

# **cobas<sup>®</sup> HPV**

---

## **Prueba cualitativa de ácidos nucleicos para uso en los sistemas cobas<sup>®</sup> 5800/6800/8800**

Para diagnóstico *in vitro*

<b>cobas<sup>®</sup> HPV</b>	P/N: 09040544190
<b>cobas<sup>®</sup> HPV Positive Control Kit</b>	P/N: 09040552190
<b>cobas<sup>®</sup> Buffer Negative Control Kit</b>	P/N: 09051953190

# Tabla de contenido

<b>Uso previsto .....</b>	<b>5</b>
<b>Resumen y explicación de la prueba.....</b>	<b>6</b>
Información de referencia.....	6
Motivos para el uso de la prueba del HPV .....	6
Explicación de la prueba.....	7
<b>Reactivos y materiales.....</b>	<b>8</b>
Reactivos y controles de cobas® HPV .....	8
Reactivos cobas® omni para la preparación de muestras.....	9
Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos .....	10
Material adicional necesario para los sistemas cobas® 5800/6800/8800 .....	11
Instrumentos y software necesarios.....	12
Material adicional necesario para la recogida de muestras para cobas® HPV .....	13
Material adicional para la preparación de muestras.....	14
<b>Precauciones y requisitos de manipulación.....</b>	<b>15</b>
Advertencias y precauciones.....	15
Manipulación de reactivos .....	15
Buenas prácticas de laboratorio.....	16
<b>Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras.....</b>	<b>16</b>
Obtención de las muestras .....	16
Transporte de las muestras .....	17
Almacenamiento de las muestras.....	17
<b>Instrucciones de uso .....</b>	<b>18</b>
Suspensión de muestras de autotoma.....	18
Muestras en Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt® .....	20
Sistema cobas® 5800 .....	20
Sistemas cobas® 5800/6800/8800 .....	20
Muestras en fluido conservante SurePath™ .....	21
Sistemas cobas® 5800/6800/8800 .....	21

Notas sobre el procedimiento.....	22
Ejecución de la prueba cobas® HPV en el sistema cobas® 5800 .....	22
Ejecución de la prueba cobas® HPV en los sistemas cobas® 6800/8800.....	25
<b>Resultados .....</b>	<b>27</b>
Control de calidad y validez de los resultados en el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800 con la versión del software 2.0 o posterior .....	27
Control de calidad y validez de los resultados en los sistemas cobas® 6800/8800 con versión del software 1.4 .....	28
Interpretación de los resultados en el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800 con la versión del software 2.0 o superior .....	28
Interpretación de resultados en los sistemas cobas® 6800/8800 con versión del software 1.4 o posterior.....	30
Interpretación de los resultados en los sistemas cobas® 5800/6800/8800.....	32
<b>Limitaciones del procedimiento .....</b>	<b>33</b>
<b>Rendimiento clínico con muestras clínicas .....</b>	<b>35</b>
Concordancia entre la prueba cobas® HPV en SurePath™ y PreservCyt® con comparador compuesto .....	36
<b>Evaluación no clínica del rendimiento .....</b>	<b>37</b>
Equivalencia entre sistemas/Comparación de sistemas.....	37
Características clave de rendimiento .....	37
Límite de detección (LoD).....	37
Inclusividad .....	38
Precisión.....	38
Especificidad analítica/reactividad cruzada .....	42
Interferencia .....	43
Contaminación por arrastre.....	44
Fallo de todo el sistema .....	44
Correlación de métodos.....	44
Comparación del rendimiento de la prueba con Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt® .....	46
Correlación de resultados de muestras de autotoma recogidas utilizando FLOQSwab® 552C.80 y muestras recogidas por personal médico .....	47

---

Correlación de resultados de muestras de autotoma recogidas utilizando Evalyn® Brush y muestras recogidas por personal médico .....	48
<b>Información adicional .....</b>	<b>49</b>
Características principales del ensayo .....	49
Símbolos .....	50
Asistencia técnica .....	51
Fabricante e importador .....	51
Marcas registradas y patentes .....	51
Derechos de autor .....	51
Bibliografía .....	52
Revisión del documento .....	54

## Uso previsto

La prueba **cobas**® HPV para uso en los sistemas **cobas**® 5800/6800/8800 (**cobas**® HPV) es una prueba cualitativa automatizada *in vitro* para la detección de ADN del virus del papiloma humano (HPV) en muestras de pacientes.

La prueba utiliza la amplificación del fragmento de ADN diana mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la hibridación de ácidos nucleicos para la detección de 14 genotipos del HPV de alto riesgo (AR) 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 recogidas en Roche Cell Collection Medium (Roche Molecular Systems, Inc.), solución PreservCyt® (Hologic Corp.) y fluido conservante SurePath™ (BD Diagnostics-TriPath).

Indicaciones de uso de la prueba **cobas**® HPV:

- A. La prueba **cobas**® HPV está indicada para el cribado de pacientes en cuyos resultados de la citología cervical se han detectado células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS) a fin de determinar si es necesario realizar una colposcopia.
- B. La prueba **cobas**® 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.
- C. La prueba **cobas**® HPV está indicada para su uso conjunto con una citología cervical para valorar la presencia o ausencia de tipos de alto riesgo del HPV.
- D. La prueba **cobas**® HPV está indicada para su uso conjunto con una citología cervical para valorar la presencia o ausencia de los genotipos 16 y 18 del HPV.
- E. La prueba **cobas**® 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.
- F. La prueba **cobas**® 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**® HPV también puede utilizarse con muestras vaginales de autotoma según las instrucciones del personal sanitario recogidas en Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt®.

Los resultados obtenidos con la prueba **cobas**® 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 las pacientes. Los resultados de la prueba **cobas**® HPV no tienen como finalidad evitar que las mujeres se sometan a una colposcopia.

# Resumen y explicación de la prueba

## Información de referencia

Las infecciones persistentes por el virus del papiloma humano (HPV) son la principal 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 de ADN bicatenario pequeño sin envoltura con un genoma de unos 8.000 nucleótidos. Existen más de 140 genotipos de HPV<sup>4,5</sup> distintos, y unos 40 tipos distintos que pueden infectar la mucosa anogenital humana.<sup>6,7</sup> Sin embargo, se ha demostrado que únicamente un subconjunto de 14 genotipos del HPV es causante de la mayoría de los casos de cáncer cervical y lesiones cervicales precancerosas.<sup>3,8-13</sup> En este documento, “HPV” significa “HPV de alto riesgo”, salvo si se indica lo contrario.

En los países desarrollados en los que se aplican programas de detección de cáncer cervical, la citología (prueba de Papanicolaou) se utiliza desde la década de los 60 como herramienta principal para detectar síntomas precursores del cáncer cervical. A pesar de que se ha reducido drásticamente la incidencia y la tasa de mortalidad por cáncer cervical en estos países, la citología es una prueba costosa que conlleva la realización de varias pruebas en intervalos breves de tiempo. Además, para la interpretación de los resultados se requieren citopatólogos con gran experiencia, la reproducibilidad de la prueba es limitada y su sensibilidad relativamente baja para la detección de lesiones precancerosas. El descubrimiento del HPV persistente como el agente causante individual del cáncer cervical generó gran interés en el uso del HPV como herramienta de cribado de cáncer cervical y estudios posteriores han demostrado que las pruebas basadas en el HPV son más sensibles que la citología para la detección de lesiones precancerosas.<sup>14</sup> En 2001, las directrices profesionales recomendaron por primera vez el uso de las pruebas del HPV en combinación con la citología en mujeres  $\geq 21$  años y, en 2012, la prueba conjunta (citología más prueba del HPV) se designó como el método preferido para el cribado de cáncer cervical en mujeres  $\geq 30$  años.<sup>15</sup> Más recientemente, en 2014, la prueba **cobas**® 4800 HPV obtuvo la certificación de la FDA como método de cribado primario de primera línea y, en 2015, dos asociaciones profesionales publicaron unas directrices provisionales que designaban el cribado primario del HPV como una opción para el cribado de mujeres  $\geq 25$  años.<sup>16</sup>

## Motivos para el uso de la prueba del HPV

La mayoría de los casos de cáncer cervical y mortalidad pueden evitarse gracias a la detección temprana de cambios precancerosos en el cérvix. La citología Pap ha sido fundamental en los programas de cribado de cáncer cervical durante más de 50 años y ha contribuido a un descenso del 70 % en las tasas de cáncer de cuello uterino en los países desarrollados.<sup>15</sup> En la actualidad, el HPV se reconoce como una única causa imprescindible para el cáncer del cuello uterino y está presente en el 99,7 % de los casos de cáncer cervical.<sup>3</sup> Hay 13 genotipos del HPV clasificados como carcinogénicos o de alto riesgo (AR) debido a su asociación con el cáncer cervical: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, y un genotipo adicional (66) clasificado como probable carcinogénico.<sup>17</sup> Por lo tanto, se ha incrementado el uso de pruebas que detectan la infección por estos genotipos AR del HPV en los programas de cribado de cáncer cervical. En las directrices “2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests”<sup>18</sup> se estableció la conveniencia del uso de una combinación de citología cervical, pruebas para la detección de infección por HPV de AR y pruebas para la identificación del tipo específico del HPV para mujeres en cribado de cáncer cervical. En estas directrices, la temporización de estudios adicionales (p. ej., colposcopia) y el intervalo para la repetición del cribado dependen del resultados de estas pruebas. Estas directrices se han revisado recientemente y ahora recomiendan la combinación de la citología y las pruebas de HPV de AR (prueba conjunta) como el método preferido de cribado, con la opción añadida de las pruebas para la detección de los genotipos 16/18 del HPV.<sup>15</sup> Las pruebas basadas en el HPV constituyen un método más sensible para el cribado de cáncer cervical que la citología<sup>19</sup> y su valor médico ha sido claramente demostrado como ayuda para la citología, la clasificación de la citología de ASCUS y como prueba de primera línea.

## Explicación de la prueba

El ensayo **cobas**® HPV es una prueba cualitativa de PCR a tiempo real<sup>20,21</sup> capaz de detectar los 14 genotipos de HPV de alto riesgo. La prueba **cobas**® HPV utiliza cebadores para definir una secuencia de aproximadamente 200 nucleótidos en la región L1 polimórfica del genoma del HPV. La Master Mix incluye un pool 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>3,9-13,22</sup> La prueba utiliza ADN de  $\beta$ -globina como control interno para monitorizar todo el proceso de preparación de las muestras y amplificación mediante PCR, por lo que un par de cebadores adicional se dirige al gen de la  $\beta$ -globina humana (amplicón de 330 pares de bases). Las sondas de oligonucleótidos fluorescentes se unen a las regiones polimórficas de la secuencia definida por dichos cebadores. Además, la prueba utiliza un control positivo de título bajo y un control negativo.

La prueba **cobas**® HPV se basa en la preparación de muestras totalmente automática (extracción y purificación de ácidos nucleicos) seguida de un proceso de amplificación<sup>23</sup> y detección mediante PCR. El sistema **cobas**® 5800 se ha diseñado como un único instrumento integrado. Los sistemas **cobas**® 6800/8800 constan de un módulo de suministro de muestras, módulo de transferencia, módulo o módulos de procesamiento y módulo analítico, todos ellos integrados para formar un solo instrumento. La gestión automática de los datos se realiza mediante el software del sistema **cobas**® 5800 o los sistemas **cobas**® 6800/8800, que asigna los resultados a las pruebas como positivos, negativos o no válidos. Los resultados pueden revisarse directamente en la pantalla del sistema, exportarse o imprimirse como informe.

La extracción de ácidos nucleicos (ADN) de las muestras de pacientes y los controles externos se realiza simultáneamente. En resumen, los ácidos nucleicos se liberan al añadir proteinasa y reactivo de lisis a la muestra. Los ácidos nucleicos liberados se unen a la superficie de sílice de las partículas de vidrio magnéticas añadidas. Las sustancias sin unir y las impurezas, como las proteínas desnaturalizadas, los restos celulares y los posibles inhibidores de la PCR se eliminan en los siguientes pasos de lavado, mientras que los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas de vidrio magnéticas mediante el buffer de elución a temperatura elevada.

Para el proceso de amplificación mediante PCR se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable. La amplificación de las secuencias de HPV y  $\beta$ -globina se realiza simultáneamente mediante un perfil universal de amplificación mediante PCR que incluye unos pasos de temperatura y número de ciclos predefinidos. El reactivo de Master Mix incluye trifosfato de deoxiuridina (dUTP), en lugar de trifosfato desoxitimidina (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado (amplicón). La enzima AmpErase, que se incluye en la Master Mix para PCR cuando se calienta durante la primera ciclación térmica, elimina cualquier amplicón contaminado de las series de PCR anteriores.<sup>24</sup> Sin embargo, no se eliminan los amplicones nuevos porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

La Master Mix para la prueba **cobas**® HPV contiene sondas de detección específicas para doce secuencias diana de HPV de alto riesgo, una sonda de detección específica para la secuencia de la diana del HPV16, una sonda de detección específica para la secuencia de la diana del HPV18 y una para la  $\beta$ -globina. 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 de los genotipos HPV16 y HPV18 y de la  $\beta$ -globina se detectan con marcadores fluorescentes específicos. Cuando no se une a la secuencia de la diana, la señal fluorescente de las sondas intactas se elimina mediante el marcador silenciador. Durante el paso de amplificación mediante PCR, la hibridación de las sondas con la plantilla específica de ADN monocatenario provoca la escisión de la sonda por la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que produce la separación de los marcadores emisor y silenciador y la emisión de una señal fluorescente. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal acumulada del marcador emisor aumenta concomitantemente. La detección y diferenciación en tiempo real de los productos de PCR se consigue mediante cuantificación de la fluorescencia liberada por los marcadores emisores para las dianas de HPV y  $\beta$ -globina, respectivamente.

# Reactivos y materiales

## Reactivos y controles de cobas® HPV

**Tabla 1** cobas® HPV

Almacenar a 2-8 °C Casete para 480 pruebas (P/N 09040544190)		
Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit 480 pruebas
<b>Solución de proteinasa (PASE)</b>	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8 % de proteinasa EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad. EUH208: Contiene subtilisina de <i>Bacillus subtilis</i> . Puede provocar una reacción alérgica.	38 ml
<b>Recipiente vacío (EV)</b>	n.a.	1
<b>Buffer de elución (EB)</b>	Buffer Tris, 0,2 % de metil-4-hidroxibenzoato	38 ml
<b>Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)</b>	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1 % de azida sódica	14,5 ml
<b>Reactivo 2 de Master Mix para HPV (HPV MMX-R2)</b>	Buffer Tricina, acetato de potasio, EDTA, glicerol, < 18 % de sulfóxido de dimetilo, < 0,12 % de dATP, dCTP, dGTP y dUTP, < 0,1 % de Tween 20, < 0,1 % de azida sódica, < 0,1 % de ADN polimerasa Z05, < 0,10 % de enzima AmpErase (uracilo-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1 % de cebadores ascendente y descendente del HPV, < 0,01 % de cebadores ascendente y descendente de β-globina, < 0,01 % de sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescente específicas para HPV y β-globina, < 0,01 % de aptámero oligonucleótido	17,5 ml

**Tabla 2** cobas® HPV Positive Control Kit


Almacenar a 2-8 °C (P/N 09040552190)		
Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit
<b>Control positivo para HPV (HPV (+) C)</b>	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, < 0,1 % de azida sódica, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencias de HPV16, HPV18 y HPV 39, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencias de β-globina, < 0,002 % de ARN poli Ar (sintético)	16 ml (16 × 1 ml)

**Tabla 3** cobas® Buffer Negative Control Kit

Almacenar a 2-8 °C (P/N 09051953190)		
Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit
<b>Control negativo para el buffer de cobas® (BUF (-) C)</b>	Buffer Tris, < 0,1 % de azida sódica, EDTA, < 0,002 % de ARN poli Ar (sintético)	16 ml (16 × 1 ml)

## Reactivos cobas® omni para la preparación de muestras

**Tabla 4** Reactivos cobas® omni para la preparación de muestras\*

Reactivos	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia**
<b>cobas® omni MGP Reagent (MGP)</b> Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997546190)	Partículas de vidrio magnéticas, buffer Tris, 0,1 % de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1 % de azida sódica	480 pruebas	No aplicable
<b>cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL)</b> Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997511190)	Buffer Tris, 0,1 % de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1 % de azida sódica	4 × 875 ml	No aplicable
<b>cobas® omni Lysis Reagent (LYS)</b> Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997538190)	42,56 % (p/p) de tiocianato de guanidina***, 5 % (p/v) de polidocanol***, 2 % (p/v) de ditiotreitol***, citrato de sodio dihidratado	4 × 875 ml	 <p><b>PELIGRO</b></p> <p>H302 + H332: Nocivo en caso de ingestión o inhalación.            H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.            H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.            EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.            P273: Evítese su liberación al medio ambiente.            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.            P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.            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.            P391: Recoger los derrames.            593-84-0 Tiocianato de guanidina            9002-92-0 Polidocanol            3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>
<b>cobas® omni Wash Reagent (WASH)</b> Almacenar a 15-30 °C (P/N: 06997503190)	Citrato de sodio dihidratado, 0,1 % de metil-4 hidroxibenzoato	4,2 l	No aplicable

\* Estos reactivos no están incluidos en el kit de la prueba cobas® HPV. Consulte el listado de material adicional necesario (Tabla 8 y Tabla 9).

\*\* Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

\*\*\* Sustancia peligrosa.

## Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos

Los reactivos deben almacenarse y manipularse según las indicaciones de la Tabla 5, la Tabla 6 y la Tabla 7.

Cuando los reactivos no están cargados en el sistema cobas® 5800 o los sistemas cobas® 6800/8800, almacénelos a la temperatura correspondiente especificada en la Tabla 5.

**Tabla 5** Almacenamiento de reactivos (cuando el reactivo no está cargado en el sistema)

Reactivo	Temperatura de almacenamiento
cobas® HPV	2-8 °C
cobas® HPV Positive Control Kit	2-8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2-8 °C
cobas® omni Lysis Reagent	2-8 °C
cobas® omni MGP Reagent	2-8 °C
cobas® omni Specimen Diluent	2-8 °C
cobas® omni Wash Reagent	15-30 °C

## Requisitos para la manipulación de reactivos en el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800

Los reactivos cargados en el sistema cobas® 5800 o en los sistemas cobas® 6800/8800 se almacenan a la temperatura correspondiente adecuada y el sistema controla y aplica su fecha de caducidad. El sistema solamente permite utilizar los reactivos cuando se cumplen todas las condiciones indicadas en la Tabla 6, la Tabla 7 y la Tabla 8. El sistema evita automáticamente el uso de reactivos caducados. La información sobre la estabilidad restante del kit abierto y el número de usos del kit para los reactivos específicos del ensayo está disponible a través de la interfaz de usuario del sistema.

**Tabla 6** Condiciones de caducidad de los reactivos monitorizadas y aplicadas por el sistema cobas® 5800

Reactivo	Estabilidad del kit abierto	Número de usos del kit	Periodo de estabilidad
cobas® HPV	90 días desde el primer uso	40	36 días desde la carga
cobas® HPV Positive Control Kit	vial de un solo uso	16	36 días desde la carga
cobas® Buffer Negative Control Kit	vial de un solo uso	16	36 días desde la carga

**Tabla 7** Condiciones de caducidad de los reactivos controladas y aplicadas por los sistemas cobas® 6800/8800

Reactivo	Estabilidad del kit abierto	Número de usos del kit	Periodo de estabilidad (fuera del refrigerador a bordo)
cobas® HPV	90 días desde el primer uso	20	20 horas desde la carga
cobas® HPV Positive Control Kit	vial de un solo uso	16	10 horas desde la carga
cobas® Buffer Negative Control Kit	vial de un solo uso	16	10 horas desde la carga

La Tabla 8 muestra la estabilidad del kit abierto de los reactivos **cobas® omni**. Antes de cada serie, el sistema verifica la estabilidad del kit abierto y procura un volumen de llenado suficiente. Por lo tanto, estos reactivos no tienen asignado un número de usos del kit o un periodo de estabilidad.

**Tabla 8** Condiciones de caducidad de los reactivos **cobas® omni** aplicadas por los sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

Reactivo	Estabilidad del kit abierto
<b>cobas® omni</b> Lysis Reagent	30 días desde la carga
<b>cobas® omni</b> MGP Reagent	30 días desde el primer uso
<b>cobas® omni</b> Specimen Diluent	30 días desde la carga
<b>cobas® omni</b> Wash Reagent	30 días desde la carga

## Material adicional necesario para los sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

**Tabla 9** Materiales para el uso en los sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

Material	P/N
<b>cobas® omni</b> Lysis Reagent	06997538190
<b>cobas® omni</b> MGP Reagent	06997546190
<b>cobas® omni</b> Specimen Diluent	06997511190
<b>cobas® omni</b> Wash Reagent	06997503190

**Tabla 10** Material fungible para el uso en el sistema **cobas® 5800\***

Material
<b>cobas® omni</b> Processing Plate
<b>cobas® omni</b> Amplification Plate
Puntas CORE TIPS con filtro, 1 ml
<b>cobas® omni</b> Liquid Waste Container
Bolsa para residuos sólidos o bolsa para residuos sólidos con inserto

\*Para conocer los números de referencia, consulte la Asistencia al usuario de los sistemas **cobas® 5800**

**Tabla 11** Material fungible para el uso en los sistemas **cobas®** 6800/8800

<b>Material</b>
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Processing Plate 24
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Liquid Waste Plate 24
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Amplification Plate 24
Puntas CORE TIPS con filtro, 1 ml
Punta CORE TIPS con filtro, 300 µl
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Liquid Waste Container
Bolsa para residuos sólidos y recipiente de residuos sólidos o bolsa para residuos sólidos con inserto y kit del cajón
Transportador de muestras de tubos de 16 posiciones, completo
Transportador de racks de 5 posiciones, completo
Transportador de contenedores de medio de recogida (transportador CMC C)

\* Para conocer los números de referencia, consulte la Asistencia al usuario de los sistemas **cobas®** 6800/8800.

## Instrumentos y software necesarios

Es necesario instalar el software **cobas®** 5800, el software de los sistemas **cobas®** 6800/8800 y los paquetes de análisis **cobas®** HPV (ASAP) para los sistemas **cobas®** 5800/6800/8800 en los instrumentos.

Para el sistema **cobas®** 5800 y los sistemas **cobas®** 6800/8800 con versión del software 2.0 o posterior, el software x800 Data Manager y el PC (o servidor) se suministran con el sistema.

Para la versión del software 1.4 de los sistemas **cobas®** 6800/8800, el servidor IG (Instrument Gateway) se suministra con el sistema.

**Tabla 12** Instrumentos

<b>Equipo</b>	<b>P/N</b>
Sistema <b>cobas®</b> 5800	08707464001
Sistema <b>cobas®</b> 6800	05524245001 y 09575154001
Sistema <b>cobas®</b> 8800	05412722001 y 09575146001
Módulo de suministro de muestras para los sistemas <b>cobas®</b> 6800/8800	06301037001 y 09936882001

Consulte la Asistencia al usuario del sistema **cobas®** 5800 o de los sistemas **cobas®** 6800/8800 para obtener información adicional.

## Material adicional necesario para la recogida de muestras para cobas® HPV

**Tabla 13** Kits de obtención de muestras para la prueba cobas® HPV

Kit para la obtención de muestras	P/N
Roche Cell Collection Medium (250 viales)	07994745190
ThinPrep Pap Test Physician's Kit (500 viales y dispositivos de obtención de muestras tipo cepillo)	Hologic 70136-001
ThinPrep Pap Test Physician's Kit (500 viales y escobillón/espátula para obtención de muestras)	Hologic 70136-002
SurePath™ GYN Preservative Vial Kit	Becton, Dickinson 490522, 490527
BD SurePath™ Collection Vial Kit (500 viales)	Becton, Dickinson 491253
BD SurePath™ Collection Vial Kit (25 viales)	Becton, Dickinson 491324
Escobillones para recogida de muestras cervicales, 20 bolsas, 25 escobillones cada una (500/caja)	08399832190
Escobillones para recogida de muestras cervicales, esterilizados y en envases individuales (100/caja)	08779040190
Rovers® Cervex-Brush® Combi (500/caja)	VWR 89171-022
Cytobrush Plus GT, 25 bolsas, 100 escobillones cada una (2.500/caja)	Medscand C0105
Cytobrush Plus GT, 2 bolsas, 500 escobillones cada una (1.000/caja)	Medscand C0121
Cytobrush Plus GT, 10 bolsas, 10 escobillones cada una (100/caja)	Medscand C0104
Cytobrush Plus GT Sterile, 1 escobillón por bolsa (40/caja)	Medscand C0112
Cytobrush Plus GT Scored, 25 bolsas, 100 escobillones cada una (2.500/caja)	Medscand C0305
Pap-Perfect Plastic Spatulas (500/caja)	Medscand 11080
Copan FLOQSwabs® para la autotoma de muestras vaginales (552C.80)	09032932190
y	y
Instrucciones para la suspensión de muestras obtenidas con Copan FLOQSwabs® para la autotoma de muestras vaginales (552C.80)	09652671001
Rovers Evalyn® Brush	09032959190
y	y
Instrucciones para la suspensión de muestras obtenidas con Rovers Evalyn® Brush	09907238001

Consulte la Asistencia al usuario o las Guías del usuario del sistema cobas® 5800 o de los sistemas cobas® 6800/8800 para obtener información adicional sobre los tubos primarios y secundarios compatibles con cada instrumento.

Nota: póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener una lista de pedido detallada para racks de muestras, racks para puntas obstruidas y bandejas de racks compatibles con cada instrumento.

## Material adicional para la preparación de muestras

**Tabla 14** Materiales para la preparación de muestras para la prueba **cobas® HPV**

Material	P/N
<b>cobas®</b> Sample Prep Buffer (CSPB)*	06526985190
<b>cobas®</b> Secondary Tube Kit	07958048190
<b>cobas®</b> Replacement Cap Kit (para tubos secundarios <b>cobas®</b> )	07958056190
Tapones de repuesto para Roche Cell Collection Medium (suetos, 250/bolsa)	08037230190 (opcional)
Tapones de sustitución de 42 mm para viales (8 bandejas de 48/caja)	07682247001 (opcional)
Etiquetas de código de barras resistentes al calor	RACO Industries, RAC-225075-9501
Agitador (un solo tubo)	Cualquier proveedor
Termómetro -20/150 °C	VWR 89095-600 o equivalente
Bloque de calefacción digital de 120 V	VWR 75838-294 o equivalente
Módulo de bloque de calor de 12 orificios de 16 mm	VWR 13259-162 o equivalente
MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 7001-7050 <sup>a, b, c</sup>	03143449001
RD5 RACK – RD Standard rack 0001-0050 LR <sup>a, b, c</sup>	11902997001

\* Una botella abierta del buffer de preparación de muestras **cobas®** Sample Prep Buffer (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™.

<sup>a</sup> Se necesitan racks RD5 o MPA junto con el transportador de racks de 5 posiciones en el sistema **cobas®** 5800.

<sup>b</sup> El rack MPA de 16 mm o el transportador de tubos de 16 posiciones son los racks preferidos para uso con muestras recogidas en tubos secundarios **cobas®**.

<sup>c</sup> Los racks MPA o RD5 identificados son material de ejemplo y números de referencia. Póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener una lista de pedido detallada para racks de muestras y transportadores de racks compatibles con cada instrumento.

# Precauciones y requisitos de manipulación

## Advertencias y precauciones

Como sucede con cualquier procedimiento de prueba, resulta esencial seguir las buenas prácticas de laboratorio recomendadas para obtener un rendimiento correcto del ensayo. Debido a la elevada sensibilidad de esta prueba, deben extremarse las precauciones para evitar cualquier tipo de contaminación de los reactivos y las mezclas de amplificación.

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- Las muestras vaginales de autotoma deben estar suspendidas en Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt® después de la recogida de la muestra.
- Pueden obtenerse resultados falsos negativos o no válidos con muestras de autotoma si las muestras no se suspenden en medio después de la recogida.
- Todas las muestras de pacientes deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados que se describen en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories<sup>25</sup> y en el documento M29-A4 del CLSI.<sup>26</sup> Este procedimiento solamente debería llevarlo a cabo personal experto en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba cobas® HPV, el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800.
- Todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse teniendo en cuenta las precauciones generales. En caso de que se produzca un derrame, desinfecte de inmediato con una solución recién preparada de hipoclorito de sodio o potasio al 0,5 % en agua destilada o desionizada o siga los procedimientos apropiados del laboratorio.
- No congele ninguna muestra almacenada en tubos primarios o secundarios.
- Utilice solo el material fungible suministrado o que se requiera expresamente para garantizar el rendimiento establecido para la prueba.
- Puede solicitar ficha de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.
- Siga al pie de la letra los procedimientos y las directrices que se suministran para garantizar la correcta realización de la prueba. Cualquier variación de dichos procedimientos y directrices podría afectar el rendimiento establecido para la prueba.
- Podrían producirse resultados falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.
- Informe a la autoridad competente local y al fabricante de cualquier incidente grave que pueda tener lugar durante la realización del ensayo.

## Manipulación de reactivos

- Manipule todos los reactivos, controles y muestras de acuerdo con las mejores prácticas de laboratorio para evitar la contaminación por arrastre de las muestras, los reactivos o los controles.
- Antes de utilizarlos, revise cada casete de reactivo, diluyente, reactivo de lisis y reactivo de lavado para asegurarse de que no hay signos de fugas. No utilice el material si hay alguna evidencia de fuga.
- El cobas® **omni** Lysis Reagent contiene tiocianato de guanidina, una sustancia química potencialmente peligrosa. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras.

- No permita que el **cobas® omni** Lysis Reagent, que contiene tiocianato de guanidina, entre en contacto con la solución de hipoclorito de sodio o de potasio. Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.
- Los kits de control usados contienen viales perforados con reactivo residual. Extreme la precaución durante su eliminación para evitar derrames y el contacto.
- La prueba **cobas® HPV**, el **cobas® HPV Positive Control Kit**, el **cobas® Negative Control Kit**, el **cobas® omni MGP Reagent** y el **cobas® omni Specimen Diluent** contienen azida sódica como conservante. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras. Si se producen salpicaduras de reactivos, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño. 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.
- Elimine todos los materiales que hayan estado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la reglamentación nacional, estatal y local.

## Buenas prácticas de laboratorio

- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo.
- Utilice guantes de laboratorio, bata de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles. Es necesario cambiarse los guantes entre la manipulación de las muestras y la prueba **cobas® HPV**, el **cobas® HPV Positive Control Kit**, el **cobas® Buffer Negative Control Kit** y los reactivos **cobas® omni** para evitar la contaminación.
- Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos, y al quitarse los guantes.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo del laboratorio usando una solución recién preparada de hipoclorito de sodio o potasio al 0,5 % en agua destilada o desionizada. A continuación, límpielas con un trapo impregnado en etanol al 70 %.
- Si el derrame se produce sobre un instrumento **cobas® 5800** o los instrumentos **cobas® 6800/8800**, siga las instrucciones descritas en la Asistencia al usuario o del sistema **cobas® 5800** o los sistemas **cobas® 6800/8800** para limpiar y descontaminar correctamente la superficie de los instrumentos.

## Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

**Nota: manipule todas las muestras y los controles como si pudieran transmitir agentes infecciosos.**

### Obtención de las muestras

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

Las muestras vaginales recogidas con *FLOQSwabs® para autotoma vaginal* y suspendidas en Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt® Solution han sido validadas para su uso con la prueba **cobas® HPV**.

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

Siga las instrucciones del fabricante para obtener las muestras.

## Transporte de las muestras

Las muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt® o 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>27</sup>

## Almacenamiento de las muestras

Las muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt® pueden conservarse a una temperatura comprendida entre 2 y 30 °C durante 3 meses tras la fecha de obtención antes de realizar la prueba cobas® HPV. Consulte la etiqueta de Roche Cell Collection Medium para conocer los requisitos de almacenamiento del medio. Consulte la etiqueta de la solución PreservCyt® para conocer los requisitos de almacenamiento del medio. No congele las muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium y PreservCyt®.

Las muestras recogidas en fluido conservante SurePath™ deben someterse a un tratamiento con buffer de preparación de muestras cobas® Sample Prep Buffer (CSPB) para revertir la reticulación inducida por la matriz antes de realizar la prueba de HPV. El tratamiento preanalítico es un paso obligatorio para todas las muestras cervicales recogidas en SurePath™ antes de realizar la prueba cobas® HPV. No congele las muestras recogidas en solución SurePath™.

Los viales primarios de muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath™ pueden conservarse hasta 3 meses a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C o hasta 6 semanas a una temperatura comprendida entre 15 y 30 °C tras la fecha de obtención. Las muestras recogidas en SurePath™ pueden mezclarse con buffer de preparación de muestras cobas® en un tubo secundario y almacenarse a 2-30 °C hasta 6 semanas antes de completar el paso de calentamiento, tal como se describe en el apartado “Muestras en fluido conservante SurePath™”. Asimismo, las muestras recogidas en SurePath™ también pueden almacenarse a 2-30 °C hasta 6 semanas después de su precalentamiento, tal como se describe en el apartado “Muestras en fluido conservante SurePath™”, antes de realizar la prueba del HPV.

Tabla 15 se resumen las condiciones de almacenamiento aceptables para las muestras antes de realizar la prueba cobas® HPV.

**Tabla 15** Resumen de las condiciones de almacenamiento aceptables para las muestras antes de realizar la prueba cobas® HPV

Tipo de muestra		2-8 °C	15-30 °C
Roche Cell Collection Medium y PreservCyt®		3 meses	3 meses
SurePath™*	Almacenamiento de muestra en vial primario antes del tratamiento preanalítico	3 meses	6 semanas
	o		
	Almacenamiento de muestra mezclada con CSPB antes del paso de calentamiento	6 semanas	6 semanas
o			
	Almacenamiento de muestra tratada	6 semanas	6 semanas

\* Una botella abierta del buffer de preparación de muestras cobas® Sample Prep Buffer (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™.

# Instrucciones de uso

## Suspensión de muestras de autotoma

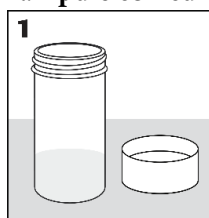
Instrucciones para la suspensión de muestras obtenidas con *Copan FLOQSwabs® para la autotoma de muestras vaginales (552C.80)*

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**.

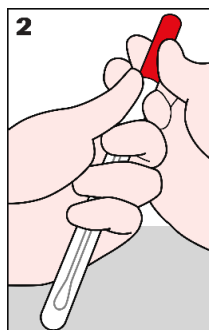
La muestra de autotoma debe introducirse en un medio después de su obtención.

- 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.



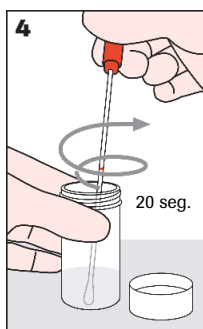
**1.** Desenrosque **con cuidado** la tapa del vial que contiene el medio y colóquelo en una superficie plana estable.



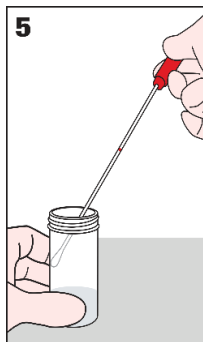
**2.** Retire **lentamente** el tapón de FLOQSwab para extraer el hisopo del tubo. **Evite tocar las paredes internas del tubo mientras extrae el hisopo FLOQSwab.**



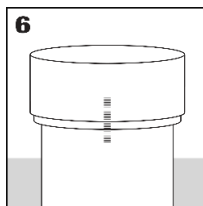
**3.** Sujete el vial con una mano mientras con la otra coloca la punta del hisopo FLOQSwab en el vial y lo introduce hasta que quede **completamente sumergido en el medio** y **toque el fondo** del vial.



**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. Extremar el cuidado para no salpicar.



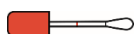
**5.** Arrastre hacia arriba el hisopo FLOQSwab con cuidado por la pared interna del vial hasta que la punta deje de estar sumergida en el medio. **Presione la punta contra la pared interna del vial para drenar el fluido** del hisopo. Coloque el hisopo FLOQSwab en el tubo y deséchelo.



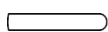
**6.** Vuelva a tapar el vial hasta que **las líneas del tapón y el vial coincidan o se solapen ligeramente** para evitar fugas. Consérvelo en posición vertical.

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

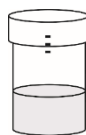
### Glosario



**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.

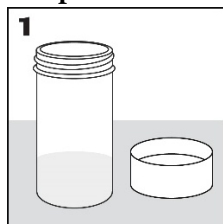
## Instrucciones para la suspensión de muestras obtenidas con Rovers Evalyn® Brush

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.

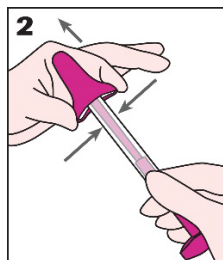
La muestra de autotoma debe introducirse en un medio después de su obtención.

- 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:

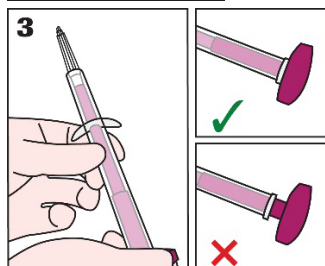
Manipule con cuidado la muestra obtenida.



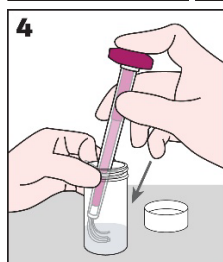
**1.** Desenrosque **con cuidado** la tapa del vial que contiene el medio y colóquelo en una superficie plana estable.



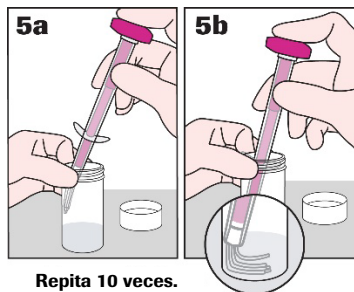
**2.** Retire el tapón de color rosa del cepillo Evalyn Brush **procurando no tocar el extremo que queda expuesto**.



**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**.

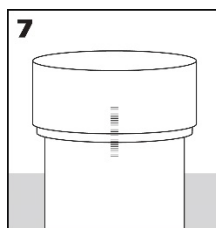


Repita 10 veces.

**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.



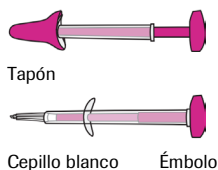
**6.** Retire el cepillo blanco arrastrándolo por la pared interior del vial primario hasta que ya no esté sumergido en el medio. **Presione el cepillo contra la pared interna del vial para drenar el fluido** del cepillo. Vuelva a colocar el cepillo Evalyn Brush en el interior del embalaje y deséchelo.



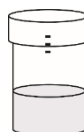
**7.** Vuelva a tapar el vial hasta que **las líneas del tapón y el vial coincidan o se solapen ligeramente** para evitar fugas. Consérvelo en posición vertical.

**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.

## Muestras en Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt®

### Sistema cobas® 5800

- El sistema **cobas® 5800** puede procesar muestras en Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt® directamente en los recipientes primarios si tienen un código de barras adecuado o desde un tubo secundario **cobas®** etiquetado debidamente con un código de barras (consulte el apartado sobre sistemas **cobas® 5800/6800/8800** más abajo para conocer instrucciones de alicuotado adicionales para el sistema **cobas® 5800**).
  1. Con unos guantes limpios, **agite** cada vial primario tapado durante **10 segundos** justo antes de cargarlo.
  2. Destape el vial primario y colóquelo en un transportador de medio para la obtención de células.
- En el caso de la carga de viales primarios, el volumen mínimo necesario para los contenedores primarios es de 3,0 ml.

### Sistemas cobas® 5800/6800/8800

- Las muestras en Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt® deben alicuotarse en tubos secundarios **cobas®** como se describe a continuación para su procesamiento en el sistema **cobas® 5800** o los sistemas **cobas® 6800/8800**:
  1. Prepare un tubo secundario **cobas®** de 13 ml con código de barras para cada muestra recogida en Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt® que vaya a analizar.
  2. Usando unos guantes limpios, **vortee** cada vial primario de muestra recogida en Roche Cell Collection Medium o PreservCyt® durante **10 segundos** justo antes de realizar la transferencia.
  3. Quite el tapón del vial primario y transfiera como mínimo **1,0 ml** y como máximo **4,0 ml** al tubo secundario con código de barras preparado en el paso 1. *Extreme siempre la atención cuando transfiera las muestras de los contenedores primarios a los tubos secundarios. Utilice siempre una punta de pipeta nueva para cada muestra.* Transfiera el tubo a un rack (o tape el tubo secundario **cobas®** si la prueba se va a realizar posteriormente).
  4. Vuelva a tapar el vial primario con un tapón de repuesto antes de continuar con la muestra siguiente. Almacene el vial primario en posición vertical.
  5. Cargue lo racks de los tubos secundarios sin tapar en el sistema **cobas® 5800** o los sistemas **cobas® 6800/8800** para realizar la prueba HPV.

## Muestras en fluido conservante SurePath™

### Sistemas cobas® 5800/6800/8800

- Las muestras recogidas en SurePath™ deben someterse al tratamiento preanalítico que se describe a continuación antes de realizar la prueba cobas® HPV.
  1. Prepare un tubo secundario cobas® de 13 ml con código de barras\* para cada muestra recogida en SurePath™ que vaya a analizar y transfiera alícuotas de **0,5 ml** del buffer de preparación de muestras cobas® (CSPB) a cada tubo secundario.
  2. Usando unos guantes limpios, agite cada vial primario de muestra recogida en SurePath™ durante **10 segundos** justo antes de realizar la transferencia.
  3. Quite el tapón del vial primario y transfiera **0,5 ml** de muestra recogida en SurePath™ al tubo secundario cobas® con código de barras preparado en el paso 1. *Extreme siempre la atención cuando transfiera las muestras de los contenedores primarios a los tubos secundarios. Utilice siempre una punta de pipeta nueva para cada muestra.*
  4. Tape el tubo secundario y vuelva a tapar el vial primario con un tapón de repuesto antes de continuar con la muestra siguiente. Almacene el vial primario en posición vertical.
  5. Agite cada tubo secundario durante **1 segundo**.
  6. Transfiera los tubos a la unidad de calentamiento ajustada a **95 °C** e incube durante **20 minutos**.
  7. Retire los tubos y déjelos en un rack de recogida. Déjelos enfriar a temperatura ambiente durante **10 minutos**. *Extreme la atención, puesto que los tubos secundarios pueden estar calientes.*
  8. Agite cada tubo secundario durante **5 segundos**.
  9. Destape los tubos y deseche los tapones. Transfiera los tubos a los racks y procéselos en el sistema cobas® 5800 o los sistemas cobas® 6800/8800 para realizar la prueba de HPV.
  10. En caso necesario, las muestras recogidas en SurePath™ tratadas con el buffer de preparación de muestras cobas® pueden almacenarse para futuras pruebas de HPV. Después de seguir el procedimiento anterior hasta el paso 7, almacene los tubos con muestra recogidas en SurePath™ tratadas con buffer de preparación de muestras cobas® a una temperatura de 2-30 °C hasta 6 semanas antes de realizar las pruebas HPV.

\* Se requieren etiquetas de código de barras resistentes al calor para los tubos utilizados en el paso de calentamiento para revertir la reticulación inducida por la matriz.

Consulte el apartado “Material adicional para la preparación de muestras” para conocer los números de producto recomendados.

## Notas sobre el procedimiento

- No utilice la prueba cobas® HPV, el cobas® HPV Positive Control Kit, el cobas® Buffer Negative Control Kit ni ningún reactivo cobas® **omni** después de la fecha de caducidad.
- No reutilice el material fungible. Son de un solo uso.
- Asegúrese de que las etiquetas de código de barras de los tubos de muestras puedan verse a través de las aberturas laterales de los racks de muestras. Consulte la Asistencia al usuario del sistema cobas® 5800 o los sistemas cobas® 6800/8800 para conocer las especificaciones de códigos de barras adecuadas e información adicional sobre la carga de tubos de muestras.
- Consulte la Asistencia al usuario del sistema cobas® 5800 o los sistemas cobas® 6800/8800 para obtener información sobre el correcto mantenimiento de los instrumentos.

## Ejecución de la prueba cobas® HPV en el sistema cobas® 5800

La prueba cobas® HPV puede realizarse en el cobas® 5800 System con un volumen de muestra mínimo necesario de 3,0 ml para muestras en Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt® del vial primario. Las alícuotas de muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium y PreservCyt® en tubos secundarios cobas® pueden analizarse con un volumen necesario mínimo de 1,0 ml. Las muestras recogidas en SurePath™ sometidas a un procedimiento preanalítico en un tubo secundario cobas® tendrán un volumen de 1,0 ml. El procedimiento preanalítico para muestras recogidas en SurePath™ se describe en el apartado “Muestras en fluido conservante SurePath™”. El funcionamiento del instrumento se describe con detalle en la Asistencia al usuario del sistema cobas® 5800. En la Ilustración 1 se resume el procedimiento.

- Las muestras en Roche Cell Collection Medium y PreservCyt® pueden analizarse desde los viales primarios. Agite cada muestra durante 10 segundos justo antes de cargarlas.

*Nota: aplique movimientos lentos y constantes para cargar y descargar el transportador de contenedores de medio de recogida (sujetando los viales primarios) para evitar salpicaduras en las muestras.*

- Opcionalmente, las muestras pueden alicuotarse en tubos secundarios cobas® de 13 ml con código de barras para su procesamiento en el sistema cobas® 5800. Utilice pipetas con puntas con filtro para aerosol o desplazamiento positivo para manipular las muestras.
- En una sola serie pueden combinarse muestras de varios tipos (recogidas en Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt® y/o fluido conservante SurePath™) y diferentes tipos de contenedores de muestra (primarios o secundarios) y cada una de ellas puede analizarse con los ASAP del HPV de alto riesgo (HPV-AR) o del HPV de alto riesgo más genotipado (HPV-GT).
- Las muestras deben procesarse utilizando la selección de tipo de muestra de la interfaz de usuario (IU) de la prueba cobas® HPV como se describe en la Tabla 16.
- Se requieren etiquetas de código de barras resistentes al calor para los tubos utilizados con muestras recogidas en fluido conservante SurePath™.
- Se pueden realizar anotaciones en las peticiones de pruebas utilizando el software del instrumento. Consulte la Asistencia al usuario del sistema cobas® 5800 para conocer las instrucciones de anotación.

**Tabla 16** Selección del tipo de muestra para cobas® HPV en el sistema cobas® 5800

Muestra	Medio de recogida	Contenedor compatible		Procesar como tipo de muestra
		Vial primario	Tubo secundario	
Muestra cervical	Roche Cell Collection Medium	Sí	Sí	Roche Cell Collection Medium
Muestra cervical	PreservCyt® Solution (ThinPrep)	Sí	Sí	PreservCyt®
Muestra cervical	SurePath™ Preservative Fluid	No	Sí	SurePath™
Muestra vaginal de autotoma	Roche Cell Collection Medium	Sí	Sí	Self, vaginal – RCCM/PC
Muestra vaginal de autotoma	PreservCyt® Solution (ThinPrep)	Sí	Sí	Self, vaginal – RCCM/PC

**Ilustración 1** Procedimiento de la prueba **cobas® HPV** en el sistema **cobas® 5800**

<b>1</b>	Inicie una sesión en el sistema.
<b>2</b>	<p>Cargue los reactivos y el material fungible según las indicaciones del sistema.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Cargue el casete de reactivo específico de la prueba.</li> <li>● Cargue los miniracks de control.</li> <li>● Cargue las puntas de procesamiento.</li> <li>● Cargue las puntas de elución.</li> <li>● Cargue las placas de procesamiento.</li> <li>● Cargue las placas de amplificación.</li> <li>● Cargue las placas de residuos líquidos.</li> <li>● Cargue el reactivo MGP.</li> <li>● Cargue el diluyente de muestras.</li> <li>● Cargue el reactivo de lisis.</li> <li>● Cargue el reactivo de lavado.</li> </ul>
<b>3</b>	<p>Cargue las muestras en el sistema.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Para cada vial de muestra recogida en Roche Cell Collection Medium o PreservCyt®: <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Agite el vial primario durante 10 segundos justo antes de cargarlo en el rack de muestras.</li> <li>○ Realice el procesamiento en un tubo secundario <b>cobas®</b> del siguiente modo: <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Agite el vial primario durante 10 segundos.</li> <li>▪ Transfiera una alícuota de 1 ml como mínimo de muestra recogida en Roche Cell Collection Medium o PreservCyt® a un tubo secundario de <b>cobas®</b> de 13 ml.</li> <li>▪ Transfiera el tubo a un rack de muestras.</li> </ul> </li> </ul> </li> <li>● Para cada vial primario de muestra recogida en SurePath™: <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Transfiera una alícuota de 0,5 ml de CSPB a tubo secundario de <b>cobas®</b> de 13 ml.</li> <li>○ Agite el vial primario de muestra recogida en SurePath™ durante 10 segundos.</li> <li>○ Transfiera una alícuota de 0,5 ml de muestra recogida en SurePath™ al tubo secundario preparado que contiene 0,5 ml de CSPB y ciérrelo bien.</li> <li>○ Agite cada tubo durante 1 segundo.</li> <li>○ Transfiera los tubos a una unidad de calentamiento ajustada a 95 °C e incube durante 20 minutos.</li> <li>○ Retire los tubos y deposítelos en un rack de recogida. Déjelos enfriar a temperatura ambiente durante 10 minutos.</li> <li>○ Agite cada tubo durante 5 segundos.</li> <li>○ Destape el tubo y transfíralo al rack.</li> </ul> </li> <li>● Cargue los racks de muestras en el sistema.</li> </ul> <p>Confirme que las muestras han sido aceptadas en el sistema. El sistema se prepara automáticamente. Solicite las pruebas.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Seleccione “Roche Cell Collection Medium” para solicitar muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium.</li> <li>● Seleccione “PreservCyt®” para solicitar muestras recogidas en solución PreservCyt®.</li> <li>● Seleccione “SurePath™” para solicitar muestras recogidas en fluido conservante SurePath™ que han sido sometidas al procedimiento preanalítico definido.</li> <li>● Seleccione “Autotoma, vaginal - RCCM/PC” para solicitar muestras vaginales de autotoma.</li> </ul> <p>Seleccione el nombre de la prueba.</p>
<b>4</b>	Seleccione el botón de inicio de procesamiento en la interfaz de usuario para iniciar la serie analítica. Las series siguientes se iniciarán de forma automática si no se posponen manualmente.
<b>5</b>	Revise y exporte los resultados.
<b>6</b>	<p>Retire los tubos de muestra. Si es necesario, tape todos los tubos de muestra que cumplan los requisitos de volumen mínimo para utilizarlos en el futuro. Limpie el instrumento.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Descargue los miniracks de control vacíos.</li> <li>● Descargue el casete de reactivo específico de la prueba vacío.</li> <li>● Vacíe el cajón de placas de amplificación.</li> <li>● Vacíe los residuos líquidos.</li> </ul> <p>Vacíe los residuos sólidos.</p>

## Ejecución de la prueba cobas® HPV en los sistemas cobas® 6800/8800

La prueba cobas® HPV puede ejecutarse con un volumen de muestra mínimo de 1,0 ml con muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt®, así como con muestras recogidas en SurePath™ que han sido sometidas al procedimiento preanalítico. El procedimiento preanalítico se describe en la página siguiente. El funcionamiento del instrumento se describe con detalle en la Guía del usuario de los sistemas cobas® 6800/8800. En la Ilustración 2 se resume el procedimiento.

- Es necesario transferir alícuotas de las muestras a tubos secundarios de cobas® de 13 ml con código de barras a fin de procesarlas en los sistemas cobas® 6800/8800. Utilice pipetas con puntas con filtro para aerosol o desplazamiento positivo para manipular las muestras.
- En una sola serie pueden combinarse muestras de varios tipos (recogidas en Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt® y/o fluido conservante SurePath™) y cada muestra puede analizarse con los ASAP del HPV de alto riesgo (HPV-AR) o del HPV de alto riesgo más genotipado (HPV-GT).
- Las muestras deben procesarse utilizando la selección de tipo de muestra de la interfaz de usuario (IU) de la prueba cobas® HPV como se describe en la Tabla 17.
- Se requieren etiquetas de código de barras resistentes al calor para los tubos utilizados con muestras recogidas en fluido conservante SurePath™.
- Se pueden realizar anotaciones en las peticiones de pruebas utilizando el software del instrumento. Consulte la Guía del usuario de los sistemas cobas® 6800/8800 para obtener instrucciones sobre la anotación.

**Tabla 17** Selección del tipo de muestra en la interfaz de usuario de cobas® HPV

Muestra	Medio de recogida	Procesar como tipo de muestra
Muestra cervical	Roche Cell Collection Medium	Roche Cell Collection Medium (en SW2.0) RCCM (en SW1.4)
Muestra cervical	Solución PreservCyt® (ThinPrep)	PreservCyt®
Muestra cervical	Fluido conservante SurePath™	SurePath™
Muestra vaginal de autotoma	Roche Cell Collection Medium	Self, vaginal – RCCM/PC
Muestra vaginal de autotoma	Solución PreservCyt® (ThinPrep)	Self, vaginal – RCCM/PC

**Ilustración 2** Procedimiento de la prueba **cobas® HPV** en los sistemas **cobas® 6800/8800**

<b>1</b>	<p>Inicie una sesión en el sistema.  Pulse el botón "Iniciar" para preparar el sistema.  Solicite las pruebas.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Seleccione "RCCM" para solicitar muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium.</li> <li>• Seleccione "PreservCyt" para solicitar la muestra recogida en solución PreservCyt®.</li> <li>• Seleccione "SurePath" para solicitar muestras recogidas en fluido conservante SurePath™ que han sido sometidas al procedimiento preanalítico definido.</li> <li>• Seleccione "Autotoma, vaginal - RCCM/PC" para solicitar muestras vaginales de autotoma.</li> </ul>
<b>2</b>	<p>Cargue los reactivos y el material fungible según las indicaciones del sistema.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cargue el casete de reactivo específico de la prueba.</li> <li>• Cargue los casetes de control.</li> <li>• Cargue las puntas de pipeta.</li> <li>• Cargue las placas de procesamiento.</li> <li>• Cargue el reactivo MGP.</li> <li>• Cargue las placas de amplificación.</li> <li>• Cargue el diluyente de muestras.</li> <li>• Cargue el reactivo de lisis.</li> <li>• Cargue el reactivo de lavado.</li> </ul>
<b>3</b>	<p>Cargue las muestras en el sistema.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Para cada vial primario de muestra recogida en Roche Cell Collection Medium o PreservCyt®: <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Vortee durante 10 segundos.</li> <li>○ Transfiera una alícuota de 1 ml como mínimo de muestra recogida en Roche Cell Collection Medium o PreservCyt® a un tubo secundario de <b>cobas®</b> de 13 ml.</li> <li>○ Transfiera el tubo a un rack.</li> </ul> </li> <li>• Para cada vial primario de muestra recogida en SurePath™: <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Transfiera una alícuota de 0,5 ml de CSPB a tubo secundario de <b>cobas®</b> de 13 ml.</li> <li>○ Agite el vial primario de muestra recogida en SurePath™ durante 10 segundos.</li> <li>○ Transfiera una alícuota de 0,5 ml de muestra recogida en SurePath™ al tubo secundario preparado que contiene 0,5 ml de CSPB y ciérrelo bien.</li> <li>○ Agite cada tubo durante 1 segundo.</li> <li>○ Transfiera los tubos a una unidad de calentamiento ajustada a 95 °C e incube durante 20 minutos.</li> <li>○ Retire los tubos y deposítelos en un rack de recogida. Déjelos enfriar a temperatura ambiente durante 10 minutos.</li> <li>○ Agite cada tubo durante 5 segundos.</li> <li>○ Destape el tubo y transfíerelo al rack.</li> </ul> </li> <li>• Cargue el rack de muestras y los racks para puntas obstruidas en el módulo de suministro de muestras.</li> <li>• Confirme que las muestras han sido aceptadas en el módulo de transferencia.</li> </ul>
<b>4</b>	Inicie la serie.
<b>5</b>	Revise y exporte los resultados.
<b>6</b>	<p>Retire los tubos de muestra. Si es necesario, tape todos los tubos de muestra que cumplan los requisitos de volumen mínimo para utilizarlos en el futuro. Limpie el instrumento.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Descargue los casetes de control vacíos.</li> <li>• Vacíe el cajón de placas de amplificación.</li> <li>• Vacíe los residuos líquidos.</li> <li>• Vacíe los residuos sólidos.</li> </ul>

## Resultados

La prueba cobas® HPV detecta y discrimina automáticamente 14 genotipos de alto riesgo del HPV (HPV-AR) y/o 12 genotipos de alto riesgo con genotipado individual de HPV 16 y HPV 18 simultáneamente (HPV-GT).

### Control de calidad y validez de los resultados en el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800 con la versión del software 2.0 o posterior

- Se procesan un cobas® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] y un control positivo cobas® HPV [HPV (+) C] al menos cada 72 horas o con cada lote de kit nuevo. Los controles positivos y/o negativos pueden programarse con mayor frecuencia en función de los procedimientos de laboratorio y/o la reglamentación local.
- Los resultados de los controles se muestran en la app “Controles”.
- En el software y/o el informe, revise los avisos para comprobar la validez de los resultados de la prueba (consulte la Asistencia al usuario de x800 Data Manager para conocer la “Lista de códigos de avisos”).
- Los controles consideran válidos cuando no hay avisos para ninguno de los controles.
- Los controles se marcan como “Válido” en la columna “Resultados del control” cuando las dianas del control correspondiente se han notificado como válidas. Los controles se marcan como “No válido” en la columna “Resultados del control” cuando las dianas del control correspondiente se han notificado como no válidas.
- Los controles marcados como “Invalid” muestran un aviso en la columna “Aviso”. En la vista de detalles podrá encontrar más información sobre el motivo por el que el control se ha notificado como no válido, además de información sobre el aviso.
- Si uno de los controles no es válido, repita el análisis de todos los controles y de todas las muestras asociadas. El software del instrumento realiza automáticamente la validación de los resultados en función de los resultados de los controles.

**NOTA:** El sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800 con versión del software 2.0 se suministran con la configuración estándar para el análisis de un conjunto de controles (positivo y negativo) con cada serie, pero se puede modificar por un programa menos frecuente de hasta cada 72 horas según los procedimientos de laboratorio y/o la reglamentación local. Póngase en contacto con su ingeniero técnico de Roche o con el representante del servicio técnico de Roche para obtener más información.

## Control de calidad y validez de los resultados en los sistemas cobas® 6800/8800 con versión del software 1.4

- Con cada lote de un tipo de resultado solicitado (HPV-AR o HPV-GT) se procesan un control negativo para el buffer de cobas® [(-) Ctrl] y un control positivo para cobas® HPV [HPV (+) C].
- Compruebe los avisos y los resultados asociados tanto en el software como en el informe para garantizar la validez del lote.
- Todos los avisos están descritos en la Asistencia al usuario de los sistemas cobas® 6800/8800.
- El lote se considera válido cuando no hay avisos para ninguno de los controles. Si el lote no es válido, repita las pruebas para todo el lote.

El software de los sistemas cobas® 6800/8800 realiza automáticamente la validación de los resultados en función de los resultados de los controles.

## Interpretación de los resultados en el sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800 con la versión del software 2.0 o superior


Los resultados de las muestras se muestran en la app “Resultados” del software. En la Ilustración 3 y la Ilustración 4 se muestran ejemplos de visualización.

**Ilustración 3** Ejemplo de visualización de los resultados de la prueba cobas® HPV para la solicitud de resultados de HPV-AR en el software del sistema cobas® 5800 y los sistemas cobas® 6800/8800 con versión del software 2.0 o posterior

ID muestra	Prueba	Resultados del control	Aviso	Estado	Resultado	Fecha/Hora creación
PC_HPVRinv_01	HPV-HR	Valid		Released	HR HPV Invalid	
PC_HPVRneg_01	HPV-HR	Valid		Released	HR HPV Negative	
RCCM_HPVRpos_01	HPV-HR	Valid		Released	HR HPV Positive (Ct 36.52)	
SP_HPVRneg_01	HPV-HR	Valid		Released	HR HPV Negative	
SP_HPVRpos_01	HPV-HR	Valid		Released	HR HPV Positive (Ct 35.44)	
SC_RCCM_HPVRpos_02	HPV-HR	Valid		Released	HR HPV Positive (Ct 34.61)	
SC_PC_HPVRpos_02	HPV-HR	Valid		Released	HR HPV Negative	

Nota: la ilustración es válida para todos los tipos de muestra. El resumen de resultados muestra un símbolo de aviso en caso de resultados no válidos. Encontrará descripciones detalladas de los avisos en los detalles del resultado.

**Ilustración 4** Ejemplo de visualización de los resultados de la prueba **cobas® HPV** para la solicitud de resultados de HPV-GT en el sistema **cobas® 5800** y los sistemas **cobas® 6800/8800** con versión del software 2.0 o posterior

ID muestra	Prueba	Resultados del control	Aviso	Estado	Resultado	Fecha/Hora creación
RCCM_HPVGtneg_03	HPV-GT	Valid		Released	Other HR Negative HPV 16 Negative HPV 18 Negative	
RCCM_HPVGtpos_05	HPV-GT	Valid		Released	Other HR Positive (Ct 33.43) HPV 16 Negative HPV 18 Positive (Ct 32.54)	
SP_HPVGtpos_03	HPV-GT	Valid		Released	Other HR Negative HPV 16 Positive (Ct 35.21) HPV 18 Negative	
SP_HPVGtneg_04	HPV-GT	Valid		Released	Other HR Negative HPV 16 Negative HPV 18 Negative	
PC_HPVGtinv_01	HPV-GT	Valid		Released	Other HR Invalid HPV 16 Invalid HPV 18 Invalid	
SC_RCCM_HPVGtneg_02	HPV-GT	Valid		Released	Other HR Negative HPV 16 Negative HPV 18 Negative	
SC_PC_HPVGtpos_01	HPV-GT	Valid		Released	Other HR Negative HPV 16 Negative HPV 18 Positive (Ct 33.63)	

Nota: la ilustración es válida para todos los tipos de muestra. El resumen de resultados muestra un símbolo de aviso en caso de resultados no válidos. Encontrará descripciones detalladas de los avisos en los detalles del resultado.

Compruebe cada muestra para detectar avisos en el software y/o en el informe. La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Las muestras asociadas a controles válidos se muestran como “Válido” en la columna “Resultados de control”.
- Las muestras asociadas a un control erróneo se muestran como “No Válido” en la columna “Resultados de control”.
- Si los controles asociados al resultado de una muestra no son válidos, se añade un aviso específico al resultado de la muestra de la siguiente manera:
  - Q05D: fallo de validación del resultado por un control positivo no válido
  - Q06D: fallo de validación del resultado por un control negativo no válido
- Los valores en la columna “Resultados” para el resultado de la diana de la muestra individual deben interpretarse como se muestra en la Tabla 18 y la Tabla 19.
- Si una o más dianas de la muestra están marcadas como “No válido”, el software muestra un aviso en la columna de avisos. En la vista de detalles podrá encontrar más información sobre el motivo por el que la(s) diana(s) de la muestra se ha notificado como no válidas, además de información sobre el aviso.
- Los resultados no válidos para una o varias combinaciones de dianas son posibles con la solicitud de resultados HPV-GT y se comunican específicamente para cada diana. Consulte las instrucciones de repetición de pruebas para cada tipo de muestra a continuación.
- Los resultados de esta prueba solo deben interpretarse junto con la información disponible de la evaluación clínica del paciente y de su historial.
- En el caso de obtener resultados diana no válidos de muestras conservadas en Roche Cell Collection Medium o 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 los resultados de la diana no válidos de muestras recogidas en SurePath™, debe repetirse el análisis de la muestra original si hay volumen suficiente. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva.

## Interpretación de resultados en los sistemas cobas® 6800/8800 con versión del software 1.4 o posterior

En la Ilustración 5 y la Ilustración 6 se muestran ejemplos de visualización de la prueba cobas® HPV para los sistemas cobas® 6800/8800 con versión del software 1.4 o posterior.

**Ilustración 5** Ejemplo de visualización de los resultados de la prueba cobas® HPV para la solicitud de resultados de HPV-AR para los sistemas cobas® 6800/8800 con versión del software 1.4 o posterior

Prueba	ID muestra	Válido	Avisos	Tipo de muestra	Resultado general	Diana 1	Diana 2	Diana 3
HPV-HR	C161420284084194727902	Yes		HPV (+) C	Valid	Valid		
HPV-HR	C161420284090428825772	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid		
HPV-HR	PC_HPVRinv_01	NA	Y40T	PreservCyt®	NA	Invalid		
HPV-HR	PC_HPVRneg_01	NA		PreservCyt®	NA	HR HPV Negative		
HPV-HR	RCCM_HPVRneg_02	NA		RCCM	NA	HR HPV Negative		
HPV-HR	RCCM_HPVRneg_03	NA		RCCM	NA	HR HPV Negative		
HPV-HR	RCCM_HPVRpos_01	NA		RCCM	NA	HR HPV Positive		
HPV-HR	SC_RCCM_HPVRpos_01	NA		Self, vaginal - RCCM/PC	NA	HR HPV Positive		
HPV-HR	SC_PC_HPVRpos_01	NA		Self, vaginal - RCCM/PC	NA	HR HPV Positive		
HPV-HR	SP_HPVRinv_01	NA	Y40T	Surepath™	NA	Invalid		
HPV-HR	SP_HPVRneg_01	NA		Surepath™	NA	HR HPV Negative		

Nota: las columnas Diana 2 y Diana 3 están reservadas para los resultados de HPV16 y HPV18 con solicitud de HPV-GT, respectivamente.

**Ilustración 6** Ejemplo de visualización de los resultados de la prueba **cobas® HPV** para la solicitud de resultados de HPV-GT para los sistemas **cobas® 6800/8800** con versión del software 1.4 o posterior

Prueba	ID muestra	Válido	Avisos	Tipo de muestra	Resultado general	Diana 1	Diana 2	Diana 3
HPV-GT	RCCM_HPVGTPos_02	NA		RCCM	NA	Other HR HPV Negative	HPV 16 Negative	HPV 18 Positive
HPV-GT	RCCM_HPVGTPos_01	NA		RCCM	NA	Other HR HPV Negative	HPV 16 Positive	HPV 18 Positive
HPV-GT	RCCM_HPVGTPos_04	NA		RCCM	NA	Other HR HPV Positive	HPV 16 Negative	HPV 18 Positive
HPV-GT	SC_RCCM_HPVGTPos_03	NA		Self, vaginal – RCCM/PC	NA	Other HR HPV Positive	HPV 16 Negative	HPV 18 Negative
HPV-GT	SC_PC_HPVGTPos_05	NA		Self, vaginal – RCCM/PC	NA	Other HR HPV Positive	HPV 16 Positive	HPV 18 Negative
HPV-GT	SP_HPVGTPos_06	NA		Surepath™	NA	Other HR HPV Positive	HPV 16 Positive	HPV 18 Positive
HPV-GT	SP_HPVGTPos_02	NA		Surepath™	NA	Other HR HPV Negative	HPV 16 Negative	HPV 18 Positive
HPV-GT	PC_HPVGTPos_01	NA		PreservCyt®	NA	Other HR HPV Negative	HPV 16 Negative	HPV 18 Negative
HPV-GT	PC_HPVGTPos_06	NA	C02H1	PreservCyt®	NA	Invalid	HPV 16 Positive	HPV 18 Positive
HPV-GT	PC_HPVGTPos_03	NA	C02H1	PreservCyt®	NA	Invalid	HPV 16 Positive	Invalid
HPV-GT	C161420284090390657451	Yes		HPV (+) C	Valid	Valid	Valid	Valid
HPV-GT	C161420284090419645071	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid	Valid	Valid

En los lotes válidos, compruebe cada muestra para detectar avisos en la versión del software 1.4 y/o en el informe de los sistemas **cobas® 6800/8800**. La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Un lote válido puede incluir resultados de muestras tanto válidos como no válidos.
- Las columnas “Válido” y “Resultado general” no son aplicables a los resultados de las muestras de la prueba **cobas® HPV** y aparecen marcadas como “NA”. Los valores que aparecen en estas columnas **no** influyen en la validez de los resultados comunicados en las columnas de resultados de dianas individuales.
- Los resultados comunicados de las dianas para muestras individuales son válidos a no ser que se indiquen como “Invalid” en la columna de resultado de diana individual.
- Los resultados no válidos para una o varias combinaciones de dianas son posibles con la solicitud de resultados HPV-GT y se comunican específicamente para cada diana. Consulte las instrucciones de repetición de pruebas para cada tipo de muestra a continuación.
- En el caso de obtener resultados diana no válidos de muestras conservadas en Roche Cell Collection Medium o 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 los resultados de la diana no válidos de muestras recogidas en SurePath™, debe repetirse el análisis de la muestra original si hay volumen suficiente. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva.

## Interpretación de los resultados en los sistemas cobas® 5800/6800/8800

A continuación se muestran los resultados y la interpretación correspondiente para la detección únicamente de genotipos AR de HPV (Tabla 18) y para la detección de otros genotipos AR de HPV, HPV 16 y HPV 18 (Tabla 19).

**Tabla 18** Resultados de la prueba cobas® HPV e interpretación para la solicitud del resultado HPV-AR

Diana 1	Diana 2	Diana 3	Interpretación
HR HPV Positive			La muestra es positiva para el ADN de cualquiera de los siguientes genotipos de HPV de alto riesgo, o una combinación de los mismos: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68.
HR HPV Negative	<Sin visualización>	<Sin visualización>	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.
HR HPV Invalid/Invalid			El resultado de los genotipos de HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 no es válido.

**Tabla 19** Resultados de la prueba cobas® HPV e interpretación de la solicitud de resultado HPV-GT

Diana 1	Diana 2	Diana 3	Interpretación
Other HR HPV Positive			La muestra es positiva para el ADN de cualquiera de los siguientes genotipos de HPV de alto riesgo, o una combinación de los mismos: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68.
Other HR HPV Negative	HPV 16 Positive, HPV 16 Negative o HPV 16 Invalid/Invalid	HPV 18 Positive, HPV 18 Negative o HPV 18 Invalid/Invalid	No se han podido detectar los genotipos de HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 o el volumen es inferior al umbral definido.
Other HR HPV Invalid/Invalid			El resultado de los genotipos de HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 no es válido.
Other HR HPV Positive, Other HR HPV Negative o Other HR HPV Invalid/Invalid	HPV 16 Positive		Muestra positiva para el ADN del genotipo 16 de HPV.
	HPV 16 Negative	HPV 18 Positive, HPV 18 Negative o HPV 18 Invalid/Invalid	No se ha podido detectar el ADN del genotipo 16 de HPV o el volumen era inferior al umbral definido.
	HPV 16 Invalid/Invalid		El resultado del genotipo 16 del HPV no es válido.
Other HR HPV Positive, Other HR HPV Negative o Other HR HPV Invalid/Invalid	HPV 16 Positive, HPV 16 Negative o HPV 16 Invalid/Invalid	HPV 18 Positive	Muestra positiva para el ADN del genotipo 18 de HPV.
		HPV 18 Negative	No se ha podido detectar el ADN del genotipo 18 de HPV o el volumen era inferior al umbral definido.
		HPV 18 Invalid/Invalid	El resultado del genotipo 18 del HPV no es válido.

## Limitaciones del procedimiento

- La prueba cobas® HPV se ha evaluado para ser utilizada únicamente en combinación con el cobas® HPV Positive Control Kit, el cobas® Buffer Negative Control Kit, el cobas® omni MGP Reagent, el cobas® omni Lysis Reagent, el cobas® omni Specimen Diluent y el cobas® omni Wash Reagent en los sistemas cobas® 5800/6800/8800.
- La prueba cobas® HPV se ha validado para su uso con muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™. No se ha validado el rendimiento del ensayo para su uso con otros medios de recogida y/o tipos de muestras. El uso de otros medios de recogida y/o tipos de muestra puede causar falsos positivos, falsos negativos o resultados no válidos.
- La prueba cobas® HPV se ha validado para el análisis de muestras vaginales recogidas con *FLOQSwabs® para autotoma vaginal* y Evalyn Brush® y suspendidas posteriormente en Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt®. 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.
- La prueba cobas® HPV está validada para el análisis de muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath™ tratadas con buffer de preparación de muestras cobas® para revertir la reticulación inducida por la matriz de las muestras recogidas en fluido conservante SurePath™. Si el procesamiento de las muestras recogidas en fluido conservante SurePath™ se realiza sin seguir el protocolo de pretratamiento con buffer de preparación de muestras cobas® o si el pretratamiento se realiza con reactivos alternativos, pueden originarse falsos negativos o resultados no válidos.
- La prueba cobas® HPV detecta ADN de los genotipos de alto riesgo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68. Esta prueba no detecta ADN de genotipos del HPV de bajo riesgo (p. ej., 6, 11, 42, 43, 44), ya que el análisis de dichos genotipos de HPV de bajo riesgo carece de utilidad clínica.<sup>18</sup>
- La prueba cobas® 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 u otras indicaciones de ámbito médico o jurídico.
- 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 de la paciente, la fase de infección y la presencia de sustancias interferentes.
- 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.
- 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.
- 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.

- La amplificación y detección de la  $\beta$ -globina humana se incluye en la prueba **cobas**® 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  $\beta$ -globina válida comprendida en un rango predefinido para poderlas identificar como muestras negativas válidas.
- La obtención de resultados fiables depende de que los procedimientos de recogida, almacenamiento y manipulación de muestras sean adecuados.
- La incorporación de la enzima AmpErase a la Master Mix para la prueba **cobas**® HPV permite realizar una amplificación selectiva del ADN diana; no obstante, es imprescindible utilizar buenas prácticas de laboratorio y cumplir estrictamente los procedimientos especificados en estas Instrucciones de uso para evitar la contaminación de los reactivos.
- El uso de este producto debe limitarse al personal con experiencia en el empleo de técnicas de PCR y la utilización del sistema **cobas**® 5800 y/o de los sistemas **cobas**® 6800/8800.
- Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas antes de cambiar de una a otra. No cabe esperar una concordancia de porcentaje del 100 % entre los resultados debido a las diferencias entre tecnologías indicadas anteriormente y a la variabilidad intrínseca de las pruebas.
- 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.
- 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**® HPV pueden causar errores en la detección del ADN vírico.
- La presencia de inhibidores de la PCR puede dar lugar a resultados de falsos negativos o resultados no válidos.
- Los productos que contienen carbómeros, incluidos los lubricantes, las cremas y los geles vaginales, pueden interferir con la prueba y no deberían utilizarse ni antes ni durante la obtención de las muestras. Consulte los resultados de interferencia (Tabla 35) para obtener más información.
- Los resultados negativos en la prueba del HPV no pretenden evitar que las mujeres se sometan a una colposcopia.
- Los resultados positivos indican la presencia de uno o más tipos de alto riesgo. Sin embargo, puesto que las pacientes pueden estar infectadas también con tipos de bajo riesgo, no se puede descartar la presencia de tipos de bajo riesgo en pacientes con infecciones mixtas.
- Los resultados de esta prueba solo deben interpretarse junto con la información disponible de la evaluación clínica del paciente y de su historial.

## Rendimiento clínico con muestras clínicas

Se analizaron muestras procedentes de una cohorte de población, prospectiva y multicéntrica en un estudio diseñado para evaluar el rendimiento de la prueba cobas® HPV en la identificación de enfermedades del tejido cervical de alto grado (CIN2, CIN3, cáncer cervical o adenocarcinoma *in situ* [ACIS]). Los participantes en el estudio representaban una población de cribado general con valoración de histología basada en un panel de revisión de patologías centralizado (CPRP). Las mujeres susceptibles de participar tenían una edad comprendida entre 25 y 65 años, se estaban sometiendo a un cribado de cáncer cervical de rutina, habían firmado un consentimiento informado y satisfacían los criterios de inclusión/exclusión del estudio. Se recogieron dos muestras cervicales: la primera en fluido conservante SurePath™ y la segunda en solución PreservCyt®. Se realizaron tres pruebas por cada sujeto y tipo de muestra: la prueba de citología Pap, la prueba cobas® HPV para uso en los sistemas cobas® 6800/8800 y la prueba cobas® 4800 HPV.

A las mujeres que obtuvieron un resultado  $\geq$  ASCUS en la citología de la muestra recogida en SurePath™ se les recomendó someterse a una colposcopia. Asimismo, todas las mujeres con un resultado positivo para ADN de HPV de alto riesgo (positivo mediante la prueba cobas® 4800 HPV), así como un subconjunto elegido aleatoriamente de mujeres con citología NILM (negativo para lesión intraepitelial o malignidad) y negativa para ADN de HPV de alto riesgo (mediante la prueba cobas® 4800 HPV), fueron seleccionadas para continuar con una colposcopia. Para evitar el sesgo, se aplicó el procedimiento de doble ciego con las participantes en el estudio y los especialistas en colposcopia a la hora de realizar todas las pruebas del HPV y de comunicar los resultados citológicos hasta después de la colposcopia. La colposcopia se realizó según el protocolo estándar que determina la realización de biopsias de todas las lesiones visibles; todas las pacientes para las que no se pudo visualizar una unión escamosa fueron sometidas a un legrado endocervical y se realizó una biopsia cervical aleatoria en caso de no observarse lesiones. Todas las biopsias fueron evaluadas por un CPRP formado por tres patólogos expertos; los resultados discordantes se resolvieron de acuerdo con un protocolo predefinido. Para cada tipo de muestra, se midió el rendimiento clínico (sensibilidad y especificidad) de la prueba cobas® 4800 HPV y de la prueba cobas® HPV para su uso en los sistemas cobas® 6800/8800 en comparación con los resultados histológicos del CPRP. Se realizaron análisis para las mujeres con una histología  $\geq$  CIN2 según el panel CPRP. Se analizaron un total de 995 muestras recogidas en PreservCyt® (Tabla 20) y 841 muestras recogidas en SurePath™ (Tabla 21) procedentes de la prueba clínica con valoración de la histología completada. Se encontraron 65 mujeres con diagnóstico histológico de  $\geq$  CIN2.

**Tabla 20** Rendimiento de la prueba cobas® HPV y la prueba cobas® 4800 HPV para la detección de  $\geq$  CIN2 en PreservCyt®

	cobas® HPV		Prueba cobas® 4800 HPV	
	Estimación	IC del 95 %	Estimación	IC del 95 %
<b>Sensibilidad</b>	93,8 % (61/65)	(85,2 %, 97,6 %)	93,8 % (61/65)	(85,2 %, 97,6 %)
<b>Especificidad</b>	41,7 % (387/929)	(38,5 %, 44,9 %)	43,3 % (403/930)	(40,2 %, 46,5 %)

IC = intervalo de confianza

**Tabla 21** Rendimiento de la prueba cobas® HPV y la prueba cobas® 4800 HPV para la detección de  $\geq$  CIN2 en SurePath™

	cobas® HPV		Prueba cobas® 4800 HPV	
	Estimación	IC del 95 %	Estimación	IC del 95 %
<b>Sensibilidad</b>	93,1 % (54/58)	(83,6 %, 97,3 %)	94,8 % (55/58)	(85,9 %, 98,2 %)
<b>Especificidad</b>	43,4 % (340/783)	(40,0 %, 46,9 %)	33,6 % (263/783)	(30,4 %, 37,0 %)

IC = intervalo de confianza

## Concordancia entre la prueba cobas® HPV en SurePath™ y PreservCyt® con comparador compuesto

Se evaluó la concordancia entre los resultados de la prueba cobas® HPV y un comparador compuesto consistente en resultados de ADN de HPV obtenidos mediante Qiagen Hybrid Capture 2 (hc2; sonda de genotipos de alto riesgo) y la prueba cobas® 4800 HPV. Un resultado positivo tanto de la prueba cobas® 4800 HPV como de los ensayos hc2 se definió como positivo para el comparador compuesto, un resultado negativo tanto de la prueba cobas® 4800 HPV como de hc2 se definió como negativo para el comparador compuesto; las muestras con resultados discordantes entre los dos métodos se consideraron indeterminadas y no se utilizaron para el cálculo de la concordancia de positivos, negativos y global.

El porcentaje de concordancia de positivos, negativos y global se calculó para cada tipo de medio de recogida frente al comparador compuesto. El análisis final de los datos incluyó los resultados de la prueba cobas® HPV y el comparador compuesto de 2318 muestras recogidas en PreservCyt® (Tabla 22) y 1651 muestras recogidas en SurePath™ (Tabla 23).

**Tabla 22** Concordancia entre la prueba cobas® HPV y el comparador compuesto (hc2 en PreservCyt® y cobas® 4800 HPV en PreservCyt®) para muestras recogidas en PreservCyt®

Resultado de cobas® HPV	Resultado del comparador compuesto			Total	PCP (IC del 95 %)	PCN (IC del 95 %)	PCG (IC del 95 %)
	Positivo	Negativa	Indeterminado*				
Positivo	195	33	67	295	98,0 % (195/199) (94,9 %, 99,2 %)	98,3 % (1966/1999) (97,7 %, 98,8 %)	98,3 % (2161/2198) (97,7 %, 98,8 %)
Negativa	4	1966	53	2023			
Total	199	1999	120	2318			

IC = intervalo de confianza, PCN = porcentaje de concordancia de negativos, PCG = porcentaje de concordancia global, PCP = porcentaje de concordancia de positivos.

\*Resultados de hc2 y la prueba cobas® 4800 HPV no coincidentes.

Se obtuvieron tres resultados no válidos con la prueba cobas® HPV.

**Tabla 23** Concordancia entre la prueba cobas® HPV y el comparador compuesto (hc2 en PreservCyt® y cobas® 4800 HPV en SurePath™) para muestras recogidas en SurePath™

Resultado de cobas® HPV	Resultado del comparador compuesto			Total	PCP (IC del 95 %)	PCN (IC del 95 %)	PCG (IC del 95 %)
	Positivo	Negativa	Indeterminado*				
Positivo	141	13	50	204	94,0 % (141/150) (89,0 %, 96,8 %)	99,1 % (1376/1389) (98,4 %, 99,5 %)	98,6 % (1517/1539) (97,8 %, 99,1 %)
Negativa	9	1376	62	1447			
Total	150	1389	112	1651			

IC = intervalo de confianza, PCN = porcentaje de concordancia de negativos, PCG = porcentaje de concordancia global, PCP = porcentaje de concordancia de positivos.

\*Resultados de hc2 y cobas® 4800 HPV no coincidentes.

## Evaluación no clínica del rendimiento

Se ha demostrado que el rendimiento de las muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium es comparable al de las muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®. Las pruebas de rendimiento con muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath™ se han realizado utilizando un tratamiento con buffer de preparación de muestras cobas®. Todas las concentraciones incluidas en los estudios siguientes se refieren a la muestra SurePath™ tratada.

### Equivalencia entre sistemas/Comparación de sistemas

La equivalencia entre los sistemas cobas® 5800, cobas® 6800 y los cobas® 8800 se demostró a partir de estudios de rendimiento.

Los resultados incluidos en las Instrucciones de uso hacen patente la equivalencia de rendimiento entre todos los sistemas.

### Características clave de rendimiento

#### Límite de detección (LoD)

Se evaluó el LoD para HPV16 y HPV18 utilizando líneas celulares SiHa y HeLa como referencia para muestras de pacientes negativas para el HPV con pooles recogidas en solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™. Las líneas celulares se diluyeron en concentraciones inferiores y superiores a los niveles del LoD esperado. Se analizaron un mínimo de 24 réplicas para cada nivel de línea celular tanto en solución PreservCyt® como en fluido conservante SurePath™ a partir de 3 lotes de reactivos con el mismo número de series realizadas en el sistema cobas® 6800 y los sistemas cobas® 8800. Se definió el LoD como el nivel de células del HPV de la muestra que ofrece resultados positivos como mínimo en un 95 % de las ocasiones con todas las concentraciones superiores que presentan resultados positivos en más del 95 % de las ocasiones.

El LoD para SiHa fue de 16 células/ml tanto para PreservCyt® como para SurePath™; el LoD para HeLa fue de 16 células/ml en PreservCyt® y de 8 células/ml en SurePath™. Tabla 24 a la Tabla 25 se presentan los resultados de los lotes de reactivos cuyo nivel del LoD es más conservador (más alto) para el análisis de HPV16 y HPV18 en solución PreservCyt® y en fluido conservante SurePath™, respectivamente.

Se analizaron en paralelo los paneles de dilución 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® HPV es equiparable.

**Tabla 24** Niveles del límite de detección para HPV16 (línea celular SiHa) en solución PreservCyt®

Concentración de SiHa (células/ml)	Número de positivos/análisis	% de positivos	Intervalo de confianza del 95 %
32	24 / 24	100 %	85,8-100 %
<b>16</b>	<b>24 / 24</b>	<b>100 %</b>	<b>85,8-100 %</b>
8	22 / 24	91,7 %	73,0-100 %

**Tabla 25** Niveles del límite de detección para HPV16 (línea celular SiHa) en fluido conservante SurePath™

Concentración de SiHa (células/ml)	Número de positivos/análisis	% de positivos	Intervalo de confianza del 95 %
32	24 / 24	100 %	85,8-100 %
<b>16</b>	<b>23 / 24</b>	<b>95,8 %</b>	<b>78,9-100 %</b>
8	21 / 24	87,5 %	67,6-97,3 %

**Tabla 26** Niveles del límite de detección para HPV18 (línea celular HeLa) en solución PreservCyt®

Concentración de HeLa (células/ml)	Número de positivos/análisis	% de positivos	Intervalo de confianza del 95 %
32	24 / 24	100 %	85,8-100 %
<b>16</b>	<b>24 / 24</b>	<b>100 %</b>	<b>85,8-100 %</b>
8	22 / 24	91,7 %	73,0-100 %

**Tabla 27** Niveles del límite de detección para HPV18 (línea celular HeLa) en fluido conservante SurePath™

Concentración de HeLa (células/ml)	Número de positivos/análisis	% de positivos	Intervalo de confianza del 95 %
16	24 / 24	100 %	85,8-100 %
<b>8</b>	<b>24 / 24</b>	<b>100 %</b>	<b>85,8-100 %</b>
4	20 / 24	83,3 %	62,6-95,3 %

## Inclusividad

Se evaluaron los plásmidos para los genotipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 de alto riesgo como referencia para muestras de pacientes negativas para el HPV con pooles recogidas en solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™. El ensayo detectó los 12 genotipos de alto riesgo analizados.

## Precisión

Se evaluó la precisión intralaboratorio mediante un panel con miembros compuestos a partir de líneas celulares del HPV o muestras clínicas positivas para el HPV diluidas en una matriz de pool de muestras cervicales negativas conservadas en solución PreservCyt® y una matriz de pool de muestras cervicales negativas conservadas en fluido conservante SurePath™.

El panel de precisión se diseñó para incluir miembros con concentraciones muy bajas, bajas y medias de HPV (negativo alto, < LoD, ~ LoD y > LoD), así como muestras negativas para el HPV para cada tipo de muestra. El análisis se realizó con tres lotes de reactivos de la prueba cobas® HPV en dos instrumentos. Se realizaron el mismo número de series en el sistema cobas® 6800 y el sistema cobas® 8800 durante 12 días hasta obtener un total de 24 series para cada miembro del panel. En la Tabla 28 y en la Tabla 29 se muestran una descripción de los paneles de precisión y las tasas de aciertos observadas.

Todos los miembros del panel analizados obtuvieron las tasas de aciertos esperadas. En el análisis de la desviación estándar y el porcentaje del coeficiente de variación de los valores de Ct de los ensayos válidos realizados con los miembros del panel positivos se obtuvieron rangos de CV (%) globales comprendidos entre el 4,32 % y el 6,34 % para otros genotipos del HPV de alto riesgo (Tabla 30), entre el 1,09 % y el 4,61 % para HPV16 (Tabla 31) y entre el 1,21 % y el 3,76 % para HPV18 (Tabla 32).

También se evaluó la precisión intralaboratorio mediante paneles preparados mediante la adición de líneas celulares SiHa y HeLa a los pools de referencia de muestras de pacientes negativas para el HPV recogidas en Roche Cell Collection Medium con niveles de LoD iguales o superiores. El análisis de los paneles preparados con Roche Cell Collection Medium ofrece una precisión comparable a la de los paneles preparados con solución PreservCyt®.

**Tabla 28** Resumen de la precisión intralaboratorio en solución PreservCyt®

Nivel de panel	Tasa de positividad esperada	Origen de la diana	Concentración de HPV	Canal de la diana	N pruebas	N positivos	Tasa de aciertos	IC del 95 %	
								LI	LS
Negativa	0 %	n.a.	n.a.	Other HR HPV	72	0	<b>0 %</b>	0 %	5 %
Negativa	0 %	n.a.		HPV16	72	0	<b>0 %</b>	0 %	5 %
Negativa	0 %	n.a.		HPV18	72	0	<b>0 %</b>	0 %	5 %
Negativo alto	≤ 5 %	Muestra clínica	n.a.	Other HR HPV	72	0	<b>0 %</b>	0 %	5 %
Negativo alto	≤ 5 %	Muestra clínica		HPV16	72	0	<b>0 %</b>	0 %	5 %
Negativo alto	≤ 5 %	Muestra clínica		HPV18	72	5	<b>7 %</b>	2 %	15 %
< 1 × LoD	< 95 %	Muestra clínica	n.a.	Other HR HPV	72	30	<b>42 %</b>	30 %	54 %
< 1 × LoD	< 95 %	Muestra clínica	n.a.	HPV16	71	33	<b>47 %</b>	35 %	59 %
< 1 × LoD	< 95 %	Muestra clínica	n.a.	HPV18	72	49	<b>68 %</b>	56 %	79 %
< 1 × LoD	20-80 %	Línea celular SiHa	4,8 células/ml	HPV16	72	44	<b>61 %</b>	49 %	72 %
< 1 × LoD	20-80 %	Línea celular HeLa	4,8 células/ml	HPV18	72	49	<b>68 %</b>	56 %	79 %
~1 × LoD	≥ 95 %	Muestra clínica	n.a.	Other HR HPV	72	72	<b>100 %</b>	95 %	100 %
~1 × LoD	≥ 95 %	Línea celular SiHa	16 células/ml	HPV16	72	72	<b>100 %</b>	95 %	100 %
~1 × LoD	≥ 95 %	Línea celular HeLa	16 células/ml	HPV18	72	72	<b>100 %</b>	95 %	100 %
> 1 × LoD	≥ 99 %	Muestra clínica	n.a.	Other HR HPV	72	72	<b>100 %</b>	95 %	100 %
> 1 × LoD	≥ 99 %	Línea celular SiHa	48 células/ml	HPV16	72	72	<b>100 %</b>	95 %	100 %
> 1 × LoD	≥ 99 %	Línea celular HeLa	48 células/ml	HPV18	72	72	<b>100 %</b>	95 %	100 %

IC = intervalo de confianza, LI = límite inferior, LS = límite superior

**Tabla 29** Resumen de la precisión intralaboratorio en fluido conservante SurePath™

Nivel de panel	Tasa de positividad esperada	Origen de la diana	Concentración de HPV	Canal de la diana	N pruebas	N positivos	Tasa de aciertos	IC del 95 %	
								LI	LS
Negativa	0 %	n.a.	n.a.	Other HR HPV	72	0	0 %	0 %	5 %
Negativa	0 %	n.a.		HPV16	72	0	0 %	0 %	5 %
Negativa	0 %	n.a.		HPV18	72	0	0 %	0 %	5 %
Negativo alto	≤ 5 %	Muestra clínica	n.a.	Other HR HPV	72	0	0 %	0 %	5 %
Negativo alto	≤ 5 %	Muestra clínica		HPV16	72	0	0 %	0 %	5 %
Negativo alto	≤ 5 %	Muestra clínica		HPV18	72	0	0 %	0 %	5 %
< 1 × LoD	< 95 %	Muestra clínica	n.a.	Other HR HPV	72	64	89 %	79 %	95 %
< 1 × LoD	< 95 %	Muestra clínica	n.a.	HPV16	72	11	15 %	8 %	26 %
< 1 × LoD	< 95 %	Muestra clínica	n.a.	HPV18	72	36	50 %	38 %	62 %
< 1 × LoD	20-80 %	Línea celular SiHa	4,8 células/ml	HPV16	72	55	76 %	65 %	86 %
< 1 × LoD	20-80 %	Línea celular HeLa	2,4 células/ml	HPV18	72	47	65 %	53 %	76 %
~ 1 × LoD	≥ 95 %	Muestra clínica	n.a.	Other HR HPV	72	72	100 %	95 %	100 %
~ 1 × LoD	≥ 95 %	Línea celular SiHa	16 células/ml	HPV16	72	72	100 %	95 %	100 %
~ 1 × LoD	≥ 95 %	Línea celular HeLa	8 células/ml	HPV18	72	70	97 %	90 %	100 %
> 1 × LoD	≥ 99 %	Muestra clínica	n.a.	Other HR HPV	72	72	100 %	95 %	100 %
> 1 × LoD	≥ 99 %	Línea celular SiHa	48 células/ml	HPV16	72	72	100 %	95 %	100 %
> 1 × LoD	≥ 99 %	Línea celular HeLa	24 células/ml	HPV18	72	72	100 %	95 %	100 %

IC = intervalo de confianza, LI = límite inferior, LS = límite superior

**Tabla 30** Media global, desviaciones estándar y coeficientes de variación (%) para el ciclo límite - Otros genotipos del HPV de alto riesgo

			Efecto aleatorio															
			Día		Instrumento		Usuario		Lote		Interensayo		Intraserie		Residual		Total	
Nivel	Tasa de aciertos	Ct medio	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV
Muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®																		
< LoD	41,7 %	33,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0,47	1,43	0	0	1,72	5,18	1,78	5,37
~ LoD	100 %	32,4	0	0	0	0	0,49	1,50	0,16	0,51	0	0	0	0	1,94	5,98	2,01	6,19
> LoD	100 %	30,7	0	0	0	0	0	0	0,27	0,88	0	0	0	0	1,30	4,23	1,33	4,32
Muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath™																		
< LoD	88,9 %	32,7	0	0	0,16	0,50	0	0	0	0	0	0	0	0	2,07	6,32	2,07	6,34
~ LoD	100 %	32,1	0,45	1,41	0	0	0,32	1,01	0,75	2,32	0	0	0	0	1,65	5,13	1,89	5,89
> LoD	100 %	29,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0,31	1,04	0	0	1,82	6,09	1,85	6,18

**Tabla 31** Media global, desviaciones estándar y coeficientes de variación (%) para el ciclo umbral - HPV16

Nivel	Tasa de aciertos	Ct medio	Efecto aleatorio															
			Día		Instrumento		Usuario		Lote		Interensayo		Intraserie		Residual		Total	
			SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV
Muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®																		
< LoD	46,5 %	35,7	0,84	2,34	0,29	0,80	0,85	2,39	0	0	0	0	0	0	1,10	3,07	1,65	4,61
< LoD	61,1 %	36,1	0,44	0,67	0	0	0,16	0,45	0,21	0,57	0	0	0	0	0,49	1,36	0,61	1,68
~ LoD	100 %	35,0	0	0	0,02	0,06	0,02	0,07	0,38	1,09	0	0	0,16	0,46	0,42	1,20	0,59	1,69
> LoD	100 %	34,0	0,03	0,09	0,04	0,12	0	0	0,27	0,78	0	0	0	0	0,25	0,74	0,37	1,09
Muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath™																		
< LoD	15,3 %	36,9	0	0	0	0	0,93	2,52	0	0	0	0	0	0	0,96	2,61	1,34	3,63
< LoD	76,4 %	37,1	0,27	0,72	0,10	0,28	0	0	0,25	0,67	0	0	0,32	0,87	0,58	1,58	0,77	2,07
~ LoD	100 %	36,3	0	0	0,15	0,40	0	0	0,35	0,95	0,12	0,32	0,11	0,29	0,47	1,29	0,62	1,71
> LoD	100 %	35,2	0	0	0,07	0,20	0	0	0,35	0,98	0,01	0,04	0	0	0,33	0,94	0,49	1,38

**Tabla 32** Media global, desviaciones estándar y coeficientes de variación (%) para el ciclo límite - HPV18

Nivel	Tasa de aciertos	Ct medio	Efecto aleatorio															
			Día		Instrumento		Usuario		Lote		Interensayo		Intraserie		Residual		Total	
			SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV
Muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®																		
< LoD	68,1 %	35,9	0	0	0,55	1,52	0	0	0,18	0,51	0,17	0,49	0	0	1,21	3,37	1,35	3,76
< LoD	68,1 %	35,3	0,19	0,54	0	0	0,02	0,06	0	0	0	0	0	0	0,97	2,75	0,99	2,80
~ LoD	100 %	33,8	0	0	0	0	0	0	0,37	1,11	0	0	0	0	0,73	2,17	0,82	2,44
> LoD	100 %	32,2	0	0	0	0	0	0	0,22	0,68	0,03	0,10	0	0	0,33	1,02	0,39	1,23
Muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath™																		
< LoD	50,0 %	37,3	0,14	0,36	0	0	0,10	0,27	0,25	0,66	0	0	0	0	0,45	1,21	0,54	1,45
< LoD	65,3 %	36,3	0,23	0,65	0	0	0	0	0,27	0,74	0,15	0,42	0,20	0,55	0,54	1,49	0,70	1,92
~ LoD	97,2 %	35,7	0	0	0	0	0	0	0,33	0,94	0,07	0,20	0	0	0,56	1,57	0,65	1,84
> LoD	100 %	34,4	0	0	0,06	0,19	0,02	0,06	0,20	0,57	0,04	0,13	0	0	0,36	1,04	0,42	1,21

## Especificidad analítica/reactividad cruzada

Se analizó un panel de bacterias, hongos y virus (incluidos los virus de mayor presencia en el tracto urogenital femenino, así como varios tipos de virus del papiloma humano clasificados de riesgo bajo o indeterminados) con la prueba cobas® HPV a fin de valorar la especificidad analítica de la misma. Se añadieron los organismos indicados en la Tabla 33, con concentraciones de aproximadamente  $1 \times 10^6$  unidades\*/ml para las bacterias y de aproximadamente  $1 \times 10^5$  unidades\*/ml para los virus a pools de muestras cervicales negativas para el HPV recogidas en solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™. Se analizaron todos los posibles organismos interferentes de forma individual, así como mezclados con líneas celulares de SiHa (HPV16) y HeLa (HPV18) con una concentración de aproximadamente 3x LoD. Los resultados indicaron que ninguno de estos organismos interfirió en la detección del ADN de HPV16 y HPV18 ni generó ningún resultado falso positivo en la muestra negativa para el HPV.

\* Todas las bacterias se cuantificaron como unidades formadoras de colonias (UFC), a excepción de la *Chlamydomphila psittaci*, que se cuantificó como cuerpos elementales (CE). Todos los virus se cuantificaron como unidades/ml, según lo establecido en el ensayo de punto final de la dilución TCID<sub>50</sub>, a excepción del virus Epstein Barr, que se cuantificó en copias/ml. El *Trichomonas vaginalis* se cuantificó como células/ml.

**Tabla 33** Microorganismos analizados para la especificidad analítica/reactividad cruzada

Adenovirus tipo 40	Virus del herpes simple 1	HPV82
<i>Bacteroides caccae</i>	Virus del herpes simple 2	HPV83
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	HPV6	HPV84
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	HPV11	HPV85
<i>Bifidobacterium breve</i>	HPV26	HPV89
<i>Bifidobacterium longum</i>	HPV30	<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Candida albicans</i>	HPV34	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	HPV40	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Chlamydomphila psittaci</i>	HPV42	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Clostridium difficile</i> (serogrupo B)	HPV53	<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	HPV54	<i>Peptostreptococcus magnus</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	HPV55	<i>Proteus mirabilis</i>
Citomegalovirus	HPV61	<i>Proteus penneri</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	HPV62	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	HPV64	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Enterococcus avium</i>	HPV67	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	HPV69	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	HPV70	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	HPV71	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Virus de Epstein-Barr	HPV72	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Escherichia coli</i>	HPV73	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	HPV81	<i>Trichomonas vaginalis</i>

## Interferencia

Se analizaron los efectos de sustancias endógenas y exógenas que pueden estar presentes en muestras cervicales para valorar su posible interferencia. Para el análisis de interferencia se analizaron todas las posibles sustancias interferentes de forma individual, así como mezcladas con líneas celulares SiHa (HPV16) y HeLa (HPV18) con una concentración de aproximadamente 3x LoD en pooles de muestras cervicales negativas para el HPV recogidas en Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™.

Las sustancias endógenas analizadas fueron moco cervical, células mononucleares de sangre periférica y sangre total. En la Tabla 34 se muestran los niveles de sustancias endógenas toleradas por el ensayo para los tipos de muestras. En el análisis de sustancias exógenas se incluyeron los 17 productos de higiene femenina disponibles en el mercado y con receta recogidos en la Tabla 35. De entre los productos de higiene femenina disponibles en el mercado y con receta analizados, se obtuvieron resultados falsos negativos con el gel de Metronidazol, Replens™, el gel eliminador de olor vaginal RepHresh™ y el kit de higiene femenina RepHresh™ Clean Balance™. Estos productos pueden contener carbómeros. Se ha demostrado que los productos que contienen carbómeros generan resultados falsos negativos y no válidos. La Tabla 35 no debe considerarse una lista exhaustiva de productos que contienen carbómeros.

También se analizó la posible interferencia con la presencia de ácido acético glacial en pooles de muestras cervicales negativas para el HPV y positivas para el HPV recogidas en Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt®. El ensayo admite concentraciones inferiores o iguales a un 5 % (v/v) de ácido acético glacial.

**Tabla 34** Resumen de concentraciones de sustancias endógenas que no afectan al rendimiento

Sustancia endógena	Roche Cell Collection Medium	PreservCyt®	SurePath™
Moco cervical	Presencia*	Presencia*	Presencia*
Células mononucleares de sangre periférica (CMSP como células/ml)	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+05
Sangre total (% v/v)	10 %	10 %	10 %

\*“Presencia” significa la cantidad de moco cervical retirada normalmente del cérvix antes de obtener la muestra.

**Tabla 35** Lista de sustancias analizadas para detectar interferencias en muestras cervicales

Nombre del producto	
Crema vaginal clindamicina fosfato	Supositorios Norforms®
CVS Tioconazole 1 (Equate™ tioconazole 1)	Crema vaginal Premarin®
Crema antipicoros Equate™ Vagicine	Humectante vaginal de larga duración Replens™*
Crema Estrace®	Gel eliminador de olor vaginal RepHresh™*
K-Y® Ultrigel	Kit de higiene femenina* RepHresh™ Clean Balance™
Metronidazole Vaginal Gel (gel vaginal de Metronidazol)*	Desodorante íntimo femenino en spray Summer's Eve®
Envase combinado antifúngico vaginal Monistat® 3	Espuma anticonceptiva vaginal VCF®
Crema para aliviar el picor de cuidado completo Monistat®	Yeast Gard Advanced®
Gyne-Lotrimin® 7	Ácido acético glacial**

\* El gel vaginal de Metronidazol, Replens™, el gel eliminador de olor vaginal RepHresh™ y el kit de higiene femenina RepHresh™ Clean Balance™ mostraron niveles de interferencia que pueden estar presentes en muestras clínicas.

\*\* Las concentraciones ≤ 5 % (v/v) de ácido acético glacial no mostraron interferencias. El análisis del ácido acético glacial se realizó en muestras cervicales recogidas únicamente en solución PreservCyt®.

## Contaminación por arrastre

Se realizaron diversos estudios para evaluar la posible contaminación por arrastre en los sistemas cobas® 6800/8800 que utilizan la prueba cobas® HPV. El estudio de rendimiento ha determinado que la contaminación por arrastre entre muestras de la prueba cobas® HPV es del 0,139 % (1/719) tras realizar varias series para analizar tanto muestras positivas muy altas que representan más del 95 % de los positivos en la población de uso prevista como muestras negativas. Se ha determinado una contaminación por arrastre entre series del 0 % (0/470). El análisis se efectuó con muestras preparadas en Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™.

## Fallo de todo el sistema

Las muestras analizadas en el estudio de fallo de todo el sistema se agruparon en muestras cervicales clínicas negativas para el HPV recogidas en Roche Cell Collection Medium, solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™. A cada pool de muestras clínicas se añadió células SiHa (HPV16) y células HeLa (HPV18) con una concentración de aproximadamente 3x LoD para cada tipo de muestra. Los resultados de este estudio determinaron que la tasa de positividad superó el 99 % para Roche Cell Collection Medium, para la solución PreservCyt® y para el fluido conservante SurePath™.

## Correlación de métodos

El rendimiento de la prueba cobas® HPV se comparó con el de la prueba cobas® 4800 HPV mediante muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt® y muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath™. Todas las muestras recogidas en SurePath™ se trataron con buffer de preparación de muestras cobas® de acuerdo con el método preanalítico definido para cada prueba.

Para este estudio de correlación, se analizaron un total de 6.961 muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt® y 5.755 muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath™.

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 36 para muestras recogidas en PreservCyt® y en la Tabla 37 para muestras recogidas en SurePath™. Hubieron 397 muestras discordantes para genotipos de HPV de alto riesgo para los dos tipos de muestra, combinados; de ellas, 212 fueron positivas con la prueba cobas® HPV y 185 fueron positivas con la prueba cobas® 4800 HPV.

**Tabla 36** Correlación entre la prueba cobas® HPV y la prueba cobas® 4800 HPV para muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®

		Prueba cobas® 4800 HPV — 14 resultados AR		<b>Total</b>
		Positivo	Negativa	
<b>cobas® HPV — 14 resultados AR</b>	Positivo	834	146	980
	Negativa	57	5924	5981
<b>Total</b>		891	6070	6961

<b>Resultado (%)</b>		<b>Intervalo de confianza del 95 %</b>	
Porcentaje de concordancia de positivos	93,6 %	91,8-95,0 %	
Porcentaje de concordancia de negativos	97,6 %	97,2-98,0 %	
Porcentaje de concordancia global	97,1 %	96,7-97,5 %	

Concordancias de la detección de HPV16/HPV18 entre la prueba cobas® HPV y la prueba cobas® 4800 HPV (estimación e intervalo de confianza del 95 %): PCP: 99,5 % (97,2 %-99,9 %); PCN: 98,6 % (98,2 %-98,8 %); y PCG: 98,6 % (98,3 %-98,8 %).

**Tabla 37** Correlación entre la prueba cobas® HPV y la prueba cobas® 4800 HPV para muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath™

		Prueba cobas® 4800 HPV — 14 resultados AR		<b>Total</b>
		Positivo	Negativa	
<b>cobas® HPV — 14 resultados AR</b>	Positivo	701	66	767
	Negativa	128	4860	4988
<b>Total</b>		829	4926	5755

<b>Resultado (%)</b>		<b>Intervalo de confianza del 95 %</b>	
Porcentaje de concordancia de positivos	84,6 %	81,9-86,9 %	
Porcentaje de concordancia de negativos	98,7 %	98,3-98,9 %	
Porcentaje de concordancia global	96,6 %	96,1-97,1 %	

Concordancias de la detección de HPV16/HPV18 entre la prueba cobas® HPV y la prueba cobas® 4800 HPV (estimación e intervalo de confianza del 95 %): PCP: 97,7 % (94,3 %-99,1 %); PCN: 99,0 % (98,7 %-99,3 %); y PCG: 99,0 % (98,7 %-99,2 %).

## Comparación del rendimiento de la prueba con Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt®

Se compararon los resultados de la prueba cobas® HPV con muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium y muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®. Las muestras cervicales se obtuvieron de los mismos sujetos y luego se recogieron con Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt® siguiendo un orden aleatorio para su posterior análisis. 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.

Se comparó el rendimiento de la prueba cobas® HPV con Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt® mediante la prueba de proporciones de dos muestras. Los intervalos de confianza del 95 % para la diferencia de las proporciones (Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt®) tanto para positivos como para negativos del HPV incluían “0”, lo que confirmó que los resultados para muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium no eran estadísticamente diferentes de los resultados obtenidos para muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt® (Tabla 38).

**Tabla 38** Prueba de proporciones de dos muestras para muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium y muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®

Número % total % de columna % de fila	14 positivos para HPV-AR	14 negativos para HPV-AR	Total
<b>Roche Cell Collection Medium (RCCM)</b>	<b>490</b> 16,57 49,80 33,04	<b>993</b> 33,58 50,33 66,96	<b>1483</b> 50,15
<b>Solución PreservCyt® (PCYT)</b>	<b>494</b> 16,71 50,20 33,51	<b>980</b> 33,14 49,67 66,49	<b>1474</b> 49,85
<b>Total</b>	<b>984</b> 33,28	<b>1973</b> 66,72	<b>2957</b>

Prueba de proporciones de dos muestras	Diferencia de proporciones	Límite inferior del intervalo de confianza del 95 %	Límite superior del intervalo de confianza del 95 %
P(14 positivos para HPV AR RCCM)-P(14 positivos para HPV AR PCYT)	-0,00473	-0,03868	0,029224
P(14 negativos para HPV AR RCCM)-P(14 negativos para HPV AR PCYT)	0,004731	-0,02922	0,038676

## 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 suspendió 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 706 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 39.

**Tabla 39** 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 14 resultados AR		Total
		Positivo	Negativa	
Muestra vaginal de autotoma utilizando FLOQSwab® 552C.80 14 resultados AR	Positivo	165	43	208
	Negativa	26	472	498
Total		191	515	706

	Resultado (%)	Intervalo de confianza del 95 %
Porcentaje de concordancia de positivos	86,4 %	80,8-90,5 %
Porcentaje de concordancia de negativos	91,7 %	88,9-93,7 %
Porcentaje de concordancia global	90,2 %	87,8-92,2 %

## 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 744 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 40.

**Tabla 40** 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
		Positivo	Negativa	
Muestra vaginal de autotoma obtenida con Evalyn® Brush 14 resultados AR	Positivo	204	50	254
	Negativa	24	466	490
Total		228	516	744

	Resultado (%)	Intervalo de confianza del 95 %
Porcentaje de concordancia de positivos	89,5 %	84,8-92,9 %
Porcentaje de concordancia de negativos	90,3 %	87,4-92,6 %
Porcentaje de concordancia global	90,1 %	87,7-92,0 %

## Información adicional

### Características principales del ensayo

**Tipos de muestras**

- Muestra cervical recogida en Roche Cell Collection Medium
- Muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®
- Muestra cervical recogida en fluido conservante SurePath™
- Muestra vaginal de autotoma en Roche Cell Collection Medium
- Muestra vaginal de autotoma en solución PreservCyt®

**Cantidad de muestra procesada**

- Se requieren  $\geq 1000 \mu\text{l}$  en el tubo de muestra para las muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium; en el instrumento se procesan  $400 \mu\text{l}$
- Se requieren  $\geq 1000 \mu\text{l}$  en el tubo de muestra para las muestras recogidas en solución PreservCyt®; en el instrumento se procesan  $400 \mu\text{l}$ .
- Se requieren  $1000 \mu\text{l}$  en el tubo de muestra para las muestras recogidas en SurePath™ tratadas con buffer de preparación de muestras **cobas**®; en el instrumento se procesan  $400 \mu\text{l}$ .
- En el sistema **cobas**® 5800 se requieren  $\geq 3000 \mu\text{l}$  para muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium en viales primarios; en el instrumento se procesan  $400 \mu\text{l}$ .
- En el sistema **cobas**® 5800 se requieren  $\geq 3000 \mu\text{l}$  para muestras recogidas en PreservCyt® en viales primarios; en el instrumento se procesan  $400 \mu\text{l}$ .





















































**Duración de la prueba**

- $< 3,5$  horas hasta la obtención del primer resultado

## Símbolos

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

**Tabla 41** Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos para diagnóstico mediante PCR de Roche

 <b>Age/DOB</b> Edad o fecha de nacimiento	 Dispositivo no apto para análisis en el lugar de asistencia al paciente	 <b>QS IU/PCR</b> UI de QS por reacción de PCR, utilice las unidades internacionales (UI) de QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.
 <b>SW</b> Software auxiliar	 Dispositivo no apto para autodiagnóstico	 <b>SN</b> Número de serie
 <b>Assigned Range [copies/ml]</b> Intervalo asignado (copias/ml)	 Distribuidor <i>(Nota: el país o la región se indicará debajo de este símbolo.)</i>	 <b>Site</b> Centro
 <b>Assigned Range [IU/ml]</b> Intervalo asignado (UI/ml)	 No deben reutilizarse	 <b>Procedure Standard</b> Procedimiento estándar
 <b>EC REP</b> Representante autorizado en la Comunidad Europea	 Mujeres	 <b>STERILE EO</b> Esterilizado con óxido de etileno
 <b>BARCODE</b> Hoja de datos del código de barras	 Para evaluación del rendimiento IVD únicamente	 Almacenar en la oscuridad
 <b>LOT</b> Código de lote	 <b>GTIN</b> Número mundial de artículo comercial	 Límite de temperatura
 Riesgo biológico	 Importador	 <b>TDF</b> Archivo de definición de pruebas
 <b>REF</b> Número de catálogo	 <b>IVD</b> Dispositivo médico 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 dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i> .	 <b>LLR</b> Límite inferior del intervalo asignado	 <b>Procedure UltraSensitive</b> Procedimiento ultrasensible
 <b>Collect Date</b> Fecha de recogida	 Hombres	 <b>UDI</b> Identificador único del producto
 Consulte las instrucciones de uso	 Fabricante	 <b>ULR</b> Límite superior del intervalo asignado
 Suficiente para <n> pruebas	 <b>CONTROL -</b> Control negativo	 <b>Urine Fill Line</b> Línea de llenado de orina
 <b>CONTENT</b> Contenido del kit	 Sin esterilizar	 <b>Rx Only</b> Para los EE. UU.: Precaución: la ley federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo autorizado o bajo prescripción médica.
 <b>CONTROL</b> Control	 Nombre del paciente	 Fecha de caducidad
 Fecha de fabricación	 Número del paciente	
 Prueba diagnóstica en el lugar de asistencia al paciente	 Abrir aquí	
 Dispositivo para autodiagnóstico	 <b>CONTROL +</b> Control positivo	
	 <b>QS copies / PCR</b> Copias QS por reacción de PCR, utilice copias QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.	

## Asistencia técnica

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

## Fabricante e importador

**Tabla 42** 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>

## Derechos de autor

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH  
 Sandhofer Str. 116  
 68305 Mannheim  
 Germany



## Bibliografía

1. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbio Rev.* 2003;16(1):1-17.
2. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer.* 2002;2(5):342-350.
3. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189(1):12-19.
4. Bernard HU. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *Journal Clin Virol: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2005;32 Suppl 1:S1-6.
5. Molijn A, Kleter B, Quint W, van Doorn LJ. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol* 2005;32 Suppl 1(1):S43-51.
6. zur Hausen H. Roots and perspectives of contemporary papillomavirus research. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996;122(1):3-13.
7. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, et al. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004;324(1):17-27.
8. Franco EL, Rohan TE, Villa LL. Epidemiologic evidence and human papillomavirus infection as a necessary cause of cervical cancer. *J Ntl Cancer Inst* 1999;91(6):506-511.
9. Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, et al. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* 1992;79(3):328-337.
10. Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1995;87(11):796-802.
11. Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002;55(4):244-265.
12. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348(6):518-527.
13. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Device and Radiologic Health, Establishing the Performance Characteristics of In Vitro Diagnostic Devices for the Detection or Detection and Differentiation of Human Papillomavirus [Draft Guidance]. 2015.
14. Whitlock EP, Vesco KK, Eder M, Lin JS, et al. 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(10):687-697, W214-685.
15. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA Cancer J Clin* 2012;62(3):147-172.
16. Huh WK, Ault KA, Chelmow D, Davey DD, et al. Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening: interim clinical guidance. *Obstet Gynecol* 2015;125(2):330-337.

17. Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, et al. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol* 2009;10(4):321-322.
18. Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, et al. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197(4):346-355.
19. Katki HA, Kinney WK, Fetterman B, Lorey T, et al. Cervical cancer risk for women undergoing concurrent testing for human papillomavirus and cervical cytology: a population-based study in routine clinical practice. *Lancet Oncol* 2011;12(7):663-672.
20. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)*. 1992;10:413-7.
21. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
22. Davies P, Kornegay J, Iftner T. Current methods of testing for human papillomavirus. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2001;15:677-700.
23. Myers TW, Gelfand DH. Reverse transcription and DNA amplification by a *Thermus thermophilus* DNA polymerase. *Biochemistry*. 1991;30(31):7661-6.
24. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. 1990. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.
25. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
27. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 48<sup>th</sup> Edition. 2007.

## Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 3.0 12/2024	<p>Se ha añadido información sobre la versión 2.0 del software del sistema para los sistemas <b>cobas</b>® 6800/8800.</p> <p>Se ha actualizado la visualización de los ejemplos de resultados en los sistemas <b>cobas</b>® 6800/8800 con versión del software 1.4.</p> <p>Se ha eliminado las referencias P/N del material fungible; la información detallada sobre el material fungible se encuentra en la Asistencia al usuario de los sistemas <b>cobas</b>® 5800 y <b>cobas</b>® 6800/880.</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>Se ha actualizado la frase sobre la autoridad competente.</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>