

Agosto 2018

Manual del *careHPV*[®] Test Kit



96 (n.º de catálogo 614015)

IVD

Para la detección de 14 genotipos del virus del papiloma humano (VPH) de alto riesgo mediante hibridación de ácidos nucleicos

Para utilizar con:

- *careHPV* Test System
- *careBrush*
- *careHPV* Collection Medium

CE

REF

614015



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANIA

Rev. 7

MAT

1119794ES

QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN es el proveedor líder de tecnologías innovadoras para la preparación de muestras y ensayos de biología molecular que permiten el aislamiento y la detección del contenido de cualquier muestra biológica. Nuestros productos y servicios de vanguardia y máxima calidad garantizan el éxito desde la muestra hasta el resultado.

QIAGEN define los estándares en los siguientes campos:

- Purificación de ADN, ARN y proteínas
- Ensayos de ácidos nucleicos y proteínas.
- Investigación con microARN y ARNi.
- Automatización de tecnologías de preparación de muestras y ensayos de biología molecular

Nuestra misión es ayudarle a superar sus retos y a alcanzar un éxito excepcional. Para más información, visite www.qiagen.com.

Contenido

Uso previsto	5
Resumen y explicación	6
Principio del procedimiento	8
Materiales suministrados	9
Materiales requeridos pero no suministrados	10
Advertencias y precauciones.....	11
Advertencias.....	11
Frases sobre seguridad y riesgo en relación con los componentes.....	12
Precauciones.....	14
Almacenamiento y manipulación de los reactivos	16
Manipulación y almacenamiento de material de muestras	16
Procedimiento	17
Preparación de material de muestras	18
Inicio del sistema <i>careHPV Test</i>	19
Preparación de los reactivos	19
Protocolo 1: Preparación de la microplaca e incubación durante 30 minutos	21
Protocolo 2: Adición del reactivo 2 e incubación durante 15 minutos.....	23
Protocolo 3: Adición del reactivo 3 e incubación durante 30 minutos.....	24
Protocolo 4: Adición e incubación del reactivo 4	26
Protocolo 5: Adición del reactivo 5 y lavado de la microplaca	28
Protocolo 6: Adición e incubación del reactivo 6	30

Interpretación de los resultados	31
Control de calidad.....	33
Limitaciones	34
Características de rendimiento	36
Rendimiento clínico del uso de la <i>careHPV</i> Test en el cribado del cáncer de cuello uterino y las lesiones precancerosas.	36
Rendimiento de la obtención por la propia paciente.....	39
Condiciones de las pruebas del rendimiento analítico	39
Sensibilidad analítica	40
Reactividad cruzada.....	41
Sustancias interferentes	43
Repetibilidad	43
Reproducibilidad.....	46
Referencias	49
Símbolos	54
Información de contacto	55
Apéndice: Hoja de registro de datos de la prueba.....	56
Información para pedidos	57

Uso previsto

La tecnología de la *careHPV Test* consiste en un ensayo de hibridación de ácidos nucleicos in vitro con amplificación de la señal que utiliza la quimioluminiscencia en microplaca para la detección cualitativa del ADN de 14 tipos de alto riesgo del virus del papiloma humano (VPH) en material de muestras cervicouterinas o vaginales. Los tipos de VPH detectados por la prueba son los tipos de VPH de alto riesgo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68.

El uso de esta prueba está indicado como prueba de evaluación primaria en mujeres a partir de 30 años para detectar el alto riesgo de infección por VPH, que es un factor de riesgo para desarrollar neoplasia intraepitelial cervicouterina (NIC 2/3+) de alto grado.

Esta prueba es “solo para uso de profesionales” y debe utilizarla personal de laboratorio formado y con certificado. Lea detenidamente estas instrucciones de uso antes de utilizar la prueba.

La *careHPV Test* no está prevista para su uso en la evaluación de mujeres menores de 30 años ni de mujeres que estén embarazadas. El uso de esta prueba no se ha evaluado para mujeres que presenten los siguientes casos:

- anomalías citológicas o histológicas previas
- que se hayan sometido a una histerectomía
- posmenopáusicas
- resultado positivo para VIH con factores de riesgo adicionales
- inmunodeprimidas
- se han expuesto al dietilestilbestrol
- tienen antecedentes de enfermedades de transmisión sexual

Resumen y explicación

La presencia de ciertos tipos de VPH en el aparato genital femenino se asocia a diversas enfermedades, tales como el condiloma, la papulosis bowenoide y los cánceres y neoplasias intraepiteliales cervicouterinos, vaginales y vulvares (1, 2). Se han identificado más de 100 tipos de VPH y generalmente se clasifican como de alto riesgo y de bajo riesgo, según su asociación conocida o de su falta de asociación con el cáncer y su lesión precursora, la neoplasia intraepitelial cervicouterina (NIC 2/3+) de alto grado. Generalmente se acepta que estos virus se transmiten principalmente por contacto sexual y que los tipos de alto riesgo del VPH son un factor principal de riesgo reconocido para el desarrollo de cáncer de cuello uterino (2-6). La infección del cuello uterino con tipos de VPH de alto riesgo puede asociarse a cambios citológicos e histológicos que se detectan mediante la prueba de Papanicoláu, una colposcopia o una biopsia.

El virus del papiloma humano está compuesto por una partícula viral icosaédrica (virión) que contiene una molécula circular de ADN bicatenario de 8000 pares de bases rodeada de una cápside proteínica. Tras la infección de las células epiteliales, el ADN viral se establece en todo el espesor del epitelio, aunque únicamente hay viriones intactos en las capas superiores del tejido. Por tanto, el ADN viral puede encontrarse en viriones o en forma de secuencias episómicas o integradas del VPH, según el tipo y el grado de la lesión.

Históricamente, los tipos 16 y 18 del VPH se han considerado tipos de alto riesgo (2, 7, 8) y se ha demostrado que los tipos 31, 33 y 35 del VPH tienen una asociación intermedia con el cáncer (2, 9). Esta asociación intermedia se debe a que estos tipos se detectan con mayor frecuencia en la NIC 2/3+ que en los cánceres. Por lo tanto, los cánceres asociados a la presencia de estos tipos son menos frecuentes que los cánceres asociados a los tipos de alto riesgo de VPH 16 y 18 (2, 10). Estos 5 tipos de VPH combinados dan cuenta de aproximadamente el 80 % de los cánceres de cuello uterino (2, 11, 12). Otros tipos de HPV de riesgo alto e intermedio, incluidos los tipos 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68, se han identificado como los principales tipos de VPH detectables en el resto de los cánceres (2, 12-

18). El tipo de VPH 66 se ha clasificado como tipo de riesgo alto probable (19), y debido al aumento en la especificidad de la *careHPV Test*, el tipo de VPH 66 se ha agregado a la mezcla de la sonda.

El riesgo absoluto de presentar una anomalía citológica nueva tras una infección por VPH con los tipos detectados por la *careHPV Test* no se ha descrito correctamente y se sabe que varía de una población a otra (6).

Si bien la bibliografía científica sugiere que la infección persistente con VPH de alto riesgo es el principal factor de riesgo para el desarrollo de neoplasia cervicouterina de alto grado y cáncer (2, 4, 5, 8, 20-26), la persistencia evidente puede representar una infección continua por un solo tipo de VPH, varios tipos de VPH o reinfección. Independientemente de ello, las mujeres que presentan resultados negativos repetidos en la prueba de Papanicoláu y en el VPH de alto riesgo parecen tener un bajo riesgo de tener o desarrollar lesiones precancerosas en el cuello uterino (5, 20, 27, 28)

Principio del procedimiento

La *careHPV Test* utiliza la misma tecnología Hybrid Capture® 2 desarrollada para la *digene® HC2 High-Risk HPV DNA Test (HC2 Test)* de QIAGEN. La *careHPV Test* es un ensayo de hibridación de ácidos nucleicos con amplificación de la señal que utiliza la detección por quimioluminiscencia en microplaca. Cuando existe material de muestras con ADN del VPH de alto riesgo, el ADN del VPH hibrida el ARN complementario a partir de la mezcla de la sonda. El soporte sólido de micropartículas magnéticas muestra anticuerpos híbridos antiADN:ARN que capturan los híbridos ADN:ARN, lo que permite la separación y la eliminación de material libre no específico. A continuación, se añaden anticuerpos antihíbridos ligados a la fosfatasa alcalina para que detecten y se acoplen a los híbridos capturados. El lavado posterior elimina el conjugado de fosfatasa alcalina libre, lo cual deja la fosfatasa alcalina ligada en proporción a la cantidad del ADN del VPH hibridado. Finalmente, se añade un sustrato quimioluminiscente que se hidroliza mediante la fosfatasa alcalina ligada para producir luz directamente proporcional a la cantidad de fosfatasa alcalina presente, lo cual guarda correlación con la cantidad de ADN del VPH hibridado presente.

Se mide la señal producida por el sustrato hibridado para proporcionar un resultado en unidades de luz relativa (relative light units, RLU) cuantificadas por un luminómetro. Un valor de RLU mayor o igual al valor de corte significa que el material de la muestra contiene suficiente ADN de VPH de alto riesgo para considerarse clínicamente positiva. Un valor de RLU por debajo del valor de corte significa que el material de la muestra contiene ADN de VPH de alto riesgo insuficiente o nulo y se considera clínicamente negativa.

Materiales suministrados

Contenido del kit

<i>care</i> HPV Test Kit		(96)
N.º de catálogo		614015
Número de pruebas*		96
Assay Microplate (microplaca de ensayo)	PLATE	1
Negative Calibrator (calibrador negativo)	CAL -	0,5 ml
Positive Calibrator (calibrador positivo)	CAL +	0,5 ml
Reagent 1 (reactivo 1; pegatina del tapón morada)	REAG 1	3 ml
Indicator Dye (tinte indicador)	INDIC	0,3 ml
Stabilized biologics (productos biológicos estabilizados) (4)		
Reagent 2 (reactivo 2; pegatina del tapón amarilla)	REAG 2	1
Reagent 3 (reactivo 3; pegatina del tapón marrón)	REAG 3	1
Reagent 4 (reactivo 4; pegatina del tapón roja)	REAG 4	1
Reagent 6 (reactivo 6; pegatina del tapón verde)	REAG 6	1
Reconstitution diluents (diluyentes de reconstitución) (4)		
Reagent 2 Diluent (diluyente del reactivo 2; pegatina del tapón amarilla)	REAG 2 DIL	4,5 ml
Reagent 3 Diluent (diluyente del reactivo 3; pegatina del tapón marrón)	REAG 3 DIL	3 ml
Reagent 4 Diluent (diluyente del reactivo 4; pegatina del tapón roja)	REAG 4 DIL	5 ml
Reagent 6 Diluent (diluyente del reactivo 6; pegatina del tapón verde)	REAG 6 DIL	5 ml
Reactivo 5 (pegatina del tapón azul)	REAG 5	250 ml
Reagent 5 Nozzle (boquilla de reactivo 5)	REAG 5 NOZZLE	1

* Tenga en cuenta que los calibradores necesarios para la verificación de la calibración del ensayo deben incluirse en cada realización de la prueba. Para obtener más información, consulte el apartado "Control de calidad" en la página 33.

Materiales requeridos pero no suministrados

Cuando trabaje con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Para obtener más información, consulte las hojas de datos correspondientes sobre seguridad (Safety Data Sheets, SDS), que puede solicitar al proveedor del producto.

- *careHPV Test System* (n.º de catálogo. 9001772), incluye:
 - *careHPV Test Controller*
 - *careHPV Test Luminometer*
 - *careHPV Test Shaker*
 - *careHPV Test Magnetic Plate Holder*
- Gradilla de tubos de material de la muestra en espuma para tubos de 15 mm o 16 mm de diámetro
- Pipeta de volumen fijo de 50 µl*
- Pipeta repetidora con capacidad para dispensar 20 µl, 25 µl y 40 µl†
- Puntas de pipeta repetidora adecuadas para dispensar 20 µl, 25 µl y 40 µl
- Puntas de pipeta con filtro para aerosoles extra largas desechables de 200 µl
- Selladores de placas
- Guantes sin talco
- Toallas de papel
- Microplaca de poliestireno, no tratado, de fondo redondo blanco para 96 pocillos (Corning® Costar®, n.º de producto 3789A)

* Asegúrese de que los instrumentos se hayan verificado y calibrado siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Advertencias y precauciones

Advertencias

Para uso diagnóstico in vitro.

Cuando trabaje con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Si desea obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) correspondientes. Puede obtenerlas en línea en el práctico y compacto formato PDF en www.qiagen.com/safety, donde también podrá encontrar, consultar e imprimir las SDS de todos los kits y componentes de los kits QIAGEN®.

Manipule todas los materiales de muestras y el material eliminado como si pudieran transmitir agentes infecciosos. Los materiales de muestras clínicas deben manipularse en el nivel de bioseguridad (biosafety level, BSL) 2 según se recomienda para cualquier muestra de suero o sangre humanas potencialmente infecciosa (29, 30).

Limpie y desinfecte todos los derramamientos de materiales de muestras con un desinfectante adecuado, de acuerdo con las normativas nacionales y locales. Consulte también el capítulo sobre desinfección y esterilización del Manual de bioseguridad en el laboratorio de la Organización Mundial de la Salud (31).

Descontamine y deseche todos los materiales de muestras, todos los reactivos y todos los demás materiales potencialmente contaminados conforme a la normativa nacional y local.

Frases sobre seguridad y riesgo en relación con los componentes

Las siguientes indicaciones de riesgo y advertencia hacen referencia a los componentes del careHPV Test Kit en forma seca o reconstituida.

Negative Calibrator (calibrador negativo)

Contiene: nonilfenol etoxilado al 1 %. ¡Advertencia! Causa irritación leve de la piel. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Positive Calibrator (calibrador positivo)

Contiene: nonilfenol etoxilado al 1 %. ¡Advertencia! Causa irritación leve de la piel. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Reactivo 1



Contiene: hidróxido de sodio. ¡Peligro! Puede ser corrosivo para los metales. Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. 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. Llámese inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico.

Reactivo 2



Contiene:

ácido 2-[bis-(hidroxietil)-2-amino]etano sulfónico 2.2M; ácido poliacrílico al 2,6 %; hidróxido de sodio 0.7M. ¡Peligro! Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares. Puede irritar las vías respiratorias. Elimínense el contenido y el recipiente en un centro autorizado para la eliminación de residuos. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. 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. Llámese inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico.

Reactivo 3

Contiene: nonilfenol etoxilado al 0,4 %; azida sódica al 0,04 %. ¡Advertencia! Puede ser nocivo por ingestión. Causa irritación leve de la piel. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos a largo plazo. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Reactivo 4

Contiene: azida sódica al 0,04 %. ¡Advertencia! Puede ser nocivo por ingestión. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Reactivo 6

Contiene: 2-amino-2-metil-1-propanol 0.1M. ¡Advertencia! Causa irritación leve de la piel. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Precauciones

El usuario debe seguir siempre las siguientes precauciones al utilizar la *careHPV Test*:

- Los componentes de este kit de prueba se han probado como una unidad y no deben intercambiarse con componentes de otras fuentes o de kits de pruebas diferentes.
- Los ácidos nucleicos son muy sensibles a la degradación por las nucleasas ambientales. Las nucleasas están presentes en la piel humana y en superficies y materiales manipulados por el ser humano. Las superficies de trabajo deben estar limpias y cubiertas con almohadillas desechables; los técnicos deben usar guantes sin talco al realizar todos los pasos de la prueba.
- Evite la contaminación de la microplaca de ensayo y del reactivo 6 (pegatina del tapón verde) con fosfatasa alcalina exógena. Las sustancias que pueden contener fosfatasa alcalina son, entre otras, el reactivo 4 (pegatina del tapón roja), bacterias, la saliva, el pelo y la grasa de la piel. Es especialmente importante cubrir la microplaca después de agregar el reactivo 5 y durante la incubación con el reactivo 6, debido a que la fosfatasa alcalina exógena puede reaccionar con el reactivo 6 y producir resultados positivos falsos.
- Los reactivos 1, 2, 3, 4 y 6 deben prepararse antes de iniciar la prueba y utilizarse dentro de un período máximo de 8 horas a partir de la preparación si se almacenan a una temperatura entre 15 °C y 30 °C. Los reactivos preparados pueden almacenarse durante 30 días a una temperatura entre 2 °C y 8 °C para una segunda prueba. Para la segunda prueba, se debe utilizar una placa nueva, tal como se indica específicamente en la sección "Materiales requeridos pero no suministrados". Si no se siguen las recomendaciones indicadas arriba, el resultado puede ser no válido. Si el ensayo no es válido, la prueba debe repetirse con un nuevo kit.

-
- Los volúmenes de reactivo indicados deben dispensarse con precisión. De lo contrario, los resultados de la prueba podrían ser erróneos. Comprobar que tienen lugar los cambios de color señalados ayudará a confirmar que se han dispensado los volúmenes necesarios.
 - Al utilizar la pipeta repetidora, el usuario debe realizar varias dispensaciones en un depósito de residuos para eliminar de la punta cualquier burbuja de aire que pudiera contener y asegurar una dispensación precisa.
 - La Hoja de trabajo para el registro de datos de la prueba (consulte “Apéndice: Hoja de registro de datos de la prueba”, en la página 56) indica las ubicaciones necesarias de los pocillos en la microplaca para el calibrador negativo (pocillos A1, B1, C1 de la microplaca), calibrador positivo (pocillos D1, E1, F1 de la microplaca) y materiales de muestras clínicas (pocillo G1 de la microplaca y todos los pocillos posteriores de la microplaca).
 - Al utilizar la *careHPV Test*, consulte los manuales del usuario del *careHPV Test System* para ver las instrucciones y la resolución de problemas del instrumento.

Almacenamiento y manipulación de los reactivos

Al recibir el *careHPV* Test Kit, almacénelo a una temperatura entre 4 °C y 25 °C. No utilice el *careHPV* Test Kit después de la fecha de caducidad que figura en la etiqueta del kit.

Almacene los reactivos preparados a una temperatura entre 15 °C y 30 °C durante un máximo de 8 horas o hasta 30 días, cuando se almacena a una temperatura entre 2 °C y 8 °C. Elimine el kit y todos los reactivos preparados si no se utilizan para una prueba dentro de un período máximo de 8 horas cuando se almacenan a una temperatura entre 15 °C y 30 °C, o después de 30 días cuando se almacenan a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.

Para la segunda prueba con los reactivos del kit, se debe utilizar una placa nueva, tal como se indica específicamente en la sección “Materiales requeridos pero no suministrados”. Consulte esa sección para obtener la información sobre pedidos.

Manipulación y almacenamiento de material de muestras

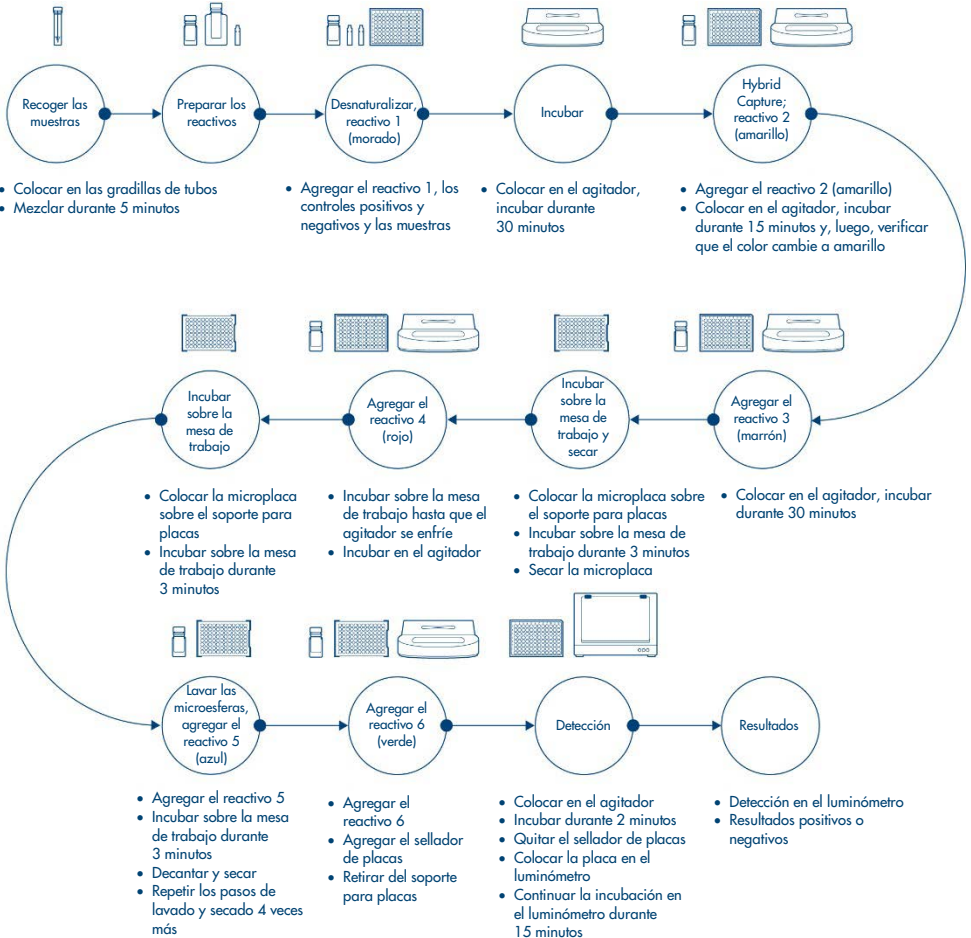
Utilice solamente material de muestras recogidas en *careHPV* Collection Medium con un *careBrush*. Consulte las instrucciones de uso del *careBrush* para ver información adicional sobre la recolección.

Consulte las instrucciones de uso del *careBrush* correspondiente para ver información adicional sobre la recogida de material de muestras en relación con las muestras recogidas por un médico o por el paciente.

Almacene los materiales de muestras clínicas en *careHPV* Collection Medium a una temperatura entre 15 °C y 30 °C durante un máximo de 14 días, o a una temperatura entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 35 días.

Procedimiento

Flujo de trabajo del careHPV Test System



Preparación de material de muestras

1. Registre la siguiente información en la "Hoja de trabajo para el registro de datos de la prueba" (consulte "Apéndice: Hoja de registro de datos de la prueba" en la página 56):

- Lugar de la prueba
- Fecha de la prueba
- ID del operador
- Temperatura ambiente
- Número de lote del *careHPV* Test Kit

2. Coloque los tubos de material de muestras clínicas en las gradillas de tubos de material de muestras en espuma.

En la Hoja de trabajo para el registro de datos de la prueba, complete el mapa de la placa registrando en las ubicaciones correspondientes de los pocillos en la microplaca los ID de todos los materiales de muestras que se van a analizar (pocillo G1 de la microplaca y todos los pocillos posteriores de la microplaca).

Nota: Los calibradores no se colocan en la gradilla de tubos de material de muestras.

3. Asegúrese de que los tapones de los tubos de los materiales de muestra estén correctamente cerrados.

4. Mezcle los materiales de muestras de la siguiente manera:

Invierta la gradilla de tubos de materiales de muestra 180 grados y agite energícamente una vez, de forma rápida, en la posición invertida.

Rápidamente, vuelva a colocar la gradilla en posición vertical y agite energícamente una vez, de forma rápida, en la posición vertical.

Repita este paso de mezclado continuamente durante 5 minutos.

Inicio del sistema *careHPV* Test

El sistema *careHPV* Test requiere aproximadamente 15 segundos tras el encendido para mostrar la pantalla "Startup" (Inicio).

1. Toque el icono "*careHPV*" en el *careHPV* Test Controller para iniciar la *careHPV* Test.
El *careHPV* Test Controller muestra los 7 pasos que se realizarán de la *careHPV* Test.
2. Registre el número de análisis de la microplaca en la Hoja de trabajo para el registro de datos de la prueba.
3. Espere a que el *careHPV* Test Shaker se caliente hasta alcanzar la temperatura necesaria para la realización de la prueba.
El *careHPV* Test System requiere aproximadamente 13-15 minutos para alcanzar la temperatura necesaria.

Preparación de los reactivos

Reconstituya los reactivos de la *careHPV* Test tal como se describe a continuación. Utilice los reactivos preparados dentro de un período máximo de 8 horas a partir de la preparación cuando se almacenan a una temperatura de entre 15 °C y 30 °C, o hasta 30 días cuando se almacenan a una temperatura entre 2 °C y 8 °C. De lo contrario, el resultado del ensayo puede no ser válido.

Cuestiones importantes antes de comenzar

- El tinte indicador no tiene un número en el frasco, se empareja con el reactivo 1.
- Los recipientes de los productos biológicos estabilizados y los diluyentes están codificados con color para facilitar el uso.
- Debido a la pequeña cantidad de material en el vial, el reactivo 4 para productos biológicos estabilizados puede no ser visible.

Nota: No intercambie los tapones del frasco de diluyente y del vial de los productos biológicos estabilizados una vez que los reactivos están reconstituidos

Antes de comenzar

- Para reducir los posibles errores, alinee los productos biológicos estabilizados en orden con los frascos de diluyente que tienen los mismos números.
 - Golpee suavemente los frascos de productos biológicos estabilizados contra la mesa de trabajo antes de abrirlos.
1. Añada 1 gota de tinte indicador al frasco de reactivo 1 (pegatina del tapón morada). Tape el frasco de reactivo 1 e inviértalo 10 veces para mezclar bien el reactivo.
El color del reactivo cambia de transparente a morado.

2. Añada el contenido del frasco de diluyente del reactivo 2 (pegatina del tapón amarilla) al frasco de reactivo 2 (pegatina del tapón amarilla). Tape el frasco de reactivo 2 e inviértalo 10 veces para mezclar bien el reactivo.

Nota: Mezcle con suavidad para evitar la formación de espuma.

3. Añada el contenido del frasco de diluyente del reactivo 3 (pegatina del tapón marrón) al frasco de reactivo 3 (pegatina del tapón marrón). Tape el frasco de reactivo 3 e inviértalo 10 veces para resuspender bien el reactivo.
4. Añada el contenido del frasco de diluyente del reactivo 4 (pegatina del tapón roja) al frasco de reactivo 4 (pegatina del tapón roja). Tape el frasco de reactivo 4 e inviértalo 10 veces para resuspender bien el reactivo.

Nota: El contenido del frasco de reactivo 4 puede no ser visible.

5. Añada el contenido del frasco de diluyente del reactivo 6 (pegatina del tapón verde) al frasco de reactivo 6 (pegatina del tapón verde). Tape el frasco de reactivo 6 e inviértalo 10 veces para resuspender bien el reactivo.

Nota: El reactivo 6 es fotosensible. El reactivo 6 está dentro de un frasco color marrón para protegerlo de la luz directa del sol.

6. Destape el frasco de reactivo 5 (pegatina del tapón azul).
7. Abra el envase que contiene la boquilla de reactivo 5.
8. Retire la boquilla de reactivo 5 del envase y acóplela al frasco de reactivo 5.
No coloque la boquilla de reactivo 5 sobre la mesa de trabajo; retírela directamente de la bolsa sellada y acóplela al frasco.

Protocolo 1: Preparación de la microplaca e incubación durante 30 minutos

Antes de comenzar

- Limpie y cubra la superficie de trabajo con almohadillas desechables y use guantes sin talco al realizar todos los pasos de la prueba.
 - Complete la Hoja de trabajo para el registro de datos de la prueba (“Apéndice: Hoja de registro de datos de la prueba”, en la página 56) registrando los ID de los calibradores que se van a pipetear en las ubicaciones necesarias de los pocillos en la microplaca; tenga en cuenta la ubicación necesaria para el calibrador negativo (pocillos A1, B1, C1 de la microplaca) y el calibrador positivo (pocillos D1, E1, F1 de la microplaca).
 - Confirme que el lugar de la prueba, la fecha de la prueba, el ID de usuario, la temperatura de la sala, el lote del careHPV Test Kit, el número de análisis de la microplaca y las ubicaciones de los pocillos en la microplaca de todos los ID de materiales de muestras clínicas que se van a pipetear se hayan registrado según se describe en “Preparación de material de muestras” en la página 18.
1. Con la pipeta repetidora y una nueva punta, añada 25 µl del reactivo 1 (pegatina del tapón morada) a cada pocillo de la microplaca.
 2. Con la pipeta de volumen fijo de 50 µl y una punta de pipeta nueva y limpia para cada calibrador o material de muestra, agregue los volúmenes indicados a los pocillos especificados de la microplaca, de la siguiente manera:
 - Dispense 50 µl de calibrador negativo en los pocillos A1, B1 y C1 de la microplaca.
 - Dispense 50 µl de calibrador positivo en los pocillos D1, E1 y F1 de la microplaca.
 - De conformidad con la Hoja de trabajo para el registro de datos de la prueba, dispense 50 µl de cada material de muestra en el fondo del resto de los pocillos de la microplaca, comenzado por el pocillo G1 de la microplaca. Registre en la Hoja de trabajo para el registro de datos de la prueba cualquier material de muestra que tenga un color oscuro.

Importante: Podrían producirse resultados positivos falsos de la prueba debido a la contaminación de la *careHPV Test* con híbridos de ARN-ADN inespecíficos endógenos de los materiales de muestras cervicouterinas. Es importante que durante la transferencia del material de muestra al pocillo de la microplaca que dicho material se coloque directamente en el fondo del pocillo de la microplaca sin que la punta de la pipeta toque los laterales del pocillo de la microplaca.

Importante: Los materiales de muestras que contienen sangre u otro material biológico que tienen un color oscuro podrían no afectar el resultado de la prueba, pero podrían no producir el cambio de color correcto tras la adición del reactivo 2. Registre en la Hoja de trabajo para el registro de datos de la prueba las muestras que tengan un color oscuro.

3. Aplique un nuevo sellador de placas y cubra correctamente la microplaca, como se describe en el procedimiento siguiente:
 - a. Quite el papel del sellador de placas.
 - b. Coloque el sellador de placas sobre la microplaca, asegurándose de cubrir todos los pocillos de la microplaca.
 - c. Presione el sellador de placas sobre la microplaca y desprenda la pestaña que se encuentra a cada lado del sellador de placas.
4. Confirme que el *careHPV Test Shaker* esté a la temperatura adecuada para iniciar la prueba.
5. Cuando se le indique, abra la tapa del *careHPV Test Shaker* y coloque la microplaca en el *careHPV Test Shaker* con el pocillo A1 de la microplaca orientado en la esquina superior izquierda. Cierre la tapa.
6. Toque el icono "1" del *careHPV Test Controller* para iniciar la incubación de 30 minutos.
7. Continúe en "Protocolo 2: Adición del reactivo 2 e incubación durante 15 minutos", a partir de la página 23.

Protocolo 2: Adición del reactivo 2 e incubación durante 15 minutos

1. Cuando lo indique el *careHPV Test Controller*, retire la microplaca del *careHPV Test Shaker* y colóquela sobre la mesa de trabajo.
2. Retire con cuidado el sellador de placas para evitar las salpicaduras y la contaminación cruzada entre los pocillos de la microplaca; deseche el sellador de placas.
3. Rápidamente, inserte nuevamente la microplaca en el *careHPV Test Shaker*.
4. Gire el frasco del reactivo 2 (pegatina del tapón amarillo) para mezclarlo y, mediante la pipeta repetidora y una nueva punta, añada 40 µl del reactivo 2 a cada pocillo de la microplaca.
5. Aplique un nuevo sellador de placas y cubra correctamente la microplaca, como se describe anteriormente en la página 22, mientras la microplaca se encuentra en el *careHPV Test Shaker*.
6. Cierre la tapa del *careHPV Test Shaker*.
7. Toque el icono "2" del *careHPV Test Controller* para iniciar una incubación de 15 minutos.
8. Continúe en "Protocolo 3: Adición del reactivo 3 e incubación durante 30 minutos", a partir de la página 24.

Protocolo 3: Adición del reactivo 3 e incubación durante 30 minutos

1. Cuando lo indique el *careHPV Test Controller*, retire la microplaca del *careHPV Test Shaker* y colóquela sobre la mesa de trabajo. Deje abierta la tapa del *careHPV Test Shaker*.
2. Asegúrese de que el color de cada muestra haya cambiado de morado a amarillo. Registre con cuidado en la Hoja de trabajo para el registro de datos de la prueba cualquier muestra que no haya cambiado de color.

Nota: Los materiales de muestras que contienen sangre u otro material biológico podrían no producir el cambio de color correcto; estos materiales de muestras se registraron como de color oscuro en la Hoja de trabajo para el registro de datos de la prueba en el Protocolo 1. Este color oscuro no afectará a los resultados de la prueba y el usuario debe continuar con la prueba de dichos materiales.

Cualquier pocillo de la microplaca en el que no se haya anotado como material de muestra oscuro, pero que no se torne amarillo, producirá resultados no válidos y debe eliminarse de la interpretación del resultado. Repita las pruebas en estos materiales de muestras. Anote los materiales de muestras que deben volver a analizarse y regístrelos en la Hoja de trabajo para el registro de datos de la prueba.

3. Retire con cuidado y deseche el sellador de placas.
4. Rápidamente, inserte nuevamente la microplaca en el *careHPV Test Shaker*. Gire el frasco del reactivo 3 (pegatina del tapón verde) para mezclarlo y, mediante la pipeta repetidora y una nueva punta, añada 20 µl del reactivo 3 a cada pocillo de la microplaca.
5. Aplique un nuevo sellador de placas y cubra firmemente la microplaca, como se describe anteriormente en la página 22. Cierre la tapa del *careHPV Test Shaker*.
6. Toque el icono “3” del *careHPV Test Controller* para iniciar una incubación de 30 minutos.
7. Cuando lo indique el *careHPV Test Controller*, retire la microplaca del *careHPV Test Shaker*. Deje abierta la tapa del *careHPV Test Shaker*.

Mantenga la microplaca en posición horizontal y estable para evitar salpicaduras entre los pocillos de la microplaca.

8. Fije con cuidado la microplaca en el *careHPV Test Magnetic Plate Holder*.

-
9. Deje el *careHPV Test Magnetic Plate Holder* que contiene la microplaca sobre la mesa de trabajo. Retire con cuidado y deseche el sellador de placas.
 10. Toque el icono "3" del *careHPV Test Controller* para iniciar una incubación de 3 minutos.
Nota: Esta incubación se produce sobre la mesa de trabajo y el *careHPV Test Controller* realiza una cuenta regresiva del tiempo de incubación.
 11. Continúe en "Protocolo 4: Adición e incubación del reactivo 4", a partir de la página 26.

Protocolo 4: Adición e incubación del reactivo 4

Importante: Asegúrese de que la incubación de 3 minutos del Protocolo 3 haya finalizado antes de iniciar este procedimiento.

1. Decante y seque la microplaca, de la siguiente manera:
 - a. Tome firmemente la parte inferior del *careHPV Test Magnetic Plate Holder* y los lados de la microplaca con una mano (la microplaca está orientada hacia arriba).
 - b. Invierta el *careHPV Test Magnetic Plate Holder* (180 grados) sobre un recipiente de desechos y decante el líquido de la microplaca una vez con fuerza.
 - c. Mientras sostiene el *careHPV Test Magnetic Plate Holder* en esta posición invertida (con la microplaca hacia abajo), colóquelo sobre una toalla de papel absorbente de secado limpia y seque la microplaca.
 - d. Vuelva a colocar el *careHPV Test Magnetic Plate Holder* en la mesa de trabajo con la microplaca orientada hacia arriba.
2. Gire el frasco de reactivo 4 (pegatina del tapón roja) para mezclar. Con la pipeta repetidora y una nueva punta, añada 40 µl a cada pocillo de la microplaca.
La microplaca permanece en el *careHPV Test Magnetic Plate Holder*.
3. Aplique un nuevo sellador de placas y cubra firmemente la microplaca, como se describe anteriormente en la página 22.
4. Retire con cuidado la microplaca del *careHPV Test Magnetic Plate Holder* para evitar salpicaduras y coloque la microplaca en la mesa de trabajo.
5. Toque el icono "4" del *careHPV Test Controller* para iniciar la incubación sobre la mesa de trabajo.

Nota: Esta incubación se inicia con la microplaca sobre la mesa de trabajo para permitir que el *careHPV Test Shaker* se enfríe. La tapa del *careHPV Test Shaker* debe permanecer abierta para ayudar a que este se enfríe. El resto de la incubación se realiza con la microplaca en el *careHPV Test Shaker*.

-
6. Cuando lo indique el *careHPV Test Controller* , coloque la microplaca en el *careHPV Test Shaker* y cierre la tapa para el resto de la incubación.
 7. Cuando lo indique el *careHPV Test Controller* , retire la microplaca del *careHPV Test Shaker* y fíjela sobre el *careHPV Test Magnetic Plate Holder*.
 8. Retire con cuidado y deseche el sellador de placas.
 9. Toque el icono "4" del *careHPV Test Controller* para iniciar una incubación de 3 minutos.
Nota: Esta incubación se produce sobre la mesa de trabajo.
 10. Continúe en "Protocolo 5: Adición del reactivo 5 y lavado de la microplaca", a partir de la página 28.

Protocolo 5: Adición del reactivo 5 y lavado de la microplaca

Cuestiones importantes antes de comenzar

- Para evitar burbujas y contaminación cruzada durante el lavado, dispense las burbujas del reactivo 5 en un depósito de residuos y, a continuación, se debe mover directamente para llenar la microplaca sin detener el flujo del reactivo 5.
 - Al lavar la microplaca, llene cada pocillo de la microplaca hasta el máximo sin que rebose.
1. Cuando lo indique el *careHPV Test Controller*, decante y seque la microplaca, como se describe anteriormente en la página 26.
 2. Vuelva a colocar el *careHPV Test Magnetic Plate Holder* en la mesa de trabajo con la microplaca orientada hacia arriba.
 3. Lave la microplaca llenando suavemente cada pocillo de la microplaca con reactivo 5 (pegatina del tapón azul).
 4. Toque el icono "5" del *careHPV Test Controller* para iniciar una incubación de 3 minutos.

Notas:

- El icono "5" tendrá un halo azul parpadeante hasta que se toque el icono "5" para iniciar la incubación de 3 minutos. El *careHPV Test Controller* iniciará una cuenta atrás hasta la finalización de la incubación.
 - Al tocar el icono "5", una gota azul con un número negro en el interior aparecerá en la pantalla del *careHPV Test Controller*.
5. Al final de la incubación, decante y seque la microplaca, como se describe anteriormente en la página 26.
Nota: El icono "5" tendrá un halo azul parpadeante al final de la incubación.
 6. El *careHPV Test Controller* avisará 4 veces más. Cada vez que el *careHPV Test Controller* avise, repita el lavado de la microplaca (pasos 3-5 de este protocolo), hasta un total de 5 lavados.
Nota: Al tocar el icono "5", se inicia la incubación de 3 minutos; asegúrese de añadir el reactivo 5 a los pocillos de la microplaca antes de tocar el icono "5".

-
7. Deje la microplaca en el *careHPV Test Magnetic Plate Holder*.
 8. Continúe en “Protocolo 6: Adición e incubación del reactivo 6”, a partir de la página 30.

Protocolo 6: Adición e incubación del reactivo 6

1. Cuando lo indique el *careHPV Test Controller*, gire el frasco del reactivo 6 (pegatina del tapón verde) para mezclarlo y, mediante la pipeta repetidora y una nueva punta, añada 40 µl del reactivo 6 a cada pocillo de la microplaca.
2. Aplique un nuevo sellador de placas y cubra firmemente la microplaca, como se describe anteriormente en la página 22.
3. Retire con cuidado la microplaca del *careHPV Test Magnetic Plate Holder*; coloque la microplaca cubierta en el *careHPV Test Shaker* y cierre la tapa.
4. Toque el icono "6" del *careHPV Test Controller* para iniciar una incubación de 15 minutos.
5. Cuando lo indique el *careHPV Test Controller* (después de 2 minutos), retire la microplaca del *careHPV Test Shaker*.
6. Retire con cuidado y deseche el sellador de placas.
7. Cuando se le indique, abra la tapa del *careHPV Test Luminometer* y levante la cubierta de la microplaca.
8. Coloque la microplaca en el *careHPV Test Luminometer* con la microplaca orientada con el pocillo de la microplaca A1 en la esquina superior derecha. Cierre la cubierta de la microplaca.
9. Cierre la tapa del *careHPV Test Luminometer* para finalizar la incubación.

Notas:

- La incubación continuará con el tiempo de incubación en cuenta atrás y mostrando un icono "6" activo.
 - Al final de la incubación, el sistema *careHPV Test* procede inmediatamente al Protocolo 7 de la prueba sin la intervención del usuario. El *careHPV Test Luminometer* inicia la medición de la microplaca. La pantalla mostrará un icono "7" activo mientras se mide la microplaca.
 - La duración de la medición de la microplaca es aproximadamente de 3 minutos. Una vez que se haya medido la microplaca, se mostrará la pantalla "Results" (Resultados).
10. Continúe en "Interpretación de los resultados" en la página 31.

Interpretación de los resultados

El sistema *careHPV Test* interpreta automáticamente los resultados de los materiales de muestras. Los materiales de muestras con un cociente de RLU a CO (RLU/CO) $\geq 1,0$ se consideran positivos y los materiales de muestras con un RLU/CO $< 1,0$ se consideran negativos o no detectados. Los resultados se muestran gráficamente en la pantalla del *careHPV Test Controller*.

Cuando el *careHPV Test Controller* muestre la pantalla "Results" (Resultados) con los resultados de la prueba, transcriba el resultado que se muestra para cada pocillo de la microplaca en la Hoja de registro de datos de la prueba.

Los resultados de la prueba se indican de la siguiente forma:

- Los pocillos de la microplaca **verdes** indican materiales de muestras con un resultado de la prueba negativo (es decir, ADN del VPH de alto riesgo no detectado).

Nota: Los pocillos de la microplaca **verdes** también indican resultados aceptables de los calibradores negativos y positivos.

- Los pocillos de la microplaca **amarillos** (que muestran un "+") indican materiales de muestras con un resultado de la prueba positivo (es decir, ADN del VPH de alto riesgo detectado).
- Los pocillos de la microplaca **grises** con un círculo rojo grande con una barra inclinada en el centro de la placa indican un ensayo no válido (por ejemplo, debido a un error de los calibradores).

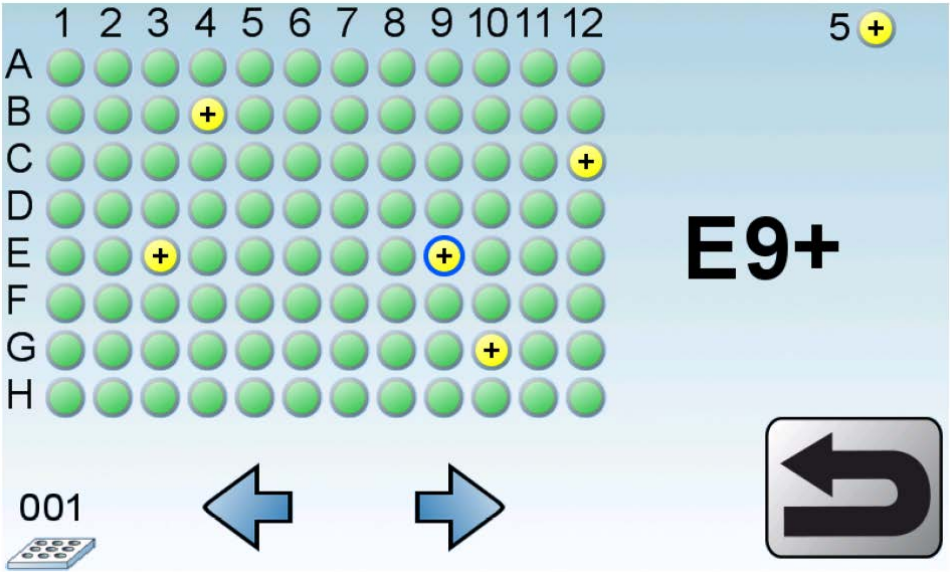


Figura 1. Ejemplo de resultados de muestras que aparecen en el careHPV Test Controller.

Control de calidad

En cumplimiento del sistema de gestión de calidad con certificación ISO de QIAGEN, cada lote del careHPV Test Kit se analiza en relación con las especificaciones predeterminadas para garantizar una calidad homogénea del producto. Se han establecido intervalos aceptables únicamente para el sistema careHPV Test.

El careHPV Test Controller realiza la verificación de la calibración del ensayo para garantizar que los reactivos y los materiales de los calibradores suministrados funcionan correctamente, permitiendo así una determinación exacta del resultado de la prueba. La verificación de la calibración del ensayo consiste en lo siguiente:

- El calibrador negativo se analiza por triplicado con cada prueba. El valor medio del calibrador negativo ($NC\bar{x}$, Negative Calibrator mean) debe ser ≥ 10 y ≤ 750 RLU, y el coeficiente de variación (CV) resultante debe ser ≤ 25 % para que el ensayo sea válido.
- El calibrador positivo se analiza por triplicado con cada prueba. El CV resultante debe ser ≤ 25 % para que el ensayo sea válido.
- El valor medio del calibrador positivo ($PC\bar{x}$, Positive Calibrator mean) y los resultados del $NC\bar{x}$ se utilizan para calcular el cociente $PC\bar{x} / NC\bar{x}$. El cociente debe ser $\geq 2,0$ y $\leq 15,0$ para que el ensayo sea válido.

El sistema careHPV Test completará el cálculo de los 3 estándares del control de calidad anteriores. Cuando se cumplen los estándares anteriores, los resultados de la prueba son válidos y el careHPV Test Controller muestra la pantalla "Results" (Resultados). Cuando no se cumplen los estándares anteriores, los resultados de la prueba no son válidos y el careHPV Test Controller muestra la pantalla "Invalid" (No válido).

Limitaciones

- Consulte el manual del usuario del sistema *careHPV Test* si desea ver otras limitaciones específicas del uso de ese sistema.
- La detección del VPH con la *careHPV Test* no distingue los tipos del VPH o la infección por más de un tipo y no puede evaluar la persistencia de ningún tipo.
- La sensibilidad analítica del VPH 45 y del VPH 52 es más baja en comparación con los demás genotipos analizados en la *careHPV Test*.
- La infección por VPH no es un indicador de cambios citológicos o NIC 2/3+ subyacente, ni implica que se desarrolle NIC 2/3+ o cáncer. La mayoría de las mujeres infectadas por uno o varios tipos de VPH de alto riesgo no desarrollan NIC 2/3+ ni cáncer.
- La *careHPV Test* no detecta los tipos de VPH de bajo riesgo (6, 11, 42, 43, 44 y muchos otros tipos de bajo riesgo).
- Existe un pequeño grado de hibridación cruzada entre los tipos 6 y 42 del VPH (tipos de VPH de bajo riesgo) y la *careHPV Test*. Los materiales de muestras con niveles elevados (≥ 2 ng/ml) de ADN de VPH 6 o VPH 42 pueden ser positivos.
- Existen informes en la bibliografía de que una mezcla de sonda compleja, similar a la utilizada en esta prueba, puede causar resultados positivos falsos debido a hibridación cruzada con los tipos del VPH 11, 53, 54, 55, MM4, MM7, MM8 o MM9 (32). Aunque varios de estos tipos de VPH son raros o son tipos nuevos que no se encuentran con frecuencia en la enfermedad de grado alto, los materiales de muestras que contienen niveles altos de estos tipos de ADN del VPH pueden ser notificados incorrectamente como positivos con la *careHPV Test* (10, 33).
- Es posible la reactividad cruzada entre la *careHPV Test* y el plásmido pBR322. Se ha descrito la presencia de secuencias homólogas al pBR322 en materiales de muestras genitales humanos, y podrían obtenerse resultados positivos falsos en presencia de niveles altos de plásmidos bacterianos.

-
- Un resultado negativo no descarta la posibilidad de infección por el VPH. La infección por VPH puede existir por debajo del límite de detección de la prueba, o los errores de muestreo durante la recogida de los materiales de muestras pueden causar un resultado negativo falso de la prueba.
 - Un resultado negativo del VPH de alto riesgo no descarta la posibilidad de futuras anomalías citológicas o NIC 2/3+ subyacente o cáncer. Una pequeña proporción de lesiones de alto grado tienen lugar en mujeres con resultados negativos del VPH de alto riesgo por medio de las tecnologías existentes (6).
 - Si hay presentes cremas antifúngicas en el momento de obtener un material de muestra recogida para el análisis del VPH, existe la posibilidad de obtener un resultado positivo falso.
 - Si hay presentes concentraciones altas de sangre, geles anticonceptivos o productos para ducha vaginal en el momento de obtener un material de muestra recogida para el análisis del VPH, existe la posibilidad de obtener un resultado negativo falso si este material de muestra contiene una concentración de ADN del VPH próxima al valor de corte.

Características de rendimiento

Rendimiento clínico del uso de la *careHPV* Test en el cribado del cáncer de cuello uterino y las lesiones precancerosas.

Se ha llevado a cabo un estudio clínico multicéntrico en el que se utilizó la *careHPV* Test en Cancer Institute and Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences (CICAMS), Sun Yat-Sen University Cancer Center y Nanjing Drum Tower Hospital en China. Los materiales de muestras cervicouterinas se recogieron mediante el *careBrush* y el *careHPV* Collection Medium a partir de mujeres (de 30-59 años) en un cribado poblacional general y una clínica ambulatoria. En este estudio, se inscribió a un total de 1279 mujeres, lo cual representa una distribución relativamente equitativa a través de los 3 hospitales; 1241 participantes completaron el estudio. En los 3 centros del estudio se recogieron materiales de muestras de aproximadamente 147 pacientes diagnosticadas con cáncer de cuello uterino o lesiones precancerosas (NIC 2/3+), 162 pacientes con lesiones benignas (inflamación/neoplasia intraepitelial cervicouterina leve, NIC 1), y 932 casos de control normal.

También se realizó una tinción de ácido acético para llevar a cabo el examen visual (Visual Examination, VIA). La citología en medio líquido se realizó en cada hospital, y los resultados se registraron mediante la clasificación de Bethesda. La *careHPV* Test, la HC2 Test y las pruebas de PCR se llevaron a cabo para cada material de muestra de las pacientes. Todas las pruebas de *careHPV* se llevaron a cabo a temperatura ambiente (15-30 °C)*. Los resultados de las pruebas se compararon con el estado de la enfermedad de cada paciente. El estado de la enfermedad se basó en los resultados del examen histológico. Las mujeres con un resultado positivo de la HC2 Test o del VIA volvieron al centro para la realización de una colposcopia y una biopsia. Se compararon los resultados de la prueba con el estado de la enfermedad para evaluar la sensibilidad clínica, la especificidad clínica, así como los valores pronósticos negativo y positivo de la prueba para detectar una neoplasia cervicouterina de alto grado (consulte la tabla 1, a continuación).

* Los datos clínicos adicionales para las pruebas *careHPV* realizadas en Hyderabad (India) muestran un rendimiento del ensayo válido a temperaturas de hasta 36,6 °C con una humedad relativa máxima del 75 % para temperaturas de hasta 31 °C, disminuyendo linealmente al 27 % a 36,6 °C.

Tabla 1. Características de rendimiento de la careHPV Test en un cribado poblacional general

careHPV Test	Diagnóstico patológico		Total
	Positivo (NIC 2/3+)	Negativo (<NIC 2)	
Positivo	129	160	289
Negativo	18	934	952
Total	147	1094	1241

Donde:

- Sensibilidad $[PV/(PV+NF)] = 87,76 \% (129/147)$; IC del 95 % = 81,69-92,34 %
- Especificidad $[NV/(NV+PF)] = 85,37 \% (934/1094)$; IC del 95 % = 83,19-87,38 %
- Valor pronóstico positivo = 44,64 % (129/289)
- Valor pronóstico negativo = 98,11 % (934/952)

La prevalencia de la infección por el VPH en una población puede afectar al valor pronóstico positivo, ya que los valores disminuyen cuando se analizan poblaciones con una prevalencia baja o personas sin riesgo de infección.

La tasa de positividad de la careHPV Test y de la HC2 Test fue del 23,29 % (289/1241) y del 25,06 % (311/1241), respectivamente. La HC2 Test y la careHPV Test detectan los mismos tipos del VPH 13, mientras que la careHPV Test detecta también el VPH de tipo 66. No cabría esperar que esta diferencia produjera perfiles de rendimiento significativamente diferentes para las 2 pruebas.

La concordancia entre la careHPV Test y la HC2 Test fue del 93,71 %, como se muestra en la tabla 2, a continuación.

Tabla 2. Comparación de la careHPV Test frente a la digene HC2 High-Risk HPV DNA Test

careHPV Test	digene HC2 High-Risk HPV DNA Test		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	261	28	289
Negativo	50	902	952
Total	311	930	1241

Kappa = 0,829 (P <0,0001)

Tasa coherente = 1163/1241 = 93,71 % (IC del 95 % = 92,26 %-94,97 %)

La concordancia entre la careHPV Test frente a la detección del VPH basada en la PCR fue del 90,89 %, como se muestra en la tabla 3, a continuación. Se amplificó el ácido nucleico del VPH mediante un kit de detección fluorescente basada en la PCR [Ganglong Biotechnology (Shenzhen) Co., Ltd].

Tabla 3. Comparación de la careHPV Test frente a la detección del VPH basada en la PCR

careHPV Test	Detección del VPH basada en la PCR		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	263	26	289
Negativo	87	865	952
Total	359	891	1241

Kappa = 0,763 (P <0,0001)

Tasa coherente = 1128/1241 = 90,89 % (IC del 95 % = 89,20 %-92,40 %)

Rendimiento de la obtención por la propia paciente

En la bibliografía citada en nuestra revisión del rendimiento de la careHPV Test en materiales de muestras vaginales recogidas por la propia paciente, se inscribieron más de 27 000 mujeres con edades comprendidas entre 25-60 años. Entre las cohortes del estudio se incluyeron mujeres procedentes de China (34, 35), India (36), Nicaragua (36) y Uganda (36). Los diseños del estudio variaron ligeramente, pero, en general, las mujeres con un resultado de la prueba positivo se sometieron a un examen adicional mediante colposcopia, y los resultados se notificaron en términos de sensibilidad y especificidad frente al método comparativo.

En los estudios que comparaban los materiales de muestras recogidas por la propia paciente frente a los materiales de muestras recogidas por el médico, los resultados indicaron una disminución de la sensibilidad pero similar para NIC 2+ (34-36), del 70-83 % para los materiales de muestras recogidas por la propia paciente frente al 82-96 % para los materiales de muestras recogidas por el médico. Los resultados de especificidad fueron similares para NIC 2+ para ambos métodos (34-36), del 87-91 % para los materiales de muestras recogidas por la propia paciente frente al 83-92 % para los materiales de muestras recogidas por el médico.

Condiciones de las pruebas del rendimiento analítico

Los estudios de sensibilidad analítica, reactividad cruzada y sustancias interferentes se realizaron a temperatura ambiente (15-30 °C) en un entorno de laboratorio controlado. Las pruebas analíticas adicionales se realizaron en una cámara ambiental, mostrando un rendimiento válido de las pruebas a 15-40 °C y una humedad relativa del 15-75 % (sin condensación); humedad relativa máxima del 75 % para temperaturas de hasta 31 °C, con reducción lineal hasta una humedad relativa del 50 % a 40 °C.

Sensibilidad analítica

Para poner de manifiesto la sensibilidad analítica de la *careHPV Test*, se analizó un panel de ADN diana plasmídico de VPH para verificar que cada uno de los 14 tipos de VPH de alto riesgo se detecta con un cociente $PC_{\bar{x}}/NC_{\bar{x}} \geq 2,0$. Cada uno de los 14 tipos de ADN del VPH se preparó con una concentración deseada del VPH de 1,0 pg/ml (5000 copias/ensayo) en el calibrador negativo. La concentración preparada duplica la concentración plasmídica deseada del calibrador positivo.

Cada tipo de VPH se analizó en duplicados de 8. Se calcularon la señal media, el CV y la relación señal-ruido para cada tipo de VPH. Los resultados se muestran en la tabla 4, a continuación.

Tabla 4. Resumen de la sensibilidad analítica de la *careHPV Test* para cada tipo de ADN de VPH a 1 pg/ml

Tipo del VPH	Señal media (RLU)	Coficiente de variación	Relación señal-ruido
16	672	15 %	5,3
18	611	14 %	4,9
31	623	12 %	4,9
33	564	8 %	4,5
35	678	10 %	5,4
39	611	7 %	4,4
45	321	9 %	2,5
51	676	12 %	5,4
52	370	8 %	2,7
56	739	10 %	5,3
58	558	10 %	4,4
59	686	8 %	5,4
66	636	12 %	4,6
68	534	11 %	3,8

Reactividad cruzada

Reactividad cruzada con microorganismos

Los estudios indican que la careHPV Test no presenta reactividad cruzada con los siguientes microorganismos (consulte la tabla 5, a continuación) en las siguientes concentraciones:

- *C. trachomatis* (3,5e2-2,0e3 UFC/ml)
- *T. vaginalis* (8e5 células/ml)
- Los patógenos que aparecen en la tabla 5, a continuación (1,5e4-9,8e9 UFC/ml)

Tabla 5. Patógenos con posible reactividad cruzada

Patógeno	Patógeno
<i>Acinetobacter sp.</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Neisseria lactamica</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria sicca</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Enterococcus faecalis (Streptococcus)</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Escherichia coli (HB101)*</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Treponema phagedenis</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Mobiluncus curtisii</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Mobiluncus mulieris</i>	

* Se analizaron la cepa de *E. coli* utilizada para el crecimiento de plásmidos (HB101) y un aislado clínico de *E. coli*.

Reactividad cruzada con ADN viral o plasmídico

Se analizaron los siguientes tipos de ADN para determinar la reactividad cruzada en las siguientes concentraciones:

- Virus del herpes simple II (1e6 UFP/ml)
- pBR322 (4 ng/ml)

El virus del herpes simple II no presentó ninguna reactividad cruzada.

El plásmido pBR322 presentó reactividad cruzada en la *careHPV Test*, lo cual no es inesperado. El pBR322 se utiliza como vector para el plásmido de VPH y es difícil eliminar todo el ADN del pBR322 vectorial al aislar el inserto de VPH. Se ha descrito la presencia de secuencias homólogas al pBR322 en materiales de muestras genitales humanas, y podrían obtenerse resultados positivos falsos en presencia de niveles altos de ADN del pBR322.

Reactividad cruzada con ADN genómico humano

Los estudios indican que la *careHPV Test* no presenta reactividad cruzada con ADN genómico humano a 250 ng/ml.

Reactividad cruzada determinada por el método BLAST

Los análisis de secuencias (método BLAST) se completaron para las siguientes a fin de garantizar que no había secuencias superpuestas con reactividad cruzada:

- VIH, VHB, EBV, CMV
- Adenovirus 2
- *Neisseria meningitidis*

Sustancias interferentes

Se evaluó el efecto de las sustancias que se pueden encontrar en los materiales de muestras cervicouterinas (sangre total, productos para ducha vaginal, cremas antifúngicas, geles anticonceptivos y lubricante vaginal) en la *careHPV Test*. Las sustancias se añadieron en 2 cantidades diferentes (50 µl y 100 µl) al calibrador negativo y el calibrador positivo, y 5 pg/ml de VPH 16 en el calibrador negativo. También se analizaron sin sustancias el calibrador negativo y el calibrador positivo, y 5 pg/ml de VPH 16 en el calibrador negativo.

Se observaron resultados positivos falsos con la crema antifúngica a ambas concentraciones, pero no se observaron resultados positivos falsos con ninguna de las demás sustancias en ninguna concentración analizada.

Si existen niveles altos de sangre, geles anticonceptivos o productos para ducha vaginal en el momento de recoger un material de muestra, puede notificarse un resultado negativo falso en un material de muestra clínica con una concentración de ADN del VPH próxima al valor de corte (1 pg/ml).

Repetibilidad

Se llevó a cabo un estudio de repetibilidad para determinar la precisión de la *careHPV Test* en el laboratorio, los lotes del kit de la prueba y los operadores, mediante un panel de precisión de dianas de VPH artificiales, diferentes niveles de materiales de muestras clínicas VPH positivas agrupadas, y materiales de muestras clínicas VPH negativas agrupadas.

El panel constaba de 28 muestras de VPH artificiales en una matriz de muestras clínicas negativas, 4 niveles de muestras clínicas agrupadas y 1 grupo de muestras clínicas negativas. Las 28 muestras de VPH artificiales estaban compuestas por cada una de las 14 muestras de ADN plasmídico, representando los genotipos detectados por la *careHPV Test*. Las muestras clínicas del panel estaban compuestas por: 1 muestra clínica agrupada negativa para VPH, 1 muestra clínica agrupada positiva para VPH en una concentración 2 veces mayor que el

punto de corte, 1 muestra clínica agrupada positiva para VPH en una concentración 1,5 veces mayor que el punto de corte, 1 muestra clínica agrupada con niveles de señal aproximadamente de C20 a C95, y 1 muestra clínica agrupada con un nivel de señal aproximadamente de C5 a C20.

En este estudio, se utilizaron 3 lotes de *careHPV* Test kits, 1 lote de miembros del panel, y 2 sistemas *careHPV*. Las muestras se analizaron en 12 días, con 3 series al día, 2 duplicados por serie, y 1 serie para cada lote de kit de la prueba al día. Cada sistema *careHPV* se analizó cada día; sin embargo, uno de los sistemas se analizó dos veces cada día y esto se alternó a lo largo del estudio. 2 operadores realizaron las series de la *careHPV* Test durante todo el estudio. Los resultados se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Resumen de la proporción de resultados positivos junto con el correspondiente intervalo de confianza del 95 % bilateral exacto para cada muestra

Variable(s) de agrupamiento		Proporción		Límite de confianza del 95 % bilateral	
Muestra	Nivel de la muestra	Fracción	Porcentaje	Inferior	Superior
CTS1	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
	C ₉₅	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
CTS2	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
	C ₉₅	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
CTS3	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
	C ₉₅	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
CTS4	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
	C ₉₅	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
CTS5	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
	C ₉₅	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
CTS6	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
	C ₉₅	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
CTS7	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
	C ₉₅	71/72	100,00 %	92,50 %	99,96 %
CTS8	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
	C ₉₅	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
CTS9	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
	C ₉₅	69/72	95,83 %	88,30 %	99,13 %
CTS10	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
	C ₉₅	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
CTS11	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
	C ₉₅	70/72	97,22 %	90,32 %	99,66 %
CTS12	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
	C ₉₅	71/72	98,61 %	92,50 %	99,96 %
CTS13	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
	C ₉₅	70/72	97,22 %	90,32 %	99,66 %
CTS14	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
	C ₉₅	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
CLS1	2 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
CSL2	1,5 x CO	72/72	100,00 %	95,01 %	100,00 %
CSL3	C ₉₅	70/72	97,22 %	90,32 %	99,66 %
CSL4	C ₅ -C ₂₀	1/72	1,39 %	0,04 %	7,50 %
CSL5	Negativo	1/72	1,39 %	0,04 %	7,50 %

CO = Cutoff (punto de corte). Estos datos indican que la careHPV Test se puede repetir con 3 lotes de kits de la prueba, 2 operadores y 2 sistemas de instrumentos.

Reproducibilidad

Se llevó a cabo un estudio multicéntrico de reproducibilidad para determinar la reproducibilidad entre días, entre centros y global de la *careHPV Test* utilizando un panel de dianas de VPH artificiales, diferentes niveles de materiales de muestras clínicas positivas de VPH agrupadas y materiales de muestras clínicas negativas de VPH agrupadas.

Dos laboratorios externos, uno en Escocia y uno en El Salvador, así como un laboratorio interno en Estados Unidos, llevaron a cabo las pruebas con el mismo lote de *careHPV Test Kits* en 5 o 6 días diferentes. Todos los centros utilizaron un panel de precisión idéntico, que constaba de 28 muestras de VPH artificiales, 4 niveles de muestras clínicas agrupadas y 2 grupos de muestras clínicas negativas. Las 28 muestras de VPH artificiales estaban compuestas por cada una de las 14 muestras de ADN plasmídico en una matriz de muestras clínicas negativas, representando los genotipos detectados por la *careHPV Test*, y se formularon diluyendo los ADN hasta los niveles de punto de corte clínicos de C95 y 2X, respectivamente. Las muestras clínicas del panel de precisión estaban compuestas por: 1 muestra clínica agrupada negativa para VPH, 1 muestra clínica agrupada positiva para VPH a una concentración 2 veces mayor que el punto de corte, 1 muestra clínica agrupada positiva para VPH a una concentración 1,5 veces mayor que el punto de corte, 1 muestra clínica agrupada con niveles de señal aproximadamente de C20 a C95, y 1 muestra clínica agrupada con un nivel de señal aproximadamente de C5 a C20.

Todos los miembros del panel se analizaron cada día por triplicado durante 2 series independientes. Un operador diferente llevó a cabo cada serie al día. Los resultados se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Proporción de resultados positivos junto con el correspondiente intervalo de confianza del 95 % bilateral exacto para cada muestra.

Tipo de muestra	Muestra	Fracción	Porcentaje	Intervalo de confianza del 95 % bilateral para el nivel de positividad observado (N = 102)	Intervalo de confianza del 95 % bilateral para el nivel de positividad esperado (N = 102)
Clínico	1.5XCO	102/102	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	94,66 %, 99,98 %
	2XCO	102/102	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	96,45 %, 100,00 %
	c5-c20	0/102	0,00 %	0,00 %, 3,55 %	1,61 %, 28,65 %
	c95	98/98*	100,00 %	96,31 %, 100,00 %	88,93 %, 98,39 %
	neg	2/102	1,96 %	0,24 %, 6,90 %	0,00 %, 3,55 %
Artificial	neg	1/98*	1,02 %	0,03 %, 5,55 %	0,00 %, 3,55 %
	dna16_2XCO	97/97*	100,00 %	96,27 %, 100,00 %	96,45 %, 100,00 %
	dna16_c95	101/102	99,02 %	94,66 %, 99,98 %	88,93 %, 98,39 %
	dna18_2XCO	102/102	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	96,45 %, 100,00 %
	dna18_c95	98/100*	98,00 %	92,96 %, 99,76 %	88,93 %, 98,39 %
	dna31_2XCO	102/102	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	96,45 %, 100,00 %
	dna31_c95	98/102	96,08 %	90,26 %, 98,92 %	88,93 %, 98,39 %
	dna33_2XCO	102/102	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	96,45 %, 100,00 %
	dna33_c95	99/102	97,06 %	91,64 %, 99,39 %	88,93 %, 98,39 %
	dna35_2XCO	102/102	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	96,45 %, 100,00 %
	dna35_c95	100/101*	99,01 %	94,61 %, 99,97 %	88,93 %, 98,39 %
	dna39_2XCO	102/102	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	96,45 %, 100,00 %
	dna39_c95	96/102	94,12 %	87,64 %, 97,81 %	88,93 %, 98,39 %
	dna45_2XCO	102/102	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	96,45 %, 100,00 %
	dna45_c95	90/101*	89,11 %	81,35 %, 94,44 %	88,93 %, 98,39 %
	dna51_2XCO	102/102	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	96,45 %, 100,00 %
	dna51_c95	101/102	99,02 %	94,66 %, 99,98 %	88,93 %, 98,39 %
	dna52_2XCO	101/101*	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	96,45 %, 100,00 %
	dna52_c95	98/102	96,08 %	90,26 %, 98,92 %	88,93 %, 98,39 %

Tipo de muestra	Muestra	Fracción	Porcentaje	Intervalo de confianza del 95 % bilateral para el nivel de positividad observado (N = 102)	Intervalo de confianza del 95 % bilateral para el nivel de positividad esperado (N = 102)
	dna56_2XCO	102/102	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	96,45 %, 100,00 %
	dna56_c95	95/101*	94,06 %	87,52 %, 97,79 %	88,93 %, 98,39 %
	dna58_2XCO	102/102	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	96,45 %, 100,00 %
	dna58_c95	99/102	97,06 %	91,64 %, 99,39 %	88,93 %, 98,39 %
	dna59_2XCO	102/102	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	96,45 %, 100,00 %
	dna59_c95	100/102	98,04 %	93,10 %, 99,76 %	88,93 %, 98,39 %
	dna66_2XCO	102/102	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	96,45 %, 100,00 %
	dna66_c95	93/102	91,18 %	83,91 %, 95,89 %	88,93 %, 98,39 %
	dna68_2XCO	99/100*	99,00 %	94,55 %, 99,97 %	96,45 %, 100,00 %
	dna68_c95	102/102	100,00 %	96,45 %, 100,00 %	88,93 %, 98,39 %

CO = Cutoff (punto de corte). Los datos globales son una combinación de todas las series en todos los centros.

* Valores atípicos excluidos del análisis de los datos

Estos datos indican que la careHPV Test es reproducible en 3 centros en 3 países.

Referencias

Referencias bibliográficas

1. Jenson, A.B., Kurman, R.J., and Lancaster, W.D. (1984) Human papillomaviruses. In: Belshe RB, editor. *Textbook of Human Virology*. Littleton, MA: PSG-Wright, p 951–68.
2. Bosch, F.X., Lorincz, A., Muñoz, N., Meijer, C.J.L.M., and Shah, K.V. (2002) The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J. Clin. Pathol.* **55**, 244.
3. Gaarenstroom, K.N. et al. (1994) Human papillomavirus DNA and genotypes: prognostic factors for progression of cervical intraepithelial neoplasia. *Int. J. Gynecol. Cancer* **4**, 73.
4. Schlecht, N.F. et al. (2001) Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA* **286**, 3106.
5. Nobbenhuis, M.A.E. et al. (1999) Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. *Lancet* **354**, 20.
6. Castle, P.E. et al. (2002) Absolute risk of a subsequent abnormal Pap among oncogenic human papillomavirus DNA-positive, cytologically negative women. *Cancer* **95**, 2145.
7. Muñoz, N., Bosch, F.X., Shah, K.V., and Meheus, A. (1992) *The Epidemiology of Human Papillomavirus and Cervical Cancer*. Lyon: International Agency for Research on Cancer.

8. Remmink, A.J. et al. (1995) The presence of persistent high-risk HPV genotypes in dysplastic cervical lesions is associated with progressive disease: natural history up to 36 months. *Int. J. Cancer* **61**, 306.
9. Lorincz, A.T., Quinn, A.P., Lancaster, W.D., and Temple, G.F. (1987) A new type of papillomavirus associated with cancer of the uterine cervix. *Virology* **159**, 187.
10. Meyer, T. et al. (1998) Association of rare human papillomavirus types with genital premalignant and malignant lesions. *J. Infect. Dis.* **178**, 252.
11. Lorincz, A.T., Reid, R., Jenson, A.B., Greenberg, M.D., Lancaster, W., and Kurman, R.J. (1992) Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet. Gynecol.* **79**, 328.
12. Bosch, F.X. et al. (1995) International Biologic Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study Group. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J. Natl. Cancer Inst.* **87**, 796.
13. Shimoda, K., Lorincz, A.T., Temple, G.F., and Lancaster, W.D. (1988) Human papillomavirus type 52: a new virus associated with cervical neoplasia. *J. Gen. Virol.* **69**, 2925.
14. Volpers, C. and Streeck, R.E. (1991) Genome organization and nucleotide sequence of human papillomavirus type 39. *Virology* **181**, 419.
15. Matsukura, T. and Sugase, M. (1990) Molecular cloning of a novel human papillomavirus (type 58) from an invasive cervical carcinoma. *Virology* **177**, 833.
16. Rho, J., Roy-Burman, A., Kim, H., de Villiers, E.-M., Matsukura, and T., Choe, J. (1994) Nucleotide sequence and phylogenetic classification of human papillomavirus type 59. *Virology* **203**, 158.



17. Longuet, M., Beaudenon, S., and Orth, G. (1996) Two novel genital human papillomavirus (HPV) types, HPV68 and HPV70, related to the potentially oncogenic HPV39. *J. Clin. Microbiol.* **34**, 738.
18. Stewart, A.-C.M., Gravitt, P.E., Cheng, S., and Wheeler, C.M. (1995) Generation of entire human papillomavirus genomes by long PCR: frequency of errors produced during amplification. *Genome Res.* **5**, 79.
19. Munoz, N. et al. (2004) Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int. J. Cancer* **111**, 278.
20. Ho, G.Y.F., Bierman, R., Beardsley, L., Chang, C.J., and Burk, R.D. (1998) Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N. Engl. J. Med.* **338**, 423
21. Ylitalo, N. et al. (2000) A prospective study showing long-term infection with human papillomavirus 16 before the development of cervical carcinoma in situ. *Cancer Res.* **60**, 6027.
22. Wallin, K.-L. et al. (1999) Type-specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. *N. Engl. J. Med.* **341**, 1633.
23. van der Graaf, Y., Moliijn, A., Doornewaard, H., Quint, W., van Doorn, L.-J., and van den Tweel, J. (2002) Human papillomavirus, and the long-term risk of cervical neoplasia. *Am. J. Epidemiol.* **156**, 158.
24. Petry, K.U., Bohmer, G., Iftner, T., Davies, P., Brummer, O., and Kuhnle, H. (2002) Factors associated with an increased risk of prevalent and incident grade III cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer among women with Papanicolaou tests classified as grades I or II cervical intraepithelial neoplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **186**, 28.




25. Hopman, E.H., Rozendaal, L., Voorhorst, F.J., Walboomers, J.M.M., Kenemans, P., and Helmerhorst, T.H.J.M. (2000) High risk human papillomavirus in women with normal cervical cytology prior to the development of abnormal cytology and colposcopy. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* **107**, 600.
26. Woodman, C.B.J. et al. (2001) Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* **357**, 1831.
27. Zielinski, G.D. et al. (2001) High-risk HPV testing in women with borderline and mild dyskaryosis: long-term follow-up data and clinical relevance. *J. Pathol.* 195, 300.
28. Rozendaal, L. et al. (1996) PCR-based high-risk HPV test in cervical cancer screening gives objective risk assessment of women with cytomorphologically normal cervical smears. *Int. J. Cancer* **68**, 766.
29. Richmond, J.Y. (1993). *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 3rd ed. Washington, DC: US Government Printing Office, p 183.
30. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2014) *Clinical and Laboratory Standards Institute Approved Guideline M29-A4, Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. Wayne, PA: CLSI.
31. World Health Organization (2004) *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed., Malta: World Health Organization.
32. Vernon, S.D., Unger, E.R., and Williams, D. (2000) Comparison of human papillomavirus detection and typing by cycle sequencing, line blotting, and Hybrid Capture. *J. Clin. Microbiol.* **38**, 651.

-
33. Castle, P.E. et al. (2002) Restricted cross-reactivity of Hybrid Capture 2 with non-oncogenic human papillomavirus types. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **11**, 1394.
 34. Qiao, Y.L. et al. (2008) A new HPV-DNA test for cervical-cancer screening in developing regions: a cross-sectional study of clinical accuracy in rural China. *Lancet Oncol.* **9**, 926.
 35. Zhao, F.H. et al. (2013) An evaluation of novel, lower-cost molecular screening tests for human papillomavirus in rural china. *Cancer Prev. Res.* **6**, 938.
 36. Jeronimo, J. et al. (2014) A multicountry evaluation of careHPV testing, visual inspection with acetic acid, and Papanicolaou testing for the detection of cervical cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer* **24**, 576.

Símbolos

Los símbolos siguientes pueden aparecer en el embalaje y las etiquetas:

Símbolo	Definición del símbolo
	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Fecha de caducidad
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
REF	Número de catálogo
LOT	Número de lote
MAT	Número de material
NaOH	Hidróxido de sodio
GTIN	Número mundial de artículo comercial

	Limitación de temperatura
	Fabricante
	Consultar las instrucciones de uso

Información de contacto

Para recibir asistencia técnica y solicitar más información, consulte nuestro Centro de asistencia técnica en www.qiagen.com/Support o póngase en contacto con uno de los departamentos de servicio técnico de QIAGEN o distribuidores locales (consulte la contracubierta o visite www.qiagen.com).

Apéndice: Hoja de registro de datos de la prueba

Lugar de la prueba: _____ Fecha de la prueba: _____

ID del operador: _____ Temperatura ambiente: _____ °C

Número de lote del careHPV Test Kit: _____ Número de serie de la microplaca: _____

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NC											
B	NC											
C	NC											
D	PC											
E	PC											
F	PC											
G												
H												

Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º de catálogo
<i>careHPV</i> Test System	Esto incluye los siguientes elementos: <ul style="list-style-type: none"> • <i>careHPV</i> Test Controller • <i>careHPV</i> Test Luminometer • <i>careHPV</i> Test Shaker • <i>careHPV</i> Test Magnetic Plate Holder 	9001772
<i>careHPV</i> Test Luminometer	Instrumento de detección por quimioluminiscencia en microplaca para uso con el sistema <i>careHPV</i> Test	9002140
<i>careHPV</i> Test Controller	Dispositivo de pantalla táctil con software de aplicación para uso con el sistema <i>careHPV</i> Test	9002142
<i>careBrush</i>	Paquete de 50 dispositivos de recogida de cepillos cervicouterinos con línea de rotura	619024
<i>careHPV</i> Collection Medium	Paquete de 50 tubos, cada uno de los cuales contiene 1 ml de <i>careHPV</i> Collection Medium	619025
<i>careHPV</i> Test Magnetic Plate Holder	Soporte de placas magnéticas para la <i>CareHPV</i> Test	9019960
Plate sealers	100 selladores de placas	5070-1010

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o la guía del usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales y las guías del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al servicio técnico de QIAGEN o a su distribuidor local.

Historial de revisiones del documento	
Rev. 7 08/2018	<p>Actualización de Materiales necesarios pero no suministrados para aclarar las instrucciones y sustituir los productos que ya no están disponibles.</p> <p>Eliminación de Número de lote.</p> <p>Actualización de las Declaraciones sobre seguridad y riesgo para identificar los componentes que causan una posible irritación.</p> <p>Actualización de la recogida de materiales de muestras para incluir información específica sobre el dispositivo de recogida.</p> <p>Mejora de la descripción de las etiquetas para reflejar las pegatinas de los tapones de los frascos de reactivos. Se ha añadido información sobre el registro de las muestras de color oscuro.</p> <p>Nuevo estilo de las marcas, información de contacto actualizada para dirigir a los clientes al sitio web.</p> <p>Se han eliminado las puntas de pipeta extralargas (5075-1011) de la información para pedidos.</p> <p>Actualización de la sección Materiales necesarios pero no suministrados: se han cambiado las gradillas de tubos de materiales de muestras en espuma para el producto nuevo, se han actualizado el tamaño de las pipetas de volumen fijo, las pipetas repetidoras y las puntas de las pipetas repetidoras.</p>

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, digene®, careBrush®, careHPV®, Hybrid Capture® (QIAGEN Group); VWR® (VWR International LLC).

CARE es una marca registrada de COOPERATIVE FOR ASSISTANCE AND RELIEF EVERYWHERE, INC. ("CARE"). CARE y los miembros y los afiliados de CARE International no están afiliados a QIAGEN y no patrocinan, aprueban, apoyan, participan ni controlan el desarrollo, la fabricación, el uso ni la venta de ningún producto de QIAGEN.

No debe considerarse que los nombres registrados, marcas comerciales, etc., que se utilizan en este documento no están protegidos por la ley aunque no se hayan identificado específicamente como tales.

Acuerdo de licencia limitada

El uso de este producto implica por parte del comprador o usuario del careHPV Test Kit la aceptación de los siguientes términos:

1. La careHPV Test debe utilizarse exclusivamente de acuerdo con el manual de la careHPV Test y solo para uso con los componentes que se incluyen en el kit. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para utilizar o incorporar los componentes suministrados en este careHPV Test kit con componentes no incluidos en este careHPV Test Kit, excepto según se describe en el manual de la careHPV Test y en protocolos adicionales disponibles en www.qiagen.com.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que esta careHPV Test y su uso no infrinjan los derechos de terceros.
3. El careHPV Test Kit y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no se pueden reutilizar, reacondicionar ni revender.
4. QIAGEN renuncia específicamente a cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario de la careHPV Test aceptan no llevar a cabo ni permitir que otros lleven a cabo medidas que puedan conducir a acciones prohibidas en las especificaciones anteriores o que puedan facilitarlas. QIAGEN se reserva el derecho de emprender acciones legales ante cualquier tribunal para el cumplimiento de las prohibiciones especificadas en este Acuerdo de licencia limitada y recuperará todos los gastos derivados de la investigación y de los gastos judiciales, incluidas las honorarios de abogacía, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual en relación con el careHPV Test Kit y sus componentes.

Para obtener los términos actualizados de la licencia, visite www.qiagen.com.

© 2015-2019 QIAGEN, todos los derechos reservados.

