

Xpert HPV[®]

REF GXHPV-CE-10

Instrucciones de uso

IVD CE

Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y derechos de propiedad intelectual

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2014-2023 Cepheid.

See Section 27 Revision History for a description of changes.

Cepheid[®], el logotipo de Cepheid, GeneXpert[®] y Xpert[®] son marcas comerciales de Cepheid, registradas en los EE. UU. y otros países.

Las restantes marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO OTORGA AL COMPRADOR EL DERECHO INTRANSFERIBLE DE UTILIZARLO SEGÚN ESTAS INSTRUCCIONES DE USO. NO SE OTORGA NINGÚN OTRO DERECHO DE FORMA EXPRESA, IMPLÍCITA O POR IMPEDIMENTO LEGAL. LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO TAMPOCO OTORGA NINGÚN DERECHO DE REVENTA.

© 2014-2023 Cepheid.

Consulte el 27 Historial de revisiones para obtener una descripción de los cambios.

Xpert HPV[®]

Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

1 Nombre patentado

Xpert HPV[®]

2 Denominación común o habitual

Prueba Xpert HPV

3 Indicaciones

La prueba Xpert HPV es una prueba cualitativa *in vitro* para la detección de la región E6/E7 del genoma del ADN vírico del virus del papiloma humano (VPH) de alto riesgo en muestras de pacientes. La prueba realiza una amplificación multiplex del ADN diana mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real de 14 tipos de VPH de alto riesgo en un único análisis. El Xpert HPV Assay identifica específicamente los tipos VPH 16 y VPH 18/45 en dos canales de detección diferentes, e informa de la presencia o ausencia de otros 11 tipos de alto riesgo (31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) en un resultado combinado. Las muestras se limitan a células cervicales recogidas en solución PreservCyt[®] (Hologic Corp.). Se ha comprobado que las muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt y pretratadas con ácido acético glacial para lisar los hematíes sobrantes para el estudio citológico también son válidas para su uso con la prueba Xpert HPV.

Indicaciones de la prueba Xpert HPV:

- La prueba Xpert HPV puede utilizarse con una muestra de citología vaginal para evaluar la presencia o ausencia de tipos de VPH de alto riesgo. Esta información, junto con la evaluación del médico de los antecedentes médicos de la paciente, otros factores de riesgo y las pautas profesionales, puede utilizarse para guiar el tratamiento de la paciente.
- La prueba Xpert HPV puede utilizarse junto con una muestra de citología vaginal para la evaluación de la presencia o ausencia de los genotipos 16 y 18/45 del VPH. Esta información, junto con la evaluación del médico de los antecedentes médicos de la paciente, otros factores de riesgo y las pautas profesionales, puede utilizarse para guiar el tratamiento de la paciente.

4 Resumen y explicación

La infección persistente con VPH de alto riesgo constituye la principal causa de cáncer de cuello uterino y es un precursor de la neoplasia intraepitelial de cuello uterino (NIC). La presencia de VPH ha estado implicada en más del 99 % de los cánceres de cuello uterino de todo el mundo.¹ El VPH es un pequeño virus de ADN bicatenario sin envoltura y con un genoma de aproximadamente 8000 nucleótidos. Hay más de 150 tipos diferentes de VPH, y aproximadamente 40 tipos de VPH que pueden infectar la mucosa anogenital humana.² Sin embargo, solamente un subgrupo de unos 14 de estos tipos se considera de alto riesgo para la aparición de cáncer de cuello uterino y de sus lesiones precursoras. Observaciones recientes indican que las pruebas y protocolos de detección basados en ADN de VPH de alto riesgo específicos de tipos deben centrarse en los tipos 16, 18 y 45 del VPH.³ A nivel global, los tipos 16, 18 y 45 del VPH se encontraron en el 75 % de todos los carcinomas escamosos, y se determinó que se asociaban a aproximadamente el 80 % de todos los cánceres de cuello uterino invasivos.^{4,5}

Nota En esta publicación, «VPH» y «HR VPH» significan «VPH de alto riesgo», a menos que se indique lo contrario.

5 Principio del procedimiento

La prueba Xpert HPV es una prueba automatizada para la detección y diferenciación cualitativas de ADN de VPH. La prueba se realiza en los sistemas GeneXpert de Cepheid.

Los sistemas GeneXpert automatizan e integran el procesamiento de muestras, la lisis celular, la purificación, la amplificación de ácidos nucleicos y la detección de las secuencias diana en muestras mediante PCR en tiempo real. Los sistemas constan de un instrumento, un ordenador personal, y software precargado para realizar los ensayos y ver los resultados. Los sistemas requieren el uso de cartuchos GeneXpert desechables de un solo uso que contengan los reactivos para la PCR, alojen la muestra y lleven a cabo el procesamiento de la PCR. Como los cartuchos son autónomos, el riesgo de contaminación cruzada entre muestras es mínimo. Si desea obtener una descripción completa de los sistemas, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity* adecuados.

La prueba Xpert HPV incluye reactivos para la detección de VPH de alto riesgo. La prueba Xpert HPV está diseñada para utilizarse con muestras cervicales recogidas en PreservCyt con un dispositivo similar a una escoba o con una combinación de cepillo y espátula endocervicales. También pueden utilizarse muestras cervicales pretratadas con ciertos métodos de ácido acético glacial. Se ha comprobado que las muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt son válidas para su uso con la prueba Xpert HPV. Siga las instrucciones del fabricante para la recogida de muestras cervicales.

En el cartucho se incluyen, además, un control de adecuación de la muestra (SAC) y un control de comprobación de la sonda (PCC). Los reactivos de SAC detectan la presencia de un gen humano de una sola copia y determinan si la muestra contiene cantidades adecuadas de células humanas para realizar una evaluación cualitativa del estado relativo al VPH. El PCC verifica la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes.

Los canales contienen cebadores y sondas para la detección de genotipos específicos o resultados combinados; a saber: «SAC; Primario» para el control de adecuación de la muestra, «VPH 16; Primario» para el VPH 16, «VPH 18_45; Primario» para el resultado combinado de VPH 18/45, «P3; Primario» para el resultado combinado de cualquiera de los tipos de VPH 31, 33, 35, 52 o 58, «P4; Primario» para el resultado combinado de los tipos de VPH 51 o 59, y «P5; Primario» para el resultado combinado de cualquiera de los tipos de VPH 39, 56, 66 o 68. En la Figura 5 puede verse un ejemplo de la leyenda del ensayo.

6 Reactivos e instrumentos

6.1 Material suministrado

El kit de la prueba Xpert HPV (GXVPH-CE-10) contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras de control de calidad y/o especímenes.

El kit contiene lo siguiente:

Cartuchos de la prueba Xpert HPV con tubos de reacción integrados	10
<ul style="list-style-type: none"> • Microesfera 1 y microesfera 2 (liofilizadas) • Reactivo de tampón 	1 de cada por cartucho 2,0 ml por cartucho
Pipetas de transferencia (1 ml)	10
CD	1
<ul style="list-style-type: none"> • Archivos de definición del ensayo (ADF) • Instrucciones para importar los ADF en el software GeneXpert • Instrucciones de uso (prospecto) 	

Nota Las fichas de datos de seguridad (SDS, Safety Data Sheets) están disponibles en el apartado ASISTENCIA (SUPPORT) de www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com.

Nota La albúmina sérica bovina (BSA) del interior de las microesferas de este producto se obtuvo y se fabricó exclusivamente a partir de plasma bovino originario de Estados Unidos. Los animales no fueron alimentados con proteínas de rumiantes ni con otras proteínas animales; los animales superaron las pruebas ante y post mórtem. Durante el procesamiento, no hubo mezcla del material con otros materiales de origen animal.

6.2 Conservación y manipulación

- Conserve los cartuchos y los reactivos de la prueba Xpert HPV a una temperatura de entre 2 y 28 °C.
- No abra el cartucho hasta que esté listo para realizar la prueba. Utilice los cartuchos en los 30 minutos siguientes a la apertura de la tapa del cartucho.
- No utilice los reactivos ni los cartuchos después de la fecha de caducidad indicada.
- No utilice cartuchos que presenten fugas.

6.3 Materiales requeridos pero no suministrados

- Muestra cervical recogida en PreservCyt con un dispositivo similar a una escoba o con una combinación de cepillo y espátula endocervicales.
- Sistema GeneXpert Dx o sistema GeneXpert Infinity (el número de catálogo varía según la configuración): Instrumento GeneXpert, ordenador, lector de códigos de barras y manual del operador.
 - Sistema GeneXpert Dx: Software versión 4.3 o posterior.
 - Para los sistemas GeneXpert Infinity-80 e Infinity-48: Software Xpertise versión 6.1 o superior.
- Manual del operador del sistema GeneXpert adecuado
- Impresora (si se requiere una impresora, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada)

7 Declaraciones de atención y precaución

7.1 General

- Solo para uso diagnóstico *in vitro*.
- Las muestras clínicas pueden contener microorganismos patógenos, como virus de la hepatitis o de la inmunodeficiencia humana (VIH). Trate todas las muestras biológicas, incluidos los cartuchos usados, como posibles agentes transmisores de infecciones. Con frecuencia es imposible saber qué muestras podrían ser infecciosas, por lo que todas las muestras biológicas deben tratarse tomando las precauciones habituales. Las directrices para la manipulación de las muestras están disponibles en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (U.S. Centers for Disease Control and Prevention) y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).^{6,7}
- Siga los procedimientos de seguridad de su centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben ser considerados capaces de transmitir agentes infecciosos, y requieren las precauciones habituales. Siga los procedimientos de eliminación de desechos de su centro para la eliminación adecuada de los cartuchos usados y los reactivos no utilizados. Estos materiales pueden presentar características propias de los residuos químicos peligrosos, que requieren procedimientos específicos de eliminación de carácter nacional o regional. Si las normativas nacionales o regionales no proporcionan instrucciones claras en cuanto a los procedimientos de eliminación adecuados, las muestras biológicas y los cartuchos usados deben desecharse de conformidad con las directrices de la OMS (Organización Mundial de la Salud) relativas a la manipulación y eliminación de desechos médicos.
- Para evitar la contaminación de las muestras, se recomienda seguir las buenas prácticas de laboratorio y cambiarse los guantes entre las manipulaciones de muestras de pacientes.

7.2 Recogida, transporte y conservación de las muestras

• Recogida de muestras

Se ha comprobado que las muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt son válidas para su uso con la prueba Xpert HPV. Siga las instrucciones del fabricante para la recogida de muestras cervicales.

• Transporte de muestras

Las muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt pueden transportarse a 2-30 °C. El transporte de muestras de VPH debe cumplir la normativa vigente para el transporte de agentes etiológicos.⁸

• Conservación de muestras

Las muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt pueden conservarse a 2-30 °C durante un máximo de seis meses después de la fecha de la recogida.

7.3 Ensayo/reactivo

- No sustituya los reactivos del Xpert HPV por otros reactivos.
- No abra la tapa del cartucho de la prueba Xpert HPV hasta que esté preparado para añadir una muestra durante la prueba.
- No utilice cartuchos que se hayan caído después de extraerlos del empaquetado.
- No agite el cartucho. Si el cartucho se agita o se deja caer después de abrirlo, es posible que se obtengan resultados no válidos.
- No coloque la etiqueta de ID de la muestra en la tapa del cartucho ni sobre la etiqueta del código de barras.
- No utilice un cartucho que tenga un tubo de reacción dañado.
- Cada cartucho de un solo uso de la prueba Xpert HPV se utiliza para procesar una sola prueba. No reutilice los cartuchos procesados.
- No utilice un cartucho que se haya volcado después de añadir la muestra.
- Use guantes y bata de laboratorio limpios. Cámbiese los guantes cada vez que procese muestras diferentes.
- En caso de que la zona o el equipo de trabajo resulten contaminados con muestras o controles, limpie minuciosamente la zona contaminada con una dilución 1:10 de lejía de uso doméstico y, a continuación, con una solución de etanol al 70 % o de alcohol isopropílico al 70 %. Seque por completo las superficies de trabajo antes de seguir.

8 Peligros químicos^{9,10}

Los ingredientes no son considerados peligrosos según las directivas para la clasificación y el etiquetado de sustancias o mezclas o el Sistema Globalmente Armonizado de clasificación y etiquetado de sustancias o mezclas.

9 Procedimiento

Antes de iniciar estos procedimientos, asegúrese de que el instrumento GeneXpert esté ejecutando el software GeneXpert Dx versión 4.3 o posterior, o el software Xpertise versión 6.1 o posterior.

Importante Inicie la prueba en los 30 minutos siguientes a la apertura de la tapa.

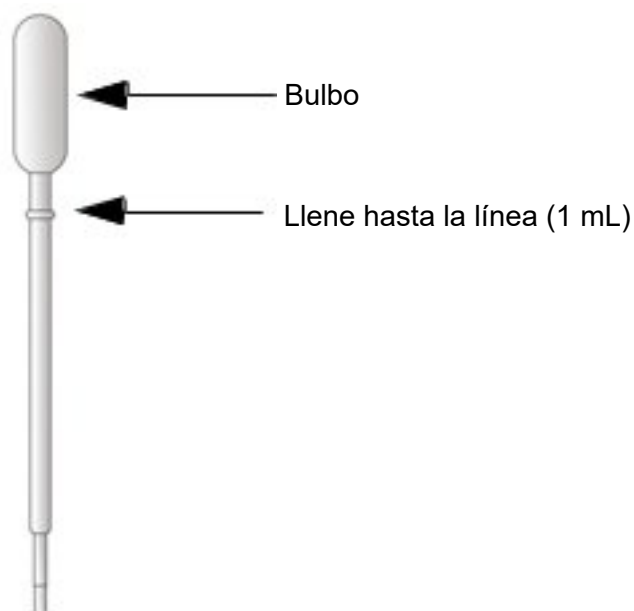
9.1 Preparación del cartucho

Para añadir la muestra al cartucho Xpert HPV:

1. Reúna lo siguiente:
 - Cartucho Xpert HPV.
 - Pipeta de transferencia (suministrada). La línea de la pipeta indica un volumen de llenado de 1 ml.
 - Muestra problema debidamente recogida y etiquetada.
2. Inspeccione el cartucho del ensayo para comprobar que no esté dañado. Si está dañado, no lo utilice.
3. Abra la tapa del cartucho.
4. Mezcle la muestra invirtiendo suavemente el frasco de la muestra de 8 a 10 veces o mediante una breve agitación en un mezclador vórtex a velocidad media de manera continua durante cinco segundos.
5. Desenvuelva la pipeta de transferencia.
6. Retire la tapa del frasco de la muestra, comprima el bulbo de la pipeta de transferencia, introduzca la punta de la pipeta en el frasco y suelte el bulbo para llenar la pipeta de transferencia hasta la línea de 1 ml. Consulte la Figura 1. Asegúrese de que la pipeta esté llena y de que no contenga burbujas de aire.

Importante Evite añadir demasiada mucosa al cartucho.

Figura 1. Pipeta de transferencia y marca de llenado



7. Expulse el contenido de la pipeta en la cámara de muestras del cartucho. Consulte la Figura 2.



Figura 2. Figura 2. Cartucho Xpert HPV (vista superior)

8. Cierre la tapa del cartucho.

9.2 Inicio de la prueba

Importante

Antes de iniciar la prueba, asegúrese de que se hayan importado al software los archivos de definición del Xpert HPV Assay (ADF). Este apartado incluye los pasos básicos para realizar la prueba. Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del sistema GeneXpert Dx o el Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity.

Nota

Los pasos que debe seguir pueden ser diferentes si el administrador del sistema cambió el flujo de trabajo predeterminado del sistema.

Este apartado enumera los pasos predeterminados para utilizar el sistema GeneXpert. Para ver instrucciones detalladas, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity*, según el modelo que se esté utilizando.

1. Encienda el sistema GeneXpert:
 - Si está utilizando el instrumento GeneXpert Dx, encienda primero el instrumento y, a continuación, encienda el ordenador. El software GeneXpert se iniciará automáticamente o podría ser necesario hacer doble clic en el icono de acceso directo del software GeneXpert Dx en el escritorio de Windows®.
 - o
 - Si está utilizando el instrumento GeneXpert Infinity, ponga en marcha el instrumento. El software GeneXpert se ejecutará automáticamente o podría ser necesario hacer doble clic en el icono de acceso directo del software Xpertise en el escritorio de Windows.
2. Inicie sesión en el software del sistema GeneXpert con su nombre de usuario y su contraseña.
3. En la ventana del sistema GeneXpert, haga clic en **Crear prueba (Create Test)** (GeneXpert Dx), o en **Solicitudes (Orders)** y **Solicitar prueba (Order Test)** (Infinity). Aparecerá la ventana Crear prueba (Create Test). Consulte la Figura 3.

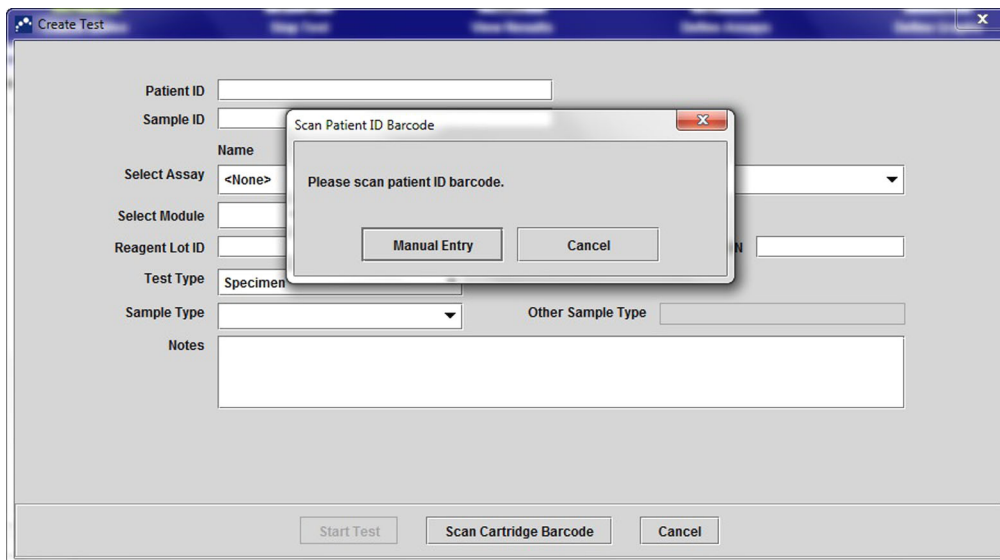


Figura 3. Ventana Crear prueba de GeneXpert Dx

4. Escanee o escriba la Id. paciente (Patient ID) (opcional). Si escribe la Id. paciente (Patient ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. paciente (Patient ID) se asocia a los resultados del ensayo, y se muestra en la ventana Ver resultados (View Results).
5. Escanee o escriba la Id. muestra (Sample ID). Si escribe la Id. muestra (Sample ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. muestra (Sample ID) se asocia a los resultados del ensayo, y se muestra en la ventana Ver resultados (View Results) y en todos los informes. Aparecerá el cuadro de diálogo Escanear cartucho (Scan Cartridge).
6. Escanee el código de barras del cartucho Xpert HPV. Aparecerá la ventana Crear prueba (Create Test). El software utiliza la información del código de barras para rellenar automáticamente los cuadros de los campos siguientes: Seleccionar ensayo (Select Assay), Id. del lote de reactivo (Reagent Lot ID), N° de serie del cartucho (Cartridge S/N) y Fecha de caducidad (Expiration Date).

Nota

Si no se escanea el código de barras del cartucho de la prueba Xpert HPV, repita la prueba con un cartucho nuevo siguiendo el procedimiento del Apartado 14. Procedimiento de repetición de la prueba.

Name	Version
Xpert HPV 16_18-45	1
Xpert HPV HR_16_18-45	1
Xpert HPV HR	1
Xpert HPV 16_18-45	1

Figura 4. Ventana Crear prueba (Create Test) de GeneXpert Dx con menú desplegable Seleccionar ensayo (Select Assay)

7. En el menú desplegable **Seleccionar ensayo (Select Assay)** (consulte la Figura 4), seleccione el archivo de definición del ensayo (ADF) adecuado para la prueba de VPH solicitada.

La prueba Xpert HPV puede configurarse para utilizar por defecto cualquiera de los tres archivos de definición del ensayo a discreción del laboratorio. Las solicitudes de los médicos de genotipificación refleja de VPH 16, o de VPH 18/45, pueden realizarse bajo la prueba específica del genotipo de VPH o, cuando esté indicado, procesarse como parte de una prueba completa de alto riesgo y genotipo.

- Prueba de VPH de alto riesgo solamente: La selección de la prueba **Xpert HPV HR** notifica un resultado global positivo o negativo de la presencia de alguno de los 14 tipos de VPH de alto riesgo detectados. La Figura 5 muestra un ejemplo.
- Prueba de genotipado de VPH 16 y 18/45: La selección de la prueba **Xpert HPV 16_18-45** notifica un resultado positivo o negativo de la presencia de:
 - el genotipo de VPH 16 y de
 - el genotipo de VPH 18 o de VPH 45.

No se recogen ni se muestran resultados específicos de todos los demás tipos de VPH. La Figura 6 muestra un ejemplo.

- Una prueba combinada de VPH de alto riesgo y de genotipo de VPH: La selección de la prueba **Xpert HPV HR_16_18-45** notifica un resultado positivo o negativo de VPH 16, de VPH 18/45 y de la presencia de alguno de los otros 11 tipos de alto riesgo como «Other HR VPH». La Figura 7 muestra un ejemplo.

Nota Una vez que inicie la prueba, solo se obtendrá el resultado de la prueba seleccionado en este paso. Los datos no recogidos no son recuperables.

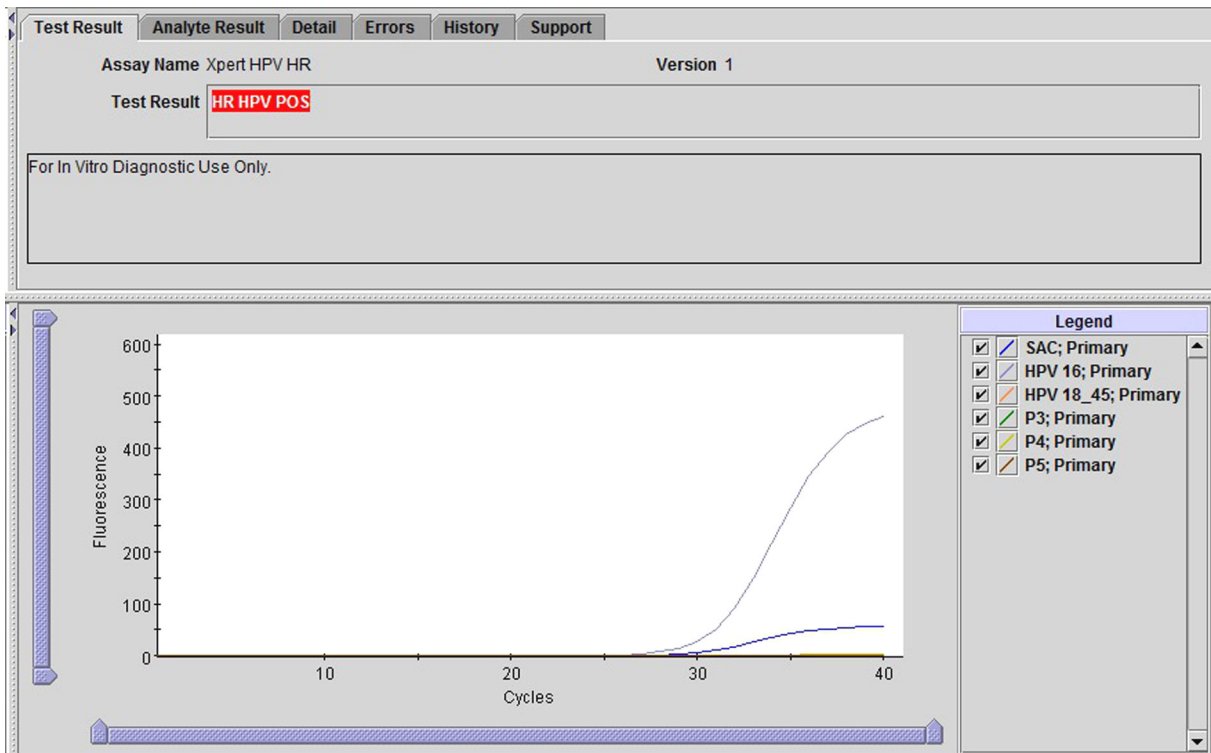


Figura 5. Positivo en VPH HR

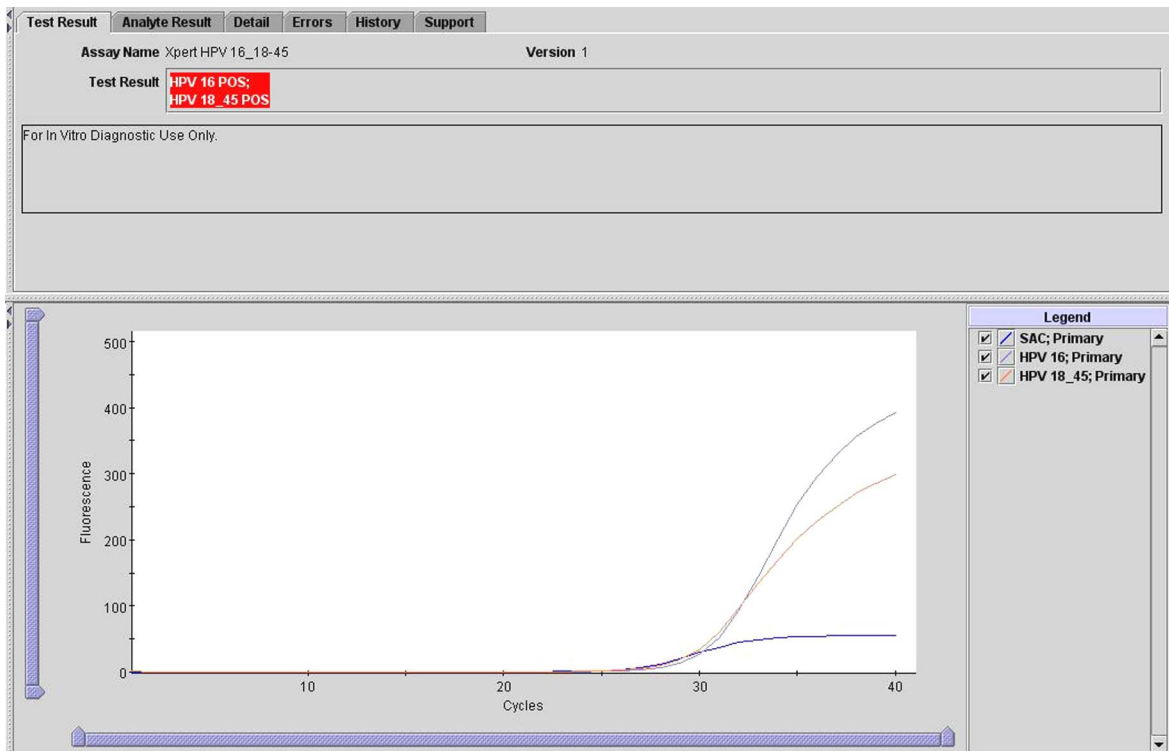


Figura 6. Positivo en VPH 16_18-45

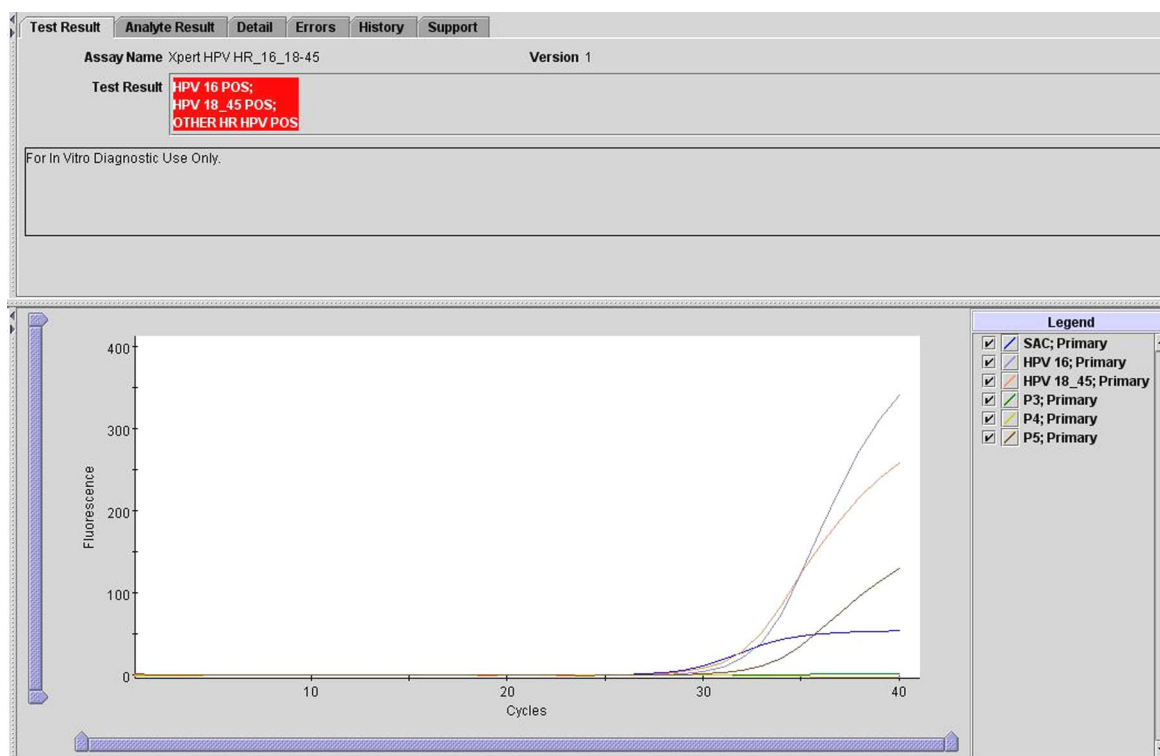


Figura 7. Positivo en VPH HR_16_18-45

8. Haga clic en **Iniciar prueba (Start Test)** (GeneXpert Dx) o en **Enviar (Submit)** (Infinity). Introduzca su contraseña si se le solicita.
9. En el sistema GeneXpert Infinity, coloque el cartucho en la cinta transportadora. El cartucho se cargará automáticamente, se realizará la prueba y el cartucho usado se colocará en el recipiente de residuos.

o

En el instrumento GeneXpert Dx:

- a. Abra la puerta del módulo del instrumento que tiene la luz verde intermitente y cargue el cartucho.
- b. Cierre la puerta. La prueba se inicia y la luz verde deja de parpadear. Una vez finalizada la prueba, la luz se apaga.
- c. Espere hasta que el sistema desbloquee la puerta del módulo antes de abrirla y retirar el cartucho.
- d. Los cartuchos usados deben eliminarse en los recipientes de residuos de muestras adecuados de acuerdo con las prácticas habituales de su centro.

Nota El resultado se obtiene en unos 60 minutos.

10 Visualización e impresión de los resultados

Para obtener instrucciones detalladas sobre cómo ver e imprimir los resultados, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity*.

11 Control de calidad

Cada prueba incluye un control de comprobación de la sonda (PCC) y un control de adecuación de la muestra (SAC).

- **Control de comprobación de la sonda (PCC):** Antes de iniciar la reacción PCR, el instrumento GeneXpert mide la señal de fluorescencia de las sondas para monitorizar la rehidratación de las microesferas, el llenado del tubo

de reacción, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes. El PCC se considera superado si cumple los criterios de aceptación validados.

- **Control de idoneidad de la muestra (SAC):** Los reactivos de SAC detectan la presencia de un gen humano de una sola copia presente en una copia por célula y determinan si la muestra contiene ADN humano.
- **Controles externos:** Se pueden utilizar controles externos de acuerdo con las organizaciones de acreditación locales, regionales y nacionales, según corresponda.

12 Interpretación de los resultados

El sistema GeneXpert interpreta los resultados a partir de las señales fluorescentes medidas y de los algoritmos de cálculo incorporados, y los muestra en la ficha Resultado de la prueba (Test Result) en la ventana Ver resultados (View Results). La prueba Xpert HPV proporciona resultados de las dianas de VPH, de acuerdo con los resultados y las interpretaciones mostrados en Tabla 1.

Nota

Una vez que se inicie la prueba, solo se obtendrán los resultados correspondientes al ensayo seleccionados en este paso.

Tabla 1. Resultados e interpretaciones de la prueba Xpert HPV

Resultado	Interpretación
HR VPH POS Consulte la Figura 9.	Se detecta ADN de VPH de alto riesgo como positivo. <ul style="list-style-type: none"> • El ADN de VPH de alto riesgo diana tiene un valor de Ct dentro del rango válido y un punto extremo de fluorescencia por encima del valor umbral configurado. • SAC: No aplicable. El SAC se omite porque la amplificación de la diana de VPH puede competir con este control. • PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
VPH 16 POS (HPV 16 POS) Consulte la Figura 11, Figura 13 y la Figura 16.	Se detecta ADN de VPH 16 como positivo. <ul style="list-style-type: none"> • El ADN de VPH 16 diana tiene un valor de Ct dentro del rango válido y un punto extremo de fluorescencia por encima del valor umbral configurado. • SAC: No aplicable. El SAC se omite porque la amplificación de la diana de VPH puede competir con este control. • PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
VPH 18_45 POS (HPV 18_45 POS) Consulte la Figura 14 y la Figura 16.	Se detecta ADN de VPH 18_45 como positivo. <ul style="list-style-type: none"> • El ADN de VPH 18/45 diana tiene un valor de Ct dentro del rango válido y un punto extremo de fluorescencia por encima del valor umbral configurado. • SAC: No aplicable. El SAC se omite porque la amplificación de la diana de VPH puede competir con este control. • PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
OTRO HR VPH POS (OTHER HR HPV POS) Consulte la Figura 15 y la Figura 16.	Se detecta ADN de otro VPH de alto riesgo como positivo. <ul style="list-style-type: none"> • El ADN de otro VPH de alto riesgo diana tiene un valor de Ct dentro del rango válido y un punto extremo de fluorescencia por encima del valor umbral configurado. • SAC: No aplicable. El SAC se omite porque la amplificación de otra diana de VPH de alto riesgo puede competir con este control. • PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.

Resultado	Interpretación
HR VPH NEG (HR HPV NEG) Consulte la Figura 8.	El ADN de VPH de alto riesgo está por debajo del nivel de detección. <ul style="list-style-type: none"> ● El ADN de VPH de alto riesgo diana tiene un valor de Ct que no está dentro del rango válido, o un punto extremo de fluorescencia por debajo del valor umbral configurado. ● SAC: SUPERADO; la amplificación por PCR de la diana del SAC arroja un valor de Ct dentro del rango válido y un punto extremo de fluorescencia por encima del valor umbral configurado. ● PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
VPH 16 NEG (HPV 16 NEG) Consulte la Figura 10, Figura 12, Figura 14 y la Figura 15.	El ADN de VPH 16 está por debajo del nivel de detección. <ul style="list-style-type: none"> ● El ADN de VPH 16 diana tiene un valor de Ct que no está dentro del rango válido, o un punto extremo de fluorescencia por debajo del valor umbral configurado. ● SAC: SUPERADO; la amplificación por PCR de la diana del SAC arroja un valor de Ct dentro del rango válido y un punto extremo de fluorescencia por encima del valor umbral configurado. ● PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
VPH 18_45 NEG (HPV 18_45 NEG) Consulte la Figura 10, Figura 11, Figura 12, Figura 13 y la Figura 15.	El ADN de VPH 18-45 está por debajo del nivel de detección. <ul style="list-style-type: none"> ● El ADN de VPH 18/45 diana tiene un valor de Ct que no está dentro del rango válido, o un punto extremo de fluorescencia por debajo del valor umbral configurado. ● SAC: SUPERADO; la amplificación por PCR de la diana del SAC arroja un valor de Ct dentro del rango válido y un punto extremo de fluorescencia por encima del valor umbral configurado. ● PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
OTRO HR VPH NEG (OTHER HR HPV NEG) Consulte la Figura 12, Figura 13 y la Figura 14.	El ADN de otro VPH de alto riesgo está por debajo del nivel de detección. <ul style="list-style-type: none"> ● El ADN de otro VPH de alto riesgo diana tiene un valor de Ct que no está dentro del rango válido, o un punto extremo de fluorescencia por debajo del valor umbral configurado. ● SAC: SUPERADO; la amplificación por PCR de la diana del SAC arroja un valor de Ct dentro del rango válido y un punto extremo de fluorescencia por encima del valor umbral configurado. ● PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
NO VÁLIDO (INVALID) Consulte la Figura 17.	No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN diana de VPH. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del Apartado 14. Procedimiento de repetición de la prueba. <ul style="list-style-type: none"> ● SAC: NO SUPERADO; el Ct del SAC no está dentro del rango válido o un punto extremo de fluorescencia está por debajo del valor umbral configurado. ● PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
ERROR	No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN diana de VPH. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del Apartado 14. Procedimiento de repetición de la prueba. <ul style="list-style-type: none"> ● SAC: SIN RESULTADO (NO RESULT) ● PCC: NO SUPERADO (FAIL)*; todos o uno de los resultados de la comprobación de la sonda no superan la comprobación. <p>* Si se superó la comprobación de la sonda, el error se debe a que el límite máximo de presión excedió el rango aceptable o a que falló un componente del sistema.</p>

Resultado	Interpretación
SIN RESULTADO (NO RESULT)	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN diana de VPH. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del Apartado 14. Procedimiento de repetición de la prueba. SIN RESULTADO (NO RESULT) indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, el operador detuvo una prueba en curso o se produjo un corte del suministro eléctrico.</p> <ul style="list-style-type: none"> • VPH: SIN RESULTADO (NO RESULT) • SAC: SIN RESULTADO (NO RESULT) • PCC: N/A (NA) (no aplicable)

Nota

Las pantallas incluidas en este apartado muestran ejemplos que utilizan las tres pruebas. La Figura 8 y la Figura 9 utilizan la prueba Xpert HPV HR, la Figura 10 y la Figura 11 utilizan la prueba Xpert HPV 16_18-45, y la Figura 12 a la Figura 14 utilizan la prueba Xpert HPV HR_16_18-45 desde el menú desplegable, (Consulte el Apartado 9.2. Inicio de la prueba y el menú desplegable que se muestra en la Figura 4).

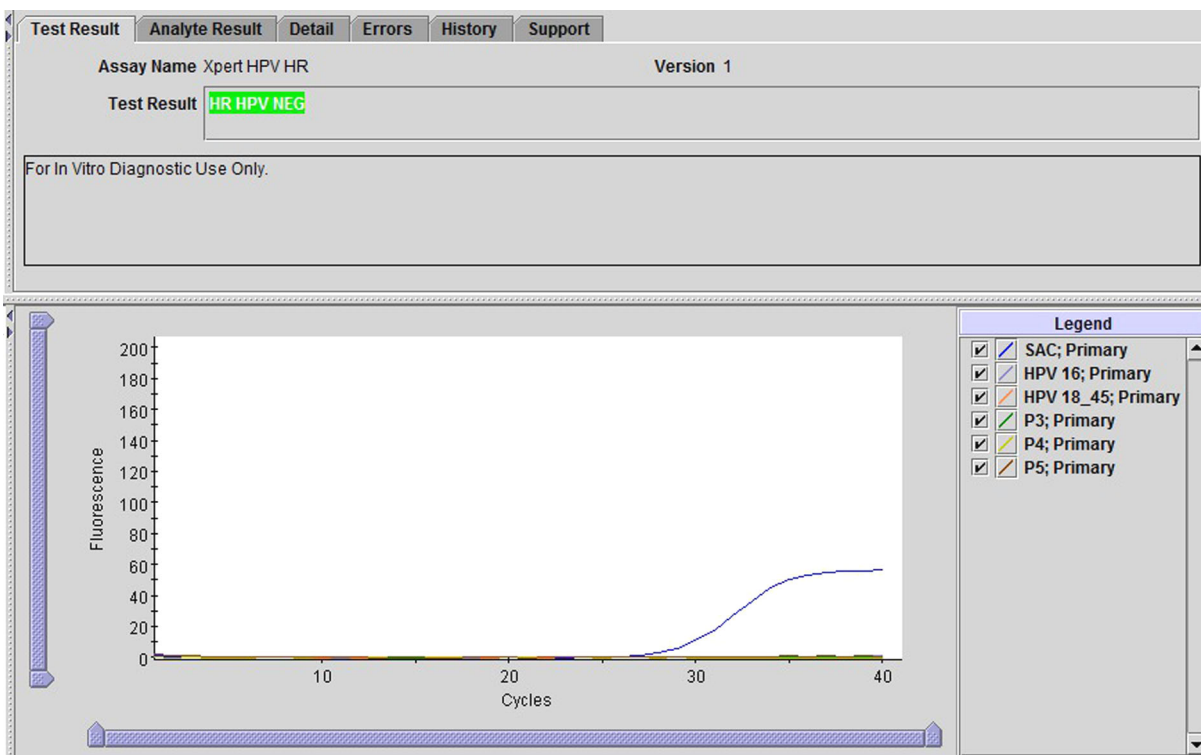


Figura 8. Negativo en VPH de alto riesgo (resultado obtenido con el ensayo Xpert HPV HR)

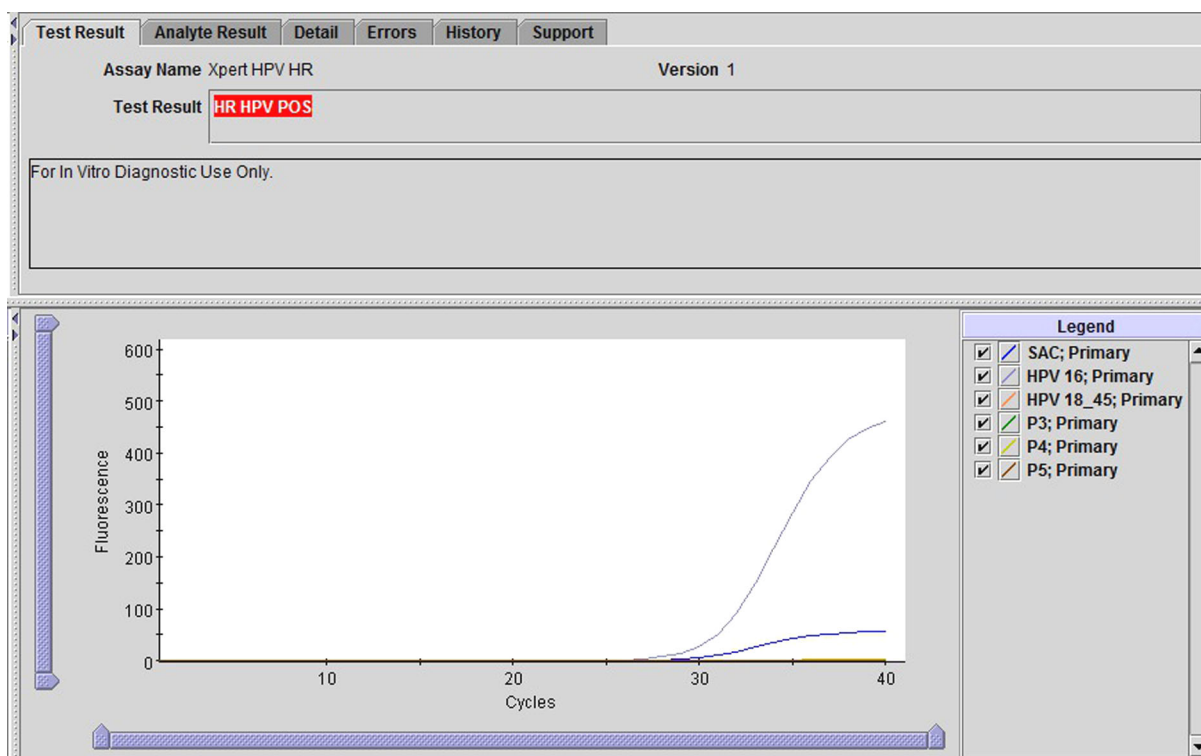


Figura 9. Positivo en VPH de alto riesgo (resultado obtenido con el ensayo Xpert HPV HR)

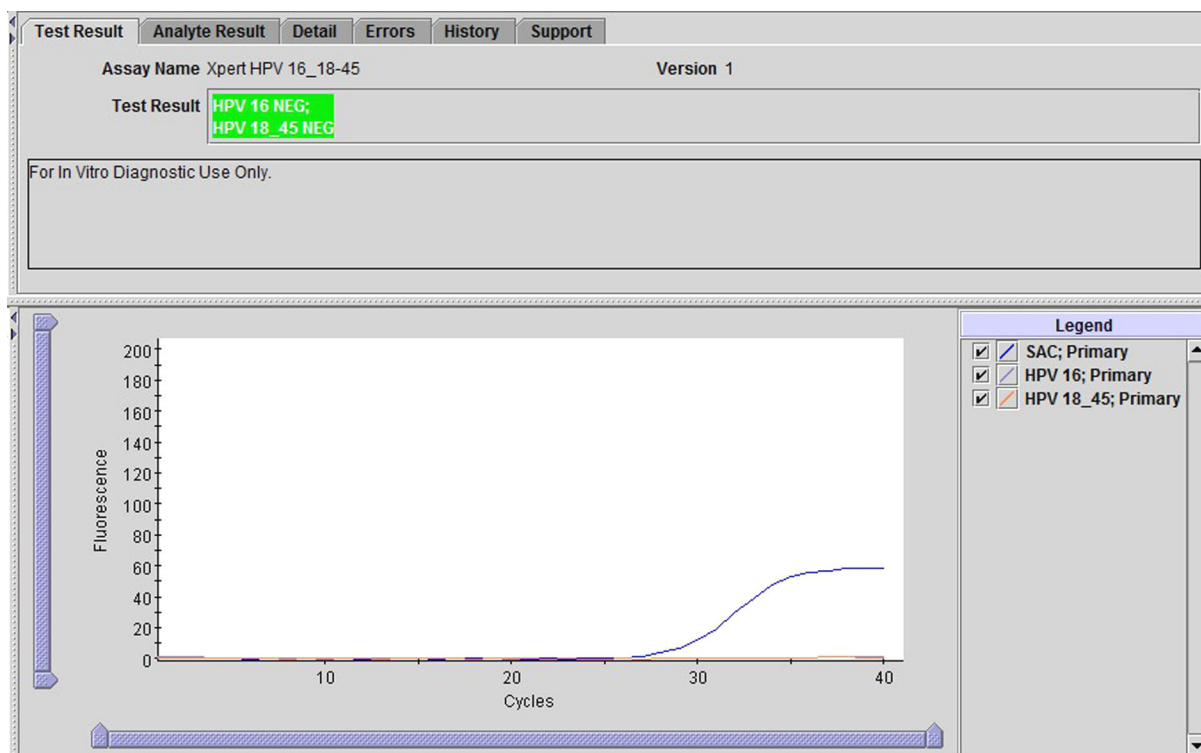


Figura 10. Negativo en VPH 16; negativo en VPH 18-45 (resultado obtenido con el ensayo Xpert HPV 16_18-45)

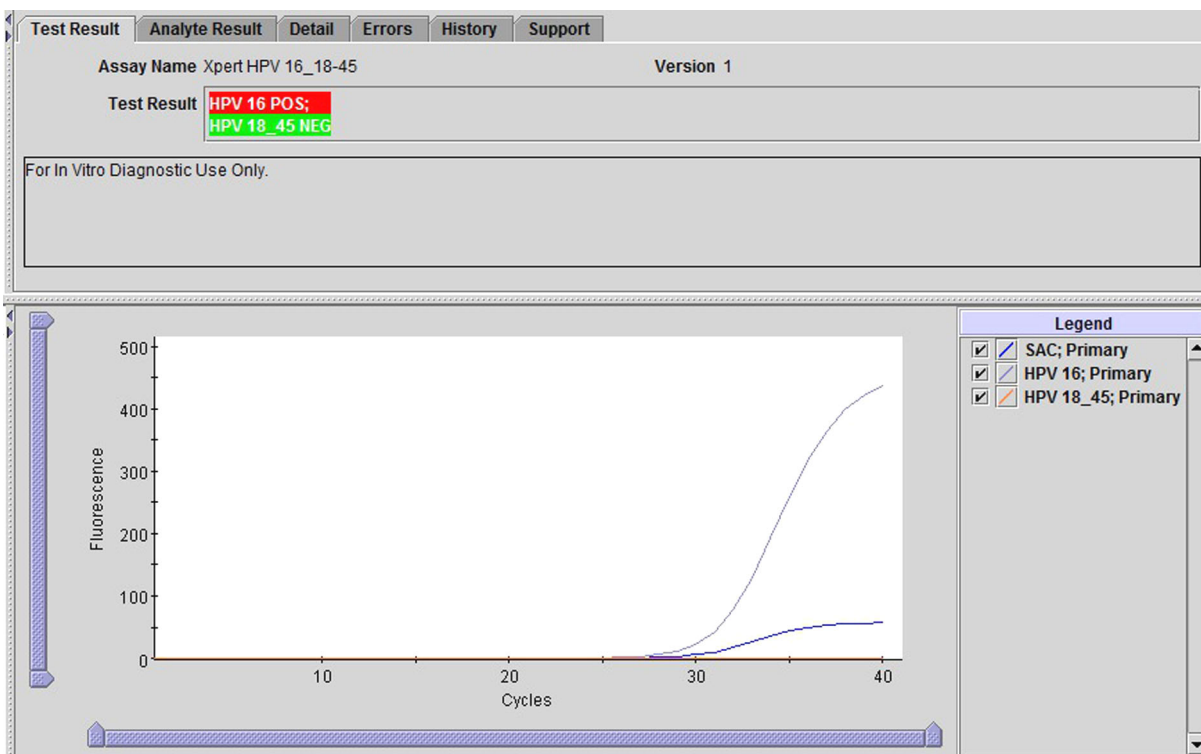


Figura 11. Positivo en VPH 16; negativo en VPH 18-45 (resultado obtenido con el ensayo Xpert HPV 16_18-45)

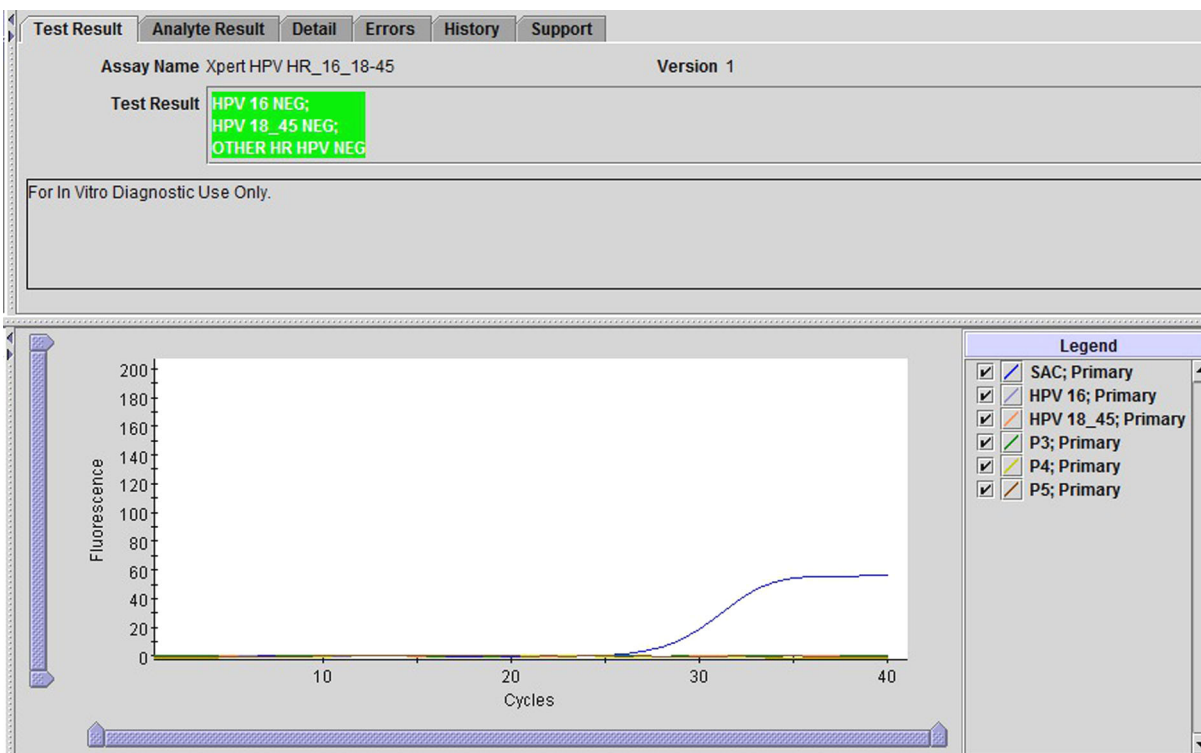


Figura 12. Negativo en VPH 16; negativo en VPH 18-45; negativo en otro VPH de alto riesgo (resultado obtenido con el ensayo Xpert HPV HR_16_18-45)

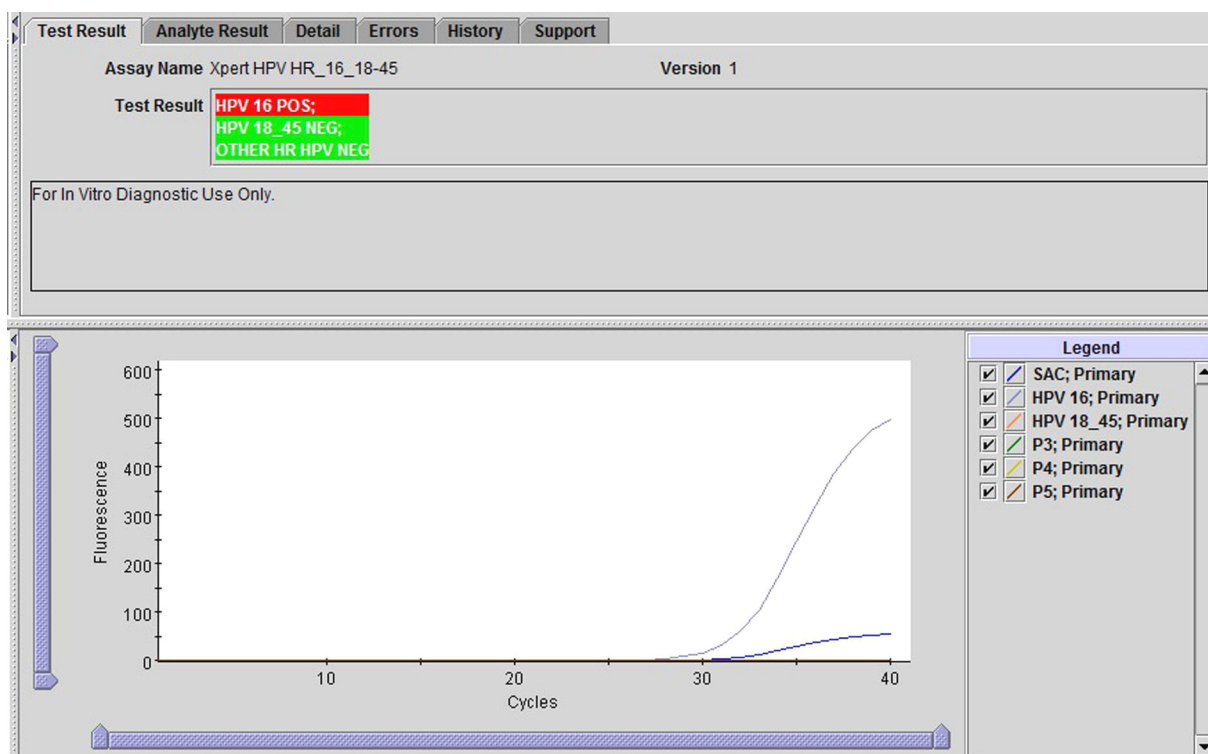


Figura 13. Positivo en VPH 16; negativo en VPH 18-45; negativo en otro VPH de alto riesgo (resultado obtenido con el ensayo Xpert HPV HR_16_18-45)

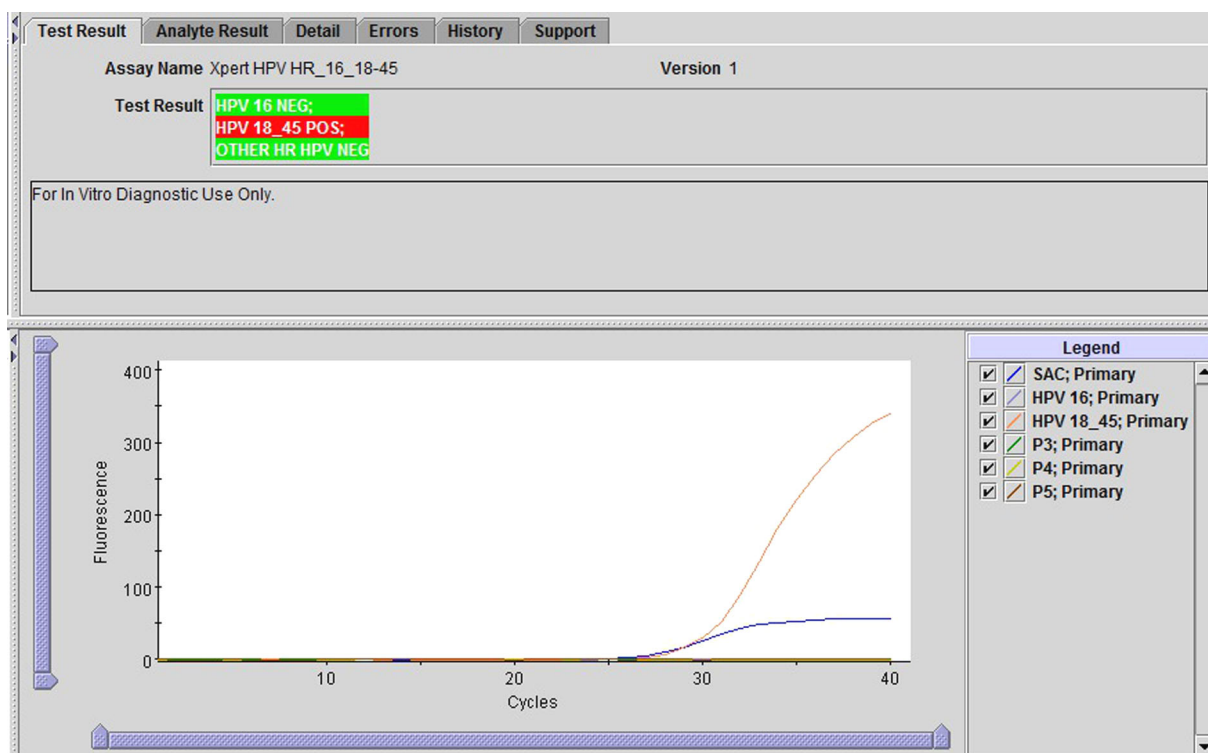


Figura 14. Negativo en VPH 16; positivo en VPH 18-45; negativo en otro VPH de alto riesgo (resultado obtenido con el ensayo Xpert HPV HR_16_18-45)

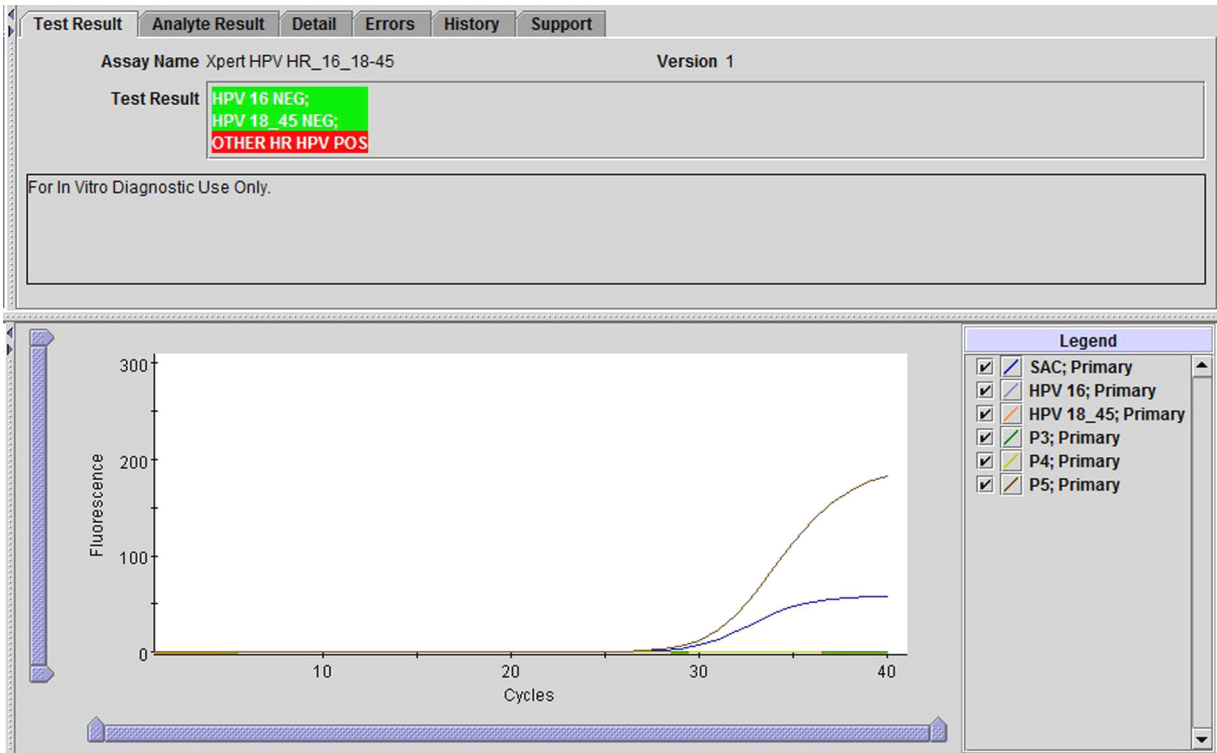


Figura 15. Negativo en VPH 16; negativo en VPH 18-45; positivo en otro VPH de alto riesgo (resultado obtenido con el ensayo Xpert HPV HR_16_18-45)

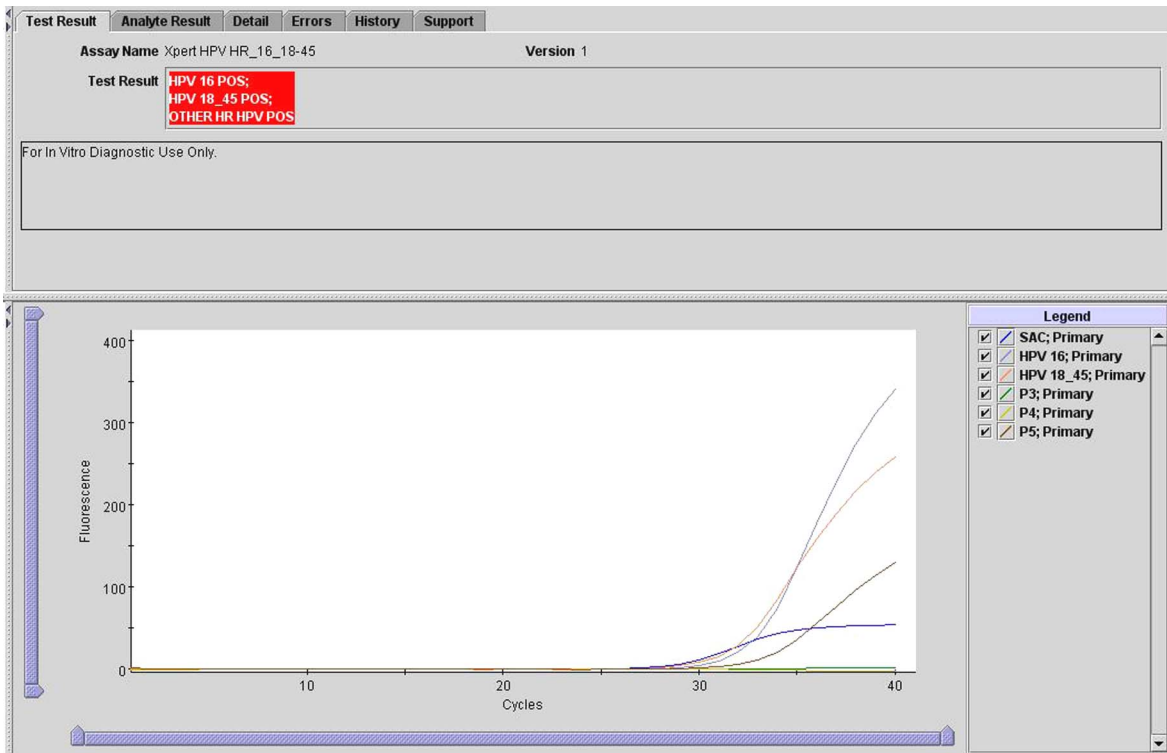


Figura 16. Positivo en VPH 16; positivo en VPH 18-45; positivo en otro VPH de alto riesgo (resultado obtenido con el ensayo Xpert HPV HR_16_18-45)

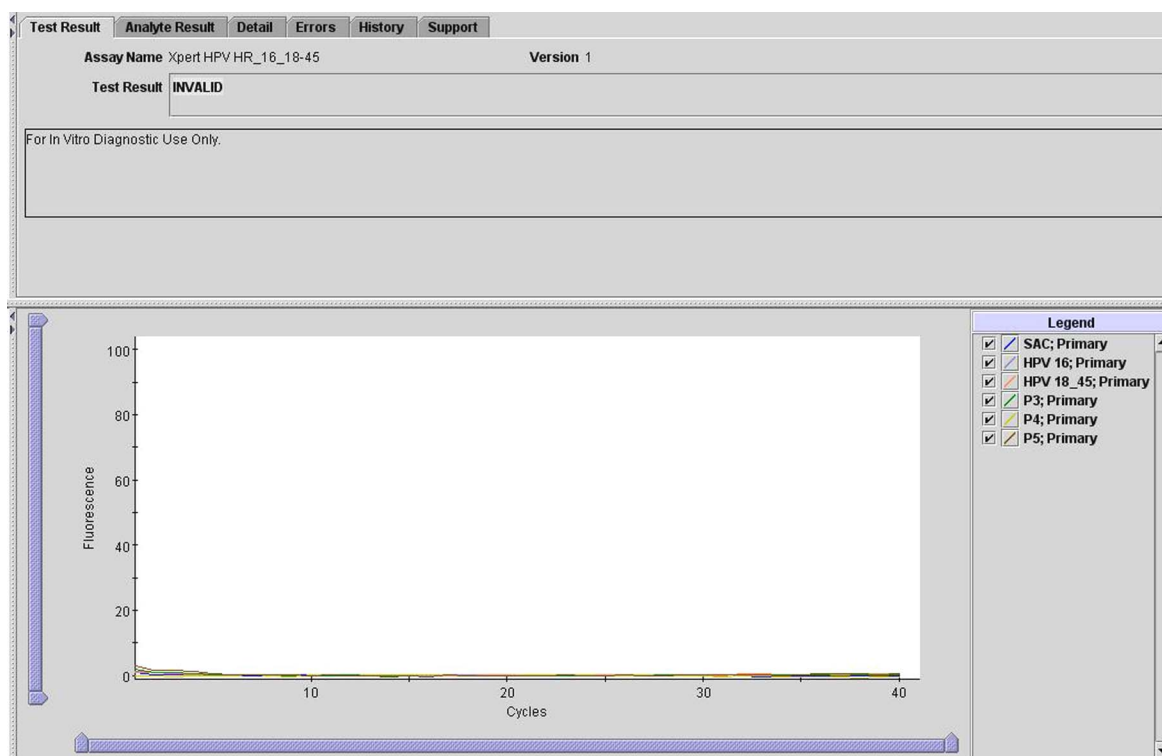


Figura 17. No válido en VPH HR_16_18-45 (resultado obtenido con el ensayo Xpert HPV HR_16_18-45)

13 Razones para repetir la prueba

Si se obtiene alguno de los resultados de la prueba que se mencionan a continuación, repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del Apartado 14. Procedimiento de repetición de la prueba.

- Un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)** indica que el SAC no superó la comprobación, que la muestra no se procesó correctamente, que la PCR se inhibió o que la muestra era inadecuada.
- Un resultado de **ERROR** indica que la prueba se interrumpió, debido posiblemente a que el tubo de reacción no se llenó correctamente, a que se detectó un problema de integridad de las sondas de los reactivos, a que se excedieron los límites máximos de presión, a que no se superó una comprobación de sondas o a que se detectó un error de posición de una válvula.
- **SIN RESULTADO (NO RESULT)** indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, el operador detuvo una prueba en curso o se produjo un corte del suministro eléctrico.

14 Procedimiento de repetición de la prueba

- Repita la prueba con un cartucho nuevo (no vuelva a utilizar el cartucho). Consulte la Apartado 9. Procedimiento.
- Obtenga la muestra restante.
- Si el volumen de la muestra restante es insuficiente, o la repetición de la prueba vuelve a dar un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)**, **ERROR** o **SIN RESULTADO (NO RESULT)**, recoja una nueva muestra y repita la prueba con un cartucho nuevo.

15 Limitaciones

- Dado que la detección de VPH depende de la cantidad de ADN presente en la muestra, la fiabilidad de los resultados dependerá de la recogida, manipulación y conservación correctas de las muestras.
- La prueba Xpert HPV solamente se ha validado con muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt utilizando un dispositivo similar a una escobilla o con una combinación de cepillo y espátula endocervicales.

- La prueba puede arrojar resultados erróneos si las muestras no se recogen correctamente, si se comete algún error técnico, si se confunden las muestras o si el número de copias de ADN de VPH es inferior al límite de detección de la prueba.
- La prueba Xpert HPV se ha validado utilizando los procedimientos descritos en este prospecto únicamente. La modificación de estos procedimientos puede alterar la eficacia diagnóstica de la prueba.
- El ensayo puede sufrir interferencias en presencia de: sangre completa ($\geq 0,25$ % v/v), células mononucleares de sangre periférica (CMSP) ($\geq 1 \times 10^6$ células/ml), *Candida albicans* ($\geq 1 \times 10^8$ células/ml), crema antiprurito Vagisil ($\geq 0,25$ % p/v) o gel hidratante Vagi Gard ($\geq 0,5$ % p/v).
- La presencia de cremas vaginales densas ($> 0,25$ % p/v) en la muestra puede producir interrupciones por presión.
- No se han determinado los efectos de otras posibles variables, como el flujo vaginal, el uso de tampones o los lavados vaginales, y las variables asociadas a la recogida de la muestra.
- La prueba Xpert HPV proporciona resultados cualitativos. No puede establecerse ninguna correlación entre la magnitud del valor Ct y el número de células en una muestra infectada.
- La eficacia diagnóstica del ensayo Xpert HPV no se ha evaluado en pacientes menores de 18 años.
- La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert HPV no se ha evaluado en mujeres con antecedentes de histerectomía.
- La prueba Xpert HPV no se ha validado para el uso con muestras de hisopos vaginales recogidos por un médico o una paciente.
- La prueba Xpert HPV no se ha evaluado con pacientes que estén en tratamiento con antimicrobianos por infecciones como las de la clamidia o la gonorrea.
- Al igual que ocurre con muchas otras pruebas de diagnóstico, los resultados de la prueba Xpert HPV deben interpretarse junto con otros datos clínicos y de laboratorio de los que disponga el médico.
- La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert HPV no se ha evaluado en individuos que estén vacunados contra el VPH.
- La prueba Xpert HPV no se ha evaluado en casos en los que se sospeche la existencia de abusos sexuales.
- La prevalencia de la infección por VPH en una población puede afectar a la eficacia diagnóstica.
- Las muestras que contienen menos de 1 ml de solución PreservCyt se consideran inadecuadas para la prueba Xpert HPV.
- La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert HPV no se ha evaluado en muestras cervicales preprocesadas para el estudio citológico utilizando otros procesadores aparte del ThinPrep 2000.
- Un resultado negativo en la prueba Xpert HPV no excluye la posibilidad de anomalías citológicas o de NIC2, NIC3 o cáncer subyacentes o futuros.
- La prueba Xpert HPV detecta ADN vírico E6/E7 de los tipos de VPH de alto riesgo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68. Esta prueba no detecta ADN E6/E7 de tipos de VPH de bajo riesgo (p. ej., 6, 11, 42, 43 y 44), ya que la evaluación de la presencia de tipos de VPH de bajo riesgo no tiene utilidad clínica en el contexto de la detección del cáncer de cuello uterino.
- La detección de ADN de VPH de alto riesgo depende del número de copias presentes en la muestra y puede resultar afectada por los métodos de recogida de muestras, los factores relacionados con las pacientes, la etapa de la infección y la presencia de sustancias interferentes.
- El uso de este producto debe limitarse a personal con formación en el uso de la prueba Xpert HPV.
- Esta prueba puede arrojar resultados positivos falsos o negativos falsos.
- Las mutaciones o los polimorfismos en las regiones de unión de los cebadores o las sondas pueden afectar a la detección de tipos de VPH diana y hacer que se obtenga un resultado negativo falso.

16 Eficacia clínica

La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert HPV se evaluó en un estudio prospectivo multicéntrico (siete centros estadounidenses) de dos etapas que incluyó mujeres de todas las edades remitidas para evaluación colposcópica sobre la base de uno o más resultados anómalos previos de citologías vaginales, un resultado anómalo de citología vaginal combinado con un resultado positivo de prueba VPH de alto riesgo o de otras sospechas clínicas de cáncer de cuello uterino. Se obtuvieron dos muestras para ThinPrep (muestra A y muestra B) de cada sujeto en el momento de la colposcopia para apoyar el estudio citológico y las pruebas comparativas con la prueba Xpert HPV y dos pruebas de VPH de alto riesgo aprobadas por la FDA. Los análisis realizados con estos métodos comparativos se llevaron a cabo siguiendo los respectivos prospectos de diagnóstico in vitro estadounidenses. La muestra A se procesó para el estudio citológico seguido por el análisis con la prueba Xpert HPV. La muestra B se reservó para el análisis de VPH con las pruebas de VPH comparativas y la prueba Xpert HPV. Ambas muestras se recogieron utilizando una combinación de cepillo y espátula endocervicales siguiendo las instrucciones del prospecto del ThinPrep. De cada sujeto se obtuvieron un mínimo de dos biopsias cervicales en sacabocados, así como un legrado endocervical para los casos de evaluaciones colposcópicas no satisfactorias en las que hubo una mala visualización de la unión escamocolumnar. El estudio patológico de las muestras de las biopsias y de los legrados endocervicales (LEC) se realizó primero localmente, para el tratamiento de referencia de las pacientes y, a continuación, retrospectivamente, de manera ciega por parte de un grupo de tres patólogos expertos para determinar un

estado patológico cervical final de consenso. La fase I de incorporación en el estudio incluyó a 144 sujetos (rango de edad: 20-70 años) con 31 casos \geq NIC2. Los datos de la fase I se utilizaron para calcular un conjunto de umbrales clínicos para la prueba, relativos a los puntos finales patológicos de \geq NIC2 y \geq NIC3 utilizando un método de curva de eficacia diagnóstica. La fase II de incorporación en el estudio incluyó a 564 sujetos (rango de edad: 18-75 años) con 111 casos \geq NIC2. Los datos de la fase II se utilizaron para refinar los umbrales clínicos relativos a los puntos finales patológicos de \geq NIC2 y \geq NIC3 utilizando un método de curva de eficacia diagnóstica. Se realizó un análisis retrospectivo de homogeneidad para confirmar la medida en que se podían combinar los resultados de las fases I y II; en cuanto a diversos parámetros de la población y las muestras, los resultados pueden combinarse.

La Tabla 2 muestra un resumen de la sensibilidad y la especificidad clínicas de la prueba Xpert HPV, el método comparativo 1 y el método comparativo 2 en el conjunto de datos de la fase II en relación con el estado patológico \geq NIC2.

Tabla 2. Eficacia clínica en relación con el estado patológico \geq NIC2^a

	Prueba Xpert HPV (muestra A)^b	Prueba Xpert HPV (muestra B)^c	Método comparativo 1^d	Método comparativo 2^e
Sensibilidad	(99/109) 90,8 % (83,8 – 95,5 %)	(100/110) 90,9 % (83,9 – 95,6 %)	(103/111) 92,8 % (86,3 – 96,8 %)	(96/111) 86,5 % (78,7 – 92,2 %)
Especificidad	(182/429) 42,4 % (37,7 – 47,3 %)	(194/446) 43,5 % (38,8 – 48,2 %)	(178/453) 39,3 % (34,8 – 44,0 %)	(212/451) 47,0 % (42,3 – 51,7 %)
Valor predictivo positivo	(99/346) 28,6 % (23,8 – 33,7 %)	(100/352) 28,4 % (23,8 – 33,4 %)	(103/378) 27,2 % (22,8 – 32,0 %)	(96/335) 28,7 % (23,9 – 33,8 %)
Valor predictivo negativo	(182/192) 94,8 % (90,6 – 97,5 %)	(194/204) 95,1 % (91,2 – 97,6 %)	(178/186) 95,7 % (91,7 – 98,1 %)	(212/227) 93,4 % (89,3 – 96,3 %)

^a Los cálculos de los puntos son como se indica. Los intervalos de confianza son IC del 95 % con método exacto de Fisher.

^b n = 538. Nueve muestras no tuvieron un volumen suficiente (QNS) para la prueba Xpert; 17 muestras arrojaron un resultado indeterminado tras la prueba inicial y tras una segunda prueba.

^c n = 556. Ocho muestras arrojaron un resultado indeterminado tras la prueba inicial y tras una segunda prueba.

^d n = 564.

^e n = 562. Dos muestras arrojaron un resultado indeterminado tras la prueba inicial y tras una segunda prueba.

La Tabla 3 muestra un resumen de la sensibilidad y la especificidad clínicas de la prueba Xpert HPV, el método comparativo 1 y el método comparativo 2 en el conjunto de datos de la fase II en relación con el estado patológico \geq NIC3.

Tabla 3. Eficacia clínica en relación con el estado patológico \geq NIC3^a

	Prueba Xpert HPV (muestra A)^b	Prueba Xpert HPV (muestra B)^c	Método comparativo 1^d	Método comparativo 2^e
--	---	---	---	---

	Prueba Xpert HPV (muestra A) ^b	Prueba Xpert HPV (muestra B) ^c	Método comparativo 1 ^d	Método comparativo 2 ^e
Sensibilidad	(68/72) 94,4 % (86,4 – 98,5 %)	(69/73) 94,5 % (86,6 – 98,5 %)	(71/74) 95,9 % (88,6 – 99,2 %)	(64/74) 86,5 % (76,5 – 93,3 %)
Especificidad	(187/465) 40,2 % (35,7 – 44,8 %)	(199/482) 41,3 % (39,6 – 45,8 %)	(182/489) 37,2 % (32,9 – 41,7 %)	(216/487) 44,4 % (39,9 – 48,9 %)
Valor predictivo positivo	(68/346) 19,7 % (15,6 – 24,2 %)	(69/352) 19,6 % (15,6 – 24,1 %)	(71/378) 18,8 % (15,0 – 23,1 %)	(64/335) 19,1 % (15,0 – 23,7 %)
Valor predictivo negativo	(187/191) 97,9 % (94,7 – 99,4 %)	(199/203) 98,0 % (95,0 – 99,5 %)	(182/185) 98,4 % (95,3 – 99,7 %)	(216/226) 95,6 % (92,0 – 97,9 %)

^a Los cálculos de los puntos son como se indica. Los intervalos de confianza son IC del 95 % con método exacto de Fisher.

^b n = 537. Nueve muestras no tuvieron un volumen suficiente (QNS) para la prueba Xpert; 17 muestras arrojaron un resultado indeterminado tras la prueba inicial y tras una segunda prueba; en el caso de una muestra no se pudo llegar a un consenso en cuanto al estado patológico NIC2 frente a NIC3.

^c n = 555. Ocho muestras arrojaron un resultado indeterminado tras la prueba inicial y tras una segunda prueba; en el caso de una muestra no se pudo llegar a un consenso en cuanto al estado patológico NIC2 frente a NIC3.

^d n = 563. En el caso de una muestra no se pudo llegar a un consenso en cuanto al estado patológico NIC2 frente a NIC3.

^e n = 561. Dos muestras arrojaron un resultado indeterminado tras la prueba inicial y tras una segunda prueba; en el caso de una muestra no se pudo llegar a un consenso en cuanto al estado patológico NIC2 frente a NIC3.

Una evaluación de la concordancia analítica en el conjunto de datos de la fase II mostró una concordancia global entre la prueba Xpert HPV y sí mismo (muestra A frente a muestra B; n = 533 comparaciones emparejadas) del 94,6 % (IC del 95 %: 92,3-96,3; estadístico kappa: 0,88). La concordancia global entre la prueba Xpert HPV (muestra B) y el método comparativo 1 (n = 556 comparaciones emparejadas) fue del 92,4 % (IC del 95 %: 89,9 – 94,5; estadístico kappa: 0,83). La concordancia global entre la prueba Xpert HPV (muestra B) y el método comparativo 2 (n = 554 comparaciones emparejadas) fue del 87,4 % (IC del 95 %: 84,3 – 90,0; estadístico kappa: 0,73).

La eficacia clínica de la prueba Xpert HPV para las muestras de citología vaginal A y B, clasificadas por grupo de edad de la sujeto, se determinó para los estados patológicos \geq NIC2 y \geq NIC3. La eficacia clínica relativa a la enfermedad \geq NIC2 se presenta en la Tabla 4, y la relativa a la enfermedad \geq NIC3 se presenta en la Tabla 5.

Tabla 4. Eficacia diagnóstica de la prueba Xpert HPV frente a enfermedad \geq NIC2, por grupo de edad

Grupo de edad	Citología vaginal A		Citología vaginal B	
	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)
20–29	95,7 % (85,5 – 99,5)	25,8 % (19,1 – 33,4)	95,7 % (85,5 – 99,5)	32,1 % (24,9 – 39,9)
30–39	91,7 % (77,5 – 98,2)	46,4 % (38,3 – 54,6)	94,6 % (81,8 – 99,3)	44,3 % (36,4 – 52,4)
40–49	88,9 % (65,3 – 98,6)	44,8 % (32,6 – 57,4)	88,9 % (65,3 – 98,6)	45,8 % (34,0 – 58,0)

Grupo de edad	Citología vaginal A		Citología vaginal B	
	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)
50–59	71,4 % (29,0 – 96,3)	62,8 % (46,7 – 77,0)	71,4 % (29,0 – 96,3)	64,4 % (48,8 – 78,1)
≥60	100 % (2,5 – 100)	33,3 % (9,9 – 65,1)	100 % (2,5 – 100)	30,8 % (9,1 – 61,4)

Tabla 5. Eficacia diagnóstica de la prueba Xpert HPV frente a enfermedad ≥NIC3, por grupo de edad

Grupo de edad	Citología vaginal A		Citología vaginal B	
	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)
20–29	96,7 % (82,8 – 99,9)	23,8 % (17,7 – 30,9)	100 % (88,4 – 100)	30,1 % (23,4 – 37,5)
30–39	90,9 % (70,8 – 98,9)	43,1 % (35,5 – 51,0)	91,3 % (72,0 – 98,9)	40,7 % (33,3 – 48,4)
40–49	92,9 % (66,1 – 99,8)	43,7 % (31,9 – 56,0)	92,9 % (66,1 – 99,8)	44,7 % (33,3 – 56,6)
50–59	100 % (39,8 – 100)	62,2 % (46,5 – 76,2)	100 % (39,8 – 100)	63,8 % (48,5 – 77,3)
≥60	100 % (2,5 – 100)	33,3 % (9,9 – 65,1)	100 % (2,5 – 100)	30,8 % (9,1 – 61,4)

Se llevó a cabo un segundo estudio clínico para evaluar la eficacia diagnóstica de la prueba Xpert HPV en poblaciones más similares a las poblaciones diana, atendidas por programas organizados de detección del cáncer de cuello uterino. Este fue un estudio multicéntrico de comparación de métodos realizado con muestras residuales recogidas en PreservCyt y obtenidas de mujeres de 20-60 años que participaban en programas organizados de detección de cáncer de cuello uterino en el Reino Unido. Con raras excepciones, todas las muestras recogidas en este estudio se recogieron con un dispositivo similar a una escoba según las instrucciones del prospecto del ThinPrep. En este estudio se incluyeron los mismos dos métodos comparativos, con el método comparativo 1 como método comparativo principal y el método comparativo 2 como método comparativo secundario. Los tamaños de las muestras del estudio se calcularon para dos grupos de edad (mujeres de 20-29 años y mujeres de 30-60 años) que se someterían a la evaluación de la concordancia (con un IC del 95 %) y al cálculo de un estadístico kappa (con un IC del 95 %) relativos a cada método comparativo.

En este estudio, las muestras residuales con resultados de evaluación citológica se en tres alícuotas para la evaluación con la prueba Xpert HPV y los métodos comparativos 1 y 2. La secuencia de extracción de alícuotas para el análisis con el Xpert HPV Assay y con el método comparativo 1 se realizó al azar, de manera que aproximadamente un 50 % de las primeras alícuotas se utilizó para el análisis con el Xpert HPV y un 50 % de las primeras alícuotas se utilizó para el método comparativo 1. La tercera alícuota siempre se reservó para el análisis con el método comparativo 2. Independientemente de la secuencia de las alícuotas, el frasco del que se extrajeron las muestras se agitó antes de la extracción de cada alícuota, para así asegurar la homogeneidad de las muestras. El análisis realizado con los métodos comparativos se llevó a cabo siguiendo los respectivos prospectos CE-IVD, que en cuanto al procedimiento era idénticos a los prospectos de diagnóstico in vitro estadounidenses.

Un análisis de los datos del estudio mostró la existencia de un considerable grado de concordancia entre la prueba Xpert HPV y el método comparativo 1. Esta concordancia es independiente de la categoría de edad de la sujeto (edades 20-29 y edades 30-60) y de su estado citológico (normal [NLCI, negativo en lesión o cáncer intraepiteliales] y peor que normal [peor que NLCI]). La Tabla 6 muestra un resumen de la concordancia entre la prueba Xpert HPV y el método comparativo 1.

Tabla 6. Concordancia entre la prueba Xpert HPV y el método comparativo 1

Comparación de la concordancia	n	Porcentaje de concordancia de positivos	Porcentaje de concordancia de negativos	Porcentaje de concordancia global	Estadístico kappa
Global^a	3438	90,4 % (87,9 – 92,6 %)	97,1 % (96,4 – 97,7 %)	95,8 % (95,1 – 96,5 %)	0,87 (0,85 – 0,89)
Edades 20–29	829	92,9 % (89,7 – 95,4 %)	94,9 % (92,5 – 96,7 %)	94,1 % (92,3 – 95,6 %)	0,88 (0,84 – 0,91)
Edades 30–60	2609	87,8 % (83,8 – 91,2 %)	97,6 % (96,9 – 98,2 %)	96,4 % (95,6 – 97,0 %)	0,84 (0,81 – 0,87)
Citología normal	2798	85,3 % (81,0 – 88,9 %)	97,4 % (96,6 – 98,0 %)	95,9 % (95,1 – 96,6 %)	0,81 (0,78 – 0,84)
Citología > Normal	441	96,7 % (93,9 – 98,4 %)	90,8 % (84,9 – 95,0 %)	94,8 % (92,3 – 96,7 %)	0,88 (0,83 – 0,93)

^a Los cálculos de los puntos son como se indica. Los intervalos de confianza son IC del 95 % con método exacto de Fisher.

Un análisis de los datos del estudio muestra la existencia de un buen grado de concordancia entre la prueba Xpert HPV y el método comparativo 2. Esta concordancia es independiente de la categoría de edad de la sujeto (edades 20-29 y edades 30-60) y de su estado citológico (normal [NLCI] y peor que normal [peor que NLCI]). La Tabla 7 muestra un resumen de la concordancia entre la prueba Xpert HPV y el método comparativo 2.

Tabla 7. Concordancia entre la prueba Xpert HPV y el método comparativo 2

Comparación de la concordancia	n	Porcentaje de concordancia de positivos	Porcentaje de concordancia de negativos	Porcentaje de concordancia global	Estadística kappa
Global^a	3313	84,5 % (81,5 – 87,1 %)	96,3 % (95,5 – 97,0 %)	93,9 % (93,0 – 94,7 %)	0,81 (0,79 – 0,84)
Edades 20–29	835	94,2 % (91,1 – 96,5 %)	93,1 % (90,5 – 95,1 %)	93,5 % (91,6 – 95,1 %)	0,87 (0,83 – 0,90)
Edades 30–60	2478	75,5 % (70,7 – 79,9 %)	97,1 % (96,3 – 97,8 %)	94,0 % (93,0 – 94,9 %)	0,75 (0,71 – 0,79)
Citología normal	2798	76,9 % (72,3 – 82,2 %)	96,5 % (95,5 – 97,2 %)	94,0 % (93,0 – 95,0 %)	0,73 (0,69 – 0,77)
Citología > normal	441	92,5 % (89,0 – 95,1 %)	93,5 % (87,6 – 97,2 %)	92,7 % (89,9 – 95,0 %)	0,83 (0,77 – 0,88)

^a Los cálculos de los puntos son como se indica. Los intervalos de confianza son IC del 95 % con método exacto de Fisher.

Como medida adicional de la concordancia analítica, en este estudio se evaluó la tasa de positividad en VPH por estado citológico. En subconjuntos de tamaño similar de muestras evaluadas por cada método, las tasas de positividad en VPH notificadas por los tres métodos de VPH son similares y en general concuerdan con las tasas de positividad en VPH notificadas en otras poblaciones de baja prevalencia de la enfermedad (p. ej., en el estudio ALTS). La Tabla 8 muestra un resumen de las tasas de positividad en VPH medidas por cada método de acuerdo con el estado citológico.

Tabla 8. Positividad en VPH por método y estado citológico

Categoría (Reino Unido/EE. UU)	Prueba Xpert HPV			Método comparativo 1			Método comparativo 2		
	Total	Pos	% de Pos	Total	Pos	% de Pos	Total	Pos	% de Pos

Categoría (Reino Unido/EE. UU)	Prueba Xpert HPV			Método comparativo 1			Método comparativo 2		
	Total	Pos	% de Pos	Total	Pos	% de Pos	Total	Pos	% de Pos
Normal / NLCI	3003	383	12,8	2968	363	12,2	2882	366	12,7
Límite / células escamosas atípicas de significado indeterminado	219	113	51,6	218	110	50,5	221	123	55,7
Discariosis de bajo grado (leve) / LIEBG ^a	151	118	78,1	151	121	80,1	152	129	84,9
Discariosis de alto grado (moderada) / LIEAG ^b	30	30	100,0	29	28	96,6	31	31	100,0
Discariosis de alto grado (grave) / lesión intraepitelial escamosa de alto grado	36	36	100,0	36	35	97,2	36	36	100,0
Otro	17	11	64,7	17	11	64,7	17	10	58,8
Total	3456	691	20,0	3419	668	19,5	3339	695	20,8

^a lesión intraepitelial escamosa de bajo grado.

^b Lesión intraepitelial escamosa de alto grado.

Un subconjunto (249/3538 [7,8 %]) de las muestras incluidas en este estudio se pretrató con ácido acético glacial antes de la evaluación del VPH con la prueba Xpert HPV y con los métodos comparativos. Un centro utilizó una versión modificada de una metodología comercial (71/1169 [6,1 %]); CytoLyt, Hologic, Crawley, Reino Unido, UE), mientras que los otros dos centros utilizaron procedimientos desarrollados en laboratorio basados en el método de Espostis (153/1170 [13,1 %] y 25/1198 [2,1 %], respectivamente).¹¹⁻¹³ La prueba Xpert HPV muestra un buen grado de concordancia con los métodos comparativos, independientemente del estado del pretratamiento con ácido acético glacial. Consulte la Tabla 9 y la Tabla 10.

Tabla 9. Concordancia entre la prueba Xpert HPV y el método comparativo 1 en muestras pretratadas con ácido acético glacial^a

Comparación de la concordancia	n	Porcentaje de concordancia de positivos	Porcentaje de concordancia de negativos	Porcentaje de concordancia global	Estadístico kappa
Pretratadas con ácido acético glacial	243	94,2 % (85,8 – 98,4 %)	96,6 % (92,6 – 98,7 %)	95,9 % (92,6 – 98,0 %)	0,90 (0,84 – 0,96)
No tratadas	3180	89,7% (87,0 – 92,0 %)	97,2 % (96,5 – 97,8 %)	95,8 % (95,0 – 96,5 %)	0,86 (0,84 – 0,89)

^a Los cálculos de los puntos son como se indica. Los intervalos de confianza son IC del 95 % con método exacto de Fisher.

Tabla 10. Concordancia entre la prueba Xpert HPV y el método comparativo 2 en muestras pretratadas con ácido acético glacial^a

Comparación de la concordancia	n	Porcentaje de concordancia de positivos	Porcentaje de concordancia de negativos	Porcentaje de concordancia global	Estadístico kappa
--------------------------------	---	---	---	-----------------------------------	-------------------

Comparación de la concordancia	n	Porcentaje de concordancia de positivos	Porcentaje de concordancia de negativos	Porcentaje de concordancia global	Estadístico kappa
Pretratadas con ácido acético glacial	246	87,7 % (97,9 – 94,2 %)	94,2 % (89,6 – 97,2 %)	92,3 % (88,2 – 95,3 %)	0,82 (0,74 – 0,90)
No tratadas	3067	84,1 % (81,0 – 86,9 %)	96,5 % (95,7 – 97,2 %)	94,0 % (93,1 – 94,8 %)	0,81 (0,78 – 0,84)

^a Los cálculos de los puntos son como se indica. Los intervalos de confianza son IC del 95 % con método exacto de Fisher.

17 Límite de detección

La sensibilidad analítica o límite de detección (LD) de la prueba Xpert HPV se evaluó utilizando:

1. estirpes celulares positivas en VPH: VPH16 (SiHa), VPH18 (HeLa S3), VPH45 (MS751) y VPH68 (ME180) en solución PreservCyt con un fondo de estirpe celular negativa en VPH (C33A), y
2. plásmidos de ADN de los catorce (14) tipos de VPH de alto riesgo diana en un fondo de ADN genómico femenino humano.

17.1 Estirpes celulares positivas en VPH

El límite de detección (LD) de VPH 16, VPH 18, VPH 45 y VPH 68 se calculó procesando réplicas de 20 a un mínimo de seis concentraciones para cada una de las estirpes celulares utilizando un lote de reactivos de la prueba Xpert HPV. Los LD se calcularon mediante análisis probit. Los LD asumidos se confirmaron analizando al menos 20 réplicas diluidas hasta obtener las concentraciones de LD calculadas utilizando tres lotes de reactivos de la prueba Xpert HPV. El LD asumido se define como la concentración a la que el 95 % de al menos 20 réplicas por lote de reactivo es positivo (Tabla 11).

17.2 Plásmidos de ADN de VPH

El límite de detección (LD) correspondiente a 14 plásmidos de ADN de VPH de alto riesgo se confirmó con un mínimo de 60 réplicas procesadas por dos operadores y con tres lotes de reactivos. Las pruebas se realizaron en diferentes días. El nivel (en copias por reacción de PCR) al que la tasa global de positivos verdaderos es estadísticamente superior al 95 % en tres lotes de reactivos se determinó para cada uno de los plásmidos de ADN de VPH (Tabla 12).

Tabla 11. Límite de detección: Estirpes celulares positivas en VPH

Tipo de VPH	LD calc. por probit (células/ml)	IC del 95 %	IC del 99,9 %	Nivel de conf. (células/ml)	Lote de reactivos	Pos. de 20 rep.	Promedio del Ct (diana)	DE del Ct (diana)	Promedio global del Ct (diana)	DE global del Ct (diana)	% de Pos	% de Pos. global
16	71	55 – 87	52 – 127	122	Lote 1	19	35,6	1,0	35,3	1,2	95	95,0
					Lote 2	19	35,0	1,4			95	
					Lote 3	19	35,4	1,2			95	
18	46	35 – 56	33 – 90	53	Lote 1	20	36,0	1,2	35,6	1,1	100	96,7
					Lote 2	19	35,3	0,9			95	
					Lote 3	19	35,6	1,1			95	
45	180	150 – 211	142 – 266	173	Lote 1	19	37,0	1,2	37,1	1,1	95	96,7
					Lote 2	20	37,0	1,2			100	
					Lote 3	19	37,4	0,9			95	
68	267	231 – 304	221 – 366	366	Lote 1	20	35,9	0,6	36,0	0,6	100	96,7
					Lote 2	19	35,9	0,7			95	

Tipo de VPH	LD calc. por probit (células/ml)	IC del 95 %	IC del 99,9 %	Nivel de conf. (células/ml)	Lote de reactivos	Pos. de 20 rep.	Promedio del Ct (diana)	DE del Ct (diana)	Promedio global del Ct (diana)	DE global del Ct (diana)	% de Pos	% de Pos. global
					Lote 3	20	36,2	0,5			100	

Tabla 12. Límite de detección: Plásmidos de ADN de VPH

Diana	Nivel de copias analizado	Recuento de muestras	NF	% de Pos	IC del 95 % de un lado inferior	Promedio general del Ct.	DE del Ct
VPH 35	15	60	0	100	95,1 %	33,9	0,426
VPH 39	20	60	0	100	95,1 %	36,5	0,352
VPH 45	10	100	0	100	97,0 %	35,6	0,533
VPH 51	10	100	0	100	97,0 %	35,1	0,587
VPH 52	15	60	0	100	95,1 %	34,7	0,543
VPH 56	15	101	0	100	97,1 %	36,6	0,525
VPH 58	20	60	0	100	95,1 %	33,7	0,412
VPH 59	10	100	0	100	97,0 %	35,1	0,618
VPH 66	30	60	0	100	95,1 %	36,6	0,33
VPH 68	15	100	0	100	97,0 %	36,9	0,445
VPH 16	10	100	0	100	97,0 %	35,1	0,559
VPH 18	10	141	1	99,3	96,7 %	35,9	0,585
VPH 31	10	100	0	100	97,0 %	34,2	0,529
VPH 33	10	100	0	100	97,0 %	35,0	0,642

18 Precisión y reproducibilidad del ensayo

La precisión y la reproducibilidad de la prueba Xpert HPV se evaluaron en un estudio multicéntrico de 12 días de duración en el que dos operadores en cada uno de los tres centros analizaron de manera ciega dos veces al día un grupo de precisión de 16 miembros. Este grupo estaba compuesto tanto de muestras artificiales (células cultivadas que contenían diferentes tipos de VPH en un fondo de células cultivadas que no contenían VPH) como de muestras clínicas combinadas en PreservCyt. Cada centro utilizó una configuración diferente del sistema GeneXpert (un centro utilizó solamente modelos GX IV, un centro utilizó un GX XVI y un centro utilizó un Infinity 80). Para cada periodo de cuatro días de análisis del estudio se utilizaron tres lotes de la prueba Xpert HPV. Al final del estudio, cada miembro del grupo de precisión se evaluó 144 veces. Los datos se resumen por canal del ensayo, representado como 16 para el canal del VPH 16, 18/45 para el canal del VPH 18 y el VPH 45, 31 para el canal del VPH 31 y de otros tipos, VPH 51 para el canal del VPH 51 y el VPH 59, y 39 para el canal del VPH 39 y de otros tipos. Consulte la Tabla 13 y la Tabla 14.

Tabla 13. Precisión y reproducibilidad de la prueba Xpert HPV: Descripción y concordancia de positivos del grupo ^{a, b}

Muestra (Concentración diana y relativa)	Canal del ensayo	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Concordancia total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
Muestra artificial (negativo alto en VPH 16)	16	83,3 % (20/24)	91,7 % (22/24)	87,5 % (21/24)	82,6 % (19/23)	100 % (23/23)	83,3 % (20/24)	88,0 % (125/142)
	18/45	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	31	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	51	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	39	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
Muestra artificial (positivo bajo en VPH 16)	16	87,5 % (21/24)	95,7 % (22/23)	95,8 % (23/24)	100 % (23/23)	95,8 % (23/24)	95,8 % (23/24)	95,1 % (135/142)
	18/45	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	31	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	51	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	39	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
Muestra artificial (positivo moderado en VPH 16)	16	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (21/21)	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	99,3 % (140/141)
	18/45	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (21/21)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (141/141)
	31	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (21/21)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (141/141)
	51	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (21/21)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (141/141)
	39	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (21/21)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (141/141)

Muestra (Concentración diana y relativa)	Canal del ensayo	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Concordancia total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
Muestra artificial (negativo alto en VPH 18)	16	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	18/45	83,3 % (20/24)	86,4 % (19/22)	79,2 % (19/24)	87,5 % (21/24)	95,8 % (23/24)	91,7 % (22/24)	87,3 % (124/142)
	31	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	51	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	39	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
Muestra artificial (positivo bajo en VPH 18)	16	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (144/144)
	18/45	100 % (24/24)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (23/24)	91,7 % (22/24)	100 % (24/24)	96,5 % (139/144)
	31	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (144/144)
	51	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (144/144)
	39	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (144/144)
Muestra artificial (positivo moderado en VPH 18)	16	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (141/141)
	18/45	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (141/141)
	31	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (141/141)
	51	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (141/141)
	39	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (141/141)

Muestra (Concentración diana y relativa)	Canal del ensayo	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Concordancia total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
Muestra artificial (negativo alto en VPH 68)	16	100 % (22/22)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (139/139)
	18/45	100 % (22/22)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (139/139)
	31	100 % (22/22)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (139/139)
	51	100 % (22/22)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (139/139)
	39	90,9 % (20/22)	95,5 % (21/22)	100 % (24/24)	91,3 % (21/23)	91,7 (22/24)	91,7 (22/24)	93,5 % (130/139)
Muestra artificial (positivo bajo en VPH 68)	16	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (141/141)
	18/45	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (141/141)
	31	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (141/141)
	51	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (141/141)
	39	95,8 % (23/24)	95,8 % (23/24)	100 % (23/23)	87,0 % (20/23)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	96,5 % (136/141)
Muestra artificial (positivo moderado en VPH 68)	16	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	18/45	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	31	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	51	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	39	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	95,8 % (23/24)	99,3 % (141/142)

Muestra (Concentración diana y relativa)	Canal del ensayo	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Concordancia total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
Muestra artificial (positivo bajo en VPH 16/45/68)	16	100 % (24/24)	100 % (23/23)	95,8 % (23/24)	95,8 % (23/24)	95,7 % (22/23)	100 % (24/24)	97,9 % (139/142)
	18/45	87,5 % (21/24)	95,7 % (22/23)	79,2 % (19/24)	87,5 % (21/24)	95,7 % (22/23)	95,8 % (23/24)	90,1 % (128/142)
	31	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	51	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	95,8 % (23/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	99,3 % (141/142)
	39	91,7 % (22/24)	95,7 % (22/23)	91,7 % (22/24)	91,7 % (22/24)	95,7 % (22/23)	95,8 % (23/24)	93,7 % (133/142)
Muestra artificial (negativo)	16	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (140/140)
	18/45	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (140/140)
	31	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (140/140)
	51	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (140/140)
	39	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (140/140)
Muestra clínica combinada (VPH 16, VPH 31)	16	50,0 % (12/24)	20,8 % (5/24)	33,3 % (8/24)	18,2 % (4/22)	8,3 % (2/24)	20,8 % (5/24)	25,4 % (36/142)
	18/45	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	31	20,8 % (5/24)	41,7 % (10/24)	37,5 % (9/24)	50,0 % (11/22)	20,8 % (5/24)	33,3 % (8/24)	33,8 % (48/142)
	51	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	39	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)

Muestra (Concentración diana y relativa)	Canal del ensayo	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Concordancia total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
Muestra clínica combinada (VPH 18, VPH 39)	16	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (144/144)
	18/45	16,7 % (4/24)	20,8 % (5/24)	41,7 % (10/24)	25,0 % (6/24)	12,5 % (3/24)	20,8 % (5/24)	22,9 % (33/144)
	31	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (144/144)
	51	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (144/144)
	39	4,2 % (1/24)	4,2 % (1/24)	0 % (0/24)	8,3 % (2/24)	0 % (0/24)	0 % (0/24)	2,8 % (4/144)
Muestra clínica combinada (VPH 42, VPH 51, VPH 59)	16	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	99,3 % (142/143)
	18/45	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (143/143)
	31	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (143/143)
	51	25,0 % (6/24)	33,3 % (8/24)	29,2 % (7/24)	34,8 % (8/23)	12,5 % (3/24)	16,7 % (4/24)	25,2 % (36/143)
	39	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (143/143)
Muestra clínica combinada (VPH 52)	16	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (142/142)
	18/45	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (142/142)
	31	20,8 % (5/24)	41,7 % (10/24)	33,3 % (8/24)	41,7 % (10/24)	8,7 % (2/23)	30,4 % (7/23)	29,6 % (42/142)
	51	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (142/142)
	39	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (142/142)
Muestra clínica combinada (negativo)	16	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)

Muestra (Concentración diana y relativa)	Canal del ensayo	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Concordancia total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
	18/45	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	31	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	51	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)
	39	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (142/142)

- ^a La concordancia en las muestras negativas y negativas altas se muestra en forma de porcentaje de negativos; la concordancia en las muestras positivas bajas y moderadas se muestra en forma de porcentaje de positivos.
- ^b El estudio incluyó un total de 34 muestras que arrojaron un resultado indeterminado: neg. alto en VPH 16 (2); pos. alto en VPH 16 (2); pos. mod. en VPH 18 (3); neg. alto en VPH 18 (3); pos. mod. en VPH 18 (3); neg. alto en VPH 68 (5); pos. bajo en VPH 68 (3); pos. mod. en VPH 68 (2); VPH 16, 45, 68 (2); negativo en muestra artificial (4); VPH 16, 31 (2); VPH 42, 51, 59 (1); VPH 52 (2); negativo en muestra clínica combinada (2).

Tabla 14. Reproducibilidad de Xpert HPV: Variabilidad del Ct de los miembros del grupo^a

Muestra (concentración diana y relativa)	Canal del ensayo (analito específico)	n ^b	Ct medio	Entre Lugares		Entre Operadores		Entre Lotes		Entre días		Intra Ensayo		Total	
				DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
Muestra artificial (negativo alto en VPH 16)	16 (16)	12	38,4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Muestra artificial (positivo bajo en VPH 16)	16 (16)	135	35,4	0	0	0,605	1,7	0,425	1,2	0	0	1,003	2,8	1,246	3,5
Muestra artificial (positivo moderado en VPH 16)	16 (16)	140	34,0	0	0	0,288	0,8	0,211	0,6	0	0	0,972	2,9	1,036	3,0
Muestra artificial (negativo alto en VPH 18)	18/45 (18)	22	39,2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Muestra artificial (positivo bajo en VPH 18)	18/45 (18)	139	35,9	0	0	0,408	1,1	0,414	1,2	0	0	1,149	3,2	1,287	3,6
Muestra artificial (positivo moderado en VPH 18)	18/45 (18)	140	34,1	0	0	0	0	0,430	1,3	0,170	0,5	1,049	3,1	1,146	3,4
Muestra artificial (negativo alto en VPH 68)	39 (68)	116	39,5	0	0	0,811	2,1	0,296	0,7	0	0	1,025	2,6	1,340	3,4
Muestra artificial (positivo bajo en VPH 68)	39 (68)	141	36,2	0,055	0,2	0,362	1,0	0,099	0,3	0,265	0,7	0,703	1,9	0,843	2,3
Muestra artificial (positivo moderado en VPH 68)	39 (68)	142	34,7	0	0	0,060	0,2	0,196	0,6	0	0	0,789	2,3	0,815	2,3

Muestra (concentración diana y relativa)	Canal del ensayo (análisis específico)	n ^b	Ct medio	Entre Lugares		Entre Operadores		Entre Lotes		Entre días		Intra Ensayo		Total	
				DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
Muestra artificial (positivo bajo en VPH 16/45/68)	16 (16)	140	35,4	0,042	0,1	0,497	1,4	0,124	0,4	0	0	1,171	3,3	1,278	3,6
	18/45 (45)	133	37,2	0	0	0	0	0,454	1,2	0	0	1,586	4,3	1,649	4,4
	39 (68)	141	36,4	0,056	0,2	0	0	0	0	0,280	0,8	0,876	2,4	0,922	2,5
Muestra artificial (negativo)	Negativo (HMBS)	140	28,9	0,126	0,4	0,323	1,1	0,115	0,4	0	0	0,714	2,5	0,802	2,8
Muestra clínica combinada (VPH 16, VPH 31)	16 (16)	41	37,5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	31 (31)	97	38,2	0	0	0	0	0,356	0,9	0,453	1,2	1,411	3,7	1,524	4,0
Muestra clínica combinada (VPH 18, VPH 39)	18 (16)	47	39,7	0,643	1,6	0	0	0	0	1,148	2,9	1,388	3,5	1,913	4,8
	39 (39)	61	39,8	0	0	0,741	1,9	0	0	0	0	1,197	3,0	1,408	3,5
Muestra clínica combinada (VPH 42, VPH 51, VPH 59)	ND (42)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	51 (51)	92	38,9	0,452	1,2	0	0	0	0	0,088	0,2	1,348	3,5	1,424	3,7
	59 (59)	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Muestra clínica combinada (VPH 52)	31 (52)	82	38,2	0,307	0,8	0	0	0	0	0	0	2,738	7,2	2,756	7,2
Muestra clínica combinada (negativo)	Negativo (HMBS)	142	33,3	0,132	0,4	0	0	0,559	1,7	0	0	0,876	2,6	1,047	3,1

^a NA indica que no hubo datos continuos suficientes para realizar un análisis ANOVA.

^b Resultados con valores de Ct distintos de cero en 144 muestras.

19 Especificidad analítica

Se utilizó la prueba Xpert HPV para analizar un grupo de 47 microorganismos, como bacterias, hongos y virus que se suelen encontrar en el aparato genitourinario femenino, así como 12 tipos de virus del papiloma humano estrechamente relacionados. Todos los microorganismos se inocularon en células negativas en VPH (C33A) en solución PreservCyt y en células negativas en VPH a las que se les habían inoculado células positivas en VPH (SiHa) a una concentración tres veces superior al límite de detección. Los microorganismos y las concentraciones de la prueba se indican en la Tabla 15. La especificidad analítica fue del 100 % y ninguno de los microorganismos interfirió en la detección de VPH 16.

Tabla 15. Grupo de especificidad analítica

Organismo	Concentración de la prueba	Organismo	Concentración de la prueba
<i>Bacteroides fragilis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	3 x 10 ⁶ UFC/ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 x 10 ⁶ UFC/ml
<i>Candida albicans</i>	4 x 10 ⁶ células/ml	Adenovirus	1 x 10 ⁶ DICT50/ml
<i>Candida glabrata</i>	1 x 10 ⁸ células/ml	Citomegalovirus (CMV)	1 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 x 10 ⁸ EB ^a /ml	Virus de Epstein-Barr (VEB)	1 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	3 x 10 ⁷ UFC/ml	Virus de la hepatitis B (VHB)	3,6 x 10 ⁶ UI/ml

Organismo	Concentración de la prueba	Organismo	Concentración de la prueba
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1 x 10 ⁷ células/ml	Virus de la hepatitis C (VHC)	7,62 x 10 ² UI/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	Virus de la inmunodeficiencia humana 1 (VIH-1)	1 x 10 ⁶ copias/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	Virus del herpes simple 1 (VHS-1)	1 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	Virus del herpes simple 2 (VHS-2)	1 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	8,7 x 10 ⁷ UFC/ml	Virus del papiloma humano (VPH) 6	1,25 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	VPH 11	1,25 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 ⁷ células/ml	VPH 26	1,25 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁷ células/ml	VPH 30	1,25 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	1 x 10 ⁷ células/ml	VPH 34	1,25 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	3 x 10 ⁷ UFC/ml	VPH 53	1,25 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	VPH 67	1,25 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	VPH 69	1,25 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	VPH 70	1,25 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	VPH 73	1,25 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	VPH 82	1,25 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	VPH 85	1,25 x 10 ⁷ copias/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3 x 10 ⁶ UFC/ml		

^a Cuerpos elementales.

20 Sustancias interferentes

Se evaluó el impacto en la eficacia de la prueba Xpert HPV de sustancias endógenas y exógenas potencialmente interferentes que pueden estar presentes en muestras cervicales. Las sustancias se diluyeron individualmente en células negativas en VPH a las que se les habían inoculado células positivas en VPH 16 (SiHa) a tres veces la concentración del límite de detección. Las sustancias y las concentraciones de la prueba se indican en la Tabla 16. Se observó interferencia con la sangre entera (0,25 % v/v) en la muestra problema, pero no con ninguna de las otras sustancias endógenas a las concentraciones de la prueba dadas. No se observó interferencia con ninguna de las sustancias exógenas a las concentraciones de la prueba dadas, excepto en el caso de la crema antiprurito Vagisil (0,25 % p/v) y del gel hidratante Vagi Gard (0,5 % p/v). Las cremas densas pueden dar lugar a interrupciones por presión a concentraciones superiores al 0,25 % p/v en la muestra problema.

Tabla 16. Sustancias potencialmente interferentes

Sustancia	Concentración
Sangre completa	0,25 % v/v
Mucosidad	0,15 % v/v
Leucocitos (CMSP)	1 x 10 ⁵ células/ml
Crema antiprurito Vagisil	0,25 % p/v
Crema vaginal de clotrimazol	0,25 % p/v
Crema antihemorroides Preparación H	0,25 % p/v
Miconazol 3	0,25 % p/v
Monistat 1	0,25 % p/v
Crema para úlceras bucales Zovirax	0,25 % p/v
Hidratante Vagisil	10 % p/v
Gel hidratante Vagi Gard	0,5 % p/v
Lubricante personal KY Jelly	10 % p/v
Producto para lavado vaginal Yeast Gard	10 % v/v
Espuma vaginal anticonceptiva Delfen	10 % p/v
Producto para lavado vaginal medicado con povidona-yodo VH Essentials	10 % v/v
Supositorios desodorantes femeninos norforms	10 % p/v

21 Contaminación por arrastre

Se llevó a cabo un estudio para demostrar que los cartuchos GeneXpert autónomos de un solo uso previenen la contaminación por arrastre en muestras negativas procesadas después de muestras positivas muy altas en el mismo módulo GeneXpert. El estudio consistió en una muestra negativa procesada dentro del mismo módulo GeneXpert inmediatamente después de una muestra positiva en VPH 16 muy alta (lo suficientemente alta como para superar el 95 % de los resultados obtenidos con muestras de pacientes enfermas en la población diana). Esto se repitió 20 veces en dos módulos GeneXpert, para un total de 42 ciclos que arrojaron 20 muestras positivas y 22 negativas. Todas las 20 muestras positivas dieron correctamente positivo en VPH 16 y todas las 22 muestras negativas dieron correctamente negativo en VPH.

22 Bibliografía

- Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.*1999; 189(1):12-19.
- Division of STD Prevention (1999). Prevention of genital VPH infection and sequelae: report of an external consultants' meeting. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention. Recuperado el 4 de enero de 2012.
- Kjaer SK, van den Brule AJC, Paull G, et al. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (VPH) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.*2002; 325(7364): 572-579.
- De Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al. 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet.* 2010; 11(11): doi:10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
- Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, Snijders PJF, Clifford GM. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer.* 2011;128: 927-935. doi:10.1002/ijc.25396.
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. (Refer to latest edition.)

7. CLSI Publication M29. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. (Refer to latest edition.)
8. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 48th Edition. 2007.
9. REGLAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 16 de diciembre de 2008 sobre el etiquetado de clasificación y el envasado de sustancias y mezclas que modifica y anula la Lista de Declaraciones de Precaución, Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE (que modifica la normativa (CE) N.º 1907/2006).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 de marzo de 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
11. Coleman DV, Chapman, PA. Preparatory techniques. In Clinical Cytopathology. London: Butterworths, 1989: 54.
12. Yam LT, Janckila AJ. A simple method of preparing smears from bloody effusions for cytodagnosis. Acta Cytol. 1983; 27(2):114-118.
13. Bahr GF. Some considerations of basic cell chemistry. In Compendium on Cytopreparative Techniques. Tutorials of Cytology. 1974; 3rd Edition: 1.

23 Oficinas centrales de Cepheid

Sede central corporativa

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Teléfono: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede central europea

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Teléfono: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

24 Asistencia técnica




Antes de ponerse en contacto con el servicio técnico de Cepheid, reúna la información siguiente:




- Nombre del producto
- Número de lote
- Número de serie del instrumento
- Mensajes de error (si los hubiera)
- Versión de software y, si corresponde, «Número de servicio técnico» (Service Tag) del ordenador
-

Información de contacto	
Estados Unidos	Francia
Teléfono: + 1 888 838 3222	Teléfono: + 33 563 825 319
Correo electrónico: techsupport@cepheid.com	Correo electrónico: support@cepheideurope.com

La información de contacto de todas las oficinas del servicio técnico de Cepheid está disponible en nuestro sitio web: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

25 Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	<i>Producto sanitario para diagnóstico in vitro</i>
	No reutilizar

Símbolo	Significado
	Código de lote
	Consultar las instrucciones de uso
	Precaución
	Fabricante
	Contiene cantidad suficiente para n pruebas
	Control
	Fecha de caducidad
	Marca CE: conformidad europea
	Límites de temperatura
	Riesgos biológicos
	Advertencia
	País de fabricación
	Representante autorizado en Suiza
	Importador



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



26 Historial de revisiones

Apartado	Descripción del cambio
Tabla de símbolos	Se añadieron los símbolos y definiciones de CH REP a la tabla de símbolos. Se añadió la información de CH REP e importador con la dirección en Suiza.
Historial de revisiones	Se actualizó la tabla de Historial de revisiones.