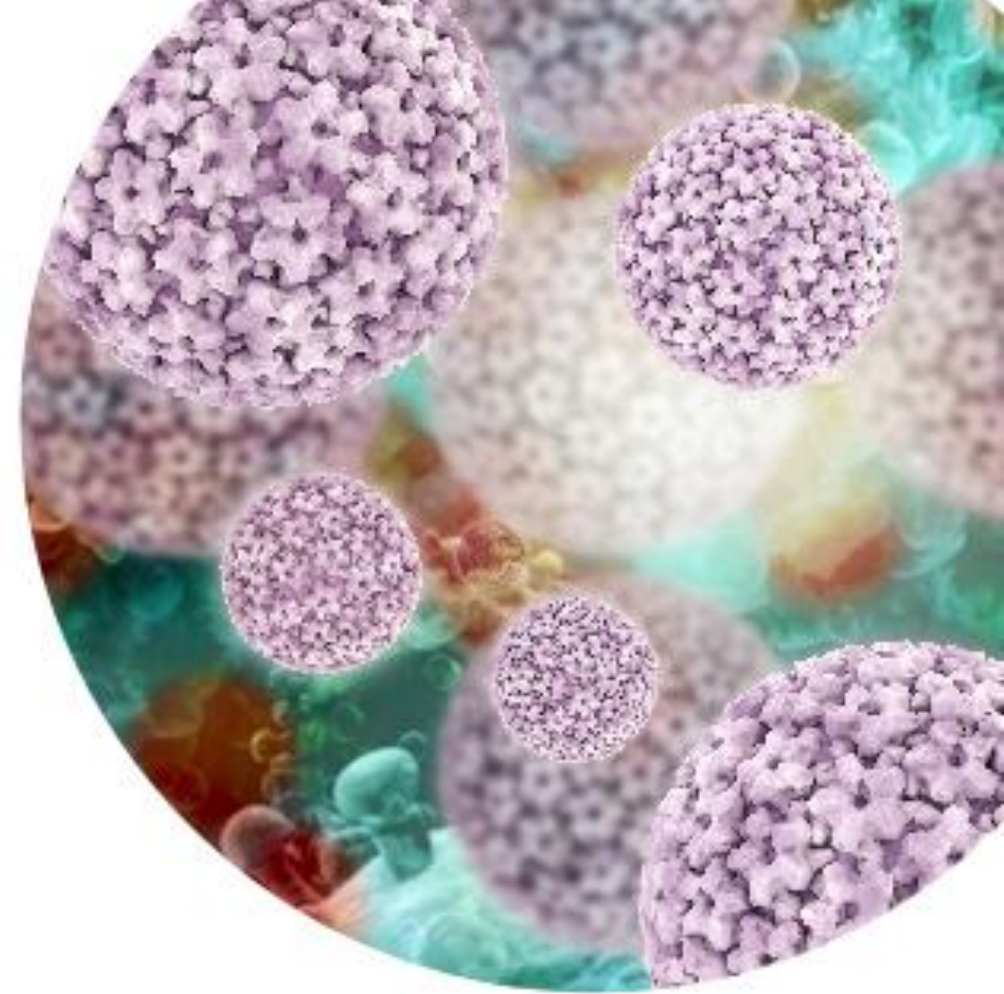
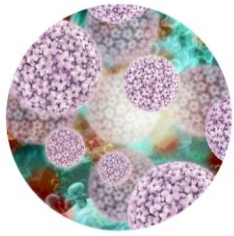


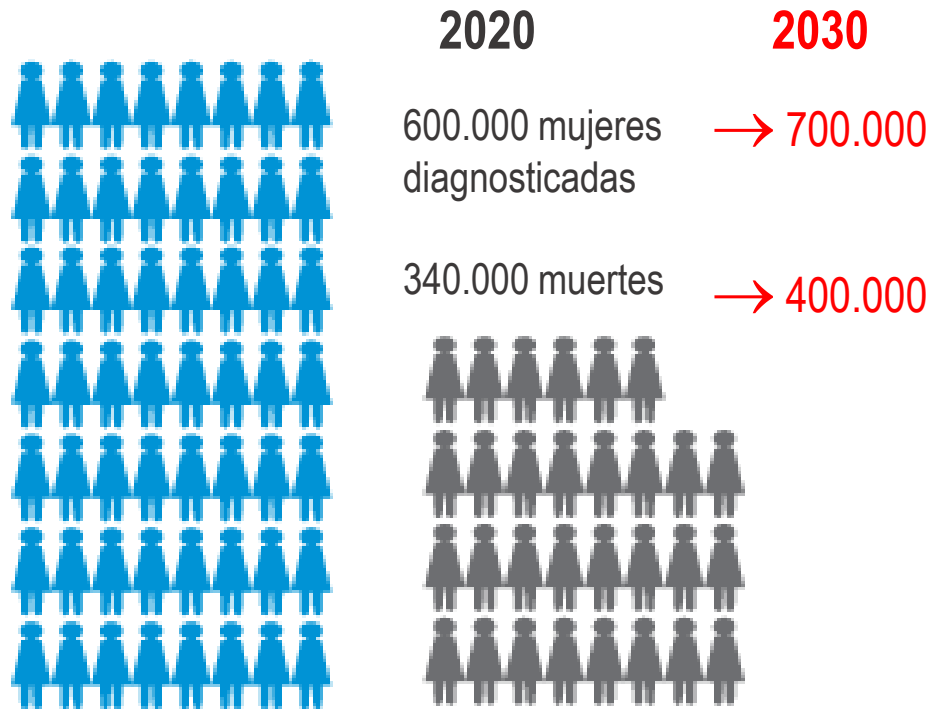
Determinación de HPV: Metodologías





Cáncer de cérvix: Estado actual

A escala mundial, el cáncer de cuello de útero es el cuarto tipo más frecuente entre las mujeres

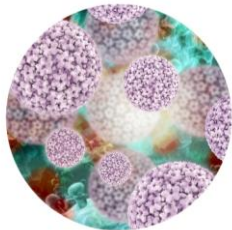


Globocan, 2020



El 85% de todas las muertes relacionadas con el cáncer de cuello de útero se producen en países de ingresos bajos y medios, donde es la principal causa de muerte por cáncer entre las mujeres.

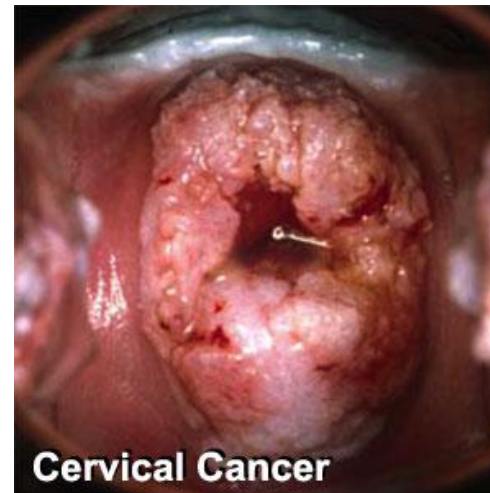




Diversidad de tipos HPV genitales

✓ Tipos HPV oncogénicos de **“Alto riesgo”**
16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56,
58, 59, 66 y 68,

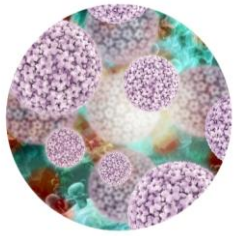
- Se han detectado en displasias epiteliales severas y carcinomas



✓ Tipos HPV de **“Bajo riesgo”**
6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72,
81 y 89,

- Papilomas benignos
- Condilomas genitales



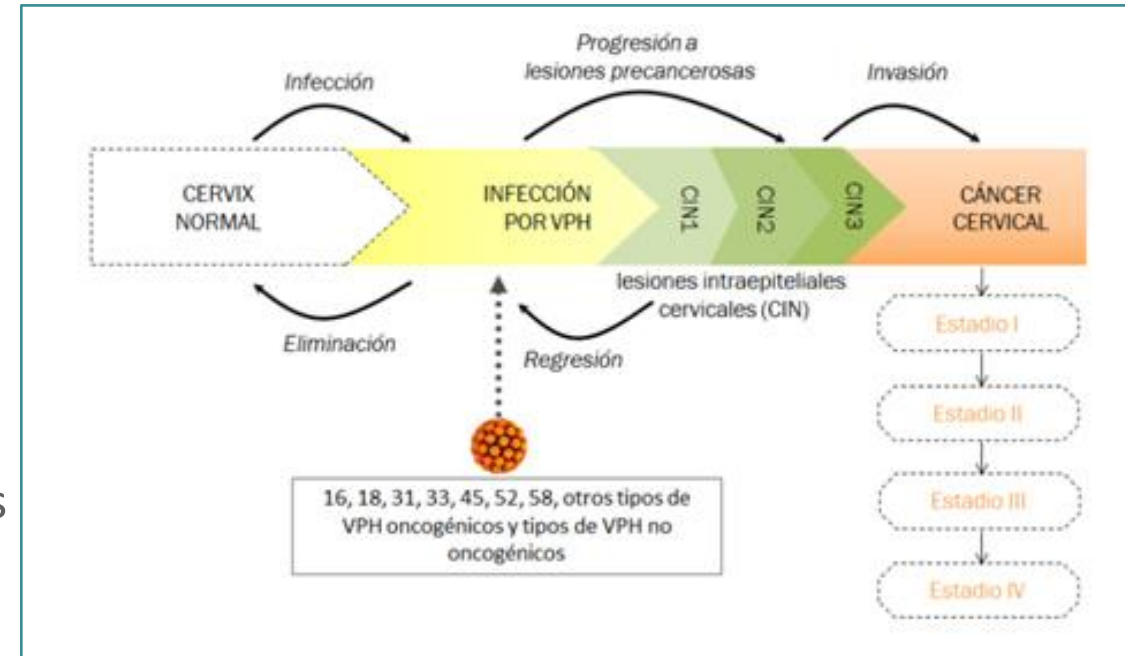


Importancia clínica del virus HPV en cáncer de cérvix

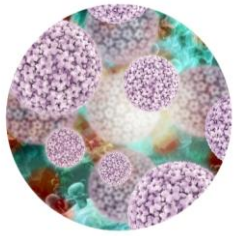
➤ El ADN de **HPV se encuentra en 90-99%** de los carcinomas de cervix

➤ La **progresión a cáncer** de cérvix se produce en un período de **10 a 20 años** desde la infección por HPV.

➤ Es imprescindible la **persistencia de infección** por tipos **HPV de alto riesgo oncogénico** para el desarrollo de lesiones intraepiteliales de alto grado y cáncer invasivo.



➤ La infección por HPV se considera **causa necesaria, pero no suficiente** para el desarrollo de cáncer cervical.

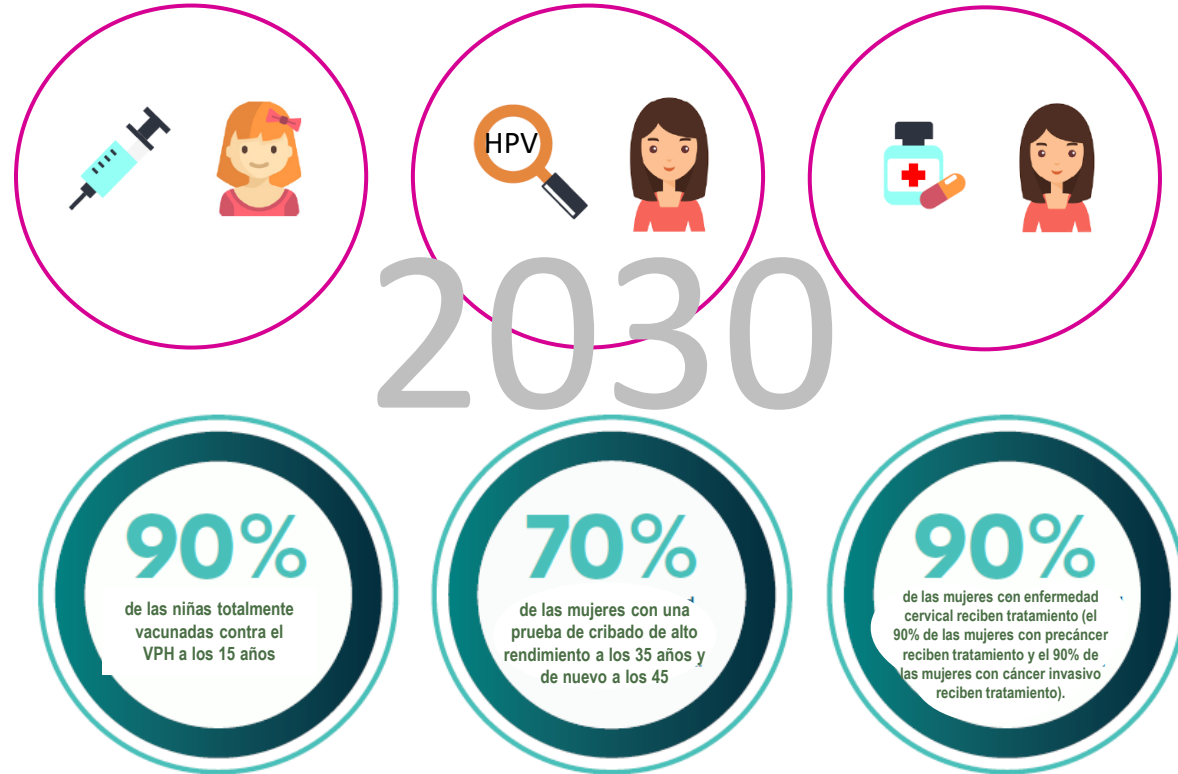


Cáncer de Cérvix: Eliminación

Estrategia mundial para acelerar la eliminación del cáncer de cuello de útero como problema de salud pública

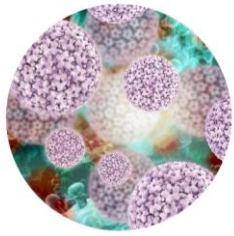


© Organización Mundial de la Salud 2020 <https://www.who.int/publications/i/item/9789240014107>



2020. La tasa de **incidencia del cáncer de cuello uterino** disminuirá un **42% para 2045** y un **97% para 2120**;

- Evitar más de **74 millones de nuevos casos de cáncer de cuello uterino**



Cáncer de Cérvix: Recomendación auto-toma



 World Health Organization

 human reproduction programme
research for impact
UNDP · UNFPA · UNICEF · WHO · WORLD BANK

Recomendaciones de la OMS sobre autodiagnóstico

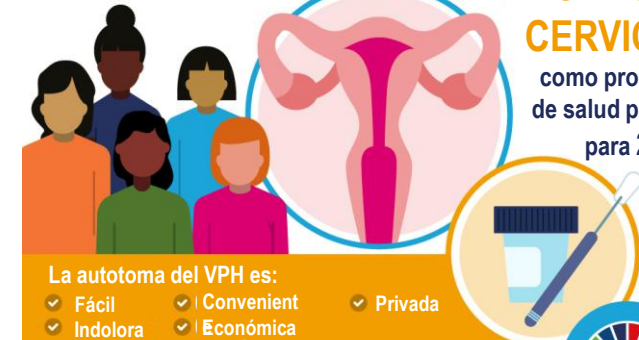
Autotoma del virus del papiloma humano (VPH) como parte del cribado del cáncer de cuello uterino



LA AUTOTOMA DEL VPH MEJORA EL CRIBADO DEL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO

El cáncer es el 4º cáncer más frecuente en las mujeres

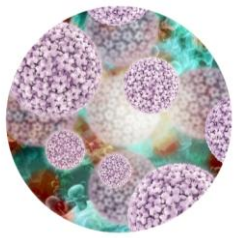
Esto puede contribuir a **ELIMINAR EL CÁNCER CERVICAL** como problema de salud pública para 2030.



Infografía del cáncer cervical <https://www.who.int/reproductivehealth/publications/self-care-infographics/en/>

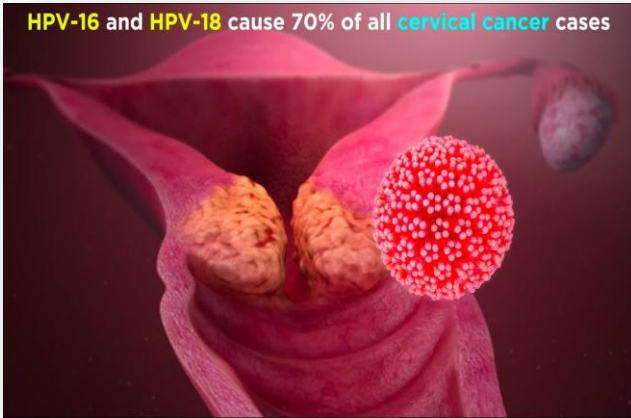


La OMS recomienda que en los servicios de cribado del cáncer cervicouterino se disponga de la autotoma del VPH como método adicional de muestreo para las mujeres de 30 a 60 años de edad.



Cáncer de Cérvix: Genotipado HPV

RIESGO ESPECÍFICO DE DISTINTOS GENOTIPOS DE VPH PARA EL CÁNCER

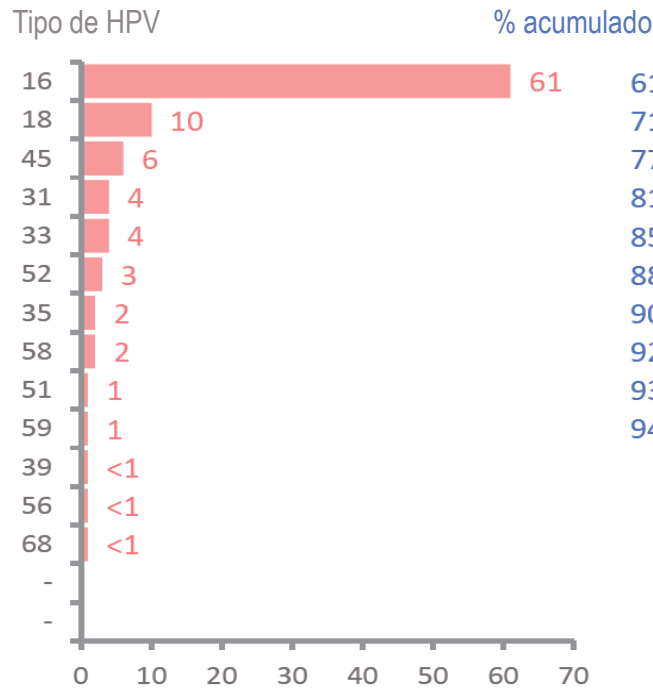


Riesgo de CCU asociado a genotipos específicos

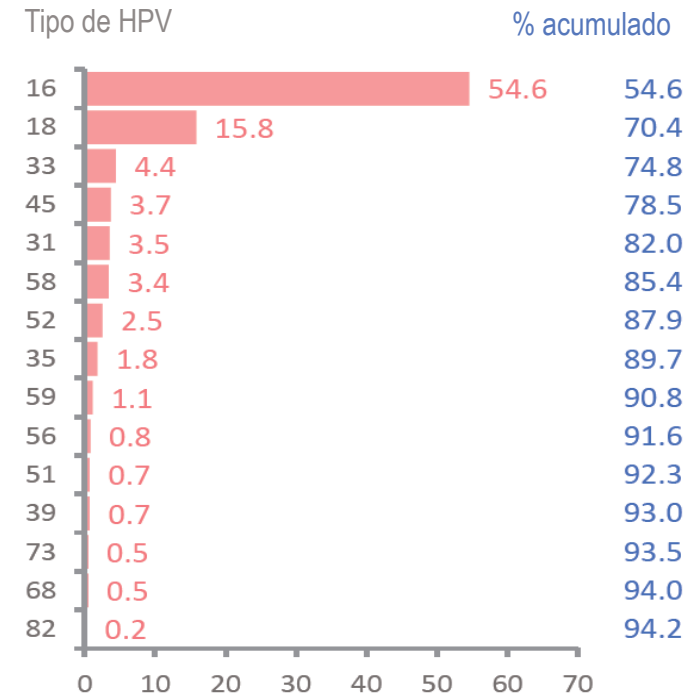
HPV 16 y 18, mayor capacidad de persistencia y progresión

Progresión de lesiones intraepiteliales asociadas a la persistencia de una infección por HPV-AR

A) Estudio mundial de 8.977 casos

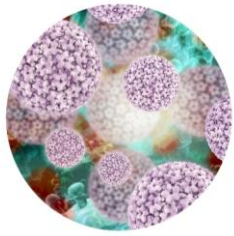


B) Meta-análisis de 14.000 casos



J Cuzick et al. (November 2021). HPV genotype-specific risk for cervical cancer.

Adaptado con permiso de (A) de Sanjose S et al. Encuesta internacional retrospectiva y Grupo de estudio de las tendencias del HPV. Atribución del genotipo del virus del papiloma humano en el cáncer cervicouterino invasivo: un estudio mundial transversal retrospectivo. Lancet Oncol. 2010 Nov;11(11):1048-56 y (B) Combes JD et al. Valoración de la carcinogenicidad de tipos raros del virus del papiloma humano. Int J Cancer. 2015 Feb 1; 136(3): 740-2



Listado de Kits HPV validados como test primario para cribado de cáncer de cérvix



1. Hybrid Capture 2 HPV DNA test (Qiagen)
2. GP5+/6+ PCR EIA (Diassay, The Netherlands)
3. Abbott RealTime High Risk HPV Test *** (Abbott Molecular)
4. Anyplex II HPV HR Detection (Seegene)
5. BD Onclarity HPV Assay* (BD Diagnostics)
6. Cobas 4800 HPV Test* (Roche Diagnostics)
7. HPV-Risk Assay (Self-Screen BV, Amsterdam)
8. PapilloCheck HPV-Screening Test (Greiner Bio-One)
9. Xpert HPV *** (Cepheid)
10. Alinity m HR HPV Assay (Abbott Molecular)
11. Cobas 6800/8800 HPV Test*/*** (Roche Diagnostics)
12. APTIMA HPV Assay** (Hologic)
13. NB Care HPV*** (Prequalified but not formally validated according to Meijer and/or Valgent)

**Aprobado por FDA como test primario HPV*
*** Aprobado por FDA en co-test con citología*
**** Precualificación WHO para IVD*

Nuevos test validados:

2022:

CLART 4S (Genomica)

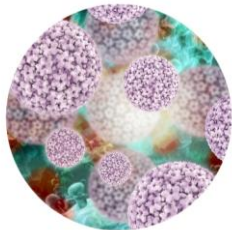
NeumoDx (Qiagen)

OncoPredict (GeneFirst, UK)

2024:

Allplex (Seegene)

Vitro HPV Screening (Vitro)



Recomendaciones de un test HPV para su uso en cribado de cáncer de cérvix



Para el test:

- Incluir los 12 genotipos de HPV clasificados como de alto riesgo oncogénico (IARC grupo I)
- No incluir más de 13-14 genotipos en total,
- No incluir genotipos adicionales de alto/moderado riesgo que le restarían especificidad
- No incluir genotipos de bajo riesgo
- Estar clínicamente validado vs un test comparador de referencia
- Incluir un control interno de celularidad
- Incluir un control positivo/negativo
- Estar aprobado IVD por Organismos notificados reconocidos (ej. FDA, CE, WHO..)

Para el laboratorio:

- Infraestructura para trabajar con técnicas de PCR (evitar contaminaciones)
- Participar de manera regular en programas de calidad externos
- Monitorizar los procesos
- Disponer de Sistemas de Gestión QC/QA

**EUROGIN 2024
MARCH 13-16
STOCKHOLM, SWEDEN**

**New guidelines for HPV test validation
and current list of validated HPV tests**

M. Arbyn¹
(1) Unit of Cancer Epidemiology, Belgian Cancer Centre, Sciensano, Brussels, Belgium

Risk of cancer varies strongly across HPV types (IARC handbook)

Carcinogenic HPV type	% of Cervical Cancers	9-year risk of progression to CIN3+ of incident HPV infection	Risk Group
16	60.3	6.3	16
18	10.5	3.0	18/45
45	6.1	2.2	18/45
33	3.7	4.5	16-related
31	3.6	2.2	16-related
52	2.7	2.2	16-related
58	2.2	1.9	16-related
35	2.0	2.8	16-related
39	1.6	1.1	Lower risk
51	1.2	1.1	Lower risk
59	1.1	0.9	Lower risk
56	0.9	0.8	Lower risk
68	0.6	1.0	Lower risk

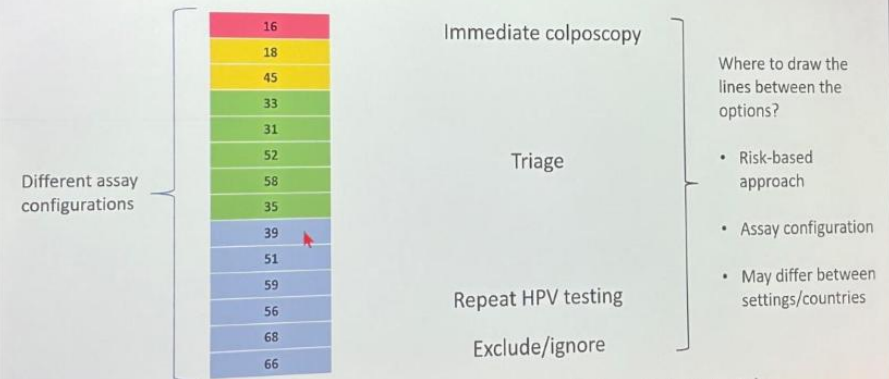
• Based on 10s of thousands of cancers around the world

Demarco 2010 EJClinicalMed
De Sanjose 2018 JNCI CS
Bouvard NEJM 2021

Update validation guidelines: Tasks

- Criteria for validation of HPV tests on **self-samples**.
- Specifications regarding **storage/transport media**.
- Requirements for HPV genotyping tests (**limited**, for instance HPV16 & 18; **extended**, for instance 5 most carcinogenic types and groups of other hr types; **full** genotyping with separate identification of all genotypes; genotyping beyond the group of hrHPV types).
- Assessment of **sample adequacy** (for instance amplifiability of human genes).
- Viral load** measurement (quantified or semi-quantified signal), flexibility of **test cut-off**.
- Principles for **grading the level of evidence** for test validation.

Extended genotyping expands options for management



- US guidelines are in development that follow this principle
- Will present examples in other Eurogin talks

Second generation comparator tests - Discussion point I HPV66

Future HPV tests used in primary cervical cancer screening should not target HPV66.

In 2005, HPV66 was classified by IARC as carcinogenic and therefore included in many HPV commercial assays.

After additional evidence became available, HPV66 was downgraded to possibly carcinogenic (IARC class IIB) in 2009.

In 2022, HPV66 was further downgraded to not attributable to cancer based on growing understanding from updated meta-analyses.

Second generation comparator tests - Discussion point II HPV68

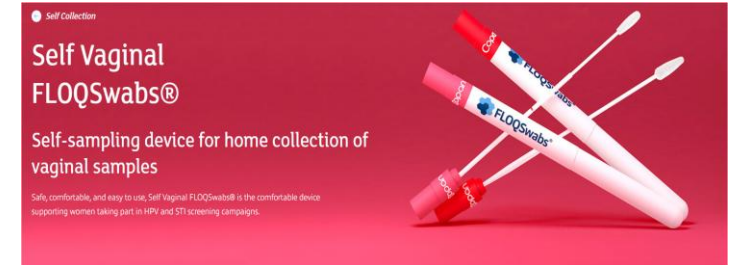
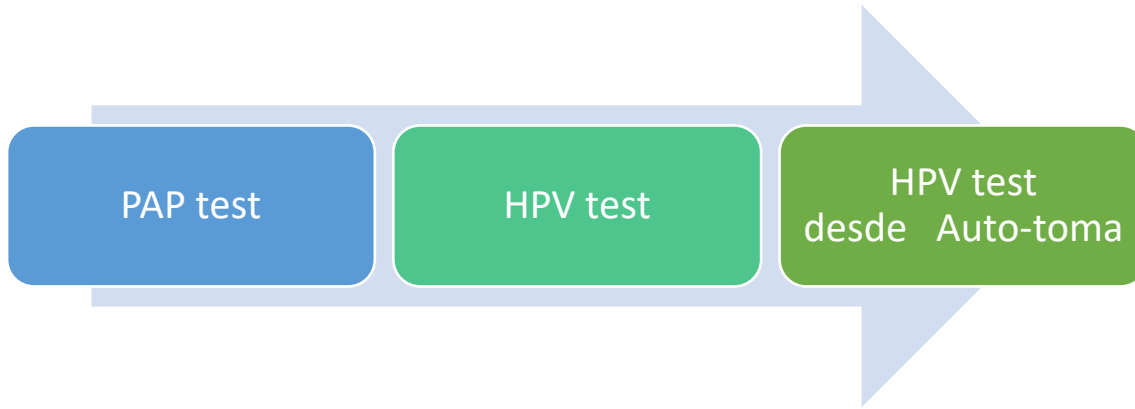
HPV68 was in Volume 100B of the IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans classified as probably carcinogenic (IARC class IIA) because of mechanistic evidence though there was limited epidemiologic evidence.

Among the four HPV tests candidates for second generation comparator tests, only one (Anyplex) can identify the 12 class I carcinogenic types separately without HPV66 and HPV68 because this assay has full genotyping capacity which means that it individually reports all targeted genotypes.

The other three second generation comparator assay candidates have partial or extended genotyping capacity and cannot report individually neither HPV66 nor HPV68.



Cribado de Cáncer de Cérvix con auto-toma en España



Escenarios de auto-toma para cribado poblacional en España

- Torunda seca FLOQSwab Copan (Cataluña, Valencia, Navarra....)
- Evalyn Brush- (Galicia)
- Torunda seca Deltalab (Validada por la AEMPS)
- Velo+ tubo con medio transporte Vitro (Validada)



TEST HPV Screening
(+ genotipado extendido)
(AP/ Micro)

Cribado
(poblacional/oportunista)

Prueba VPH positiva

Citología "réflex"

Negativa

ASC-US/LSIL

ASC-H/HSIL/AIS

NO genotipado
(HPV16/18)

VPH no 16/18

VPH 16/18

NO genotipado
(HPV16/18)

Cribado previo:
VPH (+)

Cribado previo:
Desconocido
o VPH (-)

Persistencia
mismo
genotipo

Cribado previo:
Desconocido
o VPH (+)

Cribado previo:
VPH o Co-test (-)

Colposcopia

VPH (1 año)

Co-test (1 año)

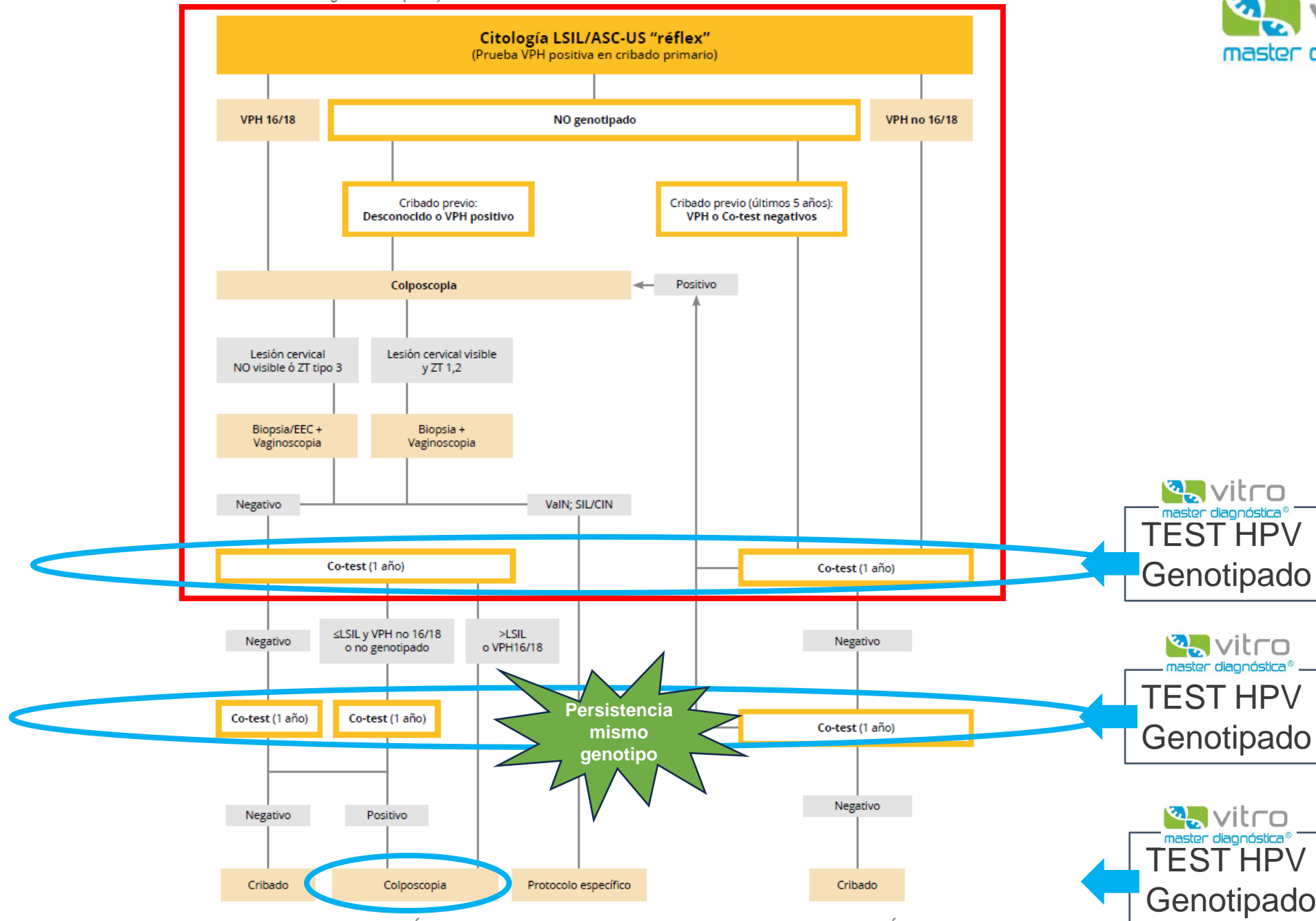
Colposcopia

Co-test (1 año)

Colposcopia

Anat.
Patol.

**TEST HPV
Genotipado**





Solución única HPV 360 para cribado poblacional de **Cáncer de Cérvix**



2. Robots **VictoriaV96**

Muestra primaria, extracción de ADN y preparación de la placa de PCR

3. **VitroCycler**

Screening 14 HPV AR (PCR Real Time)



4. HS12 PCR auto HS24 PCR auto

genotipado de HPV (Hibridación reversa)



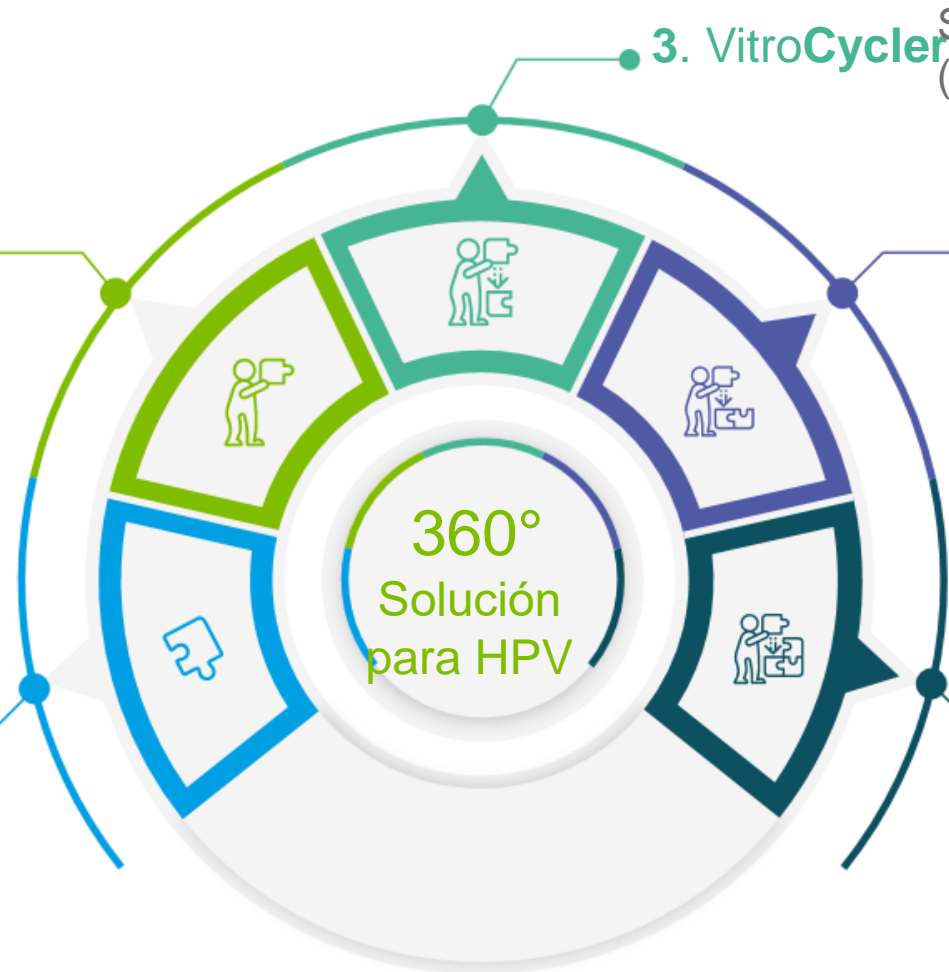
1. **Muestra primaria**

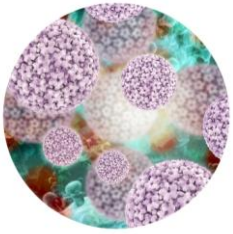
Citología convencional, LBC
Dispositivo de auto-toma vaginal



5. **OVTS**

Manejo de muestras, trazabilidad, análisis, informe y conexión al LIS





2. Robot VICTORIA V96*

Automatización Preanalítica y procesamiento de muestras

✓ Componentes:

- Destaponado: **4 brazos destaponadores**
- Lector CB: **Trazabilidad desde muestra primaria**
- Extracción NA (**8 cabezales de puntas**)
- Preparación placa PCR

✓ **Compatibles** con **diferentes tipos de tubos** primarios (LBC, torunda seca, torunda con medio de transporte....)

✓ **Reactivos de extracción propios** de Vitro

✓ **Tiempo total para procesar 96 muestras: 90 min**





3. Vitro HPV Screening Kit

Detección simultánea de 14 genotipos HPV de alto riesgo oncogénico

Alto riesgo:

HPV 16

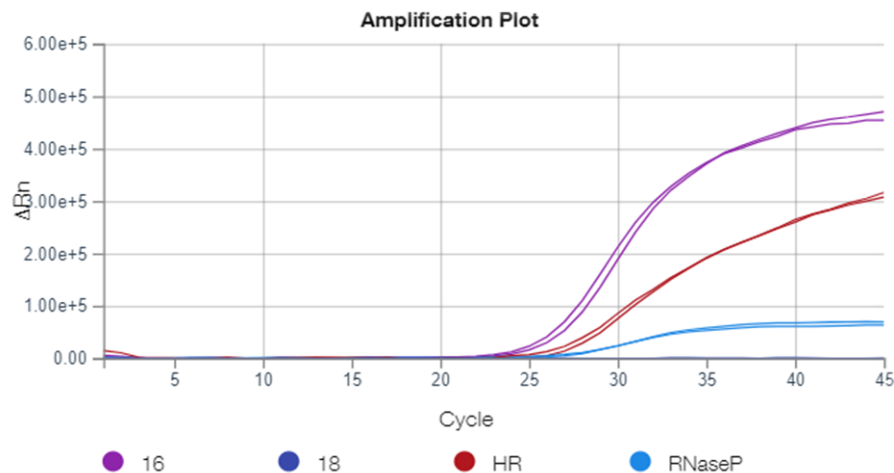
HPV 18

Pool 12 HPV AR: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, y 68



Genotipado Extendido dentro del mismo flujo de trabajo

- ✓ Validado como test primario para cribado de cáncer de cérvix según Guías internacionales (Bellosillo et al, 2023)
- ✓ Validado con el programa de Calidad HPV Labnet de la OMS
- ✓ Marcado CE- IVDR



*En el mercado desde 2021



4. HPV Direct Flow Chip Kit

Genotipado individualizado de 35 tipos de VPH



Alto riesgo: 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82



Bajo-riesgo: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 61, 62, 67, 69, 70, 71, 72, 81, 84



✓ Validado con el **panel del Programa HPV Labnet** de la **OMS**

✓ Amplificación de la **región viral L1** (GP5+/6+)

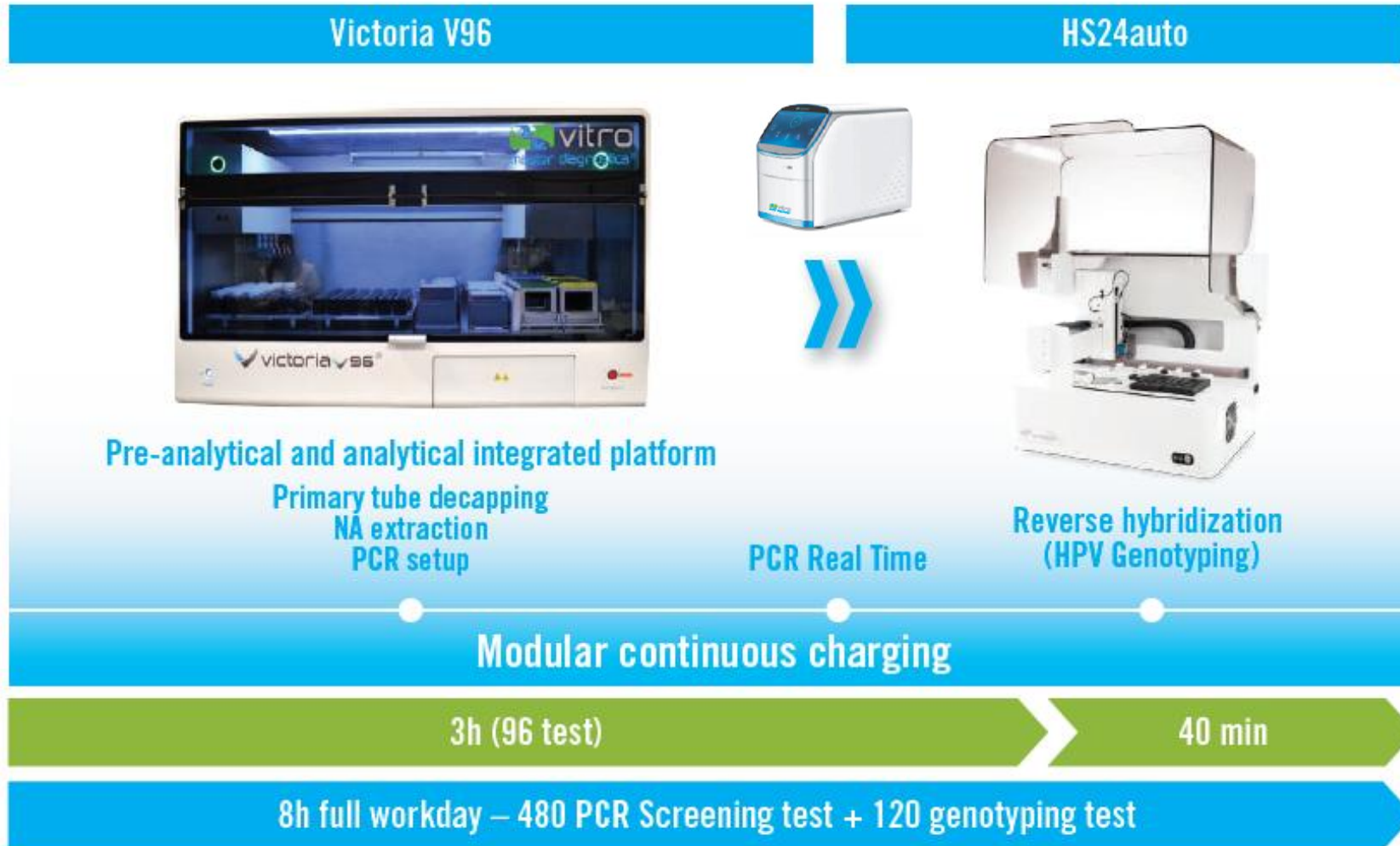
✓ **Utiliza el producto de PCR del test de Screening HPV**

✓ **Genotipa de manera individual los 12 HR y detecta posibles coinfecciones con genotipos de bajo riesgo!!**

B	33	58	42	71	16	52	B	
B	35	59	43	72	18	53	69	
C	39	66	44/55	CP61 08	26	56	11	70
U	45	68	54	84	31	58	40	71
16	51	73	61	B	33	59	44/55	72
18	52	82	62/81	C	35	66	54	CP61 08
26	53	6	67	U	39	68	61	84
31	56	11	69	42	45	73	62/81	
B	40	70	43	51	82	67		



Solución única HPV 360 para cribado poblacional de **Cáncer de Cérvix**



Plataforma Modular de Alta Productividad

*"Todo viajero curioso lleva Granada en
el corazón, incluso sin haberla visitado".*

William Shakespeare

Muchas Gracias

