

Deteccion de VPH for Amplification Mediada por Transcripcion

Diana Raquel Hernandez, PhD

**Enlace Medico-Scientifico, Zona Centro y el Caribe
Medical Science Liaison, Central Region and Caribbean**



La información aquí presentada es para clarificar datos publicos es discusiones científicas, no se presenta con intencion de promover productos o usos específicos

Worth it.

Anuncio

- Soy empleada de Hologic
- Traducciones hechas por mi

Agenda

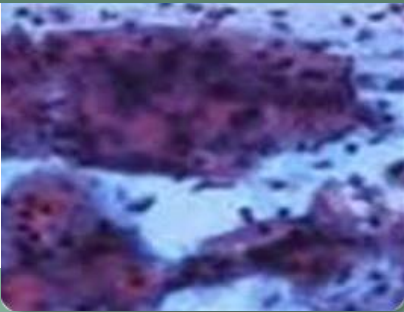
- Introduccion
- Citologia Liquida
- Pruebas de VPH
 - Tecnologia Aptima
 - Comparasion PCR/TMA
- THINPREP+VPH Conjunto

INTRODUCCION

Worth it.

la Evolucion en la Tecnologia de Tamizaje

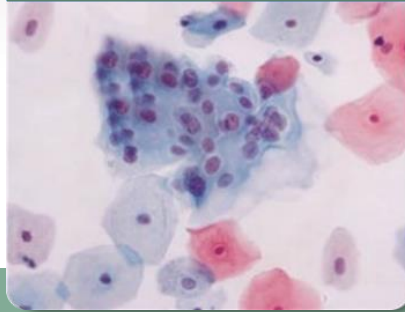
1940s



La Tincion de Pap

- Sensibilidad limitada
- Excelente especificidad

1990s



Citologia en Base Liquida

- Mejor sensibilidad
- Excelente especificidad

2000s



Prueba VPH ADN

- Excelente sensibilidad
- Especificidad limitada

Hoy



Prueba VPH mARN³

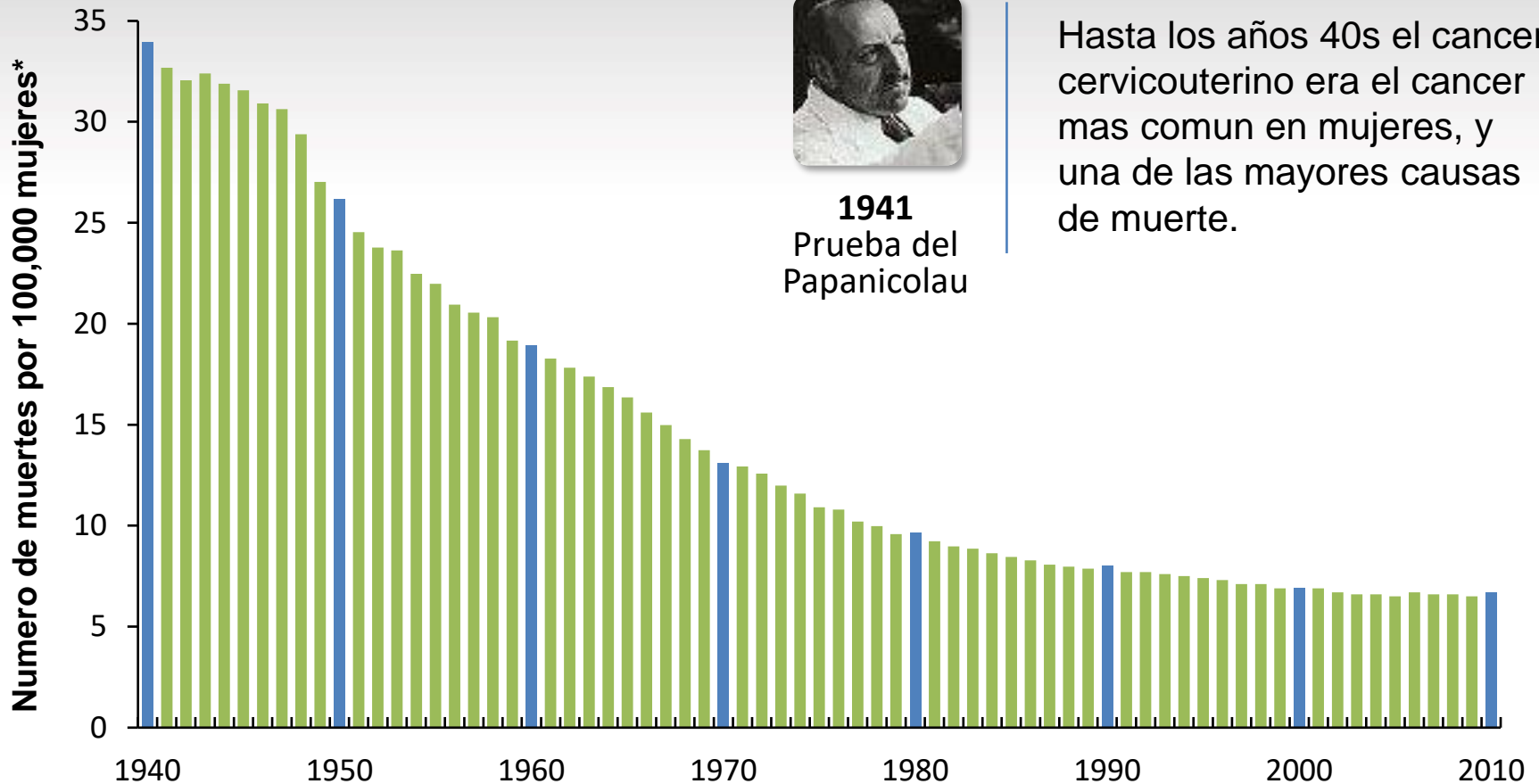
- Excelente sensibilidad
- Mejor especificidad

1. ThinPrep 2000 System [package insert]. MAN-02060 Rev. 001. Marlborough, MA: Hologic, Inc.; 2011

2. Wright TC, et al. Interim Guidance for the Use of Human Papillomavirus DNA Testing as an Adjunct to Cervical Cytology for Tamizaje. *Obstet Gynecol* 2004;103(2):304-309.

3. Aptima HPV Assay [package insert]. AW-12820, Rev 002. San Diego, CA: Hologic, Inc.; 2017.

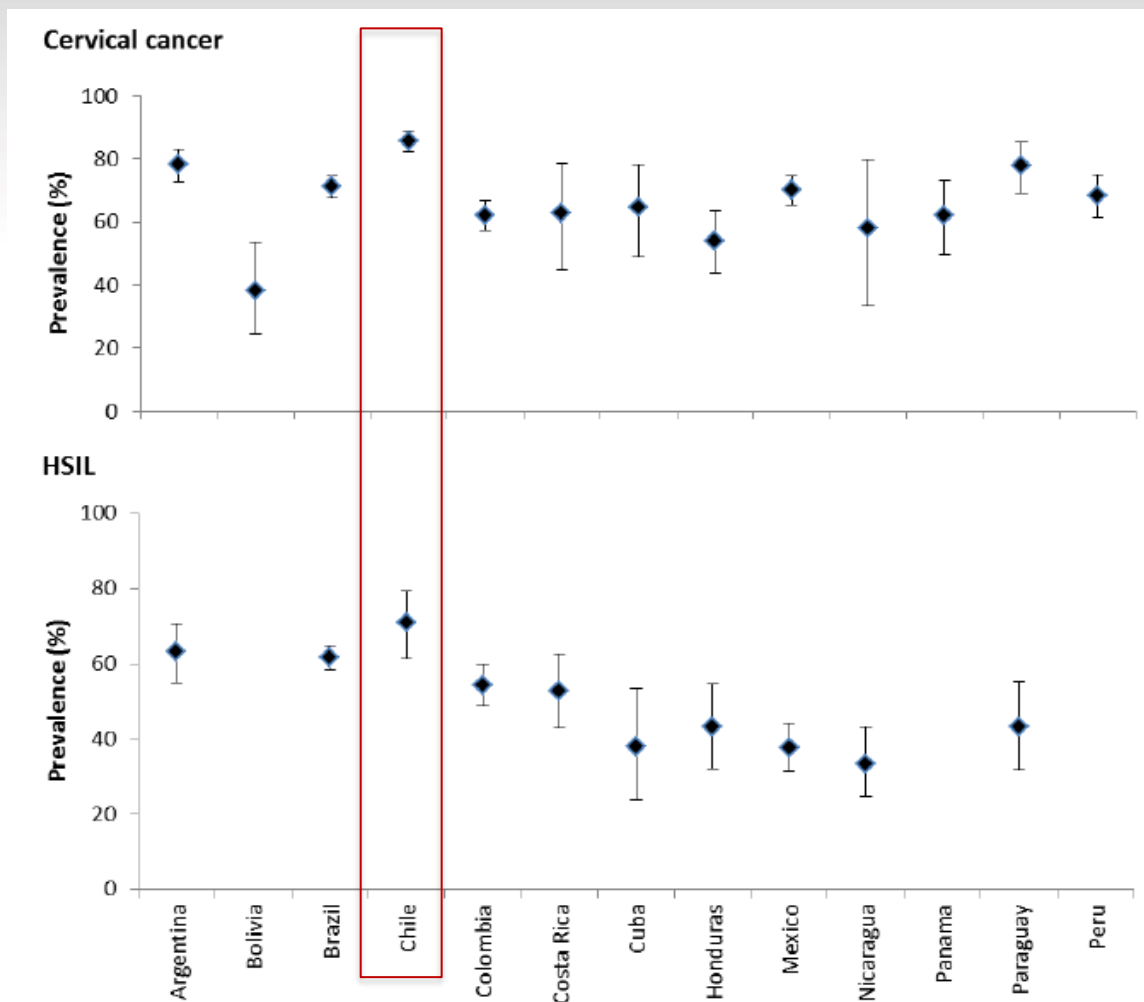
Impacto de los Avances en Citología Vaginal



*Numeros ajustados por edad a los estandares de poblacion del año 2000 en Estados Unidos.

1. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2014. <http://www.cancer.org/research/cancerfactsstatistics/cancerfactsfigures2014/index>. Published 2014. Accessed March 3, 2016.

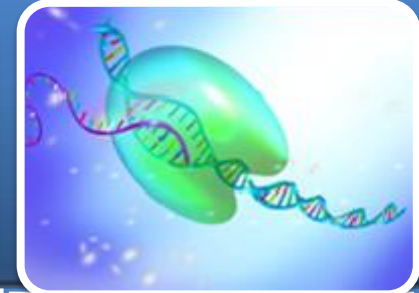
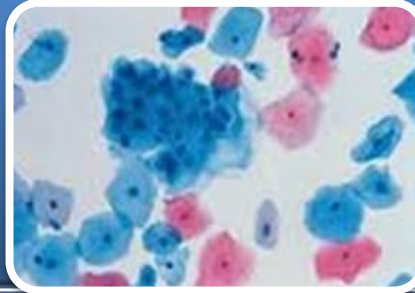
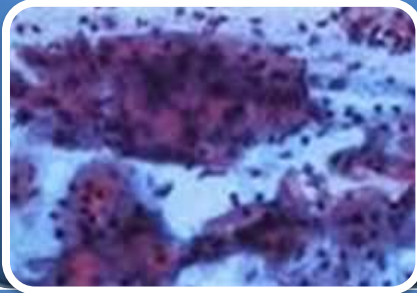
Prevalencia de Lesiones Causadas por VPH 16/18 en Países de LATAM



El cancer cervico-uterino sigue siendo el segundo cancer mas prevalente en mujeres de Latinoamerica.

HSIL: lesion de alto riesgo

Citología en Base Liquida



1940s

Tincion Pap:

Sensitividad¹

20-50%

Tamizaje
frecuente¹

1990s

**Citología en
Base Liquida:**

Mejor
sensitividad²

Tamizaje cada
1-3 años³

2000s

**Prueba de ADN
de VPH:**

Alta sensibilidad
(Hasta 100%)⁴

Tamizaje en
intervalos largos⁴

Hoy

**Prueba de VPH
mARN:**

Alta sensibilidad
(Hasta 100%)^{5,6}

Mejor
especificidad^{5,6}

1. Alliance for Cervical Cancer Prevention. Cervical Cancer Prevention Fact Sheet. http://screening.iarc.fr/doc/RH_pap_smears.pdf. Published October 2002. Accessed April 13, 2106.

2. Gibb RK, et al. The impact of liquid-based cytology in decreasing the incidence of cervical cancer. *Rev Obstet Gynecol*. 2011;4(suppl 1):S2-S11.

3. Saslow D, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *Am J Clin Pathol*. 2012;137(4):516-42. doi:10.3322/caac.21139.

4. HC2 High-Risk HPV DNA Test [package insert]. 5199-1220. Gaithersburg, MD: Digene Corporation; 2004.

5. Arbyn, et al. The APTIMA HPV assay versus the Hybrid Capture 2 test in triage of women with ASC-US or LSIL cervical cytology: a meta-analysis of the diagnostic accuracy. *Int J Cancer*. 2013;132(1):101-8. doi:10.1002/ijc.27636.

6. Aptima HPV Assay [package insert]. AW-12820. San Diego, CA: Hologic, Inc. 2015.

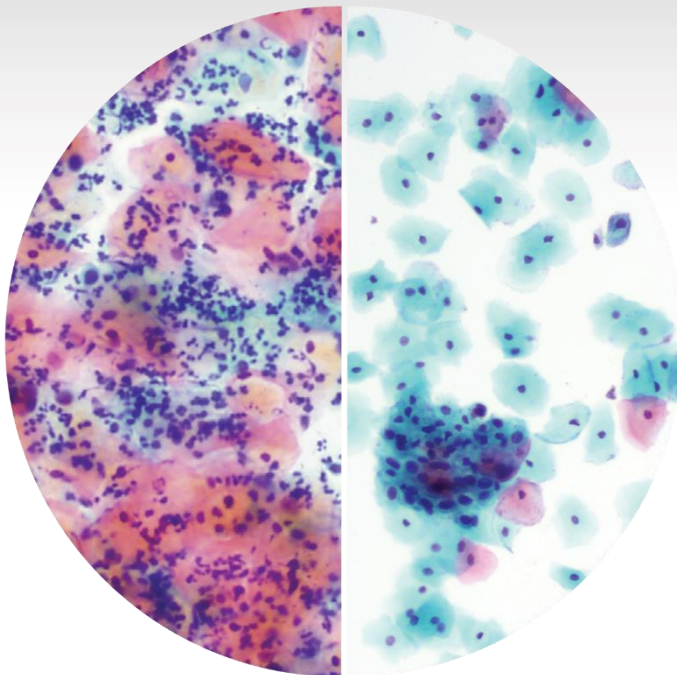
Citología convencional contra citología líquida ThinPrep

Solo se utiliza **una fracción** de la muestra para preparar el portaobjeto.¹

La tecnica de dispersion de la muestra produce **celulas de baja calidad**.¹

La laminilla puede **fallar** y no representar el estado y condicion actual de la paciente.¹

Las celulas en la laminilla pueden ser **oscurecidas** por sangre, moco, u otros materiales, impidiendo la visualizacion apropiada de las celulas malignas.³



La mayoría de la muestra se **retiene en el recipiente**.¹

La fijacion inmediata mantiene la **calidad de las celulas**.¹

Las laminillas son **representaciones fieles** de la muestra y presentan mayor oportunidad de detectar anomalidades.¹

Las celulas son aclaradas y los elementos oscuros se **distribuyen uniformemente** para ayudar en la visualizacion.²

Tiene la habilidad de producir multiples laminillas que son **reproducibles y representativas** del estado de la paciente.¹

1. Hutchinson et al. Homogeneous Sampling Accounts for Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep Processor. *Am J Clin Pathol.* 1994;1010: 215-219.

2. ThinPrep 2000 Processor [operator's manual]. MAN-02585-001, Rev. 006. Marlborough, MA: Hologic, Inc.; 2017. 3. Klinkhamer et al. Liquid-Based Cervical Cytology. A Review of the Literature with Methods of Evidence-Based Medicine. *Cancer Cytopathol.* 2003;99(5):263-271. doi:10.1002/cncr.11673.

Procedimiento Consistente y Confiable

Utiliza tecnología de transferencia a membrana propietaria, la cual permite un proceso de muestras rapido, que requiere pocos consumibles, entrenamiento, y labor manual.



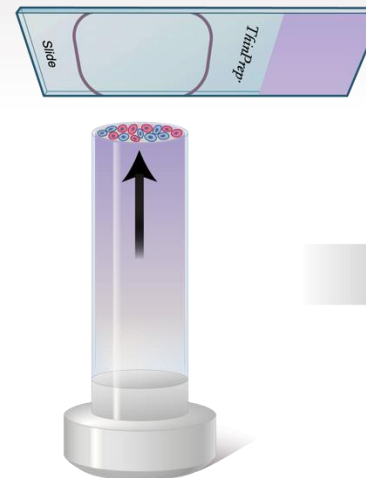
1. Dispersión

El filtro ThinPrep rota, creando corrientes que separan moco y escombros de las células, preservando su integridad.



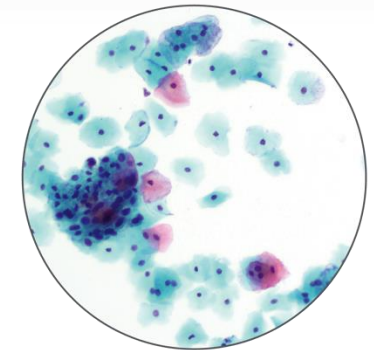
2. Colección de Células

Vacío en el filtro succiona las células suavemente y las colecta en la membrana.



3. Transferencia de Células

La membrana se presiona contra la laminilla ThinPrep. La computadora controla la posición de la laminilla, y la presión positiva hace que las células se fijen al vidrio.

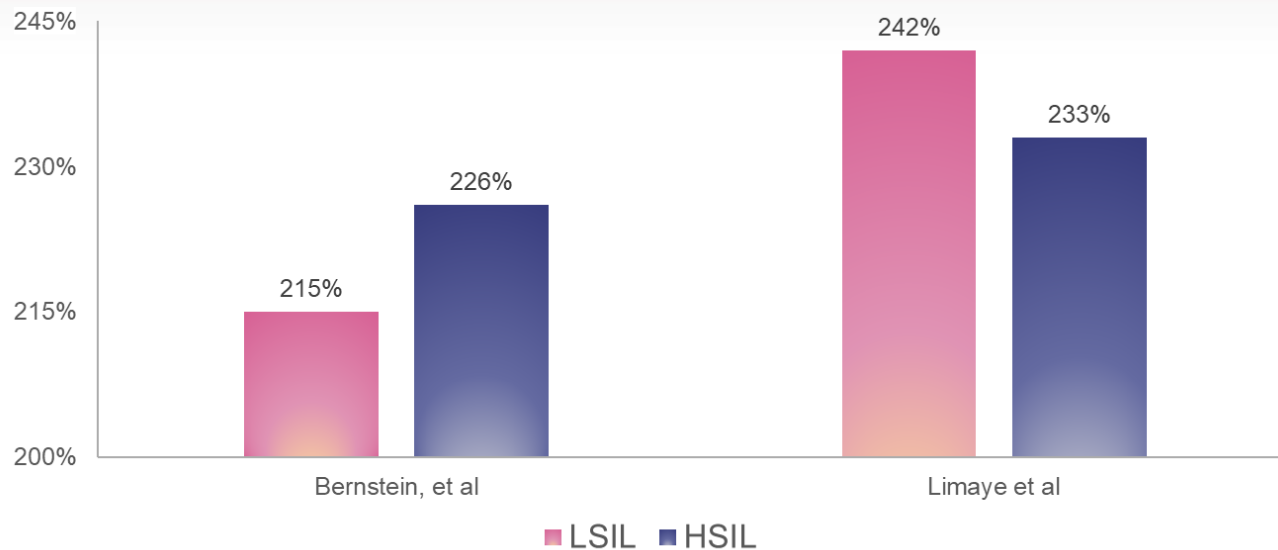


4. Resultados claros

La laminilla proporciona una clara representación de las células en la muestra, libre de elementos oscuros.

SUPERIORIDAD EN DETECCIÓN DE ENFERMEDAD

Incremento en detección de lesiones de bajo grado (LSIL) y alto grado (HSIL):
Pap en ThinPrep vs Citología Convencional^{1,2}



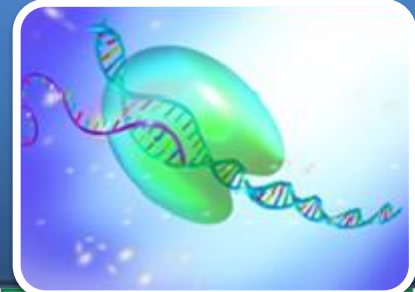
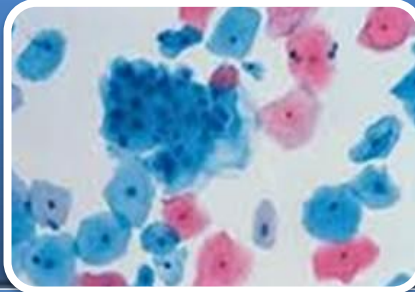
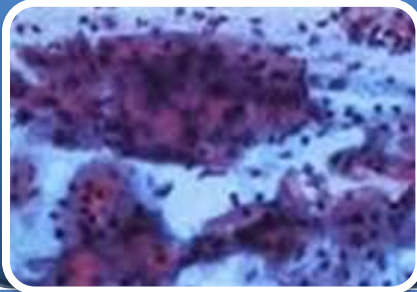
- Bernstein et al.: Meta-analysis n = 221,864 ThinPrep y 378,659 citología convencional¹
- Limaye et al.: (Quest Diagnostics) n = 166,619 ThinPrep y 1,985,350 citología convencional^{1,2}

1. Bernstein SJ, et al. Liquid-based cervical cytologic smear study and conventional Papanicolaou smears: a meta-analysis of prospective studies comparing cytologic diagnosis and sample adequacy. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;185(2):308-17.

2. Limaye A, et al. Comparative analysis of conventional cytology and a fluid-based thin-layer method. *Arch Pathol Lab Med.* 2003;127(2):200-204.

TECNOLOGIA APTIMA

Amplificación Mediada por Transcripción (TMA)



1940s

Tinción Pap:

Sensitividad¹

20-50%

Tamizaje frecuente¹

1990s

Citología en Base Líquida:

Mejor sensibilidad²

Tamizaje cada 1-3 años³

2000s

Prueba de ADN de VPH:

Alta sensibilidad (Hasta 100%)⁴

Tamizaje en intervalos largos⁴

Hoy

Prueba de VPH mARN:

Alta sensibilidad (Hasta 100%)^{5,6}

Mejor especificidad^{5,6}

1. Alliance for Cervical Cancer Prevention. Cervical Cancer Prevention Fact Sheet. http://screening.iarc.fr/doc/RH_pap_smears.pdf. Published October 2002. Accessed April 13, 2106.

2. Gibb RK, et al. The impact of liquid-based cytology in decreasing the incidence of cervical cancer. *Rev Obstet Gynecol*. 2011;4(suppl 1):S2-S11.

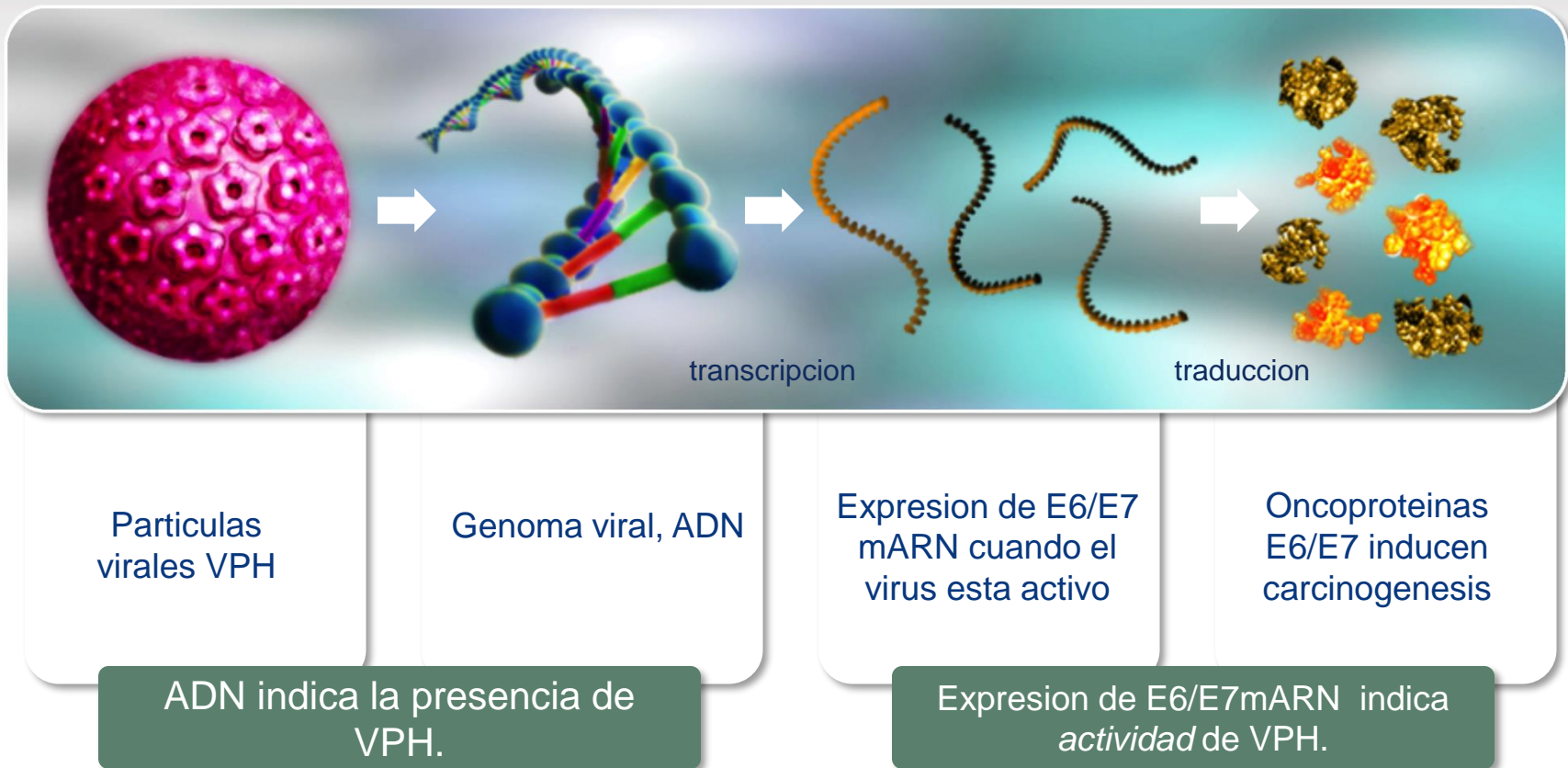
3. Saslow D, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *Am J Clin Pathol*. 2012;137(4):516-42. doi:10.3322/caac.21139.

4. HC2 High-Risk HPV DNA Test [package insert]. 5199-1220. Gaithersburg, MD: Digene Corporation; 2004.

5. Arbyn, et al. The APTIMA HPV assay versus the Hybrid Capture 2 test in triage of women with ASC-US or LSIL cervical cytology: a meta-analysis of the diagnostic accuracy. *Int J Cancer*. 2013;132(1):101-8. doi:10.1002/ijc.27636.

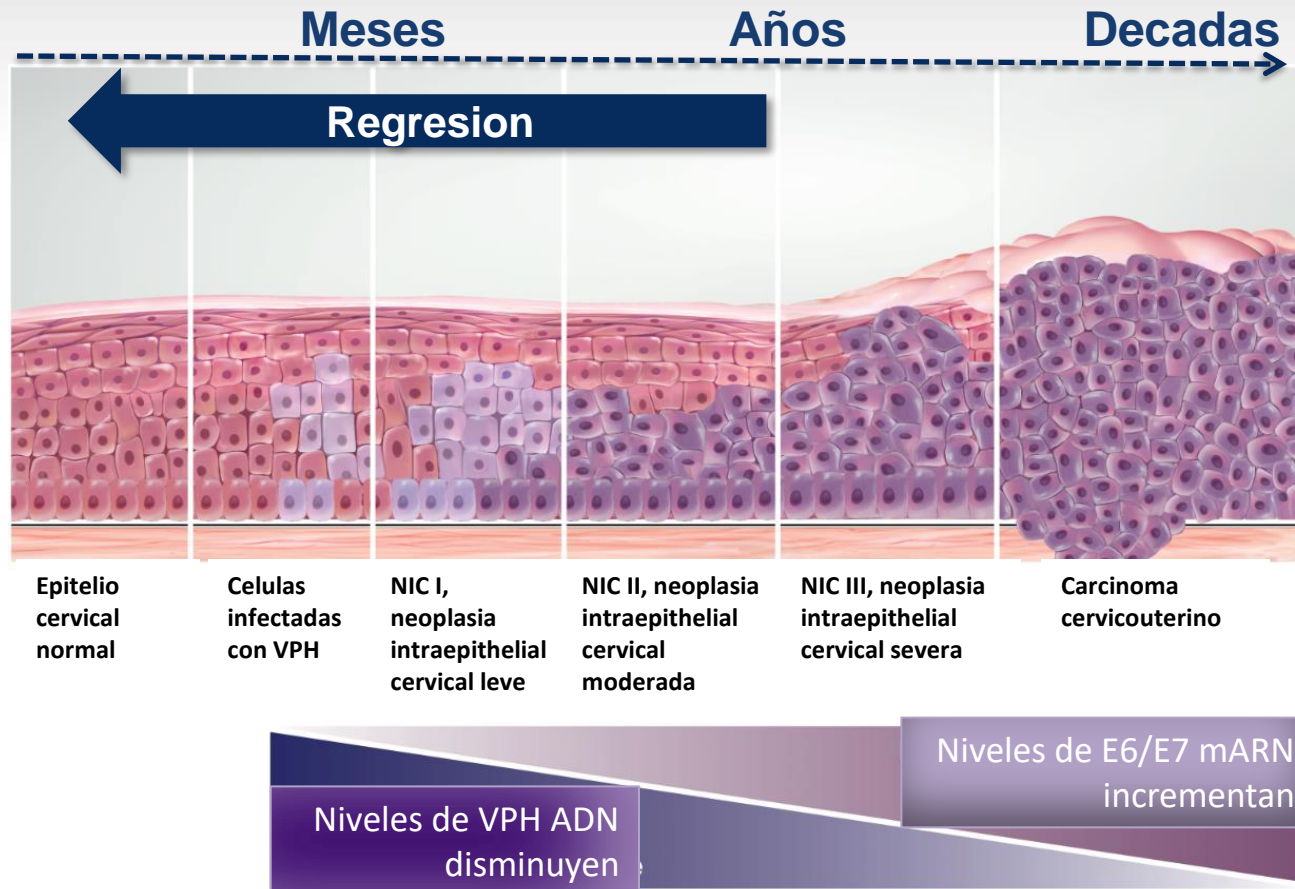
6. Aptima HPV Assay [package insert]. AW-12820. San Diego, CA: Hologic, Inc. 2015.

Biología Molecular de VPH

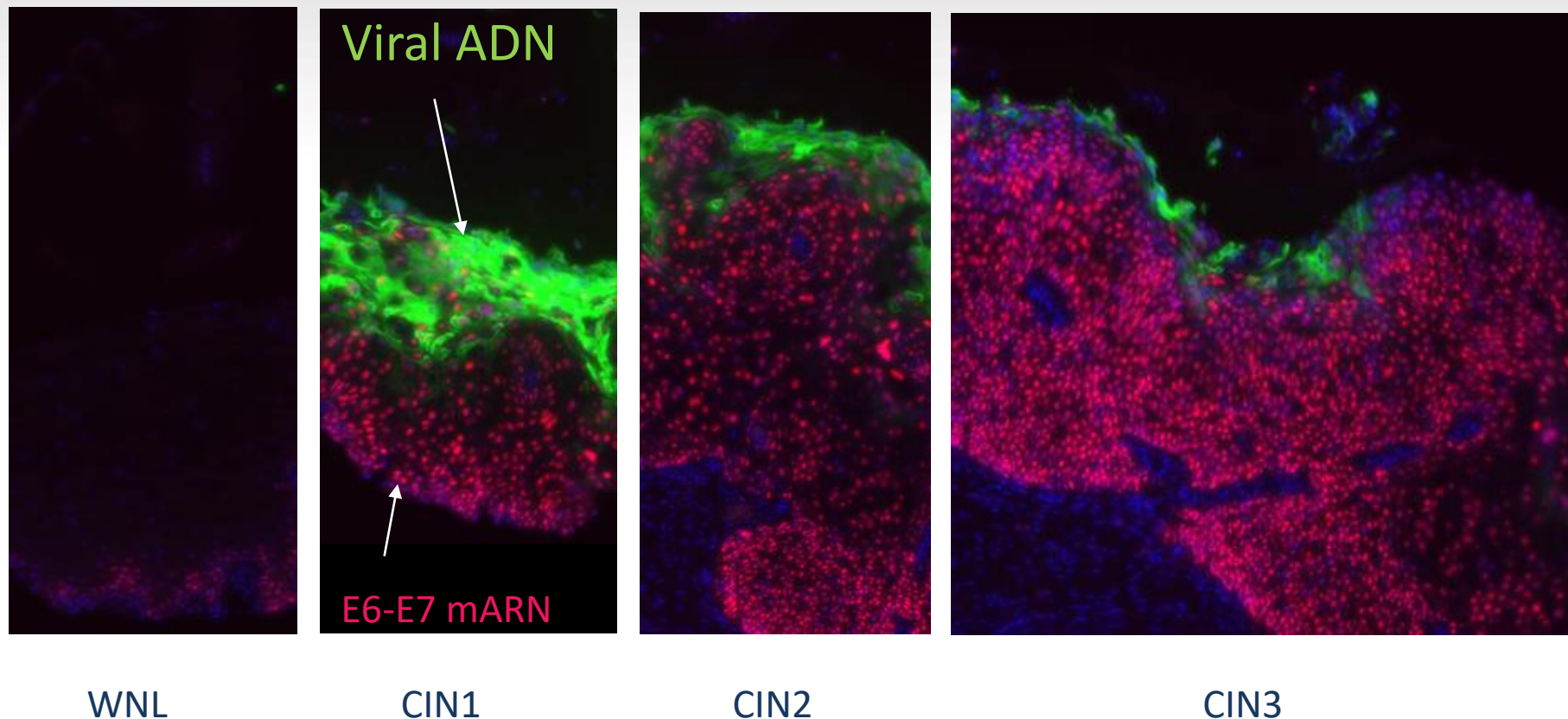


Niveles de VPH ADN Disminuyen Cuando la Infeccion Avanza a Cancer Cervicouterino

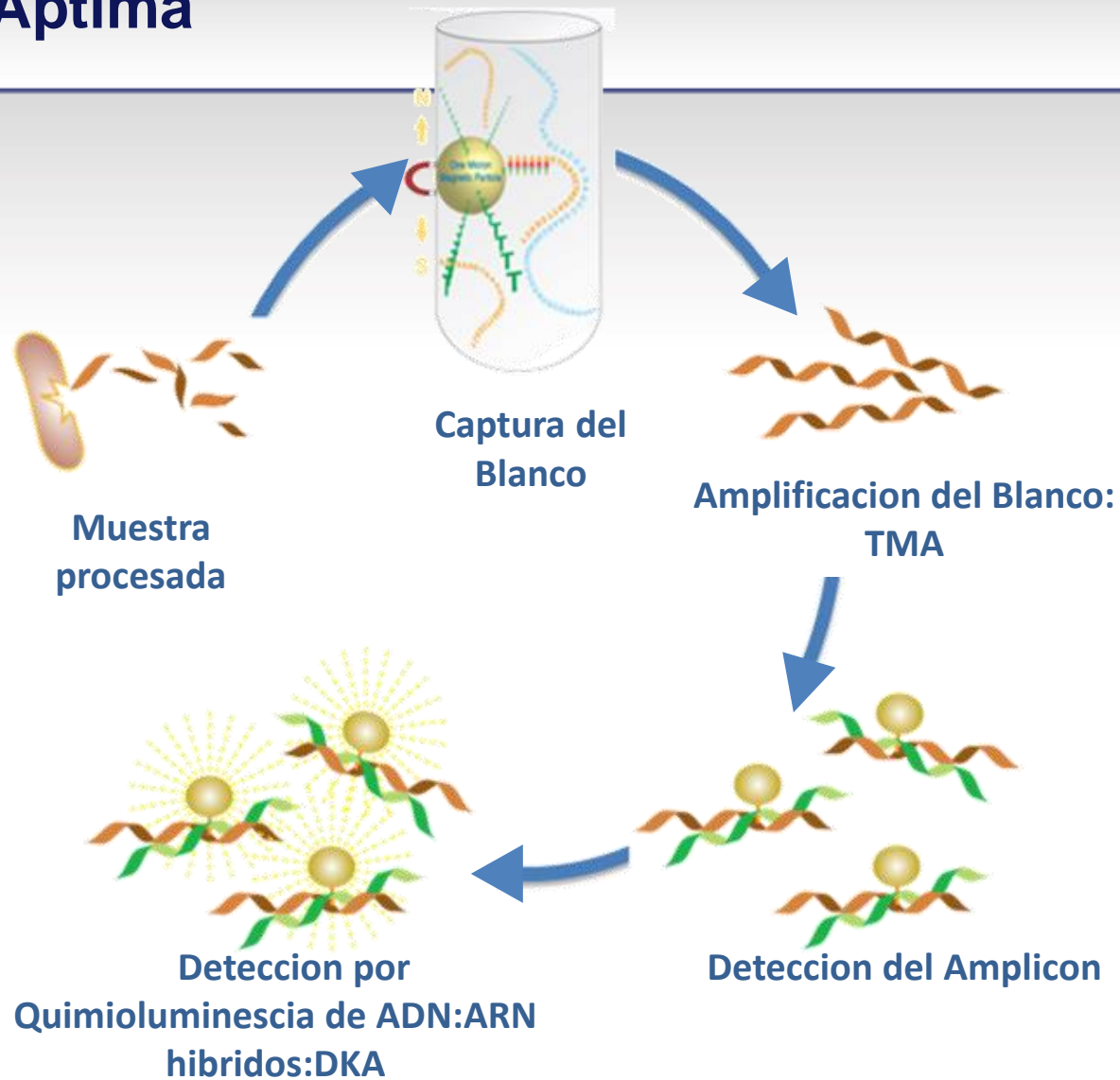
Modelo de Progresion de Cancer Cervicouterino



Niveles de VPH ADN Disminuyen Cuando la Infeccion Avanza a Cancer Cervicouterino



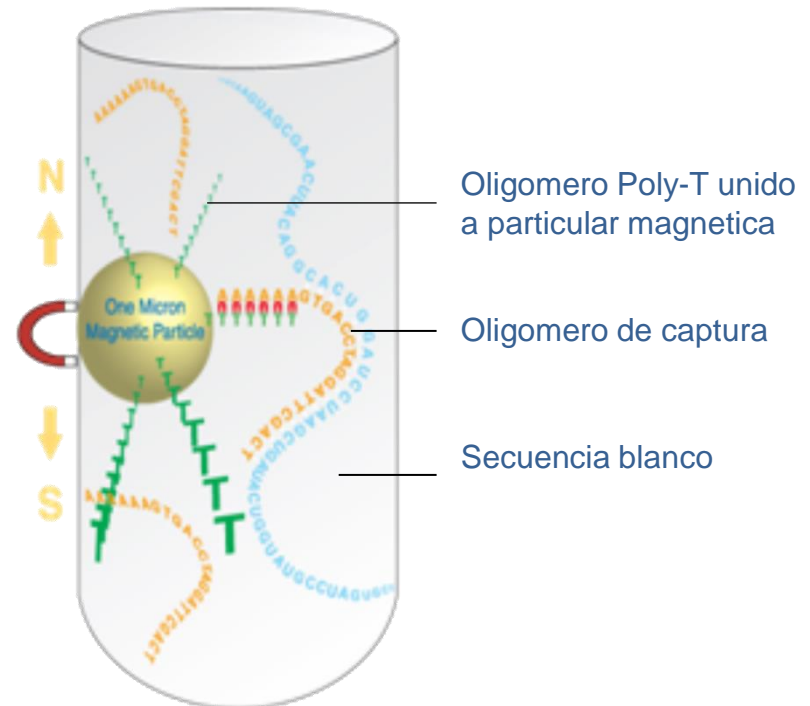
Química Aptima



Captura del Blanco

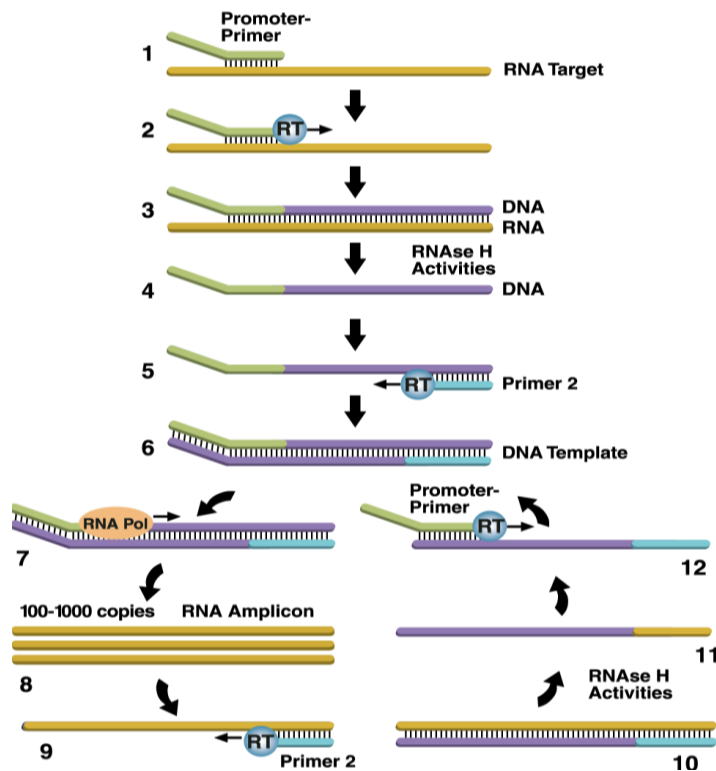
- Microorganismos lysados liberan el ácido nucleico blanco que se hibrida con un oligomero de captura intermedio.
- El complejo es capturado y unido con partículas paramagnéticas.
- Las partículas son atraídas a la pared del tubo por imanes y son lavadas varias veces para purificar y concentrar el blanco y para remover materiales extraños, incluyendo sustancias que pueden interferir con la reacción.

Captura de Blanco



Amplificación Mediada por Transcripción (TMA)

TMA



Pasos 1-2

Transcriptasa reversa (RT) crea una copia de ADN (cDNA) del ácido nucleico blanco.

Pasos 3-7

RT genera una hebra de cDNA complementario para formar un ADN de doble hebra que sirve como plantilla para copiar el ARN blanco.

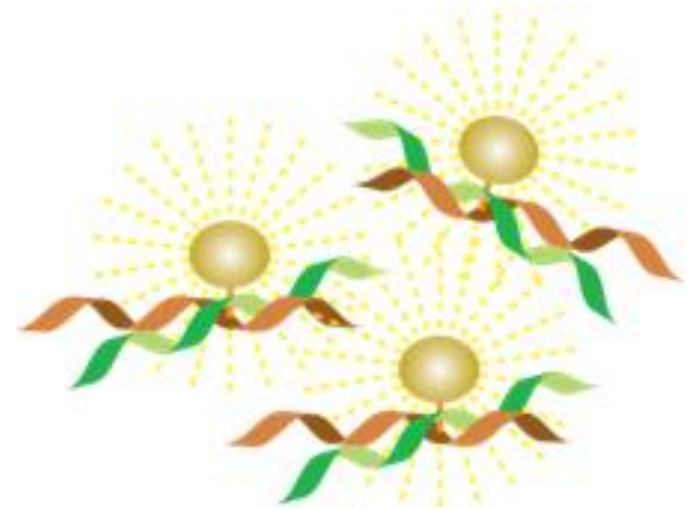
Pasos 7-12

La RNA polimerasa sintetiza cientos de copias de ARN que entran en el ciclo de TMA y sirven como plantillas para nuevos ciclos de amplificación.

El proceso lleva a un incremento exponencial del blanco original.

Deteccion por Ensayo de Doble Cinetica (DKA)

- Es una modification de la tecnologia en el ensayo de proteccion de hibridacion (HPA)
- Dos etiquetas unicas de ester de acridinio con diferentes cienticas de ensendido/apagado en sondas de ADN.
- Permite la deteccion simultaneas de 2 blancos de acido nucleico distintos.

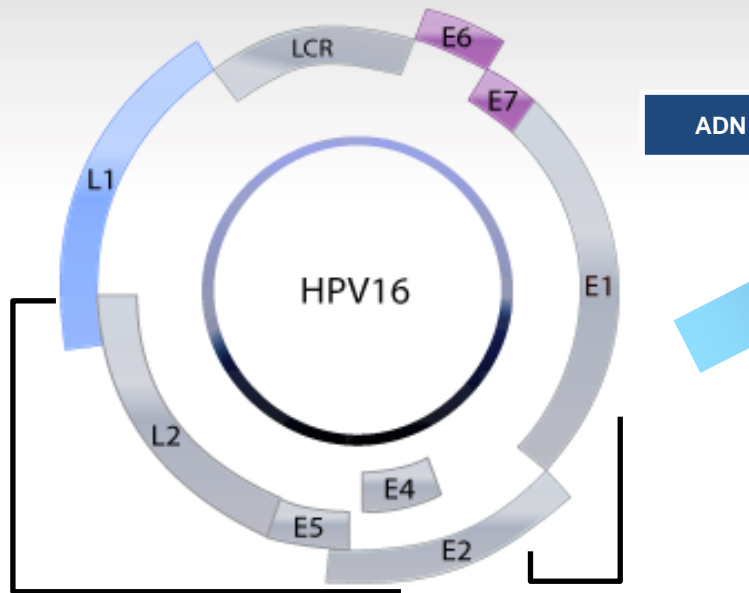


**Deteccion por Quimioluminescencia de
ADN:ARN hibridos: DKA**

Comparando Tecnologías

	PCR	TMA	<i>Ventaja</i> TMA
Incubacion	Ciclos de Temperatura	Isotermica (no varia la temp)	No require termociclador
Amplificacion	2 copias por ciclo	100-1000 copias por ciclo	Copias incrementas hasta 10 billones de veces
Amplicon	ADN	ARN	Menos susceptible a contaminacion

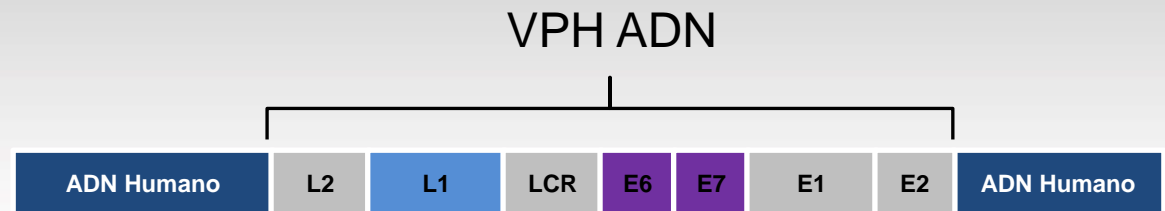
Integración de VPH



Eliminaciones pueden ocurrir durante integración.

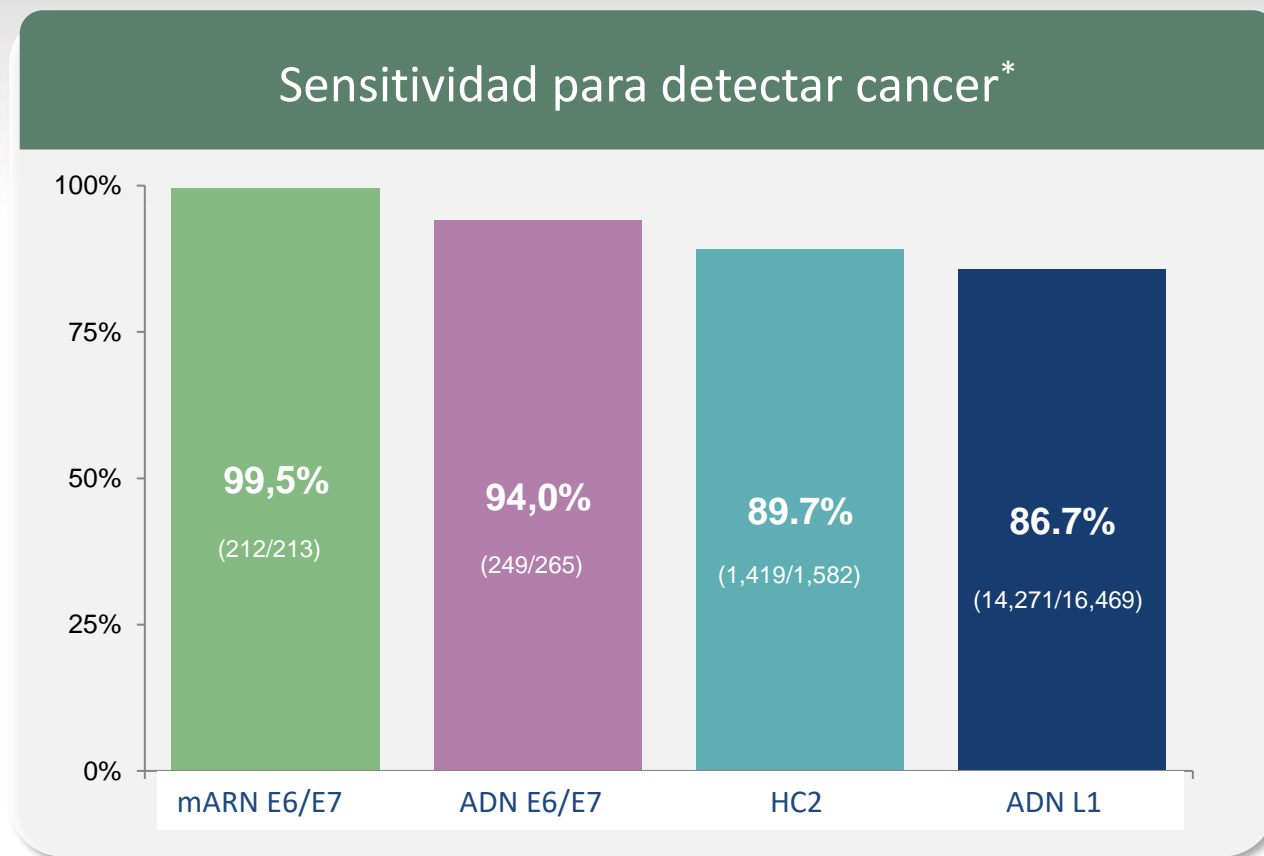
Genoma VPH - genotipo 16 como ejemplo

Lugar donde se abre el ADN para integrarse.



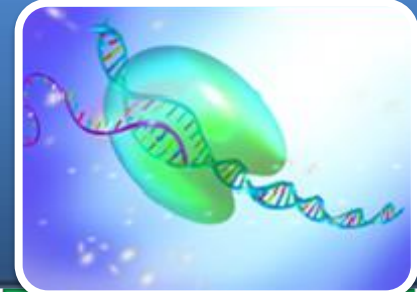
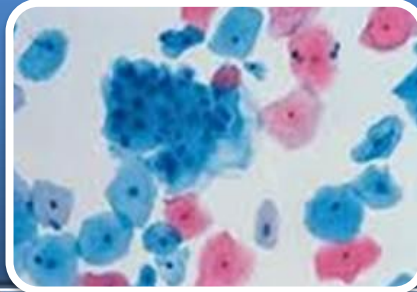
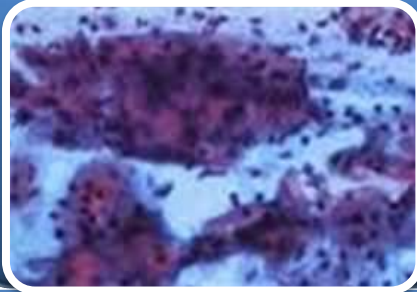
- El ADN de VPH se debe linearizar para poder integrarse al ADN humano.
- La region L1 puede ser eliminada cuando ocurre la integración de VPH.
- Pruebas que detectan L1 pueden resultar en falsos negativos.

Sensitividad para detectar Cancer Cervical por varios metodos de deteccion de VPH



*Supporting data on bibliography

THINPREP + VPH CONJUNTO



1940s

Tinción Pap:

Sensitividad¹

20-50%

Tamizaje frecuente¹

1990s

Citología en Base Líquida:

Mejor sensibilidad²

Tamizaje cada 1-3 años³

2000s

Prueba de ADN de VPH:

Alta sensibilidad (Hasta 100%)⁴

Tamizaje en intervalos largos⁴

Hoy

Prueba de VPH mARN:

Alta sensibilidad (Hasta 100%)^{5,6}

Mejor especificidad^{5,6}

1. Alliance for Cervical Cancer Prevention. Cervical Cancer Prevention Fact Sheet. http://screening.iarc.fr/doc/RH_pap_smears.pdf. Published October 2002. Accessed April 13, 2106.

2. Gibb RK, et al. The impact of liquid-based cytology in decreasing the incidence of cervical cancer. *Rev Obstet Gynecol*. 2011;4(suppl 1):S2-S11.

3. Saslow D, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *Am J Clin Pathol*. 2012;137(4):516-42. doi:10.3322/caac.21139.

4. HC2 High-Risk HPV DNA Test [package insert]. 5199-1220. Gaithersburg, MD: Digene Corporation; 2004.

5. Arbyn, et al. The APTIMA HPV assay versus the Hybrid Capture 2 test in triage of women with ASC-US or LSIL cervical cytology: a meta-analysis of the diagnostic accuracy. *Int J Cancer*. 2013;132(1):101-8. doi:10.1002/ijc.27636.

6. Aptima HPV Assay [package insert]. AW-12820. San Diego, CA: Hologic, Inc. 2015.

Pap + VPH (Co-testing) Falla Menos en Dx de Ca¹

El estudio Austin (UPMC):

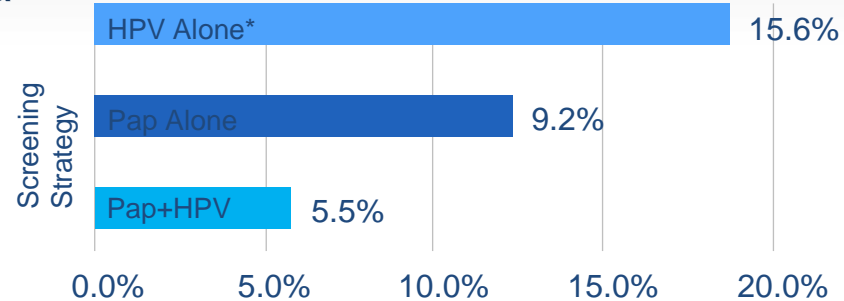
2x

EL NUMERO DE MUJERES QUE NO TENDRIAN UN DX THE CANCER SE DOBLA CUANDO SE USA SOLO VPH, EN LUGAR DE VPH + PAP

% Deteccion Fallida



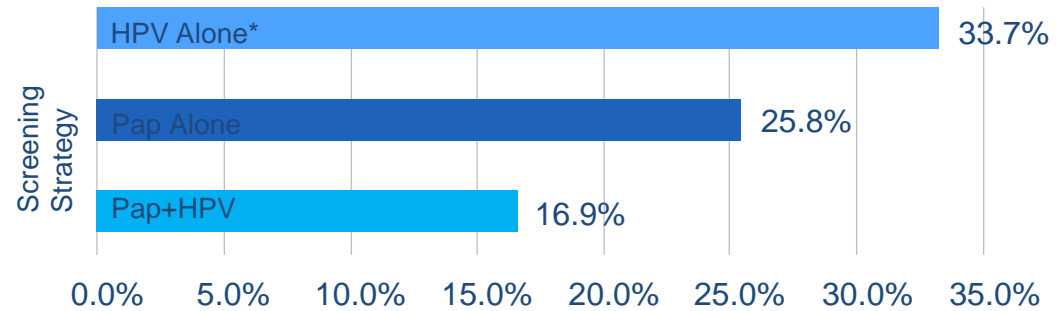
Meses antes de Dx



% Deteccion Fallida



Meses antes de Dx



*A positive HPV screening result may lead to further evaluation with cytology and/or colposcopy.

Pap + VPH (Co-testing) Falla Menos en Dx de Ca¹

El Estudio Kaufman (Quest):

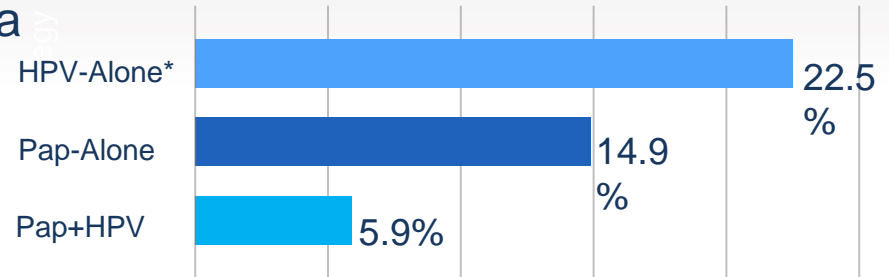
94.1%

DE CANCERS DETECTADOS
CON PAP + VPH (CO-
TESTING)



% Deteccion Fallida

Meses
antes de
Dx



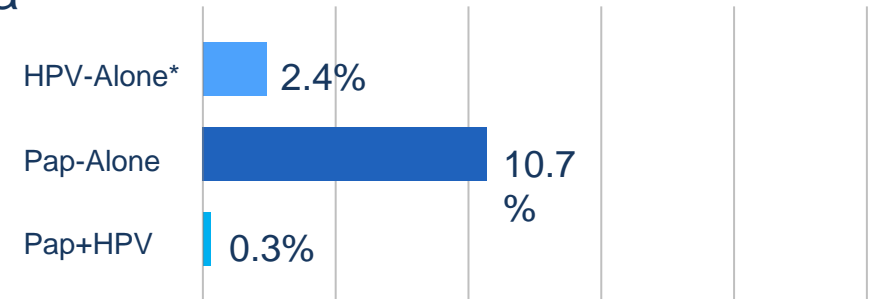
99.7%

DE PRE-CANCERS
DETECTADOS CON PAP +
VPH (CO-TESTING)



% Deteccion Fallida

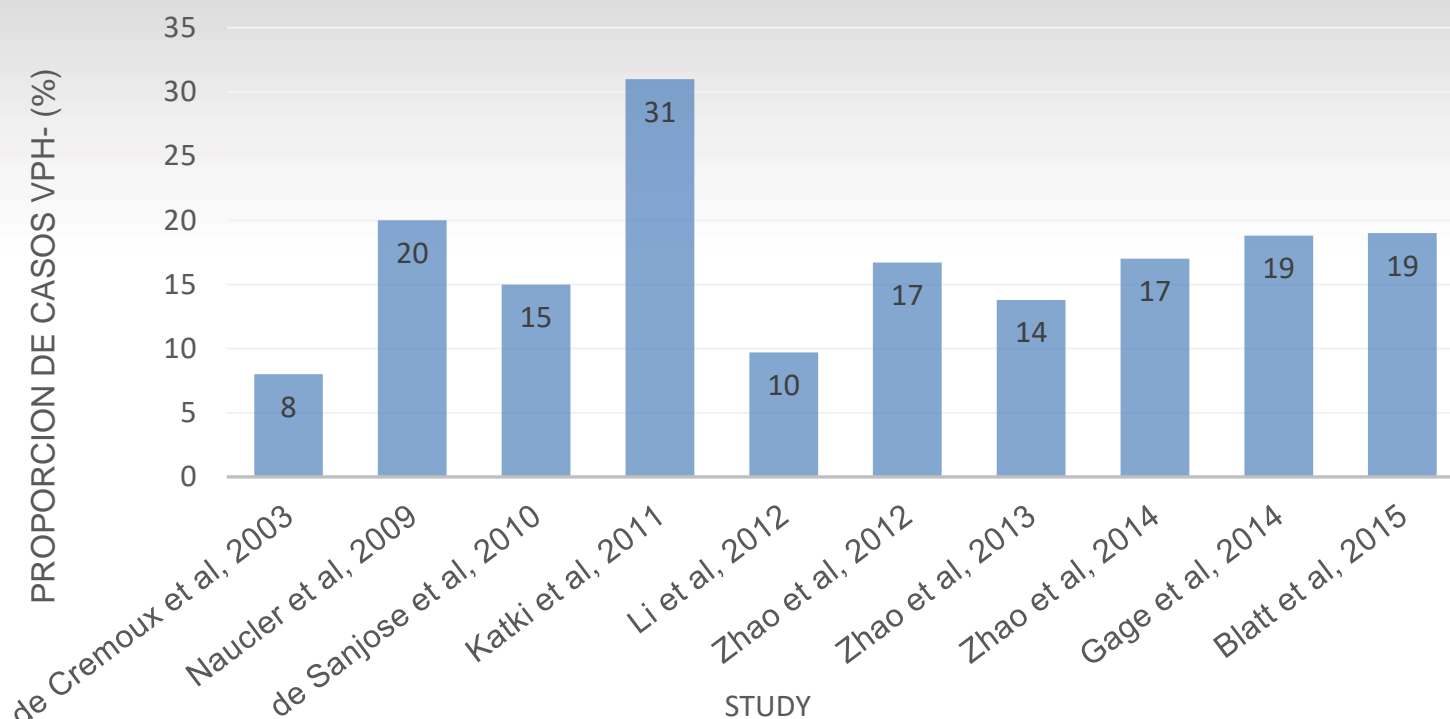
Meses
antes de
Dx



*A positive HPV screening result may lead to further evaluation with cytology and/or colposcopy.

1. Kaufman H, et al. Contributions of Liquid-based (Papanicolaou) Cytology and Human Papillomavirus Testing in Co-testing for Detection of Cervical Cancer and Precancer, in the United States. Am. J. Clin. Pathol. 2020_ (Study included ThinPrep Pap test, ThinPrep imaging, SurePath Pap test, SurePath imaging, Aptima HPV and Hybrid Capture 2).

Tamizaje con VPH Primario Falla en la Detección de Cancer Cervicouterino

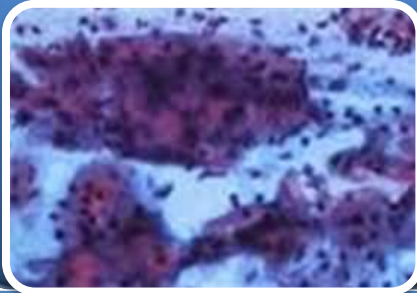


Representa datos clinicos de diversos estudios publicados. Los estudios clinicos aqui mostrados fueron conducidos con diferentes diseños.

1. de Cremoux, et al. *Am J Clin Pathol.* 2003;120(4):492-9. (Study included conventional Pap, ThinPrep®, Hybrid Capture® 2 assay).
2. Naucler, et al. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101(2):88-99. (Study included conventional Pap, laboratory developed test for VPH detection).
3. de Sanjose, et al. *Lancet Oncol.* 2010;11(11):1048-56. (Study included laboratory developed test for VPH detection).
4. Katki, et al. *Lancet Oncol.* 2011;12(7):663-72. (Study included conventional Pap, Hybrid Capture 2 assay).

5. Li, et al. *Arch Pathol Lab Med.* 2012;136(12):1533-40. (Study included ThinPrep, Hybrid Capture 2 assay).
6. Zhao, et al. *J Med Virol.* 2012;84(12):1920-7. (Study included ThinPrep, laboratory developed test for VPH detection).
7. Zhao, et al. *Am J Clin Pathol.* 2013;140(1):47-54. (Study included ThinPrep, Hybrid Capture 2 assay).
8. Zhao, et al. *Arch Pathol Lab Med.* 2014;139(2):184-8. (Study included ThinPrep, SurePath, Hybrid Capture 2 assay, cobas® VPH assay, Cervista® VPH HR test).
9. Gage et al. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(8): dju153. (Study included conventional Pap, Hybrid Capture 2 assay).
10. Blatt A, et al. *Cancer Cytopathol.* 2015;123(5):282-288. (Study included ThinPrep, SurePath®, Hybrid Capture 2 assay).

RESULTADOS OPTIMOS



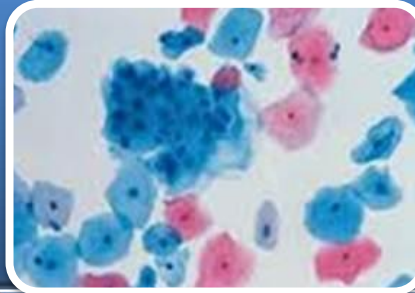
1940s

Tincion Pap:

Sensitividad¹

20-50%

Tamizaje frecuente¹



1990s

Citologia en Base Liquida:

Mejor sensitividad²

Tamizaje cada 1-3 años³

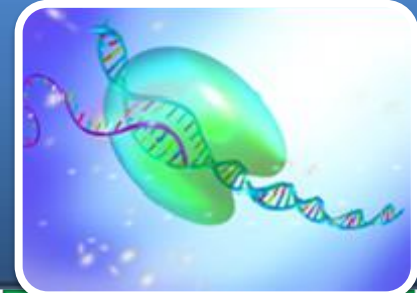


2000s

Prueba de ADN de VPH:

Alta sensitividad (Hasta 100%)⁴

Tamizaje en intervalos largos⁴



Hoy

Prueba de VPH mARN:

Alta sensitividad (Hasta 100%)^{5,6}

Mejor especificidad^{5,6}

1. Alliance for Cervical Cancer Prevention. Cervical Cancer Prevention Fact Sheet. http://screening.iarc.fr/doc/RH_pap_smears.pdf. Published October 2002. Accessed April 13, 2106.

2. Gibb RK, et al. The impact of liquid-based cytology in decreasing the incidence of cervical cancer. *Rev Obstet Gynecol*. 2011;4(suppl 1):S2-S11.

3. Saslow D, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *Am J Clin Pathol*. 2012;137(4):516-42. doi:10.3322/caac.21139.

4. HC2 High-Risk HPV DNA Test [package insert]. 5199-1220. Gaithersburg, MD: Digene Corporation; 2004.

5. Arbyn, et al. The APTIMA HPV assay versus the Hybrid Capture 2 test in triage of women with ASC-US or LSIL cervical cytology: a meta-analysis of the diagnostic accuracy. *Int J Cancer*. 2013;132(1):101-8. doi:10.1002/ijc.27636.

6. Aptima HPV Assay [package insert]. AW-12820. San Diego, CA: Hologic, Inc. 2015.

Current Menu

Salud de la Mujer

CT/NG

VPH

VPH GT

Trich

BV

CV/TV

Mgen

Virales

HSV 1&2

HIV Quant

HCV Quant Dx

HBV Quant

Zika Virus (EUA)

SARS-CoV-2 (EUA)

Fusion

Flu A/B/RSV

Paraflu 1-4

Ad/hMPV/RV

Group B Strep

Open Access

VZV (ASR)

EBV (ASR)

CMV (ASR)

BKV (ASR)

SARS-CoV-2 (EUA)

EN DESARROLLO*

CMV

HIV Qual

Bordetella

FUTURO

Enteric pathogens

Infectious diseases

Respiratory pathogens

GC/M. gen Drug Resistance

Pruebas Panther Aptima

Pruebas Panther Fusion

El Panther & Panther Fusion proporciona un menu muy comprensivo el dia de hoy y con vision al futuro



Worth it.



GRACIAS!

Diana.Hernandez@Hologic.com

Hologic, Inc. All rights reserved.

Worth it.