

## Orina de la primera micción como biopsia líquida para la detección de anticuerpos inducidos por la vacuna contra el VPH

### First-void urine as liquid biopsy for HPV vaccine-induced antibody detection

*L Téblick, S Van Keer, A Vorsters (marzo de 2022).*

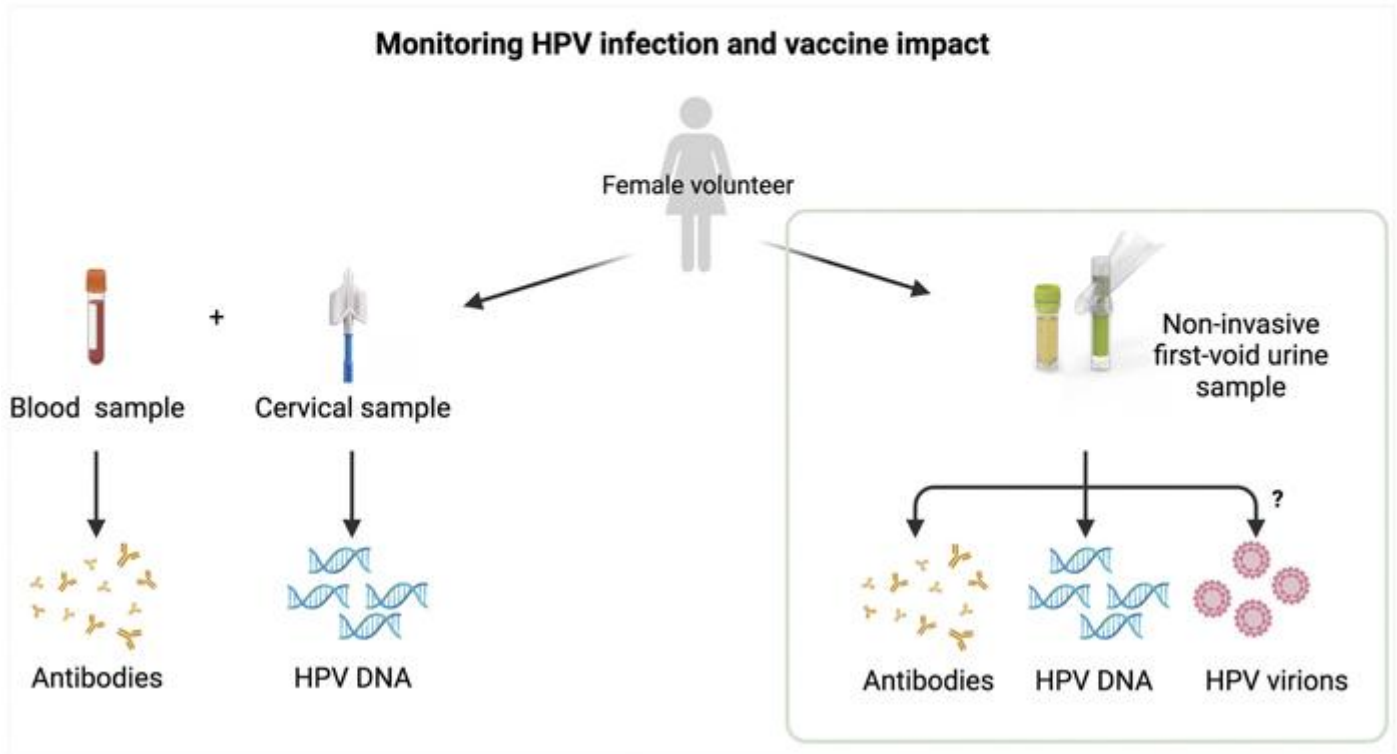
Las muestras biológicas apropiadas y confiables son fundamentales para mejorar la salud pública y personal. Disponer de una muestra (líquida) que no sea invasiva y pueda ser autorecogida tiene importantes ventajas en el campo de la inmunología y la carcinología<sup>1</sup>. La orina de la primera micción es un excelente ejemplo de biopsia líquida que es altamente aceptable, no invasiva y puede ser auto-recolectada en casa<sup>2-4</sup>. Dado que las secreciones del tracto genital se eliminan al comenzar a orinar, el muestreo de orina de la primera micción tiene un potencial considerable para la investigación del virus del papiloma humano (VPH)<sup>5-7</sup>. Varios estudios han demostrado que la orina de la primera micción es una muestra adecuada para detectar el ADN del VPH y que el ADN permanece estable mediante el uso de un conservante, lo que permite su uso futuro para la detección del cuello uterino que ahora se lleva a cabo principalmente mediante un frotis cervical recogido por un médico<sup>3</sup>. El seguimiento de la respuesta inmunitaria en los ensayos clínicos y los programas de vacunación se basa en muestras de suero para evaluar los anticuerpos inducidos por la vacuna contra el VPH. Dado que los anticuerpos de inmunoglobulina G (IgG) están ampliamente presentes en las secreciones del tracto genital, planteamos la hipótesis de que los anticuerpos IgG podrían detectarse utilizando muestras de orina de la primera micción<sup>8</sup>. De hecho, nuestra última investigación confirmó que la orina de la primera micción contiene suficientes secreciones del tracto genital para detectar anticuerpos anti-VPH inducidos por la vacuna<sup>9,10</sup>.

El muestreo de orina de la primera micción se puede utilizar para controlar tanto la enfermedad como la respuesta inmunitaria, lo que lo convierte en una muestra ideal para la vigilancia y el seguimiento de los ensayos de vacunas, ya que combina la capacidad de un frotis cervical tomado por un médico y una muestra de sangre ( **Figura 1** ). Además, la idoneidad de la orina de la primera micción para el muestreo en el hogar y su aceptabilidad ética para las niñas que son demasiado jóvenes para un examen ginecológico son ventajas importantes para el seguimiento a largo plazo del impacto de la vacuna<sup>11</sup>. En 2018 se puso en marcha un ensayo de prueba de concepto para la detección de anticuerpos anti-VPH en orina de primera micción en el que investigamos la presencia de anticuerpos anti-VPH en orina de primera evacuación<sup>9</sup>

Figure 1

Potential of first-void urine self-sampling within clinical trials investigating HPV immunology. First-void urine sampling can be used for detection of antibodies, HPV DNA and potentially for HPV virions and other biomarkers (right). This non-invasive liquid biopsy can be used to replace the combination of a blood sample for serology and a clinician taken cervical smear (left) for detection of HPV infection and other biomarkers.

Created with BioRender.com.



. Dentro de este estudio, 57 mujeres (de 19 a 26 años de edad) proporcionaron muestras emparejadas de sangre y orina de la primera micción. Estas mujeres se dividieron en dos cohortes; una cohorte vacunada durante la adolescencia (n=38) y una cohorte no vacunada (n=19). Las muestras se analizaron utilizando dos inmunoensayos contra el VPH: inmunoensayo basado en glutatión S-transferasa (GST)-L1 (GST-L1-MIA, DKFZ, Alemania) y ELISA basado en partículas similares a virus (VLP) multiplex L1/L2 (M4ELISA, CDC). , Atlanta)<sup>9,10</sup>. Los resultados mostraron correlaciones estadísticamente significativas entre las concentraciones de anticuerpos anti-VPH en las muestras de orina y suero de la primera micción ( **Figura 2** ). Además, detectamos concentraciones de anticuerpos anti-VPH significativamente más altas en mujeres vacunadas en comparación con mujeres no vacunadas para ambos tipos de muestras ( **Figura 3** ). Este estudio demostró la viabilidad de detectar anticuerpos anti-VPH después de la vacunación contra el VPH bivalente y tetravalente. Actualmente, estamos realizando un segundo ensayo clínico en el que recolectamos muestras de orina de la primera micción antes de la vacunación nonavalente, siete meses después de la primera dosis y cuatro años después de la primera dosis. Aquí, nuestro objetivo es proporcionar evidencia de que la orina de la primera micción puede usarse para ensayos de seguimiento a largo plazo (resultados preliminares presentados en Eurogin 2020 e IPVC 2021). La investigación adicional en curso incluye la optimización de las técnicas desarrolladas y la normalización y validación utilizando cohortes más grandes.

Figure 2

Correlation plots between pooled log<sub>10</sub> transformed anti-HPV antibody responses (Abs) to HPV6, 11, 16 and 18 in first-void urine and serum for the M4ELISA (left) and GST-L1-MIA assay (right), expressed in AU/ml (HPV6/11) or IU/ml (HPV16/18) and MFI, respectively. Spearman's rank correlation coefficients ( $r$ ) and significance levels ( $p$ ) are presented in the figure. Adapted from Pattyn et al 2020<sup>10</sup>.

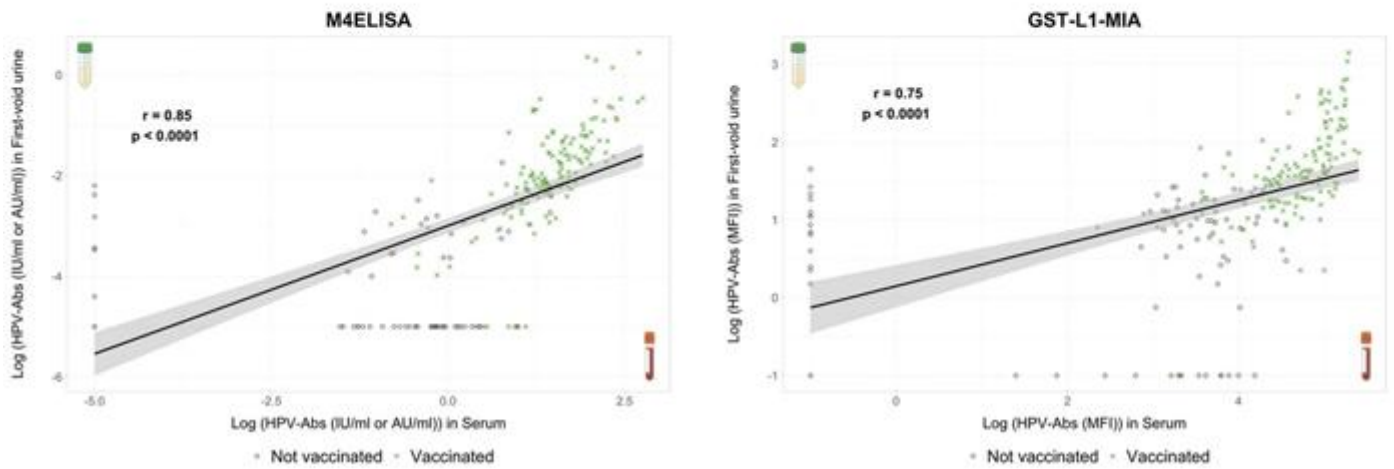
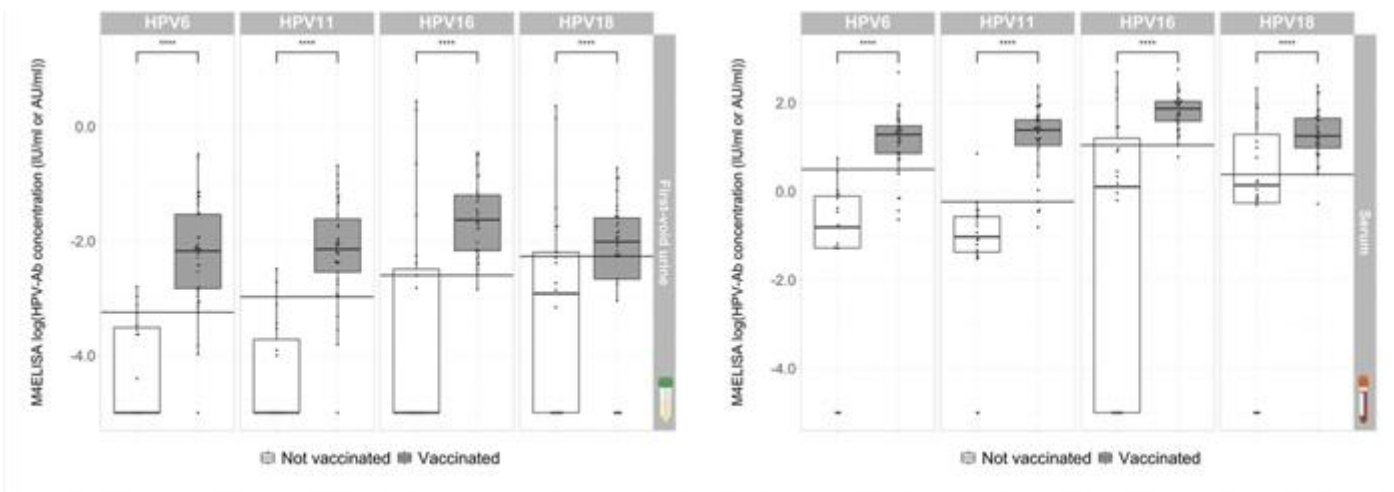


Figure 3

M4ELISA median log<sub>10</sub> transformed anti-HPV antibody (Ab) levels for HPV6 and 11 (AU/mL) and 16 and 18 (IU/mL) are visualized according to vaccination status for first-void urine (left) and serum (right). For HPV6/11 Abs, women previously vaccinated with the bivalent vaccine were considered not vaccinated ( $n = 33/53$  vaccinated;  $n = 23/53$  not vaccinated). For both first-void urine and serum samples, a significant difference in median Ab levels between vaccinated and not vaccinated women was seen for all HPV types ( $p \leq 0.0001$ , Wilcoxon rank-sum test). Adapted from Pattyn et al 2020<sup>10</sup>.



Además, el uso de una muestra de orina de la primera micción ofrece más oportunidades dentro de la investigación relacionada con el VPH. Aunque no esperamos efectos terapéuticos de las vacunas profilácticas contra el VPH actualmente disponibles, los anticuerpos neutralizantes inducidos después de la vacunación pueden interactuar con los viriones recién producidos. Esta interacción puede afectar las infecciones de VPH existentes al evitar que los viriones se propaguen a otros sitios del tracto genital (autoinoculación) y evitar la transmisión a la pareja

sexual <sup>12</sup> . Esta hipótesis biológicamente plausible aún necesita más pruebas moleculares y actualmente se está investigando en nuestro centro de investigación. Dado que la muestra de orina de la primera evacuación captura fácilmente las secreciones genitales que contienen anticuerpos funcionales intactos, también esperamos que contenga viriones de VPH intactos ( **Figura 1** )<sup>13</sup> \_ Sigue siendo un desafío investigar si los anticuerpos anti-VPH inducidos por la vacuna neutralizan los viriones intactos del VPH y, por lo tanto, podrían evitar la autoinoculación y la transmisión a otra persona. Sin embargo, si se confirma, esto afectará sustancialmente la forma en que podemos modelar, evaluar e implementar de manera óptima los programas de vacunación contra el VPH, ya que todavía hay renuencia a vacunar a las mujeres (jóvenes) después del debut sexual o a las mujeres diagnosticadas con una infección por VPH.

En resumen, la orina de la primera micción tiene el potencial de convertirse en la biopsia líquida ideal del tracto genital para la investigación relacionada con el VPH. El uso de una sola muestra no invasiva recolectada en el hogar para el seguimiento de la infección y la vacunación crea oportunidades novedosas y prometedoras para el monitoreo de enfermedades y vacunas en grandes estudios epidemiológicos. Además, el uso de una muestra de orina de la primera evacuación ayudará en nuestra búsqueda para definir un correlato de protección.

*Traducción y adaptación: Dra. Patricia Cingolani*

**Fuente:** [www.HPVWorld.com](http://www.HPVWorld.com) , 191

<https://www.hpvworld.com/articles/first-void-urine-as-liquid-biopsy-for-hpv-vaccine-induced-antibody-detection/>

## **AGRADECIMIENTOS**

*Parte de este trabajo realizado por LT, SVK y AV fue apoyado por el Fondo de Investigación Industrial de la Universidad de Amberes, Bélgica (Subvención No. PS ID 32387) y un Programa de Estudio de Investigadores de Merck (Subvención No. IIS #59401). SVK cuenta con el apoyo de una beca postdoctoral junior de la Fundación de Investigación - Flandes (FWO), Bélgica (Subvención No. 1240220N). AV participó en las reuniones del consejo asesor de Merck. Las cuotas de participación se pagan directamente a un fondo educativo de la Universidad de Amberes. AV trabaja en parte para la secretaría ejecutiva de la junta de prevención y control del VPH. La secretaría tiene su sede en el Centro para la Evaluación de la Vacunación (CEV) de la Universidad de Amberes, donde tiene a su disposición la infraestructura y los servicios administrativos de la Universidad. La junta de prevención y control del VPH cuenta con el apoyo de subvenciones sin restricciones de la industria (incluidos GlaxoSmithKline Biologicals, Sanofi Pasteur MSD, Merck, Abbott y Hologic), varias universidades de Europa y otras instituciones. AV es cofundador de Novosanis (Bélgica), una empresa spin-off de la Universidad de Amberes, y fue accionista minoritario hasta enero de 2019.*

## **Referencias**

1. Siravegna G et al. How liquid biopsies can change clinical practice in oncology. *Annals of Oncology* vol. 30 1580–1590 (2019). Available from: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz227>
2. van Keer S et al. First-void urine: A potential biomarker source for triage of high-risk human

papillomavirus infected women. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 216, 1–11 (2017). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2017.06.036>

3. Vorsters A et al. Optimization of HPV DNA detection in urine by improving collection, storage, and extraction. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 33, 2005–2014 (2014). Available from: <https://doi.org/10.1007/s10096-014-2147-2>

4. Pattyn J et al. HPV DNA detection in urine samples of women: ‘an efficacious and accurate alternative to cervical samples?’ *Expert Review of Anti-Infective Therapy* vol. 17 755–757 (2019). Available from: <https://doi.org/10.1080/14787210.2019.1668776>

5. Augustus E et al. The art of obtaining a high yield of cell-free DNA from urine. *PLoS ONE* 15, (2020). Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231058>

6. Vorsters A et al. Urine testing for HPV: Rationale for using first void. *BMJ (Online)* 349, 6252 (2014). Available from: <https://doi.org/10.1136/bmj.g6252>

7. Pathak N et al. Accuracy of urinary human papillomavirus testing for presence of cervical HPV: Systematic review and meta-analysis. *BMJ (Online)* 349, (2014). Available from: <https://doi.org/10.1136/bmj.g5264>

8. Pattyn J et al. A. Non-invasive Assessment of Vaccine-Induced HPV Antibodies via First-Void Urine. *Frontiers in Immunology* 11, (2020). Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01657>

9. van Keer S et al. First-void urine as a non-invasive liquid biopsy source to detect vaccine-induced human papillomavirus antibodies originating from cervicovaginal secretions. *Journal of Clinical Virology* 117, 11–18 (2019). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2019.05.004>

10. Pattyn J et al. Comparison of a VLP-based and GST-L1-based multiplex immunoassay to detect vaccine-induced HPV-specific antibodies in first-void urine. *Journal of Medical Virology* 92, 3774–3783 (2020). Available from: <https://doi.org/10.1002/jmv.25841>

11. Franceschi S et al. Options for design of real-world impact studies of single-dose vaccine schedules. *Vaccine* 36, 4816–4822 (2018). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.02.002>

12. Schiller JT, Davies P. Delivering on the promise: HPV vaccines and cervical cancer. *Nature Reviews Microbiology* 2, 343–347 (2004). Available from: <https://doi.org/10.1038/nrmicro867>

13. Vorsters A et al. HPV vaccination: Are we overlooking additional opportunities to control HPV infection and transmission? *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 88, 110–112 (2019). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.09.006>

HPVWorld is a project endorsed by

