



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2020 - Año del General Manuel Belgrano

Disposición

Número:

Referencia: EX-2020-39619534-APN-DGA#ANMAT

VISTO el expediente N° EX-2020-39619534-APN-DGA#ANMAT del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma **PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica)** solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos Médicos para diagnóstico de uso “in vitro” denominados: **1) (N° 07460155190) Cobas HPV; 2) (N° 07460171190) Cobas HPV Positive Control Kit.**

Que en el mencionado expediente consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que el producto reúne las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

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

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por el Decreto N° 1490/92 y sus modificatorios.

Por ello;

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

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) de los productos médicos para diagnóstico de uso in vitro denominados: **1) (N° 07460155190) Cobas HPV; 2) (N° 07460171190) Cobas HPV Positive Control Kit**, de acuerdo con lo solicitado por la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica), con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTICULO 2º.- Autorícense los textos de los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones que obran en el documento N° IF-2020-55730547-APN-DGA#ANMAT.

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda “Autorizado por la ANMAT PM 740-749”, con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTICULO 4º.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta disposición.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese. Inscríbese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.-

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERISTICOS

LABORATORIO: PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica).

NOMBRE COMERCIAL: 1) (N° 07460155190) Cobas HPV; 2) (N° 07460171190) Cobas HPV Positive Control Kit

INDICACIÓN DE USO: La prueba cobas® HPV para uso en los cobas® 6800/8800 Systems (cobas® HPV) es una prueba cualitativa automatizada in vitro para la detección de ADN del virus del papiloma humano (HPV) en muestras de pacientes. La prueba utiliza la amplificación del fragmento de ADN objetivo mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la hibridación de ácidos nucleicos para la detección de 14 genotipos del HPV de alto riesgo (AR) en un único análisis. La prueba identifica específicamente los genotipos HPV16 y HPV18, además de detectar simultáneamente el resto de los tipos de alto riesgo (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) en niveles de infección clínicamente relevantes.

FORMA DE PRESENTACIÓN: 1) Envases por 480 determinaciones, conteniendo: 1 Casete para 480 pruebas (Solución de proteinasa x 38 ml, Recipiente vacío x 1 unidad, Buffer de elución x 38 ml, Reactivo 1 de Master Mix x 14,5 ml, Reactivo 2 de Master Mix de HPV x 17,5 ml); 2) Control positivo para HPV (HPV (+) C, 16 viales x 1 ml).

PERIODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN: 1) y 2) 18 (DIECIOCHO) meses desde la fecha de elaboración conservado a 2-8°C. **NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE:** Roche Molecular Systems, Inc. 1080 US Highway 202 South, Branchburg, NJ 08876 (USA).

EX-2020-39619534-APN-DGA#ANMAT

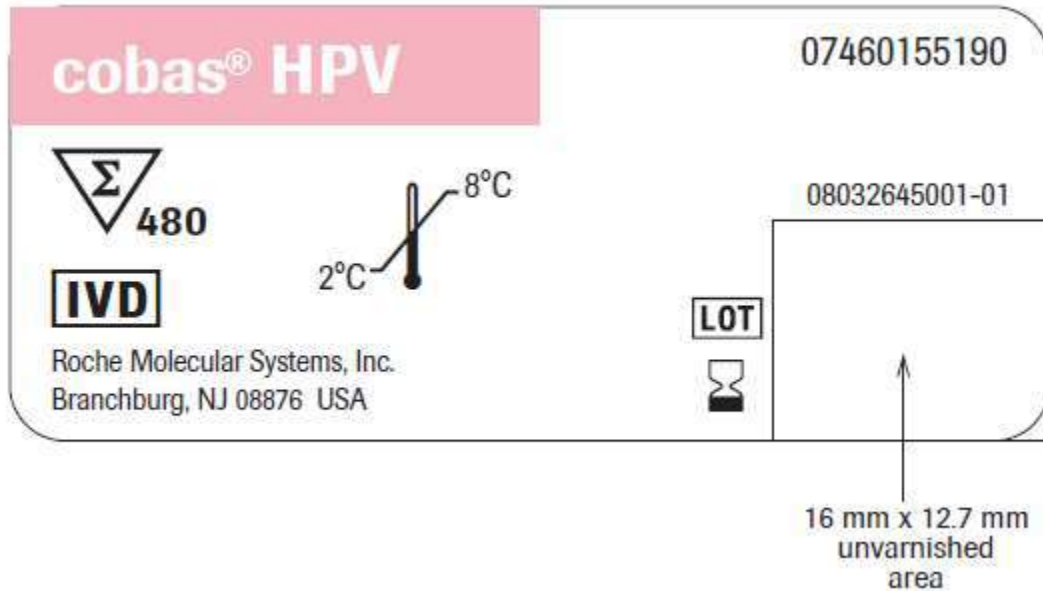
Digitally signed by GARAY Valeria Teresa
Date: 2020.11.16 13:11:00 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2020.11.16 13:11:03 -03:00

PROYECTO DE ROTULO

Material N° 07460155190 – Cobas HPV

Rótulo interno:




Rótulo UDI



GTIN 00875197005752

LOT Z12345

 2035-01-31

07460155190-01

Sobre-rótulo local

Directora Técnica: Vanesa Diambra - Farmacéutica

Establecimiento importador:

Productos Roche S.A.Q. e I.

(División Diagnóstica).

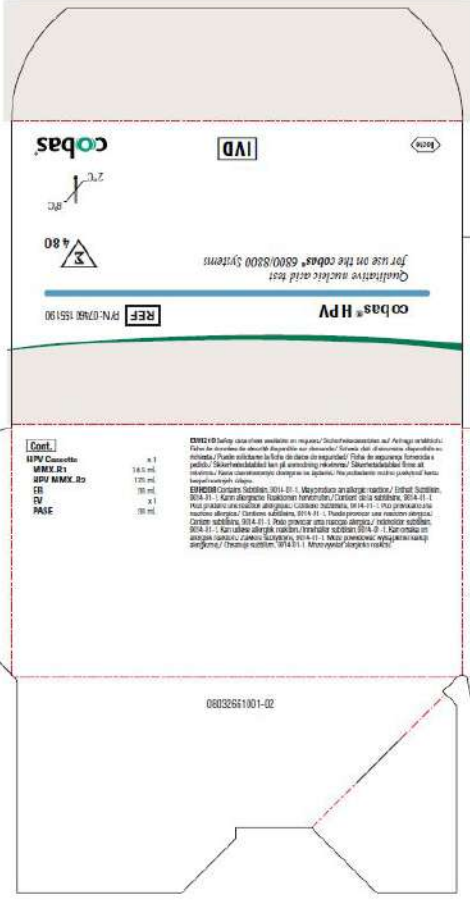
Otto Krause 4211

Malvinas Argentinas, Bs As, Arg

PM-740-749

Uso profesional exclusivo

Caja contenedora



Cont.
HPV Cassette 1 x
MMV R1 125 ml
MMV R2 125 ml
EB 1 x
CV 1 x
PAC 125 ml

HPV cassette
MMV R1
MMV R2
EB
CV
PAC

HPV cassette contains reagents for HPV detection. It consists of:
- HPV cassette: contains reagents for HPV detection.
- MMV R1: contains reagents for HPV detection.
- MMV R2: contains reagents for HPV detection.
- EB: contains reagents for HPV detection.
- CV: contains reagents for HPV detection.
- PAC: contains reagents for HPV detection.

HPV

HISTO VIROLOGIE SYSTEMS, INC.
1000 D1 Highway 202 Suite
Henderson, NV 89011 USA

D

Distribución en México:
HISTO VIROLOGIA S.A. DE CV
Carretera México-Toluca
Carretera México-Toluca
Carretera México-Toluca
Carretera México-Toluca
Carretera México-Toluca
Carretera México-Toluca
Carretera México-Toluca

cobas® HPV

Qualitative nucleic acid test
for use on the cobas® 6800/8800 Systems

HPV

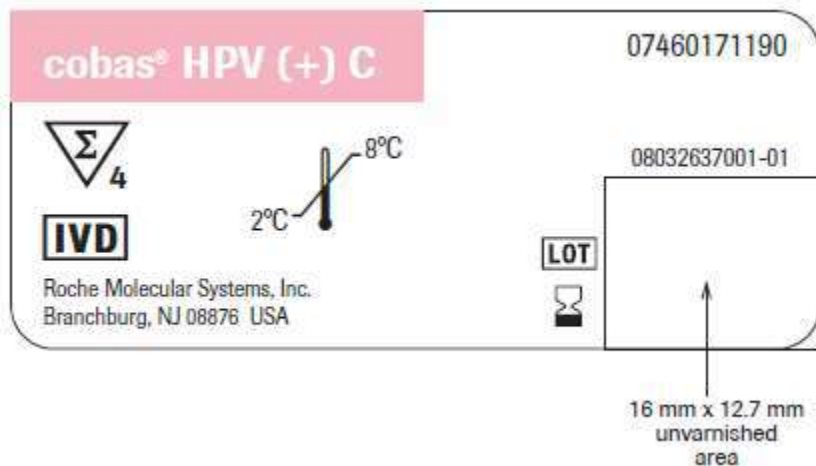
EC REP
Noble Diagnostic Center
Sandwich, Ste 110
PO Box 19900
Atlanta, Georgia

CE

UDI label here

Material N° 07460171190– Cobas HPV Positive Control Kit

Rótulo interno:



Rótulo UDI



GTIN 00875197005769

LOT Z12345

 2035-01-31

07460171190-01

Sobre-rótulo local

Directora Técnica: Vanesa Diambra - Farmacéutica

Establecimiento importador:

Productos Roche S.A.Q. e I.

(División Diagnóstica).

Otto Krause 4211

Malvinas Argentinas, Bs As, Arg

PM-740-749

Uso profesional exclusivo

Caja contenedora

cobas

IVD



16

Positive control kit for use on the cobas® 6800/8800 Systems

cobas® HPV Positive Control Kit

REF

REF: 0348377910

Cont.
MiniRack x 8
HPV (+) C 15 ml (1.1 x 9.1 ml)

21-100292810

HPV (+) C

Positive control kit for use on the cobas® 6800/8800 Systems

This control kit is used to verify the correct operation of the HPV test. It contains 8 MiniRack units, each containing 1.1 ml of HPV (+) C control material. The control material is a synthetic DNA construct that contains the HPV L1 and L2 genes, which are amplified and detected by the HPV test. The control material is stable at room temperature for up to 12 months.

For information on the use of this control kit, please refer to the user manual for the HPV test.

HPV (+) C

D

Roche Molecular Systems, Inc.
1080 St. Raphael St. South
Mannheim, Germany 68161

Roche Diagnostics GmbH
Bldg. 66/67, 11101
Mannheim, Germany 68161

Roche Diagnostics Ltd.
Park Road, Burgess Hill
W Sussex BN27 3NU

Roche Diagnostics
2000000000

Roche Diagnostics GmbH
Bldg. 66/67, 11101
Mannheim, Germany 68161

Roche Diagnostics
2000000000

Roche Diagnostics GmbH
Bldg. 66/67, 11101
Mannheim, Germany 68161

Roche Diagnostics
2000000000

cobas® HPV Positive Control Kit

Positive control kit for use on the cobas® 6800/8800 Systems

cobas

HPV (+) C

EC REP

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
D-68161 Mannheim
Germany

CE

UDI label here

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
D-68161 Mannheim
Germany

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
D-68161 Mannheim
Germany



cobas[®] HPV

Prueba cualitativa de ácidos nucleicos para uso en los cobas[®] 6800/8800 Systems

Para diagnóstico in vitro

cobas[®] HPV	P/N: 07460155190
cobas[®] HPV Positive Control Kit	P/N: 07460171190
cobas[®] Buffer Negative Control Kit	P/N: 07002238190

Tabla de contenido

Uso previsto	4
Resumen y explicación de la prueba.....	4
Información de referencia.....	4
Motivos para el uso de la prueba del HPV	5
Explicación de la prueba.....	5
Reactivos y materiales.....	7
Reactivos y controles de cobas® HPV.....	7
Reactivos cobas omni para la preparación de muestras	9
Requisitos de almacenamiento y manipulación.....	10
Equipo y materiales adicionales necesarios	11
Instrumentos y software necesarios	12
Precauciones y requisitos de manipulación	13
Advertencias y precauciones.....	13
Manipulación de reactivos	13
Buenas prácticas de laboratorio.....	14
Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras.....	14
Obtención de las muestras	14
Transporte de las muestras	14
Almacenamiento de las muestras.....	15
Instrucciones de uso	16
Notas sobre el procedimiento.....	16
Ejecución de la prueba cobas® HPV	16
Roche Cell Collection Medium, cobas® PCR Cell Collection Media o Solución PreservCyt®	17
Fluido conservante SurePath™.....	17
Resultados	19
Control de calidad y validez de los resultados.....	19

Interpretación de los resultados	19
cobas® HPV para el software del sistema cobas® v1.2	19
cobas® HPV para el software del sistema cobas® v1.3	21
Limitaciones del procedimiento	24
Características de rendimiento clínico	26
Concordancia entre la prueba cobas® HPV en SurePath™ y PreservCyt® con comparador compuesto	27
Evaluación no clínica del rendimiento	28
Características clave de rendimiento	28
Límite de detección (LoD).....	28
Inclusividad	29
Precisión.....	29
Especificidad analítica/reactividad cruzada	33
Interferencia	34
Contaminación por arrastre	35
Fallo de todo el sistema	35
Correlación de métodos.....	35
Comparación del rendimiento de la prueba con Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt®	36
Información adicional	38
Características principales del ensayo	38
Símbolos	39
Fabricante y distribuidores	40
Marcas registradas y patentes	40
Copyright.....	40
Bibliografía	41
Revisión del documento	43

Uso previsto

La prueba **cobas**® HPV para uso en los **cobas**® 6800/8800 Systems (**cobas**® HPV) es una prueba cualitativa automatizada *in vitro* para la detección de ADN del virus del papiloma humano (HPV) en muestras de pacientes. La prueba utiliza la amplificación del fragmento de ADN objetivo mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la hibridación de ácidos nucleicos para la detección de 14 genotipos del HPV de alto riesgo (AR) en un único análisis. La prueba identifica específicamente los genotipos HPV16 y HPV18, además de detectar simultáneamente el resto de los tipos de alto riesgo (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) en niveles de infección clínicamente relevantes. Las muestras se limitan a células cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium (Roche Molecular Systems, Inc.), **cobas**® PCR Cell Collection Media (Roche Molecular Solutions, Inc.), solución PreservCyt® (Hologic Corp.) y fluido conservante SurePath™ (BD Diagnostics-TriPath).

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

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

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

Resumen y explicación de la prueba

Información de referencia

Las infecciones persistentes por el virus del papiloma humano (HPV) son la principal causa de cáncer cervical y de su afección precursora, la neoplasia intraepitelial cervical (CIN).¹⁻³ La presencia de HPV está relacionada con más de un 99% de los casos de cáncer cervical en todo el mundo.³ El HPV es un virus de ADN bicatenario pequeño sin envoltura con un genoma de unos 8.000 nucleótidos. Existen más de 140 genotipos de HPV^{4,5} distintos, y unos 40 tipos distintos que pueden infectar la mucosa anogenital humana.^{6,7} Sin embargo, se ha demostrado que únicamente un subconjunto de 14 genotipos del HPV son causantes de la mayoría de los casos de cáncer cervical y lesiones cervicales precancerosas.^{3,8-13} En este documento, “HPV” significa “HPV de alto riesgo”, salvo si se indica lo contrario.

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

Motivos para el uso de la prueba del HPV

La mayoría de los casos de cáncer cervical y mortalidad pueden evitarse gracias a la detección temprana de cambios precancerosos en el cérvix. La prueba citológica ha sido fundamental en los programas de cribado de cáncer cervical durante más de 50 años y ha contribuido a un descenso del 70% en las tasas de cáncer de cuello uterino en los países desarrollados.¹⁵ En la actualidad, el HPV se reconoce como una única causa imprescindible para el cáncer del cuello uterino y está presente en el 99,7% de los casos de cáncer cervical.³ Hay 13 genotipos del HPV clasificados como carcinogénicos o de alto riesgo (AR) debido a su asociación con el cáncer cervical: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, y un genotipo adicional (66) clasificado como probable carcinogénico.¹⁷ Por lo tanto, se ha incrementado el uso de pruebas que detectan la infección por estos genotipos AR del HPV en los programas de cribado de cáncer cervical. En las directrices “2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests”¹⁸ se describe la conveniencia del uso de una combinación de citología cervical, pruebas para la detección de infección AR del HPV y pruebas para la identificación del tipo específico del HPV para mujeres en cribado de cáncer cervical. En estas directrices, la temporización de estudios adicionales (p. ej., colposcopia) y el intervalo para la repetición del cribado dependen del resultados de estas pruebas. Estas directrices se han revisado recientemente y ahora recomiendan la combinación de la citología y las pruebas de HPV de AR (prueba conjunta) como el método preferido de cribado, con la opción añadida de las pruebas para la detección de los genotipos 16/18 del HPV.¹⁵ Las pruebas basadas en el HPV constituyen un método más sensible para el cribado de cáncer cervical que la citología¹⁹ y su valor médico ha sido claramente demostrado como ayuda para la citología, la clasificación de la citología de ASCUS y como prueba de primera línea.

Explicación de la prueba

La prueba cobas® HPV es un ensayo PCR cualitativo en tiempo real^{20,21} capaz de detectar 14 genotipos de alto riesgo del HPV. La prueba cobas® HPV utiliza cebadores para definir una secuencia de aproximadamente 200 nucleótidos de la región polimórfica L1 del genoma del HPV. La mezcla maestra (Master Mix) incluye un conjunto de cebadores para el HPV diseñados para amplificar el ADN del HPV de los 14 tipos de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68).^{3,9-13,22} Esta prueba utiliza ADN de β -globina como control interno para monitorizar todo el proceso de preparación de las muestras y amplificación mediante PCR, por lo que un par de cebadores adicional se dirige al gen de la β -globina humana (amplicón de 330 pares de bases). Las sondas de oligonucleótidos fluorescentes se unen a las regiones polimórficas de la secuencia definida por dichos cebadores. Además, la prueba utiliza un control positivo de título bajo y un control negativo.

La prueba **cobas**® HPV se basa en la preparación de muestras totalmente automática (extracción y purificación de ácidos nucleicos) seguida de un proceso de amplificación²³ y detección mediante PCR. Los **cobas**® 6800/8800 Systems constan del módulo de suministro de muestras, el módulo de transferencia, el módulo de procesamiento y el módulo analítico. La gestión automática de los datos se realiza mediante el software **cobas**® 6800/8800, que asigna los resultados de las pruebas como positivos, negativos o no válidos. Los resultados pueden revisarse directamente en la pantalla del sistema, exportarse o imprimirse como informe.

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

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

La Master Mix para la prueba **cobas**® HPV contiene sondas de detección específicas para doce secuencias de fragmento objetivo de HPV de alto riesgo, una sonda de detección específica para la secuencia de fragmento objetivo de HPV16, una sonda de detección específica para la secuencia de fragmento objetivo de HPV18 y una para la β -globina. La señal amplificada de los doce genotipos de HPV de alto riesgo (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) se detecta con el mismo marcador fluorescente, mientras que las señales de los genotipos HPV16 y HPV18 y de la β -globina se detectan con marcadores fluorescentes específicos. Cuando no se une a la secuencia del fragmento objetivo, la señal fluorescente de las sondas intactas se elimina mediante el marcador silenciador. Durante el paso de amplificación mediante PCR, la hibridación de las sondas con la plantilla específica de ADN monocatenario provoca la escisión de la sonda por la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que produce la separación de los marcadores emisor y silenciador y la emisión de una señal fluorescente. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal acumulada del marcador emisor aumenta concomitantemente. La detección y diferenciación en tiempo real de los productos de PCR se consigue mediante cuantificación de la fluorescencia liberada por los marcadores emisores para los fragmentos objetivo de HPV y β -globina, respectivamente.

Reactivos y materiales

Reactivos y controles de cobas® HPV

Tabla 1 cobas® HPV

cobas® HPV		
Almacenar a 2-8 °C		
Casete para 480 pruebas (P/N 07460155190)		
Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit 480 pruebas
Solución de proteinasa (PASE)	Buffer Tris, < 0,05% de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8% de proteinasa EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad. EUH208: Contiene subtilisina, 9014-01-1. Puede provocar una reacción alérgica.	38 ml
Recipiente vacío (EV)	N/A	1
Buffer de elución (EB)	Buffer Tris, 0,2% de metil-4-hidroxibenzoato	38 ml
Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1% de azida sódica	14,5 ml
Reactivo 2 de Master Mix de HPV (HPV MMX-R2)	Buffer Tricina, acetato de potasio, EDTA, glicerol, < 18% de sulfóxido de dimetilo, < 0,12% de dATP, dCTP, dGTP y dUTP, < 0,1% de Tween 20, < 0,1% de azida sódica, < 0,1% de ADN polimerasa Z05, < 0,10% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1% de cebadores ascendente y descendente del HPV, < 0,01% de cebadores ascendente y descendente de β-globina, < 0,01% de sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescente específicas para HPV y β-globina, < 0,01% de aptámero oligonucleótido	17,5 ml

Tabla 2 cobas® HPV Positive Control Kit

cobas® HPV Positive Control Kit		
Almacenar a 2-8 °C		
(P/N: 07460171190)		
Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit
Control positivo para HPV (HPV (+) C)	Buffer Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,1% de azida sódica, < 0,01% de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencias de HPV16, HPV18 y HPV 39, < 0,01% de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencias de β-globina, < 0,002% de ARN poli Ar (sintético)	16 ml (16 x 1 ml)

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


Almacenar a 2-8 °C

(P/N 07002238190)

Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit
Control negativo para el buffer de cobas® (BUF (-) C)	Buffer Tris, < 0,1% de azida sódica, EDTA, < 0,002% de ARN poli Ar (sintético)	16 ml (16 x 1 ml)

Reactivos cobas omni para la preparación de muestras

Tabla 4 Reactivos cobas omni para la preparación de muestras*

Reactivos	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997546190)	Partículas de vidrio magnéticas, buffer Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	480 pruebas	No aplicable
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997511190)	Buffer Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	4 x 875 ml	No aplicable
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997538190)	42,56% (p/p) de tiocianato de guanidina, 5% (p/v) de polidocanol, 2% (p/v) de ditiotreitol, citrato de sodio dihidratado	4 x 875 ml	 <p>Peligro H302 + H332 Nocivo en caso de ingestión o inhalación. H318 Provoca lesiones oculares graves. H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/ los vapores/el aerosol. P273 Evitar su liberación al medio ambiente. P280 Llevar gafas/máscara de protección. P304 + P340 + P312 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar. P305 + P351 + P338 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico. P501 Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Almacenar a 15-30 °C (P/N: 06997503190)	Citrato de sodio dihidratado, 0,1% de metil-4-hidroxibenzoato	4,2 l	No aplicable

* Estos reactivos no están incluidos en el kit **cobas**® HPV. Consulte el listado de material adicional necesario (Tabla 7).

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

Requisitos de almacenamiento y manipulación

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

Cuando los reactivos no estén cargados en los cobas® 6800/8800 Systems, almacénelos a la temperatura correspondiente especificada en la Tabla 5.

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

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

Los reactivos cargados en los cobas® 6800/8800 Systems se almacenan a la temperatura correspondiente adecuada y el sistema controla su fecha de caducidad. Los cobas® 6800/8800 Systems solamente permiten utilizar los reactivos cuando se cumplen todas las condiciones indicadas en la Tabla 6. El sistema evita automáticamente el uso de reactivos caducados. La Tabla 6 describe las condiciones de manipulación de los reactivos de los cobas® 6800/8800 Systems.

Tabla 6 Condiciones de caducidad de los reactivos de los cobas® 6800/8800 Systems

Reactivo	Estabilidad del kit abierto	Series en las que se puede utilizar el kit	Período de estabilidad (horas acumuladas de carga fuera de la nevera)
cobas® HPV	90 días desde el primer uso	Máx. 20 series	Máx. 20 horas
cobas® HPV Positive Control Kit	No aplicable	Máx. 16 series	Máx. 10 horas
cobas® Buffer Negative Control Kit	No aplicable	Máx. 16 series	Máx. 10 horas
cobas omni Lysis Reagent	30 días desde la carga	No aplicable	No aplicable
cobas omni MGP Reagent	30 días desde la carga	No aplicable	No aplicable
cobas omni Specimen Diluent	30 días desde la carga	No aplicable	No aplicable
cobas omni Wash Reagent	30 días desde la carga	No aplicable	No aplicable

Equipo y materiales adicionales necesarios

Tabla 7 Equipo, materiales y material fungible necesarios para la prueba cobas® HPV

Material	P/N
cobas® Sample Prep Buffer (CSPB)*	06526985190
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Bolsa para residuos sólidos	07435967001
Recipiente de residuos sólidos	07094361001
Tubos de 13 ml de base redonda para uso como tubos de muestras secundarios	07958048190
Tapones de color neutro	07958056190
Etiquetas de código de barras resistentes al calor	RACO Industries, RAC-225075-9501
Agitador (un solo tubo)	Cualquier proveedor
Termómetro -20/150 °C	VWR 89095-600 o equivalente
Bloque de calefacción digital de 120 V	VWR 75838-294 o equivalente
Módulo de bloque de calor de 12 orificios de 16 mm	VWR 13259-162 o equivalente
MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 7001-7050 ^{a,b}	03143449001
RD5 RACK – RD Standard rack 0001-0050 LR ^{a,b}	11902997001

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

a Se necesitan racks MPA de 16 mm y racks RD5 para la prueba cobas® HPV. Póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener una lista de pedido detallada para racks de muestras, racks para puntas obstruidas y bandeja de racks compatibles con cada instrumento.

b El rack MPA de 16 mm es de uso preferente.

Tabla 8 Kits de obtención de muestras para la prueba cobas® HPV

Kit para la obtención de muestras	P/N
Roche Cell Collection Medium (250 viales)	07994745190
cobas® PCR Cell Collection Media (250 viales)	05619637190
ThinPrep Pap Test Physician's Kit (500 viales y dispositivos de obtención de muestras tipo cepillo)	Hologic 70136-001
ThinPrep Pap Test Physician's Kit (500 viales y escobillón/espátula para obtención de muestras)	Hologic 70136-002
SurePath™ GYN Preservative Vial Kit	Becton, Dickinson 490522, 490527
BD SurePath™ Collection Vial Kit (500 viales)	Becton, Dickinson 491253
BD SurePath™ Collection Vial Kit (25 viales)	Becton, Dickinson 491324
Escobillones para recogida de muestras cervicales, 20 bolsas, 25 escobillones cada una (500/caja)	08399832190
Rovers® Cervex-Brush® Combi (500/caja)	VWR 89171-022
Cytobrush Plus GT, 25 bolsas, 100 escobillones cada una (2.500/caja)	Medscand C0105
Cytobrush Plus GT, 2 bolsas, 500 escobillones cada una (1.000/caja)	Medscand C0121
Cytobrush Plus GT, 10 bolsas, 10 escobillones cada una (100/caja)	Medscand C0104
Cytobrush Plus GT Sterile, 1 escobillón por bolsa (40/caja)	Medscand C0112
Cytobrush Plus GT Scored, 25 bolsas, 100 escobillones cada una (2.500/caja)	Medscand C0305
Pap-Perfect Plastic Spatulas (500/caja)	Medscand 11080
Tapones de sustitución manual de 42 mm para viales (sueltos, 250/bolsa)	08037230190 (opcional)
Tapones de sustitución de 42 mm para viales (8 bandejas de 48/caja)	07682247001 (opcional)

Instrumentos y software necesarios

Es necesario instalar el software **cobas®** 6800/8800 y los paquetes de análisis **cobas®** HPV en los instrumentos. El IG (Instrument Gateway) se suministra con los sistemas.

Tabla 9 Instrumentos

Equipo	P/N
cobas® 6800 System (plataforma móvil)	05524245001 y 06379672001
cobas® 6800 System (plataforma fija)	05524245001 y 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Módulo de suministro de muestras	06301037001
Instrument Gateway	06349595001

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones

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

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- Todas las muestras de pacientes deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados que se describen en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories²⁵ y en el documento M29-A4 del CLSI.²⁶ Este procedimiento solamente debería llevarlo a cabo personal experto en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba cobas® HPV y los cobas® 6800/8800 Systems.
- Todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse teniendo en cuenta las precauciones generales. En caso de que se produzca un derrame, desinfecte de inmediato con una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10) o siga los procedimientos apropiados del laboratorio.
- No congele ninguna muestra almacenada en tubos primarios o secundarios.
- Utilice solo el material fungible suministrado o que se requiera expresamente para garantizar el rendimiento establecido para la prueba.
- Puede solicitar Hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.
- Siga al pie de la letra los procedimientos y las directrices que se suministran para garantizar la correcta realización de la prueba. Cualquier variación de dichos procedimientos y directrices podría afectar el rendimiento establecido para la prueba.
- Podrían producirse falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.

Manipulación de reactivos

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

- Los kits de control usados contienen viales perforados con reactivo residual. Extrema la precaución durante su eliminación para evitar derrames y el contacto.
- **cobas® HPV**, **cobas® HPV Positive Control Kit**, **cobas® Negative Control Kit**, **cobas® omni MGP Reagent** y **cobas® omni Specimen Diluent** contienen azida sódica como conservante. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras. Si se producen salpicaduras de reactivos, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- Elimine todos los materiales que hayan estado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la reglamentación nacional, estatal y local.

Buenas prácticas de laboratorio

- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo.
- Utilice guantes, bata de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles. Es necesario cambiarse los guantes entre la manipulación de las muestras y **cobas® HPV**, **cobas® HPV Positive Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit** y los reactivos **cobas® omni** para evitar la contaminación.
- Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos, y al quitarse los guantes.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo del laboratorio usando una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10). A continuación, límpielas con un trapo impregnado en etanol al 70%.
- Si se produce algún derrame sobre el instrumento, siga las instrucciones descritas en la Guía del usuario de los **cobas® 6800/8800 Systems** para limpiar y descontaminar correctamente la superficie de los instrumentos.

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

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

Obtención de las muestras

Se ha validado el uso de muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium, **cobas® PCR Cell Collection Media**, solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™ con la prueba **cobas® HPV**. Siga las instrucciones del fabricante para obtener las muestras cervicales.

Transporte de las muestras

Las muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium, **cobas® PCR Cell Collection Media**, solución PreservCyt® o fluido conservante SurePath™ se pueden transportar a una temperatura comprendida entre 2 y 30 °C. El transporte de las muestras del HPV debe cumplir las reglamentaciones nacionales, federales, estatales y locales para el transporte de agentes etiológicos.²⁷

Almacenamiento de las muestras

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

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

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

En la Tabla 10 se resumen las condiciones de almacenamiento aceptables para las muestras antes de realizar la prueba cobas® HPV.

Tabla 10 Resumen de las condiciones de almacenamiento aceptables para las muestras antes de realizar la prueba cobas® HPV

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

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

Instrucciones de uso

Notas sobre el procedimiento

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

Ejecución de la prueba **cobas**® HPV

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

- Es necesario transferir alícuotas de las muestras a tubos secundarios de fondo redondo de 13 ml a fin de procesarlas en los **cobas**® 6800/8800 Systems. Utilice pipetas con puntas con filtro para aerosol o desplazamiento positivo para manipular las muestras.
- En una sola serie pueden combinarse muestras de varios tipos (recogidas en Roche Cell Collection Medium, **cobas**® PCR Cell Collection Media, solución PreservCyt® y/o fluido conservante SurePath™) y cada una de ellas puede analizarse con los ASAP del HPV de alto riesgo (HPV-HR) o del HPV de alto riesgo más genotipado (HPV-GT).
- Las muestras deben procesarse utilizando la selección de tipo de muestra de la interfaz de usuario de la prueba **cobas**® HPV tal como se describe en la Tabla 11.
- Se requieren etiquetas de código de barras resistentes al calor para los tubos utilizados con muestras recogidas en fluido conservante SurePath™.

Tabla 11 Selección del tipo de muestra en la interfaz de usuario de **cobas® HPV**

Muestra	Tipo de kit de recogida	Procesar como tipo de muestra
Muestra cervical	Roche Cell Collection Medium	RCCM
Muestra cervical	cobas ® PCR Cell Collection Media	RCCM
Muestra cervical	Solución PreservCyt® (ThinPrep)	PreservCyt®
Muestra cervical	Fluido conservante SurePath™	SurePath™

Roche Cell Collection Medium, cobas® PCR Cell Collection Media o Solución PreservCyt®

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

Fluido conservante SurePath™

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

*Se requieren etiquetas de código de barras resistentes al calor para los tubos utilizados en el paso de calentamiento para revertir la reticulación inducida por la matriz. Consulte el apartado “Equipo y materiales adicionales necesarios” para conocer los números de productos recomendados.

Ilustración 1 Procedimiento de la prueba cobas® HPV

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

Resultados

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

Control de calidad y validez de los resultados

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

El software cobas® 6800/8800 valida automáticamente los resultados según el resultado del control negativo y del control positivo.

Interpretación de los resultados

cobas® HPV para el software del sistema cobas® v1.2

En la Ilustración 2 y la Ilustración 3 se muestran ejemplos de visualización de la prueba cobas® HPV para el software del sistema cobas® v1.2.

Ilustración 2 Ejemplo de visualización de resultados de la prueba cobas® HPV para la solicitud de resultados HPV-HR en el software del sistema cobas® v1.2

Prueba	ID muestra	Válida	Avisos	Tipo de muestra	Resultado global	Fragmento objetivo 1	Fragmento objetivo 2	Fragmento objetivo 3
HPV-HR	C161420284084194727902	Yes		HPV (+) C	Valid	Valid		
HPV-HR	C161420284090428825772	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid		
HPV-HR 400 ul	PC_HPVRinv_01	No	Y40T	PreservCyt®	Invalid	Invalid		
HPV-HR 400 ul	PC_HPVRneg_01	Yes		PreservCyt®	Negative	HR HPV Negative		
HPV-HR 400 ul	PC_HPVRneg_02	Yes		PreservCyt®	Negative	HR HPV Negative		
HPV-HR 400 ul	PC_HPVRneg_03	Yes		PreservCyt®	Negative	HR HPV Negative		
HPV-HR 400 ul	SP_HPVRinv_01	No	Y40T	SurePath™	Invalid	Invalid		
HPV-HR 400 ul	SP_HPVRneg_01	Yes		SurePath™	Negative	HR HPV Negative		

Ilustración 3 Ejemplo de visualización de resultados de la prueba cobas® HPV para la solicitud de resultados HPV-GT en el software del sistema cobas® v1.2

Prueba	ID muestra	Válida	Avisos	Tipo de muestra	Resultado global	Fragmento objetivo 1	Fragmento objetivo 2	Fragmento objetivo 3
HPV-GT 400 ul	SP_HPVGTPos_03	Yes		SurePath™	Reactive	Other HR HPV Positive	HPV 16 Negative	HPV 18 Negative
HPV-GT 400 ul	SP_HPVGTPos_05	Yes		SurePath™	Reactive	Other HR HPV Positive	HPV 16 Positive	HPV 18 Negative
HPV-GT 400 ul	SP_HPVGTPos_06	Yes		SurePath™	Positive	Other HR HPV Positive	HPV 16 Positive	HPV 18 Positive
HPV-GT 400 ul	PC_HPVGTPos_02	Yes		PreservCyt®	Reactive	Other HR HPV Negative	HPV 16 Negative	HPV 18 Positive
HPV-GT 400 ul	PC_HPVGTPos_01	Yes		PreservCyt®	Negative	Other HR HPV Negative	HPV 16 Negative	HPV 18 Negative
HPV-GT 400 ul	PC_HPVGTPos_06	No	C02H1	PreservCyt®	Invalid	Invalid	HPV 16 Positive	HPV 18 Positive
HPV-GT 400 ul	PC_HPVGTPos_03	No	C02H1	PreservCyt®	Invalid	Invalid	HPV 16 Positive	Invalid
HPV-GT 400 ul	C161420284090390657451	Yes		HPV (+) C	Valid	Valid	Valid	Valid
HPV-GT 400 ul	C161420284090419645071	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid	Valid	Valid

En las series válidas, compruebe cada muestra para detectar avisos en el software **cobas®** 6800/8800 y/o en el informe. La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Una serie válida puede incluir resultados de muestras tanto válidos como inválidos.
- Las muestras presentan un “Yes” en la columna “Válida” si todos los resultados de fragmentos objetivos solicitados muestran resultados válidos. Las muestras que presentan un “No” en la columna “Válida” pueden requerir alguna interpretación o acción adicional.
- Los valores de la columna “Resultado global” para muestras individuales deberían interpretarse del modo siguiente:
 - Positive: todos los resultados solicitados son positivos.
 - Reactive: como mínimo uno de los resultados solicitados es positivo y el resto, negativos.
 - Negative: todos los resultados solicitados son negativos.
 - Invalid: al menos uno de los resultados solicitados es inválido.
- Los valores indicados en la columna “Resultado global” **no** influyen en la validez de los resultados comunicados en las columnas de resultados de fragmentos objetivo individuales.
- Los resultados de fragmentos objetivo comunicados para muestras individuales son válidos a no ser que se indiquen como “Invalid” en la columna de resultado de fragmento objetivo individual.
- Los resultados no válidos para una o varias combinaciones de fragmentos objetivo son posibles con la solicitud de resultados HPV-GT y se comunican específicamente para cada canal. Consulte las instrucciones de repetición de pruebas para cada tipo de muestra a continuación.
- En el caso de obtenerse resultados de fragmento objetivo no válidos de muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium, **cobas®** PCR Cell Collection Media o solución PreservCyt®, debe repetirse el análisis de la muestra original no más de dos veces para obtener resultados válidos. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva. Para los resultados de fragmento objetivo no válidos de muestras recogidas en SurePath™, debe repetirse el análisis de la muestra original si hay volumen suficiente. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva.

cobas® HPV para el software del sistema cobas® v1.3

En la Ilustración 4 y la Ilustración 5 se muestran ejemplos de visualización de la prueba cobas® HPV para el software del sistema cobas® v1.3.

Ilustración 4 Ejemplo de visualización de resultados de la prueba cobas® HPV para la solicitud de resultados HPV-HR en el software del sistema cobas® v1.3

Prueba	ID muestra	Válida	Avisos	Tipo de muestra	Resultado global	Fragmento objetivo 1	Fragmento objetivo 2	Fragmento objetivo 3
HPV-HR	C161420284084194727902	Yes		HPV (+) C	Valid	Valid		
HPV-HR	C161420284090428825772	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid		
HPV-HR 400 ul	PC_HPVRinv_01	NA	Y40T	PreservCyt®	NA	Invalid		
HPV-HR 400 ul	PC_HPVRneg_01	NA		PreservCyt®	NA	HR HPV Negative		
HPV-HR 400 ul	PC_HPVRneg_02	NA		PreservCyt®	NA	HR HPV Negative		
HPV-HR 400 ul	PC_HPVRneg_03	NA		PreservCyt®	NA	HR HPV Negative		
HPV-HR 400 ul	RCCM_HPVRpos_01	NA		RCCM	NA	HR HPV Positive		
HPV-HR 400 ul	RCCM_HPVRpos_02	NA		RCCM	NA	HR HPV Positive		
HPV-HR 400 ul	RCCM_HPVRpos_03	NA		RCCM	NA	HR HPV Positive		
HPV-HR 400 ul	SP_HPVRinv_01	NA	Y40T	SurePath™	NA	Invalid		
HPV-HR 400 ul	SP_HPVRneg_01	NA		SurePath™	NA	HR HPV Negative		

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

Ilustración 5 Ejemplo de visualización de resultados de la prueba cobas® HPV para la solicitud de resultados HPV-GT en el software del sistema cobas® v1.3

Prueba	ID muestra	Válida	Avisos	Tipo de muestra	Resultado global	Fragmento objetivo 1	Fragmento objetivo 2	Fragmento objetivo 3
HPV-GT 400 ul	RCCM_HPVGTPos_02	NA		RCCM	NA	Other HR HPV Negative	HPV 16 Negative	HPV 18 Positive
HPV-GT 400 ul	RCCM_HPVGTPos_01	NA		RCCM	NA	Other HR HPV Negative	HPV 16 Positive	HPV 18 Positive
HPV-GT 400 ul	RCCM_HPVGTPos_04	NA		RCCM	NA	Other HR HPV Positive	HPV 16 Negative	HPV 18 Positive
HPV-GT 400 ul	SP_HPVGTPos_03	NA		SurePath™	NA	Other HR HPV Positive	HPV 16 Negative	HPV 18 Negative
HPV-GT 400 ul	SP_HPVGTPos_05	NA		SurePath™	NA	Other HR HPV Positive	HPV 16 Positive	HPV 18 Negative
HPV-GT 400 ul	SP_HPVGTPos_06	NA		SurePath™	NA	Other HR HPV Positive	HPV 16 Positive	HPV 18 Positive
HPV-GT 400 ul	PC_HPVGTPos_02	NA		PreservCyt®	NA	Other HR HPV Negative	HPV 16 Negative	HPV 18 Positive
HPV-GT 400 ul	PC_HPVGTPneg_01	NA		PreservCyt®	NA	Other HR HPV Negative	HPV 16 Negative	HPV 18 Negative
HPV-GT 400 ul	PC_HPVGTPos_06	NA	C02H1	PreservCyt®	NA	Invalid	HPV 16 Positive	HPV 18 Positive
HPV-GT 400 ul	PC_HPVGTPos_03	NA	C02H1	PreservCyt®	NA	Invalid	HPV 16 Positive	Invalid
HPV-GT 400 ul	C161420284090390657451	Yes		HPV (+) C	Valid	Valid	Valid	Valid
HPV-GT 400 ul	C161420284090419645071	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid	Valid	Valid

En las series válidas, compruebe cada muestra para detectar avisos en el software **cobas®** 6800/8800 y/o en el informe. La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Una serie válida puede incluir resultados de muestras tanto válidos como inválidos.
- Las columnas “Válido” y “Resultado global” no son aplicables a los resultados de las muestras de la prueba **cobas®** HPV y aparecen marcadas como “NA”. Los valores que aparecen en estas columnas **no** influyen en la validez de los resultados comunicados en las columnas de resultados de fragmentos objetivo individuales.
- Los resultados de fragmentos objetivo comunicados para muestras individuales son válidos a no ser que se indiquen como “Invalid” en la columna de resultado de fragmento objetivo individual.
- Los resultados no válidos para una o varias combinaciones de fragmentos objetivo son posibles con la solicitud de resultados HPV-GT y se comunican específicamente para cada canal. Consulte las instrucciones de repetición de pruebas para cada tipo de muestra a continuación.
- En el caso de obtenerse resultados de fragmento objetivo no válidos de muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium, **cobas®** PCR Cell Collection Media o solución PreservCyt®, debe repetirse el análisis de la muestra original no más de dos veces para obtener resultados válidos. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva. Para los resultados de fragmento objetivo no válidos de muestras recogidas en SurePath™, debe repetirse el análisis de la muestra original si hay volumen suficiente. Si los resultados siguen siendo no válidos, debe utilizarse una muestra nueva.

A continuación se muestran los resultados y la interpretación correspondiente para la detección únicamente de genotipos AR de HPV (Tabla 12) y para la detección de otros genotipos AR de HPV, HPV 16 y HPV 18 (Tabla 13). Esta interpretación también puede aplicarse a los resultados comunicados con cualquiera de las versiones del software del sistema **cobas®**.

Tabla 12 Resultados de la prueba cobas® HPV e interpretación para la solicitud de resultado HPV-HR

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

Tabla 13 Resultados de la prueba cobas® HPV e interpretación para la solicitud de resultado HPV-GT

Fragmento objetivo 1	Fragmento objetivo 2	Fragmento objetivo 3	Interpretación
Other HR HPV Positive	HPV 16 Positive, HPV 16 Negative o Invalid	HPV 18 Positive, HPV 18 Negative o Invalid	La muestra es positiva para el ADN de cualquiera de los siguientes genotipos de HPV de alto riesgo, o una combinación de los mismos: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68.
Other HR HPV Negative			No se han podido detectar los genotipos de HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 o el volumen es inferior al umbral definido.
Invalid			El resultado de los genotipos de HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 no es válido.
Other HR HPV Positive, Other HR HPV Negative o Invalid	HPV 16 Positive	HPV 18 Positive, HPV 18 Negative o Invalid	Muestra positiva para el ADN del genotipo 16 de HPV.
	Negativo para HPV16		No se ha podido detectar el ADN del genotipo 16 de HPV o el volumen era inferior al umbral definido.
	Invalid		El resultado del genotipo 16 del HPV no es válido.
Other HR HPV Positive, Other HR HPV Negative, o Invalid	HPV 16 Positive, HPV 16 Negative o Invalid	Positivo para HPV18	Muestra positiva para el ADN del genotipo 18 de HPV.
		Negativo para HPV18	No se ha podido detectar el ADN del genotipo 18 de HPV o el volumen era inferior al umbral definido.
		Invalid	El resultado del genotipo 18 del HPV no es válido.

Limitaciones del procedimiento

- La prueba **cobas**® HPV se ha evaluado únicamente para su uso combinado con **cobas**® HPV Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas** **omni** MGP Reagent, **cobas** **omni** Lysis Reagent, **cobas** **omni** Specimen Diluent y **cobas** **omni** Wash Reagent en los **cobas**® 6800/8800 Systems.
- La prueba **cobas**® HPV se ha validado únicamente para su uso con muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium, **cobas**® PCR Cell Collection Media, solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™. No se ha validado el rendimiento del ensayo para su uso con otros medios de recogida y/o tipos de muestras. El uso de otros medios de recogida y/o tipos de muestra puede causar falsos positivos, falsos negativos o resultados no válidos.
- La prueba **cobas**® HPV está validada para el análisis de muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath™ tratadas con tampón de preparación de muestras **cobas**® para revertir la reticulación inducida por la matriz de las muestras recogidas en fluido conservante SurePath™. Si el procesamiento de las muestras recogidas en fluido conservante SurePath™ se realiza sin seguir el protocolo de pretratamiento con tampón de preparación de muestras **cobas**® o si el pretratamiento se realiza con reactivos alternativos, pueden originarse falsos negativos o resultados no válidos.
- La prueba **cobas**® HPV detecta ADN de los genotipos de alto riesgo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68. Esta prueba no detecta ADN de genotipos del HPV de bajo riesgo (p. ej., 6, 11, 42, 43, 44), ya que el análisis de dichos genotipos de HPV carece de utilidad clínica.¹⁸
- La prueba **cobas**® HPV para la detección de los tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 del virus del papiloma humano no se recomienda para la determinación de presuntos abusos sexuales u otras indicaciones de ámbito médico o jurídico.
- La detección de HPV de alto riesgo depende del número de copias presentes en la muestra, que puede verse afectado por el método de obtención de la muestra, los factores propios de la paciente, la fase de infección y la presencia de sustancias interferentes.
- La prevalencia de la infección por HPV en una población puede alterar el resultado. Los valores de predicción positivos disminuyen cuando las pruebas se realizan en poblaciones con una prevalencia baja o en pacientes sin riesgo de infección.
- La infección por HPV no es indicativa de HSIL en la citología ni de CIN de alto grado subyacente, así como tampoco de un posible desarrollo de CIN2-3 o cáncer. La mayoría de las mujeres infectadas por uno o más tipos de alto riesgo del HPV no llegan a desarrollar CIN2-3 ni cáncer.
- Un resultado negativo para HPV de alto riesgo no excluye la posibilidad de futuros resultados de HSIL citológicos ni de lesiones CIN2-3 o cáncer subyacente.
- La amplificación y detección de la β -globina se incluye en la prueba **cobas**® HPV con objeto de diferenciar las muestras negativas para HPV de las que no presentan señal para HPV debido a un volumen de células insuficiente en la muestra. Todas las muestras negativas para HPV deben generar una señal para β -globina válida comprendida en un rango predefinido para poderlas identificar como muestras negativas válidas.
- La obtención de resultados fiables depende de que los procedimientos de recogida, almacenamiento y manipulación de muestras sean adecuados.

- La incorporación de la enzima AmpErase® a la Master Mix para la prueba cobas® HPV permite realizar una amplificación selectiva del ADN objetivo; no obstante, es imprescindible utilizar buenas prácticas de laboratorio y cumplir estrictamente los procedimientos especificados en estas Instrucciones de uso para evitar la contaminación de los reactivos.
- El uso de este producto debe limitarse al personal con experiencia en el empleo de técnicas de PCR y la utilización de los cobas® 6800/8800 Systems.
- Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas antes de cambiar de una a otra. No cabe esperar un porcentaje de concordancia del 100% entre los resultados debido a las diferencias indicadas anteriormente entre tecnologías y a la variabilidad normal de las pruebas.
- Tampoco se han evaluado los efectos de otras variables potenciales como la descarga vaginal, el uso de tampones, la ducha, etc., y las variables que afectan a la obtención de las muestras.
- Aunque es poco probable, las mutaciones en las regiones muy conservadas del ADN genómico del virus del papiloma humano cubiertas por los cebadores y/o las sondas de la prueba cobas® HPV pueden causar errores en la detección del ADN vírico.
- La presencia de inhibidores de la PCR puede dar lugar a resultados de falsos negativos o resultados no válidos.
- El uso de productos disponibles en el mercado como Replens™, gel vaginal RepHresh™ y el kit RepHresh™ Clean Balance™ se ha relacionado con resultados falsos negativos.
- La utilización de gel vaginal de Metronidazol se ha relacionado con resultados falsos negativos.
- Los resultados negativos en la prueba del HPV no pretenden evitar que las mujeres se sometan a una colposcopia.
- Los resultados positivos indican la presencia de uno o más tipos de alto riesgo. Sin embargo, puesto que las pacientes pueden estar infectadas también con tipos de bajo riesgo, no se puede descartar la presencia de tipos de bajo riesgo en pacientes con infecciones mixtas.
- Los resultados de esta prueba deberían interpretarse exclusivamente junto con la información disponible de la evaluación clínica de la paciente y su historial.

Características de rendimiento clínico

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

A las mujeres que obtuvieron un resultado \geq ASCUS en la citología de la muestra recogida en SurePath™ se les recomendó someterse a una colposcopia. Asimismo, todas las mujeres con un resultado positivo para ADN de HPV de alto riesgo (positivo mediante la prueba cobas® 4800 HPV), así como un subconjunto elegido aleatoriamente de mujeres con citología NILM (negativo para lesión intraepitelial o malignidad) y negativo para ADN de HPV de alto riesgo (mediante la prueba cobas® 4800 HPV), fueron seleccionadas para continuar con una colposcopia. Para evitar el sesgo, se aplicó un procedimiento ciego tanto a las participantes en el estudio como a las mujeres sometidas a colposcopia a la hora de realizar todas las pruebas del HPV y de comunicar los resultados citológicos hasta después de la colposcopia. La colposcopia se realizó según el protocolo estándar que determina la realización de biopsias de todas las lesiones visibles; todas las pacientes para las que no se pudo visualizar una unión escamosa fueron sometidas a un legrado endocervical y se realizó una biopsia cervical aleatoria en caso de no observarse lesiones. Todas las biopsias fueron evaluadas por un CPRP formado por tres patólogos expertos; los resultados discordantes se resolvieron de acuerdo con un protocolo predefinido. Para cada tipo de muestra, se midió el rendimiento clínico (sensibilidad y especificidad) de la prueba cobas® 4800 HPV y de la prueba cobas® HPV para su uso en cobas® 6800/8800 Systems en comparación con los resultados histológicos del CPRP. Se realizaron análisis para las mujeres con una histología \geq CIN2 según el panel CPRP. Se analizaron un total de 995 muestras recogidas en PreservCyt® (Tabla 14) y 841 muestras recogidas en SurePath™ (Tabla 15) procedentes de la prueba clínica con valoración de la histología completada. Se encontraron 65 mujeres con diagnóstico histológico de \geq CIN2.

Tabla 14 Rendimiento de la prueba cobas® HPV y la prueba cobas® 4800 HPV para la detección de \geq CIN2 en PreservCyt®

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

IC = intervalo de confianza

Tabla 15 Rendimiento de la prueba cobas® HPV y la prueba cobas® 4800 HPV para la detección de \geq CIN2 en SurePath™

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

IC = intervalo de confianza

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

Se evaluó la concordancia entre los resultados de la prueba cobas® HPV y un comparador compuesto consistente en resultados de ADN de HPV obtenidos mediante Qiagen Hybrid Capture 2 (hc2; sonda de genotipos de alto riesgo) y la prueba cobas® 4800 HPV. Un resultado positivo tanto de la prueba cobas® 4800 HPV como de los ensayos hc2 se definió como positivo para el comparador compuesto, un resultado negativo tanto de la prueba cobas® 4800 HPV como de hc2 se definió como negativo para el comparador compuesto; las muestras con resultados discordantes entre los dos métodos se consideraron indeterminadas y no se utilizaron para el cálculo de la concordancia de positivos, negativos y global. El porcentaje de concordancia de positivos, negativos y global se calculó para cada tipo de medio de recogida frente al comparador compuesto. El análisis final de los datos incluyó los resultados de la prueba cobas® HPV y el comparador compuesto de 2.318 muestras recogidas en PreservCyt® (Tabla 16) y 1.651 muestras recogidas en SurePath™ (Tabla 17).

Tabla 16 Concordancia entre la prueba cobas® HPV y el comparador compuesto (hc2 en PreservCyt® y cobas® 4800 HPV en PreservCyt®) para muestras recogidas en PreservCyt®

Resultado de cobas® HPV	Resultado del comparador compuesto			Total	PPA (IC al 95%)	NPA (IC al 95%)	OPA (IC al 95%)
	Positivo	Negativo	Indeterminado*				
Positivo	195	33	67	295	98,0% (195/199) (94,9%, 99,2%)	98,3% (1966/1999) (97,7%, 98,8%)	98,3% (2161/2198) (97,7%, 98,8%)
Negativo	4	1.966	53	2.023			
Total	199	1.999	120	2.318			

PPA = concordancia de porcentaje de positivos, NPA = concordancia de porcentaje de negativos, OPA = concordancia de porcentaje general, IC = intervalo de confianza

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

Se obtuvieron tres resultados no válidos por parte de la prueba cobas® HPV.

Tabla 17 Concordancia entre la prueba cobas® HPV y el comparador compuesto (hc2 en PreservCyt® y cobas® 4800 HPV en SurePath™) para muestras recogidas en SurePath™

Resultado de cobas® HPV	Resultado del comparador compuesto			Total	PPA (IC al 95%)	NPA (IC al 95%)	OPA (IC al 95%)
	Positivo	Negativo	Indeterminado*				
Positivo	141	13	50	204	94,0% (141/150) (89,0%, 96,8%)	99,1% (1376/1389) (98,4%, 99,5%)	98,6% (1517/1539) (97,8%, 99,1%)
Negativo	9	1.376	62	1.447			
Total	150	1.389	112	1.651			

PPA = concordancia de porcentaje de positivos, NPA = concordancia de porcentaje de negativos, OPA = concordancia de porcentaje general, IC = intervalo de confianza

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

Evaluación no clínica del rendimiento

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

Características clave de rendimiento

Límite de detección (LoD)

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

El LoD para SiHa fue de 16 células/ml tanto para PreservCyt® como para SurePath™; el LoD para HeLa fue de 16 células/ml en PreservCyt® y de 8 células/ml en SurePath™. De la Tabla 18 a la Tabla 21 se presentan los resultados de los lotes de reactivos cuyo nivel del LoD es más conservador (más alto) para el análisis de HPV16 y HPV18 en solución PreservCyt® y en fluido conservante SurePath™, respectivamente.

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

Tabla 18 Niveles del límite de detección para HPV16 (línea celular SiHa) en solución PreservCyt®

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

Tabla 19 Niveles del límite de detección para HPV16 (línea celular SiHa) en fluido conservante SurePath™

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

Tabla 20 Niveles del límite de detección para HPV18 (línea celular HeLa) en solución PreservCyt®

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

Tabla 21 Niveles del límite de detección para HPV18 (línea celular HeLa) en fluido conservante SurePath™

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

Inclusividad

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

Precisión

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

El panel de precisión se diseñó para incluir miembros con concentraciones muy bajas, bajas y medias de HPV (negativo alto, < LoD, ~ LoD y > LoD), así como muestras negativas para el HPV para cada tipo de muestra. El análisis se realizó con tres lotes de reactivos de la prueba cobas® HPV en dos instrumentos. Se realizaron el mismo número de series en el cobas® 6800 System y el cobas® 8800 System durante 12 días para un total de 24 series para cada miembro del panel. En la Tabla 22 y en la Tabla 23 se muestran una descripción de los paneles de precisión y las tasas de aciertos observadas.

Todos los miembros del panel analizados obtuvieron las tasas de aciertos esperadas. En el análisis de la desviación estándar y el porcentaje del coeficiente de variación de los valores de Ct de los ensayos válidos realizados con los miembros del panel positivos se obtuvieron rangos de CV (%) globales comprendidos entre el 4,32% y el 6,34% para otros genotipos del HPV de alto riesgo (Tabla 24), entre el 1,09% y el 4,61% para HPV16 (Tabla 25) y entre el 1,21% y el 3,76% para HPV18 (Tabla 26).

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

Tabla 22 Resumen de la precisión intralaboratorio en solución PreservCyt®

Nivel de panel	Tasa de aciertos esperada	Origen del fragmento objetivo	Concentración de HPV	Canal del fragmento objetivo	N pruebas	N Positivos	Tasa de aciertos	IC al 95%	
								LI	LS
Negativo	0%	N/A	N/A	Otros HPV AR	72	0	0%	0%	5%
Negativo	0%	N/A		HPV16	72	0	0%	0%	5%
Negativo	0%	N/A		HPV18	72	0	0%	0%	5%
Negativo alto	≤ 5%	Muestra clínica	N/A	Otros HPV AR	72	0	0%	0%	5%
Negativo alto	≤ 5%	Muestra clínica		HPV16	72	0	0%	0%	5%
Negativo alto	≤ 5%	Muestra clínica		HPV18	72	5	7%	2%	15%
< 1x LoD	< 95%	Muestra clínica	N/A	Otros HPV AR	72	30	42%	30%	54%
< 1x LoD	< 95%	Muestra clínica	N/A	HPV16	71	33	47%	35%	59%
< 1x LoD	< 95%	Muestra clínica	N/A	HPV18	72	49	68%	56%	79%
< 1x LoD	20-80%	Línea celular	4,8 células/ml	HPV16	72	44	61%	49%	72%
< 1x LoD	20-80%	Línea celular	4,8 células/ml	HPV18	72	49	68%	56%	79%
~ 1x LoD	≥ 95%	Muestra clínica	N/A	Otros HPV AR	72	72	100%	95%	100%
~ 1x LoD	≥ 95%	Línea celular	16 células/ml	HPV16	72	72	100%	95%	100%
~ 1x LoD	≥ 95%	Línea celular	16 células/ml	HPV18	72	72	100%	95%	100%
> 1x LoD	≥ 99%	Muestra clínica	N/A	Otros HPV AR	72	72	100%	95%	100%
> 1x LoD	≥ 99%	Línea celular	48 células/ml	HPV16	72	72	100%	95%	100%
> 1x LoD	≥ 99%	Línea celular	48 células/ml	HPV18	72	72	100%	95%	100%

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

Tabla 23 Resumen de la precisión intralaboratorio en fluido conservante SurePath™

Nivel de panel	Tasa de aciertos esperada	Origen del fragmento objetivo	Concentración de HPV	Canal del fragmento objetivo	N pruebas	N Positivos	Tasa de aciertos	IC al 95%	
								LI	LS
Negativo	0%	N/A	N/A	Otros HPV AR	72	0	0%	0%	5%
Negativo	0%	N/A		HPV16	72	0	0%	0%	5%
Negativo	0%	N/A		HPV18	72	0	0%	0%	5%
Negativo alto	≤ 5%	Muestra clínica	N/A	Otros HPV AR	72	0	0%	0%	5%
Negativo alto	≤ 5%	Muestra clínica		HPV16	72	0	0%	0%	5%
Negativo alto	≤ 5%	Muestra clínica		HPV18	72	0	0%	0%	5%
< 1x LoD	< 95%	Muestra clínica	N/A	Otros HPV AR	72	64	89%	79%	95%
< 1x LoD	< 95%	Muestra clínica	N/A	HPV16	72	11	15%	8%	26%
< 1x LoD	< 95%	Muestra clínica	N/A	HPV18	72	36	50%	38%	62%
< 1x LoD	20-80%	Línea celular	4,8 células/ml	HPV16	72	55	76%	65%	86%
< 1x LoD	20-80%	Línea celular	2,4 células/ml	HPV18	72	47	65%	53%	76%
~ 1x LoD	≥ 95%	Muestra clínica	N/A	Otros HPV AR	72	72	100%	95%	100%
~ 1x LoD	≥ 95%	Línea celular	16 células/ml	HPV16	72	72	100%	95%	100%
~ 1x LoD	≥ 95%	Línea celular	8 células/ml	HPV18	72	70	97%	90%	100%
> 1x LoD	≥ 99%	Muestra clínica	N/A	Otros HPV AR	72	72	100%	95%	100%
> 1x LoD	≥ 99%	Línea celular	48 células/ml	HPV16	72	72	100%	95%	100%
> 1x LoD	≥ 99%	Línea celular	24 células/ml	HPV18	72	72	100%	95%	100%

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

Tabla 24 Media global, desviaciones estándar y coeficientes de variación (%) para el ciclo límite - Otros genotipos del HPV de alto riesgo

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

Tabla 25 Media global, desviaciones estándar y coeficientes de variación (%) para el ciclo límite - HPV16

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

Tabla 26 Media global, desviaciones estándar y coeficientes de variación (%) para el ciclo límite - HPV18

			Efecto aleatorio															
			Día		Instrumento		Usuario		Lote		Interensayo		Intraensayo		Residual		Total	
Nivel	Tasa de aciertos	Ct medio	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV
Muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®																		
< LoD	68,1%	35,9	0	0	0,55	1,52	0	0	0,18	0,51	0,17	0,49	0	0	1,21	3,37	1,35	3,76
< LoD	68,1%	35,3	0,19	0,54	0	0	0,02	0,06	0	0	0	0	0	0	0,97	2,75	0,99	2,80
~ LoD	100%	33,8	0	0	0	0	0	0	0,37	1,11	0	0	0	0	0,73	2,17	0,82	2,44
> LoD	100%	32,2	0	0	0	0	0	0	0,22	0,68	0,03	0,10	0	0	0,33	1,02	0,39	1,23
Muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath™																		
< LoD	50,0%	37,3	0,14	0,36	0	0	0,10	0,27	0,25	0,66	0	0	0	0	0,45	1,21	0,54	1,45
< LoD	65,3%	36,3	0,23	0,65	0	0	0	0	0,27	0,74	0,15	0,42	0,20	0,55	0,54	1,49	0,70	1,92
~ LoD	97,5%	35,7	0	0	0	0	0	0	0,33	0,94	0,07	0,20	0	0	0,56	1,57	0,65	1,84
> LoD	100%	34,4	0	0	0,06	0,19	0,02	0,06	0,20	0,57	0,04	0,13	0	0	0,36	1,04	0,42	1,21

Especificidad analítica/reactividad cruzada

Se analizó un panel de bacterias, hongos y virus (incluidos los virus de mayor presencia en el tracto urogenital femenino, así como varios tipos de virus del papiloma humano clasificados de riesgo bajo o sin determinar) con la prueba cobas® HPV a fin de valorar la especificidad analítica de la misma. Se añadieron los organismos indicados en la Tabla 27, con concentraciones de aproximadamente 1×10^6 unidades*/ml para las bacterias y de aproximadamente 1×10^5 unidades*/ml para los virus a pools de muestras cervicales negativas para el HPV recogidas en solución PreservCyt® y fluido conservante SurePath™. Se analizaron todos los posibles organismos interferentes de forma individual, así como mezclados con líneas celulares de SiHa (HPV16) y HeLa (HPV18) con una concentración de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$. Los resultados indicaron que ninguno de estos organismos interfirió en la detección del ADN de HPV16 y HPV18 ni generó ningún resultado falso positivo en la muestra negativa para el HPV.

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

Tabla 27 Microorganismos analizados para la especificidad analítica/reactividad cruzada

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

Interferencia

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

Las sustancias endógenas analizadas fueron moco cervical, células mononucleares de sangre periférica y sangre total. En la Tabla 28 se muestran los niveles de sustancias endógenas toleradas por el ensayo para los tipos de muestras. En el análisis de sustancias exógenas se incluyeron los 17 productos de higiene femenina disponibles en el mercado y con receta recogidos en la Tabla 29. De entre los productos de higiene femenina disponibles en el mercado y con receta analizados, se obtuvieron resultados falsos negativos con el gel de Metronidazol, Replens™, el gel eliminador de olor vaginal RepHresh™ y el kit de higiene femenina RepHresh™ Clean Balance™.

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

Tabla 28 Resumen de concentraciones de sustancias endógenas que no afectan al rendimiento

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

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

Tabla 29 Lista de sustancias analizadas para detectar interferencias en muestras cervicales

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

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

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

Contaminación por arrastre

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

Fallo de todo el sistema

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

Correlación de métodos

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

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

Los resultados de correlación y las concordancias de porcentajes de positivos, de negativos y general junto con los intervalos de confianza al 95% se muestran en la Tabla 30 para muestras recogidas en PreservCyt® y en la Tabla 31 para muestras recogidas en SurePath™. Hubieron 397 muestras discordantes para genotipos de HPV de alto riesgo para los dos tipos de muestra, combinados; de ellas, 212 fueron positivas según la prueba cobas® HPV y 185 fueron positivas según cobas® 4800 HPV.

Tabla 30 Correlación entre la prueba cobas® HPV y la prueba cobas® 4800 HPV para muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®

		cobas® 4800 HPV - Resultado para 14 AR		Total
		Positivo	Negativo	
cobas® HPV - Resultado para 14 AR	Positivo	834	146	980
	Negativo	57	5.924	5.981
Total		891	6.070	6.961

Resultado (%)	Intervalo de confianza al 95%	
Concordancia de porcentaje de positivos	93,6%	91,8% - 95,0%
Concordancia de porcentaje de negativos	97,6%	97,2% - 98,0%
Concordancia de porcentaje general	97,1%	96,7% - 97,5%

Las concordancias para la detección de HPV16/HPV18 por parte de la prueba cobas® HPV y la prueba cobas® 4800 HPV son (estimación e intervalo de confianza al 95%): PPA: 99,6% (97,2%-99,9%); NPA: 98,5% (98,2%-98,8%); y OPA: 98,6% (98,3%-98,8%)

Tabla 31 Correlación entre la prueba cobas® HPV y la prueba cobas® 4800 HPV para muestras cervicales recogidas en fluido conservante SurePath™

		cobas® 4800 HPV - Resultado para 14 AR		Total
		Positivo	Negativo	
cobas® HPV - Resultado para 14 AR	Positivo	701	66	767
	Negativo	128	4.860	4.988
Total		829	4.926	5.755

Resultado (%)		Intervalo de confianza al 95%
Concordancia de porcentaje de positivos	84,6%	81,9% - 86,9%
Concordancia de porcentaje de negativos	98,7%	98,3% - 98,9%
Concordancia de porcentaje general	96,6%	96,1% - 97,1%

Las concordancias para la detección de HPV16/HPV18 por parte de la prueba cobas® HPV y la prueba cobas® 4800 HPV son (estimación e intervalo de confianza al 95%): PPA: 97,7% (94,3%-99,1%); NPA: 99,0% (98,7%-99,3%); y OPA: 99,0% (98,7%-99,2%)

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

Se compararon los resultados de la prueba cobas® HPV con muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium y muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®. Las muestras cervicales se obtuvieron de los mismos sujetos y luego se recogieron con Roche Cell Collection Medium o solución PreservCyt® siguiendo un orden aleatorio para su posterior análisis. Las muestras positivas para cualquiera de los 14 genotipos de alto riesgo del HPV detectados por la prueba (HPV-HR) se consideraron positivas, mientras que las muestras con resultados negativos para los 14 genotipos de alto riesgo del HPV detectados por la prueba se consideraron negativas.

Se comparó el rendimiento de la prueba cobas® HPV con Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt® mediante la prueba de proporciones de dos muestras. Los intervalos de confianza del 95% para la diferencia de las proporciones (Roche Cell Collection Medium y solución PreservCyt®) tanto para positivos como para negativos del HPV incluían "0", lo que confirmó que los resultados para muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium no eran estadísticamente diferentes de los resultados obtenidos para muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt® (Tabla 32).

Tabla 32 Prueba de proporciones de dos muestras para muestras cervicales recogidas en Roche Cell Collection Medium y muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®

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

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

Información adicional




















Características principales del ensayo

Tipos de muestras	<ul style="list-style-type: none">• Muestra cervical recogida en Roche Cell Collection Medium• Muestra cervical recogida en cobas® PCR Cell Collection Media• Muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt®• Muestra cervical recogida en fluido conservante SurePath™
Cantidad de muestra procesada	<ul style="list-style-type: none">• Se requieren $\geq 1.000 \mu\text{l}$ en el tubo de muestra para las muestras recogidas en Roche Cell Collection Medium; en el instrumento se procesan $400 \mu\text{l}$• Se requieren $\geq 1.000 \mu\text{l}$ en el tubo de muestra para las muestras recogidas en cobas® PCR Cell Collection Media, en el instrumento se procesan $400 \mu\text{l}$• Se requieren $\geq 1.000 \mu\text{l}$ en el tubo de muestra para las muestras recogidas en solución PreservCyt®; en el instrumento se procesan $400 \mu\text{l}$• Se requieren $1.000 \mu\text{l}$ en el tubo de muestra para las muestras recogidas en SurePath™ tratadas con tampón de preparación de muestras cobas®; en el instrumento se procesan $400 \mu\text{l}$
Duración de la prueba	<ul style="list-style-type: none">• $< 3,5$ horas hasta la obtención del primer resultado

Símbolos

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

Tabla 33 Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de PCR para diagnóstico de Roche

	Programa auxiliar		Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Límite inferior del intervalo asignado
	Hoja de datos del código de barras		Fabricante
	Código de lote		Almacenar en la oscuridad
	Riesgo biológico		Suficiente para $\langle n \rangle$ pruebas
	Número de catálogo		Límite de temperatura
	Consulte las instrucciones de uso		Archivo de definición de pruebas
	Contenido del kit		Límite superior del intervalo asignado
	Distribuido por		Fecha de caducidad
	Para evaluación del rendimiento IVD únicamente		Número mundial de artículo comercial
	El presente producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79/CE de productos sanitarios para el diagnóstico <i>in vitro</i> .		

Servicio técnico para clientes de EE. UU.: 1-800-526-1247

Fabricante y distribuidores

Tabla 34 Fabricante y distribuidores



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Roche Diagnostics (Schweiz) AG
Industriestrasse 7
6343 Rotkreuz, Switzerland

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics, SL
Avda. Generalitat, 171-173
E-08174 Sant Cugat del Vallès
Barcelona, Spain

Roche Diagnostica Brasil Ltda.
Av. Engenheiro Billings, 1729
Jaguará, Building 10
05321-010 São Paulo, SP Brazil

Roche Diagnostics
201, boulevard Armand-Frappier
H7V 4A2 Laval, Québec, Canada
(For Technical Assistance call:
Pour toute assistance technique,
appeler le: 1-877-273-3433)

Roche Diagnostics
2, Avenue du Vercors
38240 Meylan, France

Distributore in Italia:
Roche Diagnostics S.p.A.
Viale G. B. Stucchi 110
20052 Monza, Milano, Italy

Distribuidor em Portugal:
Roche Sistemas de Diagnósticos Lda.
Estrada Nacional, 249-1
2720-413 Amadora, Portugal

Marcas registradas y patentes

Consulte la página <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

Copyright

©2018 Roche Molecular Systems, Inc.



Bibliografía

1. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbio Rev.* 2003;16(1):1-17.
2. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer.* 2002;2(5):342-350.
3. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189(1):12-19.
4. Bernard HU. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *Journal Clin Virol: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2005;32 Suppl 1:S1-6.
5. Molijn A, Kleter B, Quint W, van Doorn LJ. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol* 2005;32 Suppl 1(1):S43-51.
6. zur Hausen H. Roots and perspectives of contemporary papillomavirus research. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996;122(1):3-13.
7. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, et al. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004;324(1):17-27.
8. Franco EL, Rohan TE, Villa LL. Epidemiologic evidence and human papillomavirus infection as a necessary cause of cervical cancer. *J Ntl Cancer Inst* 1999;91(6):506-511.
9. Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, et al. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* 1992;79(3):328-337.
10. Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1995;87(11):796-802.
11. Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002;55(4):244-265.
12. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348(6):518-527.
13. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Device and Radiologic Health, Establishing the Performance Characteristics of In Vitro Diagnostic Devices for the Detection or Detection and Differentiation of Human Papillomavirus [Draft Guidance]. 2015.
14. Whitlock EP, Vesco KK, Eder M, Lin JS, et al. Liquid-based cytology and human papillomavirus testing to screen for cervical cancer: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2011;155(10):687-697, W214-685.
15. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA Cancer J Clin* 2012;62(3):147-172.
16. Huh WK, Ault KA, Chelmow D, Davey DD, et al. Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening: interim clinical guidance. *Obstet Gynecol* 2015;125(2):330-337.

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

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 2.0 01/2018	<p>Se ha añadido el elemento “Escobillones para recogida de muestras cervicales, 20 bolsas, 25 escobillones cada una (500/caja), P/N 08399832190” a la Tabla 8.</p> <p>Se han corregido errores tipográficos para las columnas “Número de positivos”, “% de positivos” e “Intervalo de confianza al 95%” para las concentraciones de 16 células/ml y 8 células/ml en la Tabla 20.</p> <p>Se han corregido errores tipográficos relativos a las unidades/ml en el apartado Especificidad analítica/reactividad cruzada.</p> <p>Se han eliminado los microorganismos adenovirus 7A, adenovirus tipo 1 y <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> de la Tabla 27.</p> <p>Se han corregido errores de formato en todo el documento.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>
Doc Rev. 3.0 02/2018	<p>Se ha añadido texto a lo largo del documento sobre la utilización de Roche Cell Collection Medium.</p> <p>Se han añadido datos acerca del rendimiento de Roche Cell Collection Medium al apartado Evaluación no clínica del rendimiento. Se ha actualizado el apartado Interpretación de los resultados para incluir ilustraciones y texto sobre la utilización del software del sistema v1.3.</p> <p>Se ha actualizado la concentración de CMSP tolerada para PreservCyt de 1,00E+07 células/ml a 1,00E+06 células/ml en el apartado Evaluación no clínica del rendimiento.</p> <p>Se ha actualizado el número P/N del bloque de calefacción digital de 120 V.</p> <p>Se ha actualizado el número P/N de Rovers® Cervex-Brush® Combi.</p> <p>Se han clarificado los requisitos de volumen de muestra necesario en el apartado Características principales del ensayo.</p> <p>Se ha corregido el total de resultados positivos para 14 genotipos AR de la prueba cobas® HPV en la Tabla 31.</p> <p>Se han corregido errores de formato en todo el documento.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2020 - Año del General Manuel Belgrano

Hoja Adicional de Firmas
Informe gráfico

Número:

Referencia: RESPUESTA A EX-2020-39619534 (2)

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 47 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2020.08.24 16:05:09 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2020.08.24 16:05:10 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2020 - Año del General Manuel Belgrano

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: EX-2020-39619534-APN-DGA#ANMAT

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN

PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO DE USO IN VITRO

Nº EX-2020-39619534-APN-DGA#ANMAT

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por la firma **PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica)** se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de nuevos productos médicos para diagnóstico de uso in vitro con los siguientes datos característicos:

NOMBRE COMERCIAL: 1) (Nº 07460155190) Cobas HPV; 2) (Nº 07460171190) Cobas HPV Positive Control Kit. -----

INDICACIÓN DE USO: La prueba cobas® HPV para uso en los cobas® 6800/8800 Systems (cobas® HPV) es una prueba cualitativa automatizada in vitro para la detección de ADN del virus del papiloma humano (HPV) en muestras de pacientes. La prueba utiliza la amplificación del fragmento de ADN objetivo mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la hibridación de ácidos nucleicos para la detección de 14 genotipos del HPV de alto riesgo (AR) en un único análisis. La prueba identifica específicamente los genotipos HPV16 y HPV18, además de detectar simultáneamente el resto de los tipos de alto riesgo

(31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) en niveles de infección

clínicamente relevantes. -----

FORMA DE PRESENTACIÓN: 1) Envases por 480 determinaciones, conteniendo: 1 Casete para 480 pruebas

(Solución de proteinasa x 38 ml, Recipiente vacío x 1 unidad, Buffer de elución x 38 ml, Reactivo 1 de Master Mix x 14,5 ml, Reactivo 2 de Master Mix de HPV x 17,5 ml); 2) Control positivo para HPV (HPV (+) C, 16 viales x 1 ml). -----

PERIODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN: 1) y 2) 18 (DIECIOCHO) meses desde la fecha de elaboración conservado a 2-8°C.-----

NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE: Roche Molecular Systems, Inc. 1080 US Highway 202 South, Branchburg, NJ 08876 (USA). -----

CONDICIÓN DE VENTA/CATEGORÍA: Venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO-----

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO PM N° 740-749. -----

EX-2020-39619534-APN-DGA#ANMAT