



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación e  
Institutos  
A.N. M. A.T

DISPOSICIÓN N° 3126

BUENOS AIRES 31 MAR. 2016

VISTO, el expediente n° 1-47-3110-4887/15-1 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones la firma TECNOLAB S.A. solicita la modificación del producto diagnóstico de uso "in Vitro" denominado 1) hybrid Capture 2 HPV DNA Test, 2) HC2 DNA Collection Device y la baja del registro del producto 3) PANEL DE CONTROL HPV DIGENE, autorizados por Certificado N° 003025.

Que a fojas 136 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establece la Ley N° 16.463, y Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición N° 2674/99.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y por el Decreto N° 101 de fecha 16 de diciembre de 2015.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE  
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación e  
Institutos  
A.N. M. A.T

# DISPOSICIÓN N° 3126

ARTÍCULO 1º.- Autorízase a la firma TECNOLAB S.A. las modificaciones que se detallan en el Anexo del producto para diagnóstico de uso In Vitro denominado 1) hybrid Capture 2 HPV DNA Test, 2) HC2 DNA Collection Device.

ARTÍCULO 2º.- Dése de baja al registro otorgado mediante Certificado N° 003025 del producto para diagnóstico de uso "in vitro" denominado 3) PANEL DE CONTROL HPV DIGENE perteneciente a la firma TECNOLAB S.A., manteniéndose la vigencia del mismo

ARTÍCULO 3º.- Acéptense los nuevos proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones a fojas 42 a 128. Desglosándose las fojas 105 a 128 en donde deberán constar las modificaciones mencionadas en el Art 1º precedente y anexo.

ARTÍCULO 4º.- Practíquese la atestación correspondiente en el Certificado n° 003025, cuando el mismo se presente acompañado de la fotocopia autenticada de la presente Disposición.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese; gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por Mesa de Entradas notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición junto con los nuevos proyectos de rótulos y manual de instrucciones. Cumplido, archívese.-

Expediente n°: 1-47-3110-4887/15-1

DISPOSICIÓN N°:

# 3126

Fd

**Dr. ROBERTO LEDE**  
Subadministrador Nacional  
A.N.M.A.T.



Ministerio de Salud  
 Secretaría de Políticas, Regulación e  
 Institutos  
 A.N. M. A.T

**ANEXO**

Expte. N° 1-47-3110-4887/15-1

**PRODUCTO:** 1) hybrid Capture 2 HPV DNA Test, 2) HC2 DNA Collection Device

<b>Ampliación y / o Modificación</b>	<b>Anteriormente Aprobada</b>	<b>Modificaciones solicitadas</b>
*Modificación del Origen de elaboración	QUIAGEN GmbH - 1201 Cloper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.	QUIAGEN - 19300 Germantown Road, Germantown, MD 20874, USA.
* Cambio de nombre	1) Hybrid Capture 2 HPV DNA Test. 2) HC2 DNA Collection Device.	1) <i>digene</i> ® HC2 HPV DNA Test (cod: 5198-1220). 2) <i>digene</i> ® HC2 DNA Collection Device (cod: 619204).
* Modificación de la forma de Presentación de los componentes	- Diluyente de sonda: 1 x 7 ml. - Sonda B de HPV: 1 x 150 µl	- Diluyente de sonda 1 x 5 ml. - Sonda B de HPV: 1 x 100 µl

DISPOSICIÓN N°:

**3 1 2 6**

fd

**Dr. ROBERTO LEDE**  
 Subadministrador Nacional  
 A.N.M.A.T.

31 MAR. 2016

3126


PROYECTO DE RÓTULOS EXTERNOS

digene® HC2 HPV DNA Test

**digene®**  
**HC2 HPV DNA Test**

- 0.35 ml Indicator Dye
- 50 ml Denaturation Reagent
- 5 ml Probe Diluent
- 150 µl Low-Risk HPV Probe
- 100 µl High-Risk HPV Probe
- 1 ml Low-Risk HPV Quality Control
- 1 ml High-Risk HPV Quality Control
- 2 ml Negative Calibrator
- 1 ml Low-Risk HPV Calibrator
- 1 ml High-Risk HPV Calibrator
- 1 each Capture Microplate
- 12 ml Detection Reagent 1
- 12 ml Detection Reagent 2
- 100 ml Wash Buffer Concentrate

QIAGEN  
19300 Germantown Road  
Germantown, MD 20874  
USA

 www.QIAGEN.com  
+1-800-426-8157  
Product of United States

EC REP

QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1  
40724 Hilden  
GERMANY  
+49 2103 290

IVD

CE





ZC  8°C

RX ONLY

1059746 Rev. 2 Patent 6,221,581

IMPORTADOR: TECNOLAB S.A. Estomba N° 964 -  
c1427cco. C.A.B.A. Teléfono: 54-11- 4-555-0010.

DIRECTOR TECNICO: Bioq. Marisol Masino

ORIGEN DE ELABORACION: QIAGEN, 19300 Germantown  
Rd, Germantown, MD 20874. USA.

AUTORIZADO POR EL MINISTERIO DE SALUD

CERTIFICADO N°: 003025

  
MARISOL MASINO  
BIOQUIMICA- M.N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A.

digene® HC2 DNA Collection Device

**digene® HC2 DNA Collection Device**

- |  |  |
|--|--|
| <p><b>en</b> Precautions and Warnings<br/>Do not use cervical brush with pregnant women.</p> <p><b>cs</b> Preventivní opatření a varování<br/>Nepoužívejte cervikální kartáček u těhotných žen.</p> <p><b>da</b> Advarsler og forholdsregler<br/>Cervixborsten må ikke anvendes til gravide kvinder.</p> <p><b>de</b> Sicherheits- und Warnhinweise<br/>Die Zervixbürste nicht an schwangeren Frauen verwenden.</p> <p><b>el</b> Προφυλάξεις και Προειδοποιήσεις<br/>Μην χρησιμοποιείτε την τραχηλική βούρσα σε εγκύους.</p> <p><b>es</b> Precauciones y advertencias<br/>No utilizar el escobillón cervical en mujeres embarazadas.</p> <p><b>fi</b> Varotoimet ja varoitukset<br/>Cervix-harjaa ei saa käyttää raskaana oleviin naisiin.</p> | <p><b>fr</b> Précautions et mises en garde<br/>Ne pas utiliser de cyto Brosse chez les femmes enceintes.</p> <p><b>it</b> Precauzioni e avvertenze<br/>Non utilizzare lo spazzolino per tampone cervicale su donne in gravidanza.</p> <p><b>nl</b> Voorzorgsmaatregelen en waarschuwingen<br/>De cervicale borstel mag niet worden gebruikt bij zwangere vrouwen.</p> <p><b>pl</b> Precauções e Avisos<br/>Não utilizar a escova cervical em mulheres grávidas.</p> <p><b>sv</b> Försiktighetsåtgärder och Varningar.<br/>Använd inte cervixborste på gravida kvinnor.</p> <p><b>tr</b> Uyarılar ve Önemler<br/>Serviks fırçasını hamile kadınlarda kullanmayın.</p> |
|--|--|



QIAGEN  
19300 Germantown Road  
Germantown, MD 20874  
USA  
+1-800-426-8157  
www.qiagen.com

**EC REP** QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1  
40724 Hilden  
GERMANY  
+49 2103 290

1081175 Rev. 01 Product of USA

**IMPORTADOR:** TECNOLAB S.A. Estomba N° 964 -  
c1427cco. C.A.B.A. Teléfono: 54-11- 4-555-0010.

**DIRECTOR TECNICO:** Bioq. Marisol Masino

**ORIGEN DE ELABORACION:** QIAGEN, 19300 Germantown  
Rd, Germantown, MD 20874. USA.

**AUTORIZADO POR EL MINISTERIO DE SALUD**

**CERTIFICADO N°:** 003025


**MARISOL MASINO**  
BIOQUIMICA - M.N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A.


3126



# PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS

## digene® HC2 HPV DNA Test

 contains acetic acid; polyacrylic acid


 QIAGEN


**Probe Diluent**  
5 ml

REF 1058223


LOT

2°C → 8°C

 Product of United States

 1090969 Rev. 01

QIAGEN Maryland, USA


 QIAGEN


**Detection Reagent 1**  
12 ml

REF 1058224


LOT


2°C → 8°C

 Product of United States

 1090970 Rev. 01

QIAGEN Maryland, USA

 contains sodium hydroxide


 QIAGEN


**Denaturation Reagent**  
50 ml

REF 1058221

LOT

2°C → 30°C

 Product of United States

 1090967 Rev. 01

QIAGEN Maryland, USA

*[Handwritten signature]*

*[Handwritten signature]*  
MARISOL MASINO  
BIOQUIMICA - M.N. 9483  
DT-TECNOLAB S.A.

*[Handwritten signature]*

3126



**Indicator Dye**  
0.35 ml

1090968 Rev. 01

2°C — 30°C

REF 1058222

LOT

QIAGEN • Maryland, USA  
Product of United States

**Low-Risk HPV Probe**  
150 µl

1090973 Rev. 01

2°C — 8°C

REF 1058244

LOT

QIAGEN • Maryland, USA  
Product of United States

**High-Risk HPV Probe**  
100 µl

1090974 Rev. 01

2°C — 8°C

REF 1058229

LOT

QIAGEN • Maryland, USA  
Product of United States

**High-Risk HPV Calibrator**  
1 ml

1090977 Rev. 01

2°C — 8°C

REF 1081191

LOT

QIAGEN • Maryland, USA  
Product of United States

**Low-Risk HPV Calibrator**  
1 ml

1090976 Rev. 01

2°C — 8°C

REF 1081190

LOT


QIAGEN • Maryland, USA  
Product of United States

*Handwritten mark*

*Handwritten mark*

*Handwritten signature*

**MARISOL MASINO**  
BIOQUIMICA - M. N. 8483  
DT - TECNOLAB S.A.

  
contains sodium azide

**QIAGEN**

**Wash Buffer Concentrate**  
100 ml

REF 1059688    2°C → 30°C

LOT

**QIAGEN** Maryland, USA    Product of United States

1090972 Rev. 01

**QIAGEN**

**Negative Calibrator**  
2 ml

REF 1081189    2°C → 8°C

LOT

**QIAGEN** • Maryland, USA    Product of United States

1090966 Rev. 01

**QIAGEN**

**Low-Risk HPV Quality Control**  
1 ml

REF 1081192    2°C → 8°C

LOT

**QIAGEN** • Maryland, USA    Product of United States

1090978 Rev. 01

**QIAGEN**

**High-Risk HPV Quality Control**  
1 ml

REF 1081193    2°C → 8°C

LOT

**QIAGEN** • Maryland, USA    Product of United States

1090979 Rev. 01

**QIAGEN**

**Capture Microplate X 1**

REF 1058243    2°C → 8°C

LOT

**QIAGEN** • Maryland, USA    Product of United States

1090980 Rev. 01

*Handwritten signature*

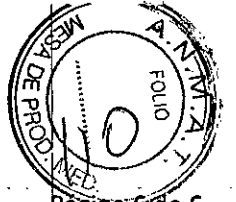
*Handwritten signature*

*Handwritten signature*

**MARISO MASINO**  
BIOQUIMICA - M.N. 8483  
DT - TECHOLAB S.A.



3126



pagina 6 de 6

**QIAGEN**

**Detection Reagent 2**  
12 ml

**REF** 1058225      2°C      8°C     

**LOT**

1090971 Rev. 01

**QIAGEN**  
Maryland, USA

Product of United States

**digene® HC2 DNA Collection Device**

**QIAGEN**

**digene® HC2 DNA Collection Device**  
Specimen Transport Medium 1 ml

Patient ID:

Date:

Physician:  DR

**QIAGEN**  
19300 Germantown Road  
Germantown, MD 20874  
USA

**QIAGEN GmbH**  
QIAGEN Straße 1  
40724 Hilden  
GERMANY

**REF** 1081184

**CE**

**IVD**      **IS**

1081178 Rev. 01

*[Handwritten signature]*

*[Handwritten signature]*

*[Handwritten signature]*

**MARISOL MASINO**  
BIOQUIMICA - M.N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A.

*[Handwritten signatures]*

**Prueba de ADN del VPH «digene® HC2 HPV DNA Test»**

Un ensayo de hibridación de ácidos nucleicos *in vitro* con amplificación de señales usando quimioluminiscencia de microplacas para la detección cualitativa del virus del papiloma humano (VPH) tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68 y análisis de los grupos de bajo y alto riesgos de ADN del VPH en especímenes cervicales: VPH tipos 6/11/42/43/44 y 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68.

Para su uso con:  
Dispositivo de recolección de ADN «digene® HC2 DNA Collection Device»  
Medio de transporte de especímenes «digene® Specimen Transport Medium»  
Solución «HOLOGIC PreservCyt® Solution»

**CAMBIOS CLAVES DE LA REVISIÓN DEL PROSPECTO ANTERIOR**

1. Información del fabricante y fijación de marca del producto actualizados.

Para uso profesional solamente, por personal de laboratorio capacitado y validado.

Léanse estas instrucciones cuidadosamente antes de usar la prueba.

Se dejó esta página intencionalmente en blanco.

*[Handwritten signature]*  
**MARISOL MASINO**  
BIOQUIMICA - M.N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A.

REF 5198-1220

IVD

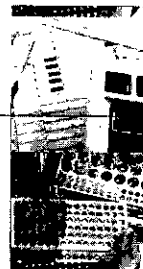


QIAGEN  
19300 Germantown Road  
Germantown, MD 20874  
USA

1059754 Rev. 2

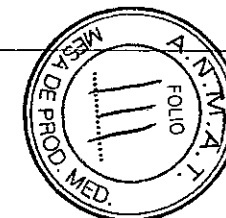


**Sample & Assay Technologies**



**tecnolab s.a.**  
estomba 964 . c1427cov  
capital federal . argentina  
tel. 54 11 4555 0010  
54 11 4859 5300  
fax 54 11 4553 3331  
info@tecnolab.com.ar  
www.tecnolab.com.ar  
ISO 9001:2008 certificada

3126



**ÍNDICE**

NOMBRE Y USO INDICADO .....	1
RESUMEN Y EXPLICACIÓN .....	1
PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO .....	2
REACTIVOS Y MATERIALES PROPORCIONADOS .....	3
MATERIALES REQUERIDOS MAS NO SUMINISTRADOS .....	4
ALERTAS Y PRECAUCIONES .....	5
Precauciones de seguridad .....	5
Precauciones de manejo .....	7
PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE REACTIVOS .....	7
RECOLECCIÓN Y MANEJO DE ESPECÍMENES .....	10
Cepillos cervicales* .....	10
Biopsias cervicales* .....	10
Especímenes en la solución PreservCyt de Cytec .....	11
PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA .....	11
Pruebas de producción de muestras de alto volumen usando el RCS .....	11
Desnaturalización: métodos de cóctel de sondas combinadas y de dos sondas .....	12
Calibradores, controles de calidad y especímenes STM (incluyendo biopsia o especímenes del dispositivo de recolección de ADN <i>digene</i> HC2) .....	13
Procedimiento de preparación y desnaturalización de especímenes de la solución PreservCyt .....	14
Punto de paro opcional .....	17
Hibridación .....	17
Hibridación: métodos de cóctel de sondas combinadas (CPC) y de sondas duales .....	17
Método de hibridación usando la placa de hibridación y del calentador de microplacas I .....	17
Método de hibridación usando microtubos y baño maría .....	18
Captura híbrida .....	19
Detección híbrida .....	19
Lavado .....	20
Método automatizado de lavadora de placas .....	20
Método de lavado manual .....	21
Amplificación de señales .....	21
CRITERIOS DE VERIFICACIÓN DE LA CALIBRACIÓN DE ENSAYOS .....	21
CÁLCULO DEL CORTE .....	23
CONTROL DE CALIDAD .....	24
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE ESPECÍMENES .....	25
Interpretación para tamizar pacientes con resultados de Papanicolaou de ASC-US para determinar la necesidad de referencia a colposcopia .....	25
Interpretación de los resultados para tamizar pacientes con los resultados del examen de Papanicolaou de LSIL o HSIL para determinar el riesgo de enfermedad de alto grado .....	26
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO .....	27
RESULTADOS ESPERADOS .....	28
Prevalencia del VPH .....	28
CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO .....	29
Sensibilidad y especificidad clínicas para el tamizaje de pacientes con resultados de Papanicolaou ASC-US para determinar la necesidad de referencia a colposcopia .....	29
Sensibilidad y especificidad clínicas para la determinación del riesgo de enfermedad de alto grado en mujeres con exámenes de Papanicolaou de LSIL o HSIL .....	31
Sensibilidad analítica .....	33
Desempeño del cóctel de sondas combinadas (CPC) .....	34
Equivalencia entre los especímenes de STM y de la solución PreservCyt .....	34
Reproducibilidad .....	34

REACTIVIDAD CRUZADA .....	36
Panel de reactividad cruzada .....	36
Hibridación cruzada .....	37
Efecto de la sangre y otras sustancias en especímenes de STM .....	37
Efecto de la sangre y otras sustancias en especímenes de la solución PreservCyt .....	38
Reproducibilidad de la prueba de ADN del VPH <i>digene</i> HC2 con especímenes clínicos recolectados en STM .....	38
Reproducibilidad de los especímenes de la solución PreservCyt en la prueba de ADN del VPH <i>digene</i> HC2 .....	38
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40
GUÍA DE IDENTIFICACIÓN Y SOLUCIÓN DE PROBLEMAS DE LA PRUEBA DE ADN DEL VPH <i>digene</i> HC2 .....	43
Verificación de contaminación .....	49
INFORMACIÓN DE PEDIDOS DE LA PRUEBA DE ADN DEL VPH <i>digene</i> HC2 .....	50
INFORMACIÓN DE CONTACTO .....	51

  
**MARISOL MASINO**  
 BIOQUÍMICA - M.N. 9482  
 DT - TECNOLAB S



**NOMBRE Y USO INDICADO**

La prueba de ADN del VPH «digene® Hybrid Capture® 2 (HC2) HPV DNA Test» es un ensayo de hibridación de ácidos nucleicos *in vitro* con amplificación de señales que usa quimioluminiscencia de microplacas para la detección cualitativa de dieciocho tipos de ADN del virus del papiloma humano (VPH) en especímenes cervicales. La prueba de ADN del VPH digene HC2 puede diferenciarse entre dos grupos de ADN del VPH: tipos de VPH de bajo riesgo 6/11/42/43/44; y tipos de VPH de riesgos alto e intermedio 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68, pero no puede determinar el tipo de VPH específico presente.

**Precaución: las leyes federales restringen este dispositivo para su venta por o bajo órdenes de un médico.**

Los siguientes son especímenes cervicales que pueden probarse con la prueba de ADN del VPH digene HC2:

- Especímenes recolectados con el dispositivo de recolección de ADN digene HC2
- Biopsias recolectadas en medio de transporte de especímenes digene (STM)
- Especímenes recolectados usando un dispositivo de recolección tipo escoba y colocados en solución HOLOGIC PreservCy® (remítase a las instrucciones de uso del kit de conversión de muestras «digene HC2 Sample Conversion Kit» para detalles completos).

El uso de esta prueba está indicado:

1. Para ayudar en el diagnóstico de infecciones de VPH sexualmente transmitidas con tipos de VPH 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68.
2. Para tamizar a pacientes con resultados de exámenes de Papanicolaou de ASC-US (células escamosas atípicas de significancia indeterminada) para determinar la necesidad de remisión a colposcopia. Los resultados de esta prueba no están indicados para evitar que las mujeres sigan con la colposcopia.
3. En mujeres con resultados de exámenes de Papanicolaou de lesión intraepitelial escamosa de grado bajo (LSIL, por su abreviatura en inglés) o lesión intraepitelial escamosa de grado alto (HSIL, por su abreviatura en inglés), antes de colposcopia, un resultado de la prueba de ADN del VPH digene HC2 ayudará al médico en el control de pacientes asistiendo con la valoración de riesgos de mujeres para determinar la ausencia de la enfermedad de alto grado.

La prueba de ADN del VPH digene HC2 no está indicada para su uso como dispositivo de tamizaje en la población general.

La prueba de ADN del VPH digene HC2 está diseñada para aumentar los métodos existentes para la detección de enfermedad cervical y deberá usarse en conjunción con la información clínica derivada de otras pruebas de diagnóstico y de tamizaje, exámenes físicos e historia médica completa de conformidad con los procedimientos de control de pacientes apropiados.

No deberán usarse los resultados de la prueba de ADN del VPH digene HC2 como la única base para valoración clínica y tratamiento de pacientes.

Para las pruebas de producción de muestras de alto volumen, puede realizarse la prueba de ADN del VPH digene HC2 usando la aplicación de instrumentos del sistema Rapid Capture® (RCS, por su abreviatura en inglés). Solamente se aprobó la sonda de VPH de alto riesgo para las pruebas de alto volumen para los tipos de VPH 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68. No se evaluó el desempeño usando la sonda de VPH de bajo riesgo. Por lo tanto, QIAGEN recomienda usar la prueba de ADN del VPH de alto riesgo digene HC2 para las pruebas con el sistema Rapid Capture.

**RESUMEN Y EXPLICACIÓN**

En mujeres, los virus del papiloma humano VPH pueden infectar la cérvix, vagina, vulva, uretra o el área alrededor del ano. Se han identificado más de 70 tipos de HPV, y se clasifican generalmente como alto riesgo o bajo riesgo dependiendo de su asociación o falta de asociación conocidas con el cáncer y su lesión precursora, la neoplasia intraepitelial cervical de alto grado (NIC 2-3). Se asocia la presencia de ciertos tipos de VPH en el tracto genital femenino a varias enfermedades, incluyendo la condiloma, papulosis bowenoides, neoplasia intraepitelial cervical, vaginal y vulvar y cáncer.<sup>1, 2</sup> Se acepta generalmente que se transmiten sexualmente de manera predominante estos virus y que los tipos de VPH de alto riesgo son un factor de riesgo reconocido mayor para el desarrollo de cáncer cervical.<sup>2, 3, 4, 5, 6</sup> Puede asociarse la infección de la cérvix con tipos de VPH de alto riesgo a cambios citológicos e histológicos que son detectados por el tamizaje de Papanicolaou, colposcopia o biopsia. Sin embargo, no se comprende completamente la historia natural de cómo progresa la infección por VPH a cáncer. Se han asociado los tipos de VPH 6 y 11 de bajo riesgo con la presencia de verrugas genitales, o condilomas, pero se han ligado infrecuentemente con cambios cervicales precancerosos o cancerosos. Hay muchos otros tipos de VPH de bajo riesgo que no se asocian a verrugas genitales o cáncer cervical.<sup>7, 8</sup>

Los virus del papiloma humano se componen de una partícula viral icosaédrica (virión) que contiene una molécula de ADN circular de doble cadena de pares de base 8000 rodeada de una cápside proteica. Después de la infección de células epiteliales, el ADN viral se establece a través de todo el grosor del epitelio, pero se encuentran intactos los viriones solamente en las capas superiores del tejido. Así, puede encontrarse el ADN viral ya sea en viriones o como secuencias de VPH episomáticas o de VPH integradas, dependiendo del tipo y grado de lesión.

A la fecha, no puede cultivarse el VPH *in vitro* y las pruebas inmunológicas son inadecuadas para determinar la presencia de infección cervical por VPH. Puede obtenerse evidencia indirecta de infección anogenital por VPH a través de un examen físico y por la presencia de cambios celulares característicos asociados a la replicación viral en examen de Papanicolaou o especímenes de biopsias. De manera alternativa, las biopsias pueden ser analizadas por hibridación de ácidos nucleicos para detectar directamente la presencia de ADN del VPH.

Históricamente, se han considerado los VPH 16 y 18 como tipos asociados de cáncer de alto riesgo de VPH.<sup>2, 9, 10</sup> Se ha demostrado que los tipos de VPH 31, 33 y 35 tienen una asociación intermedia con el cáncer.<sup>2, 11</sup> Esta asociación intermedia se debe al hecho de que estos tipos se detectan más frecuentemente en NIC 2-3 que en cánceres. Por lo tanto, los cánceres asociados a la presencia de estos tipos son menos comunes que los cánceres que se asocian a los tipos de ADN de VPH de alto riesgo 16 y 18.<sup>12</sup> Estos cinco tipos de VPH conjuntamente representan alrededor del 80% de cánceres cervicales.<sup>2, 13, 14</sup> Se han identificado los tipos de ADN del VPH de riesgo alto e intermedio adicionales, incluyendo los tipos 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68, como los VPH principales detectables en los cánceres remanentes.<sup>2, 14-20</sup>

La infección por VPH es común en adultos que han tenido más de una pareja sexual (o una sola pareja que ha tenido múltiples parejas) y puede persistir por años sin síntomas. La infección con algunos tipos de VPH es un factor importante de riesgo de cáncer cervical; no obstante, la mayoría de las mujeres con infección por VPH no desarrolla cáncer cervical o NIC 2-3 y las infecciones se revierten. La mayoría de las infecciones causa cambios citológicos leves que se resuelven. Se ha demostrado que el ADN del VPH está presente en aproximadamente el 10% de mujeres con epitelio cervical normal, pero la prevalencia real en grupos específicos de mujeres está enormemente influida por la edad y otras variables demográficas.<sup>2, 13, 21</sup> Estudios prospectivos (edad 16-60 años) han demostrado que el 15%-28% de mujeres ADN de VPH positivas desarrolló lesiones intraepiteliales escamosas (SIL) sugestivas de NIC 1-3 ó cáncer dentro de 2 años en comparación con solamente el 1%-3% de mujeres ADN de VPH negativas.<sup>4, 22, 23</sup> En particular, fue mayor el riesgo de progresión para los tipos de VPH 16 y 18 (aproximadamente el 40%) que para otros tipos de VPH.<sup>4, 6, 10, 23, 24</sup> La mayoría de las SIL fue de grado bajo.

Muy pocas mujeres ADN de VPH positivas desarrollan HSIL citológico, indicando NIC 2-3 subyacente ó cáncer.<sup>25</sup> No se ha descrito adecuadamente el riesgo absoluto de desarrollar una anomalía citológica del incidente después de una infección por VPH con tipos detectados por la prueba de ADN del VPH digene HC2 y se sabe que varía en poblaciones distintas.<sup>6</sup>

Aunque la literatura científica actual sugiere que la infección persistente con VPH de alto riesgo es el factor de riesgo principal para el desarrollo de neoplasia cervical de alto grado y cáncer.<sup>2, 4, 5, 10, 24, 26-31</sup> la persistencia aparente puede representar una infección continua con un tipo único de VPH, con múltiples tipos de VPH, o reinfección. No obstante, parece que las mujeres que son Papanicolaou negativas y VPH de alto riesgo negativas repetidamente, se encuentran bajo riesgo de tener o desarrollar lesiones precancerosas cervicales.<sup>5, 24, 32, 33</sup>

**PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO**

La prueba de ADN del VPH «digene HC2 HPV DNA Test», que usa la tecnología Hybrid Capture 2, es un ensayo de hibridación de ácidos nucleicos con amplificación de señales que utiliza la detección de quimioluminiscencia de microplacas. Los especímenes que contienen el ADN blanco se hibridan con un cóctel de sondas de ARN del VPH específico. Se capturan los híbridos ARN:ADN resultantes en la superficie de un microprozo cubierto con anticuerpos específicos para los híbridos ARN:ADN. Se reaccionan entonces los híbridos inmovilizados con anticuerpos conjugados con fosfatasa alcalina específicos para los híbridos ARN:ADN y detectados con un sustrato quimioluminiscente. Se conjugan varias moléculas de fosfatasa alcalina a cada anticuerpo. Se unen los múltiples anticuerpos conjugados a cada híbrido capturado, dando como resultado una amplificación de señales sustancial. Conforme el sustrato es segmentado por la fosfatasa alcalina unida, se emite luz que se mide como unidades relativas de luz (URL) en un luminómetro. La intensidad de la luz emitida denota la presencia o ausencia de ADN blanco en el espécimen.

Una medición de URL igual o mayor al valor de corte (CO, por su abreviatura en inglés) indica la presencia de secuencias de ADN del VPH en el espécimen. Una medición de URL menor al valor de corte indica la ausencia de las secuencias de ADN del VPH específicas probadas o niveles de ADN del VPH por debajo del límite de detección del ensayo.

*[Handwritten signatures]*

MARISOL MASINO  
BIOQUÍMICA - M.N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A.

3126



**REACTIVOS Y MATERIALES PROPORCIONADOS**

Hay 96 pruebas en un kit de prueba de ADN del VPH *digene* HC2 (REF 5198-1220). El número de resultados de pacientes variará, dependiendo del número de usos por kit:

- 1 uso = 40 resultados de pacientes (riesgo bajo) y 40 resultados de pacientes (riesgo alto) u 85 resultados de pacientes (riesgos bajo y alto combinados usando el método de sondas combinadas)
- 2 usos = 32 resultados de pacientes (riesgo bajo) y 32 resultados de pacientes (riesgo alto) ó 74 resultados de pacientes (riesgos bajo y alto combinados usando el método de sondas combinadas)
- 1 x 0.35 mL **Colorante indicador**  
Contiene azida de sodio al 0.05% (w/v).
- 1 x 50 mL **Reactivo de desnaturalización\***  
Diluya la solución de hidróxido de sodio (NaOH).
- 1 x 5 mL **Diluyente de la sonda\***  
Solución amortiguada con azida de sodio al 0.05% (w/v).
- 1 x 150 µL **Sonda de VPH de bajo riesgo**  
Cóctel de sondas de ARN 6/11/42/43/44 del VPH en solución amortiguada (tapa verde).
- 1 x 100 µL **Sonda de VPH de alto riesgo**  
Cóctel de ARN 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68 de VPH en solución amortiguada (tapa roja).
- 1 x 1 mL **Control de calidad del VPH de bajo riesgo\***  
5 pg/mL (500 000 copias/mL) de ADN de VPH 6 clonado y ADN acarreador en STM con azida de sodio al 0.05% (w/v).
- 1 x 1 mL **Control de calidad del VPH de alto riesgo\***  
5 pg/mL (500 000 copias/mL) de ADN de VPH 16 clonado y ADN acarreador en STM con azida de sodio al 0.05% (w/v).
- 1 x 2 mL **Calibrador negativo\***  
ADN acarreador en medio de transporte de especímenes *digene* con azida de sodio al 0.05% (w/v).
- 1 x 1 mL **Calibrador de VPH de bajo riesgo\***  
1 pg/mL de ADN de VPH 11 clonado y ADN acarreador en STM con azida de sodio al 0.05% (w/v).
- 1 x 1 mL **Calibrador de VPH de alto riesgo\***  
1 pg/mL de ADN de VPH 16 clonado y ADN acarreador en STM con azida de sodio al 0.05%.
- 1 x 1 **Microplaca de captura**  
Cubierta con anticuerpos híbridos anti-ARN:ADN policlonales cabrios.
- 1 x 12 mL **Reactivo de detección 1**  
Anticuerpos conjugados con fosfatasa alcalina a híbridos ARN:ADN en solución amortiguada con azida de sodio al 0.05% (w/v).
- 1 x 12 mL **Reactivo de detección 2**  
CDP-Star® con Emerald II (sustrato quimioluminiscente).
- 1 x 100 mL **Concentrado de solución amortiguadora de lavado\***  
Contiene azida de sodio al 1.5% (w/v).

\* Véase la sección *Alertas y precauciones* de este inserto para información de salud e inocuidad.

**MATERIALES REQUERIDOS MAS NO SUMINISTRADOS****Equipo accesorios de diagnóstico *in vitro* del sistema Hybrid Capture<sup>A</sup>**

El sistema Hybrid Capture 2 («sistema *digene* HC2»), consistente en un luminómetro aprobado por QIAGEN («luminómetro»), computadora personal y periféricos de la computadora aprobados por QIAGEN (monitor, teclado, ratón, impresora y cable de impresora), software del sistema *digene* HC2 («software de análisis de ensayos *digene*»), protocolos de ensayo para VPH del sistema *digene* HC2, software para placas LumiCheck y Guía del usuario del sistema *digene* Hybrid Capture 2; o el equipo listado anteriormente con el software cualitativo *digene* versión 1.3 ó anterior («software de análisis de ensayos *digene*») y Manual del usuario del software cualitativo *digene*.

Agitador giratorio I del sistema Hybrid Capture  
Calentador de microplacas I del sistema Hybrid Capture  
Lavador de placas automatizado del sistema Hybrid Capture (opcional)  
Tubo de especímenes múltiples del sistema Hybrid Capture (MST) Vortexer 2 (opcional)  
Gradilla de conversión y tapa de gradilla (opcionales)  
Gradilla de especímenes y tapa para gradillas *digene* (opcionales)  
Dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2  
Dosificador del sellador de tubos y dispositivo de corte (opcionales, usados en el MST Vortexer 2)  
Sistema Rapid Capture (opcional para pruebas de producción de muestras de alto volumen)<sup>D</sup>  
Aparato de lavado  
Microplacas de hibridación  
Tapas de microplacas  
Tiras de microplacas vacías (disponibles de Costar, modelo #2581); opcionales para su uso con el lavador de placas automatizado  
Puntas de pipetas extralargas para la remoción de espécimen  
Tubos de recolección de especímenes  
Gradilla de tubos de recolección de especímenes  
Gradilla de tubos de especímenes  
Tapa rosca de tubos de recolección de especímenes  
Reservorios de reactivos desechables  
Película selladora de tubos DuraSeal®  
Microtubos de hibridación<sup>C</sup>  
Gradillas de microtubos<sup>C</sup>  
Selladores de placas<sup>C</sup>

**Equipo y accesorios de uso de laboratorio generales**

Baño maría a 65 ± 2° C de suficiente tamaño para soportar ya sea una gradilla MST Vortexer 2 (36 x 21 x 9 cm) o dos gradillas de especímenes (cada uno de 31.7 x 15.2 x 6.4 cm)  
Microcentrífuga (opcional para centrifugar viales de sonda para obtener un volumen máximo de sonda)  
Mezcladora de vórtice con accesorio de copa  
Micropipeta de un solo canal, configuraciones variables para volúmenes de 20-200 µL  
Pipeta de desplazamiento positivo repetida, como la pipeta Eppendorf® Repeater® o equivalente  
Pipeta de ocho canales: configuraciones variables para volúmenes de 25-200 µL  
Temporizador  
Solución de hipoclorito de sodio, 5% v/v (o blanqueador doméstico)  
Parafilm® o equivalente<sup>C</sup>  
Puntas de pipetas de barrera de aerosol desechables para pipeta de un solo canal (20 a 200 µL)  
Puntas desechables para pipeta Eppendorf Repeater (25 y 500 µL)  
Puntas desechables para pipeta de ocho canales (25 a 200 µL)  
Toallas Kimtowels® o toallas de papel con poca pelusa equivalentes  
Protector contra picos de tensión eléctrica  
Cubierta para mesa de trabajo desechable  
Guantes libres de polvo  
Tapa a presión de 5 mL y/o 15 mL, tubos de polipropileno de fondo redondo (para dilución de la sonda)  
Pipeta serológica de 5 mL desechable o pipeta de un solo canal y puntas con capacidad de volumen de 1000 µL (para el diluyente de sonda y procesamiento de especímenes de la solución PreservCyt)

MARISOL MASINO  
BIOQUÍMICA - M.N. 9483  
DT - TECNICIARIA



Procesamiento de especímenes de la solución PreservCyt, equipo y accesorios necesarios

Kit de conversión de muestras *digene* HC2 <sup>A</sup> (para el procesamiento de especímenes de la solución PreservCyt)  
Centrífuga flotante capaz de alcanzar 2900 ± 150 x g y soportar tubos para centrifuga de polipropileno cónicos de 10 mL ó 15 mL.  
Tubos cónicos de 10 mL Sarstedt® con tapas (REF 62 9924-283), tubos para centrifuga de polipropileno de fondo cónico marca VWR o Corning de 15 mL con tapas (para su uso con el procedimiento Vortexer 2 de tubos para especímenes múltiples)  
Puntas desechables para pipeta Eppendorf Repeater (50 y 100 µL)

- A Solamente están disponibles de QIAGEN equipo y accesorios validados con las pruebas de ADN del VPH *digene* HC2.
- B Personalizar artículo. Pueden usarse pipetas de canales múltiples expansibles personalizados, es loggable cuando se expande el espacio de puntas proporcionado de 3.2 cm. De manera alternativa, puede usarse una pipeta de un solo canal de 75 µL de pipeteado.
- C Se usan estos artículos para el método de baño maría solamente y no se requieren cuando se usa el método de hibridación de calentador de microplacas I.
- D Remítase a la *Guía de usuario del sistema Rapid Capture* para las instrucciones específicas para el uso de ese sistema para pruebas de producción de muestras de alto volumen con este ensayo.

**ALERTAS Y PRECAUCIONES**

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

**PRECAUCIONES DE SEGURIDAD**

1. MANEJE TODOS LOS ESPECÍMENES DEL ENSAYO Y LOS MATERIALES DISPENSADOS COMO SI FUESEN CAPACES DE TRANSMITIR AGENTES INFECCIOSOS. Deberán manejarse los especímenes de los pacientes en el nivel BSL 2 como es recomendado para cualquier suero humano o espécimen sanguíneo potencialmente infeccioso en el manual CDC-NIH, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 3a edición, 1993, pp. 10–13 y el lineamiento M29-A aprobado por el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio/NCCLS, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue*.
2. No pipeteo por la boca.
3. No fume, coma o tome en áreas donde se manejen reactivos o especímenes.
4. Use guantes libres de polvo desechables mientras maneje reactivos o especímenes. Lávese las manos completamente después de realizar la prueba.
5. Deberán eliminarse todos los materiales usados en este ensayo, incluyendo los reactivos y especímenes, de una manera que inactiven los agentes infecciosos de conformidad con la normatividad nacional y local.  
**Residuos sólidos:** Autoclave.  
**Residuos líquidos:** Agregue hipoclorito de sodio a una concentración final del 0.5% (dilución 1:10 de blanqueador doméstico). Deje 30 minutos para su descontaminación antes de su eliminación.<sup>34, 35</sup>
6. DERRAMES: limpie y desinfecte todos los derrames de especímenes usando un desinfectante tuberculocidal como la solución de hipoclorito de sodio al 0.5% (dilución 1:10 de blanqueador doméstico) u otro desinfectante idóneo. Deberán neutralizarse y secarse con trapo los derrames que contengan base y posteriormente deberán limpiarse las áreas de derrame con una solución de hipoclorito de sodio al 0.5%.
7. Deberá cubrirse el área limpiada con material absorbente, saturado con una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% y dejarse reposar durante por lo menos 10 minutos. Puede usarse una cubierta o bandeja de vidrio o de plástico para reducir la exposición a los humos.
8. Trate todos los materiales de limpieza como residuo nocivo y elimine de conformidad con las normatividades nacional y local.

**PRUEBAS AUTOMATIZADAS POR RCS**

Remítase al *Manual de usuario del sistema Rapid Capture* para Alertas y precauciones adicionales específicas al uso de ese sistema para pruebas de producción de muestras de alto volumen.

**DECLARACIONES DE SEGURIDAD Y RIESGOS PARA LOS COMPONENTES**

Se aplican las siguientes frases de riesgos y de seguridad a componentes del kit de la prueba de ADN del VPH *digene*: **Concentrado de solución amortiguadora de lavado**



Contiene: azida de sodio. ¡Alerta! Dañina si se ingiere. Dañina para la vida acuática con efectos de larga duración. Evite su liberación al medioambiente. Deseche el contenido/contenedor a una planta de desecho residual aprobado.

**Reactivo de desnaturalización**



Contiene: hidróxido de sodio. ¡Peligro! Causa quemaduras cutáneas y daños a los ojos severos. Puede ser corrosivo a los metales. Deseche el contenido/contenedor a una planta de desechos residuales aprobado. SI ESTÁ EN LOS OJOS: enjuague precautoriamente con agua por varios minutos. Quite las lentes de contacto, si están presentes y es fácil de hacerlo. Continúe enjuagando. SI ESTÁ EN LA PIEL (o cabello): quite inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuáguese la piel con agua/en regadera. Llame inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o doctor/médico. Almacénela con seguro. Use guantes protectores/ropa protectora/protección para los ojos/protección para el rostro.

**Diluyente de la sonda**



Contiene: ácido acético; ácido poliacrílico. ¡Peligro! Causa quemaduras cutáneas y daños a los ojos severos. Deseche el contenido/contenedor a una planta de desechos residuales aprobada. SI ESTÁ EN LOS OJOS: enjuague precautoriamente con agua por varios minutos. Quite las lentes de contacto, si están presentes y es fácil de hacerlo. Continúe enjuagando. SI ESTÁ EN LA PIEL (o cabello): quite inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuáguese la piel con agua/en regadera. Llame inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o doctor/médico. Almacénela con seguro. Use guantes protectores/ropa protectora/protección para los ojos/protección para el rostro.

**Calibrador de VPH de alto riesgo**

¡Alerta! Causa irritación leve de la piel. Si ocurre irritación de la piel: obtenga atención/consulta médica.

**Control de calidad del VPH de alto riesgo**

¡Alerta! Causa irritación leve de la piel. Si ocurre irritación de la piel: obtenga atención/consulta médica.

**Control de calidad del VPH de bajo riesgo**

¡Alerta! Causa irritación leve de la piel. Si ocurre irritación de la piel: obtenga atención/consulta médica.

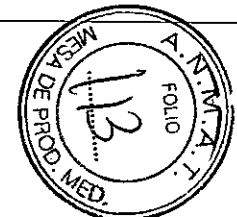
**Calibrador negativo**

¡Alerta! Causa irritación leve de la piel. Si ocurre irritación de la piel: obtenga atención/consulta médica.

**MÁS INFORMACIÓN**

Hojas de datos de seguridad: [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

MARISOL MASINO  
BIOQUÍMICA - M.N. 9483  
DT-TECNOLAB S.A.



3126

### PRECAUCIONES DE MANEJO

1. Para uso de diagnóstico *in vitro*.
2. Realizar el ensayo fuera del tiempo y rangos de temperatura establecidos puede producir resultados inválidos. Deben repetirse los ensayos que no caigan dentro del tiempo y rangos de temperatura establecidos.
3. No use los reactivos más allá de la fecha de caducidad en el marbete de la caja externa.
4. Deben seguirse de manera cercana el procedimiento de prueba de ADN del VPH *digene* HC2, los controles de calidad, los criterios de calibración y verificación del ensayo y la interpretación de los resultados de especímenes para obtener resultados de prueba confiables.
5. Es importante pipetear el volumen de reactivo exacto indicado y mezclar bien después de cada adición de reactivo. No hacerlo podría dar como resultado resultados de prueba erróneos. Asegurarse de que ocurren los cambios de color notados ayudará a confirmar que se han cumplido estas condiciones.
6. Se han probado estos componentes como una unidad. No intercambie componentes de otras fuentes o de distintos lotes.
7. Los ácidos nucleicos son muy sensibles a la degradación de nucleasa medioambiental. Las nucleasas están presentes en la piel humana o en superficies o materiales manejados por los humanos. Limpie y cubra las superficies de trabajo con cojinetes desechables y use guantes libres de polvo cuando realice todas las etapas del ensayo.
8. Deberá tenerse cuidado para prevenir la contaminación de la microplaca de captura y el reactivo de detección 2 con fosfatasa alcalina exógena durante la realización del ensayo. Las sustancias que pueden contener fosfatasa alcalina incluyen el reactivo de detección 1, bacterias, saliva, cabello y grasas de la piel. Es especialmente importante cubrir la microplaca de captura después de la etapa de lavado y durante la incubación del reactivo de detección 2 es especialmente importante ya que la fosfatasa alcalina exógena puede reaccionar con el reactivo de detección 2 produciendo resultados falsos positivos.
9. Proteja el reactivo de detección 2 de la exposición prolongada a la luz directa. Use reactivo inmediatamente después de dividir en partes alícuotas y evite la luz solar directa.
10. Deberá tenerse cuidado de entregar los volúmenes correctos de reactivos a los tubos de reacción y microplacas en todas las etapas y de mezclar bien después de cada adición de reactivo. Deberá iniciarse la pipeta repetidora por anticipado de suministro de reactivo y verificarse las burbujas de aire grandes periódicamente. Cantidades excesivas de burbujas de aire grandes en la punta de la pipeta repetidora pueden causar una entrega inexacta y pueden evitarse llenando la pipeta, dispensando todo el líquido y volviendo a llenar. Véanse los manuales de instrucciones de la pipeta para instrucciones de uso específicas.
11. Deberá realizarse el pipeteado de canales múltiples usando la técnica de pipeteado reverso para dispensar los reactivos de detección 1 y 2. Verifique cada punta de pipeta en la pipeta de canales múltiples para un ajuste y llenado apropiados. Remítase al manual del operador de pipetas de canales múltiples del fabricante.
12. Deberá tenerse cuidado durante el lavado para asegurarse de que se lave completamente cada micropozo, como es indicado en las instrucciones de lavado manual. Un lavado inadecuado dará como resultado un fondo incrementado y puede causar resultados falsos positivos. La solución amortiguadora del lavado residual en los pozos puede dar como resultado una señal reducida o una reproducibilidad pobre.
13. El cepillo cervical es para su uso con mujeres no embarazadas solamente.
14. Permita 60 minutos para que se equilibre el calentador de microplacas I del sistema Hybrid Capture a 65 ± 2° C desde un comienzo frío. No permitir este período de calentamiento podría dar como resultado el derretimiento de las microplacas de hibridación. Consulte el *Manual del operador del calentador de microplacas I* para detalles.

### PREPARACION Y ALMACENAMIENTO DE REACTIVOS

1. Contra entrega, almacene el kit a 2°-8° C. Pueden almacenarse el concentrado de solución amortiguadora de lavado, el reactivo de desnaturalización y el colorante indicador a 15°-30° C, si se desea.
2. No se use después de la fecha de caducidad impresa en el marbete de la caja externa o la fecha de caducidad de los reactivos preparados (véase más adelante).
3. Se proporcionan listos para usarse todos los reactivos, excepto el reactivo de desnaturalización, las sondas de VPH de bajo y alto riesgos y la solución amortiguadora de lavado.

Para probar los especímenes por presencia de alguno de los 18 tipos de VPH, se ha proporcionado un método de cóctel de sondas combinadas (CPC, por su abreviatura en inglés). Para probar usando esta opción, debe prepararse un cóctel de sondas combinadas mezclando el cóctel de sondas de VPH de bajo riesgo diluidas y el cóctel de sondas de VPH de alto riesgo diluidas conjuntamente antes de realizar la prueba

de ADN del VPH *digene* HC2. El método de dos sondas usa los cócteles de sondas de VPH de bajo y alto riesgos. Véanse las instrucciones a continuación.

Remítase a la *Guía de usuario del sistema Rapid Capture* para la preparación de la mezcla de la sonda de VPH de alto riesgo, la solución amortiguadora de lavado, el reactivo de detección 1 y el reactivo de detección 2, ya que esas instrucciones son específicas para el uso de ese sistema para pruebas de producción de muestras de alto volumen.

Reactivo	Método de preparación												
Reactivo de desnaturalización	<p><b>PREPARE PRIMERO:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Agregue cinco gotas de colorante indicador a la botella de reactivo de desnaturalización y mezcle completamente. El reactivo de desnaturalización deberá ser de un color púrpura oscuro y uniforme.</li> </ul> <p>Una vez preparado, el reactivo de desnaturalización está estable por tres meses cuando se almacena a 2°-8° C. Etiquételo con la fecha de caducidad nueva. Si se desvanece el color, adicione tres gotas de colorante indicador y mezcle completamente antes de su uso.</p> <p><b>Alerta:</b> el reactivo de desnaturalización es corrosivo. Use ropa protectora, guantes, protección para los ojos/el rostro idóneos. Tenga cuidado cuando quite la tapa de la botella y durante su manipulación.</p>												
Cóctel de sondas de VPH de bajo riesgo  (Preparado de sonda de VPH de bajo riesgo y diluyente de los reactivos de la sonda)	<p><b>PREPARESE DURANTE LA INCUBACIÓN DE DESNATURALIZACIÓN DE ESPECÍMENES:</b></p> <p><b>IMPORTANTE: ALGUNAS OCASIONES LA SONDA SE QUEDA ATRAPADA EN LA TAPA DEL VIAL</b></p> <p><b>Nota:</b> deberá tenerse mucho cuidado en esta etapa para prevenir la contaminación de RNAsa de la sonda y la mezcla de sondas. Use puntas de pipeta con barrera de aerosol para pipetear la sonda. El diluyente de la sonda es viscoso.</p> <p><b>Deberá tenerse cuidado de asegurar una mezcla completa cuando se preparen sondas del VPH. Debe formarse un vórtice visible en el líquido durante la etapa de mezcla. Una mezcla incompleta puede dar como resultado una señal reducida.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Centrifugue el vial de la sonda de VPH de bajo riesgo brevemente para llevar el líquido al fondo del vial. Golpee suavemente para mezclar.</li> <li>Determine la cantidad de mezcla de la sonda requerida (25 µL/prueba). Se recomienda que se haga la mezcla de la sonda extra para representar el volumen que puede perderse en las puntas de pipeta o en el costado del vial. Remítase a los volúmenes sugeridos listados a continuación. El número más pequeño de pozos recomendado para cada uso es 24. Si se desean menos de 24 pozos por ensayo, puede reducirse el número total de pruebas por kit debido a los volúmenes limitados de sonda y de diluyente de la sonda.</li> <li>Pase la cantidad requerida de diluyente de la sonda a un contenedor desechable nuevo. Dependiendo del número de pruebas, se recomienda un tubo de polipropileno de fondo redondo con tapa a presión de 5 mL o de 15 mL. Haga una dilución 1:25 de la sonda de VPH de bajo riesgo en el diluyente de la sonda para preparar la mezcla de la sonda.</li> </ul> <table border="1"> <thead> <tr> <th>No. de pruebas/tiras</th> <th>Volumen del diluyente de la sonda*</th> <th>Volumen de la sonda*</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>48/6</td> <td>2.0 mL</td> <td>80 µL</td> </tr> <tr> <td>24/3</td> <td>1.0 mL</td> <td>40 µL</td> </tr> <tr> <td>1 prueba</td> <td>0.045 mL</td> <td>1.8 µL</td> </tr> </tbody> </table> <p>* Estos valores incluyen el volumen extra recomendado.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Pipetee la sonda de VPH de bajo riesgo en el diluyente de la sonda colocando la punta de pipeta contra la pared interna del tubo justo por encima del menisco y expulsando el contenido. No sumerja la punta en el diluyente de la sonda.</li> <li>Pase por vórtice durante por lo menos 5 segundos a velocidad máxima para mezclar completamente. Debe producirse un vórtice visible. Etiquete como «LR HPV Probe Cocktail» (Cóctel de sondas de VPH LR). Deberá desecharse la mezcla de la sonda no usada.</li> </ul>	No. de pruebas/tiras	Volumen del diluyente de la sonda*	Volumen de la sonda*	48/6	2.0 mL	80 µL	24/3	1.0 mL	40 µL	1 prueba	0.045 mL	1.8 µL
No. de pruebas/tiras	Volumen del diluyente de la sonda*	Volumen de la sonda*											
48/6	2.0 mL	80 µL											
24/3	1.0 mL	40 µL											
1 prueba	0.045 mL	1.8 µL											

MARISOL MASINO  
BIOQUÍMICA - M. N. 9482  
I. T. TECNOLAR

Reactivo	Método de preparación												
Cóctel de sondas de VPH de alto riesgo  (Preparado de la sonda de VPH de alto riesgo y el diluyente de los reactivos de la sonda)	La sustitución de la sonda de VPH de alto riesgo para la preparación de la sonda de VPH de bajo riesgo es igual que la anterior.  Etiquete como «HR HPV Probe Cocktail» (Cóctel de sondas de VPH de alto riesgo)												
Cóctel de sondas combinadas  Nota: para el método de cóctel de sondas combinadas solamente. No prepare si debe usarse el método de dos sondas.	Prepare los cócteles de sondas de VPH de bajo y alto riesgos como se describió anteriormente. Agregue todo el contenido del cóctel de sondas de VPH de bajo riesgo diluido al tubo de cóctel de sondas de VPH de alto riesgo diluido. Mezcle completamente colocando en vórtice durante por lo menos 5 segundos a velocidad máxima. Debe producirse un vórtice visible. Etiquete como «Combined-Probe Cocktail» (cóctel de sondas combinadas).												
Solución amortiguadora de lavado	<p><b>PREPÁRESE DURANTE LA ETAPA DE CAPTURA:</b></p> <p>Para el lavador de placas automatizado del sistema Hybrid Capture, puede prepararse la solución amortiguadora de lavado como se describe a continuación y almacenarse en un contenedor cubierto, o prepare 1 L a la vez y colóque en los reservorios del lavador de placas automatizado. Véase la tabla a continuación para los volúmenes de mezcla.</p> <p><b>Alerta: es tóxico el concentrado de solución amortiguadora de lavado por ingesta. Use ropa protectora, guantes, protección para los ojos/el rostro idóneos. Para minimizar la exposición, adicione agua al concentrado de solución amortiguadora de lavado cuando se prepare.</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Cantidad de concentrado de la solución amortiguadora de lavado</th> <th>Cantidad de agua destilada o desionizada</th> <th>Volumen final de la solución amortiguadora de lavado</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>33.3 mL</td> <td>966.7 mL</td> <td>1 L</td> </tr> <tr> <td>66.7 mL</td> <td>1,933.3 mL</td> <td>2 L</td> </tr> <tr> <td>100.0 mL</td> <td>2,900.0 mL</td> <td>3 L</td> </tr> </tbody> </table> <p><b>Es importante siempre dejar prendida la unidad en todo momento. Esto permite que se realice el enjuague de mantenimiento después de ocho horas de no uso.</b></p> <p><b>Antes de cada ensayo, asegúrese de que el reservorio de residuos esté vacío y de que el reservorio de enjuague esté lleno de agua desionizada.</b></p> <p>Véase el <i>Manual del operador del lavador de placas automatizado</i> para instrucciones adicionales de cuidado y mantenimiento.</p> <p><b>Método alternativo del lavado manual de placas:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mezcle bien el concentrado de solución amortiguadora de lavado.</li> <li>• Diluya 100 mL de concentrado de solución amortiguadora de lavado con 2.9 L de agua destilada o desionizada en el aparato de lavado y mezcle bien (el volumen final deberá ser de 3 L).</li> <li>• Selle el contenedor para prevenir la contaminación o evaporación.</li> </ul> <p>Una vez preparada, la solución amortiguadora de lavado está estable por tres meses a 2°-25° C. Etiquétela con la fecha de caducidad nueva. Si se ha refrigerado la solución amortiguadora de lavado, equilibre a 20°-25° C antes de su uso.</p> <p>Se recomienda que se limpie el aparato de lavado y la tubería con blanqueador y se enjuague completamente con agua destilada o desionizada una vez cada tres meses para evitar una posible contaminación de fosfatasa alcalina presente en bacterias y mohos.</p>	Cantidad de concentrado de la solución amortiguadora de lavado	Cantidad de agua destilada o desionizada	Volumen final de la solución amortiguadora de lavado	33.3 mL	966.7 mL	1 L	66.7 mL	1,933.3 mL	2 L	100.0 mL	2,900.0 mL	3 L
Cantidad de concentrado de la solución amortiguadora de lavado	Cantidad de agua destilada o desionizada	Volumen final de la solución amortiguadora de lavado											
33.3 mL	966.7 mL	1 L											
66.7 mL	1,933.3 mL	2 L											
100.0 mL	2,900.0 mL	3 L											

#### Volúmenes para reactivos listos para usarse

Reactivo de detección 1 y reactivo de detección 2	INMEDIATAMENTE ANTES DE SU USO:
	Mezcle el reactivo completamente, posteriormente mida de forma cuidadosa el volumen apropiado del reactivo de detección 1 (ó reactivo de detección 2) en un reservorio de reactivo limpio siguiendo los lineamientos mostrados a continuación. Para evitar contaminación, <b>NO DEBEN</b> regresarse estos reactivos a las botellas originales; <b>deseche el material no utilizado después del uso</b> . Si no se está usando una pipeta de ocho canales, puede sustituirse una pipeta repetidora apropiada. En este caso, deberán hacerse partes alicuotas del reactivo en un tubo de polipropileno de suficiente tamaño para soportar el volumen requerido como se indica a continuación.
No. de pruebas/firas	Volumen de los reactivos de detección 1 y 2
96/12	Contenido de la botella
72/9	7.0 mL
48/6	5.0 mL
24/3	3.0 mL
1 prueba	0.125 mL

#### RECOLECCIÓN Y MANEJO DE ESPÉCIMENES

Se listan a continuación los tipos de especímenes cervicales recomendados para su uso en la prueba de ADN del VPH *digene* HC2. No se han calificado para su uso con este ensayo los especímenes tomados con otros dispositivos de muestreo o transportados en otros medios de transporte. **Se desconocen las características de desempeño de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 con otros tipos de especímenes y dispositivos de recolección.** Deben recolectarse los especímenes cervicales antes de la aplicación de ácido acético o yodo si se está realizando un examen colposcópico. Véanse las instrucciones de uso del dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 para los procedimientos adicionales de recolección y manejo de especímenes.

#### CEPILLOS CERVICALES\*

La prueba de ADN del VPH *digene* HC2 está diseñada para su uso con especímenes recolectados y transportados usando el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 (cepillo cervical y STM). Pueden retenerse los especímenes por hasta dos semanas a temperatura ambiente y embarcarse al laboratorio de análisis, después de lo cual, pueden almacenarse los especímenes una semana adicional a 2°-8° C. Si se realiza el ensayo más de tres semanas desde la recolección, pueden ponerse los especímenes a -20° C por hasta tres meses antes del análisis. Se ha adicionado un conservador al ST para retrasar el crecimiento bacteriano y para retener la integridad de ADN. **No está indicada** para conservar la viabilidad de organismos o células. **No deberá usar** el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 para la recolección de especímenes de mujeres embarazadas.

Tiempo antes de las pruebas	Duración de almacenamiento	Temperatura de conservación
3 semanas	Hasta 2 semanas	Temperatura ambiente
	Hasta una semana adicional	2°-8° C
Mayor a 3 semanas	Hasta 3 meses	-20° C

Pueden embarcarse los especímenes sin refrigeración a un laboratorio de análisis; sin embargo, deberán embarcarse los especímenes en un contenedor aislado usando ya sea un proveedor de entrega de un día para el otro o de 2 días.

#### BIOPSIAS CERVICALES\*

También pueden analizarse biopsias cervicales recolectadas recientemente, 2-5 mm en la sección cruzada, con la prueba de ADN del VPH *digene* HC2. Debe cotocarse el espécimen de la biopsia inmediatamente en 1.0 mL de STM y almacenarse congelado a -20° C. Pueden embarcarse los especímenes de la biopsia a 2°-30° C para una entrega de un día para otro al laboratorio de análisis y conservarse a -20° C hasta que se procesen. **No deberán usarse** biopsias menores a 2 mm de diámetro.

MARISOL MASINO  
BIOQUÍMICA - M.N. 9483  
DT-TECNOLAB S.A



3126



## ESPECÍMENES EN SOLUCIÓN PRESERVACYT DE CYTYC

Pueden usarse los especímenes recolectados con un dispositivo de recolección tipo escoba y puestos en solución PreservCyt para su uso en la preparación de portaobjetos de la prueba de Papanicolaou ThinPrep® en la prueba de ADN del VPH *digene* HC2. Deberán recolectarse los especímenes de la manera rutinaria y deberán prepararse los portaobjetos de la prueba de Papanicolaou ThinPrep de acuerdo con las instrucciones de HOLOGIC.

Debe haber por lo menos 4 mL de solución PreservCyt remanentes para la prueba de ADN del VPH *digene* HC2. Los especímenes que se han preparado con menos de 4 mL después de la prueba de Papanicolaou ThinPrep pueden contener material insuficiente y podrían ser falsamente negativos con la prueba de ADN del VPH *digene* HC2.

Pueden retenerse los especímenes de la solución PreservCyt por hasta tres meses a 2°-30° C, después de la recolección y antes del procesamiento para la prueba de ADN del VPH *digene* HC2. No pueden congelarse los especímenes de la solución PreservCyt. Para procesar estos especímenes, remítase a las instrucciones de uso del kit de conversión de muestras «*digene* HC2 Sample Conversion Kit». Por conveniencia, también se han incluido las etapas de procesamiento de especímenes en la sección *Procedimiento de la prueba* a continuación.

\*Nota: Para evitar que salgan disparadas las tapas de los especímenes que son embarcados o almacenados congelados (para especímenes de STM o especímenes convertidos de la solución PreservCyt):

1. Cubra las tapas con Parafilm o equivalente antes de embarcar los especímenes previamente congelados. Pueden embarcarse los especímenes congelados a 20°-25° C.
2. Cuando quite los especímenes del congelador para los análisis, sustituya las tapas inmediatamente con tapa roscas de tubos de recolección de especímenes.

## PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Los especímenes pueden contener agentes infecciosos y deberán manejarse como corresponda.

### PRUEBAS DE PRODUCCIÓN DE MUESTRAS DE ALTO VOLUMEN USANDO EL RCS

El sistema Rapid Capture es un sistema de pipeteado y dilución automatizado de uso general que puede usarse con la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 (sonda de VPH de alto riesgo solamente) para pruebas de producción de muestras de alto volumen. Este sistema maneja hasta 352 especímenes en ocho horas, incluyendo un período de 3.5 horas durante el cual no se requiere la intervención del usuario; pueden generarse resultados de hasta 704 especímenes en 13 horas. Se realiza de forma independiente la desnaturalización de los especímenes en preparación para pruebas del RCS, en el tubo de recolección primario, como se realizó para el método manual de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 descrita a continuación, antes de colocarse en la plataforma del RCS. Además, se realizan la detección de señales quimioluminiscentes y el reporte de los resultados usando el sistema de luminómetros fuera de línea común tanto para el método manual como el del RCS. Cada una de las etapas de procedimiento de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 se realiza en la secuencia exacta como el procedimiento de pruebas manuales. La aplicación de RCS permite el procesamiento escalonado de hasta 4 microplacas, cada placa conteniendo los especímenes y los calibradores y controles de calidad del ensayo requeridos. Ya que los accesorios requeridos para la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 y las etapas de procedimiento son iguales, también puede realizarse manualmente el ensayo como se describe en la siguiente sección.

Cuando use el sistema Rapid Capture, remítase a la *Guía de usuario del sistema Rapid Capture* proporcionada con el instrumento, además de estas instrucciones de uso, para información del procedimiento y descriptiva necesaria. Solamente se aprobó la aplicación del RCS usando la sonda de VPH de alto riesgo para los tipos de VPH 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59 y 68.

### PREPARACIÓN

1. Deje que se equilibre 60 minutos el calentador de microplacas I de HCS a 65 ± 2° C desde un comienzo frío. Consulte el *Manual del operador del calentador de microplacas I* para detalles. Confirme que un baño maría esté a 65° C y que el nivel de agua esté lo suficientemente alto para sumergir todo el volumen del espécimen en los tubos de especímenes.
2. Quite los especímenes y todos los reactivos requeridos del refrigerador antes de comenzar el ensayo. Déjelos alcanzar 20°-25° C durante por lo menos 15-30 minutos.  
Nota: Prepare los especímenes de la solución PreservCyt antes de equilibrar cualquier espécimen y reactivo del kit previamente desnaturalizados a temperatura ambiente.
3. Cree un archivo de distribución de placas usando el software de análisis de ensayos *digene* con los protocolos de ensayo para VPH *digene*. Véase la *Guía de usuario del software* aplicable para detalles.

4. Ponga los calibradores, controles de calidad y especímenes a probar en una gradilla de tubos de ensayo, en el mismo orden en el que se probarán. Deben probarse PRIMERO los calibradores de VPH negativos, de bajo riesgo y de alto riesgo. Deberán probarse el calibrador negativo (NC), el calibrador de VPH de bajo riesgo (LRC), el calibrador de VPH de alto riesgo (HRC), el control de calidad del VPH de bajo riesgo (QC1-LR), el control de calidad del VPH de alto riesgo (QC2-HR) y los especímenes en una configuración de columna de ocho micropozos. Véase la distribución de ejemplo a continuación para cada tipo de sonda.

DISTRIBUCIÓN DE EJEMPLO PARA UNA PRUEBA USANDO 24 MICROPOZOS:  
Método de dos sondas

Fila	Columna		
	1	2	3
A	NC	Espec. 1	Espec. 9
B	NC	Espec. 2	Espec. 10
C	NC	Espec. 3	Espec. 11
D	LRC o HRC	Espec. 4	Espec. 12
E	LRC o HRC	Espec. 5	Espec. 13
F	LRC o HRC	Espec. 6	Espec. 14
G	QC1-LR	Espec. 7	Espec. 15
H	QC2-HR	Espec. 8	Espec. 16

5. Si se usa el método de cóctel de sondas combinadas (CPC), se prueban NC, LRC y HRC por triplicado con el cóctel de sondas combinadas en la misma microplaca. Use los pozos A1, B1 y C1 para el NC y los pozos D1, E1, F1, G1, H1 y A2 para LRC y HRC, respectivamente. Use los pozos B2 para QC1-LR y C2 para QC2-HR. El primer espécimen estará en el pozo D2.
6. Si se usa el método de dos sondas, se prueban NC y LRC por triplicado con el cóctel de sondas de VPH de bajo riesgo en el costado izquierdo de la microplaca y se prueban el NC y el HRC por triplicado con el cóctel de sondas de VPH de alto riesgo iniciando en la columna 7 en el costado derecho de la microplaca. El software de análisis de ensayos *digene* determina las posiciones del calibrador y del control de calidad en la microplaca. Véase la guía de usuario del software de análisis de ensayos *digene* aplicable para la preparación del calibrador/control de calidad/especimen en el software. De manera alterna, pueden usarse dos microplacas separadas para los calibradores, controles y especímenes probados con la sonda de VPH de bajo y alto riesgos. Se prueban NC y LRC por triplicado con el cóctel de sondas de VPH de bajo riesgo en una microplaca, y se prueban el NC y el HRC por triplicado con el cóctel de sondas de VPH de alto riesgo en una segunda microplaca. Use los pozos A1, B1 y C1 para el NC y los pozos D1, E1 y F1 para LRC o HRC, respectivamente. Use los pozos G1 y H1 para el QC1-LR y QC2-HR, respectivamente, para cada placa.
7. Pueden probarse los especímenes una vez usando el método de cóctel de sondas combinadas o dos veces, una vez cada ocasión con el cóctel de sondas de VPH de bajo riesgo y el cóctel de sondas de VPH de alto riesgo usando el método de dos sondas.

### DESNATURALIZACIÓN: MÉTODOS DE CÓCTEL DE SONIDAS COMBINADAS Y DE DOS SONIDAS

#### Notas:

- **Precaución:** el reactivo de desnaturalización es corrosivo. Tenga cuidado y use guantes libres de polvo cuando se manipule.
- **Importante:** algunos especímenes cervicales pueden contener sangre u otro material biológico, los cuales pueden ocultar los cambios de color en la adición del reactivo de desnaturalización. Los especímenes que muestran un color oscuro antes de la adición del reactivo de desnaturalización pueden no dar los cambios apropiados de color en esta etapa. En este caso, no mostrar el cambio apropiado de color no afectará los resultados del ensayo.
- No quite el dispositivo de recolección de especímenes *digene* HC2 previo a la desnaturalización.
- Durante la etapa de desnaturalización, asegúrese de que el nivel de agua en el baño maría sea adecuado para sumergir todo el volumen de espécimen en el tubo.
- Pueden prepararse los calibradores, controles de calidad y especímenes hasta la etapa de desnaturalización y almacenarse a 2°-8° C de un día para otro, o a -20° C por hasta tres meses. Puede realizarse un máximo de tres ciclos de congelación/descongelación con un máximo de dos horas a temperatura ambiente durante cada ciclo de descongelación. Mezcle bien antes de su uso.
- Para evitar resultados falsos positivos, es crítico que todo el material del calibrador, control de calidad y del espécimen se ponga en contacto con el reactivo de desnaturalización. La mezcla después de la adición del reactivo de desnaturalización es una etapa crítica. Si se usa el tubo de especímenes múltiples del sistema Hybrid Capture (MST) Vortexer 2, asegúrese de que esté puesto en 100 (máxima velocidad) y esté un vórtice visible del líquido durante la mezcla de tal

MARISOL MASINO  
BIOQUÍMICA - M.N. 8488  
D.T. TECNOLAB

forma que el líquido lave toda la superficie interna del tubo. Si se realiza un vórtice manual, asegúrese de que sea mezclado cada calibrador, control de calidad y espécimen de forma individual haciendo vórtice de cada uno durante por lo menos 5 segundos a máxima velocidad de tal forma que el vórtice del líquido lave toda la superficie interna del tubo, seguido de la inversión del tubo una vez.

- Después de la desnaturalización e incubación, ya no se consideran infecciosos los especímenes.<sup>26</sup> No obstante, el personal de laboratorio aún deberá acatar las precauciones universales prácticas.

**Calibradores, controles de calidad y especímenes STM (incluyendo biopsia o especímenes del dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2)**

**Nota:** Este procedimiento no es para la preparación y desnaturalización de especímenes de la solución PreservCyt.

- Quite y deseche las tapas del calibrador, control de calidad y tubos de especímenes.
- Pipetee el reactivo de desnaturalización con colorante indicador en cada calibrador, control de calidad o espécimen usando una pipeta repetidora o ajustable. Tenga cuidado de no tocar los costados del tubo, ya que podría ocurrir una contaminación cruzada de especímenes. El volumen del reactivo de desnaturalización necesario es equivalente a la mitad del volumen de espécimen. Se lista el volumen exacto para cada tipo de calibrador, control de calidad y espécimen en la tabla a continuación.

Calibrador, control de calidad o espécimen	Vol. del reactivo de desnaturalización requerido
Calibrador negativo	1000 µL
Calibrador de VPH de bajo o alto riesgos	500 µL*
Control de calidad del VPH de bajo o alto riesgos	500 µL*
Especímen cervical	500 µL*

- Diluya el reactivo de desnaturalización remanente en la botella antes de desechar. Deseche de conformidad con la normatividad local, estatal y federal.

- Mezcle los especímenes usando uno de los dos métodos descritos a continuación:

**Método de vórtice de tubos manual/individual**

- Vuelva a poner la tapa a los tubos del calibrador, control de calidad y especímenes con tapa roscas de tubos de recolección de especímenes limpias.
- Mezcle cada tubo completamente haciendo vórtice de manera individual, a alta velocidad, por 5 segundos.
- Invierta el tubo de espécimen una vez para lavar el interior del tubo, tapa y borde.
- Regrese el tubo a la gradilla.
  - Incube en un baño maría a 65 ± 2° C por 45 ± 5 minutos (pueden probarse los calibradores, controles de calidad y especímenes desnaturalizados inmediatamente, o almacenarse como se describe en las **Notas** anteriores). Prepare CPC o cócteles de sondas de VPH de bajo o alto riesgos durante esta incubación. Véase la sección **Preparación y almacenamiento de reactivos**.
- Quite la gradilla del baño maría.
- Proceda a la etapa de **Hibridación** a continuación o vea el **Punto de paro opcional** para el almacenamiento y tratamiento de especímenes desnaturalizados.

**Método de tubos de especímenes múltiples (MST) Vortexer 2**

**Nota:** los especímenes de QIAGEN mezclados usando el MST Vortexer 2 deben hibridarse usando la microplaca de hibridación y el método de calentador de microplacas I. Véase el **Manual del Operador del MST Vortexer 2** para más instrucciones, como sea necesario.

- Cubra los tubos del calibrador/control de calidad/especímen con película selladora de tubos DuraSeal jalando la película sobre los tubos en la gradilla.
- Coloque la tapa de la gradilla sobre los tubos cubiertos de película y asegure la tapa en su lugar con las dos abrazaderas laterales. Corte la película con el cúter después de que se apriete de manera segura la tapa.
- Mueva la palanca con mango rojo hacia arriba para que esté en una posición horizontal.
- Ponga la gradilla de conversión y la tapa en el MST Vortexer 2 para que la esquina con muesca más grande de la gradilla de conversión se ubique en la esquina frontal derecha. Posicione la gradilla y la tapa en la plataforma del MST Vortexer 2 para que se ajuste de forma segura dentro de las guías. Asegure la gradilla en su lugar moviendo la palanca con mango rojo hacia abajo a la posición vertical. Esto asegurará la gradilla en su lugar.
- Verifique que la configuración de la velocidad esté en 100 (máxima velocidad) y que el botón **Pulser** se encuentre en la posición **OFF** (apagada).

- Ponga el interruptor del Vortexer en la posición de **ON** (prendido). **Pase por vórtice los tubos por 10 segundos.**
- Ponga el interruptor del Vortexer en la posición de **OFF** (apagado).
- Quite la gradilla de conversión del Vortexer levantando en la palanca con mango rojo.
- Incube en un baño maría a 65 ± 2° C por 45 ± 5 minutos (pueden probarse los calibradores, controles de calidad y especímenes desnaturalizados inmediatamente, o almacenarse como se describe en **Notas** anteriores). Prepare CPC o cócteles de sonda de VPH de bajo y alto riesgos durante esta incubación. Véase la sección **Preparación y almacenamiento de reactivos**.
- Quite la gradilla del baño maría, seque la gradilla y asegúrela en el Vortexer.
- Ponga el interruptor del Vortexer en la posición **ON** (prendido). **Pase por vórtice los tubos por 5 segundos.**
- Ponga el interruptor del Vortexer en la posición **OFF** (apagado). Quite la gradilla.
- Quite inmediatamente la tapa de la gradilla y la película selladora de tubos DuraSeal de los especímenes.
- Proceda a la etapa de **Hibridación** a continuación o vea el **Punto de paro opcional** para el almacenamiento y tratamiento de especímenes desnaturalizados.

**Independiente del método de vórtice utilizado, debe haber un vórtice visible de líquido dentro de cada tubo durante la mezcla de tal forma que el líquido lave toda la superficie interna del tubo. Deberán tornarse púrpura los calibradores, controles de calidad y especímenes.**

**Procedimiento de preparación y desnaturalización de especímenes de la solución PreservCyt**

**Notas:**

- Consulte las instrucciones de uso del kit de conversión de muestras *digene* HC2 Sample Conversion Kit» para detalles completos.
- El procesamiento de una parte alícuota de 4 mL de solución PreservCyt produce suficiente para dos pruebas, cuando se prueba manualmente. El volumen mínimo que puede procesarse es 4 mL.
- Prepare los especímenes de la solución PreservCyt en lotes de 36 ó menos; de lo contrario, pueden desplazarse los pellets cuando se decante el sobrenadante. Esto es importante para mantener la integridad del pellet celular durante la etapa de decantación. Si se preparan viales adicionales de solución PreservCyt, no empiece a prepararlos hasta después de completar la preparación del primer lote (véase la tabla a continuación).

**Preparación de reactivos**

Si no se realiza previamente, prepare el reactivo de desnaturalización (DNR, por su abreviatura en inglés) del kit de conversión de muestras *digene* HC2 adicionando 3 gotas de colorante indicador a la botella de DNR y mezcle bien. La solución deberá ser de un color púrpura oscuro y uniforme.

Se determinan los requerimientos de volumen con base en el número de duplicados a probar por espécimen. Cuando use el método de dos sondas, los resultados de bajo riesgo requieren un duplicado y el resultado de alto riesgo requiere otro duplicado (esto es, dos duplicados por espécimen).

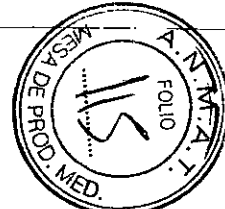
**Requerimientos de volumen: preparación de reactivos**

Número de pruebas	Volumen de solución PreservCyt	Volumen de solución amortiguadora de conversión
1-2	4 mL	0.4 mL
3	6 mL	0.6 mL
4	8 mL	0.8 mL
5	10 mL	1.0 mL
6	12 mL	1.2 mL

- Etiquete el tubo Sarstedt cónico de 10 mL o un tubo cónico de marca VWR o Corning de 15 mL con el número de identificación de especímenes apropiado.
- Manejo de un espécimen a la vez:
  - Agite el vial de PreservCyt vigorosamente con la mano o colocando en vórtice cada vial individualmente usando una mezcladora en vórtice en una configuración a velocidad máxima por aproximadamente 5 - 10 segundos para volver a suspender las células y asegurar una homogeneidad.
  - Inmediatamente, conforme se asienten las células muy rápidamente, pipetee el volumen apropiado del espécimen PreservCyt en el tubo etiquetado. Envíe la solución PreservCyt al fondo del tubo cónico para minimizar la adherencia del material celular al interior del tubo.
- Agregue el volumen apropiado de solución amortiguadora de conversión de muestras a cada tubo (véase la tabla **Requerimientos de volumen: preparación de reactivos** anterior).

MARISOL MASINO  
BIOQUÍMICA - M.N. 9483  
DT - TECNO LAB S.A.

3126



- Vuelva a poner la tapa y mezcle el contenido de cada tubo completamente usando una mezcladora de vórtice con accesorio de copa.
- Centrifugue los tubos en un rotor oscilante a  $2,900 \pm 150 \times g$  por  $15 \pm 2$  minutos.
- Durante la centrifugación, prepare la mezcla de medio de transporte de especímenes *digene* (STM) + reactivo de desnaturalización (DNR) en una razón 2:1, de acuerdo con la tabla *Requerimientos de volumen, STM/DNR* anterior.

**Nota:** Debe prepararse fresca la solución cada día que se esté realizando la prueba.

- Para determinar el volumen total de la mezcla de STM/DNR requerida, use el volumen inicial del espécimen de la solución PreservCyt como guía y luego multiplique los volúmenes de STM y DNR «por tubo» por el número de especímenes a procesar (véase la tabla *Requerimientos de volumen, STM/DNR* a continuación).

**Requerimientos de volumen: STM/DNR**

No. de pruebas	Volumen de solución PreservCyt	Volumen de STM por tubo para mezcla de STM+DNR final *	Volumen de DNR por tubo para la mezcla de STM+DNR final *	Mezcla de STM+DNR adicionada al tubo
1-2	4 mL	120 µL	60 µL	150 µL
3	6 mL	170 µL	85 µL	225 µL
4	8 mL	220 µL	110 µL	300 µL
5	10 mL	270 µL	135 µL	375 µL
6	12 mL	320 µL	160 µL	450 µL

\* No deberán adicionarse los volúmenes listados en estas columnas directamente al tubo de especímenes.

- Mezcle la solución completamente por vórtice.
- Quite los tubos de la centrifuga un tubo a la vez y colóquelos en una gradilla o gradilla de conversión del MST Vortexer 2. Deberá estar presente un pellet rosa/anaranjado en el fondo de cada tubo.
  - Manejo de cada tubo individualmente:
    - Quite la tapa y apártela en una toalla de papel con poca pelusa limpia.
    - Decante cuidadosamente el sobrenadante.
    - Mantenga la posición del tubo invertida y borre suavemente (aproximadamente seis veces) en toallas de papel absorbente con poca pelusa para quitar el exceso de líquido. Use un área limpia de la toalla cada vez. No deje que el pellet celular se deslice hacia abajo del tubo durante el manchado.
    - Coloque el tubo en una gradilla o la gradilla de conversión de MST Vortexer 2.

**Notas:**

- No seque en la misma área de la toalla de papel con poca pelusa.
- Es importante quitar la cantidad máxima de solución PreservCyt secando. No obstante, es normal ver la solución PreservCyt residual después del secado.

**Método de vórtice de tubos manual/individual**

- Agregue el volumen apropiado de medio de transporte de especímenes *digene* + reactivo de desnaturalización a cada pellet. Vuelva a suspender cada pellet poniendo en vórtice cada tubo individualmente durante por lo menos 30 segundos en la configuración de velocidad más alta. Si es difícil de volver a suspender un pellet, coloque en vórtice por 10–30 segundos adicionales o hasta que el pellet flote suelto desde el fondo del tubo. Si un pellet queda sin disolverse después de la colocación en vórtice adicional (un total de 2 minutos máximo), anote la identificación del espécimen y siga con la siguiente etapa.
- Ponga los tubos en baño maría a  $65 \pm 2^\circ \text{C}$  por  $15 \pm 2$  minutos. Asegúrese de que el nivel de agua sea suficiente para cubrir todo el líquido y los tubos.
- Quite la gradilla con especímenes del baño maría y pase por vórtice los especímenes de forma individual por alrededor de 15–30 segundos.  
**Nota:** asegúrese de que todos los pellets estén completamente resuspendidos en este punto. Los especímenes que todavía tengan pellets visibles no son aceptables para pruebas.
- Regrese la gradilla al baño maría a  $65 \pm 2^\circ \text{C}$  y continúe la desnaturalización por otros  $30 \pm 3$  minutos.
- Proceda a la etapa de *Hibridación* a continuación o vea el *Punto de paro opcional* para el almacenamiento y tratamiento de especímenes desnaturalizados.


**Método de tubos de especímenes múltiples (MST) Vortexer 2**

**Notas:**

- El método de MST Vortexer 2 está validado para el procesamiento de especímenes de la solución PreservCyt después de la centrifugación y decantación del sobrenadante.

- No se ha validado el procedimiento del MST Vortexer 2 para poner en vórtice especímenes de la solución PreservCyt con solución amortiguadora de conversión de muestras antes de la centrifugación.
- Solamente el MST Vortexer 2 está diseñado para el procesamiento de especímenes de la solución PreservCyt.
- La gradilla y tapa de conversiones están diseñadas específicamente para acomodar tubos cónicos de 15 mL marca VWR o Corning. El usuario deberá usar solamente un tipo de tubo en la gradilla de conversiones a la vez. Otras marcas no están validadas para su uso.
- Se requiere un acatamiento estricto a los tiempos de vórtice especificados de la gradilla de conversión y la tapa.
- No pueden usarse la gradilla de conversión y la tapa para poner en el vórtice los calibradores y controles de calidad del kit de prueba de ADN *digene* HC2. La altura de los tubos STM evita el uso del vórtice con la gradilla de conversión.

- Después de secar cada tubo cónico de 15 mL etiquetado, coloque cada uno en su posición apropiada en la gradilla de conversión.
- Agregue 150 µL de mezcla de medio de transporte de especímenes *digene* + reactivo de desnaturalización a cada pellet.
- Cubra los tubos cónicos de 15 mL con la película selladora de tubos DuraSeal jalando la película sobre los tubos en la gradilla.
  - Coloque la tapa de la gradilla sobre los tubos cubiertos de película y asegure la tapa en su lugar con las dos abrazaderas laterales. Corte la película con el cutter después de que se apriete de manera segura la tapa.
- Mueva la palanca con mango rojo hacia arriba para que esté en una posición horizontal.
- Ponga la gradilla de conversión y la tapa en el MST Vortexer 2 para que la esquina con muesca más grande de la gradilla de conversión se ubique en la esquina frontal derecha. Posicione la gradilla y la tapa en la plataforma del MST Vortexer 2 para que se ajuste de forma segura dentro de las guías. Asegure la gradilla en su lugar moviendo la palanca con mango rojo hacia abajo a la posición vertical. Esto asegurará la gradilla en su lugar.
- Verifique que la configuración de la velocidad esté en 100 (máxima velocidad) y que el botón Pulser se encuentre en la posición OFF (apagada).
- Ponga el interruptor del Vortexer en la posición de ON (prendido). **Ponga en vórtice los tubos por 30 segundos.**
- Ponga el interruptor del Vortexer en la posición de OFF (apagado).
- Quite la gradilla de conversión del Vortexer levantando en la palanca con mango rojo.
- Coloque la gradilla en el baño maría a  $65 \pm 2^\circ \text{C}$  por  $15 \pm 2$  minutos. Asegúrese de que el nivel de agua cubra completamente todo el líquido en todos los tubos.
- Después de una incubación de 15 minutos, quite la gradilla con especímenes del baño maría.
- Para evitar una salpicadura, seque la gradilla del exceso de agua antes de colocarla en el MST Vortexer 2.
- Asegure la gradilla de conversión en el MST Vortexer 2, como se describe en la etapa 6.
- Verifique que la configuración de velocidad esté en 100 y ponga el interruptor en la posición de ON (prendido). **Pase por vórtice los tubos por 1 minuto.**
- Ponga el interruptor en la posición de OFF (apagado).
- Regrese la gradilla al baño maría a  $65 \pm 2^\circ \text{C}$  y continúe la desnaturalización por  $30 \pm 3$  minutos.
- Quite la gradilla del baño maría, seque la gradilla y asegúrela en el Vortexer.
- Ponga el interruptor del Vortexer en la posición de ON (prendido). **Ponga en vórtice por 10 segundos en la configuración máxima.**
- Ponga el interruptor del Vortexer en la posición de OFF (apagado). Quite la gradilla.
- Quite inmediatamente la tapa de la gradilla y la película del sellador de tubos DuraSeal de los especímenes.
- Proceda a la etapa de *Hibridación* a continuación o vea el *Punto de paro opcional* para el almacenamiento y tratamiento de especímenes desnaturalizados.

  
**MARISOL MASINO**  
 BIOQUIMICA - M.N. 9483  
 DT - TECNO LAB S.A.

#### Punto de paro opcional

Después de la desnaturalización, pueden almacenarse los especímenes a 2°-8° C de un día para otro o a -20° C por hasta tres meses. Para una refrigeración de un día para otro, pueden dejarse los especímenes en la gradilla de conversión con la película nueva DuraSeal y la tapa de la gradilla reemplazadas. Antes del almacenamiento a -20° C, deben quitarse la tapa de la gradilla y la película DuraSeal y las tapas colocadas en los tubos. Si se usó el procedimiento de vórtice manual, coloque la gradilla de tubos con tapa en la temperatura de conservación deseada. En cualquier caso, deben equilibrarse los especímenes a temperatura ambiente (20°-25° C) y ponerse en vórtice completamente antes de seguir con la etapa de hibridación.

**Nota:** No almacene o embarque los especímenes desnaturalizados en hielo seco.

Puede realizarse un máximo de tres ciclos de congelación/descongelación con un máximo de 2 horas a temperatura ambiente durante cada ciclo de descongelación. Para los especímenes procesados usando el MST Vortexer 2, quite la tapa de la gradilla de conversión y la película selladora de tubos DuraSeal de los tubos cónicos de 15 mL y ponga la tapa a cada tubo antes de conservar los especímenes a -20° C.

#### HIBRIDACIÓN

**Hibridación: métodos de cóctel de sondas combinadas (CPC) y de sondas duales**

##### Notas:

Son viscosas las mezclas de sondas de VPH. Deberá tenerse cuidado de asegurar una mezcla completa y que la cantidad requerida esté completamente dispensada en cada micropozo. Véase la sección *Preparación y almacenamiento de reactivos*.

**Importante:** Algunos especímenes cervicales pueden contener sangre u otro material biológico que pueda ocultar los cambios de color en la adición de la mezcla de sondas. Los especímenes que muestran un color oscuro antes de la adición del reactivo de desnaturalización pueden no dar el cambio de color apropiado en esta etapa. En estos casos, no mostrar el cambio apropiado de color no afectará los resultados del ensayo. Puede verificarse la mezcla apropiada observando el cambio de color de los calibradores y controles de calidad.

#### Método de hibridación usando la placa de hibridación y el calentador de microplacas I

##### Notas:

- Pueden hibridarse los especímenes recolectados en STM con el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 y procesados usando el método MST Vortexer 2 utilizando el método de calentador de microplacas I **solamente**.
- Si se ha congelado o refrigerado el espécimen desnaturalizado, equilibre a 20°-25° C y ponga en vórtice en la configuración de máxima velocidad por 5-10 segundos si se usa el MST Vortexer 2 con especímenes de la solución PreservCyt.
- Precaliente el calentador de microplacas I a 65 ± 2° C por 60 minutos antes de su uso. Véase el *Manual del operador del calentador de microplacas I* para más instrucciones, como sea necesario.

1. Obtenga y etiquete una microplaca de hibridación.
2. Pipetee 75 µL de cada calibrador, control de calidad o espécimen puestos en vórtice en el fondo de los micropozos de hibridación vacíos después de la distribución de placas creada bajo *Preparación*. Evite tocar los costados de los pozos y limite la formación de burbujas de aire. Use una punta de pipeta extra larga y limpia para cada transferencia para evitar una contaminación cruzada de calibradores, controles de calidad o especímenes. No es necesario quitar el dispositivo de recolección de especímenes del tubo de transporte de especímenes. Pueden cubrirse los especímenes desnaturalizados con tapa rosca de tubos de recolección de especímenes y almacenarse a -20° C con dispositivos de recolección de especímenes restantes en los tubos.
- Nota:** Pueden ocurrir resultados falsos positivos si no se pasan cuidadosamente las partes alicuotas de los especímenes. Durante la transferencia del espécimen, no toque la punta de pipeta al interior del tubo cuando quite la parte alicuota de 75 µL.
3. Después de pasar el último espécimen, cubra con Parafilm o una tapa de plástico e **incube la microplaca de hibridación por 10 minutos a 20°-25° C**.
4. Divida en partes alicuotas la mezcla de la sonda preparada y puesta en vórtice completamente en un reservorio de reactivos desechable. Pipetee cuidadosamente 25 µL de la mezcla de la sonda en cada pozo de las microplacas de hibridación usando una pipeta de ocho canales y puntas frescas para cada fila. Dispense el volumen de sonda en cada pozo de hibridación, previniendo una salpicadura de regreso. Evite tocar los costados de los pozos.

**Nota:** Para la etapa anterior, use una pipeta de ocho canales que esté equipada de puntas de 25-200 µL y que sea capaz de suministrar 25-75 µL. Para un número pequeño de pozos, use una

pipeta de un solo canal (equipado de puntas de 25-200 µL) en lugar de una pipeta de ocho canales.

5. Cubra las microplacas de hibridación con una tapa de placa y agite en el agitador giratorio I del sistema Hybrid Capture puesto a 1100 ± 100 rpm por 3 ± 2 minutos. Los calibradores, controles de calidad y los especímenes **deberán tomarse amarillos después de la agitación**. Los pozos que queden púrpuras pueden no haber recibido la cantidad apropiada de mezcla de sondas. Agregue 25 µL adicionales de mezcla de sondas a especímenes que queden púrpuras y agite otra vez. Si los pozos quedan púrpuras después de seguir este procedimiento, deberán volverse a probar los especímenes.

##### Notas:

- Después de agitar, los especímenes de la solución PreservCyt deberán tomarse rosas en lugar de amarillos.
  - Cuando coloque las microplacas de hibridación en el calentador de microplacas I, deberá tenerse cuidado en no causar una salpicadura.
6. Incube en un calentador de microplacas I precalentado y equilibrado a 65 ± 2° C por 60 ± 5 minutos.  
**Nota:** Cree un archivo de distribución de placas usando el software de análisis de ensayos *digene* con los protocolos de ensayos *digene* para el VPH si esto no se ha completado anteriormente.

#### Método de hibridación usando microtubos y baño maría

##### Notas:

- **No se ha validado** el procesamiento de especímenes recolectados con el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 en STM usando el método MST Vortexer 2 para la mezcla y el método del baño maría para la hibridación. Pueden hibridarse los especímenes recolectados con el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 en STM y procesados usando el método MST Vortexer 2 usando el método del calentador de microplacas I **solamente**.
- Si se ha almacenado el espécimen desnaturalizado a -20° C, deje que se descongele el espécimen a 20°-25° C y ponga completamente en vórtice el espécimen antes de seguir con la hibridación.

1. Etiquete y coloque el número requerido de microtubos de hibridación limpios en la gradilla de microtubos.
2. Quite los calibradores, controles de calidad y especímenes del baño maría después de la incubación. Ponga en vórtice cada tubo individualmente durante por lo menos 5 segundos justo antes de quitar las partes alicuotas.
3. Pipetee 75 µL de cada calibrador, control de calidad o espécimen en el fondo de los microtubos de hibridación vacíos después de la distribución de placas creada bajo *Preparación*. Use una punta de pipeta extra larga y limpia para cada transferencia para evitar una contaminación cruzada de calibradores, controles de calidad o especímenes. No es necesario quitar el dispositivo de recolección de especímenes del tubo de transporte de especímenes. Pueden cubrirse los especímenes desnaturalizados con tapa rosca de tubos de recolección de especímenes y almacenarse a -20° C con los dispositivos de recolección de especímenes restantes en los tubos.  
**Nota:** Pueden ocurrir resultados falsos positivos si no se pasan cuidadosamente las partes alicuotas de los especímenes. Durante la transferencia del espécimen, no toque la punta de pipeta al interior del tubo cuando quite la parte alicuota de 75 µL.
4. Después de pasar el último espécimen, **incube los microtubos de hibridación por 10 minutos a 20°-25° C**.
5. Divida en partes alicuotas la mezcla de la sonda preparada y puesta en vórtice completamente en un reservorio de reactivos desechable. Pipetee cuidadosamente 25 µL de la mezcla de la sonda en cada microtubo que contenga calibradores, controles de calidad y especímenes usando una pipeta de ocho canales y puntas frescas para cada fila. Dispense el volumen de sonda en cada microtubo de hibridación, previniendo una salpicadura de regreso.
6. Cubra los microtubos con un sellador de placas. Ponga la cubierta de la gradilla en la parte superior de la gradilla. Agite la gradilla de microtubos en el agitador giratorio I puesto a 1100 ± 100 rpm por 3 ± 2 minutos. Los calibradores, controles de calidad y los especímenes **deberán tomarse amarillos después de la agitación**. Los tubos que queden púrpuras pueden no haber recibido la cantidad apropiada de mezcla de sondas. Agregue 25 µL adicionales de la mezcla de sondas a los especímenes que queden púrpuras y agite otra vez. Si los tubos quedan púrpuras después de seguir este procedimiento, deberán volverse a probar los especímenes.  
**Nota:** Después de agitar, los especímenes de la solución PreservCyt deberán tomarse rosas en lugar de amarillos.
7. Incube en un baño maría a 65 ± 2° C por 60 ± 5 minutos. Asegúrese de que el nivel de agua en el baño maría sea suficiente para cubrir todo el volumen de mezcla de hibridación. Puede dejarse que flote la gradilla de microtubos en el baño maría.  
**Nota:** Cree un archivo de distribución de placas usando el software de análisis de ensayos *digene* con los protocolos de ensayos *digene* para el VPH si esto no se ha completado anteriormente.

MARISOL MASINO  
BIOQUÍMICA - M.N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A.

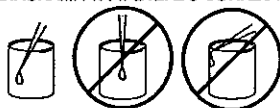


3126

## CAPTURA HÍBRIDA

1. Quite todo, excepto el número requerido de pozos de la microplaca de captura del marco de placas. Regrese los micropozos no usados a la bolsa original y vuelva a sellar. Con un marcador, enumere cada columna 1, 2, 3... y etiquete la microplaca con un identificador apropiado. Se agregarán los especímenes a los pozos de acuerdo con la distribución de ejemplo preparada bajo *Preparación*.
2. Quite cuidadosamente las microplacas de hibridación que contengan calibradores, controles de calidad y especímenes del calentador de microplacas I. Quite inmediatamente la tapa de la placa y colóquela en una superficie limpia. De manera alternativa, quite la gradilla de microtubos del baño maría. Quite inmediatamente la tapa de la gradilla y jale lentamente el sellador de placas hacia arriba y a través de la gradilla.
3. Pase todo el contenido (aproximadamente 100 µL) de cada calibrador, control de calidad y espécimen de los pozos o microtubos de las microplacas de hibridación al fondo del micropozo de captura correspondiente usando una pipeta de ocho canales. Use las puntas de pipetas nuevas en la pipeta de ocho canales para cada columna transferida y deje que se drene bien cada punta de pipeta para asegurar una transferencia completa de especímenes. Si se desea, puede sujetarse la pipeta restando la mitad de las puntas de pipeta en el borde superior de los micropozos de captura (véase el *Diagrama 1: pipeteado correcto* a continuación).

DIAGRAMA 1: PIPETEADO CORRECTO



CORRECTO

No pipetee de forma vertical. Evite una salpicadura de regreso.

No deje que la punta toque el costado del pozo.

4. Cubra la microplaca con la tapa para placas o el sellado de placas nuevo y agite en el agitador giratorio I a 1100 ± 100 rpm, a 20°–25° C por 60 ± 5 minutos.
5. Prepare la solución amortiguadora de lavado. Si usa el lavador de placas automatizado, verifique el enjuague y los reservorios residuales durante esta incubación. Véase la sección *Preparación y almacenamiento de reactivos*.
6. Cuando se complete la etapa de captura, quite la microplaca de captura del agitador giratorio I y quite cuidadosamente la tapa para placas o el sellador para placas. Quite el líquido de los pozos desechando en un lavabo; invierta completamente la placa sobre el lavabo y agite de forma vigorosa con un movimiento descendente siendo cuidadoso en no causar una salpicadura de regreso decantando demasiado cerca del fondo del lavabo. **No vuelva a invertir la placa**; seque dando golpecitos firmemente 2–3 veces en las toallas Kimtowels limpias o toallas de papel con poca pelusa equivalentes. Asegúrese de que se quite todo el líquido de los pozos y que la parte superior de la placa esté seca.

## DETECCIÓN HÍBRIDA

### Notas:

- Efectúe adiciones a través de la placa en dirección de izquierda a derecha usando una pipeta de ocho canales.
- Se recomienda que se utilice la técnica de pipeteado reverso para mejorar la consistencia del suministro de reactivos. Con esta técnica, las puntas de pipeta se sobrellenan inicialmente usando el segundo paro en el control de aspirado/dispensado de la pipeta (émbolo). Véase el procedimiento a continuación. Limpie con toalla las puntas con un reservorio de reactivo desechable o limpie el cojinete con poca pelusa para quitar el exceso de reactivo antes de suministrar a la placa.
- Si se desea, puede sujetarse la pipeta reposando la mitad de las puntas de pipeta en el borde superior de los micropozos. Tenga cuidado de no tocar los costados de los micropozos, ya que podría ocurrir una contaminación cruzada de especímenes. Véase el *Diagrama 1: pipeteado correcto* anterior.

1. Divida en partes alícuotas el volumen apropiado del reactivo de detección 1 en un reservorio de reactivos (véase la sección *Preparación y almacenamiento de reactivos* para instrucciones). Pipetee cuidadosamente 75 µL del reactivo de detección 1 en cada pozo de la microplaca de captura usando una pipeta de ocho canales y la técnica de pipeteado reverso. Verifique que se hayan llenado exactamente todos los pozos observando la intensidad del color rosa. Todos los pozos deberán tener una intensidad similar.

### Procedimiento de pipeteado reverso:

- a) Inserte las puntas en la pipeta de ocho canales; asegúrese de que todas las puntas estén firmemente asentadas.
  - b) Empuje el émbolo de la pipeta pasando el primero paro al segundo paro.
  - c) Sumerja las puntas en la solución del reactivo de detección 1.
  - d) Libere el émbolo lentamente y deje que la solución llene las puntas.
  - e) Dispense 75 µL de solución en micropozos presionando el émbolo al primer paro. No libere el émbolo hasta que se hayan vuelto a sumergir las puntas de la pipeta en la solución del reactivo de detección 1.
  - f) Vuelva a llenar las puntas y repita hasta que se llenen todos los pozos. Llene los pozos de microplaca de izquierda a derecha. **Verifique que se hayan llenado exactamente todos los pozos observando la intensidad del color rosa. Todos los pozos deberán tener una intensidad similar.**
2. Cubra las placas con una tapa para placas o Parafilm limpio o equivalente, e incube a 20°–25° C por 30–45 minutos.

## LAVADO

Lave la microplaca de captura usando uno de los dos métodos a continuación.

### Método automatizado de lavador de placas

**Nota:** Siempre mantenga prendido el lavador de placas automatizado. Asegúrese de que el reservorio de enjuague esté lleno y que el reservorio de residuos esté vacío. El lavador de placas automatizado enjuagará de manera rutinaria el sistema para su limpieza. Véase el *Manual del operador del lavador de placas automatizado* para mayor instrucción, como sea necesario.

### Antes de cada uso:

- Verifique que el reservorio de lavado esté lleno por lo menos a la marca de 1 L. Si no, prepare la solución amortiguadora de lavado. Véase la sección *Preparación y almacenamiento de reactivos*.
- Verifique que el reservorio de enjuague esté lleno de agua destilada o desionizada.
- Verifique que el reservorio residual esté vacío y que la tapa esté apretada de forma segura.
- El lavador de placas automatizado iniciará automáticamente por sí mismo antes de cada lavado y enjuague después de cada lavado.

1. Quite la tapa para placas y coloque la placa en la plataforma del lavador de placas automatizado.
2. Verifique que la energía esté prendida, y que la pantalla lea: «Digene Wash Ready» (Lavado digene listo) ó «P1».

**Nota:** Si solamente se está usando una tira parcial de pozos de captura, necesitarán colocarse los micropozos vacíos en la microplaca de captura para completar la columna antes del lavado. Véanse *Accesorios* para la información de pedidos.

3. Seleccione el número de tiras a lavar presionando la tecla **ROWS (filas)** y luego + o - para ajustar. Presione la tecla **ROWS (filas)** para regresar a «Digene Wash Ready» (lavado digene listo) ó «P1».
4. Presione **START/STOP (iniciar/parar)** para comenzar.
5. El lavador de placas automatizado realizará seis ciclos de llenado y aspirado, tomando aproximadamente 10 minutos. Habrá una pausa breve durante el programa, por lo que asegúrese de no quitar la placa prematuramente. Cuando termine de lavar el lavador de placas automatizado, leerá «Digene Wash Ready» (lavado digene listo) ó «P1».
6. Quite la microplaca del lavador de placas automatizado cuando termine el programa. La placa deberá aparecer blanca y no deberá quedar líquido rosa residual en los micropozos.

MARIÑOL MASINO  
BIOQUÍMICA-M.N. 9489  
DT-TECNOLAB S. S. C.

**Método de lavado manual**

1. Quite el reactivo de detección 1 de los pozos colocando toallas Kimtowels limpias o toallas de papel con poca pelusa equivalentes en la parte superior de la placa e invierta cuidadosamente. Antes de invertir, asegúrese de que el papel esté en contacto con toda el área superficial de la placa. Deje que se drene la placa por 1-2 minutos. Seque bien en toallas Kimtowels limpias o toallas de papel con poca pelusa equivalentes. Deseche cuidadosamente las toallas Kimtowels usadas o toallas de papel con poca pelusa equivalentes para evitar la contaminación con fosfatasa alcalina de etapas posteriores.
2. Usando el aparato de lavado, lave con las manos la placa seis veces. Debe lavarse cada pozo a sobreflujo para quitar el reactivo de detección 1 de la parte superior de los pozos. El lavado comienza en el pozo A1 y continúa de un modo serpentino hacia la derecha y de forma descendente. Después de que se hayan llenado todos los pozos, decante el líquido en el lavabo con un movimiento descendente fuerte. Se inicia el segundo lavado en el pozo H12 haciendo un movimiento serpentino hacia la izquierda y de forma ascendente. Se repite esta secuencia de dos lavados dos veces más para un total de seis lavados por pozo.
3. Después del lavado, seque la placa invirtiéndola en toallas Kimtowels limpias o toallas de papel con poca pelusa equivalentes y golpeteando firmemente 3-4 veces. Reemplace las toallas y el secado otra vez. Deje la placa inversa y deje que se drene por 5 minutos. Seque la placa una vez más.
4. La placa deberá parecer blanca y no deberá quedar líquido residual rosa en los micropozos.

**AMPLIFICACIÓN DE SEÑALES**

**Notas:**

- Use un par de guantes nuevos y limpios para manipular el reactivo de detección 2.
- Divida en partes alícuotas **solamente** la cantidad de reactivo requerida para realizar el ensayo en el reservorio del reactivo con el fin de evitar contaminación del reactivo de detección 2. Véase la sección *Preparación y almacenamiento de reactivos. No regrese el reactivo de detección 2 a la botella original. Deseche el material no utilizado después del uso.*
- Deberá hacerse sin interrupciones la adición del reactivo de detección 2. Debe ser lo más cercano posible el tiempo de incubación de todos los pozos.
- Tenga cuidado de no tocar los costados del micropozo ni de salpicar el reactivo de regreso a las puntas, ya que podría ocurrir una contaminación cruzada de especímenes (véase el Diagrama 1: pipeteado correcto).

1. Pipetee cuidadosamente 75 µL del reactivo de detección 2 en cada pozo de la microplaca de captura usando una pipeta de ocho canales y la técnica de pipeteado reverso, como se describió previamente. **Todos los micropozos deberán tonarse de un color amarillo.** Verifique que se hayan llenado exactamente todos los pozos observando la intensidad del color. Todos los pozos deberán tener una intensidad similar.
2. Cubra las microplacas con una tapa para placas o Parafilm limpio o equivalente, e incube a 20°-25° C por 15-30 minutos. Evite la luz solar directa.
3. Lea la microplaca en el luminómetro después de 15 minutos de incubación (y no más de 30 minutos de incubación).
4. Si no se usó una microplaca completa, quite los micropozos usados del soporte de microplacas, enjuague el soporte completamente con agua destilada o desionizada, seque y reserve para el siguiente ensayo.

**CRITERIOS DE VERIFICACION DE LA CALIBRACION DE ENSAYOS**

Se realiza la verificación de calibración de ensayos para asegurarse de que los reactivos y el material del calibrador suministrado estén funcionando apropiadamente, permitiendo una determinación exacta del valor de corte del ensayo. La prueba de ADN del VPH *digene* HC2 requiere calibración con cada ensayo. Por lo tanto, es necesario verificar cada ensayo usando los siguientes criterios. Este procedimiento de verificación no está indicado como sustituto para pruebas de control de calidad internas.

1. Calibrador negativo  
Debe probarse el calibrador negativo por triplicado con cada ensayo. El promedio del calibrador negativo debe ser  $\geq 10$  y  $\leq 250$  URL con el fin de proceder. Los resultados del calibrador negativo deberán mostrar un coeficiente de variación (%CV) de  $\leq 25\%$ . Si el %CV es  $> 25\%$ , deseche el valor de control con un valor URL más lejano del promedio como marginal y vuelva a calcular el promedio usando los dos valores del calibrador restantes. Si la diferencia entre el promedio y cada uno de los dos valores es  $\leq 25\%$ , siga con la etapa 2; de lo contrario, es inválida la verificación de la calibración del ensayo y debe repetirse la prueba para todos los especímenes de la paciente. Por consiguiente, no deberán reportarse los resultados de los especímenes de las pacientes.
2. Calibradores de bajo y alto riesgos  
Debe probarse el (los) calibrador(es) por triplicado con cada ensayo. Los resultados del calibrador de VPH de alto y bajo riesgos deberán cada uno mostrar un coeficiente de variación (%CV) de  $\leq 15\%$ . Si el %CV

es  $> 15\%$ , deseche el valor del calibrador con un valor URL más lejano del promedio como marginal y vuelva a calcular el promedio usando los dos valores del calibrador restantes. Si la diferencia entre el promedio y cada uno de los valores remanentes es  $\leq 15\%$ , siga con la etapa 3; de lo contrario, la verificación de calibración del ensayo para esa sonda específica es inválida y debe repetirse la prueba para todos los especímenes de la paciente. Por consiguiente, no deberán reportarse los resultados de los especímenes de las pacientes.

La verificación de la calibración del ensayo descrita anteriormente para los calibradores es realizada automáticamente por el software de análisis de ensayos *digene* y se imprime en los informes de resultados de la prueba. Los protocolos para VPH del ensayo *digene* del software de análisis de ensayos *digene* con versión 4.01 ó más reciente automáticamente verifica que el %CV del calibrador de VPH de bajo y alto riesgos %CV es  $\leq 15\%$ . No obstante, versiones anteriores (1.0.2 y 1.0.3) del software cualitativo *digene* NO invalidarán el ensayo al menos que el %CV sea  $> 25\%$  para los calibradores. Por lo tanto, los usuarios de protocolos para VPH del ensayo del software cualitativo versión 1.0.2 ó 1.0.3 *digene* deben verificar manualmente que el %CV calculado por el software cualitativo *digene* sea  $\leq 15\%$  tanto para el calibrador de VPH de bajo riesgo como de alto riesgo y siga como está indicado para la situación 1 en la tabla a continuación. Si el %CV de los duplicados del calibrador cae entre 15% y 25% para cualquier o ambos calibradores, remítase a las instrucciones en la situación 2 ó 3 en la tabla a continuación y siga con la **Acción del usuario** indicada.

\* Para CPC, el % CV de LRC, HRC y LRC-HRC combinados deben mostrar un %CV de  $\leq 15\%$ . Pueden eliminarse solamente 1 duplicado de LRC 1 duplicado de HRC.

Situación	%CV reportado para los duplicados del calibrador	Acción tomada por el software cualitativo <i>digene</i>	Acción del usuario
1	$\leq 15\%$	Ensayo reportado como «Valid» (válido)	Pueden reportarse los resultados; no se requiere de mayor acción.
2	Entre 15% y 25%	Sin marginales quitados y ensayo reportado como «Valid» (válido)	Quite el valor URL del calibrador más lejano del promedio. Vuelva a calcular el %CV del calibrador con los dos valores remanentes. Si el %CV de los dos valores de URL remanentes es $> 15\%$ , el ensayo es inválido. No deben reportarse los resultados. Si el %CV de los dos valores de URL remanentes es $\leq 15\%$ , vuelva a calcular el corte del ensayo, posteriormente vuelva a calcular la razón URL/corte para cada espécimen usando este corte. Pueden reportarse estos valores recalculados.
3	Entre 15% y 25%	Un marginal removido y ensayo reportado como «Valid» (válido)	El ensayo es inválido, no deben reportarse los resultados. Debe repetirse el ensayo.
4	$> 25\%$	Un marginal removido y ensayo reportado como «Invalid» (inválido)	El ensayo es inválido, no deben reportarse los resultados. Debe repetirse el ensayo.

Con el fin de calcular manualmente el %CV como es requerido en la situación 2 anterior, el usuario deberá dividir la desviación estándar de los valores de URL duplicados entre el promedio de los valores de URL duplicados remanentes (LRC o HRC) y multiplicar ese resultado por 100.

Para calcular el %CV usando Microsoft® Excel® (suministrado con el software cualitativo *digene*), el usuario puede calcular la desviación estándar de los duplicados del calibrador usando la fórmula «STDEV» (Desv. Est.) y determinar la URL promedio del calibrador usando la fórmula «AVERAGE» (promedio). Una vez que se obtengan estos dos valores, divida la DESV. EST. entre el PROMEDIO y multiplique el resultado por 100 para obtener el %CV.

$(\text{DESV. EST.}/\text{PROMEDIO}) * 100 = \%CV$

Si existe alguna pregunta relacionada con el cálculo de %CV, el recálculo del corte del ensayo o el recálculo de la URL/corte de los especímenes, favor de llamar a QIAGEN Technical Services (servicios técnicos).

Para determinar la reproducibilidad del calibrador y estimar la frecuencia en la cual pueden ser necesarios los recálculos manuales, se compilaron los resultados de tres evaluaciones clínicas que involucraban 152

MARISOL MASINO  
BIOQUIMICA - M.N. 9483  
DT-TECNOLAB S.A.

312

ensayos realizados con la prueba de ADN del VPH *digene* HC2. Los resultados mostraron que el %CV promedio para estos 152 ensayos era del 8.1%. Considerando los tres duplicados del calibrador por ensayo, se observó una reproducibilidad del calibrador mayor al 15%CV para solamente 17 de 152 comidas (11.2%), con 10 de estos 17 ensayos dando como resultado %CV entre 15%-25% (situación 2). Para los 17 ensayos que produjeron un %CV mayor a 15%, se quitó un marginal sencillo y se recalculó el %CV. Después de la acción del usuario para la situación 2, solamente uno de los %CVs permaneció mayor al 15%, invalidando el ensayo. Se calcularon los %CVs de los 151 ensayos restantes para un %CV promedio de 6%.

- Se usan los resultados del promedio del calibrador (LRC o HRC  $\bar{x}$ ) y el promedio del calibrador negativo (NC $\bar{x}$ ) para calcular la razón LRC $\bar{x}$ /NC $\bar{x}$  o HRC $\bar{x}$ /NC $\bar{x}$  para cada sonda. Los protocolos para VPH del ensayo *digene* versión 4.01 y más reciente automáticamente verifican el rango aceptable de la razón HRC $\bar{x}$ /NC $\bar{x}$  o LRC $\bar{x}$ /NC $\bar{x}$  dentro de 2.0-15.0. No obstante, versiones anteriores (v1.0.2 y v1.0.3) de los protocolos de ensayo del software cualitativo *digene* no verifican el límite superior de este rango. Esta razón debe cumplir los siguientes criterios para verificar la calibración del ensayo antes de que puedan interpretarse los resultados de los especímenes:

MÉTODO CPC	MÉTODO DE SONDAS DUALES
Rangos aceptables de verificación de la calibración de ensayos	Rangos aceptables de verificación de la calibración de ensayos
$2.0 \leq \text{LRC}\bar{x}/\text{NC}\bar{x} \leq 15$	$2.0 \leq \text{LRC}\bar{x}/\text{NCLR}\bar{x} \leq 15.0$ (costado LR)
$2.0 \leq \text{HRC}\bar{x}/\text{NC}\bar{x} \leq 15$	$2.0 \leq \text{HRC}\bar{x}/\text{NCHR}\bar{x} \leq 15.0$ (costado HR)
$2.0 \leq (\text{LRC} \text{ Y } \text{HRC}) \bar{x}/\text{NC}\bar{x} \leq 15$	

- Calcule las razones LRC $\bar{x}$ /NC $\bar{x}$  o HRC $\bar{x}$ /NC $\bar{x}$  apropiadas para cada uno de los conjuntos de sondas. Si las razones son  $\geq 2.0$  y  $\leq 15.0$ , proceda a la siguiente etapa. Si alguna de las razones son  $< 2.0$  ó  $> 15.0$ , el ensayo es inválido para esa sonda específica y debe repetirse. Repita todos los especímenes de la paciente dentro del ensayo.  
Nota: Se han establecido rangos aceptables para el calibrador negativo, calibradores de VPH de bajo riesgo y alto riesgo solamente para los luminómetros aprobados por QIAGEN.

#### CALCULO DEL CORTE

Una vez que se haya validado un ensayo de acuerdo con los criterios establecidos anteriormente, los valores de URL de corte para determinar los especímenes positivos son como sigue:

- Método de cóctel de sondas combinadas: (duplicados LRC + duplicados HRC)  
# de duplicados
- Método de sondas duales: Corte de sonda de VPH de bajo riesgo = LRC $\bar{x}$   
Corte de sonda de VPH de alto riesgo = HRC $\bar{x}$

Para:	Cálculo de corte de ejemplos				
	Sonda de VPH de bajo o alto riesgo Método de dos sondas	Sonda de VPH de bajo riesgo Método CPC	Sonda de VPH de alto riesgo Método CPC	Sonda de VPH combinada Método CPC	
Valores de URL de NC	Valores de URL de LRC o HRC	Valores de URL de LRC	Valores de URL de HRC	Valores de URL de LRC y HRC	
97	312	330	235*	330	
101	335	305	295	305	
91	307	385	279	385	
				295	
				235*	
				279	
Valor de URL promedio	96	318	340	287*	318.8*
%CV	4.9	4.7	12.0	3.9*	13.0
LRC $\bar{x}$ /NC $\bar{x}$	N/A	3.31	3.54	3.00	3.32

El valor de URL promedio para el calibrador positivo determina la URL de corte del ensayo. En el ejemplo del método de dos sondas anterior, el valor de URL de corte es 318.

\* El %CV promedio de los 6 duplicados fue de 16.8. Se eliminó el duplicado con un valor de 235 como marginal. El %CV de los duplicados restantes fue 13.0 con un promedio de 318.8. El %CV inicial de HRC fue 11.5.

Deberán convertirse todos los valores de URL de especímenes a una razón al valor de URL de corte (CO) apropiado. Por ejemplo, deberán expresarse todos los ensayos probados con la sonda de VPH de bajo riesgo como valor de corte de URL/bajo riesgo de especímenes. Lo mismo puede realizarse con especímenes probados con la sonda de VPH de alto riesgo o el CPC.

**Nota:** Se calculan y reportan los valores de URL/CO y los resultados positivos/negativos para todos los especímenes probados para cada sonda en los informes de resultados de pruebas del software de análisis de ensayos *digene*.

#### CONTROL DE CALIDAD

Se suministran los controles de calidad con la prueba de ADN del VPH *digene* HC2. Consulte la guía de usuario aplicable del software de análisis de ensayos *digene* para instrucciones sobre cómo capturar los números de lote y fechas de caducidad de los controles de calidad. Deben incluirse estos controles en cada ensayo, y el URL/CO de cada control debe caer dentro de los siguientes rangos aceptables para que se considere válido. Los protocolos de ensayo para VPH *digene* versión 4.01 y más reciente automáticamente invalidan un ensayo si los controles no se encuentran dentro de los límites especificados. Versiones de los protocolos anteriores automáticamente invalidarán un ensayo si los controles de calidad no se encuentran dentro de los límites especificados. Si los controles de calidad no caen dentro de estos rangos, el ensayo es inválido y debe repetirse. Por consiguiente, no deberán reportarse los resultados de las pacientes para ningún ensayo inválido.

Los resultados esperados para cada espécimen incluidos en la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 se resumen a continuación.

Control	Tipo de VPH	Resultado esperado (Valor de URL/corte)		
		Sonda de VPH de bajo riesgo		
		Mínimo	Máximo	Promedio esperado
QC1-LR	Riesgo bajo (VPH 6)	$\geq 2$	$\leq 8$	5.0
QC2-HR	Riesgo alto (VPH 16)	0	$< 1$	0.5


Control	Tipo de VPH	Resultado esperado (Valor de URL/corte)		
		Sonda de VPH de alto riesgo		
		Mínimo	Máximo	Promedio esperado
QC1-LR	Riesgo bajo (VPH 6)	0	$< 1$	0.5
QC2-HR	Riesgo alto (VPH 16)	$\geq 2$	$\leq 8$	5.0

Control	Tipo de VPH	Resultado esperado (Valor de URL/corte)		
		Sonda de VPH de CPC		
		Mínimo	Máximo	Promedio esperado
QC1-LR	Riesgo bajo (VPH 6)	$\geq 2$	$\leq 8$	5.0
QC2-HR	Riesgo alto (VPH 16)	$\geq 2$	$\leq 8$	5.0

Usuarios del sistema *digene* Hybrid Capture 2: si los controles predefinidos (QC1, QC2, QC3 y QC4) se encuentran en la lista de controles, elimínelos dentro del software y defina los controles (QC1-LR y QC2-HR) listados en la tabla anterior. Si el laboratorio escoge correr los duplicados de QC1 y QC2 en una placa, el software del sistema *digene* Hybrid Capture 2 no reportará los resultados de las pacientes si el CV de QC1 ó QC2 excede el 25%.

- El material del control de calidad del VPH de alto riesgo proporcionado en el kit es el blanco de ADN del VPH clonado y no se deriva del VPH tipo silvestre. El QC2-HR es de 5 pg/mL de ADN del VPH 16 mientras que el calibrador contiene 1 pg/mL del mismo material.
- Este material de control no actuará como un control de procesamiento de especímenes apropiado para el espécimen de la solución PreservCyt.
- Los controles proporcionados con este kit de prueba deben usarse para control de calidad interno. De manera alternativa, pueden probarse los controles externos de acuerdo con los lineamientos o requerimientos de normatividad local, estatal y/o del país u organizaciones acreditadoras.

Los usuarios pueden desarrollar estos materiales de control de calidad, como son definidos por NCCLS (actualmente conocido como CLSI) C24-A.<sup>38</sup> Favor de remitirse a NCCLS C24-A para una guía adicional sobre las prácticas de pruebas de control de calidad internas apropiadas.

  
MARISOL MASINO  
BIOQUIMICA M.N. 9403  
DT-TECNOLAB S.A.

**INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE ESPECÍMENES**

- Se consideran positivos los especímenes con razones de URL/CO  $\geq 1.0$  con el CPC para uno o más de los tipos de VPH 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68.
- Se consideran positivos los especímenes con razones de URL/CO  $\geq 1.0$  con sonda de VPH de bajo riesgo solamente para uno o más de los tipos de VPH 6, 11, 42, 43 ó 44.
- a) Se consideran positivos los especímenes con razones de URL/CO  $\geq 1.0$  con sonda de VPH de alto riesgo solamente para uno más de los tipos de VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68.  
b) Se consideran positivos los especímenes con razones de valores de URL/CO  $\geq 1.0$  tanto para la sonda de VPH de bajo riesgo como para la sonda de VPH de alto riesgo para uno o más de los tipos de VPH de cada grupo de sondas.
- Se consideran negativos los especímenes con razones de valores de URL/CO  $< 1.0$  para CPC o tanto la sonda de VPH de bajo riesgo como la sonda de VPH de alto riesgo para los dieciocho tipos de VPH probados y deberán reportarse como «No HPV DNA detected» (No hay ADN del VPH detectado). Las secuencias de ADN del VPH están ya sea ausentes o los niveles de ADN del VPH se encuentran por debajo del límite de detección del ensayo.
- Cuando prueben especímenes de la solución PreservCyt, si la razón de URL/CO de un espécimen es  $\geq 1.0$  y  $< 2.5$ , debe volverse a probar el espécimen. Si el resultado de la re-prueba inicial es positivo ( $\geq 1.0$  URL/CO), puede reportarse como positivo el espécimen y no necesita completarse otra re-prueba más. No obstante, si el primer resultado de la re-prueba es negativo ( $< 1.0$ ), entonces necesita completarse una segunda re-prueba (tercer resultado) para generar un resultado final. El resultado de la segunda re-prueba es considerado el resultado final y debe reportarse (véase la Tabla 1: prevalencia de tipos de VPH en los Estados Unidos a continuación). Si no hay suficiente volumen de especímenes para realizar una re-prueba, el resultado deberá reportarse como «Quantity Not Sufficient» (cantidad no suficiente).

**Interpretación de resultados para el tamizaje STD de VPH:**

Resultado del VPH		Interpretación
Sonda de VPH de bajo riesgo	Sonda de VPH de alto riesgo	
Negativo	Negativo	La paciente no tiene probabilidad de infectarse con VPH
Negativo	Positivo	La paciente no tiene probabilidad de infectarse con VPH
Positivo	Negativo	
Positivo	Positivo	

**Nota:** No se asocian los tipos de VPH de bajo riesgo (6, 11, 42, 43 ó 44) al riesgo de cáncer cervical.

La magnitud del resultado medido (URL) por encima del corte es indicativa de la cantidad total de ADN del VPH de bajo riesgo o alto riesgo presente, pero esta medición no tiene una utilidad clínica establecida.

Los resultados del ensayo negativos no descartan completamente la presencia de tipos de VPH de bajo riesgo 6, 11, 42, 43 ó 44 ó tipos de VPH de alto riesgo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 ó 68, particularmente en concentraciones muy bajas.

No se conocen completamente los efectos de la edad y la positividad del VPH. Se ha demostrado en estudios que la prevalencia del VPH se reducirá con la edad.<sup>37</sup> Para información sobre el desempeño específico de la edad de la prueba de ADN del VPH de alto riesgo «*digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test» versus un diagnóstico histológico de neoplasia de alto grado, véase la tabla 6: datos del estudio Kaiser: desempeño de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 versus resultados histológicos de consenso (NIC 2-3), características específicas de la edad.

Se recomiendan pruebas adicionales en cualquier circunstancia cuando los resultados falsos positivos o falsos negativos pudiesen conducir a consecuencias médicas, sociales o psicológicas adversas.

Deberán interpretarse solamente los resultados de esta prueba en conjunción con información disponible de la evaluación clínica del paciente y de otros procedimientos.

**INTERPRETACIÓN PARA TAMIZAR PACIENTES CON RESULTADOS DE LA PRUEBA DE PAPANICOLAOU DE ASC-US PARA DETERMINAR LA NECESIDAD DE REFERENCIA A COLPOSCOPIA**

Las pacientes ADN del VPH de alto riesgo negativas o aquellas pacientes positivas para la prueba de tipos de VPH de bajo riesgo deberán seguirse de acuerdo con la práctica rutinaria y de conformidad con los lineamientos actuales de ACS, ASCCP, CDC, U.S. Public Health Service (Servicio de Sanidad de EE.UU.) y ACOG. Pueden remitirse a las pacientes ADN el VPH de alto riesgo positivas a colposcopia como se indica en la tabla a continuación. No se indican los resultados de esta prueba para evitar que las mujeres prosigan a colposcopia.

MARISOL MASINO  
BIOQUIMICA - M.N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A.

**Interpretación de los resultados de especímenes de ASC-US**

Resultado de la citología de referencia	Resultado del VPH		Remítase a la colposcopia	Interpretación de los resultados
	Sonda de VPH de bajo riesgo	Sonda de VPH de alto riesgo		
ASC-US	Negativo	Negativo	No	Con base en los resultados de la prueba de ADN del VPH <i>digene</i> HC2, hay una alta probabilidad <sup>a</sup> de que no se encuentre una etapa de la enfermedad más alta en la colposcopia.
	Positivo	Negativo		
	Negativo	Positivo	Sí	Con base en los resultados de la prueba de ADN del VPH <i>digene</i> HC2, como con el examen de Papanicolaou repetido, hay una baja, pero incrementada probabilidad <sup>b</sup> de que se detecte una etapa de la enfermedad más alta en la colposcopia. No obstante, si está presente el VPH, se ha documentado en la literatura médica de que la progresión a una enfermedad de alto grado es probable. <sup>38, 40</sup>
	Positivo	Positivo		

<sup>a, b</sup> La probabilidad es igual al valor predictivo negativo<sup>a</sup> o positivo<sup>b</sup> del ensayo, la cual es una función de prevalencia para la enfermedad de alto grado (véase la tabla 4: comparación de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 versus histología de consenso).

**INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS PARA TAMIZAR A PACIENTES CON RESULTADOS DE EXAMEN DE PAPANICOLAOU DE LSIL O HSIL PARA DETERMINAR EL RIESGO DE ENFERMEDAD DE ALTO GRADO**

La prueba de ADN del VPH *digene* HC2 actualmente contiene 18 sondas de ARN para varios tipos de VPH. La incidencia de estos tipos siendo detectada en el rango de cáncer cervical en los Estados Unidos del 0.05% para el VPH 42 al 54.5% para el VPH 16 (véase la tabla 1: prevalencia de tipos de VPH en los Estados Unidos). Estos resultados fueron de especímenes recolectados antes de la colposcopia donde la paciente tenía un resultado de examen de Papanicolaou inicial de LSIL o HSIL. Si bien la sensibilidad del ensayo y el desempeño de especificidad no fueron afectados ya sea porque el resultado del examen de Papanicolaou inicial fue LSIL o HSIL, la prevalencia de HSIL en estos dos grupos fue diferente (20.1% en el grupo de LSIL y 43.7% en el grupo de HSIL). Por lo tanto, con el fin de interpretar estos resultados, el médico debe tener en consideración la prevalencia de HSIL en la población de pacientes local ya sea con un resultado de examen de Papanicolaou de LSIL o HSIL. No deberán usarse los resultados la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 para impedir a las mujeres de proseguir a colposcopia. Remítase a los lineamientos actuales de ACS, ASCCP, CDC, U.S. Public Health Service (Servicio de Sanidad de EE.UU.) y ACOG para la aplicación clínica de los resultados de la prueba de VPH.

**Interpretación de los resultados de los especímenes de LSIL o HSIL**

Resultado de citología inicial	Resultado de VPH		Interpretación de los resultados
	Sonda VPH de bajo riesgo	Sonda de VPH de alto riesgo	
LSIL o HSIL	Negativo	Negativo	Con base en los resultados de la prueba de ADN del VPH <i>digene</i> HC2, hay una alta probabilidad <sup>a</sup> de que no se encuentre una enfermedad grave en colposcopia.
	Positivo	Negativo	
	Negativo	Positivo	Con base en los resultados de la prueba de ADN del VPH <i>digene</i> HC2, hay una probabilidad moderada <sup>b</sup> de que se detecte una enfermedad grave en colposcopia.
	Positivo	Positivo	

<sup>a, b</sup> La probabilidad es igual al valor predictivo negativo<sup>a</sup> o positivo<sup>b</sup> del ensayo, la cual es una función de prevalencia para la enfermedad de alto grado (véase la tabla 7: algoritmo del estatus de la enfermedad de la paciente).

Se recomiendan pruebas adicionales en cualquier circunstancia cuando los resultados falsos positivos o falsos negativos pudiesen conducir a consecuencias médicas, sociales o psicológicas adversas.

Deberán interpretarse los resultados de esta prueba solamente en conjunción con la información disponible de la evaluación clínica del paciente y de otros procedimientos. Remítase a la sección Limitaciones del procedimiento a continuación.

3126





## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Remítase a la *Guía de usuario del sistema Rapid Capture* para limitaciones adicionales del procedimiento específico para el uso de ese sistema para una producción de muestras de alto volumen. Se aprobó el desempeño de la producción de muestras de alto volumen usando solamente los tipos de VPH de alto riesgo 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68.
- No se recomienda la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 para los tipos de virus de papiloma humano 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68 para la evaluación de abuso sexual sospechoso.
- La prevalencia de infección por VPH en una población puede afectar el desempeño. Los valores predictivos positivos se reducen cuando se prueban las poblaciones con prevalencia baja o individuos sin riesgo de infección.
- Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por VPH porque niveles muy bajos de infección o error en el muestreo pueden causar un resultado falso negativo.
- Sólo deberá usarse la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 con especímenes cervicales recolectados usando el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 con medio de transporte de especímenes *digene* (STM) o especímenes cervicales recolectados usando un dispositivo de recolección tipo escoba y colocados en solución PreservCyt. Pueden ensayarse los especímenes de la biopsia solamente si se colocan inmediatamente en STM y se conservan a -20° C hasta que se ensayen.
- No deberá usarse el dispositivo de recolección de ADN *digene* HC2 para la recolección de especímenes de mujeres embarazadas.
- La prueba de ADN del VPH *digene* HC2 distingue entre dos grupos de tipos de VPH: VPH 6/11/42/43/44 y 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68. No distinguirá entre los tipos virales dentro de estos grupos.
- Puede observarse una reactividad cruzada en presencia de VPH tipo 13, porque ambas sondas de prueba de ADN del VPH *digene* HC2 reaccionan de forma cruzada con el VPH 13. No se considera que esta reactividad cruzada sea clínicamente relevante para los especímenes anogenitales porque se detecta comúnmente el VPH 13 en lesiones labiales de ciertas etnias y, en raras ocasiones si las hay, se detecta en el tracto anogenital.<sup>35,39</sup>
- La infección con VPH no es un indicador de HSIL citológico o NIC de alto grado subyacente, ni implica que se desarrolle NIC 2-3 o cáncer. La mayoría de las mujeres infectada con uno o más tipos de VPH de alto riesgo no desarrolla NIC 2-3 o cáncer.
- Un resultado de VPH de alto riesgo negativo no excluye la posibilidad de un HSIL citológico o NIC 2-3 ó cáncer subyacentes futuros. Ocurre una pequeña proporción de lesiones de alto grado en mujeres que son VPH de alto riesgo negativas por tecnologías existentes.<sup>6</sup>
- Existe una pequeña cantidad de hibridación cruzada entre los tipos de VPH 6 y 42 (tipos de VPH de bajo riesgo) y la sonda de VPH de alto riesgo. Los especímenes con niveles altos (4 ng/mL o más alto) de ADN del VPH 6 ó VPH 42 pueden ser positivos cuando se prueban con ambas sondas. También se ha reportado en la literatura que los cócteles de sondas complejos similares a aquéllos usados en esta prueba pueden causar resultados falsos positivos debido a hibridación cruzada con tipos de VPH 11, 40, 53, 54, 55, 66, MM4, MM7, MM8 ó MM9.<sup>40</sup> Aunque varios de estos tipos de VPH son raros o novedosos no frecuentemente encontrados con enfermedad de alto grado, los pacientes cuyos especímenes contengan niveles altos de estos tipos de ADN del VPH pueden reportarse incorrectamente como positivos para tipos de VPH de alto riesgo.<sup>12,41</sup>
- La prueba de ADN del VPH *digene* HC2 está diseñada para detectar tipos de VPH de alto riesgo, incluyendo 39, 58, 59 y 68. Estudios analíticos conducidos por QIAGEN, usando ADN plasmídico de VPH clonado, demuestran que el ensayo usando la sonda de VPH de alto riesgo detecta estos tipos en niveles que van de 0.62 pg/mL a 1.39 pg/mL. Esto es equivalente a las características de detección de los otros tipos de VPH con blanco por la prueba de ADN del VPH *digene* HC2. QIAGEN pudo validar la detección de estos tipos de VPH solamente en un número limitado de especímenes clínicos. Debido a la prevalencia baja de estos tipos en la población general (como fue demostrado por Bosch, et ál.), las características de desempeño de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 para la detección de tipos de VPH 39, 58, 59 y 68 no se ha confirmado estadísticamente.
- Si están presentes altas concentraciones de crema antifúngica, jalea anticonceptiva o ducha vaginal en el momento de que se recolecte un espécimen para las pruebas de VPH, hay probabilidad de obtener un resultado falso negativo si estos especímenes contienen niveles de ADN del VPH que produzcan valores de URL/CO cerca del corte del ensayo.
- Es posible una reactividad cruzada entre ambas sondas de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 y el plásmido pBR322. Se ha reportado la presencia de secuencias homólogas de pBR322 en especímenes genitales humanos, y podrían ocurrir resultados falsos positivos en presencia de niveles altos de plásmido bacteriano.
- No existe una utilidad conocida para las pruebas de VPH en los resultados AGUS de Papanicolaou.

- Cuando procese especímenes de la solución PreservCyt, podrían ocurrir resultados falsos negativos si no está visible el pellet celular después de la centrifugación. Esta observación es indicativa de material celular insuficiente disponible para obtener un resultado de prueba confiable.
- Se consideran inadecuados los especímenes de la solución PreservCyt que contengan volúmenes menores a 4 mL, después de que se preparen los portabojetos de la prueba de Papanicolaou ThinPrep, para la prueba de ADN del VPH *digene* HC2.
- Ha sido validado por QIAGEN el procesamiento de hasta 36 especímenes PreservCyt a la vez. El tiempo adicional necesario para procesar más de 36 especímenes incrementa la probabilidad de que se desplacen los pellets celulares durante la decantación del sobrenadante antes de la re-suspensión en STM/DNR, lo cual puede producir un resultado inexacto.
- Debe realizarse la etapa de desnaturalización del procedimiento de procesamiento de especímenes como se indica en estas instrucciones de uso. La ejecución inapropiada de la etapa de desnaturalización del procedimiento de pruebas de ADN del VPH *digene* HC2 puede conducir a resultados falsos positivos. La colocación en vórtice de especímenes, la inversión de tubo y la agitación inapropiadas podrían dar como resultado una desnaturalización incompleta de los híbridos de ARN/ADN no específicos endógenos a especímenes cervicales. Podrían ocurrir resultados falsos positivos debido a la contaminación del espécimen de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 con estos híbridos de ARN/ADN no específicos. Con el fin de evitar un posible desplazamiento de este material celular no desnaturalizado, es importante que la punta de micropipeta no toque los costados del tubo de desnaturalización de especímenes durante la transferencia del espécimen desnaturalizado al microtubo o micropozo usados para la hibridación de sondas del VPH.

## RESULTADOS ESPERADOS

### PREVALENCIA DEL VPH

La prevalencia de infección por tipo de VPH, como es medida por la detección de un grupo de riesgo de ADN del VPH, varía con la población de pacientes. Las variables importantes incluyen la edad en el primer coito, el número de parejas sexuales, las enfermedades sexualmente transmitidas concurrentes y la historia de exámenes de Papanicolaou anormales.<sup>2,24,31,42</sup> También se ha reportado que la prevalencia de infección por VPH se reduce dramáticamente con la edad.<sup>2,37</sup> Por lo tanto, no es posible definir un patrón típico único de prevalencia para infección por VPH. La *tabla 1* muestra la prevalencia en los Estados Unidos de cada tipo de VPH detectado por la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 como es reportado por dos investigadores independientes. Estos valores de prevalencia son representativos solamente de las poblaciones probadas y pueden variar en áreas específicas del país.

**Tabla 1**  
Prevalencia de tipos de VPH en los Estados Unidos

Tipo de VPH	Prevalencia (%)
6	0.8 <sup>13</sup>
11	0.8 <sup>13</sup>
16	54.5 <sup>14</sup>
18	9.1 <sup>14</sup>
31	9.1 <sup>14</sup>
33	0.2 <sup>13</sup>
35	0.2 <sup>13</sup>
39	*
42	0.05 <sup>13</sup>
43	0.2 <sup>13</sup>
44	0.4 <sup>13</sup>
45	27.3 <sup>14</sup>
51	0.4 <sup>13</sup>
52	0.5 <sup>13</sup>
56	0.2 <sup>13</sup>
58	*
59	*
68	*

\* Bosch, et ál., reportaron que los tipos de VPH 39, 58, 59 y 68 mostraban una prevalencia a nivel mundial de 1.6%, 2.1%, 1.7% y 1.2%, respectivamente; no obstante, no se determinó independientemente la prevalencia en los Estados Unidos.<sup>14</sup>

La *tabla 2* muestra los resultados de prevalencia del VPH compilados de varios grupos de mujeres remitidos a tres clínicas ginecológicas dentro de centros médicos metropolitanos (alta prevalencia para infección por VPH)

MARISOL MASINÓ  
BIOQUÍMICA - M.N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A.

por anomalía cervical y probados usando la prueba de ADN del VPH *digene* HC2. Estos resultados demuestran un patrón bastante consistente de resultados de VPH positivos a través de los lugares.

**Tabla 2**

Prevalencia de los tipos de VPH de bajo y alto riesgos a través de los lugares (ASC-US o población de Papanicolaou más grave)

Lugar	Número de pacientes	Porcentaje VPH positivo (# pos/# total)	
		Tipos de bajo riesgo	Tipos de alto riesgo
1	200	12.5% (25/200)	62.0% (124/200)
2	140	13.6% (19/140)	63.6% (89/140)
3	184	14.1% (26/184)	52.7% (97/184)
Total	524	13.4% (70/524)	59.2% (310/524)

La *tabla 3* muestra la prevalencia de tipos sencillos o combinados de VPH de alto riesgo, como es detectado por la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 como es reportado por seis investigadores independientes. Estos valores de prevalencia son representativos solamente de las poblaciones probadas y pueden variar de la prevalencia encontrada en áreas específicas de los Estados Unidos.

**Tabla 3**

Prevalencia del VPH de alto riesgo \* en varias poblaciones  
Mujeres de 30 de edad y mayores

Ubicación	Período de estudio	Tamaño del estudio	Prevalencia (%)
EE.UU. Portland, OR <sup>6, 25, 43</sup>	1989-1999	13,493	9.0
Costa Rica <sup>41, 44</sup>	1993-1995	6991	8.7
Sudáfrica <sup>45</sup>	1998-1999	2925	23.4
China <sup>46</sup>	1999	1940	18.8
Francia <sup>47</sup>	1998-2002	2115	4.8
Alemania <sup>48</sup>	1999-2000	7592	4.2

\* Cualquier combinación de los 13 tipos de alto riesgo detectados por la sonda de VPH de alto riesgo

#### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

#### SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICAS PARA TAMIZAR PACIENTES CON RESULTADOS DE LA PRUEBA DE PAPANICOLAOU ASC-US PARA DETERMINAR LA NECESIDAD DE REFERENCIA A COLPOSCOPIA

Se condujo en 1996 un estudio intitulado «Utility of HPV DNA Testing for Triage of Women with Borderline Pap Smears» (Utilidad de las pruebas de ADN del VPH para la selección de mujeres con exámenes de Papanicolaou limítrofes) bajo la dirección del Kaiser Foundation Research Institute y el Kaiser Permanent Medical Group. Se obtuvieron especímenes cervicales para exámenes de Papanicolaou rutinarios y para las pruebas de ADN del VPH *digene* HC2 de mujeres que asistían a varias instalaciones clínicas Kaiser. Se evaluaron los exámenes de Papanicolaou iniciales de acuerdo con la clasificación de Bethesda. Las mujeres (15 años de edad o mayores) con resultados de exámenes de Papanicolaou de ASC-US regresaron por colposcopia y biopsia. Los especímenes histológicos colposcópicamente dirigidos fueron examinados por patólogos y se hizo un diagnóstico inicial. Cada espécimen histológico también fue revisado por un patólogo independiente y las discrepancias entre la revisión inicial y la revisión independiente fueron adjudicadas por un tercer patólogo.

Se realizó la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 en el espécimen inicial y solamente se usó la sonda de VPH de alto riesgo. Se realizaron las pruebas de ADN del VPH con un prototipo de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 que contenía sondas para los 11 de los 13 tipos de VPH incluidos en la sonda de VPH de alto riesgo, mas no contenía sondas a los tipos de VPH 59 y 68. No se esperaba que esta diferencia diera como resultado perfiles de desempeño significativamente diferentes para los dos ensayos.

Estuvieron disponibles los resultados de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 y los diagnósticos histológicos de 885 mujeres con exámenes de Papanicolaou de ASC-US. Se realizaron las pruebas en la mayoría de pacientes con especímenes recolectados tanto en STM como en la solución PreservCyt. Debido a las similitudes entre las características de desempeño de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 para STM y la solución PreservCyt, se presenta el desempeño del ensayo solamente para la solución PreservCyt.

La *tabla 4* muestra que, entre aquéllas que se presentan con un examen de Papanicolaou de referencia de ASC-US, el valor predictivo negativo de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 por tener HSIL o una enfermedad mayor en colposcopia es del 99.0%.

**Tabla 4**  
Comparación de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 versus histología de consenso  
Población de Papanicolaou de referencia de ASC-US

Estudio Kaiser  
Especímenes de la solución PreservCyt

Sonda de VPH de alto riesgo	HSIL o mayor en el momento de colposcopia			Total
	+	-		
+	66	317		383
-	5	497		502
Total	71	814		885

Sensibilidad (TP/(TP+FN)) = 93.0% (66/71)  
IC del 95% = 84.3 to 97.7  
Especificidad (TN/(TN+FP)) = 61.1% (497/814)  
IC del 95% = 57.7 a 64.4  
Prevalencia de la enfermedad = 8.0% (71/885)  
Valor predictivo positivo = 17.2% (66/383)  
Valor predictivo negativo = 99.0% (497/502)

La *tabla 5* muestra valores predictivos positivos y negativos teóricos con base en varios resultados de prevalencia para un ASC-US inicial que se considera que es NIC 2-3 ó cáncer con base en los resultados de la sonda de VPH de alto riesgo.

**Tabla 5**  
Valores predictivos positivos y negativos teóricos  
Sonda de VPH de alto riesgo  
Resultados del examen de Papanicolaou de ASC-US

Prevalencia teórica para NIC 2-3 ó cáncer	Resultado del examen de Papanicolaou de ASC-US inicial	
	Valor predictivo positivo del ensayo	Valor predictivo negativo del ensayo
5	11.2	99.4
10	21.0	98.7
15	29.7	98.0
20	37.4	97.2
25	44.3	96.3
30	50.6	95.3

La *tabla 6* ilustra la variación entre los distintos grupos de edad contenidos en este estudio:

3126

MARISOL MASINO  
BIOQUÍMICA - M.N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A



**Tabla 6**  
 Datos del estudio Kaiser  
 Desempeño de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 versus los resultados histológicos de consenso (NIC 2-3)  
 Características específicas de la edad

	Edad < 30	Edad 30-39	Edad >39
<b>n</b>	287	233	365
<b>Prevalencia de la enfermedad (%)</b>	12.2	11.2	2.7
<b>Sensibilidad (%)</b>	100.00 (35/35)	88.46 (23/26)	80.00 (8/10)
<b>Intervalo de confianza del 95%</b>	90.0-100	69.9-97.6	44.4-97.5
<b>Especificidad (%)</b>	31.4 (79/252)	66.2 (137/207)	79.15 (281/355)
<b>Intervalo de confianza del 95%</b>	25.7-37.5	59.3-72.6	74.6-83.3
<b>Valor predictivo negativo (%)</b>	100 (79/79)	97.86 (137/140)	99.29 (281/283)
<b>Valor predictivo positivo (%)</b>	16.83 (35/208)	24.73 (23/93)	9.76 (8/82)

**SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DEL RIESGO DE ENFERMEDAD DE ALTO GRADO EN MUJERES CON EXÁMENES DE PAPANICOLAOU DE LSIL O HSIL**

Se condujo un estudio multicéntrico usando la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 usando especímenes recolectados de varias clínicas grandes de colposcopia hospitalaria y de centros médicos de enfermedad cervical de alto grado y de prevalencia de VPH (tres lugares) en el poniente y sur de los Estados Unidos. Se realizó la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 en tres lugares de investigación no afiliados con la clínica de colposcopia de la cual se recolectaron los especímenes. La población para este estudio clínico estuvo comprendida de mujeres diagnosticadas ya sea con LSIL o HSIL con base en un examen de Papanicolaou reciente y remitidas para colposcopia de seguimiento. De 702 pacientes registradas, 327 tenían resultados del examen de Papanicolaou mayores a ASC-US y tenían información adecuada disponible; 96 de éstas tuvieron un estatus de enfermedad final de HSIL o mayor. Se obtuvieron especímenes celulares cervicales exfoliados ya sea con el cepillo cervical, colocados en STM, o con un dispositivo de escoba y enjuagado en PreservCyt. Se recolectaron los especímenes en el momento de la colposcopia. Se probaron especímenes con la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 y se compararon los resultados con el estatus de la enfermedad determinado para cada paciente. El estatus de la enfermedad se basó en los resultados de evaluación histológica; sin embargo, cuando la histología fue negativa o en ausencia de un resultado histológico, el estatus de la enfermedad era determinado por la citología en el momento del examen colposcópico (véase la tabla 7). Se realizó la citología en un laboratorio patológico de referencia y se efectuó la histología en las instituciones que realizaban la colposcopia. Se compararon los resultados de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 con el estatus de la enfermedad para valorar la sensibilidad, especificidad y valor predictivo negativo y positivo de la prueba para detectar neoplasia cervical de alto grado. Debido a las similitudes entre las características de desempeño de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 para STM y solución PreservCyt, se presenta el desempeño del ensayo solamente para la solución PreservCyt.

**Tabla 7**  
 Algoritmo del estatus de enfermedad del paciente

Resultado citológico	Resultado histológico	Estatus de la enfermedad
NEG	NEG o ND*	NEG
LSIL	NEG	LSIL
HSIL	NEG	HSIL
Cáncer	NEG	HSIL+
NEG	LSIL	LSIL
LSIL	ND*	LSIL
LSIL	LSIL	LSIL
HSIL	LSIL	LSIL
Cáncer	LSIL	LSIL
NEG	HSIL	HSIL
LSIL	HSIL	HSIL
HSIL	HSIL	HSIL
HSIL	ND*	HSIL
Cáncer	HSIL	HSIL
NEG	Cáncer	HSIL+
LSIL	Cáncer	HSIL+
HSIL	Cáncer	HSIL+
Cáncer	ND*	HSIL+
Cáncer	Cáncer	HSIL+

\* No se realizaron biopsia ni/o ECC porque no se observaron anomalías en la colposcopia o no estaba disponible el resultado histológico.

Las tablas 8 y 9 representan el desempeño de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 determinado usando los 327 especímenes de la solución PreservCyt, 96 de los cuales se recolectaron de mujeres diagnosticadas con enfermedad cervical de alto grado. Se realizaron las comparaciones usando todas las pacientes del estudio con resultados de examen de Papanicolaou de referencia anormales. Se muestran las comparaciones para los especímenes de solución PreservCyt probados con sonda de VPH de alto riesgo.

Las tablas 8 y 9 muestran que la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 con sonda de VPH de alto riesgo demostró una sensibilidad general de aproximadamente 93% para identificar a mujeres con neoplasia de alto grado en una población remitida a colposcopia con base en un diagnóstico de examen de Papanicolaou de LSIL, HSIL o equivalente. La prueba también demostró un valor predictivo negativo de casi el 95% en esta población.

No se observó ninguna diferencia en los resultados de la sonda de VPH de alto riesgo de los especímenes de STM y los especímenes de la solución PreservCyt. La siguiente tabla muestra los resultados de la sonda de VPH de alto riesgo en esta población:

**Tabla 8**  
 Resultados de la sonda de VPH de alto riesgo

Resultado del examen de Papanicolaou de referencia	Estatus de la enfermedad final						Total
	HSIL		LSIL		Negativo		
	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	
LSIL	44	4	78	33	28	37	224
HSIL	45	3	29	14	5	7	103
<b>Total</b>	<b>89</b>	<b>7</b>	<b>107</b>	<b>47</b>	<b>33</b>	<b>44</b>	<b>327</b>
	<b>96</b>		<b>154</b>		<b>77</b>		

**Tabla 9**  
 Características de desempeño

Prueba de ADN del VPH *digene* HC2 entre pacientes que tienen un examen de Papanicolaou de referencia de LSIL o más alto y un estatus de enfermedad final de HSIL

ADN del VPH de alto riesgo	LSIL o HSIL de Papanicolaou de referencia □ enfermedad de HSIL			Total
	+	-		
	+	89	140	229
	-	7	91	98
<b>Total</b>		<b>96</b>	<b>231</b>	<b>327</b>

Sensibilidad [TP/(TP+FN)] = 92.7% (89/96)  
 IC del 95% = 85.6 a 97.0

Especificidad [TN/(TN+FP)] = 39.4% (91/231)  
 IC del 95% = 33.1 a 46.0

Prevalencia de la enfermedad para LSIL de referencia a HSIL final = 21.4%


Prevalencia de la enfermedad para HSIL de referencia a HSIL final = 46.6%

Valor predictivo positivo general = 38.9% (89/229)

Valor predictivo negativo general = 92.8% (91/98)

Si bien pareció que la especificidad de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 era algo baja, no se espera una correlación estricta entre la ausencia de neoplasia y un resultado del VPH negativo. El ADN del VPH puede estar presente en mujeres que no han progresado a una enfermedad de grado más alto.

La siguiente tabla (tabla 10) indica valores predictivos teóricos de sonda de VPH de alto riesgo positivos y negativos para un LSIL o HSIL inicial que se encontró que era HSIL o enfermedad más grave en colposcopia.

  
**MARISOL MASINO**  
 BIOQUÍMICA - M.N. 9463  
 DT - TECNOLAB S.A.

**Tabla 10**  
Valores predictivos positivos y negativos teóricos  
Sonda de VPH de alto riesgo  
Resultados iniciales del examen de Papanicolaou de LSIL o HSIL

Prevalencia teórica para HSIL	Resultado inicial del examen de Papanicolaou de LSIL o HSIL	
	Valor predictivo positivo del ensayo	Valor predictivo negativo del ensayo
5	7.4	99.0
10	14.5	97.9
15	21.2	96.8
20	27.6	95.5
25	33.7	94.1
30	39.6	92.6
35	45.1	90.9
40	50.4	89.0
45	55.5	86.8
50	60.4	84.3

#### SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Se probó un panel no clínico de ADN plasmídico de VPH clonado para determinar si cada uno de los 18 tipos de VPH es detectable por la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 y para determinar la sensibilidad analítica del ensayo para cada uno de los tipos de VPH. Se probó cada uno de los 18 tipos de ADN del VPH (6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68) por triplicado con sonda de VPH de bajo riesgo o sonda de VPH de alto riesgo, como sea apropiado (100 pg/mL, 10 pg/mL, 2.5 pg/mL, 1.0 pg/mL, 0.5 pg/mL y 0.2 pg/mL). Se calculó el URL promedio para cada concentración de cada tipo de VPH y se comparó con el promedio del calibrador positivo para el costado apropiado del ensayo.

Se muestra el límite detectable de cada tipo de VPH en la *tabla 11*. Los límites detectables variaron de 0.62 pg/mL a 1.39 pg/mL dependiendo del tipo de VPH probado. El límite detectable promedio de los 18 tipos de ADN del VPH fue de 1.09 pg/mL con una desviación estándar de 0.05 pg/mL.

**Tabla 11**  
Resumen de los límites de sensibilidad detectables de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 para cada tipo de ADN del VPH

Tipo de ADN del VPH	Concentración de ADN del VPH detectable (pg/mL)	Desviación estándar	Rango de confianza del 95%
6	1.33	0.03	1.22-1.46
11	1.13	0.05	1.00-1.29
16	1.09	0.06	0.94-1.29
18	1.05	0.05	0.88-1.29
31	1.01	0.05	0.91-1.15
33	1.35	0.02	1.26-1.45
35	1.11	0.05	0.95-1.31
39	1.39	0.09	1.16-1.71
42	1.20	0.05	1.02-1.44
43	0.85	0.03	0.86-1.07
44	1.17	0.04	1.02-1.36
45	1.14	0.04	0.99-1.35
51	0.78	0.10	0.70-0.88
52	1.37	0.06	1.21-1.58
56	0.62	0.04	0.58-0.67
58	0.82	0.04	0.73-0.94
59	1.10	0.06	1.00-1.21
68	1.19	0.04	1.03-1.39
Promedio (todos los tipos)	1.09	0.05	0.97-1.27

#### DESEMPEÑO DEL CÓCTEL DE SONDAS COMBINADAS (CPC)

Se probó el mismo panel de ADN plasmídico de VPH no clínico descrito anteriormente para determinar la sensibilidad analítica de cada uno de los 18 tipos de VPH en la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 después del protocolo del cóctel de sondas combinadas (CPC), como se describe en este inserto. La sensibilidad analítica del protocolo de CPC varió de 0.58 pg/mL a 1.39 pg/mL, dependiendo del tipo de VPH probado. El límite promedio detectable para los 18 tipos de VPH fue de 0.95 pg/mL con una desviación estándar de 0.07. Esta sensibilidad es equivalente a la sensibilidad analítica encontrada para el método de dos sondas de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2.

#### EQUIVALENCIA ENTRE LOS ESPÉCIMENES DE STM Y DE LA SOLUCIÓN PRESERVCYT

Se examinó la equivalencia entre los especímenes de STM y de la solución PreservCyt para una recuperación igual del ADN del VPH 18 de aproximadamente 106 células HeLa positivas que contienen 18 genomas de VPH integrados adicionados en STM y en una reunión celular negativa en la solución PreservCyt. Se procesó cada tipo de espécimen de acuerdo con sus procedimientos de procesamiento/desnaturalización respectivos descritos en estas instrucciones de uso y probados con la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 usando la sonda de VPH de alto riesgo. Los resultados demostraron que la recuperación de ADN del VPH 18 de células de carcinoma humano es equivalente para los dos medios y que el procedimiento de preparación de la solución PreservCyt no afecta la sensibilidad analítica de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2.

#### REPRODUCIBILIDAD

Se realizó un estudio multicéntrico de reproducibilidad para determinar los días en medio, los lugares en medio y la reproducibilidad general de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 usando un panel de blancos de ADN del VPH y especímenes clínicos VPH positivos y VPH negativos.

Tres laboratorios externos realizaron las pruebas con el mismo lote de kits de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 en tres días distintos con un panel de reproducibilidad idéntico. El panel de reproducibilidad incluyó los siguientes especímenes: 12 reuniones de especímenes de STM clínicos desnaturalizados; tres reuniones de especímenes de la solución PreservCyt clínicos no desnaturalizados; calibrador negativo; y calibrador de VPH de alto y bajo riesgo positivo en concentraciones de 0.5 pg/mL, 1.0 pg/mL, 2.5 pg/mL, 5 pg/mL y 10 pg/mL. Se probaron todos los miembros del panel cada día por triplicado usando tanto el método de sonda de VPH de alto riesgo como de CPC. Se muestran los resultados en la *tabla 12*.

**Tabla 12**  
Resumen de la estadística general para la reproducibilidad multicéntrica de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2

Medida estadística	Sonda de VPH de alto riesgo *	CPC *	Resultados combinados de la sonda de VPH de alto riesgo y CPC *
Proporción de positivos esperados con un resultado positivo observado	100% (99.0-100.0)	99.8% (98.92-100.0)	99.9% (99.38-100.0)
Proporción de negativos esperados con un resultado negativo observado	99.0% (97.49-99.73)	98.9% (96.79-99.77)	99.0% (97.88-99.58)
Concordancia	99.5% (98.70-99.86)	99.5% (98.70-99.86)	99.5% (99.0-99.78)
Kappa	0.990	0.989	0.990

\* Los números en paréntesis indican intervalos de confianza del 95%. Los datos generales son una combinación de todos los ensayos en todos los lugares.

Esto indica que la reproducibilidad de la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 con especímenes clínicos es muy buena.

Se realizó un segundo estudio usando especímenes de solución PreservCyt simulados y se condujo en dos laboratorios externos y QIAGEN. Cada laboratorio de pruebas realizó dos pruebas de ADN del VPH *digene* HC2 (sonda de VPH de alto riesgo solamente) por día en cinco días distintos. Para cada ensayo, se procesó y probó individualmente un panel de reproducibilidad de seis especímenes de solución PreservCyt simulados por cuadruplicado. Se formuló cada miembro del panel adicionando células cultivadas en solución PreservCyt para producir un valor de URL/CO aproximado simulando dos negativos (1N, 2N), dos positivos bajos (3P, 4P), un positivo medio (5P) y un positivo alto (6P). Se muestran los resultados en la *tabla 13*.

MARISOL MASINO  
BIOQUÍMICA M.N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A.



3126

**REPRODUCIBILIDAD DE LOS ESPÉCIMENES DE LA SOLUCIÓN PRESERVACYT EN LA PRUEBA DE ADN DEL VPH *digene* HC2**

Se determinó la reproducibilidad de especímenes clínicos en la solución PreservCyt en la prueba de ADN del VPH *digene* HC2 en un estudio que usaba 24 especímenes de simulación en una concentración que abarca un rango de concentraciones del ADN del VPH. Los especímenes consistieron en solución PreservCyt y leucocitos, con y sin bacterias que contengan plásmido de VPH 16.

Se probaron los especímenes en replicados de cuatro en cada uno de cinco días, para un total de 20 replicados por espécimen. En cada uno de los cinco días del estudio, se procesó y probó una parte alícuota de 8 mL de cada espécimen de acuerdo con las instrucciones de uso del kit de conversión de muestras *digene* HC2 usando la sonda de VPH de alto riesgo solamente. Se calcularon el promedio, desviación estándar e intervalo de confianza (IC) del 95% para cada espécimen dentro del día y durante los cinco días y duplicados. Se muestran a continuación el URL/CO promedio, el intervalo de confianza acerca del promedio, y el porcentaje de duplicados positivos en la *tabla 18* para cada espécimen, en orden descendente con base en el URL/CO promedio.

**Tabla 18**  
URL/CO promedio con intervalos de confianza y porcentaje positivo  
(Orden descendente por URL/CO promedio)

No.	# espec.	URL/CO promedio	IC	% positivo
1	21	3.51	3.19-3.83	100 (20/20)
2	12	1.58	1.48-1.69	100 (20/20)
3	13	1.42	1.32-1.52	100 (20/20)
4	17	1.38	1.23-1.53	90 (18/20)
5	18	1.36	1.23-1.48	95 (19/20)
6	15	1.32	1.16-1.49	85 (17/20)
7	23	1.17	1.06-1.27	75 (15/20)
8	16	1.14	1.07-1.20	75 (15/20)
9	20	1.10	0.96-1.21	85 (17/20)
10	19	1.06	0.95-1.17	45 (9/19)
11	22	1.05	0.99-1.10	70 (14/20)
12	11	1.04	0.96-1.11	65 (13/20)
13	14	0.94	0.86-1.01	25 (5/20)
14	24	0.77	0.73-0.81	0 (0/20)
15	3	0.28	0.25-0.30	0 (0/20)
16	1	0.27	0.24-0.30	0 (0/20)
17	7	0.27	0.25-0.30	0 (0/20)
18	2	0.27	0.25-0.28	0 (0/20)
19	5	0.26	0.24-0.28	0 (0/20)
20	4	0.24	0.22-0.25	0 (0/20)
21	9	0.23	0.21-0.25	0 (0/20)
22	8	0.22	0.18-0.27	0 (0/20)
23	10	0.22	0.20-0.25	0 (0/20)
24	6	0.19	0.17-0.21	0 (0/20)

Para los seis especímenes con un URL/CO promedio en el 20% ó más por encima del corte (Nos. 1-6), 114 de 120 duplicados (95.0%) eran positivos. Para los siete especímenes con un URL/CO promedio dentro del 20% por encima o por debajo del corte del ensayo (Nos. 7-13), 88 de 139 (63.3%; IC del 95% = 54.3-70.9) de los duplicados fueron positivos y 51 de 139 (36.6%), 41 de 80 (51.3%; IC del 95% = 39.8-62.6) de los duplicados fueron positivos y 39 (48.7%) fueron negativos. Para los 11 especímenes con el URL/CO promedio en más del 20% por debajo del corte del ensayo, 220 de 220 duplicados (100%) fueron negativos.

Así, los especímenes con un URL/CO promedio del 20% ó más por encima del corte fueron positivos mayores al 95% del tiempo, mientras que los especímenes con un URL/CO promedio del 20% ó más por debajo del corte fueron negativos 100% del tiempo, indicando que puede esperarse que los especímenes en el 20% ó más lejos del corte produzcan resultados consistentes. Los especímenes cercanos al corte produjeron aproximadamente números iguales de resultados positivos y negativos. Estos datos demuestran que los especímenes de la solución PreservCyt dan resultados reproducibles en la prueba de ADN del VPH *digene* HC2.

**REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

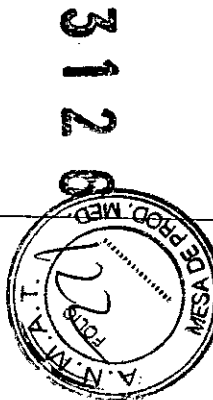
- Jenson AB, Kurman RJ, Lancaster WD. Human papillomaviruses. En: Betshe RB, editor. Textbook of Human Virology. Littleton, MA: PSG-Wright; 1984. pp. 951-68.
- Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJLM, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. J Clin Pathol Abril de 2002;55(4):244-65.
- Gaarenstroom KN, Melkert P, Walboomers JMM, van den Brule AJC, van Bommel PFJ, Meijer CJLM, Voorhorst FJ, Kenemans P, Helmerhorst ThJM. Human papillomavirus DNA and genotypes: prognostic factors for progression of cervical intraepithelial neoplasia. Int J Gynecol Cancer 1994;4:73-8.
- Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura RA, Duarte-Franco E, Rohan TE, Ferenczy A, Villa LL, Franco EL. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. JAMA Diciembre de 2001;286(24):3106-14.
- Nobbenhuis MAE, Walboomers JMM, Helmerhorst TJM, Rozendaal L, Remmink AJ, Risse EKI, van der Linden HC, Voorhorst FJ, Kenemans P, Meijer CJLM. Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. Lancet Julio de 1999;354(1):20-5.
- Castle PE, Wacholder S, Sherman ME, Lorincz AT, Glass AG, Scott DR, Rush BB, Demuth F, Schiffman M. Absolute risk of a subsequent abnormal Pap among oncogenic human papillomavirus DNA-positive, cytologically negative women. Cancer Noviembre de 2002;95(10):2145-51.
- Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Hutchinson M, Morales J, Balmaceda I, Greenberg MD, Alfaro M, Burk RD, Wacholder S, Plummer M, Schiffman M. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. J Natl Cancer Inst Marzo de 2000;92(6):464-74.
- Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJF, Meijer CJLM, for the International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med Febrero de 2003;348(6):518-27.
- Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Meheus A. The Epidemiology of Human Papillomavirus and Cervical Cancer. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 1992.
- Remmink AJ, Walboomers JMM, Helmerhorst TJM, Voorhorst FJ, Rozendaal L, Risse EKI, Meijer CJLM, Kenemans P. 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 1995;61:306-11.
- Lorincz AT, Quinn AP, Lancaster WD, Temple GF. A new type of papillomavirus associated with cancer of the uterine cervix. Virology 1987;159:187-90.
- Meyer T, Arndt R, Christophers E, Beckmann E-R, Schroder S, Gissmann L, Stockfleth E. Association of rare human papillomavirus types with genital premalignant and malignant lesions. J Infect Dis Julio de 1998;178(1):252-5.
- Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. Obstet Gynecol Marzo de 1992;79(3):328-37.
- Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, Schiffman MH, Moreno V, Kurman R, Shah KV. International Biologic Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study Group. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. J Natl Cancer Inst Junio de 1995;87(11):796-802.
- Shimoda K, Lorincz AT, Temple GF, Lancaster WD. Human papillomavirus type 52: a new virus associated with cervical neoplasia. J Gen Virol 1988;69:2925-8.
- Volpers C, Streeck RE. Genome organization and nucleotide sequence of human papillomavirus type 39. Virology Marzo de 1991;181(1):419-23.
- Matsukura T, Sugase M. Molecular cloning of a novel human papillomavirus (type 58) from an invasive cervical carcinoma. Virology Agosto de 1990;177(2):833-6.
- Rho J, Roy-Burman A, Kim H, de Villiers E-M, Matsukura T, Choe J. Nucleotide sequence and phylogenetic classification of human papillomavirus type 59. Virology 1994;203:158-61.
- Longuet M, Besudenon S, Orth G. Two novel genital human papillomavirus (HPV) types, HPV68 and HPV70, related to the potentially oncogenic HPV39. J Clin Microbiol Marzo de 1996;34(3):738-44.
- Stewart A-CM, Gravitt PE, Cheng S, Wheeler CM. Generation of entire human papillomavirus genomes by long PCR: frequency of errors produced during amplification. Genome Res 1995;5(1):79-88.
- Schiffman MH. Latest HPV findings: some clinical implications. Contemporary OB/GYN Octubre de 1993:27-41.
- Stellato G, Nieminen P, Aho H, Vesterinen E, Vaheri A, Paavonen J. Human papillomavirus infection of the female genital tract: correlation of HPV DNA with cytologic, colposcopic, and natural history findings. Eur J Gynaec Oncol 1992;13(3):262-7.

MARISOL MASINO  
BIOQUIMICA, M.N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A.

*[Handwritten signature]*

23. Koutsky LA, Holmes KK, Critchlow CW, Stevens CE, Paavonen J, Beckmann AM, DeRouen TA, Galloway DA, Vernon D, Kiviat NB. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *N Engl J Med* Octubre de 1992;327(18):1272-8.
24. Ho GYF, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* Febrero de 1998;338(7):423-8.
25. Sherman ME, Lorincz AT, Scott DR, Wacholder S, Castle PE, Glass AG, Mielzynska-Lohnas I, Rush BB, Schiffman M. Baseline cytology, human papillomavirus testing, and risk for cervical neoplasia: a 10-year cohort analysis. *J Natl Cancer Inst* Enero de 2003;95(1):46-52.
26. Ylitalo N, Josefsson A, Melbye M, Sorensen P, Frisch M, Andersen PK, Sparen P, Gustafsson M, Magnusson P, Ponten J, Gyllensten U, Adami H-O. A prospective study showing long-term infection with human papillomavirus 16 before the development of cervical carcinoma in situ. *Cancer Res* Noviembre de 2000;60(21):6027-32.
27. Wallin K-L, Wiklund F, Angstrom T, Bergman F, Stendahl U, Wadell G, Hallmans G, Dillner J. Type-specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. *N Engl J Med* Noviembre de 1999;341(22):1633-8.
28. van der Graaf Y, Molijn A, Doornwaard H, Quint W, van Doorn L-J, van den Tweel J. Human papillomavirus and the long-term risk of cervical neoplasia. *Am J Epidemiol* Julio de 2002;156(2):158-64.
29. Petry KU, Bohmer G, Iftner T, Davies P, Brummer O, Kuhlre H. 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* Enero de 2002;186(1):28-34.
30. Hopman EH, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Walboomers JMM, Kenemans P, Helmerhorst ThJM. High risk human papillomavirus in women with normal cervical cytology prior to the development of abnormal cytology and colposcopy. *Br J Obstet Gynaecol* Mayo de 2000;107:600-4.
31. Woodman CBJ, Collins S, Winter H, Bailey A, Ellis J, Prior P, Yates M, Rollason TP. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* Junio de 2001;357(9271):1831-6.
32. Zielinski GD, Snijders PJF, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Ronsink AP, de Schipper FA, Meijer CJLM. High-risk HPV testing in women with borderline and mild dyskaryosis: long-term follow-up data and clinical relevance. *J Pathol* Octubre de 2001;195(3):300-6.
33. Rozendaal L, Walboomers JMM, van der Linden JC, Voorhorst FJ, Kenemans P, Helmerhorst ThJM, van Baallegoijen M, Meijer CJLM. PCR-based high-risk HPV test in cervical cancer screening gives objective risk assessment of women with cytomorphologically normal cervical smears. *Int J Cancer* Diciembre de 1996;68(6):766-9.
34. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* Agosto de 1987;36(supl. 2S):3S-17S.
35. Sehulster LM, Hollinger FB, Dreesman GR, Melnick JL. Immunological and biophysical alteration of hepatitis B virus antigens by sodium hypochlorite disinfection. *Appl Environ Microbiol* Noviembre de 1981;42(5):762-7.
36. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Statistical quality control for quantitative measurements: principles and definitions; approved guideline-second edition. 2<sup>a</sup> ed. Wayne, PA: CLSI/NCCLS; 1999.
37. Burk RD, Kelly P, Feldman J, Bromberg J, Vermund SH, DeHovitz JA, Landesman SH. Declining prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. *Sex Transm Dis* 1996;23(4):333-41.
38. Pfister, H.; Hettich, I.; Runne, U.; Gissmann, L.; Chiff, G. N. Characterization of human papillomavirus type 13 from focal epithelial hyperplasia Heck lesions. *J Virol* 1983;47:363-6.
39. Kahn, T.; Schwarz, E.; zur Hausen, H. Molecular cloning and characterization of the DNA of a new human papillomavirus (HPV 30) from a laryngeal carcinoma. *Int J Cancer* 1986;51:61-5.
40. Vernon SD, Unger ER, Williams D. Comparison of human papillomavirus detection and typing by cycle sequencing, line blotting, and Hybrid Capture. *J Clin Microbiol* Febrero de 2000;38(2):651-5.
41. Castle PE, Schiffman M, Burk RD, Wacholder S, Hildesheim A, Herrero R, Bratti MC, Sherman ME, Lorincz A. Restricted cross-reactivity of Hybrid Capture 2 with non-oncogenic human papillomavirus types. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* Noviembre de 2002;11:1394-9.
42. Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Prado JM, Rousseau M-C, Desy M, Rohan TE. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. *J Infect Dis* Noviembre de 1999;180(5):1415-23.
43. Liaw K-L, Glass AG, Manos MM, Greer CE, Scott DR, Sherman M, Burk RD, Kuman RJ, Wacholder S, Rush BB, Cadell DM, Lawler P, Tabor D, Schiffman M. Detection of human papillomavirus DNA in cytologically normal women and subsequent cervical squamous intraepithelial lesions. *J Natl Cancer Inst* Junio de 1999;91(11):954-60.
44. Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Sherman ME, Bratti M, Wacholder S, Alfaro M, Hutchinson M, Morales J, Greenberg MD, Lorincz AT. HPV DNA testing in cervical cancer screening: results from women in a high-risk province of Costa Rica. *JAMA* Enero de 2000;283(1):87-93.
45. Wright TC, Jr., Denny L, Kuhn L, Pollack A, Lorincz A. HPV DNA testing of self-collected vaginal samples compared with cytologic screening to detect cervical cancer. *JAMA* Enero de 2000;283(1):81-6.
46. Belinson J, Qiao YL, Pretorius R, Zhang WH, Eison P, Li L, Pan QJ, Fischer C, Lorincz A, Zahniser D. Shanxi Province cervical cancer screening study: a cross-sectional comparative trial of multiple techniques to detect cervical neoplasia. *Gynecol Oncol* Noviembre de 2001;83(2):439-44.
47. Bory J-P, Cucherousset J, Lorenzato M, Gabriel R, Quereux C, Birembaut P, Clavel C. Recurrent human papillomavirus infection detected with the hybrid capture II assay selects women with normal cervical smears at risk for developing high grade cervical lesions: a longitudinal study of 3,091 women. *Int J Cancer* Diciembre de 2002;102(5):519-25.
48. Petry K-U, Menton S, Menton M, van Loenen-Frosch F, de Carvalho Gomes H, Holz B, Schopp B, Garbrecht-Buettner S, Davies P, Boehmer G, van den Akker E, Iftner T. Inclusion of HPV testing in routine cervical cancer screening for women above 29 years in Germany: results for 8468 patients. *Br J Cancer* Mayo de 2003;88(10):1570-7.

MARISOL MASINO  
BIOQUIMICA - M. N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A.



**GUÍA DE DETECCIÓN Y SOLUCIÓN DE PROBLEMAS DE LA PRUEBA DE ADN DEL VPH *digene* HC2**

Observación	Probables causas	Soluciones
Cambio de color inapropiado o nulo observado durante la desnaturalización.	Reactivo de desnaturalización no adicionado, o reactivo de desnaturalización no preparado apropiadamente.	Verifique que el reactivo de desnaturalización contenga el colorante indicador y que sea de color púrpura oscuro.  Verifique que se adicionó el reactivo de desnaturalización al espécimen midiendo el volumen de espécimen (se esperan 1.5 mL). Si el volumen indica que el reactivo de desnaturalización no fue adicionado, haga la adición apropiada, mezcle y siga con el ensayo si se observa posteriormente un cambio apropiado de color.
	El espécimen contiene sangre u otros materiales que ocultan el cambio de color.	No se espera el cambio de color exacto descrito con estos tipos de especímenes; no deberán afectarse de manera adversa los resultados de prueba del ensayo.
	Puede ser inusualmente ácido el pH del espécimen.	Si no se aplica ninguna de las otras causas, puede ser inusualmente ácido el espécimen y no ocurrirá el cambio de color esperado. Recolecte un espécimen nuevo antes de la aplicación de ácido acético a la cárvix porque el pH del espécimen inapropiado afectará de forma adversa los resultados de la prueba.
Los controles de calidad dan resultados incorrectos	Protocolo del software incorrecto escogido para la prueba (Vg., protocolo LR usado para el método HR)	Si el protocolo del software es incorrecto para la prueba que se está realizando, deberá leerse de nueva cuenta la placa dentro de 30 minutos después de la adición del reactivo de detección 2 y con el protocolo correcto.
	Colocación reversa de QC1-LR y QC2-HR	Volver a probar los especímenes.
Cambio de color inapropiado observado durante la hibridación.	Mezcla inadecuada del cóctel de sondas con calibradores desnaturalizados, controles de calidad y/o especímenes; o, cóctel de sondas no adicionado; o, volumen incorrecto de reactivo adicionado.	Agite la microplaca de hibridación o la gradilla de microtubos por 2 minutos adicionales. Si hay pozos que todavía quedan púrpuras, adicione 25 µL más del cóctel de sondas apropiado y mezcle bien. Si, en la adición y remezcla de la sonda no ocurre el cambio de color apropiado y el espécimen no contenía sangre u otros materiales, vuelva a probar el espécimen.
	El espécimen contiene sangre u otros materiales que ocultan el cambio de color.	No se espera el cambio de color exacto descrito con estos tipos de especímenes; no deberán afectarse de manera adversa los resultados de prueba del ensayo.
	El espécimen tenía < 1000 µL de STM.	Verifique el volumen del espécimen original. El volumen deberá ser 1350 µL ± 20 µL (después de quitar 75 µL cada uno para las sondas de VPH de bajo y alto riesgos). Si el volumen es < 1350 µL, el espécimen original contenía < 1000 µL de STM. Obtenga un espécimen nuevo.
El ensayo falla los criterios de validación. No se observa ninguna señal en el calibrador, controles de calidad o en los especímenes.	No se adiciona ninguna sonda al diluyente de la sonda	Prepare cócteles de sondas como se describe en estas instrucciones de uso. Etiquete los tubos cuidadosamente.
	Sonda contaminada con RNasa durante la preparación.	Use puntas de pipeta con barrera de aerosol cuando pipetee la sonda y use guantes.
	Mezcla inadecuada de sonda y diluyente de la sonda.	Después de adicionar la sonda al diluyente de sonda, mezcle completamente pasando por vórtice a alta velocidad durante por lo menos 5 segundos. Debe producirse un vórtice visible.

Observación	Probables causas	Soluciones
	Mezcla inadecuada de sonda diluida y espécimen desnaturalizado.	Después de adicionar el cóctel de sondas y el espécimen a cada micropozo o microtubo de hibridación, agite en el agitador giratorio I puesto a 1100 ± 100 rpm por 3 ± 2 minutos. Verifique el cambio de color de púrpura a amarillo en cada tubo o pozo.
	Tiempo o temperatura incorrectos durante la etapa de hibridación.	Hibride por 60 ± 5 minutos a 65 ± 2° C. Verifique la temperatura del calentador de microplacas I o baño maría de hibridación. Asegúrese de que el calentador de microplacas I esté puesto para calentar especímenes para corregir la temperatura y sea precalentado por 60 minutos antes de su uso. Asegúrese de que el nivel de agua sea el adecuado para calentar los especímenes a la temperatura correcta. Deberán calibrarse periódicamente los baños marías.
	Mezcla inadecuada durante la etapa de captura.	Agite en el agitador giratorio I por 60 ± 5 minutos a 20°–25° C como se describe en estas instrucciones de uso. Verifique la velocidad del agitador por calibración como se resume en la sección <i>Calibración de la velocidad del agitador del Manual del operador del agitador giratorio I</i> .
	Sondas/cócteles de sondas/tubos de hibridación cambiados.	Prepare los cócteles de sondas cuidadosamente y etiquete los tubos de cóctel de sondas como corresponda. Sea cuidadoso en adicionar la sonda correcta al juego correcto de tubos o micropozos de hibridación. Etiquete los tubos del cóctel de sondas, tubos de hibridación y/o gradillas para minimizar el potencial por cambios.
	No adicionar la cantidad correcta del reactivo de detección 1 ó no incubar por un tiempo especificado.	Pipetee 75 µL del reactivo de detección 1 en cada pozo usando una pipeta de ocho canales. Incube a 20°–25° C por 30–45 minutos.
	No adicionar la cantidad correcta del reactivo de detección 2 ó no incubar por un tiempo especificado.	Pipetee 75 µL del reactivo de detección 2 en cada pozo usando una pipeta de ocho canales. Incube a 20°–25° C por 15–30 minutos.
Valores elevados de URL en los calibradores, controles de calidad y/o especímenes (> 200 URL en muchos o todos los pozos). El ensayo puede fallar en los criterios de validación.	Mal funcionamiento del luminómetro o programación incorrecta.	Remítase a las secciones de mantenimiento/servicio y de identificación y solución de problemas en la guía de usuario del software de análisis de ensayos <i>digene</i> aplicable para más instrucciones, o llame a QIAGEN Technical Services (servicios técnicos).
	Reactivo de desnaturalización no adicionado; o volumen incorrecto de reactivo adicionado; o mezcla inadecuada de reactivo de desnaturalización con calibradores, controles de calidad o especímenes.	Verifique que la pipeta repetidora esté suministrando de forma exacta antes de adicionar el reactivo de desnaturalización. Son esenciales las pipetas calibradas. Agregue un volumen medio de reactivo de desnaturalización a cada tubo y mezcle bien. Para evitar resultados falsos positivos, asegúrese de que el líquido lave toda la superficie interna del tubo. Los calibradores, controles de calidad y especímenes deberán tomarse púrpura después de la adición del reactivo de desnaturalización.
	Filtración de luz en el luminómetro.	Realice una lectura de fondo (medición de datos preliminares) del luminómetro leyendo una microplaca vacía. Una lectura mayor a 50 URL indica que puede existir una filtración de luz. Remítase a las secciones de mantenimiento/servicio y de identificación y solución de problemas en la guía de usuario del software de análisis de ensayos <i>digene</i> aplicable para más instrucciones, o llame a QIAGEN Technical Services (servicios técnicos).
	Puerta no sellada.	Selle alrededor de la puerta rota.
	Selle alrededor de la puerta rota.	
	Contaminación del reactivo de detección 2 ó	Remítase a la verificación de contaminación en esta sección de identificación y solución de problemas.

MARISOL MASINO  
BIOQUIMICA - M.N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A.



Observación	Probables causas	Soluciones
	micropozos de captura por el reactivo de detección 1 ó fosfatasa alcalina exógena.	
	Solución amortiguadora de lavado contaminada	Remítase a la verificación de contaminación en esta sección de identificación y solución de problemas.
	Lavador de placas automatizado contaminado.	Remítase a la verificación de contaminación en esta sección de identificación y solución de problemas.
	Lavado inadecuado de micropozos de captura después de la incubación del reactivo de detección 1.	Lave los micropozos completamente con solución amortiguadora de lavado seis veces, llenando los pozos para tener un sobreflujo cada vez o usando el lavador de placas automatizado. No debe haber ningún líquido rosa residual visible en los pozos después del lavado. Véase el <i>Manual del operador del lavador de placas automatizado</i> para las instrucciones sobre pruebas para la contaminación o malos funcionamientos.
	Contaminación de micropozos del reactivo de detección 1.	Asegúrese de que todas las superficies de trabajo estén limpias y secas. Tenga cuidado cuando use el reactivo de detección 1. Evite aerosoles.
	Solución de hibridación de secado en la misma área de toalla Kimtowels.	No reseque en el área previamente usada de la toalla Kimtowels.
	Toallas de secado incorrectas usadas.	Use la toalla Kimtowels o toalla de papel con poca pelusa equivalente para el secado
	Material de control de calidad usado como calibrador positivo. El ensayo falla en la razón de calibrador de validación/calibrador negativo > 15.	Asegure la colocación correcta de los materiales de calibración positiva y de control de calidad.
Razones de PC/NC bajas o alto número de especímenes positivos bajos con razones < 2.0 (> 20%). El ensayo puede fallar en los criterios de validación.	Preparación inadecuada de especímenes.	Agregue el volumen apropiado de reactivo de desnaturalización y mezcle completamente a través de la colocación en vórtice. Para evitar resultados falsos positivos, asegúrese de que el líquido lave toda la superficie interna del tubo tanto con el método de Vortexer manual como de MST (para el método de Vortexer manual, invierta el tubo una vez). Para los especímenes de la solución PreservCyt, asegúrese de que se complete una mezcla y resuspensión apropiadas del pellet celular previo a la incubación de desnaturalización. Consulte las instrucciones de uso del kit de conversión de muestras <i>digene</i> HC2 para los detalles del protocolo. Deberá verse un cambio de color distinto de púrpura claro a oscuro. Incube por 45 ± 5 minutos a 65 ± 2° C.
	Sonda inadecuadamente mezclada o sonda insuficiente adicionada a los ensayos.	Prepare los cócteles de sondas como se describe. Mezcle completamente a través de vórtice asegurándose de que se produzca un vórtice visible. Deben adicionarse los cócteles de sondas a los tubos con una pipeta de desplazamiento positiva o a una pipeta de multicanales para asegurar un suministro exacto.
	Volumen inadecuado de sonda diluida adicionada a cada micropozo de hibridación o microtubos.	Verifique que la pipeta esté suministrando exactamente antes de adicionar el cóctel de sondas a la microplaca de hibridación o microtubos. Deberán adicionarse veinticinco µL de sonda diluida al espécimen desnaturalizado en el fondo de cada micropozo o microtubo. Verifique que la pipeta de ocho canales, esté suministrando de forma exacta antes de la adición del

Observación	Probables causas	Soluciones
		cóctel de sondas a los pozos de hibridación. El cambio de color deberá ser de púrpura oscuro a amarillo en la adición y un mezclado completo del cóctel de sondas. Los especímenes de la solución PreservCyt deberán tomarse rosas en lugar de amarillos.
	Pérdida de la actividad del reactivo de detección 1.	Conserve el reactivo de detección 1 a 2°-8° C. Use antes de la fecha de caducidad en el marbete de la caja exterior del kit.
	Captura insuficiente.	Deberá realizarse la etapa de captura usando el agitador giratorio I puesto a 1100 ± 100 rpm por 60 ± 2 minutos. Valide la velocidad del agitador por calibración.
	Lavado inadecuado.	Lave los micropozos completamente con solución amortiguadora de lavado seis veces, llenando los pozos a sobreflujo cada vez o usando el lavador de placas automatizado.
	Solución amortiguadora de lavado contaminada.	Si no está contaminado el reactivo de detección 2, verifique la solución amortiguadora de lavado por contaminación. Pipetee 10 µL de solución amortiguadora de lavado en 75 µL del reactivo de detección 2 en un micropozo de captura en blanco. Cubra e incube por 15 minutos a 20°-25° C. Lea el micropozo en el luminómetro. Las lecturas por encima de 200 URL indican contaminación. Véase la sección Preparación y almacenamiento de reactivos para instrucciones sobre la limpieza y mantenimiento del aparato de lavado. Véase el <i>Manual del operador del lavador de placas automatizado</i> para las instrucciones sobre pruebas para la contaminación o malos funcionamientos.
Serie de especímenes con valores de URL aproximadamente iguales.	Contaminación de micropozos de captura durante la manipulación del ensayo.	Cubra la microplaca de captura durante todas las incubaciones. Evite exponer los tubos a contaminación de aerosol mientras realiza el ensayo. Use guantes libres de polvo durante las manipulaciones.
	Contaminación del reactivo de detección 2.	Tenga cuidado en no contaminar el stock cuando pipetee el reactivo de detección 2 en los micropozos de captura. Evite la contaminación del reactivo de detección 2 por aerosoles del reactivo de detección 1 ó del polvo del laboratorio, etc.
	Fallo del lavador de placas automatizado.	Véase el <i>Manual del operador del lavador de placas automatizado</i> para las instrucciones sobre pruebas para la contaminación o malos funcionamientos.
%CV amplios entre duplicados.	Pipeteado inexacto.	Verifique la pipeta para asegurarse de que se estén suministrando los volúmenes reproducibles. Calibre las pipetas de forma rutinaria.
	Mezcla insuficiente.	Mezcle completamente en todas las etapas. Coloque en vórtice previo a la incubación de desnaturalización y después de adicionar el cóctel de sondas. Asegúrese de que se produzca un vórtice visible.
	Transferencia incompleta de líquido de los micropozos o microtubos de hibridación a los micropozos de captura.	Tenga cuidado durante la etapa de transferencia de los micropozos o microtubos de hibridación a los micropozos de captura para asegurar que se transfieran los volúmenes reproducibles.
	Condiciones inapropiadas de lavado.	Lave los micropozos completamente con solución amortiguadora de lavado seis veces, llenando hasta el sobreflujo cada vez o usando el lavador de placas automatizado y los protocolos del lavador de placas automatizado.
	Contaminación de micropozos de reactivo de detección 1.	Asegúrese de que todas las superficies de trabajo estén limpias y secas. Tenga cuidado cuando use el reactivo de detección 1. Evite aerosoles.

MARISOL MASINO  
BIOQUIMICA - M.N. 9483  
DT - TECNO LAB S.A.

3126





Observación	Probables causas	Soluciones
<b>Resultados falsos positivos obtenidos de especímenes negativos conocidos.</b>	Reactivo de detección 2 contaminado.	Tenga cuidado de no contaminar de forma cruzada los especímenes conforme divida en partes alícuotas el reactivo de detección 2 entre especímenes. Si solamente se usa parte de un kit, divida en partes alícuotas el volumen necesario para ese ensayo en un reservorio de reactivo desechable y limpio antes de llenar la pipeta.
	Contaminación de micropozos de reactivo de detección 1.	Lave los micropozos completamente con solución amortiguadora de lavado seis veces, llenando hasta el sobreflujo cada vez o usando el lavador de placas automatizado. No debe haber ningún líquido rosa residual visible en los micropozos después del lavado.
	Contaminación de la punta de pipeta con material no desnaturalizado durante la transferencia de espécimen desnaturalizado al microtubo o micropozo usados para la hibridación de sondas del VPH.	Debe realizarse la etapa de desnaturalización del procedimiento de procesamiento de especímenes como se indica en estas instrucciones de uso. La colocación en vórtice de especímenes, la inversión de tubos y la agitación inapropiadas pueden dar como resultado una desnaturalización incompleta de los híbridos de ARN/ADN no específicos endógenos a los especímenes cervicales. Cuando use especímenes de la solución PreservCyt en particular, estos híbridos tienen la probabilidad de estar presentes en las paredes internas del tubo de desnaturalización de especímenes. Con el fin de evitar un posible desplazamiento de este material celular no desnaturalizado, la punta de la micropipeta no debe tocar los costados del tubo de desnaturalización de especímenes durante la transferencia del espécimen desnaturalizado al microtubo o micropozo usados para la hibridación de sondas del VPH.
<b>Resultados falsos positivos obtenidos de especímenes negativos conocidos.</b> (continuación)	Durante la decantación y secado de la microplaca de captura, se secó la microplaca en la misma área de las toallas Kimtowels o toallas de papel con poca pelusa equivalentes.	No seque en el área que se ha usado previamente ya que podría ocurrir una contaminación cruzada.
	Preparación inadecuada de especímenes.	Agregue el volumen apropiado de reactivo de desnaturalización y mezcle completamente a través de la colocación en vórtice. Para evitar resultados falsos positivos, asegúrese de que el líquido lave toda la superficie interna de tubo tanto con el método Vortexer manual como de MST (para el método de vórtice manual, invierta el tubo una vez). Para los especímenes de solución PreservCyt, asegúrese de que se complete una mezcla y resuspensión apropiadas del pellet celular previo a la incubación de desnaturalización. Consulte las instrucciones de uso del kit de conversión de muestras <i>digene</i> HC2 para los detalles del protocolo. Para todos los especímenes, deberá verse un cambio de color distinto al púrpura oscuro. Incube por 45 ± 5 minutos a 65 ± 2° C.
	Condiciones inapropiadas de lavado.	Lave los micropozos completamente con solución amortiguadora de lavado seis veces, llenando los pozos a sobreflujo cada vez o usando el lavador de placas automatizado y los protocolos apropiados del lavador de placas automatizado.
<b>Valores de URL negativos del calibrador elevado (&gt; 200 URL). EI</b>	Se incubó el reactivo de detección 2 a una temperatura mayor a 20-25° C.	Repita la prueba y asegúrese de que las etapas de captura y detección se incuben a 20°-25° C.

Observación	Probables causas	Soluciones
<b>resto del ensayo se desarrolla como lo esperado.</b>	Se incubó el reactivo de detección 2 más de 30 minutos.	Lea la placa después de 15 minutos de incubación (y no más de 30 minutos de incubación) a 20°-25° C.
	Se contaminó el reactivo de detección 2 ó la solución amortiguadora de lavado con fosfatasa alcalina o reactivo de detección 1.	Verifique el reactivo de detección 2 dividido en partes alícuotas por contaminación pipeteando 75 µL en un micropozo de captura vacío. Incube a 20°-25° C por 15 minutos y lea en el luminómetro. Las lecturas por encima de 200 URL indican contaminación del reactivo de detección 2. Tenga cuidado cuando pipetee el reactivo de detección 2. Use guantes y evite tocar las puntas para cualquier superficie de trabajo. Repita el procedimiento de identificación y solución de problemas en el vial maestro del reactivo de detección 2, y si no está contaminado, repita el ensayo usando este material. Si está contaminado, obtenga un kit nuevo y repita el ensayo. Si no está contaminado el reactivo de detección 2, verifique la solución amortiguadora de lavado por contaminación. Pipetee 10 µL de solución amortiguadora de lavado en 75 µL del reactivo de detección 2 en un micropozo de captura vacío. Cubra e incube por 15 minutos a 20°-25° C. Lea el micropozo en el luminómetro. Las lecturas por encima de 200 URL indican contaminación de la solución amortiguadora de lavado. Véase la sección <i>Preparación y almacenamiento de reactivos</i> para instrucciones sobre la limpieza y mantenimiento del aparato de lavado.

  
**MARISOL MASINO**  
 BIOQUÍMICA - M.N. 9483  
 DT - TECNOLAB S.A.

VERIFICACIÓN DE CONTAMINACIÓN

Reactivo evaluado	Procedimiento de verificación de contaminación	Interpretación de los resultados
<b>Nota:</b>	Tenga cuidado cuando pipetee el reactivo de detección 2 para evitar contaminación. Use guantes y evite tocar las puntas de pipeta en cualquiera de las superficies de trabajo	
<b>Reactivo de detección 2</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pipetee 75 µL del vial dividido en partes alícuotas, residual y/o original del reactivo de detección 2 en un micropozo de captura vacío.</li> <li>Incube a 20-25° C por 15 minutos. Evite la luz solar directa.</li> <li>Lea los micropozos en el luminómetro.</li> </ul> <p><b>Nota:</b> Probar el reactivo de detección 2 en duplicados de 3 proporciona una valoración óptima de desempeño.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>El control del reactivo de detección 2 deberá ser &lt; 50 URL.</li> <li>Si los valores del reactivo de detección 2 son &lt; 50 URL, puede usarse el reactivo de detección 2 para repetir el ensayo.</li> <li>Si está contaminado (&gt;50 URL), obtenga un kit nuevo y repita el ensayo.</li> </ul>
<b>Solución amortiguadora del aparato de lavado y/o fuente de agua</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pipetee 75 µL del reactivo de detección 2 en 3 micropozos separados de captura.</li> <li>Etiquete los pozos 1-4.</li> <li>El pozo 1 sirve como el control del reactivo de detección 2.</li> <li>Pipetee 10 µL de solución amortiguadora de lavado de la botella de lavado al pozo 2.</li> <li>Deje que fluya la solución amortiguadora de lavado a través de la tubería del lavador.</li> <li>Pipetee 10 µL de solución amortiguadora de lavado de la tubería al pozo 3.</li> <li>Obtenga una parte alícuota del agua usada para preparar la solución amortiguadora de lavado. Pipetee 10 µL del agua en el pozo 4.</li> <li>Incube a 20-25° C por 15 minutos. Evite la luz solar directa.</li> <li>Lea los micropozos en el luminómetro.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>El control del reactivo de detección 2 (pozo 1) deberá ser &lt; 50 URL.</li> <li>Compare el valor de URL de los pozos 2, 3 y 4 con el valor de URL del control del reactivo de detección 2 (pozo 1). Los valores de URL individuales para los pozos 2, 3 y 4 no deberán exceder 50 URL del valor de URL de control del reactivo de detección 2 (pozo 1).</li> <li>Los valores que excedan 50 URL del control del reactivo de detección 2 indican contaminación. Véase la sección <i>Preparación y almacenamiento de reactivos</i> para instrucciones sobre la limpieza y mantenimiento del aparato de lavado.</li> </ul>
<b>Lavador de placas automatizado</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pipetee 75 µL del reactivo de detección 2 en 5 micropozos separados de captura.</li> <li>Etiquete los pozos 1-5.</li> <li>El pozo 1 sirve como el control del reactivo de detección 2.</li> <li>Pipetee 10 µL de solución amortiguadora de lavado de la botella lavadora de placas etiquetada <i>Wash</i> (lavado) en el pozo 2.</li> <li>Pipetee 10 µL del líquido de enjuague de la botella lavadora de placas etiquetada <i>Rinse</i> (enjuague) en el pozo 3.</li> <li>Oprima la tecla Prime (iniciar) en el teclado del lavador de placas, dejando que fluya la solución amortiguadora de lavado a través de las líneas.</li> <li>Pipetee 10 µL de la solución amortiguadora de lavado del abrevadero al pozo 4.</li> <li>Presione la tecla Rinse (Enjuagar) en el teclado del lavador de placas, dejando que fluya el líquido de enjuague a través de las líneas.</li> <li>Pipetee 10 µL de solución amortiguadora de lavado del abrevadero al pozo 5.</li> <li>Cubra e incube por 15 minutos a 20-25° C. Evite la luz solar directa.</li> <li>Lea los micropozos en el luminómetro.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>El control del reactivo de detección 2 (pozo 1) deberá ser &lt; 50 URL.</li> <li>Compare el valor de URL de los pozos 2, 3, 4 y 5 con el valor de URL del control del reactivo de detección 2 (pozo 1). Los valores de URL individuales para los pozos 2, 3, 4 y 5 no deberán exceder 50 URL del valor URL de control del reactivo de detección 2 (pozo 1).</li> <li>Los valores que excedan 50 URL del control del reactivo de detección 2 indican contaminación del lavador de placas.</li> <li>Véase la sección <i>Manual del operador del lavador de placas automatizado, procedimiento de descontaminación</i>.</li> </ul>

INFORMACIÓN DE PEDIDOS DE LA PRUEBA DE ADN DEL VPH *digene* HC2

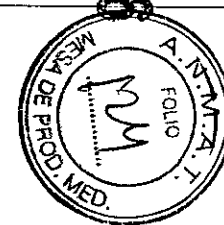
**Reactivos**  
 Prueba de ADN del VPH «*digene* HC2 HPV DNA Test» (96 pruebas)  
 Dispositivo de recolección de ADN «*digene* HC2 DNA Collection Device»  
 Kit de conversión de muestras «*digene* HC2 Sample Conversion Kit»  
 Concentrado de solución amortiguadora de lavado «*digene* Wash Buffer Concentrate»  
 Solución «HOLOGIC PreservCyt Solution»

**Accesorios**  
 Microtubos  
 Gradilla de microtubos  
 Selladores de placas  
 Puntas de pipeta extralargas  
 Gradilla de tubos de recolección de especímenes  
 Tapa rosca de tubos de recolección de especímenes  
 Reservorios de reactivos desechables  
 Tubos de recolección de especímenes  
 Tapas de microplacas  
 Gradilla de tubos de especímenes múltiples y tapa  
 Sellador de tubos de película DuraSeal  
 Dosificador del sellador de tubos y cúter de sellador  
 Microplaca de hibridación  
 Tiras para micropozos

**Equipo**  
 Luminómetro  
 Sistema PC  
 Cable de impresora  
 Impresora  
 CD del software del sistema *digene* Hybrid Capture 2 (con software del sistema *digene* Hybrid Capture 2, protocolos para VPH de ensayo del sistema *digene* Hybrid Capture 2, software para placas LumiCheck)  
 Agitador giratorio I del sistema Hybrid Capture  
 Calentador de microplacas I del sistema Hybrid Capture  
 Lavador de placas automatizado del sistema Hybrid Capture  
 Tubo de especímenes múltiples del sistema Hybrid Capture (MST) Vortexer 2  
 Aparato de lavado

MARISOL MASINO  
 BIOQUIMICA - M.N. 9483  
 DT - TECNOLAB S.A.

312



## INFORMACIÓN DE CONTACTO

Use la hoja de información de contactos de QIAGEN proporcionada en el producto para ponerse en contacto con QIAGEN Technical Services (servicios técnicos) o su representante local de QIAGEN.

### MARCAS REGISTRADAS Y PATENTES

QIAGEN<sup>®</sup>, *digene*<sup>®</sup>, Hybrid Capture<sup>®</sup>, Rapid Capture<sup>®</sup> (QIAGEN Group); Parafilm<sup>®</sup> (BEMIS Company, Inc.); Coming<sup>®</sup> (Coming Incorporated); DuraSeal<sup>®</sup> (Diversified Biotech); Eppendorf<sup>®</sup>, Repeater<sup>®</sup> (Eppendorf AG); Kimtowels<sup>®</sup> (Kimberly-Clark Corporation); CDP-Star<sup>®</sup> (Life Technologies Corporation); Excel<sup>®</sup>, Microsoft<sup>®</sup> (Microsoft Corporation); PreservCyt<sup>®</sup>, ThinPrep<sup>®</sup> (Hologic, Inc.); pGEM<sup>®</sup> (Promega Corp); Sarstedt<sup>®</sup> (SARSTEDT AG & Co); VWR<sup>®</sup> (VWR International, Inc.).

Los nombres registrados, marcas registradas, etc., usados en este documento, incluso cuando no se marquen específicamente como tales, deben considerarse protegidos por la ley.

Este producto y su método de uso están cubiertos por una o más de las siguientes patentes:

Patente de Hybrid Capture de EE.UU.  
6,228,578

Patentes de VPH de EE.UU.:  
5,876,922 • 5,952,487 • 5,958,674 • 5,981,173

© 2012–2015 QIAGEN, todos los derechos reservados.

Se dejó esta página intencionalmente en blanco.

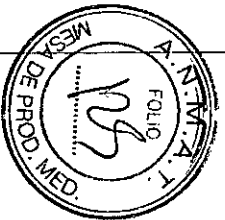
MARISOL MASINO  
BIOQUÍMICA M.N. 9483  
DT-TECNOLAB S.A.

Se dejó esta página intencionalmente en blanco

Se dejó esta página intencionalmente en blanco.

3126

MARISOL MASINO  
BIOQUIMICA - M.N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A.



Se dejó esta página intencionalmente en blanco.

## Resumen de la prueba de ADN del VPH «digene® HC2 HPV DNA Test»

**Importante:** es importante familiarizarse completamente con el procedimiento detallado antes de usar este resumen.

### Procedimiento

<b>Desnaturalización</b> (Para especímenes de solución PreservCyt, véase el procedimiento de preparación de especímenes de solución PreservCyt)	<b>Método de vórtice manual</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▼ Cree la distribución de las placas. Etiquete los microtubos de hibridación. Prepare el reactivo de desnaturalización.</li> <li>▼ Pipetee el reactivo de desnaturalización (el volumen es equivalente a la mitad del volumen del espécimen) en calibradores, controles de calidad y especímenes.</li> <li>▼ Coloque en vórtice cada calibrador, control de calidad y espécimen individualmente por 5 segundos a alta velocidad e invierta (véase el prospecto para detalles).</li> <li>▼ Verifique que todos los tubos muestren un color púrpura.</li> <li>▼ Incube a 65 ± 2° C por 45 ± 5 minutos.</li> <li>▼ Prepare la mezcla de sondas de VPH.</li> </ul>	<b>Método de tubo de especímenes múltiples (MST) Vortexer 2</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▼ Cree la distribución de las placas. Etiquete la placa de hibridación. Prepare el reactivo de desnaturalización.</li> <li>▼ Pipetee el reactivo de desnaturalización (el volumen es equivalente a la mitad del volumen de espécimen) en calibradores, controles de calidad y especímenes.</li> <li>▼ Verifique que todos los tubos muestren un color púrpura.</li> <li>▼ Cubra la gradilla con película y tapa.</li> <li>▼ Coloque en vórtice por 10 segundos a máxima velocidad.</li> <li>▼ Incube a 65 ± 2° C por 45 ± 5 minutos.</li> <li>▼ Prepare la mezcla de sondas del VPH.</li> </ul>
<b>Hibridación</b> Método de cóctel de sondas combinadas  Método de dos sondas	<b>Método de baño maría</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▼ Mezcle el espécimen desnaturalizado bien y pipetee 75 µL de calibrador, control de calidad o espécimen desnaturalizados en los tubos de hibridación.</li> <li>▼ Incube por 10 ± 2 minutos a 20-25° C.</li> <li>▼ Pipetee 25 µL del cóctel de sondas combinadas en microtubos de hibridación.</li> <li>○ Mezcle el espécimen desnaturalizado bien y pipetee 75 µL en microtubos «LR» y 75 µL en microtubos «HR».</li> <li>▼ Incube por 10 ± 2 minutos a 20-25° C.</li> <li>▼ Pipetee 25 µL de la mezcla de sondas de VPH de bajo riesgo en tubos «LR».</li> <li>▼ Pipetee 25 µL de la mezcla de sondas de VPH de alto riesgo en tubos «HR».</li> <li>▼ Cubra los microtubos con un sellador de placas y agite en el agitador giratorio I a 1100 ± 100 rpm por 3 ± 2 minutos.</li> <li>▼ Verifique que los tubos muestren un color amarillo (los especímenes de la solución PreservCyt se tornarán rosas).</li> <li>▼ Incube a 65 ± 2° C por 60 ± 5 minutos. Prepare la microplaca de captura.</li> </ul>	<b>Método de calentador de microplacas I</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▼ Mezcle el espécimen desnaturalizado bien, y pipetee 75 µL del calibrador, control de calidad o espécimen desnaturalizados en los micropozos.</li> <li>▼ Incube por 10 minutos a 20-25° C.</li> <li>▼ Pipetee 25 µL de cóctel de sondas combinadas en los micropozos.</li> <li>○ Mezcle el espécimen desnaturalizado bien y pipetee 75 µL en micropozos «LR» y 75 µL en micropozos «HR».</li> <li>▼ Incube por 10 ± 2 minutos a 20-25° C.</li> <li>▼ Pipetee 25 µL de la mezcla de sondas de VPH de bajo riesgo en micropozos «LR».</li> <li>▼ Pipetee 25 µL de mezcla de sondas de VPH de alto riesgo en micropozos «HR».</li> <li>▼ Cubra la microplaca con una tapa para placas y agite en el agitador giratorio I a 1100 ± 100 rpm por 3 ± 2 minutos.</li> <li>▼ Verifique que todos los tubos muestren un color amarillo (los especímenes de la solución PreservCyt se tornarán rosas).</li> <li>▼ Incube a 65 ± 2° C por 60 ± 5 minutos.</li> <li>▼ Prepare la microplaca de captura.</li> </ul>
<b>Captura híbrida</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▼ Pase el contenido de cada pozo de placa de hibridación o microtubo al pozo correspondiente en la microplaca de captura usando una pipeta de 8 canales.</li> <li>▼ Cubra con una tapa para placas o sellador de placas. Agite a 1100 ± 100 rpm a 20-25° C por 60 ± 5 minutos. Prepare la solución amortiguadora de lavado.</li> <li>▼ Decante y seque la microplaca de captura (véase el prospecto para detalles).</li> </ul>	
<b>Detección híbrida</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▼ Pipetee 75 µL de reactivo de detección 1 en cada micropozo de captura. Cubra la microplaca de captura con una tapa para placas o Parafilm o equivalente.</li> <li>Incube a 20-25° C por 30-45 minutos. Lave la placa usando el método deseado.</li> </ul>	
<b>Lavado</b>	<b>Método de lavado manual</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▼ Decante y seque la microplaca de captura (véase el prospecto para detalles).</li> <li>▼ Lave 4 veces.</li> <li>▼ Seque en toallas de papel con poco pelusa.</li> </ul>	<b>Método de lavador de placas automatizado</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▼ Coloque la placa en el lavador de placas automatizado y presione START/STOP (Iniciar/Parar) para comenzar.</li> </ul>
<b>Amplificación de señales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▼ Pipetee 75 µL del reactivo de detección 2 en cada micropozo de captura.</li> <li>Cubra con una tapa para placas o sellador de placas. Incube a 20-25° C por 15-30 minutos.</li> </ul>	
<b>Lectura</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▼ Lea la microplaca de captura en el luminómetro.</li> <li>▼ Valde el ensayo e interprete los resultados de los especímenes.</li> </ul>	

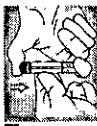


MARISOL MASINO  
BIOQUÍMICA - M.N. 9483  
DT - TECNOLAB S.A.



Sample & Assay Technologies

digene® HC2 DNA Collection Device



Specimen Collection and Handling

- 1. Remove excess mucus from the swab... 2. Insert the swab into the collection device... 3. Rotate the swab... 4. Remove the swab from the device...

- 1. The swab should be inserted into the collection device... 2. The swab should be rotated... 3. The swab should be removed from the device...

Swabbing the Specimen

- 1. The swab should be inserted into the collection device... 2. The swab should be rotated... 3. The swab should be removed from the device...

Swabbing the Specimen

- 1. The swab should be inserted into the collection device... 2. The swab should be rotated... 3. The swab should be removed from the device...

Swabbing the Specimen

- 1. The swab should be inserted into the collection device... 2. The swab should be rotated... 3. The swab should be removed from the device...

Swabbing the Specimen

- 1. The swab should be inserted into the collection device... 2. The swab should be rotated... 3. The swab should be removed from the device...

Swabbing the Specimen

- 1. The swab should be inserted into the collection device... 2. The swab should be rotated... 3. The swab should be removed from the device...

Swabbing the Specimen

- 1. The swab should be inserted into the collection device... 2. The swab should be rotated... 3. The swab should be removed from the device...

Swabbing the Specimen

- 1. The swab should be inserted into the collection device... 2. The swab should be rotated... 3. The swab should be removed from the device...

Swabbing the Specimen

- 1. The swab should be inserted into the collection device... 2. The swab should be rotated... 3. The swab should be removed from the device...

Swabbing the Specimen

- 1. The swab should be inserted into the collection device... 2. The swab should be rotated... 3. The swab should be removed from the device...

www.QIAGEN.com

tecnolab s.a. capital federal, argentina. tel. 54 11 4555 0010. fax 54 11 4553 8300. info@tecnolab.com.ar. ISO 9001:2008 certificada.



Handwritten signatures and initials.

Logo for MARISCO M.A.T. BIOQUIMICA S.A. DT. 7. FOR PROD. MED. and a circular seal with the number 5.



**[51] Name and Intended Use:** This is a... (text partially illegible)

**[52] Description:** (text partially illegible)

**[53] Safety:** (text partially illegible)

**[54] Instructions for Use:** (text partially illegible)

**[55] Warnings and Precautions:** (text partially illegible)

**[56] Maintenance and Care:** (text partially illegible)

**[57] Storage and Shelf Life:** (text partially illegible)

**[58] Disposal:** (text partially illegible)

**[59] Contact Information:** (text partially illegible)

**[60] Information on the Manufacturer:** (text partially illegible)

**[61] Information on the Distributor:** (text partially illegible)

**[62] Information on the Sales Representative:** (text partially illegible)

**[63] Information on the Service Center:** (text partially illegible)

**[64] Information on the Technical Support:** (text partially illegible)

**[65] Information on the Regulatory Compliance:** (text partially illegible)

**[66] Information on the Quality Assurance:** (text partially illegible)

**[67] Information on the Environmental Impact:** (text partially illegible)

**[68] Information on the Intellectual Property:** (text partially illegible)

**[69] Information on the Trademarks:** (text partially illegible)

**[70] Information on the Patents:** (text partially illegible)

**[71] Information on the Accessories:** (text partially illegible)

**[72] Information on the Spare Parts:** (text partially illegible)

**[73] Information on the Repairs:** (text partially illegible)

**[74] Information on the Malfunctions:** (text partially illegible)

**[75] Information on the Troubleshooting:** (text partially illegible)

**[76] Information on the Safety Features:** (text partially illegible)

**[77] Information on the Security Features:** (text partially illegible)

**[78] Information on the Data Protection:** (text partially illegible)

**[79] Information on the Privacy Policy:** (text partially illegible)

**[80] Information on the Terms and Conditions:** (text partially illegible)

**[81] Information on the Environmental Protection:** (text partially illegible)

**[82] Information on the Energy Efficiency:** (text partially illegible)

**[83] Information on the Noise Emission:** (text partially illegible)

**[84] Information on the Electromagnetic Compatibility:** (text partially illegible)

**[85] Information on the Radio Frequency Interference:** (text partially illegible)

**[86] Information on the Temperature Tolerance:** (text partially illegible)

**[87] Information on the Humidity Tolerance:** (text partially illegible)

**[88] Information on the Dust Tolerance:** (text partially illegible)

**[89] Information on the Vibration Tolerance:** (text partially illegible)

**[90] Information on the Shock Resistance:** (text partially illegible)

**[91] Information on the Reliability:** (text partially illegible)

**[92] Information on the Durability:** (text partially illegible)

**[93] Information on the Longevity:** (text partially illegible)

**[94] Information on the Performance:** (text partially illegible)

**[95] Information on the Accuracy:** (text partially illegible)

**[96] Information on the Precision:** (text partially illegible)

**[97] Information on the Resolution:** (text partially illegible)

**[98] Information on the Sensitivity:** (text partially illegible)

**[99] Information on the Specificity:** (text partially illegible)

**[100] Information on the Selectivity:** (text partially illegible)

**[101] Information on the Safety Certifications:** (text partially illegible)

**[102] Information on the CE Marking:** (text partially illegible)

**[103] Information on the RoHS Compliance:** (text partially illegible)

**[104] Information on the REACH Compliance:** (text partially illegible)

**[105] Information on the WEEE Directive:** (text partially illegible)

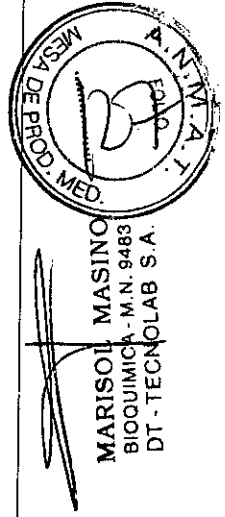
**[106] Information on the EN Standards:** (text partially illegible)

**[107] Information on the ISO Standards:** (text partially illegible)

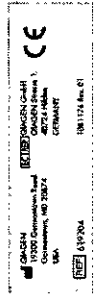
**[108] Information on the ISO 9001 Certification:** (text partially illegible)

**[109] Information on the ISO 14001 Certification:** (text partially illegible)

**[110] Information on the ISO 45001 Certification:** (text partially illegible)



[WWW.QIAGEN.COM](http://WWW.QIAGEN.COM)



Handwritten signature or initials.

*[Handwritten signature]*

**ES** Recogida y manipulación de las muestras



Consulte en el reverso las advertencias y precauciones.

Recoja la muestra para citología cervicovaginal antes de obtener la muestra para el análisis de ADN. Recoja la muestra para el análisis de ADN antes de aplicar ácido acético o yodo si se va a realizar una colposcopia.

1. Retire el exceso de mucosidad del orificio externo del cuello uterino y de los alrededores del ectocérvix con una torunda de algodón. Deseche la torunda con forme a la normativa local.
2. Introduzca el cepillo entre 1-1,5 cm en el orificio externo del cuello uterino hasta que las cerdas exteriores de mayor longitud del cepillo toquen el ectocérvix. Hágalo girar tres veces por completo en sentido contrario al de las agujas del reloj (1). **NO INTRODUZCA EL CEPILLO COMPLETAMENTE EN EL CONDUCTO ENDO-CERVICAL.**
3. Retire el cepillo del conducto. Evite que las cerdas toquen la parte exterior del tubo o cualquier otro objeto.
4. Introduzca el cepillo hasta el fondo del tubo de transporte. Rompa el cuerpo del cepillo por la línea de marca (2) y tape el tubo de forma segura (3).

Biopsia cervicouterina (únicamente para el VPH):

Las biopsias cervicouterinas recién recogidas de hasta 5 mm de grosor deben colocarse inmediatamente en el Specimen Transport Medium y conservarse congeladas a -20 °C. Las biopsias cervicouterinas procesadas con fijadores histológicos no pueden analizarse con las pruebas *digene* HC2 DNA.

**Transporte de las muestras**

Las muestras cervicouterinas pueden conservarse durante un máximo de 2 semanas a temperatura ambiente y enviarse sin refrigerar al laboratorio de análisis. En el laboratorio de análisis, las muestras pueden conservarse una semana más a una temperatura de 2-8 °C o 3 meses a -20 °C antes de analizarlas. Consulte las instrucciones de uso correspondientes de la prueba *digene* HC2 DNA si desea obtener instrucciones acerca de cómo realizar los ensayos. Para evitar que se caigan las tapas de los tubos de muestras transportados o conservados congelados, cubra las tapas con Parafilm® antes del envío.

Conservar las muestras cervicouterinas a -20 °C. Las muestras de biopsia pueden transportarse a una temperatura de 2-30 °C para su entrega el día siguiente al laboratorio de análisis y congelarse de nuevo a -20 °C tras su recepción. Para envíos nacionales e internacionales, las muestras deben acondicionarse y etiquetarse de conformidad con la normativa estatal, federal e internacional aplicable relativa al transporte de muestras clínicas y sustancias infecciosas.

Parafilm es una marca registrada de American Can Co.

3126

MARISOL NASINCE  
BIOQUÍMICA S.A.  
DT. TECNOLOGÍA S.A.  
MESA DE PROB.

