

Controles de ensayo en la detección del VPH

Lo que debe saber sobre los controles internos y la adecuación de la muestra

Los ensayos dependientes de enzimas, como p. ej. PCR, amplificación de ARNm y amplificación isotérmica de señales, utilizan enzimas sensibles que pueden ser inhibidas por sustancias que se encuentran habitualmente en las muestras del cuello del útero, como p. ej. sangre y flujo vaginal. Por ello, estos ensayos deben pasar por un proceso de purificación del ADN muy estricto. En consecuencia, los ensayos dependientes de enzimas requieren un control del ADN genómico (un control interno) para mostrar que los resultados de análisis negativos no son el resultado de una inhibición de la enzima ni de un fallo de la purificación del ADN. La prueba *digene*[®] HPV es un ensayo basado en anticuerpos y no en enzimas, y por consiguiente no está sujeto a una posible inhibición. Utiliza un lisado celular sin procesar, no ADN purificado.

¿Qué es un control interno?

Los genes presentes en cada célula humana (p. ej. β -globina e histona) se utilizan como controles internos en ensayos dependientes de enzimas. Los controles internos se ejecutan junto con el ensayo objetivo para cada muestra con el fin de identificar las muestras que han sido inhibidas. Si una muestra presenta un control interno negativo, el ensayo habrá fracasado y será necesario volver a analizar a la paciente. No obstante, debido a que estos genes están presentes en todas las células humanas, un control interno positivo no significa que la muestra contenga células epiteliales cervicales adecuadas para la detección del VPH. Por consiguiente, la medición de la presencia de un gen celular, como p. ej. β -globina o histona, no indica si una muestra es o no es adecuada.

¿Qué es la adecuación de la muestra?

La adecuación de la muestra para el cribado sistemático del cáncer de cuello de útero está relacionada con la presencia de células epiteliales cervicales en la muestra. Estas son las células en las que la infección por VPH de alto riesgo es más problemática. Si la muestra se toma de forma deficiente, puede contener suficientes células epiteliales no cervicales o inflamatorias como para dar lugar a un resultado de control interno positivo, incluso si la muestra contiene muy pocas células epiteliales cervicales. Además, debido a la capacidad de los ensayos dependientes de las enzimas para detectar muy pocas copias de un gen humano, es posible que muchos de estos ensayos solo requieran una cantidad muy reducida de material humano para que en el control interno se obtenga un resultado positivo. Un control interno no es un control de adecuación de la muestra.



La prueba *digene* HPV está diseñada para evitar la inhibición

La prueba *digene* HPV es un ensayo basado en anticuerpos que detecta híbridos ADN:ARN por medio de una señal de detección quimioluminiscente. No es necesario el aislamiento ni la amplificación del ADN ni del ARNm del VPH. La prueba *digene* HPV no requiere un control interno. El ensayo utiliza lisado celular sin procesar, así que no requiere una purificación del ADN y el ensayo no es dependiente de las enzimas. La sonda de ARN (genoma completo) del ensayo solo se une al ADN diana del VPH para formar híbridos ADN:ARN estrictos que son resistentes a las sustancias que habitualmente inhiben los ensayos moleculares. Debido a que el ADN y ARNm del VPH no se amplifican, no existe riesgo de contaminación.

La prueba *digene* HPV incluye controles positivos y negativos en cada placa para asegurar que el ensayo se realiza según las especificaciones. La prueba *digene* HPV se ha validado clínicamente en más de 1 millón de mujeres en estudios aleatorizados controlados (1) y ha demostrado tener un valor predictivo negativo del 99,9% para neoplasias cervicales intraepiteliales 3+ (CIN 3+) (2). Estos estudios también han demostrado que las mujeres con un resultado negativo en la prueba *digene* HPV presentan un riesgo muy bajo de desarrollar una patología cervical durante un período de hasta 18 años (3, 4). Los análisis con ensayos dependientes de enzimas entrañan un mayor riesgo de falsos positivos (véase la Tabla 1).

Tabla 1. La prueba *digene* HPV frente a los ensayos dependientes de enzimas

Prueba <i>digene</i> HPV	Ensayos dependientes de enzimas, p. ej. PCR, amplificación de ARNm, amplificación isotérmica de señales (5-8)
No se requiere una purificación del ADN, no hay riesgo de pérdida de ADN	Se requiere ADN purificado, riesgo de pérdida de ADN
Forma híbridos ADN:ARN estrictos que son resistentes a la mayoría de las sustancias que habitualmente inhiben los ensayos moleculares	Basado en enzimas, riesgo de inhibición por sustancias habituales tales como sangre, flujo vaginal o los reactivos utilizados para purificar el ADN
Ensayo simple, robusto, basado en anticuerpos	Reacciones complejas de amplificación de la diana o de la señal, dependientes de enzimas, y con múltiples pasos
No es necesario un control interno	Es necesario un control interno para supervisar el rendimiento de las enzimas y asegurar que un resultado negativo no se debe a una inhibición
En cada placa se incluye un control contra la reactividad cruzada con tipos de VPH de bajo riesgo	Ausencia de un control de la reactividad cruzada con tipos de VPH de bajo riesgo
Ninguna amplificación del ADN del VPH, de forma que existe un riesgo mínimo de falsos resultados negativos o positivos debido a reacciones fallidas y contaminación	La amplificación del ADN del VPH puede dar lugar a falsos resultados positivos debido a la contaminación

¡Póngase hoy en contacto con su representante de ventas de QIAGEN para comenzar a utilizar la prueba *digene* HPV!

Bibliografía:

1. Datos en archivo.
2. Kitchener, H.K. et al. (2011) A comparison of HPV DNA testing and liquid based cytology over three rounds of cervical cancer screening: Extended follow-up in the ARTISTIC trial. *Eur. J. Cancer* **47**, 864.
3. Cuzick, J. et al. (2008) Long-term follow-up of cervical abnormalities among women screened by HPV testing and cytology – results from the Hammersmith study. *Int. J. Cancer* **122**, 2294.
4. Dillner, J. et al. (2008) Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical cancer screening: joint European cohort study. *BMJ*. **337**, a1754.
5. *cobas HPV Test Package Insert*. 05641268001-01, Doc. Rev. 1. April 2011. Roche Molecular Systems, Inc.
6. *APTIMA HPV Assay Package Insert*. 502170 Rev. A. November 2011. Gen-Probe Incorporated.
7. *Cervista HPV HR Package Insert*. P/N 15-3100 Rev. C. 2009 Third Wave Technologies, Inc.
8. *Abbott RealTime High Risk HPV Package Insert*. 48-1826/R1. B2N091. October 2008. Abbott Laboratories.

Marcas comerciales: QIAGEN®, *digene*® (Grupo QIAGEN).

Para obtener información actualizada sobre licencias y sobre 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 a los servicios técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

1074706 04/2013 © 2013 QIAGEN, reservados todos los derechos.

www.qiagen.com

En España 91-630-7050

