

## PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

cobas <sup>®</sup> 4800 System Sample Preparation Kit	c4800 SMPL PREP	960 Tests	P/N: 05235804190
		240 Tests	P/N: 05235782190
cobas <sup>®</sup> 4800 HPV Amplification/Detection Kit	c4800 HPV AMP/DET	960 Tests	P/N: 05235910190
		240 Tests	P/N: 05235901190
cobas <sup>®</sup> 4800 HPV Controls Kit	c4800 HPV CTLS	10 Sets	P/N: 05235855190
cobas <sup>®</sup> 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit	c4800 LIQ CYT	960 Tests	P/N: 05235839190
		240 Tests	P/N: 05235812190
cobas <sup>®</sup> 4800 System Wash Buffer Kit	c4800 WB	960 Tests	P/N: 05235871190
		240 Tests	P/N: 05235863190

**AVISO: la compra del producto permite al comprador su uso para la amplificación y detección de secuencias de ácidos nucleicos mediante procesos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y otros procesos relacionados con el diagnóstico *in vitro* de tejidos humanos. La compra no garantiza ninguna patente general ni ninguna otra licencia de ningún tipo a excepción de este derecho específico de uso.**

### USO PREVISTO

La prueba del virus del papiloma humano (HPV) cobas<sup>®</sup> 4800 es una prueba cualitativa *in vitro* para la detección del virus del papiloma humano en muestras de pacientes. La prueba utiliza la amplificación del fragmento de ADN objetivo mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la hibridación de ácidos nucleicos para la detección de 14 tipos de alto riesgo (AR) del HPV en un único análisis. La prueba identifica específicamente los genotipos HPV16 y HPV18, además de detectar simultáneamente el resto de los tipos de alto riesgo (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) en niveles de infección clínicamente relevantes. Las muestras se limitan a células cervicales conservadas en Roche Cell Collection Medium (Roche Molecular Systems, Inc), solución PreservCyt<sup>®</sup> (Hologic Corp.) y fluido conservante SurePath<sup>™</sup> (BD Diagnostics-TriPath).

A continuación figuran las indicaciones de uso para la prueba cobas<sup>®</sup> 4800 HPV:

- La prueba cobas<sup>®</sup> 4800 HPV está indicada para el cribado de pacientes en cuyos resultados de la citología cervical se han detectado ASCUS (células escamosas atípicas de significado indeterminado) a fin de determinar si es necesario realizar una colposcopia.
- La prueba cobas<sup>®</sup> 4800 HPV está indicada para el cribado de pacientes en cuyos resultados de la citología cervical se han detectado ASCUS con objeto de valorar la presencia o ausencia de los genotipos de alto riesgo 16 y 18 del HPV.
- La prueba cobas<sup>®</sup> 4800 HPV está indicada para su uso conjunto con una citología cervical para valorar la presencia o ausencia de tipos de alto riesgo del HPV.
- La prueba cobas<sup>®</sup> 4800 HPV está indicada para su uso conjunto con una citología cervical a fin de valorar la presencia o ausencia de los genotipos 16 y 18 del HPV.
- La prueba cobas<sup>®</sup> 4800 HPV está indicada para su uso como una prueba de cribado primario de primera línea para identificar mujeres con riesgo elevado de desarrollar cáncer cervical o que ya presentan la enfermedad de alto grado.
- La prueba cobas<sup>®</sup> 4800 HPV está indicada para su uso como una prueba de cribado primario de primera línea con objeto de valorar la presencia o ausencia de los genotipos 16 y 18 del HPV.

La prueba cobas<sup>®</sup> 4800 HPV también puede utilizarse con muestras vaginales de autonoa con instrucciones del personal sanitario recogidas en Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt<sup>®</sup>.

Los resultados obtenidos con la prueba cobas<sup>®</sup> HPV, junto con la valoración médica de la historia citológica, otros factores de riesgo y las directrices profesionales, pueden utilizarse como ayuda en la gestión de los pacientes. Los resultados de la prueba cobas<sup>®</sup> HPV no tienen como finalidad evitar que las mujeres se sometan a una colposcopia.

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Las infecciones persistentes por el virus del papiloma humano (HPV) son la causa de cáncer cervical y de su afección precursora, la neoplasia intraepitelial cervical (CIN)<sup>1-3</sup>. La presencia de HPV está relacionada con más de un 99% de los casos de cáncer cervical en todo el mundo<sup>3</sup>. El HPV es un virus ADN bicatenario pequeño sin envuelta con un genoma de unos 8.000 nucleótidos. Existen más de 118 genotipos de HPV<sup>4,5</sup> distintos, y unos 40 genotipos de HPV que pueden infectar la mucosa anogenital humana<sup>6,7</sup>. Sin embargo, solamente un subconjunto de unos 13 a 18 de estos genotipos es considerado de alto riesgo para el desarrollo del cáncer cervical y sus lesiones precursoras<sup>3,8-13</sup>. En un análisis de los datos obtenidos por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) a raíz de un estudio de casos y controles de varios centros, la OR (Odds Ratio) combinada para el cáncer cervical con células escamosas con infección por HPV fue de 158,2 cuando el análisis se limitó a los estudios que utilizaban técnicas de detección del HPV con una correcta validación<sup>12</sup>. En este estudio, la odds ratio del cáncer cervical osciló entre 109 y 276 en los estudios realizados en las distintas partes del mundo<sup>12</sup>.

Aunque las infecciones persistentes con HPV de alto riesgo (AR) son una causa necesaria del cáncer cervical y sus lesiones precursoras, un porcentaje muy pequeño de infecciones puede llegar a estos estadios de enfermedad. Las infecciones de transmisión sexual por HPV son muy comunes. Se estima que hasta un 75% de mujeres están expuestas al virus HPV en algún momento de su vida<sup>14</sup>. No obstante, > 90% de las mujeres infectadas son capaces de generar una respuesta inmune eficaz y erradicar la infección en un período de 6 a 24 meses sin sufrir consecuencias a largo plazo para la salud<sup>15-20</sup>. Una infección con cualquier tipo de HPV puede producir neoplasia intraepitelial cervical (CIN) aunque esta lesión suele resolverse una vez que desaparece la infección por HPV<sup>21</sup>.

En los países desarrollados en los que se aplican programas de detección de cáncer cervical se utiliza el examen de Pap desde mediados de los años 50 como herramienta principal para detectar síntomas precursores del cáncer cervical. A pesar de que se ha reducido drásticamente la tasa de mortalidad por cáncer cervical en estos países, el examen de Pap requiere que la interpretación la efectúen citopatólogos con gran experiencia y la prueba presenta un relativo nivel de imprecisión con una elevada tasa de falsos negativos. Las anomalías citológicas observadas en el examen de Pap se deben principalmente a la infección por el HPV; no obstante, algunas variaciones inflamatorias o de las muestras pueden dar lugar a falsos

positivos de la prueba de Pap. El cribado de un examen de Pap anormal obliga a repetir la prueba, a realizar una colposcopia y una biopsia. Una lesión de grado alto confirmada por histología puede eliminarse mediante cirugía para evitar el desarrollo de un cáncer cervical invasivo.

El virus del papiloma humano es muy difícil de cultivar *in vitro*, y no todos los pacientes infectados por el HPV presentan un título de anticuerpos demostrable. Las pruebas del ácido nucleico (ADN) mediante la PCR constituyen un método no invasivo para determinar la presencia de una infección cervical por HPV. La implementación de las pruebas de ADN del HPV han aumentado la eficacia de los programas de detección de cáncer cervical gracias a la detección precoz de lesiones de alto riesgo en mujeres de 30 años en adelante con citología cervical negativa a lesión intraepitelial o normal (NILM) y a la reducción de las pruebas de colposcopia y tratamientos innecesarios en pacientes de 21 años en adelante con citología ASCUS. Además, se ha documentado la mayor sensibilidad de la prueba del HPV con relación al examen de Pap para la detección de la enfermedad de alto en la población cribada<sup>22,23</sup>. Una vez que se ha establecido la mayor sensibilidad de la prueba de ADN del HPV, se ha propuesto y adoptado la prueba de ADN del HPV como prueba de cribado primario de primera línea para algunos programas de cribado.

## PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV se basa en dos procesos principales: (1) preparación automatizada de las muestras para extraer simultáneamente ADN del HPV y ADN celular; (2) amplificación mediante PCR<sup>24</sup> de secuencias objetivo de ADN mediante pares de cebadores complementarios para el HPV y la  $\beta$ -globina y la detección a tiempo real de sondas de detección de oligonucleótidos escindidas mediante marcadores fluorescentes específicos para el HPV y la  $\beta$ -globina. Los procesos simultáneos de extracción, amplificación y detección de la  $\beta$ -globina en la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV supervisa el proceso completo.

El reactivo de mezcla maestra (Master Mix) de la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV contiene pares de cebadores y sondas específicos para el ADN de los 14 genotipos de HPV de alto riesgo y de la  $\beta$ -globina. La detección del ADN amplificado (amplicón) se lleva a cabo durante los ciclos térmicos con ayuda de sondas de oligonucleótidos con cuatro marcadores fluorescentes distintos. La señal amplificada de los doce genotipos de HPV de alto riesgo (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) se detecta con el mismo marcador fluorescente, mientras que las señales del HPV16 y HPV18 y de la  $\beta$ -globina se detectan con marcadores fluorescentes específicos.

### Preparación de la muestra

La preparación de muestras para la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV se realiza de forma automatizada con el **cobas**<sup>®</sup> x 480 instrument. La digestión de las muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt<sup>®</sup> o fluido conservante SurePath<sup>™</sup> se realiza en condiciones de desnaturalización a temperaturas elevadas y luego se procede al lisado con un reactivo caotrópico. A continuación se purifican los ácidos nucleicos HPV liberados, junto con el ADN de la  $\beta$ -globina que actúa como control del proceso, mediante la absorción de las partículas magnéticas. Posteriormente se lavan y finalmente se separan de dichas partículas, con lo que quedan listos para la amplificación mediante PCR y la detección.

### Amplificación mediante PCR

#### Selección del fragmento objetivo

La prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV utiliza cebadores para definir una secuencia de aproximadamente 200 nucleótidos de la región polimórfica L1 del genoma del HPV. La mezcla maestra incluye un conjunto de cebadores para el HPV diseñados para amplificar el ADN del HPV de los 14 tipos de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68)<sup>3,8-13,25</sup>. Las sondas de oligonucleótidos fluorescentes se unen a las regiones polimórficas de la secuencia definida por dichos cebadores.

Un par de cebadores y una sonda adicionales son específicos para el gen humano de la  $\beta$ -globina (amplicón de 330 bp) y actúan como control del proceso.

#### Amplificación del fragmento objetivo

La ADN polimerasa<sup>26</sup> EagleZ05, una versión químicamente modificada de la ADN polimerasa de *Thermus species* Z05<sup>27</sup>, se utiliza para la amplificación "de inicio en caliente" de los fragmentos objetivos del HPV y el control de la  $\beta$ -globina. Primero se calienta la mezcla de reacción de la PCR para activar la ADN polimerasa EagleZ05 para desnaturalizar el ADN vírico y el ADN genómico y exponer las secuencias objetivo de los cebadores. A medida que se enfría la mezcla (tanto en sentido ascendente como descendente), los cebadores inician la fase de annealing con las secuencias del ADN objetivo. La ADN polimerasa EagleZ05, en presencia de metal divalente y exceso de dNTP, prolonga los cebadores y genera la síntesis de la segunda cadena de ADN. Con ello se completa el primer ciclo de la PCR, que da lugar a una copia de ADN bicatenario del fragmento objetivo del genoma del HPV y del gen  $\beta$ -globina. La ADN polimerasa elonga los cebadores hibridados junto con las plantillas objetivo para producir una molécula de ADN bicatenario objetivo del HPV de aproximadamente 200 pares de base o una molécula de ADN de  $\beta$ -globina de 330 pares de base denominada amplicón. Este proceso se repite un número determinado de ciclos, en cada uno de los cuales se duplica el volumen de ADN amplicón. La amplificación se produce solamente en la región del genoma de HPV y/o en el gen de la  $\beta$ -globina comprendidos entre el par de cebadores adecuado. No se amplifica el genoma completo.

#### Detección a tiempo real automatizada


La prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV utiliza la tecnología de PCR en tiempo real<sup>29,30</sup>. Cada sonda de oligonucleótido de la reacción posee un marcador fluorescente que actúa como emisor (reporter) y un enmascarador (quencher) que silencia las emisiones de fluorescencia del marcador de las sondas intactas. Conforme avanza la amplificación, las sondas complementarias del amplicón se unen a las secuencias de ADN bicatenario específicas y luego se escinden por la actividad de las nucleasas 5' a 3' de la ADN polimerasa EagleZ05. Una vez que el marcador emisor se separa del enmascarador por la actividad de la nucleasa, emite una señal de fluorescencia con una longitud de onda característica cuando se excita con el espectro lumínico adecuado. La longitud de onda característica de cada marcador permite medir de forma independiente el amplicón del HPV16, el amplicón del HPV18, otros amplicones de AR (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) y el control de  $\beta$ -globina puesto que las sondas específicas para dichas secuencias poseen marcadores distintos.

#### Amplificación selectiva

La amplificación selectiva de los ácidos nucleicos objetivo de la muestra clínica se logra en la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV mediante la enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) y el trifosfato de desoxiuridina (dUTP). La enzima AmpErase reconoce y cataliza la destrucción de las cadenas de ADN que contienen desoxiuridina<sup>28</sup>, pero no las del ADN que contiene desoxitimidina. El ADN natural carece de desoxiuridina, que sin embargo está siempre presente en los amplicones debido al empleo de trifosfato de desoxiuridina en lugar de trifosfato de timidina como uno de los dNTP del reactivo de mezcla maestra; por lo tanto, solamente el amplicón contiene desoxiuridina. La desoxiuridina hace al amplicón contaminante susceptible de destrucción por la enzima AmpErase antes de la amplificación del ADN objetivo. La enzima AmpErase, que se incluye en el reactivo de mezcla maestra, cataliza la escisión del ADN que contiene desoxiuridina en la posición de los residuos de desoxiuridina abriendo la cadena de desoxirribosa en la posición C1. Cuando se calienta en el primer paso del ciclo térmico, la cadena de ADN amplicón se rompe en la posición de la desoxiuridina, por


lo que el ADN ya no puede amplificarse. La enzima AmpErase es inactiva a temperaturas superiores a los 55 °C, es decir, durante los pasos de la ciclación térmica y, por consiguiente, no destruye el amplicón objetivo. La enzima AmpErase de la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV es capaz de inactivar un mínimo de 10<sup>3</sup> copias de amplicón del HPV que contiene desoxiuridina en cada ciclo de PCR.

## REACTIVOS

<b>cobas</b> <sup>®</sup> 4800 System Sample Preparation Kit (c4800 SMPL PREP) 240 pruebas (P/N: 05235782190)			
Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia <sup>a</sup>
<b>MGP</b> (Micropartículas magnéticas para el sistema <b>cobas</b> <sup>®</sup> 4800)	Micropartículas magnéticas 93% de isopropanol <sup>b</sup>	10 × 4,5 ml	 <p><b>PELIGRO</b></p> <p>H225: Líquido y vapores muy inflamables. H319: Provoca irritación ocular grave. H336: Puede provocar somnolencia o vértigo. P210: Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar. P233: Mantener el recipiente herméticamente cerrado. P261: Evitar respirar la niebla o los vapores. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección/protección para los oídos. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua/ducharse. P370 + P378: En caso de incendio: utilizar arena seca, polvo químico seco o espuma resistente al alcohol para la extinción. 67-63-0 Propan-2-ol</p>
<b>EB</b> (Tampón de elución para el <b>cobas</b> <sup>®</sup> 4800 System)	Tampón Tris 0,09% de azida sódica	10 × 18 ml	N/A


<sup>a</sup> Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

<sup>b</sup> Sustancia peligrosa

<b>cobas</b> <sup>®</sup> 4800 System Sample Preparation Kit (c4800 SMPL PREP) 960 pruebas (P/N: 05235804190)			
Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia <sup>a</sup>
<b>MGP</b> (Micropartículas magnéticas para el sistema <b>cobas</b> <sup>®</sup> 4800)	Micropartículas magnéticas 93% de isopropanol <sup>b</sup>	10 × 13,5 ml	 <p><b>PELIGRO</b></p> <p>H225: Líquido y vapores muy inflamables. H319: Provoca irritación ocular grave. H336: Puede provocar somnolencia o vértigo. P210: Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar. P233: Mantener el recipiente herméticamente cerrado. P261: Evitar respirar la niebla o los vapores. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección/protección para los oídos. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P370 + P378: En caso de incendio: utilizar arena seca, polvo químico seco o espuma resistente al alcohol para la extinción. 67-63-0 Propan-2-ol</p>
<b>EB</b> (Tampón de elución para el <b>cobas</b> <sup>®</sup> 4800 System)	Tampón Tris 0,09% de azida sódica	10 × 18 ml	N/A


<sup>a</sup> Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

<sup>b</sup> Sustancia peligrosa

cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (c4800 WB) 240 pruebas (P/N: 05235863190)			
Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia <sup>a</sup>
<b>WB</b> <b>(Buffer de lavado para el cobas® 4800 System)</b>	Citrato de sodio dihidratado 0,05 % de N-metilisotiazolona-HCl <sup>b</sup>	10 x 55 ml	 <p><b>ADVERTENCIA</b></p> <p>H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.</p> <p>P261: Evitar respirar la niebla o los vapores.</p> <p>P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.</p> <p>P280: Utilice guantes protectores.</p> <p>P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico.</p> <p>P362 + P364: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.</p> <p>P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.</p> <p>26172-54-3 Clorhidrato de 2-metil-2H-isotiazol-3-ona</p>

<sup>a</sup> Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.



<sup>b</sup> Sustancia peligrosa.

cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (c4800 WB) 960 pruebas (P/N: 05235871190)			
Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia <sup>a</sup>
<b>WB</b> <b>(Buffer de lavado para el cobas® 4800 System)</b>	Citrato de sodio dihidratado 0,05 % de N-metilisotiazolona-HCl <sup>b</sup>	10 x 200 ml	 <p><b>ADVERTENCIA</b></p> <p>H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.</p> <p>P261: Evitar respirar la niebla o los vapores.</p> <p>P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.</p> <p>P280: Utilice guantes protectores.</p> <p>P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico.</p> <p>P362 + P364: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.</p> <p>P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.</p> <p>26172-54-3 Clorhidrato de 2-metil-2H-isotiazol-3-ona</p>

<sup>a</sup> Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.



<sup>b</sup> Sustancia peligrosa.

**cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit (c4800 LIQ CYT)**  
**240 pruebas (P/N: 05235812190)**

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia <sup>a</sup>
<b>PK</b> <b>(Proteinasa K para cobas® 4800)</b>	Buffer Tris < 0,05 % de EDTA Cloruro de calcio Acetato de calcio Glicerol < 2 % de proteinasa K <sup>b</sup>	10 × 0,9 ml	 <p><b>PELIGRO</b></p> <p>H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.</p> <p>H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.</p> <p>P261: Evitar respirar la niebla o los vapores.</p> <p>P280: Utilice guantes protectores.</p> <p>P284: Llevar equipo de protección respiratoria.</p> <p>P304 + P340: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración.</p> <p>P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico.</p> <p>P342 + P311: En caso de síntomas respiratorios: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.</p> <p>39450-01-6 Proteinasa, serina de <i>Tritirachium album</i></p>
<b>SDS</b> <b>(Reactivo SDS para el cobas® 4800 System)</b>	Buffer Tris 0,2 % de SDS 0,09 % de azida sódica	10 × 3 ml	n.a.
<b>LYS</b> <b>(Buffer de lisis para el cobas® 4800 System)</b>	Buffer Tris 37 % (p/p) de guanidina HCl <sup>b</sup> < 5 % de polidocanol <sup>b</sup>	10 × 10 ml	 <p><b>PELIGRO</b></p> <p>H302: Nocivo por ingestión.</p> <p>H315: Provoca irritación cutánea.</p> <p>H318: Provoca lesiones oculares graves.</p> <p>P264: Lavarse la piel concienzudamente tras la manipulación.</p> <p>P270: No comer, beber ni fumar durante su utilización.</p> <p>P280: Llevar guantes/gafas/máscara de protección.</p> <p>P301 + P312 + P330: EN CASO DE INGESTIÓN: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico en caso de malestar. Enjuagarse la boca.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.</p> <p>P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.</p> <p>50-01-1 Cloruro de guanidina</p> <p>9002-92-0 Polidocanol</p>

<sup>a</sup> Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

<sup>b</sup> Sustancia peligrosa.

cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit (c4800 LIQ CYT) 960 pruebas (P/N: 05235839190)			
Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia <sup>a</sup>
<b>PK</b> (Proteinasa K para cobas® 4800)	Buffer Tris < 0,05 % de EDTA Cloruro de calcio Acetato de calcio Glicerol < 2 % de proteinasa K <sup>b</sup>	20 × 1,2 ml	 <p><b>PELIGRO</b></p> <p>H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. P261: Evitar respirar la niebla o los vapores. P280: Utilice guantes protectores. P284: Llevar equipo de protección respiratoria. P304 + P340: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. P342 + P311: En caso de síntomas respiratorios: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 39450-01-6 Proteinasa, serina de <i>Tritirachium album</i></p>
<b>SDS</b> (Reactivo SDS para el cobas® 4800 System)	Buffer Tris 0,2 % de SDS 0,09 % de azida sódica	10 × 9 ml	n.a.
<b>LYS</b> (Buffer de lisis para el cobas® 4800 System)	Buffer Tris 37 % (p/p) de guanidina HCl <sup>b</sup> < 5 % de polidocanol <sup>b</sup>	10 × 36 ml	 <p><b>PELIGRO</b></p> <p>H302: Nocivo por ingestión. H315: Provoca irritación cutánea. H318: Provoca lesiones oculares graves. P264: Lavarse la piel concienzudamente tras la manipulación. P270: No comer, beber ni fumar durante su utilización. P280: Llevar guantes/gafas/máscara de protección. P301 + P312 + P330: EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico en caso de malestar. Enjuagarse la boca. P305 + P351 + P338 + P310: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. 50-01-1 Cloruro de guanidina 9002-92-0 Polidocanol</p>

<sup>a</sup> Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

<sup>b</sup> Sustancia peligrosa.

<b>cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit (c4800 HPV AMP/DET)</b> 240 pruebas (P/N: 05235901190)			
<b>Componentes del kit</b>	<b>Ingredientes del reactivo</b>	<b>Cantidad por kit</b>	<b>Símbolo de seguridad y advertencia</b>
<b>HPV MMX</b> <b>(Mezcla maestra cobas® 4800 HPV)</b>	Tampón tricina Acetato de potasio Hidróxido potásico Glicerol < 0,13% de dATP, dCTP, dGTP y dUTP < 0,01% de cebadores ascendente y descendente del HPV < 0,01% de cebadores ascendente y descendente de β-globina < 0,01% de sondas con marcador fluorescente para HPV < 0,01% de sondas con marcación fluorescente para β-globina < 0,10% de ADN polimerasa EagleZ05 (microbiana) < 0,10% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana) 0,09% de azida sódica	10 × 0,5 ml	N/A
<b>HPV Mg/Mn</b> <b>(Solución Mg/Mn para cobas® 4800 HPV)</b>	Acetato de magnesio Acetato de manganeso < 0,02% de ácido acético glacial 0,09% de azida sódica	10 × 1,0 ml	N/A

<b>cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit (c4800 HPV AMP/DET)</b> 960 pruebas (P/N: 05235910190)			
<b>Componentes del kit</b>	<b>Ingredientes del reactivo</b>	<b>Cantidad por kit</b>	<b>Símbolo de seguridad y advertencia</b>
<b>HPV MMX</b> <b>(Mezcla maestra cobas® 4800 HPV)</b>	Tampón tricina Acetato de potasio Hidróxido potásico Glicerol < 0,13% de dATP, dCTP, dGTP y dUTP < 0,01% de cebadores ascendente y descendente del HPV < 0,01% de cebadores ascendente y descendente de β-globina < 0,01% de sondas con marcador fluorescente para HPV < 0,01% de sondas con marcación fluorescente para β-globina < 0,10% de ADN polimerasa EagleZ05 (microbiana) < 0,10% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana) 0,09% de azida sódica	20 × 1,0 ml	N/A
<b>HPV Mg/Mn</b> <b>(Solución Mg/Mn para cobas® 4800 HPV)</b>	Acetato de magnesio Acetato de manganeso < 0,02% de ácido acético glacial 0,09% de azida sódica	10 × 1,0 ml	N/A

<b>cobas® 4800 HPV Controls Kit (c4800 HPV CTLs)</b> 10 juegos (P/N: 05235855190)			
<b>Componentes del kit</b>	<b>Ingredientes del reactivo</b>	<b>Cantidad por kit</b>	<b>Símbolo de seguridad y advertencia</b>
<b>HPV (+) C</b> <b>(Control positivo para cobas® 4800 HPV)</b>	Tampón Tris EDTA 0,05% de azida sódica < 0,00001% de ARN poli Ar (sintético) < 0,00001% de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencias de HPV 16, 18 y 39 < 0,00001% de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencias de β-globina humanas	10 × 0,5 ml	N/A
<b>(-) C</b> <b>(Control negativo para el sistema cobas® 4800)</b>	Tampón Tris EDTA 0,05% de azida sódica < 0,00001% de ARN poli Ar (sintético)	10 × 0,5 ml	N/A

**NOTA:** las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- A. **PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO.**
- B. Las muestras vaginales de autotoma deben estar resuspendidas en Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt® después de la recogida de la muestra.
- C. Pueden obtenerse resultados falsos negativos o no válidos con muestras de autotoma si las muestras no se resuspenden en medio después de la recogida.
- D. No pipetee con la boca.
- E. No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo del laboratorio. Utilice guantes desechables, batas de laboratorio y protección ocular para manipular las muestras o los reactivos del kit. Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos de las pruebas.
- F. Evite la contaminación microbiana y del ADN de los reactivos.
- G. Deseche los reactivos no utilizados y los residuos según las regulaciones del país, federales, estatales y locales.
- H. No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad.
- I. No haga pools con los reactivos.
- J. Puede solicitar Hojas de Datos de Seguridad del Material (Material Safety Data Sheets, MSDS) en las oficinas locales de Roche.
- K. Es preciso el uso de guantes durante la manipulación de las muestras y los reactivos **cobas® 4800**, así como cambiarse los guantes entre un proceso y otro, para evitar la contaminación.
- L. Las muestras deben tratarse como material infeccioso, utilizando procedimientos de seguridad de laboratorio como los descritos en la publicación *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>31</sup> y en el documento M29-A3 del CLSI<sup>32</sup>.
- M. **LYS** contiene hidrocloreuro de guanidina. **Evite el contacto directo entre hidrocloreuro de guanidina y el hipoclorito de sodio (lejía) u otros reactivos altamente reactivos como ácidos o bases. Tales mezclas pueden producir gases nocivos.** Si se derrama líquido que contenga hidrocloreuro de guanidina, límpielo con un detergente apto para laboratorio y agua. Si se vierte líquido que contenga agentes potencialmente infecciosos, limpie el área afectada **PRIMERO** con detergente para laboratorio y agua y luego con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%.
- N. **MGP** contiene isopropanol y es altamente inflamable. Mantenga el producto lejos de las llamas y lugares donde puedan producirse chispas.
- O. **EB, SDS, HPV MMX, HPV Mg/Mn, (-) C y HPV (+) C** contienen azida sódica. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Si elimina soluciones que contienen azida sódica vertiéndolas en fregaderos de laboratorio, deje correr abundante agua fría para evitar la formación de depósitos de azida.
- P. Utilice guantes desechables, batas de laboratorio y protección ocular cuando manipule los reactivos. Evite el contacto de estos materiales con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua. Pueden producirse quemaduras si se deja sin tratar. Si se producen derrames, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- Q. Los elementos desechables son de un solo uso. No deben reutilizarse.
- R. No utilice soluciones de hipoclorito de sodio (lejía) para limpiar el **cobas® x 480** instrument o el **cobas® z 480** analyzer. Limpie el **cobas® x 480** instrument o el **cobas® z 480** analyzer según los procedimientos descritos en la Asistencia al usuario del **cobas® 4800** System.
- S. Si desea conocer las advertencias, precauciones y procedimientos adicionales para reducir el riesgo de contaminación del **cobas® x 480** instrument o el **cobas® z 480** analyzer, consulte la Asistencia al usuario del **cobas® 4800** System.
- T. No utilice reactivos ni contenedores que estén visiblemente dañados o muestren signos de fuga.
- U. Informe a la autoridad competente local y al fabricante de cualquier incidente grave que pueda tener lugar durante la realización del ensayo.

## REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

- A. **No congele los reactivos.**
- B. Almacene los reactivos **MGP, EB, PK, SDS, LYS, HPV MMX, HPV Mg/Mn, HPV (+) C y (-) C** a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. Estos reactivos se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada.
- C. Almacene el reactivo **WB** a una temperatura comprendida entre 15 y 25 °C. Este reactivo permanece estable hasta la fecha de caducidad indicada.

## MATERIALES SUMINISTRADOS

- |   |                        |                    |
|---|------------------------|--------------------|
| <b>A. cobas® 4800 System Sample Preparation Kit</b><br>Kit de preparación de muestras para el <b>cobas® 4800</b> System<br>(P/N: 05235782190)<br><b>MGP</b><br>(Micropartículas magnéticas para el <b>cobas® 4800</b> System)<br><b>EB</b><br>(Tampón de elución para el <b>cobas® 4800</b> System) | <b>c4800 SMPL PREP</b> | <b>240 pruebas</b> |
| <b>B. cobas® 4800 System Sample Preparation Kit</b><br>Kit de preparación de muestras para el <b>cobas® 4800</b> System<br>(P/N: 05235804190)<br><b>MGP</b><br>(Micropartículas magnéticas para el <b>cobas® 4800</b> System)<br><b>EB</b><br>(Tampón de elución para el <b>cobas® 4800</b> System) | <b>c4800 SMPL PREP</b> | <b>960 pruebas</b> |
| <b>C. cobas® 4800 System Wash Buffer Kit</b><br>Kit de tampón de lavado para el <b>cobas® 4800</b> System<br>(P/N: 05235863190)<br><b>WB</b><br>(Tampón de lavado para el <b>cobas® 4800</b> System)  | <b>c4800 WB</b>        | <b>240 pruebas</b> |

<b>D. cobas® 4800 System Wash Buffer Kit</b> Kit de tampón de lavado para el <b>cobas® 4800 System</b> (P/N: 05235871190)	c4800 WB	<b>960 pruebas</b>
<b>WB</b> (Tampón de lavado para el <b>cobas® 4800 System</b> )		
<b>E. cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit</b> Kit de amplificación/detección <b>cobas® 4800 HPV</b> (P/N: 05235901190)	c4800 HPV AMP/DET	<b>240 pruebas</b>
<b>HPV MMX</b> (Mezcla maestra para <b>cobas® 4800 HPV</b> )		
<b>HPV Mg/Mn</b> (Solución Mg/Mn para <b>cobas® 4800 HPV</b> )		
<b>F. cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit</b> Kit de amplificación/detección <b>cobas® 4800 HPV</b> (P/N: 05235910190)	c4800 HPV AMP/DET	<b>960 pruebas</b>
<b>HPV MMX</b> (Mezcla maestra para <b>cobas® 4800 HPV</b> )		
<b>HPV Mg/Mn</b> (Solución Mg/Mn para <b>cobas® 4800 HPV</b> )		
<b>G. cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit</b> Kit de preparación para citología líquida del <b>cobas® 4800 System</b> (P/N: 05235812190)	c4800 LIQ CYT	<b>240 pruebas</b>
<b>PK</b> (Proteinasa K para <b>cobas® 4800</b> )		
<b>SDS</b> (Reactivo SDS para el <b>cobas® 4800 System</b> )		
<b>LYS</b> (Tampón de lisis para el <b>cobas® 4800 System</b> )		
<b>H. cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit</b> Kit de preparación para citología líquida del <b>cobas® 4800 System</b> (P/N: 05235839190)	c4800 LIQ CYT	<b>960 pruebas</b>
<b>PK</b> (Proteinasa K para <b>cobas® 4800</b> )		
<b>SDS</b> (Reactivo SDS para el <b>cobas® 4800 System</b> )		
<b>LYS</b> (Tampón de lisis para el <b>cobas® 4800 System</b> )		
<b>I. cobas® 4800 HPV Controls Kit</b> Kit de controles <b>cobas® 4800 HPV</b> (P/N: 05235855190)	c4800 HPV CTLS	<b>10 juegos</b>
<b>HPV (+) C</b> (Control positivo para <b>cobas® 4800 HPV</b> )		
<b>(-) C</b> (Control negativo para el <b>cobas® 4800 System</b> )		

## MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

### Manipulación de muestras y reactivos

- Roche Cell Collection Medium (Roche P/N 07994745190, opcional)
- Roche Cell Collection Medium Replacement Caps (Roche P/N 08037230190, opcional)
- Escobillones para recogida de muestras cervicales (Roche P/N 08399832190, opcional)
- Escobillones para recogida de muestras cervicales, estériles (Roche P/N 08779040190, opcional)
- Copan FLOQSwab® para la autotoma de muestras vaginales, 552C.80 (Roche P/N 09032932190)
- Rovers Evalyn® Brush (Roche P/N 09032959190)
- Instrucciones para la suspensión de muestras obtenidas con Copan FLOQSwabs® para la autotoma de muestras vaginales, 552C.80 (Roche P/N 09652671001)
- Instrucciones para la suspensión de muestras obtenidas con el cepillo Evalyn® Brush (Roche P/N 09907238001)
- Puntas CO-RE de 1000 µl, bandeja de 96 (Roche P/N 04639642001 o Hamilton P/N 235905)
- Contenedor de reactivos de 50 ml (Roche P/N 05232732001)
- Contenedor de reactivos de 200 ml (Roche P/N 05232759001)
- Para HPV ASAP v2.0.1, utilice la placa de extracción (pocillos profundos) para el **cobas® 4800 System** de 1,6 ml (Roche P/N 05232716001)

- Para HPV ASAP v2.1, utilice la placa de extracción (pocillos profundos) para el **cobas**<sup>®</sup> 4800 System de 2,0 ml (Roche P/N 06884008001)
- Placa de amplificación y detección (micropocillos) de 0,3 ml y plástico de sellado para el **cobas**<sup>®</sup> 4800 System (Roche P/N 05232724001)
- Bolsa para residuos sólidos [Roche P/N 05530873001 (pequeña) o 04691989001 (grande)]
- Salida de plástico Hamilton STAR (Roche P/N 04639669001)
- Tubos de 13 ml de base redonda (Roche P/N 07958048190) para uso como tubos de muestras secundarios
- Tapones de color neutral (Roche P/N 07958056190; para volver a tapar las muestras ya procesadas en tubos de 13 ml de base redonda)
- Guantes desechables, sin polvo

#### **Instrumentos y software**

- **cobas**<sup>®</sup> x 480 instrument
- **cobas**<sup>®</sup> z 480 analyzer
- Unidad de control del **cobas**<sup>®</sup> 4800 System con versión 2.2 o posteriores del programa
- **cobas**<sup>®</sup> 4800 System con programa PA **cobas**<sup>®</sup> HPV versión 2.0 o posteriores

#### **Equipo y materiales opcionales**

- Tampón de preparación de muestras **cobas**<sup>®</sup> (Roche P/N 06526985190; tampón Tris con detergente)\*
- Pipetas: con capacidad para 1000 µl
- Puntas exentas de DNasa con filtro para aerosol: con capacidad para 1000 µl
- Centrífuga equipada con un rotor para placas basculante con una FCR mínima de 1.500
- Placa magnética independiente (Roche P/N 05440777001)
- Agitador (un solo tubo)
- Agitador con varios tubos [p.ej., VWR P/N 58816-116]
- Etiquetas de código de barras resistentes al calor (RACO Industries, n.º de catálogo RAC-225075-9501)
- Termómetro -20/150 °C (VWR, n.º de catálogo 89095-600) o equivalente
- Bloque de calefacción digital de 120 V (VWR, n.º de catálogo 75838-294) o equivalente
- Módulo de bloque de calor de 12 orificios de 16 mm (VWR, n.º de catálogo 13259-162) o equivalente

\* Una botella abierta del tampón de preparación de muestras **cobas**<sup>®</sup> (CSPB) puede almacenarse a temperatura ambiente (15-30 °C) hasta 21 días y utilizarse hasta 4 veces distintas para el tratamiento preanalítico de las muestras SurePath™.

### **OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS**

**NOTA:** *manipule todas las muestras como si pudieran transmitir agentes infecciosos.*

#### **A. Obtención de muestras**

Se ha validado el uso de muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt<sup>®</sup> y fluido conservante SurePath™ con la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV.

Las muestras vaginales recogidas con FLOQSwab<sup>®</sup> para autotoma vaginal y resuspendidas en Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt<sup>®</sup> Solution han sido validadas para su uso con la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV.

Las muestras vaginales recogidas con Evalyn<sup>®</sup> Brush y suspendidas en Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt<sup>®</sup> han sido validadas para su uso con la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV.

Siga las instrucciones del fabricante para obtener las muestras.

#### **B. Transporte de las muestras**

Las muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt<sup>®</sup> y fluido conservante SurePath™ se pueden transportar a una temperatura comprendida entre 2 y 30 °C. El transporte de las muestras del HPV debe cumplir las reglamentaciones nacionales, federales, estatales y locales para el transporte de agentes etiológicos<sup>33</sup>.

#### **C. Almacenamiento de las muestras**

Las muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt<sup>®</sup> pueden conservarse a una temperatura comprendida entre 2 y 30 °C hasta 6 meses tras la fecha de obtención. Las muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath™ pueden almacenarse a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C durante 6 meses o a una temperatura comprendida entre 15 y 30 °C durante 6 semanas tras la fecha de obtención siempre y cuando se revierta la reticulación producida por la matriz en el fluido conservante SurePath™ mediante el tratamiento con tampón de preparación de muestras **cobas**<sup>®</sup> antes de realizar la prueba de HPV.

## INSTRUCCIONES DE USO

### Instrucciones para la suspensión de muestras obtenidas con

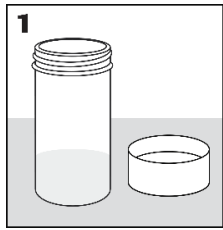
Copan FLOQSwabs® para la autotoma de muestras vaginales (552C.80)

Instrucciones para la manipulación de muestras de autotoma obtenidas mediante hisopos Copan FLOQSwabs® para la autotoma vaginal (552C.80) y su análisis con las pruebas **cobas**® 4800 HPV o **cobas**® HPV.

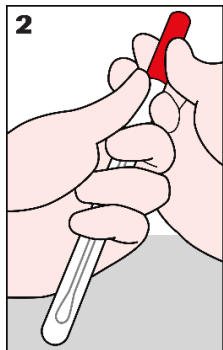
#### La muestra de autotoma debe introducirse en un medio después de su obtención.

- Lea todas las instrucciones antes de iniciar la suspensión de la muestra.
- Siga las instrucciones de uso del fabricante del dispositivo de obtención para obtener la muestra.
- Una vez obtenida, proceda con las siguientes instrucciones para conservar la muestra:

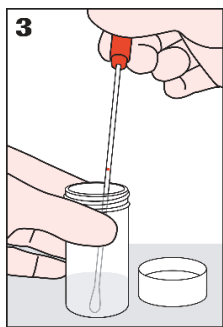
#### Manipule con cuidado la muestra obtenida.



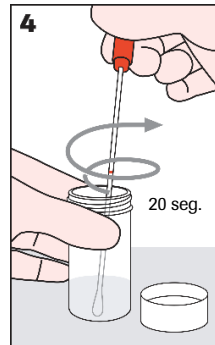
**1.** Desenrosque **con cuidado** la tapa del vial que contiene el medio y colóquelo en una superficie plana estable.



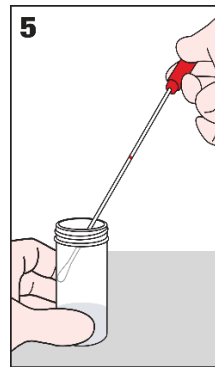
**2.** Retire **lentamente** el tapón de FLOQSwab para extraer el hisopo del tubo. **Evite tocar las paredes internas del tubo mientras extrae el hisopo FLOQSwab.**



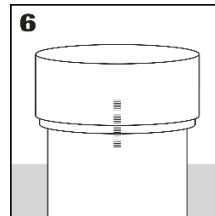
**3.** Sujete el vial con una mano mientras con la otra coloca la punta del hisopo FLOQSwab en el vial y **lo introduce hasta que quede completamente sumergido en el medio y toque el fondo** del vial.



**4.** Sujete el vial y **gire el hisopo FLOQSwab frotándolo contra la pared interior del vial durante 20 segundos, asegurándose de que en todo momento quede sumergido** en el medio. Extreme el cuidado para no salpicar.



**5.** Arrastre hacia arriba el hisopo FLOQSwab con cuidado por la pared interna del vial hasta que la punta deje de estar sumergida en el medio. **Presione la punta contra la pared interna del vial para drenar el fluido** del hisopo. Coloque el hisopo FLOQSwab en el tubo y deséchelo.



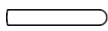
**6.** Vuelva a **tapar** el vial hasta que **las líneas del tapón y el vial coincidan o se solapen ligeramente** para evitar fugas. Consérvelo en posición vertical.

**7.** La muestra ya puede analizarse con las pruebas **cobas**® 4800 HPV o **cobas**® HPV.

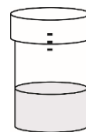
#### Glosario



**FLOQSwab/Swab:** dispositivo para autotoma utilizado para obtener una muestra.



**Tubo:** recipiente protector en el que se suministra el dispositivo para autotoma y que se puede utilizar para almacenar temporalmente el dispositivo para autotoma una vez obtenida la muestra.



**Vial:** recipiente con 20 ml de solución clara. La muestra obtenida debe transferirse a este recipiente, que será el que debe enviarse al laboratorio para el análisis.

**Medio:** nombre con el que se denomina el líquido contenido en el vial.

## Instrucciones para la suspensión de muestras obtenidas con

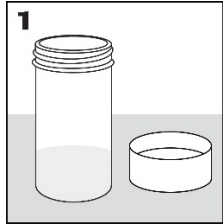
Rovers Evalyn® Brush

Instrucciones para la manipulación de muestras de autotoma obtenidas mediante Rovers Evalyn® Brush para el análisis con las pruebas **cobas® 4800 HPV** o **cobas® HPV**.

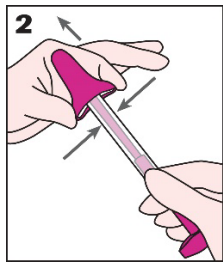
**La muestra de autotoma debe introducirse en un medio después de su obtención.**

- **Lea todas las instrucciones antes de iniciar la suspensión de la muestra.**
- Siga las instrucciones de uso del fabricante del dispositivo de obtención para obtener la muestra.
- Una vez obtenida, proceda con las siguientes instrucciones para conservar la muestra:

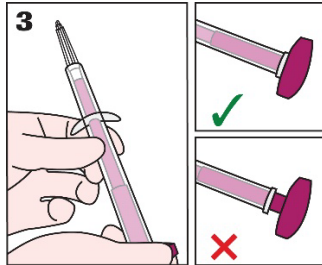
**Manipule con cuidado la muestra obtenida.**



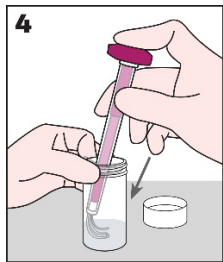
**1.** Desenrosque **con cuidado** la tapa del vial que contiene el medio y colóquelo en una superficie plana estable.



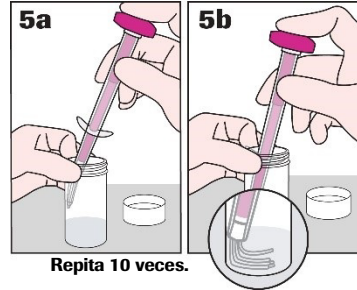
**2.** Retire el tapón de color rosa del cepillo Evalyn Brush **procurando no tocar el extremo que queda expuesto.**



**3.** Presione el émbolo rosa hasta que encaje y aparezca el cepillo blanco. **Evite que el cepillo toque cualquier cosa** (p. ej., dedos, superficies).



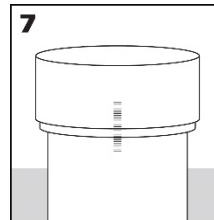
**4.** Sujete el vial con una mano mientras con la otra coloca el cepillo blanco en el vial de forma que **las cerdas queden completamente sumergidas en el medio y las alas queden por encima de la abertura del vial.**



**5.** Mientras sujeta el vial, sumerja el cepillo con fuerza, **apretando el cepillo blanco contra el fondo y la pared interior del vial 10 veces para maximizar la liberación de la muestra.** Extreme el cuidado para no salpicar.



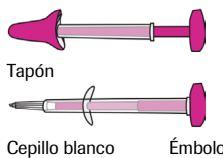
**6.** Retire el cepillo blanco arrastrándolo por la pared interior del vial primario hasta que ya no esté sumergido en el medio. **Presione el cepillo contra la pared interna del vial para drenar el fluido** del cepillo. Vuelva a colocar el cepillo Evalyn Brush en el interior del embalaje y deséchelo.



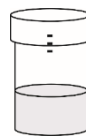
**7.** **Vuelva a tapar** el vial hasta que **las líneas del tapón y el vial coincidan o se solapen ligeramente** para evitar fugas. Consérvelo en posición vertical.

**8.** La muestra ya puede analizarse con las pruebas **cobas® 4800 HPV** o **cobas® HPV**.

### Glosario



**Evalyn Brush:** dispositivo para autotoma utilizado para obtener una muestra.



**Vial:** recipiente con 20 ml de solución clara. La muestra obtenida debe transferirse a este recipiente, que será el que debe enviarse al laboratorio para el análisis.

**Medio:** nombre con el que se denomina el líquido contenido en el vial.

**NOTA:** todos los reactivos, excepto HPV MMX y HPV Mg/Mn, deben estar a temperatura ambiente antes de introducirlos en el cobas® x 480 instrument. Los reactivos HPV MMX y HPV Mg/Mn pueden obtenerse directamente del almacenamiento a 2-8 °C, puesto que alcanzarán la temperatura ambiente para cuando vayan a ser utilizados después de cargarse en el cobas® x 480 instrument.

**NOTA:** las muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™ deben estar a temperatura ambiente antes de proceder a cargarlas en el cobas® x 480 instrument.

**NOTA:** consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener información detallada sobre el funcionamiento.

#### Tamaño de la serie:

El cobas® 4800 System se ha diseñado para poder utilizar la prueba cobas® 4800 HPV con tamaños de serie de 1 a 94 muestras más controles (hasta 96 ensayos por serie). Todos los kits de preparación de muestras para el cobas® 4800 System, los kits de preparación para citología líquida del cobas® 4800 System y los kits de tampón de lavado para el cobas® 4800 System contienen reactivos suficientes para 10 series de 24 pruebas (240 pruebas por kit) o de 96 pruebas (960 pruebas por kit). Todos los kits de amplificación/detección para cobas® 4800 HPV contienen reactivos suficientes para 10 series de 24 pruebas (240 pruebas por kit) o de 96 pruebas (960 pruebas por kit); pueden utilizarse varios kits de 240 pruebas para optimizar el uso de los reactivos para 48 o 72 pruebas. El kit de controles cobas® 4800 HPV contiene reactivos suficientes para un total de 10 series (10 juegos por kit). El tamaño de serie mínimo para el cobas® 4800 System es de 1 muestra más los controles. Para realizar cada serie de pruebas se requiere una réplica del control negativo para el cobas® 4800 System [(-) C] y una réplica del control positivo cobas® 4800 HPV [HPV (+) C] (consulte el apartado "Control de calidad").

#### Flujo de trabajo:

**NOTA:** aunque no suponga un uso óptimo de los reactivos, pueden utilizarse un kit de preparación de muestras para el sistema con 960 pruebas para una serie de 24 muestras y un kit de amplificación/detección de HPV con 960 pruebas para una serie de 24, 48 o 72 muestras.

La prueba cobas® 4800 HPV puede realizarse con cualquiera de los dos flujos de trabajo existentes: "Full Workflow" (Flujo de trabajo completo) o "Recovery Workflow" (Flujo de trabajo de recuperación) en el programa cobas® 4800.

#### Flujo de trabajo completo para HPV:

El "Flujo de trabajo completo para HPV" contempla la preparación de las muestras en el cobas® x 480 instrument y la posterior fase de amplificación/detección en el cobas® z 480 analyzer. El tamaño de la serie puede ser de 24 pruebas (de 1 a 22 muestras junto con los 2 controles) o de 96 pruebas (de 1 a 94 muestras junto con los 2 controles). Consulte el apartado "Ejecutar un flujo de trabajo completo" que figura a continuación y la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para conocer más detalles.

#### Flujo de trabajo de recuperación para HPV:

El "Flujo de trabajo de recuperación para HPV" comprende una configuración de placa para PCR manual mediante una solución de elución obtenida de la placa de extracción procesada y de la posterior amplificación/detección en el cobas® z 480 analyzer. Consulte el apartado "Ejecutar un flujo de trabajo de recuperación" que figura a continuación y la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para conocer más detalles.

#### Muestras:

A continuación se indican los tipos de muestra que se pueden analizar con la prueba cobas® 4800 HPV:

- muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium
- muestras cervicales en solución PreservCyt®
- muestras cervicales en fluido conservante SurePath™ (consulte el apartado "Tratamiento para las muestras primarias recogidas en SurePath™")
- muestras vaginales de autotoma recogidas con FLOQSwab® 552C.80 y suspendidas en Roche Cell Collection Medium
- muestras vaginales de autotoma recogidas con FLOQSwab® 552C.80 y suspendidas en solución PreservCyt®
- muestras vaginales de autotoma recogidas con Evalyn® Brush y suspendidas en Roche Cell Collection Medium
- muestras vaginales de autotoma recogidas con Evalyn® Brush y suspendidas en solución PreservCyt®

Las muestras conservadas en Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt® pueden procesarse directamente en el cobas® x 480 instrument desde sus contenedores primarios si tienen un código de barras adecuado o desde un tubo de base redonda de 13 ml con un código de barras válido. Las muestras recogidas en SurePath™ deben transferirse a un tubo de base redonda de 13 ml con un código de barras válido para realizar el tratamiento de las muestras (consulte el apartado Tratamiento para las muestras primarias recogidas en SurePath™) y el procesamiento en un cobas® x 480 instrument. Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para conocer los procedimientos adecuados referentes a los códigos de barras y la lista de códigos de barras compatibles con el cobas® 4800 System.

**NOTA:** las muestras recogidas en SurePath™ deben ser tratadas con el tampón de preparación de muestras cobas® para revertir la reticulación inducida por la matriz antes de realizar la prueba HPV en el cobas® 4800 System.

Tratamiento para las muestras primarias recogidas en SurePath™ con tampón de preparación de muestras cobas® para revertir la reticulación

**NOTA:** se requieren códigos de barra resistentes al calor para los tubos utilizados para revertir la reticulación inducida por la matriz (consulte el apartado Equipo y materiales opcionales).

**NOTA:** se recomienda realizar los pasos B, C, G y H que se indican a continuación en una cabina de seguridad biológica para reducir al mínimo la posible contaminación cruzada.

A. Prepare un tubo de 13 ml de base redonda con código de barras con 0,5 ml de tampón de preparación de muestras cobas® para cada muestra SurePath™ que se vaya a analizar.

Una botella abierta del tampón de preparación de muestras cobas® (CSPB) puede almacenarse a temperatura ambiente (15-30 °C) hasta 21 días y utilizarse hasta 4 veces distintas para el tratamiento preanalítico de las muestras SurePath™.

- B. Agite las muestras recogidas en SurePath™ durante 10 segundos antes de transferirlas. Transfiera 0,5 ml de cada muestra recogida en SurePath™ a un tubo de 13 ml de base redonda preparado en el paso A. Vuelva a cerrar cada tubo antes de pasar al siguiente. Cambie siempre las puntas de pipeta para cada muestra.
- C. Agite el contenido de cada tubo durante 1 segundo.
- D. Transfiera los tubos a la unidad de calentamiento ajustada a 120 °C (consulte el apartado Equipo y materiales opcionales). Pueden procesarse hasta 48 tubos por lote.
- E. Caliente durante 20 minutos.
- F. Después de proceso de calentamiento, retire los tubos y déjelos en una bandeja de recogida. Déjelos enfriar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- G. Agite el contenido de cada tubo durante 5 segundos.
- H. Transfiera los tubos a las bandejas de muestras de 24 posiciones del **cobas**® 4800 System, retire los tapones y procéselos en el **cobas**® 4800 System para las pruebas de HPV.

Las muestras recogidas en SurePath™ tratadas con el tampón de preparación de muestras **cobas**® pueden almacenarse para futuras pruebas de HPV si, por ejemplo, debe realizarse una citología en primer lugar. En este caso, debe seguirse el procedimiento que figura a continuación:

- A. Siga el procedimiento de tratamiento anterior hasta el paso G.
- B. Almacene los tubos con muestra recogidas en SurePath™ tratadas con tampón de preparación de muestras **cobas**® a una temperatura de 2-30 °C hasta 4 semanas antes de realizar las pruebas HPV en el **cobas**® 4800 System.

**NOTA:** *el volumen mínimo requerido para los contenedores primarios con Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt® es de 3,0 ml. Si se utilizan tubos secundarios de base redonda de 13 ml, debe utilizarse un volumen mínimo de 1,0 ml y un volumen máximo de 10 ml.*

**NOTA:** *utilice solamente Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™ para la recogida de muestras cervicales que vayan a ser analizadas con la prueba cobas® 4800 HPV. La prueba cobas® 4800 HPV no se ha validado con otros tipos de medios. El uso de la prueba cobas® 4800 HPV con otros tipos de medios puede generar resultados falsos negativos, falsos positivos y/o no válidos.*

**NOTA:** *para evitar la contaminación cruzada de las muestras procesadas, utilice tapones adicionales para los viales (consulte el apartado Materiales necesarios no suministrados) para volver a tapar las muestras una vez que se hayan procesado. Vuelva a taparlas bien. Almacene y transporte los viales en posición vertical.*

**NOTA:** *puede resultar necesario crear partes alícuotas de las muestras en tubos de base redonda de 13 ml a fin de procesarlas en el cobas® x 480 instrument. Utilice pipeteadores con puntas con filtro para aerosol o desplazamiento positivo para manipular las muestras. Para evitar la contaminación cruzada de las muestras procesadas, utilice tapones adicionales de otro color para los tubos (color neutro; consulte el apartado Materiales necesarios no suministrados) para volver a tapar las muestras una vez que se hayan procesado.*

**NOTA:** *extreme la atención cuando transfiera las muestras de los contenedores primarios a los tubos secundarios de 13 ml de base redonda. Agite las muestras primarias antes de transferirlas. Cambie las puntas de pipeta para cada muestra.*

**NOTA:** *no procese muestras que parezcan contener restos de sangre o que presenten un color marrón oscuro.*

Es posible combinar diferentes tipos de muestra en cada serie (Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt® y/o fluido conservante SurePath™) y cada muestra se puede analizar con cualquiera de las subpruebas de genotipado: “HPV High Risk” o “HPV High Risk Plus”.

## Flujos de trabajo

Ejecutar un flujo de trabajo completo:

- A. La prueba **cobas**® 4800 HPV puede utilizarse con series que contengan de 1 a 94 muestras más un control negativo para el **cobas**® 4800 System y un control positivo **cobas**® 4800 HPV.
- B. Inicie el sistema y lleve a cabo los procedimientos de mantenimiento con ayuda de las instrucciones que aparecen en la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.
- C. Inicie una serie nueva haciendo clic en el botón “New run”.
- D. En la ventana “Selection test”, seleccione el tipo de flujo de trabajo “Full” y, a continuación, seleccione la prueba “HPV”.
- E. Introduzca un nombre para la serie o deje el nombre predeterminado. Haga clic en “OK” para continuar.
- F. Siga las instrucciones del asistente del programa para cargar las muestras.

**NOTA:** *las muestras pueden cargarse en tubos primarios o secundarios con código de barras en cualquier orden.*

**NOTA:** *si utiliza contenedores primarios para procesar las muestras conservadas en Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt®, agítelos antes de cargarlos.*

- G. Seleccione un tipo de muestra para cada muestra.
  - Seleccione “PC” para solicitar muestras conservadas en Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt®.
  - Elija “SP” para solicitar muestras en fluido conservante SurePath™.

**NOTA:** *se solicita a los usuarios que realicen anotaciones en las peticiones de pruebas para identificar las muestras de automata utilizando el software del instrumento. Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para conocer las instrucciones de anotación.*

H. Seleccione el resultado solicitado para cada muestra.

- Elija el resultado solicitado “HPV High Risk Panel” para comunicar los resultados de cualquier prueba, o combinación de pruebas, para los genotipos de alto riesgo del HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
- Elija el resultado solicitado “HPV High Risk Panel Plus Genotyping” para comunicar los resultados de las pruebas, o combinaciones de pruebas, para los genotipos de alto riesgo del HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 y para comunicar por separado los resultados para las pruebas de los genotipos de alto riesgo del HPV 16 y 18.

I. Siga las instrucciones del asistente del programa para cargar todos los consumibles.

J. Siga las instrucciones del asistente del programa para cargar todos los reactivos.

**NOTA:** los controles [HPV (+) C y (-) C] no se cargan junto con las muestras. Se cargan en la bandeja de reactivos durante la carga de los reactivos. En cada placa de extracción y placa de PCR se reservan dos posiciones (A1 y B1) para los controles HPV (+) y (-), respectivamente.

**NOTA:** el cobas® 4800 System posee un reloj interno que supervisa el tiempo que llevan cargados los reactivos. Tras leer el WB, se concede 1 hora para completar el proceso de carga y hacer clic en el botón “Start”. En la pestaña “Workplace” aparece un cronómetro de cuenta atrás. El sistema no permite iniciar la serie si se ha superado el tiempo de carga permitido.

**NOTA:** para garantizar una transferencia precisa del reactivo MGP, agite contundentemente el vial de MGP antes de dispensarlo al depósito de reactivos.

K. Cargue los reactivos para la preparación de muestras (WB, MGP, EB, SDS y LYS) en los contenedores para reactivos con código de barras mediante el método de doble identificación y llenado:

- Escanear el código de barras de la botella de reactivo
- Escanear el código de barras del contenedor de reactivo
- Verter el reactivo en el depósito
- Colocar el depósito lleno de reactivo en la posición indicada de la bandeja de reactivos

L. Los depósitos de reactivos están disponibles en dos tamaños: 200 ml y 50 ml. Siga las instrucciones del asistente del programa para seleccionar el tamaño adecuado de los depósitos de reactivos. Los códigos de barras de los depósitos de reactivos deben colocarse de forma que miren al lateral derecho de la bandeja.

**NOTA:** los reactivos de amplificación/detección (HPV MMX y HPV Mg/Mn), los controles [HPV (+) C y (-) C] y PK se cargan directamente en la bandeja de reactivos y el cobas® x 480 instrument los escanea de manera automática.

**NOTA:** todos los reactivos y los depósitos de reactivos tienen códigos de barras y están diseñados para un solo uso. El programa cobas® 4800 realiza un seguimiento del uso de los reactivos y de los depósitos de reactivos y rechaza los reactivos o depósitos de reactivos usados previamente. El programa también verifica que en el equipo se hayan cargado suficientes reactivos.

**NOTA:** el programa cobas® 4800 controla la fecha de caducidad de todos los reactivos. El cobas® 4800 System no acepta reactivos caducados.

M. Haga clic en “Start Run” para iniciar la preparación de las muestras.

N. Después de completar correctamente la preparación de las muestras, haga clic en “Unload” para descargar el transportador de placas.

\*\* En este punto puede revisarse el estado de la preparación de las muestras, antes de hacer clic en “Unload”. Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.

O. Siga las instrucciones indicadas en la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para sellar la microplaca, transportar la placa al cobas® z 480 analyzer y empezar la serie de amplificación y detección.

**NOTA:** el cobas® 4800 System posee un reloj interno que supervisa el tiempo transcurrido tras añadir las muestras preparadas a la mezcla maestra (Master Mix) de trabajo. La amplificación y la detección se deben iniciar tan pronto como sea posible, nunca después de los 90 minutos posteriores a la finalización de la serie del cobas® x 480 instrument. En la pestaña “Workplace” aparece un cronómetro de cuenta atrás.

P. Cuando termine la serie de amplificación y detección, descargue la placa de micropocillos del cobas® z 480 analyzer.

Q. Siga las instrucciones de la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para revisar y aceptar los resultados.

Ejecutar un flujo de trabajo de recuperación:

**NOTA:** el flujo de trabajo de recuperación está disponible como opción de recuperación en caso de que no se pueda completar el flujo de trabajo completo debido a circunstancias ajenas al control del usuario (p. ej., un fallo de alimentación durante la serie de amplificación/detección).

**NOTA:** solamente las muestras procesadas correctamente en el cobas® x 480 instrument pueden someterse a un proceso de amplificación/detección con las series de recuperación. El control que efectúa el sistema de los reactivos y los consumibles se ve limitado durante las series de recuperación. El flujo de trabajo de recuperación no incluye el seguimiento de la posición de las muestras. Es el usuario final quien se encarga de comprobar que la posición de una muestra en la placa de PCR se corresponda con la indicada en el archivo de peticiones de trabajo para el informe de distribución de la placa de recuperación. Preste mucha atención al preparar la placa de PCR para asegurar una correcta configuración de la PCR y evitar la contaminación.

**NOTA:** las muestras procesadas en el cobas® x 480 instrument tienen una estabilidad limitada. Deben someterse al proceso de amplificación/detección con un flujo de trabajo de recuperación durante las 24 horas siguientes si se almacenan a una temperatura comprendida entre 2 °C y 30 °C.

- A. Inicie una serie de recuperación haciendo clic en el botón “New run”.
- B. En la ventana “Test Selection”, seleccione “Recovery” y, a continuación, seleccione el tipo de prueba “HPV”.
- C. Introduzca un nombre para la serie o deje el nombre predeterminado. Haga clic en “OK” para continuar.
- D. Seleccione la serie que desea recuperar.
- E. Si utiliza HPV ASAP v2.1, escanee el identificador original de la DWP del flujo de trabajo completo.
- F. Introduzca el ID de la nueva placa de PCR.
- G. Introduzca los ID de la mezcla maestra y de los iones metálicos para todos los viales de reactivos de amplificación/detección del kit.
- H. Prepare la mezcla maestra **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV:
  1. Para un kit de 240 pruebas, añada 240 µl de **HPV Mg/Mn** a un vial de **HPV MMX** (vial de 0,5 ml del kit de 240 pruebas).
  2. Para un kit de 960 pruebas, añada 450 µl de **HPV Mg/Mn** a cada uno de los dos viales de **HPV MMX** (viales de 1,0 ml del kit de 960 pruebas).

**NOTA:** *la serie de recuperación debe iniciarse durante los 90 minutos posteriores a la adición de HPV Mg/Mn a HPV MMX. El sistema no controla el tiempo transcurrido después de añadir las muestras preparadas a la mezcla maestra de trabajo en el flujo de trabajo de recuperación. Es el usuario final quien debe comprobar que la amplificación y detección comienzan en el tiempo asignado.*

- I. Mezcle bien la mezcla maestra invirtiendo los viales con cuidado. No agite la mezcla maestra de trabajo.
- J. Transfiera 25 µl de mezcla maestra de trabajo a los pocillos correspondientes de la placa de PCR.
- K. Coloque la placa de extracción de la serie que debe repetirse en la placa magnética independiente.
- L. Transfiera manualmente 25 µl de solución de elución desde los pocillos de la placa de extracción a los pocillos correspondientes de la placa de PCR. Asegúrese de que no se alteren las posiciones de los pocillos (p. ej., la solución de elución del pocillo A1 de la placa de extracción debería transferirse a la posición A1 de la placa de PCR). Compruebe que no se transfiera MGP a la placa de PCR.
- M. Siga las instrucciones de la Asistencia al usuario del **cobas**<sup>®</sup> 4800 System para obtener información sobre el sellado de la microplaca.
- N. Centrifugue la placa de PCR con la centrífuga para placas basculante durante 5 segundos como mínimo a 1.500 FCR.
- O. Traslade la placa al **cobas**<sup>®</sup> z 480 analyzer e inicie la serie de amplificación y detección.
- P. Cuando termine la serie de amplificación y detección, descargue la placa de PCR del **cobas**<sup>®</sup> z 480 analyzer.
- Q. Siga las instrucciones de la Asistencia al usuario del **cobas**<sup>®</sup> 4800 System para revisar y aceptar los resultados.

### Interpretación de los resultados

**NOTA:** *la validación de los ensayos y las series la lleva a cabo el programa **cobas**<sup>®</sup> 4800.*

**NOTA:** *una serie válida puede incluir resultados de muestras tanto válidos como no válidos.*

En las series consideradas válidas, los resultados de las muestras se interpretan como se indica en las tablas 1 y 2:

**Tabla 1**  
**Interpretación de los resultados de la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV con relación a la presencia de ADN de HPV**

<b>cobas</b> <sup>®</sup> 4800 HPV Test	<b>Notificación e interpretación de los resultados</b>
Resultado solicitado “HPV High Risk Panel”:	
POS HR HPV	<b>HPV de alto riesgo positivo</b> La muestra es positiva para el ADN de cualquiera de los siguientes tipos de HPV de alto riesgo, o una combinación de los mismos: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
NEG HR HPV	<b>HPV de alto riesgo negativo*</b> No se ha podido detectar el ADN de HPV para los genotipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 o el volumen es inferior al umbral definido.
Invalid HR HPV	<b>HPV de alto riesgo no válido</b> Los resultados de HPV de AR no son válidos. Para las muestras conservadas en PreservCyt <sup>®</sup> , la muestra original debe volverse a analizar, no más de dos veces, para obtener resultados válidos. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva. Para las muestras conservadas en SurePath <sup>™</sup> , la muestra original se debe volver a analizar si queda volumen suficiente. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva.
Failed	<b>No se han obtenido resultados para la muestra</b> Consulte la Asistencia al usuario del <b>cobas</b> <sup>®</sup> 4800 System para obtener instrucciones sobre cómo revisar los avisos de la serie y conocer las acciones recomendadas. Se ha tenido que volver a analizar la muestra original para obtener un resultado válido.

<b>cobas® 4800 HPV Test</b>	<b>Notificación e interpretación de los resultados</b>
Resultado solicitado "HPV High Risk Panel Plus Genotyping":	
POS Other HR HPV	<b>Otros genotipos de alto riesgo del HPV positivos</b> La muestra es positiva para el ADN de cualquiera de los siguientes tipos de HPV de alto riesgo, o una combinación de los mismos: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
NEG Other HR HPV	<b>Otros genotipos de alto riesgo del HPV negativos*</b> No se ha podido detectar el ADN de HPV para los genotipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 o el volumen es inferior al umbral definido.
Invalid Other HR HPV	<b>Otros genotipos de alto riesgo del HPV no válidos</b> El resultado para otros genotipos de alto riesgo del HPV no es válido. Para las muestras conservadas en PreservCyt®, la muestra original debe volverse a analizar, no más de dos veces, para obtener resultados válidos. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva. Para las muestras conservadas en SurePath™, la muestra original se debe volver a analizar si queda volumen suficiente. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva.
POS HPV16	<b>Positiva para HPV16</b> La muestra es positiva para el ADN del genotipo 16 del HPV.
NEG HPV16	<b>Negativa para HPV16*</b> No se ha podido detectar el ADN del genotipo 16 del HPV o el volumen era inferior al umbral definido.
Invalid HPV16	<b>No válida para HPV16</b> El resultado para HPV16 no es válido. Para las muestras conservadas en PreservCyt®, la muestra original debe volverse a analizar, no más de dos veces, para obtener resultados válidos. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva. Para las muestras conservadas en SurePath™, la muestra original se debe volver a analizar si queda volumen suficiente. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva.
POS HPV18	<b>Positiva para HPV18</b> La muestra es positiva para el ADN del genotipo 18 del HPV.
NEG HPV18	<b>Negativa para HPV18*</b> No se ha podido detectar el ADN del genotipo 18 del HPV o el volumen era inferior al umbral definido.
Invalid HPV18	<b>No válida para HPV18</b> El resultado para HPV18 no es válido. Para las muestras conservadas en PreservCyt®, la muestra original debe volverse a analizar, no más de dos veces, para obtener resultados válidos. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva. Para las muestras conservadas en SurePath™, la muestra original se debe volver a analizar si queda volumen suficiente. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva.
Failed	<b>No se han obtenido resultados para la muestra</b> Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener instrucciones sobre cómo revisar los avisos de la serie y conocer las acciones recomendadas. Se ha tenido que volver a analizar la muestra original para obtener un resultado válido.

\*Los resultados negativos no implican la presencia de una infección por HPV porque los resultados dependen de una obtención adecuada de las muestras, de la ausencia de inhibidores y de que haya una cantidad suficiente de ADN para detectar.

**Tabla 2**  
**Interpretación de los resultados de la prueba cobas® 4800 HPV para pacientes con anomalías citológicas**

<b>Resultados</b>	<b>Interpretación</b>
NEG Other HR HPV*, NEG HPV16, NEG HPV18	Probabilidad muy baja de $\geq$ CIN2 subyacente.
POS Other HR HPV*, NEG HPV16, NEG HPV18	Probabilidad aumentada de detectar nivel $\geq$ CIN2 subyacente en la colposcopia.
POS HPV16 y/o POS HPV18	La mayor probabilidad de detectar $\geq$ CIN2 subyacente en la colposcopia <sup>34,35</sup> .

\*Otros ADN de HPV de AR incluyen los siguientes genotipos: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

**NOTA:** los resultados negativos en la prueba del HPV no pretenden evitar que las mujeres se sometan a una colposcopia.

**NOTA:** además de los resultados indicados en las tablas, también es posible obtener resultados no válidos para una o más combinaciones. En caso de obtener un resultado así, por ejemplo:

**Other HR HPV NEG, HPV16 POS, HPV18 Invalid**

Los resultados positivos y negativos deberían interpretarse como se indica en la tabla 1. En este ejemplo, los resultados para HPV 18 no son válidos. La muestra original no se debe analizar más de dos veces para obtener resultados válidos. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva.

**NOTA:** los resultados negativos indican que no se ha podido detectar el ADN de HPV o que el volumen era inferior al umbral definido.

**NOTA:** los resultados positivos indican la presencia de uno o más tipos de alto riesgo. Sin embargo, puesto que los pacientes suelen estar infectados también con tipos de bajo riesgo, no descarta la presencia de tipos de bajo riesgo en pacientes con infecciones mixtas.

**NOTA:** los resultados de esta prueba deberían interpretarse exclusivamente junto con la información disponible de la evaluación clínica del paciente y su historial.

## LISTA DE AVISOS DE RESULTADOS

En la siguiente tabla se indican avisos comunes para la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV que son relevantes para la interpretación de los resultados. Consulte la Asistencia al usuario del **cobas**<sup>®</sup> 4800 System para obtener una lista completa de los avisos.

**Tabla 3**  
**Lista de avisos para la prueba cobas<sup>®</sup> 4800 HPV**

Código del aviso	Descripción	Acción recomendada
R20	El control positivo no es válido.	Los valores del control positivo no son válidos. 1. Repita toda la serie con reactivos nuevos. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
R21	El control negativo no es válido.	Los valores del control negativo no son válidos. Para evitar la contaminación por arrastre, siga las buenas prácticas de laboratorio. 1. Repita toda la serie con reactivos nuevos. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
X3	Error: se ha detectado un coágulo. No se ha procesado la muestra.	Asegúrese de que las muestras se hayan manipulado según la descripción del flujo de trabajo. 1. Compruebe que no haya coágulos en la muestra. 2. Vuelva a analizar la muestra.
X4	Error: se ha producido un error de pipeteo. No se ha procesado la muestra.	Lo más probable es que el volumen de muestra sea insuficiente o se haya producido un error mecánico durante el pipeteo. 1. Asegúrese de que haya volumen de muestra suficiente. 2. Compruebe que la placa de expulsión de puntas esté bien colocada. 3. Vuelva a analizar la muestra.

## CONTROL DE CALIDAD

En cada serie se incluye un juego de controles positivos y negativos para la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV. Para todas las series, es necesario haber obtenido resultados válidos tanto para el control positivo como para el control negativo para que el programa **cobas**<sup>®</sup> 4800 muestre los resultados para notificar de la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV de dicha serie.

### Control positivo

El resultado del control HPV (+) debe tener el valor "Valid". Si los resultados obtenidos para el control HPV (+) son repetidamente no válidos, póngase en contacto con su oficina local de Roche para recibir asistencia técnica.

### Control negativo

El control (-) debe tener el valor "Valid". Si los resultados obtenidos para el control (-) son repetidamente no válidos, póngase en contacto con su oficina local de Roche para recibir asistencia técnica.

## PRECAUCIONES DURANTE EL PROCEDIMIENTO

Como sucede con cualquier procedimiento analítico, resulta esencial aplicar una técnica adecuada de laboratorio para obtener un rendimiento correcto del ensayo. Debido a la elevada sensibilidad analítica de esta prueba, deben extremarse las precauciones para evitar cualquier tipo de contaminación de los reactivos y las mezclas de amplificación.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. La prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV detecta el ADN de los genotipos de alto riesgo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68. La prueba no detecta el ADN de los genotipos de bajo riesgo del HPV (p. ej., 6, 11, 42, 43, 44) porque no existen aplicaciones clínicas para la determinación de los genotipos de bajo riesgo del HPV<sup>36</sup>.
2. La prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV para la detección de los tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 del virus del papiloma humano no se recomienda para la determinación de presuntos abusos sexuales.
3. No se ha establecido de forma adecuada el rendimiento de la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV para sujetos vacunados contra el HPV<sup>37</sup>.
4. La prevalencia de la infección por HPV en una población puede alterar el resultado. Los valores de predicción positivos disminuyen cuando las pruebas se realizan en poblaciones con una prevalencia baja o en pacientes sin riesgo de infección.
5. La infección por HPV no es indicativa de HSIL en la citología ni de CIN de alto grado subyacente, así como tampoco de un posible desarrollo de CIN2-3 o cáncer. La mayoría de las mujeres infectadas por uno o más tipos de alto riesgo del HPV no llegan a desarrollar CIN2-3 ni cáncer.
6. Un resultado negativo para HPV de alto riesgo no excluye la posibilidad de futuros resultados de HSIL citológicos ni de lesiones CIN2-3 o cáncer subyacente.
7. Analice únicamente el tipo de muestra indicado. La prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV sólo se ha validado para su uso con:
  - muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium
  - muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt<sup>®</sup>
  - muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath<sup>™</sup>
  - muestras vaginales recogidas con FLOQSwab<sup>®</sup> 552C.80 y resuspendidas en Roche Cell Collection Medium
  - muestras vaginales recogidas con FLOQSwab<sup>®</sup> 552C.80 y resuspendidas en solución PreservCyt<sup>®</sup>
  - muestras vaginales recogidas con Evalyn<sup>®</sup> Brush y suspendidas en Roche Cell Collection Medium
  - muestras vaginales recogidas con Evalyn<sup>®</sup> Brush y suspendidas en solución PreservCyt<sup>®</sup>

No se ha validado el rendimiento del ensayo para su uso con otros medios de recogida y/o dispositivos de recogida. El uso de otros medios de recogida y/o dispositivos de recogida puede causar falsos positivos, falsos negativos o resultados no válidos.

8. La detección de HPV de alto riesgo depende del número de copias presentes en la muestra, que puede verse afectado por el método de obtención de la muestra, los factores propios del paciente, la fase de infección y la presencia de sustancias interferentes.
9. La amplificación y detección de la betaglobina se incluye en la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV con objeto de diferenciar las muestras negativas para HPV de las que no presentan señal para HPV debido a un volumen de células insuficiente en la muestra. Todas las muestras negativas para HPV deben generar una señal para betaglobina válida comprendida en un rango predefinido a fin de que el **cobas**<sup>®</sup> 4800 System las pueda identificar como muestras negativas válidas.
10. La obtención de resultados fiables depende de que la obtención, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras sean adecuados. Siga los procedimientos del boletín técnico y de la Asistencia al usuario del **cobas**<sup>®</sup> 4800 System.
11. La incorporación de la enzima AmpErase a la mezcla maestra **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV permite realizar una amplificación selectiva del ADN objetivo; no obstante, es imprescindible utilizar buenas prácticas de laboratorio y cumplir estrictamente los procedimientos especificados en este boletín técnico para evitar la contaminación de los reactivos.
12. El uso de este producto debe limitarse al personal con experiencia en el empleo de técnicas de PCR y la utilización del **cobas**<sup>®</sup> 4800 System.
13. Solamente el **cobas**<sup>®</sup> x 480 instrument y el **cobas**<sup>®</sup> z 480 analyzer se han validado para su uso con este producto. No debería utilizarse ningún otro equipo de preparación de muestras ni sistema de PCR con este producto.
14. Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que, antes de cambiar de una a otra, realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas.
15. Tampoco se han evaluado los efectos de otras variables potenciales como la descarga vaginal, el uso de tampones, la ducha, etc., y las variables que afectan a la obtención de las muestras.
16. Aunque es poco probable, las mutaciones en las regiones muy conservadas del ADN genómico del virus del papiloma humano cubiertas por los cebadores y/o las sondas de la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV pueden causar errores en la detección del ADN vírico.
17. La presencia de inhibidores de la PCR puede dar lugar a resultados de falsos negativos o resultados no válidos.
18. Las muestras cervicales suelen mostrar niveles visiblemente detectables de sangre total en forma de coloración rosa o marrón claro. Estas muestras se procesan normalmente en el **cobas**<sup>®</sup> 4800 System. Si las concentraciones de sangre total superan el 2% (coloración rojo oscuro o marrón) en Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt<sup>®</sup>, o son superiores al 4% en fluido conservante SurePath<sup>™</sup> tratado con tampón de preparación de muestras **cobas**<sup>®</sup>, existe la probabilidad de obtener un resultado falso negativo. Consulte las tablas con los resultados de interferencia para obtener más información.
19. El uso del humectante vaginal Replens<sup>®</sup> se ha asociado con resultados falsos negativos en muestras recogidas con fluido conservante SurePath<sup>™</sup>.
20. El uso de productos de higiene vaginal RepHresh<sup>®</sup> se ha relacionado con resultados falsos negativos en Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt<sup>®</sup>.
21. No se ha validado la eliminación de glóbulos rojos de las muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt<sup>®</sup> o fluido conservante SurePath<sup>™</sup> mediante tratamiento con ácido acético glacial (GAA) con la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV. El laboratorio de pruebas debe validar cualquier uso de tratamientos de GAA con la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV.

## RENDIMIENTO CLÍNICO CON MUESTRAS CLÍNICAS

### Comparación del rendimiento con relación a una prueba para HPV con marca CE

Se determinó la sensibilidad clínica y especificidad para la fase de la enfermedad ( $\geq$  CIN2) de la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV y una prueba para HPV comparativa con marca CE<sup>38</sup> en una población de mujeres de 21 años de edad en adelante con unos resultados citológicos diagnosticados como ASCUS, obtenidos durante el screening rutinario de cáncer cervical. Todas las pruebas se realizaron con muestras cervicales recogidas con solución PreservCyt<sup>®</sup>. Se sometieron a colposcopia un total de 1.578 mujeres con citología inicial ASCUS y todas ellas obtuvieron resultados válidos para las pruebas de HPV y la biopsia cervical. El estadio de la enfermedad de las pacientes se estableció mediante un panel de revisión de patologías centralizado (CPR) creado a partir de las muestras biopsiadas obtenidas durante la colposcopia. En la tabla 4 se resumen los resultados de la población con ASCUS y se indica que el rendimiento de la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV es comparable al de la prueba comparativa.

**Tabla 4**  
**Comparación del rendimiento de la prueba cobas<sup>®</sup> 4800 HPV y una prueba para HPV comparativa con marca CE para la detección de estadios  $\geq$  CIN2 y  $\geq$  CIN3 en el grupo diagnosticado como ASCUS**

	Prueba cobas <sup>®</sup> 4800 HPV		Prueba para HPV con marca CE	
	Punto de estimación	IC al 95%	Punto de estimación	IC al 95%
<b><math>\geq</math> CIN2</b>				
Sensibilidad (%)	90,0 (72/80)	(81,5, 94,8)	87,2 (68/78) <sup>1</sup>	(78,0, 92,9)
Especificidad (%)	70,5 (1056/1498)	(68,1, 72,7)	71,1 (1056/1485) <sup>2</sup>	(68,8, 73,4)
VPP (%)	14,0 (72/514)	(12,8, 15,3)	13,7 (68/497)	(12,4, 15,1)
VPN (%)	99,2 (1056/1064)	(98,6, 99,6)	99,1 (1056/1066)	(98,3, 99,5)
Prevalencia (%)	5,1 (80/1578)	(4,1, 6,3)	5,0 (78/1563)	(4,0, 6,2)
<b><math>\geq</math> CIN3</b>				
Sensibilidad (%)	93,5 (43/46)	(82,5, 97,8)	91,3 (42/46)	(79,7, 96,6)
Especificidad (%)	69,3 (1053/1517)	(66,9, 71,5)	70,0 (1062/1517)	(67,7, 72,3)
VPP (%)	8,4 (43/514)	(7,6, 9,2)	8,5 (42/497)	(7,6, 9,4)
VPN (%)	99,7 (1061/1064)	(99,2, 99,9)	99,6 (1062/1066)	(99,0, 99,9)
Prevalencia (%)	2,9 (43/1578)	(2,2, 3,9)	3,0 (46/1563)	(2,2, 3,9)

<sup>1</sup> No se pudieron determinar los resultados de dos sujetos con un diagnóstico  $\geq$  CIN2 mediante la prueba para HPV comparativa con marca CE debido a un volumen insuficiente provocado por la repetición de las pruebas.

<sup>2</sup> No se pudieron determinar los resultados de trece sujetos con un diagnóstico  $<$  CIN2 mediante la prueba para HPV comparativa con marca CE debido a un volumen insuficiente provocado por la repetición de las pruebas.

En mujeres  $\geq$  30 años con citología normal, el riesgo de padecer una enfermedad del tejido cervical ( $\geq$  CIN2) se ve aumentado 7,29 veces cuando el resultado de la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV es positivo para HPV de alto riesgo, a diferencia de cuando la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV es negativa. Las estimaciones de riesgo relativo y los intervalos de confianza al 95% se presentan en la tabla 5.

En mujeres de 30 años en adelante, la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV puede utilizarse para valorar la presencia o ausencia de los genotipos 16 y 18 de HPV. El riesgo de sufrir una enfermedad del tejido cervical ( $\geq$  CIN2) es 13,71 veces superior cuando el resultado para HPV16 y/o HPV18 es positivo con la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV, a diferencia de un resultado negativo. El resultado es 2,51 veces superior cuando el resultado para HPV16 y/o HPV18 es positivo con la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV en comparación con un resultado positivo de la prueba **cobas**<sup>®</sup> 4800 HPV para los otros 12 tipos de alto riesgo. En todos los casos, el límite inferior del intervalo de confianza al 95% es superior a 1, lo que sugiere un riesgo estadísticamente superior de desarrollar una enfermedad del tejido cervical cuando se obtiene una prueba para HPV positiva.

**Tabla 5**  
**Riesgo relativo de padecer una enfermedad del tejido cervical ( $\geq$  CIN2 según revisión patológica central) en mujeres  $\geq$  30 años con un resultado citológico normal\***

Resultado de HPV	Estimación de riesgo relativo	IC* al 95%
<b>Pos vs. Neg</b>	7,29	(3,99, 22,11)
<b>16+/18+ vs. Neg</b>	13,71	(7,31, 41,92)
<b>16+/18+ vs. 12 otros AR+</b>	2,51	(1,73, 3,61)

Nota: se añadió 0,5 a una celda sin muestras del número estimado de pacientes enfermos en cualquiera de las 1.000 muestras de simulación bootstrap.

\* IC al 95% de 2,5 y percentil 97,5 del IC bootstrap basado en 1.000 muestras de simulación bootstrap

Población con NILM ( $\geq 30$  años) – Evaluación del rendimiento

En la tabla 6 se presentan los resultados no ajustados de las estimaciones de la sensibilidad y especificidad de la población con NILM ( $\geq 30$  años), junto con los índices IC al 95% para HPV de AR positivo vs. HPV de AR negativo.

La sensibilidad y especificidad no ajustadas de la prueba de histología de  $\geq$  CIN2 fueron del 83,2% (109/131) con un IC al 95% comprendido entre el 75,9% y el 88,6% y del 60,4% (2492/4127) con un IC al 95% comprendido entre el 58,9% y el 61,9%, respectivamente. La sensibilidad y especificidad no ajustadas de la prueba **cobas**<sup>®</sup> HPV para la detección de la histología de  $\geq$  CIN3 fueron del 90,0% (72/80) con un IC al 95% comprendido entre el 81,5% y el 94,8% y del 60,0% (2506/4178) con IC al 95% comprendido entre el 58,5% y el 61,5%, respectivamente.

**Tabla 6**  
**Rendimiento de la prueba cobas<sup>®</sup> 4800 HPV en la población con NILM ( $\geq 30$  años) (estimaciones no ajustadas)**

Diagnóstico CPR	Rendimiento	Estimación	IC al 95%
$\geq$ CIN2	Sensibilidad (%)	83,2 (109/131)	(75,9, 88,6)
	Especificidad (%)	60,4 (2492/4127)	(58,9, 61,9)
	VPP (%)	6,3 (109/1744)	(5,8, 6,8)
	VPN (%)	99,1 (2492/2514)	(98,7, 99,4)
	Prevalencia (%)	3,1 (131/4258)	(2,6, 3,6)
$\geq$ CIN3	Sensibilidad (%)	90,0 (72/80)	(81,5, 94,8)
	Especificidad (%)	60,0 (2506/4178)	(58,5, 61,5)
	VPP (%)	4,1 (72/1744)	(3,8, 4,5)
	VPN (%)	99,7 (2506/2514)	(99,4, 99,8)
	Prevalencia (%)	1,9 (80/4258)	(1,5, 2,3)

Población total ( $\geq 25$  años) – Comparación del rendimiento de la prueba HPV vs. citología

El rendimiento clínico de la prueba **cobas**<sup>®</sup> HPV y la citología líquida (PreservCyt<sup>®</sup>) se ha determinado con una población de 40.901 mujeres de 25 años en adelante, independientemente del estado de la citología (población total). En la tabla 7 se presentan<sup>38</sup> las estimaciones de sensibilidad y especificidad de la prueba **cobas**<sup>®</sup> HPV vs. citología para la detección de  $\geq$  CIN2 y  $\geq$  CIN3 en la población total ( $\geq 25$  años). Las sensibilidades no ajustadas de la prueba **cobas**<sup>®</sup> HPV y la citología para la detección de  $\geq$  CIN2 fueron del 88,2% (380/431) con un IC al 95% comprendido entre el 84,8% y el 90,9% y del 51,5% (222/431) con un IC al 95% comprendido entre el 46,8% y el 56,2%, respectivamente. Las sensibilidades no ajustadas de la prueba **cobas**<sup>®</sup> HPV y la citología para la detección de  $\geq$  CIN3 fueron del 92,0% (252/274) con un IC al 95% comprendido entre el 88,1% y el 94,6% y del 53,3% (146/274) con un IC al 95% comprendido entre el 47,4% y el 59,1%, respectivamente. Las especificidades ajustadas para la verificación diagnóstica de la prueba **cobas**<sup>®</sup> HPV y la citología para la detección de  $\geq$  CIN2 fueron del 90,5% (36343/40163) con un IC al 95% comprendido entre el 90,2% y el 90,8% y del 94,1% (37811/40163) con un IC al 95% comprendido entre el 93,9% y el 94,4%, respectivamente.

**Tabla 7**  
**Comparación del rendimiento de la prueba cobas<sup>®</sup> 4800 HPV y la citología para la detección de  $\geq$  CIN2 y  $\geq$  CIN3 en la población total ( $\geq 25$  años)**

	Citología		Prueba cobas <sup>®</sup> HPV	
	% (n)	IC al 95%	% (n)	IC al 95%
<b><math>\geq</math> CIN2</b>				
Sensibilidad	51,5 (222/431)	(46,8-56,2)	88,2 (380/431)	(84,8-90,9)
Especificidad	73,4 (5428/7392)	(72,4-74,4)	57,8 (4270/7392)	(56,6-58,9)
VPP	10,2 (222/2186)	(9,3-11,1)	10,9 (380/3502)	(10,4-11,3)
VPN	96,3 (5428/5637)	(95,9-96,6)	98,8 (4270/4321)	(98,5-99,1)
<b><math>\geq</math> CIN3</b>				
Sensibilidad	53,3 (146/274)	(47,4-59,1)	92,0 (252/274)	(88,1-94,6)
Especificidad	73,0 (5509/7549)	(72,0-74,0)	56,9 (4299/7549)	(55,8-58,1)
VPP	6,7 (146/2186)	(6,0-7,4)	7,2 (252/3502)	(6,9-7,5)
VPN	97,7 (5509/5637)	(97,4-98,0)	99,5 (4299/4321)	(99,2-99,7)

Límite de detección: solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™

Se determinó el límite de detección (LOD) para los genotipos de alto riesgo de HPV, HPV16, HPV18 y HPV31 para la prueba **cobas®** 4800 HPV. Los valores del LOD se valoraron utilizando 1) plásmidos de HPV31, HPV16 y HPV18 como referencia para colecciones de muestras de pacientes negativas para HPV conservadas en solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™ y 2) líneas celulares SiHa (HPV16) y HeLa (HPV18) positivas para HPV conservadas en solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™ con una referencia de línea celular negativa para HPV (HCT-15). Se diluyeron los plásmidos y las líneas celulares en concentraciones inferiores y superiores a los niveles del LOD esperado. Se analizaron un mínimo de 60 réplicas para cada plásmido o nivel de línea celular tanto en solución PreservCyt® como en fluido conservante SurePath™ para cada uno de los 3 lotes de reactivos. Todos los análisis del material de referencia recogido en fluido conservante SurePath™ se realizaron utilizando el tampón de preparación de muestras **cobas®**. El LOD es el nivel de ADN de HPV en la muestra que da resultados positivos en un 95% de las ocasiones como mínimo. En las tablas 8 y 9 se presentan los resultados de los lotes de reactivos cuyo nivel del LOD es más conservador (más alto) para el análisis de la solución PreservCyt® y el fluido conservante SurePath™ respectivamente.

**Tabla 8**  
**Niveles del límite de detección para los genotipos 31, 16 y 18 del HPV**  
**y las líneas celulares SiHa (HPV16) y HeLa (HPV18) en solución PreservCyt®**

Genotipo de HPV	Título (copias o células/ml)	Número de positivos/análisis	% positivos	Intervalo de confianza al 95%	
				Inferior	Superior
31	600	60/60	100%	94%	100%
<b>31</b>	<b>300</b>	<b>59/61</b>	<b>97%</b>	<b>89%</b>	<b>100%</b>
31	150	49/60	82%	70%	90%
16	1500	60/60	100%	94%	100%
<b>16</b>	<b>600</b>	<b>60/60</b>	<b>100%</b>	<b>94%</b>	<b>100%</b>
16	300	55/61	90%	80%	96%
18	1,500	60/60	100%	94%	100%
<b>18</b>	<b>600</b>	<b>60/60</b>	<b>100%</b>	<b>94%</b>	<b>100%</b>
18	300	42/61	69%	56%	80%
SiHa (HPV 16)	200	66/66	100%	95%	100%
<b>SiHa (HPV 16)</b>	<b>100</b>	<b>64/65</b>	<b>98%</b>	<b>92%</b>	<b>100%</b>
SiHa (HPV 16)	50	57/60	95%	86%	99%
HeLa (HPV 18)	80	60/60	100%	94%	100%
<b>HeLa (HPV 18)</b>	<b>40</b>	<b>60/60</b>	<b>100%</b>	<b>94%</b>	<b>100%</b>
HeLa (HPV 18)	20	56/60	93%	84%	98%

**Tabla 9**  
**Niveles del límite de detección para los genotipos 31, 16 y 18 del HPV**  
**y las líneas celulares SiHa (HPV16) y HeLa (HPV18) en fluido conservante SurePath™**

Genotipo de HPV	Título (copias o células/ml)	Número de positivos/análisis	% positivos	Intervalo de confianza al 95%	
				Inferior	Superior
31	600	60/60	100%	94%	100%
<b>31</b>	<b>300</b>	<b>59/59</b>	<b>100%</b>	<b>94%</b>	<b>100%</b>
31	150	54/60	90%	80%	96%
16	600	60/60	100%	94%	100%
<b>16</b>	<b>300</b>	<b>59/60</b>	<b>98%</b>	<b>91%</b>	<b>100%</b>
16	150	40/60	67%	53%	78%
18	1.500	60/60	100%	94%	100%
<b>18</b>	<b>600</b>	<b>60/60</b>	<b>100%</b>	<b>94%</b>	<b>100%</b>
18	300	55/59	93%	84%	98%
SiHa (HPV 16)	400	60/60	100%	94%	100%
<b>SiHa (HPV 16)</b>	<b>200</b>	<b>60/60</b>	<b>100%</b>	<b>94%</b>	<b>100%</b>
SiHa (HPV 16)	100	55/60	92%	82%	97%
HeLa (HPV 18)	80	60/60	100%	94%	100%
<b>HeLa (HPV 18)</b>	<b>40</b>	<b>59/60</b>	<b>98%</b>	<b>91%</b>	<b>100%</b>
HeLa (HPV 18)	20	43/60	72%	59%	83%

Límite de detección: Roche Cell Collection Medium

Se analizaron en paralelo los paneles de dilución del plásmido HPV31 y de las líneas celulares de HPV16 y HPV18 como referencia de pooles de muestras de pacientes negativas para el HPV recogidas en Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt®. El límite de detección obtenido para la prueba **cobas**® 4800 HPV es equiparable.

Verificación de la inclusividad

Para comprobar que la prueba **cobas**® 4800 HPV permite detectar con exactitud todos los genotipos de alto riesgo del HPV, se determinó el límite de detección (LOD) (tablas 10 y 11) para los genotipos 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68. La sensibilidad de la prueba **cobas**® 4800 HPV para los genotipos 16, 18 y 31 del HPV se determinó en el estudio sobre el límite de detección descrito anteriormente en este boletín técnico. Se diluyeron cultivos de plásmidos cuantificados de cada genotipo del HPV bien en solución PreservCyt® o en fluido conservante que contuvieran concentraciones de células HCT-15 negativas para el HPV inferiores y superiores a los niveles del LOD. Se utilizó un lote de reactivos para producir un mínimo de 48 réplicas para cada nivel positivo de cada medio. Para las pruebas con fluido conservante SurePath™ utilizando el tratamiento con tampón de preparación de muestras **cobas**® (Tabla 11), se preparó material de referencia procedente de muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath™ y analizadas como 24 réplicas, cada una con dos lotes de reactivos. Para cada tipo de HPV, se definió el LOD como la concentración de análisis más baja para la que se obtiene una tasa de positividad  $\geq 95\%$  con todas las concentraciones superiores que presentan una tasa de positividad mínima del 95%.

**Tabla 10**  
**Resumen del límite de detección del genotipo de alto riesgo en el estudio de inclusividad de genotipos para la prueba cobas® 4800 HPV (solución PreservCyt®)**

Tipo de ADN de HPV	LOD (copias/ml)	Número de positivos/análisis	Tasa de positividad	Intervalo de confianza al 95%	
				Inferior	Superior
33	190	46/48	96%	86%	99%
35	480	48/48	100%	93%	100%
39	80	48/48	100%	93%	100%
45	190	46/48	96%	86%	99%
51	100	46/48	96%	86%	99%
52	2400	48/48	100%	93%	100%
56	1400	48/48	100%	93%	100%
58	480	47/48	98%	89%	100%
59	190	46/48	96%	86%	99%
66	640	48/48	100%	93%	100%
68	450	48/48	100%	93%	100%

**Tabla 11**  
**Resumen del límite de detección del genotipo de alto riesgo en el estudio de inclusividad de genotipos para la prueba cobas® 4800 HPV (fluido conservante SurePath™)**

Tipo de ADN de HPV	LOD (copias/ml)	Número de positivos/análisis	Tasa de positividad	Intervalo de confianza al 95%	
				Inferior	Superior
33	300	48/48	100%	93%	100%
35	600	47/48	100%	89%	100%
39	150	48/48	100%	93%	100%
45	300	48/48	100%	93%	100%
51	600	46/48	96%	86%	99%
52	4800	48/48	100%	93%	100%
56	1200	46/48	96%	86%	99%
58	600	48/48	100%	93%	100%
59	600	48/48	100%	93%	100%
66	1200	48/48	100%	93%	100%
68	300	48/48	100%	93%	100%

Precisión: solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™

Se examinó la precisión interna con miembros de panel preparados para el estudio del límite de detección descrito en el presente boletín técnico. Para el análisis de la precisión se utilizaron los niveles iguales y superiores al límite de detección. Los paneles se prepararon añadiendo plásmidos de HPV31, HPV16 y HPV18 a las colecciones de muestras de pacientes negativas para HPV de referencia recogidas en solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™. Todos los análisis del material de referencia recogido en fluido conservante SurePath™ se realizaron utilizando el tampón de preparación de muestras **cobas®**.

En las tablas 12 y 13 se muestran respectivamente las tasas de positividad para los miembros del panel (solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™) iguales y superiores al LOD. Se obtuvieron tasas de positividad superiores al 95% para todos los niveles del panel de plásmidos. También se analizó la variación del valor de Ct de la prueba, así como la contribución de factores aleatorios procedentes de lotes de reactivos, sistemas, series interensayo y series intraensayo. Todos ellos se resumen en la tabla 14 para la solución PreservCyt® y en la tabla 15 para el fluido conservante SurePath™. En la tabla 16 se muestra la SD para el valor Ct y el valor %CV de los componentes de variación para la solución PreservCyt®. En la tabla 17 se muestra la SD para el valor Ct y el valor %CV de los componentes de variación para el fluido conservante SurePath™.

**Tabla 12**  
**Resumen de tasas de positividad del estudio de precisión de la prueba cobas® 4800 HPV con un LOD igual o superior (en solución PreservCyt®)**

Objetivo	Nivel de panel	Concentración (copias o células/ml)	N pruebas	N Pos.	Tasa de positividad	IC al 95% para tasa positividad	
						Inferior	Superior
HPV31	> LOD	600	186	186	100%	98%	100%
	= LOD	300	187	184	98%	95%	100%
HPV16	> LOD	1500	186	186	100%	98%	100%
	= LOD	600	186	186	100%	98%	100%
HPV18	> LOD	1500	186	186	100%	98%	100%
	= LOD	600	186	186	100%	98%	100%

**Tabla 13**  
**Resumen de tasas de positividad del estudio de precisión de la prueba cobas® 4800 HPV con un LOD igual o superior (en fluido conservante SurePath™)**

Objetivo	Nivel de panel	Concentración (copias o células/ml)	N pruebas	N Pos.	Tasa de positividad	IC al 95% para tasa positividad	
						Inferior	Superior
HPV31	> LOD	300	180	180	100%	98%	100%
	= LOD	150	180	175	97%	94%	99%
HPV16	> LOD	600	180	180	100%	98%	100%
	= LOD	300	180	180	100%	98%	100%
HPV18	> LOD	1500	180	180	100%	98%	100%
	= LOD	600	180	180	100%	98%	100%

**Tabla 14**  
**Análisis de los componentes de variación del valor de Ct para los niveles de panel preparados en solución PreservCyt® para el estudio de precisión de la prueba cobas® 4800 HPV**

Objetivo	Nivel de panel	N	Codo medio	Componentes de variación/Porcentaje de contribución				
				Lote react.	Sistema	Serie	Aleatorios	Total
HPV16	> LOD	186	36,3	0,038	0	0,111	0,079	0,228
				17%	0%	49%	35%	100%
	= LOD	186	37,5	0,025	0	0,042	0,161	0,228
				11%	0%	18%	71%	100%
HPV18	> LOD	186	36,6	0,043	0	0,149	0,067	0,259
				16%	0%	58%	26%	100%
	= LOD	186	37,8	0,027	0	0,050	0,184	0,261
				10%	0%	19%	71%	100%
HPV31	> LOD	186	36,5	0,003	0,002	0,105	0,187	0,297
				1%	1%	35%	63%	100%
	= LOD	187	37,6	0,020	0	0,157	0,489	0,666
				3%	0%	24%	73%	100%

**Tabla 15**  
**Análisis de los componentes de variación del valor de Ct para los niveles de panel**  
**preparados en fluido conservante SurePath™ para el estudio de precisión de la prueba cobas® 4800 HPV**

Objetivo	Nivel de panel	N	Codo medio	Componentes de variación/Porcentaje de contribución				
				Lote react.	Sistema	Serie	Aleatorios	Total
HPV16	> LOD	180	37,2	0,014	0	0,039	0,157	0,209
				7%	0%	18%	75%	100%
	= LOD	180	38,2	0	0	0,090	0,316	0,405
				0%	0%	22%	78%	100%
HPV18	> LOD	180	36,3	0,011	0	0,119	0,073	0,204
				5%	0%	58%	36%	100%
	= LOD	180	37,7	0	0	0,148	0,219	0,366
				0%	0%	40%	60%	100%
HPV31	> LOD	180	37,2	0	0	0,099	0,393	0,493
				0%	0%	20%	80%	100%
	= LOD	180	38,1	0,026	0,015	0,038	0,684	0,764
				3%	2%	5%	90%	100%

**Tabla 16**  
**Análisis de la SD del valor de Ct y del %CV de los niveles de panel**  
**preparados en solución PreservCyt® para el estudio de precisión de la prueba cobas® 4800 HPV**

Objetivo	Nivel de panel	N	Codo medio	SD componentes/% de CV				
				Lote react.	Sistema	Serie	Aleatorios	Total
HPV16	> LOD	186	36,3	0,19	0	0,33	0,28	0,48
				0,50%	0,00%	0,90%	0,80%	1,30%
	= LOD	186	37,5	0,16	0	0,20	0,40	0,48
				0,40%	0,00%	0,50%	1,10%	1,30%
HPV18	> LOD	186	36,6	0,21	0	0,39	0,26	0,51
				0,60%	0,00%	1,10%	0,70%	1,40%
	= LOD	186	37,8	0,16	0	0,22	0,43	0,51
				0,40%	0,00%	0,60%	1,10%	1,30%
HPV31	> LOD	186	36,5	0,05	0,05	0,32	0,43	0,54
				0,10%	0,10%	0,90%	1,20%	1,50%
	= LOD	187	37,6	0,14	0	0,40	0,70	0,82
				0,40%	0,00%	1,10%	1,90%	2,20%

**Tabla 17**  
**Análisis de la SD del valor de Ct y del %CV de los niveles de panel**  
**preparados en fluido conservante SurePath™ para el estudio de precisión de la prueba cobas® 4800 HPV**

Objetivo	Nivel de panel	N	Codo medio	SD componentes/% de CV				
				Lote react.	Sistema	Serie	Aleatorios	Total
HPV16	> LOD	180	37,2	0,12	0	0,20	0,40	0,46
				0,30%	0,00%	0,50%	1,10%	1,20%
	= LOD	180	38,2	0	0	0,30	0,56	0,64
				0,00%	0,00%	0,80%	1,50%	1,70%
HPV18	> LOD	180	36,3	0,11	0	0,34	0,27	0,45
				0,30%	0,00%	1,00%	0,70%	1,20%
	= LOD	180	37,7	0	0	0,38	0,47	0,61
				0,00%	0,00%	1,00%	1,20%	1,60%
HPV31	> LOD	180	37,2	0	0,02	0,32	0,63	0,70
				0,00%	0,10%	0,80%	1,70%	1,90%
	= LOD	180	38,1	0,16	0,12	0,20	0,83	0,87
				0,40%	0,30%	0,50%	2,20%	2,30%

Precisión: Roche Cell Collection Medium

Los paneles se prepararon añadiendo ADN de línea celular de HPV16 y ADN de línea celular de HPV18 a los pools de referencia de muestras de pacientes negativas para el HPV recogidas en Roche Cell Collection Medium con niveles de LOD iguales y superiores. El análisis de los paneles preparados en Roche Cell Collection Medium ofrece una precisión comparable a la de los paneles preparados en solución PreservCyt®.

Especificidad analítica

Se analizó un panel de bacterias, fungi y virus (incluidos los virus de mayor presencia en el tracto urogenital femenino, así como varios tipos de virus del papiloma humano clasificados de bajo riesgo o sin determinar) con la prueba **cobas**® 4800 HPV a fin de valorar la especificidad analítica de la misma. Se añadieron los organismos que se incluyen en la tabla 18 con concentraciones elevadas ( $\geq 1 \times 10^3$  unidades/reacción) al material de referencia conservado en solución PreservCyt® negativo para HPV y a las muestras conservadas en solución PreservCyt® negativas para HPV y a las que posteriormente se añadió ADN plasmídico para HPV31, HPV16 y HPV18 con una concentración 3 veces superior al LOD. Los organismos marcados con un asterisco también se analizaron para material de referencia recogido en fluido conservante SurePath™ con las mismas condiciones. Los organismos marcados con doble asterisco se analizaron únicamente para material de referencia recogido en fluido conservante SurePath™. Todos los análisis del material de referencia recogido en fluido conservante SurePath™ se realizaron utilizando el tampón de preparación de muestras **cobas**®. Los resultados indicaron que ninguno de estos organismos interfirió en la detección del ADN plasmídico de HPV31, HPV16 y HPV18 ni generó ningún resultado falso positivo en la muestra negativa para HPV.

**Tabla 18**  
**Microorganismos analizados para especificidad analítica**

<i>Achromobacter xerosis</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i> *
<i>Acinetobacter calcaceticus</i>	Virus de la hepatitis B (VHB)	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	Virus del herpes simple 1*	<i>Streptococcus faecalis</i> **
<i>Acinetobacter sp. genospecies 3</i>	Virus del herpes simple 2*	<i>Streptococcus pyogenes</i> *
<i>Actinomyces israelii</i>	Virus de inmunodeficiencia humana (VIH-1)	<i>Streptococcus sanguis</i>
Adenovirus*	<i>Kingella kingae</i>	SV40
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae ss ozaenae</i> *	<i>Treponema pallidum</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> *	<i>Trichomonas vaginalis</i> *
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Lactobacillus crispus</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Bacteriodes caccae</i> **	<i>Lactobacillus delbrueckii s. lactis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	<i>Weissella paramesenteroides</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactococcus lactis cremoris</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> *	<i>Legionella pneumophila</i>	HPV 6*
<i>Bifidobacterium brevi</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	HPV 11*
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Mobiluncus curtisii s. curtisii</i>	HPV 26*
<i>Candida albicans</i> *	<i>Moraxella osloensis</i>	HPV 30**
<i>Chlamydia trachomatis</i> *	<i>Morganella morganii</i>	HPV 34**
<i>Chromobacter violaceum</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	HPV 40
<i>Citrobacter braakii</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	HPV 42
<i>Clostridium adolescentis</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	HPV 53**
<i>Clostridium beijerinckii</i> **	<i>Mycoplasma hominis</i>	HPV 54
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	HPV 55B
<i>Corynebacterium genitalium</i> **	<i>Neisseria meningitidis Serogrupo A</i>	HPV 61
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	HPV 62
Citomegalovirus*	<i>Pediococcus acidilactici</i>	HPV 64
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> *	HPV 67*
<i>Enterobacter aerogenes</i> **	<i>Propionibacterium acnes</i>	HPV 69*
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Proteus mirabilis</i> *	HPV 70*
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	HPV 71
<i>Enterococcus faecium</i> *	<i>Providencia stuartii</i>	HPV 72
Virus Epstein Barr*	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	HPV 73*
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> **	HPV 81
<i>Escherichia coli</i> *	<i>Ruminococcus productus</i>	HPV 82*
<i>Ewingella americana</i>	<i>Salmonella minnesota</i>	HPV 83
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Serratia marcescens</i>	HPV 84
<i>Fusobacterium varium</i> **	<i>Staphylococcus aureus</i> *	HPV 85**
<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> *	HPV 89 (CP6108)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-

\*Analizado en material de referencia recogido en PreservCyt® y SurePath™

\*\*Analizado únicamente en material de referencia recogido en SurePath™

**Sustancias interferentes**

Se utilizaron muestras cervicales positivas para HPV y negativas para HPV, así como muestras artificiales, para valorar los efectos de sustancias interferentes endógenas y exógenas que podrían estar presentes en las muestras cervicales. En la tabla 19 se describen los materiales de análisis utilizados en los estudios. Las concentraciones de sustancias endógenas y exógenas analizadas representan condiciones que podrían darse durante la obtención de las muestras.

Se analizó la sangre total, las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) y el moco cervical como posibles sustancias interferentes endógenas presentes en las muestras cervicales. Todos los análisis del material de referencia recogido en fluido conservante SurePath™ se realizaron utilizando el tampón de preparación de muestras **cobas**®. En la tabla 20 se describen los niveles de cada posible sustancia interferente y las observaciones de rendimiento. No se detectó ninguna interferencia para las CMSP ni para el moco en ninguno de los niveles de análisis. La sangre total no generó interferencias incluso estando presente en volúmenes detectables visiblemente de hasta el 2% en Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt®. La sangre total no generó interferencias aun estando presente en volúmenes detectables visiblemente de hasta el 4% en fluido conservante SurePath™.

**Tabla 19**  
**Descripciones de las muestras para el análisis de interferencias**

Tipo de muestra	Descripción
Muestras cervicales positivas para HPV	Se extrajeron 10 partes alícuotas individuales de muestras positivas para HPV en solución PreservCyt® para el análisis con y sin sustancias interferentes endógenas
Muestras cervicales negativas para HPV	Se extrajeron 10 partes alícuotas individuales de muestras negativas para HPV en solución PreservCyt® para el análisis con y sin sustancias interferentes endógenas
Muestra cervical artificial positiva para HPV	Se diluyeron muestras positivas para HPV (canal 1) en solución PreservCyt® con una muestra negativa para HPV con un nivel aproximado de 3 x LOD. Luego se añadieron plásmidos de los tipos 16 (canal 2) y 18 (canal 3) de HPV con una concentración de ~ 3 x LOD. El plásmido HPV31, el ADN de línea celular de HPV16 y el ADN de línea celular de HPV18 se añadieron con una concentración de ~3 x LOD a muestras negativas para el HPV recogidas en Roche Cell Collection Medium.
Pooles de 3x LOD en solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™	Se diluyeron los plásmidos de los genotipos 31, 16 y 18 del HPV con una concentración 3 x LOD en pooles de muestras negativas en solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™.

**Tabla 20**  
**Resultados del análisis de interferencia con sustancias interferentes endógenas**

Sustancia analizada	Concentraciones analizadas	Interferencia observada	
		PreservCyt®	SurePath™
Sangre total	1%, 1,5%, 2%, 3%, 4%, 6%, 8% v/v	Superior a 2%	Superior a 4%
CMSP	10 <sup>4</sup> , 10 <sup>5</sup> , 10 <sup>6</sup> células/ml	Ninguna	Ninguna
Moco cervical	Moco obtenido del procedimiento de limpieza cervical estándar	Ninguna	Ninguna

Se analizó un total de 18 productos de higiene femenina y contracepción disponibles en el mercado como posibles sustancias interferentes. La tabla 20 resume los posibles tipos de sustancias interferentes analizadas y las observaciones del rendimiento en pooles de Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™ con concentraciones de 3 x LOD.

**Tabla 21**  
**Resultados del análisis de interferencia con sustancias interferentes exógenas**

Descripción de la sustancia interferente	Interferencia observada
Geles y espumas contraceptivos	Ninguna
Lubricantes vaginales	*Sí
Ducha vaginal	Ninguna
Crema antifúngica con 1% clotrimazol, hidrocortisona, 2% de nitrato de miconazol, 6,5% de ungüento de tioconazol, 20% de benzocaína	Ninguna

\* Replens® (gel antisequedad de uso tópico) generó resultados negativos en réplicas de pooles de fluido conservante SurePath™ con concentraciones 3 x LOD. Esta interferencia también se observó cuando el material recogido en SurePath™ se trató con tampón de preparación de muestras **cobas**®. Los productos de higiene vaginal RepHresh® generaron resultados negativos en réplicas de pooles de Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt® con concentraciones 3 x LOD.

Estabilidad de las muestras recogidas en SurePath™ durante 6 semanas a 2-30 °C utilizando tratamiento con tampón de preparación de muestras **cobas**®

Se añadieron tres pools de muestras recogidas en SurePath™ negativas al HPV con material de muestra recogido en SurePath™ positivo al genotipo 51 de HPV para producir pools de muestras positivas, positivas altas y positivas bajas. El pool de muestras positivas bajas estaba en ~el límite de detección (LOD) para la prueba del día 0 antes del tratamiento con tampón de preparación de muestras **cobas**®. Estos pools se almacenaron a 32 °C y se analizaron a intervalos de hasta 6 semanas. El material de los pools se sometió al tratamiento para revertir la reticulación inducida por la matriz y a continuación se realizó un análisis con la prueba **cobas**® 4800 HPV en cada momento temporal. Los tres pools conservaron los valores medios de Ct por debajo del valor de corte para el genotipo 51 de HPV (40,0 para el canal 1) a lo largo de las 6 semanas de almacenamiento (consulte la tabla 22).

**Tabla 22**  
**Resultados de estabilidad de muestras recogidas en SurePath™ durante 6 semanas con tratamiento con tampón de preparación de muestras cobas®**

Pools con SurePath™	Valores de Ct medios*				
	Día 0	Semana 1	Semana 3	Semana 4	Semana 6
Positivo alto	28,7	30,1	30,3	30,6	31,1
Positivo	32,9	33,5	34,1	33,9	34,6
Positivo bajo (~LOD)	36,9	37,9	38,0	38,8	38,7

\*Los tiempos de Positivo bajo se analizaron como 40 réplicas, los de Positivo como 30 réplicas y los de Positivo alto como 20 réplicas

Correlación de resultados de muestras de autotoma recogidas utilizando FLOQSwab® 552C.80 y muestras recogidas por personal médico

Se realizó una comparación de los resultados de las muestras vaginales de autotoma y las muestras cervicales recogidas por personal médico utilizando pares de muestras de 744 mujeres seleccionadas para el cribado.

Cada mujer recogió primero su muestra utilizando FLOQSwab® 552C.80 (Copan, Italia) y la resuspendió en Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt® después de la recogida. El personal médico recogió una segunda muestra durante la misma visita utilizando el estándar del protocolo de atención; la muestra recogida por el personal médico se resuspendió en el mismo tipo de medio que la muestra de autotoma.

La tasa de resultados no válidos para los resultados de las muestras de autotoma y las recogidas por personal médico fue del 4,6 % y del 0,3 %, respectivamente. Para el análisis de correlación se utilizó un total de 708 resultados emparejados válidos. Las muestras positivas para cualquiera de los 14 genotipos de alto riesgo del HPV detectados por la prueba (HPV-HR) se consideraron positivas, mientras que las muestras con resultados negativos para los 14 genotipos de alto riesgo del HPV detectados por la prueba se consideraron negativas.

Los resultados de correlación y las concordancias de porcentajes de positivos, de negativos y general junto con los intervalos de confianza al 95 % se muestran en la Tabla 23.

**Tabla 23**  
**Correlación de resultados de muestras de autotoma vaginal utilizando FLOQSwab® 552C.80 y muestras cervicales recogidas por personal médico**

		Muestra cervical recogida por personal médico		Total
		Resultado de 14 HR		
		Positiva	Negativa	
Muestra vaginal de autotoma utilizando FLOQSwab® 552C.80	Positiva	161	48	209
	Negativa	22	477	499
Total		183	525	708

	Resultado (%)	Intervalo de confianza del 95 %
Concordancia de porcentaje de positivos	88,0 %	82,5-91,9 %
Concordancia de porcentaje de negativos	90,8 %	88,1-93,0 %
Porcentaje de concordancia global	90,1 %	87,7-92,1 %

### Correlación de resultados de muestras de autotoma recogidas utilizando Evalyn® Brush y muestras recogidas por personal médico

Se realizó una comparación de los resultados de las muestras vaginales de autotoma y las muestras cervicales recogidas por personal médico utilizando pares de muestras de 784 mujeres seleccionadas para el cribado.

Cada mujer recogió primero su muestra utilizando un cepillo Evalyn® Brush (Rovers, Países Bajos) y la resuspendió en Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt® después de la recogida. El personal médico recogió una segunda muestra durante la misma visita utilizando el estándar del protocolo de atención; la muestra recogida por el personal médico se suspendió en el mismo tipo de medio que la muestra de autotoma.

La tasa de resultados no válidos para los resultados de las muestras de autotoma y las recogidas por personal médico fue del 4,7 % y del 0,4 %, respectivamente. Para el análisis de correlación se utilizó un total de 742 resultados emparejados válidos. Las muestras positivas para cualquiera de los 14 genotipos de alto riesgo del HPV detectados por la prueba (HPV-AR) se consideraron positivas, mientras que las muestras con resultados negativos para los 14 genotipos de alto riesgo del HPV detectados por la prueba se consideraron negativas.

Los resultados de correlación y las concordancias de porcentajes de positivos, de negativos y general junto con los intervalos de confianza al 95 % se muestran en la Tabla 24.

**Tabla 24**

#### **Correlación de resultados de muestras vaginales de autotoma obtenidas utilizando Evalyn® Brush y muestras cervicales obtenidas por personal médico**

		Muestra cervical recogida por personal médico 14 resultados AR		Total
		Positiva	Negativa	
Muestra vaginal de autotoma con el cepillo Evalyn® Brush 14 resultados AR	Positiva	195	37	232
	Negativa	25	485	510
Total		220	522	742

	Resultado (%)	Intervalo de confianza del 95 %
Concordancia de porcentaje de positivos	88,6 %	83,8-92,2 %
Concordancia de porcentaje de negativos	92,9 %	90,4-94,8 %
Porcentaje de concordancia global	91,6 %	89,4-93,4 %

## BIBLIOGRAFÍA

1. Burd, Eileen M. 2003. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *Clinical Microbiology Reviews*. **16**:1-17.
2. zur Hausen, H. 2002. Papillomaviruses and Cancer: From Basic Studies to Clinical Application. *Nat Rev Cancer*. **2(5)**:342-50.
3. Walboomers, Jan M.M., Jacobs, Marcel V., Manos, M.M., et al. 1999. Human Papillomavirus is a Necessary Cause of Invasive Cervical Cancer Worldwide. *Journal of Pathology*. **189**:12-19.
4. Bernard HU. Review: The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol*. 2005; **32S**, S1-6.
5. Molijn A, Kleter B, Quint W, van Doorn, L. Review: Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol*. 2005; **32S**:S43-51.
6. zur Hausen H. Roots and perspectives of contemporary papillomavirus research. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1996; **122**:3-13.
7. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004; **324**:17-27.
8. Franco EL, Rohan TE, Villa LL. Epidemiologic evidence and human papillomavirus infection as a necessary cause of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1999; **91**:506-511.
9. Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, et al. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol*. 1992; **79**:328-37.
10. Bosch, F.X., Manos, M.M., Munoz, N., et al. 1995. International Biological Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study Group. Prevalence of Human Papillomavirus in Cervical Cancer: a Worldwide Perspective. *Journal of the National Cancer Institute*, Vol. 87, No. **11**:796-802.
11. Bosch, F.X., A. Lorincz, N. Muñoz, C.J.L.M. Meijer, K.V. Shah (2002) "The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer" *J Clin Path* **55**:244-265.
12. Muñoz N, F.X. Bosch, S. de Sanjosé, R. Herrero, X. Castellsagué, K.V. Shah, P.J.F. Snijders, and Chris J.L.M. Meijer, for the International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. (2003) "Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer" *N Engl J Med* **348(6)**:518-527.
13. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Muñoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2003; **88**:63-73.
14. Koutsky, L. 1997. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *American Journal of Medicine*. **102(5A)**:3-8.
15. Winer RL, Kiviat NB, Hughes JP, et al. Development and duration of human papillomavirus lesions, after initial infection. *J Infect Dis*. 2005; **191**:731-738.
16. Moscicki, A, Schiffman M, Kjaer S, Villa L. Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine* 2006; **24(S3)**; 42-51.
17. Moscicki AB, Ellenberg JH, Farhat S, Xu J. Persistence of human papillomavirus infection in HIV-infected and -uninfected adolescent girls: risk factors and differences, by phylogenetic type. *J Infect Dis*. 2004 Jul 1; **190(1)**:37-45.
18. Palmer Castle PE, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Rodriguez AC, Bratti MC, Sherman ME, Wacholder S, Tarone R, Burk RD. A prospective study of age trends in cervical human papillomavirus acquisition and persistence in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis*. 2005 Jun 1; **191(11)**:1808-16.
19. Zielinski GD, Snijders PJF, Rozendaal I, et al. High-risk HPV testing in women with borderline and mild dyskaryosis; long term follow-up data and clinical relevance. *J Pathol* 2001; **195**:300-306.
20. Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T. Natural history of dysplasia of the uterine cervix, *J Natl Cancer Inst* 1999; **91**:252-58.
21. Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Bezemer PD, Verheijen RH, Meijer CJ. Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear. *Lancet*. 2001; **358(9295)**:1782-1783.
22. Cuzick J, Clavel C, Petry KU, et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 2006; **119**:1095-1101.
23. Whitlock EP, Vesco KK, Eder M, Lin JS, Senger CA, Burda BU. Liquid-based cytology and human papillomavirus testing to screen for cervical cancer: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2011; **155**:687,697, W214-5.
24. Myers, T.W. and Gelfand, D.H. 1991. Reverse transcription and DNA amplification by a *Thermus thermophilus* DNA polymerase. *Biochemistry*. **30**:7661-7666.
25. Davies, P., Kornegay, J., Iftner, T. 2001. Current methods of testing for human papillomavirus. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. Vol. 15, No. **5**:677-700.
26. Birch, D.E., et al. 1996. The use of a thermally activated DNA polymerase PCR gives improved specificity, sensitivity and product yield without additives or extra process steps. *Nature*. Vol 381, **No 6581**:445-446.
27. Meng, Q., et al. 2001. Automated Multiplex Assay System for Simultaneous Detection of Hepatitis B Virus DNA, Hepatitis C Virus RNA, and Human Immunodeficiency Virus Type 1 RNA. *J Clin Microbiol*. Vol 39, **No 8**:2937-2945.
28. Longo, M.C., Berninger, M.S. and Hartley, J.L. 1990. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. **93**:125-128.

29. Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P.S., and Griffith, R. 1992. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Bio/Technology* **10**:413-417.
30. Heid, C.A., Stevens, J., Livak, J.K., and Williams, P.M. 1996. Real time quantitative PCR. *Genome Research* **6**:986-994.
31. Richmond, J.Y. and McKinney, R.W. eds. 1999. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. HHS Publication Number (CDC) 93-8395.
32. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Approved Guideline-Third Edition. CLSI Document M29-A3 Villanova, PA:CLSI, 2005.
33. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 48<sup>th</sup> Edition. 2007.
34. Wheeler, C.M., Hunt, W.C., Joste, N.E., Key, C.R., Quint, W.G.V. and Castle, P.E. 2009. Human Papillomavirus Genotype Distributions: Implications for Vaccination and Cancer Screening in the United States. *J Natl Cancer Inst.* **101**:475-487.
35. Khan, M.J., Castle, P.E., Lorincz, A.T., Wacholder, S., Sherman, M., Scott, D.R., Rush, B.B., Glass, A.G. and Schiffman, M. 2005. The Elevated 10-Year Risk of Cervical Precancer and Cancer in Women With Human Papillomavirus (HPV) Type 16 and 18 and the Possible Utility of Type-Specific HPV Testing in Clinical Practice. *J Natl Cancer Inst.* **97**:1072-1079.
36. Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D. 2007. 2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests, *Am J Obstet Gynecol* **197 (4)**; 346-355.
37. Saslow D, Runowicz CD, Solomon D, Moscicki A-B, Smith RA, Eyre HJ, Cohen C. 2002, American Cancer Society Guideline for the Early Detection of Cervical Neoplasia and Cancer. *CA Can Jour Clin* **53**: 342-362.
38. Stoler MH, Wright TC Jr, Sharma A, Apple R, Gutekunst K, Wright TL; ATHENA(Addressing THE Need for Advanced HPV Diagnostics) HPV Study Group. High-risk human papillomavirus testing in women with ASC-US cytology: results from the ATHENA HPV study. *Am J Clin Pathol.* 2011 Mar;**135(3)**:468-475.

<b>Información de revisión del documento</b>	
Doc Rev. 23.0 11/2023	<p>Se ha corregida la Tabla 23.</p> <p>Se ha corregido el formato en todo el documento cuando era necesario.</p> <p>Se ha actualizado la marca <b>cobas</b><sup>®</sup>.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>
Doc Rev. 24.0 08/2024	<p>Se ha actualizado la información sobre peligros en los kits para la preparación de muestras.</p> <p>Se ha actualizado la información sobre peligros en los Liquid Cytology Preparation Kits y los Wash Buffer Kits.</p> <p>Se ha actualizado la frase sobre la autoridad competente.</p> <p>Se ha eliminado el número de referencia de material y los números de versión encima del símbolo EC REP para evitar información redundante.</p> <p>Se ha eliminado el símbolo "Rx Only" en la primera página.</p> <p>Se ha actualizado la página de símbolos armonizados.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>

Puede consultar el resumen del informe de seguridad y rendimiento en el siguiente enlace: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

### Asistencia técnica

Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su filial local:  
[https://www.roche.com/about/business/roche\\_worldwide.htm](https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm)

### Fabricante e importador



Roche Molecular Systems, Inc.  
1080 US Highway 202 South  
Branchburg, NJ 08876, USA  
[www.roche.com](http://www.roche.com)

Fabricado en los EE. UU.



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

### Marcas registradas y patentes

Consulte <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>












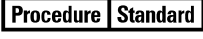








































©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Str. 116  
68305 Mannheim  
Germany



# Los siguientes símbolos se emplean actualmente en el rotulado de todos los productos diagnósticos por PCR de Roche.

 Edad o fecha de nacimiento	 Dispositivo no apto para pruebas cerca del paciente	 UI de QS por reacción de PCR, utilice las unidades internacionales (UI) de QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.
 Software auxiliar	 Dispositivo no apto para autoexamen	 Número de serie
 Intervalo asignado (copias/ml)	 Distribuidor <i>(Nota: el país o la región se indicará debajo de este símbolo.)</i>	 Centro
 Intervalo asignado (UI/ml)	 No deben reutilizarse	 Procedimiento estándar
 Representante autorizado en la Comunidad Europea	 Mujeres	 Esterilizado con óxido de etileno
 Hoja de datos del código de barras	 Para evaluación del rendimiento IVD únicamente	 Almacenar en la oscuridad
 Código de serie	 Global Trade Item Number (número mundial de un artículo comercial)	 Límite de temperatura
 Riesgo biológico	 Importador	 Archivo de definición de pruebas
 Número de catálogo	 Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Este lado hacia arriba
 Marcado CE de conformidad; este dispositivo cumple con los requisitos aplicables para el marcado CE de un producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> .	 Límite inferior del intervalo asignado	 Procedimiento ultrasensible
 Fecha de recogida	 Hombres	 Identificación exclusiva del dispositivo
 Consulte las instrucciones de uso	 Fabricante	 Límite superior del intervalo asignado
 Suficiente para $<n>$ pruebas	 Control negativo	 Línea de llenado de orina
 Contenido del kit	 Sin esterilizar	 Solamente para EE. UU.: la ley federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo autorizado o bajo prescripción médica.
 Control	 Nombre del paciente	 Fecha de caducidad
 Fecha de fabricación	 Número del paciente	
 Dispositivo para pruebas cerca del paciente	 Abrir aquí	
 Dispositivo para autoexamen	 Control positivo	
 Copias QS por reacción de PCR, utilice copias QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.		