

Formación técnica en el ensayo Xpert[®] HPV

Solo para uso con CE-IVD

Centro de formación Cepheid



Programa de formación

- **Xpert HPV**
 - Utilidad clínica
 - Reactivos
 - Recogida de muestras
 - Conservación y manipulación del kit
 - Preparación del cartucho
 - Controles de calidad
 - Análisis de resultados
- **Discusión**



Objetivos del curso

- **Al final del curso de formación, el usuario será capaz de:**
 - Conservar y manipular correctamente el kit del cartucho y los kits de recogida de muestras del Xpert® HPV.
 - Tomar las precauciones de seguridad de laboratorio adecuadas.
 - Recoger tipos de muestras apropiados y transportar las muestras.
 - Llevar a cabo la preparación del cartucho y realizar el ensayo.
 - Entender la estrategia de control del ensayo.
 - Notificar los diversos resultados generados por el software.

La solución Cepheid



- Detección simultánea
 - Tipos de HPV de alto riesgo
- Controles incorporados para cada muestra individual
 - Control de comprobación de la sonda (PCC)
 - Control de adecuación de la muestra (SAC)
 - Resultados en aproximadamente 60 minutos
- Sistema de cartucho cerrado que minimiza el riesgo de contaminación
- Resultados a demanda, 24 horas al día, 7 días a la semana
- Acceso aleatorio

Indicaciones

El ensayo Xpert HPV es una prueba cualitativa in vitro para la detección de la **región E6/E7** del genoma del ADN vírico de **14 tipos de HPV de alto riesgo en un solo análisis**. El Xpert HPV identifica específicamente los tipos HPV 16 y HPV 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.

- **Muestra**

- Células cervicales recogidas en solución PreservCyt®

Las muestras pretratadas con ácido acético glacial también están validadas para su uso con el ensayo Xpert HPV.

- **Detección de HPV 16 y HPV 18/45 y de otros 11 tipos de alto riesgo**

	Tipos de HPV detectados
HPV 16	HPV 16
HPV 18_45	HPV {18 y 45}
P3	HPV {31, 35, 33, 52, 58}
P4	HPV {51, 59}
P5	HPV {39, 68, 56, 66}

Muestra, dianas y sondas

- **Muestra**

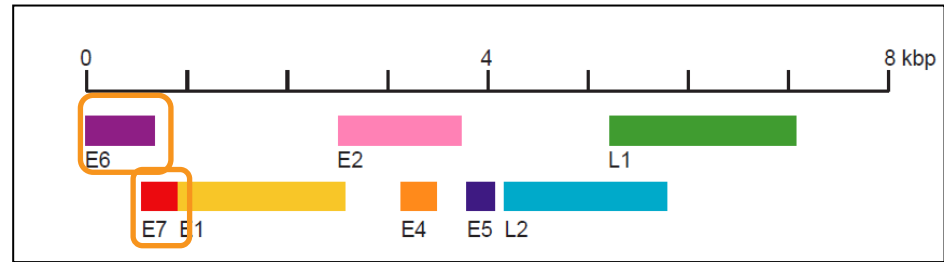
- Células cervicales recogidas en solución PreservCyt®
- Las muestras pretratadas con ácido acético glacial también están validadas para su uso con el ensayo Xpert HPV.

- **Diana**

- Tipos de HPV de alto riesgo

- **Sondas**

- 1 sonda se une al SAC
- Las demás sondas se unen dependiendo de la presencia de tipos de HPV de alto riesgo.



Adaptado de Expert Reviews in Molecular Medicine © Cambridge University Press ISSN 1462-3994

Requisitos de ensayo

Sistemas GeneXpert

- Módulos de 6 colores
- Software GeneXpert **versión 4.3a** o superior / software Infinity **versión 6.1** o superior

Kits de la prueba (CE-IVD)

- GXHPV-CE-10

Recogida de muestras

- Kit de recogida de muestras: Solución PreservCyt (Hologic Corp.) #PRESERVCYT50
- Cepillo endocervical #CERVEXBRUSH25

Otros materiales

- Equipo de protección individual (EPI)
- Lejía
- Etanol desnaturalizado o etanol al 70 %
- Mezclador vórtex

Opcional

- SAI con protector contra sobretensiones
- Impresora

Advertencias y precauciones

Preparación del laboratorio para la PCR

- Preparación del cartucho/reactivos
→ Adición de muestras → Detección

Conservación de muestras y reactivos

- Conserve las muestras separadas de los reactivos para evitar que estos se contaminen.

Equipo

- Siga las recomendaciones del fabricante para la calibración y el mantenimiento del equipo de laboratorio.
- Realice el mantenimiento periódico en el instrumento GeneXpert (apartado 9 del manual del operador).

Para obtener información más completa sobre el sistema GeneXpert, consulte el manual del operador del GeneXpert.

Buenas prácticas de laboratorio

Limpieza

- Limpie las superficies de trabajo con una dilución de lejía doméstica* a una concentración final de 1:10 y, a continuación, con una solución de etanol al 70 %. Seque las superficies de trabajo con un paño.
- Si se produce contaminación, limpie a fondo la zona contaminada con una dilución 1:10 de lejía doméstica en agua o agua oxigenada al 3 % (p/v), y enjuague a fondo con agua. Seque las superficies de trabajo con un paño.

Personal

- Lleve el equipo de protección individual (EPI) adecuado en todo momento según sea necesario.
- Cámbiese los guantes cada vez que procese muestras diferentes.

Área de la mesa del laboratorio

- Limpie la zona de la mesa de laboratorio periódicamente.
- Mantenga la parte posterior del instrumento sin polvo.

Manipulación del kit



Contenido del kit Xpert HPV

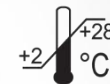
Número de catálogo	GXHPV-CE-10
Pruebas por kit	10
Contenido del cartucho	Microesferas de reactivo
	Reactivo líquido*
	Reactivo de lavado
	Reactivo de unión
CD del kit	Archivo de definición del ensayo (Assay Definition File, ADF)
	Instrucciones para la importación de ensayos
	Prospecto (PDF)
Pipetas de transferencia	10
Conservación	2 °C-28 °C



Los cartuchos contienen sustancias químicamente peligrosas; consulte el prospecto y la ficha de datos de seguridad para obtener información más detallada.

Advertencias y precauciones

- Conserve los cartuchos y los reactivos de la prueba Xpert HPV a una temperatura de entre **2 °C y 28 °C**.
- Siga los procedimientos de seguridad del centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- No utilice tubos de reactivos de recogida que no haya validado Cepheid.
- Abra la tapa del cartucho de la prueba Xpert HPV solamente al añadir la muestra, cierre la tapa y proceda con la siguiente.
- Con el sistema GeneXpert, inicie la prueba antes en los **30 minutos** siguientes a la adición de la muestra al cartucho.
- Con el sistema Infinity, coloque el cartucho en la cinta transportadora en los **30 minutos** siguientes a la adición de la muestra.



Advertencias y precauciones

- No agite el cartucho.
- No utilice un cartucho que...:
 - parezca mojado, tenga alguna fuga o el precinto de la tapa parezca haberse roto.
 - parezca dañado.
 - se haya caído después de extraerlo del envase.
 - se haya caído o agitado después de habersele añadido la muestra.
 - tenga un tubo de reacción dañado.
 - se haya utilizado: cada cartucho de un solo uso se utiliza para procesar una sola prueba.
 - haya caducado.
- No vuelva a utilizar pipetas desechables usadas.



Deseche los cartuchos y los reactivos del ensayo Xpert HPV siguiendo las pautas de su centro y de su país para desechar materiales peligrosos.

Limitaciones del ensayo Xpert HPV

- El ensayo 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.
- El ensayo puede sufrir interferencias en presencia de: sangre completa, células mononucleares de sangre periférica, *Candida albicans* o cremas vaginales densas.
- 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 eficacia diagnóstica del ensayo Xpert HPV no se ha evaluado en individuos que estén vacunados contra el HPV.

Para obtener información detallada, consulte el prospecto actual.

Recogida, conservación y transporte de muestras



Recogida de muestras para el Xpert HPV

- **Tipo de muestra:**

- Muestras cervicales en solución PreservCyt®.

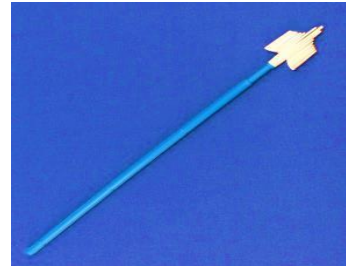


- **Recogida de muestras:**


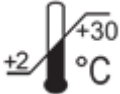
- Siga las instrucciones del fabricante para recoger muestras cervicales utilizando un dispositivo similar a una escobilla O con una combinación de cepillo y espátula endocervicales con cabezas desmontables.

- <http://www.thinprep.com>

- [http://www.thinprep.com/hcp/specimen_collection/broom like device.html](http://www.thinprep.com/hcp/specimen_collection/broom_like_device.html)



Transporte y conservación de las muestras

	Antes de realizar pruebas	Temperatura (°C)	Tiempo de conservación
	Muestras cervicales recogidas en soluciones PreservCyt		Hasta 6 meses

*Envíe las muestras cervicales recogidas en solución PreservCyt a una temperatura de 2-30 °C.
El transporte de muestras de HPV debe cumplir la normativa del país.*

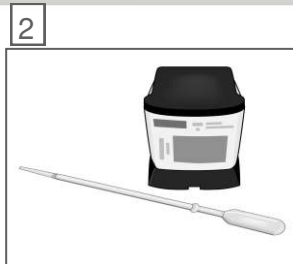
Preparación del cartucho



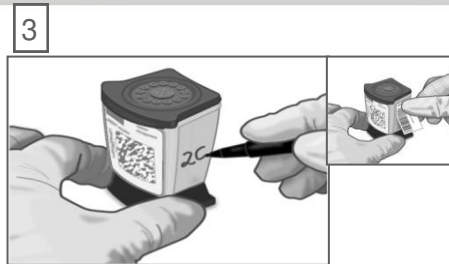
Preparación del cartucho Xpert HPV



Obtenga una muestra cervical de HPV recogida en solución PreservCyt.



Tome un cartucho Xpert HPV y la pipeta de transferencia suministrada.



Etiquete el lado del cartucho con el mismo ID de la muestra.



Abra la tapa del cartucho.



Invierte suavemente el tubo de transporte 8-10 veces para mezclar su contenido. O, agite en un mezclador vórtex durante 5 segundos a mitad de velocidad.



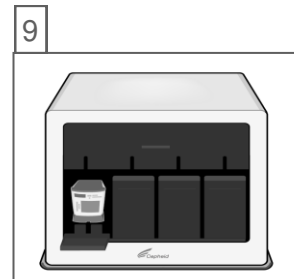
Pipeteo al menos 1 ml de la muestra utilizando la pipeta suministrada.*



Vacíe lentamente la pipeta en la cámara de muestras del cartucho.



Cierre firmemente la tapa.



Inicie la prueba en su instrumento GeneXpert dentro del plazo recomendado.



*Pipeta de transferencia del ensayo HPV

Ejecute una prueba

- 1 Cree una prueba (Create Test).

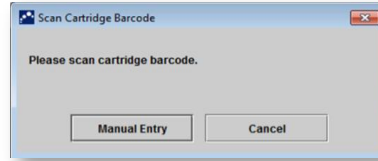
GeneXpert



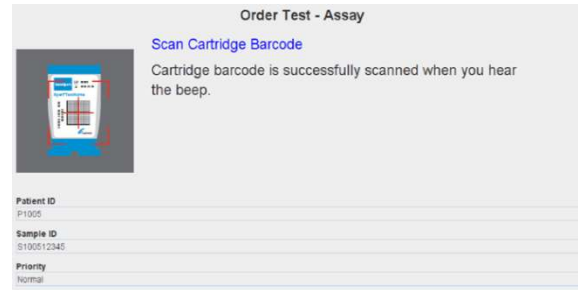
GeneXpert
Infinity



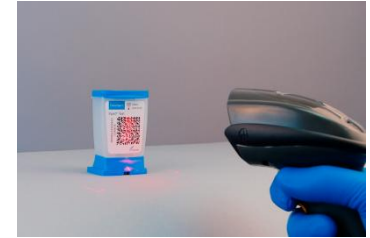
- 2 Escanee los mensajes de código de barras: ID del cartucho/paciente y/o muestra.



*De forma predeterminada, no haga clic en **Entrada manual (Manual Entry)** o **Cancelar (Cancel)**.*



- 3 Escanee el cartucho.



Para obtener los detalles completos sobre cómo ejecutar una prueba, consulte el prospecto y los manuales del operador de GeneXpert Dx o Xpertise Dx.

Cree una prueba

4 Complete los campos según sea necesario.

5 Seleccione el protocolo de ensayo adecuado en la lista desplegable: solamente obtendrá el resultado relacionado con el ensayo.

6 El módulo se selecciona automáticamente.
¡NO LO CAMBIE!

7 Haga clic en Iniciar prueba (Start Test).

8 Parpadeará una luz verde en el módulo.
Cargue el cartucho en el módulo y cierre la puerta.

The screenshot shows the 'Create Test' window with the following fields and table:

Select Assay	Name	Version
Select module	Xpert HPV HR_16_18-45	1
Reagent Lot ID*	Xpert HPV 16_18-45	1
	Xpert HPV HR	1
	Xpert HPV HR_16_18-45	1

Other fields include Patient ID, Sample ID, Last Name, First Name, Test Type (Specimen), Sample Type, and Other Sample Type. The 'Start Test' button is highlighted with an orange arrow.



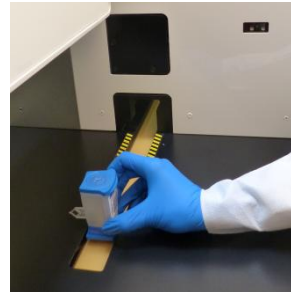
Una vez iniciada la prueba, y si se ha solicitado solamente un ensayo, es imposible obtener el resultado del otro ensayo.

Cree una prueba en el software Xpertise Dx

- 4 Complete los campos según sea necesario.
- 5 El protocolo del ensayo se selecciona automáticamente.
- 6 Haga clic en ENVIAR (SUBMIT).
- 7 Coloque el cartucho en la cinta transportadora.

Order Test - Test Information

Patient ID patientid	
Sample ID sampleid	
Last Name patient	First Name id
Assay* Xpert HPV	
Reagent Lot ID* 12102	Cartridge S/N* 282769448
Expiration Date* 2018/11/04	Priority Normal
Test Type Specimen	
Sample Type Other	Other Sample Type
Notes	



Protocolo del Xpert automatizado



Controles de calidad



- **Control del sistema: Comprobación del estado**
 - El control del sistema comprueba los componentes ópticos, la temperatura del módulo y la integridad mecánica de cada cartucho.
 - Si no se superan los controles del sistema, el resultado notificado de la prueba será de ERROR.
- **Controles de calidad del ensayo**
 - Cada cartucho Xpert es un dispositivo analítico autónomo.
 - Cepheid ha diseñado métodos moleculares específicos para incluir controles internos que permiten al sistema detectar modos específicos de fallo dentro de cada cartucho.
 - Control de adecuación de la muestra (SAC)
 - Controles de comprobación de la sonda (PCC)

- **Controles de comprobación de la sonda (PCC)**

- Antes del paso de la PCR, se mide la señal fluorescente en todas las sondas y se compara con los ajustes preestablecidos de fábrica para monitorizar:
 - la rehidratación de las microesferas
 - la integridad de la sonda
 - el llenado del tubo de reacción
 - la estabilidad del colorante

- **Control de adecuación de la muestra (SAC)**

- HMBS (hidroximetilbilano sintasa)
 - Se asegura de que se han añadido células humanas a la cámara de muestras del cartucho.
 - Si es negativo, esto puede indicar una obtención incorrecta de las muestras o una mezcla insuficiente.
 - Debe ser positivo en una muestra negativa.
 - Puede ser positivo o negativo en una muestra positiva.

Controles externos de distribución comercial

AcroMetrix® <http://www.lifetechnologies.com/acrometrix>

Número de referencia	Descripción	Configuración	Conservación
950075	Positivo en HPV 16	5 x 4 ml/caja	2 °C-8 °C
950076	Positivo en HPV 18	5 x 4 ml/caja	2 °C-8 °C
950078	Negativo para HPV	5 x 4 ml/caja	2 °C-8 °C

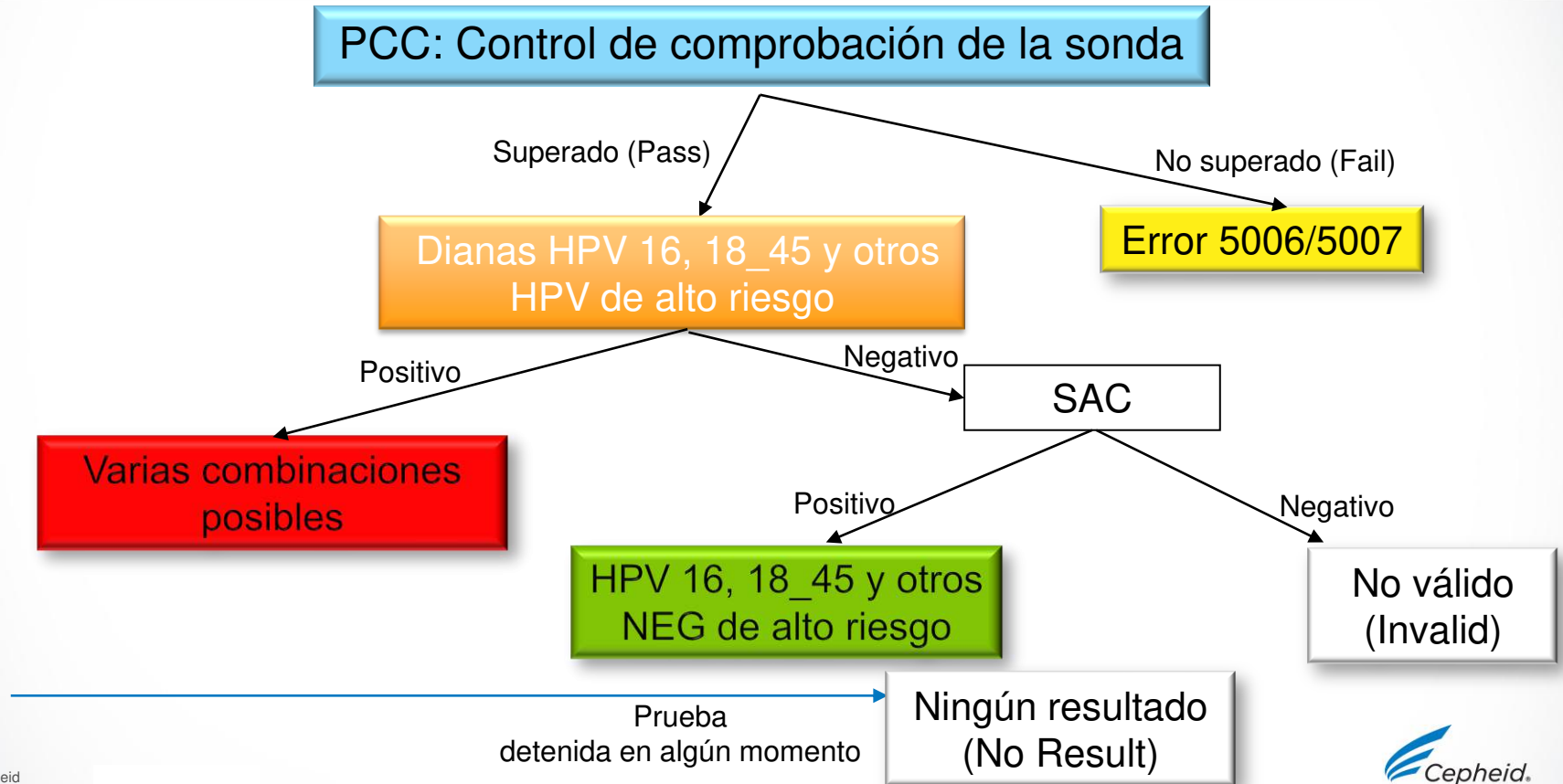
1. Tome 1 frasco del material de control y mézclelo suavemente para garantizar una suspensión homogénea.
2. Utilizando la pipeta suministrada, aspire el material de control hasta justo por encima de la marca de 1 ml.
3. Cargue el material aspirado en la cámara de muestras del cartucho Xpert HPV.
4. Cierre la tapa y ejecute la prueba en el GeneXpert.
5. Para reducir al mínimo la degradación del material de control, devuelva todas las muestras no usadas a las condiciones de conservación recomendadas inmediatamente después del uso.

- Muchos otros proveedores de material de control de calidad también están disponibles además del descrito anteriormente.
- Los controles externos deben utilizarse de acuerdo con las organizaciones de acreditación locales y estatales, según corresponda

Interpretación de los resultados



Algoritmo



Información para formadores: Etiquetas de las leyendas

Tipos de HPV detectados y qué curva de amplificación los representa

Curva de amplificación	Tipos de HPV detectados
HPV 16	HPV 16
HPV 18_45	HPV {18 y 45}
P3	HPV {31, 35, 33, 52, 58}
P4	HPV {51, 59}
P5	HPV {39, 68, 56, 66}

HPV 16 POS / HPV 18_45 NEG / Otro HR HPV NEG

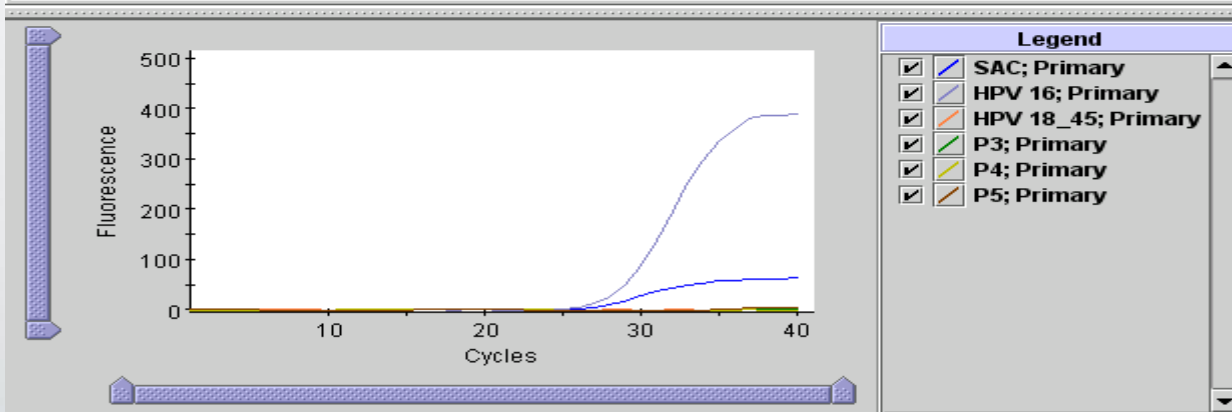
Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
SAC	28.7	63	NA	PASS	
HPV 16	28.0	388	POS	PASS	
HPV 18_45	0.0	4	NEG	PASS	
P3	0.0	1	NEG	PASS	
P4	0.0	-1	NEG	PASS	
P5	0.0	5	NEG	PASS	

Test Result	HPV 16 POS; HPV 18_45 NEG; OTHER HR HPV NEG
-------------	---

-La secuencia de ADN diana de HPV 16 tiene un valor de Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración de fluorescencia por encima del valor umbral configurado.

-SAC: El SAC no es aplicable porque se ha producido la amplificación de la diana del HPV.

-Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS)

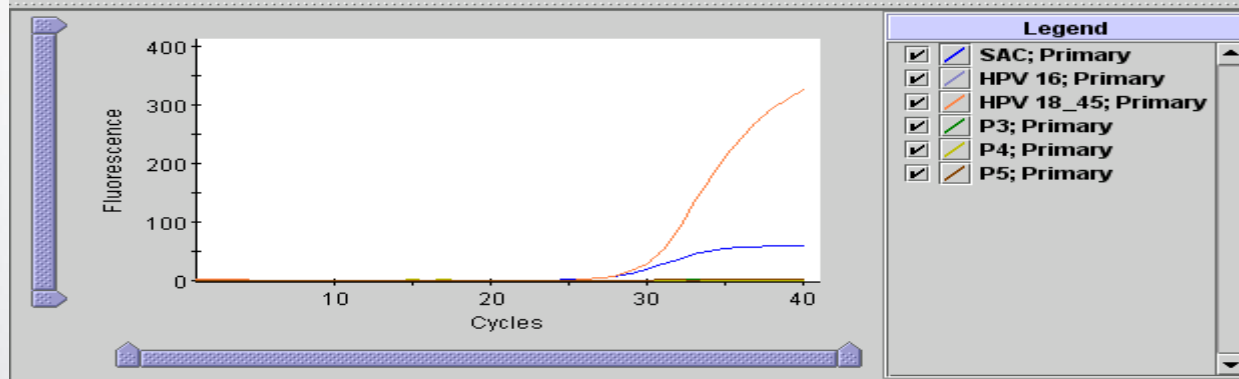


HPV 16 NEG / HPV 18_45 POS / Otro HR HPV NEG

Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result
SAC	29.6	59	NA	PASS
HPV 16	0.0	1	NEG	PASS
HPV 18_45	29.8	325	POS	PASS
P3	0.0	2	NEG	PASS
P4	0.0	0	NEG	PASS
P5	0.0	1	NEG	PASS

Test Result
HPV 16 NEG;
HPV 18_45 POS;
OTHER HR HPV NEG

-El ADN diana de HPV 18_45 tiene un valor de Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración de fluorescencia por encima del valor umbral configurado.



-SAC: El SAC no es aplicable porque se ha producido la amplificación de la diana del HPV.

-Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS)

HPV 16 NEG / HPV 18_45 NEG / Otro HR HPV POS

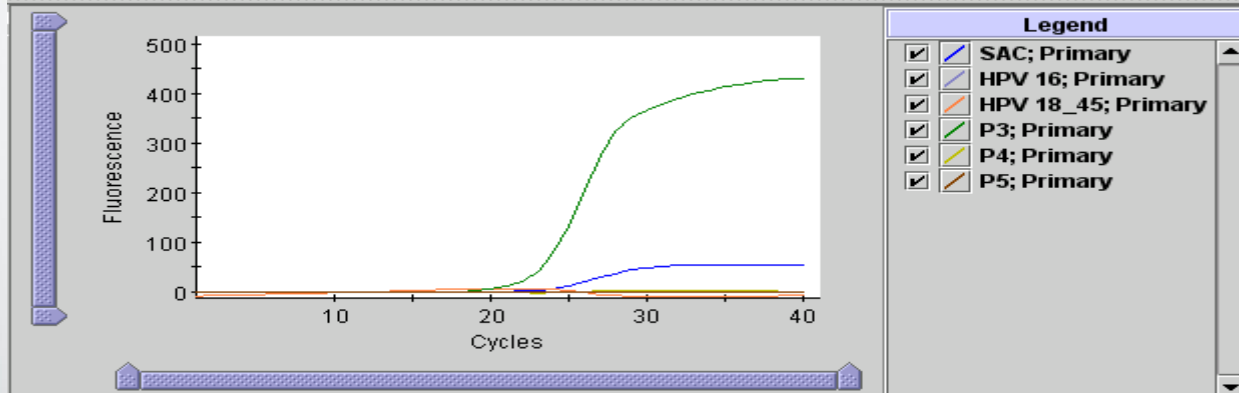
Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
SAC	25.4	54	NA	PASS	
HPV 16	0.0	0	NEG	PASS	
HPV 18_45	0.0	-7	NEG	PASS	
P3	21.4	431	POS	PASS	
P4	0.0	1	NEG	PASS	
P5	0.0	0	NEG	PASS	

Test Result	HPV 16 NEG; HPV 18_45 NEG; OTHER HR HPV POS
--------------------	--

-Las secuencias de ADN diana de otro HPV de alto riesgo tienen un valor de Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración de fluorescencia por encima del valor umbral configurado.

-SAC: El SAC no es aplicable porque se ha producido la amplificación de la diana del HPV.

-Comprobación de la sonda:
SUPERADO (PASS)



HPV 16 NEG / HPV 18_45 NEG / Otro HR HPV NEG

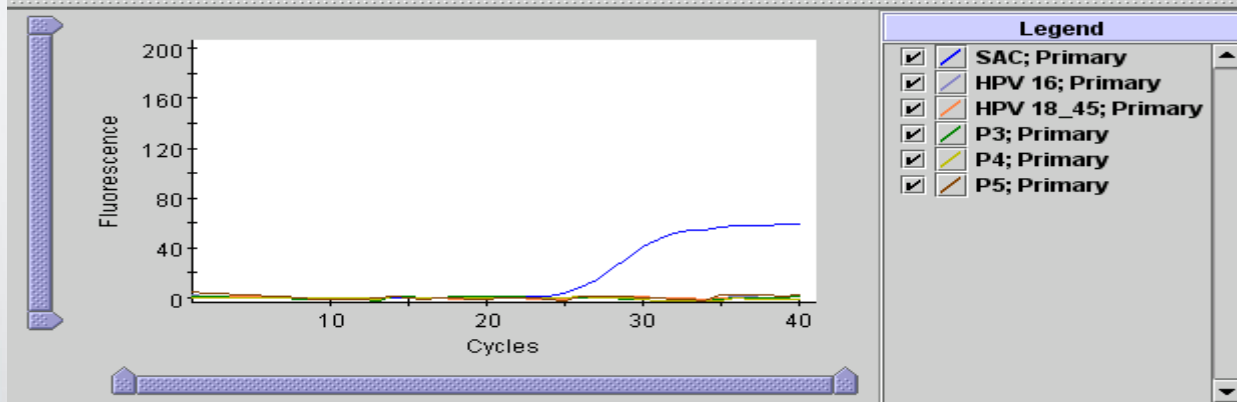
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result
SAC	27.1	59	PASS	PASS
HPV 16	0.0	2	NEG	PASS
HPV 18_45	0.0	1	NEG	PASS
P3	0.0	1	NEG	PASS
P4	0.0	-1	NEG	PASS
P5	0.0	2	NEG	PASS

Test Result
HPV 16 NEG;
HPV 18_45 NEG;
OTHER HR HPV NEG

-Las secuencias de ADN diana de HPV tienen un valor de Ct que no está dentro del rango válido, o un criterio de valoración de fluorescencia por debajo del valor umbral configurado.

-SAC: El SAC tiene un valor de Ct dentro del rango válido.

-Comprobación de la sonda:
SUPERADO (PASS)



Resolución de problemas

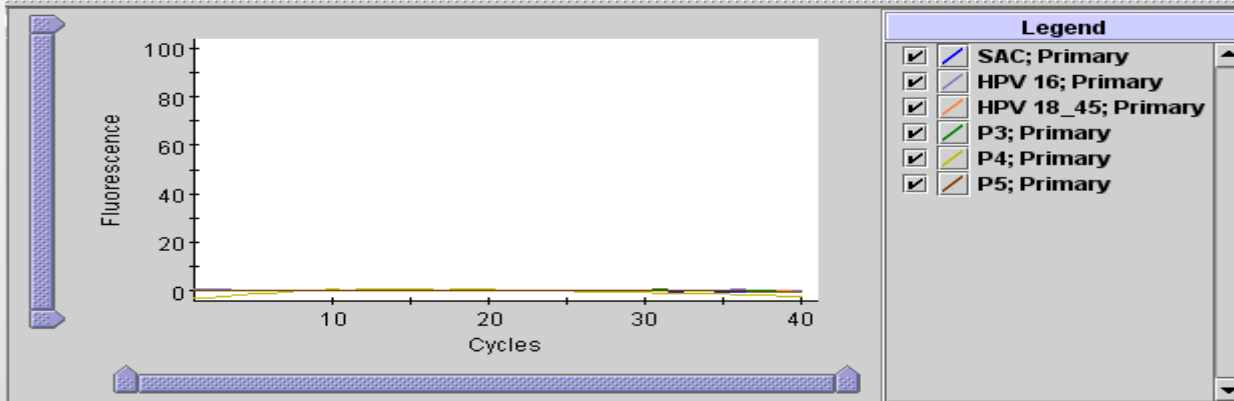


Factores que afectan negativamente a los resultados

- Recogida inadecuada de muestras
 - No se ha evaluado el rendimiento con otros dispositivos de recogida y con otros tipos de muestra.
- Transporte o conservación inadecuados de la muestra recogida
 - Consulte las instrucciones del prospecto para la manipulación adecuada.
- Procedimiento inadecuado de realización de la prueba
 - La modificación de los procedimientos de realización de la prueba puede afectar al rendimiento de esta.
 - Para evitar resultados erróneos es necesario seguir estrictamente las instrucciones del prospecto.
- Sustancias interferentes
 - Si hay presente alguna sustancia interferente, pueden observarse resultados negativos falsos o no válidos.

Resultado NO VÁLIDO (INVALID)

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
SAC	0.0	-1	FAIL	PASS	
HPV 16	0.0	0	INVALID	PASS	
HPV 18_45	0.0	0	INVALID	PASS	
P3	0.0	0	INVALID	PASS	
P4	0.0	-3	INVALID	PASS	
P5	0.0	-1	INVALID	PASS	



Test Result INVALID

- No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN diana de HPV.
- SAC: El resultado de la diana del SAC es negativo. El Ct del SAC no está dentro del rango válido.
- Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS)
- Causa
 - Recogida inadecuada de la muestra
 - Preparación incorrecta de la muestra
 - Conservación inadecuada de los cartuchos
 - Procesamiento ineficaz de la muestra en el cartucho
 - Presencia de inhibición en la muestra
- Solución
 - Repita la prueba con un cartucho y una muestra nuevos.

Interferencia con el ensayo

- Sustancias potencialmente interferentes

Se evaluaron 16 sustancias endógenas y exógenas a concentraciones específicas, y se observó que **no influían** en la especificidad del ensayo.

El ensayo puede sufrir interferencias en presencia de:

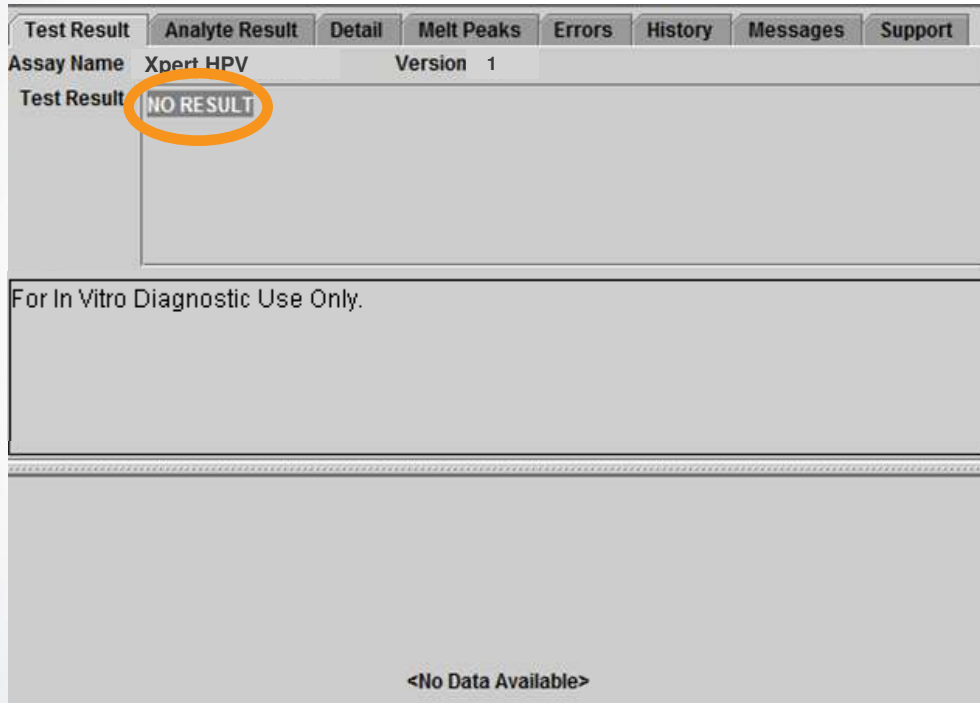
Sustancia	Concentración
Crema antiprurito Vagisil	0,25 % p/v
Cremas densas	>0,25 % p/v
Sangre completa	0,25 % v/v
Gel hidratante Vagi-Gard	0,5 % p/v

p=peso; v=volumen

Para obtener información detallada, consulte el prospecto actual.

SIN RESULTADO (NO RESULT)

NO RESULT



The screenshot shows the software interface for the Xpert HPV assay. At the top, there are tabs for 'Test Result', 'Analyte Result', 'Detail', 'Melt Peaks', 'Errors', 'History', 'Messages', and 'Support'. Below the tabs, the 'Assay Name' is 'Xpert HPV' and the 'Version' is '1'. The 'Test Result' field displays 'NO RESULT', which is circled in orange. Below this, there is a section for 'For In Vitro Diagnostic Use Only.' and at the bottom, it says '<No Data Available>'. The interface has a light gray background with dark text.

- No puede determinarse la presencia o ausencia de HPV.
- SIN RESULTADO (NO RESULT) indica que no se han recogido suficientes datos.
- SPC: SIN RESULTADO (NO RESULT)
- Comprobación de la sonda: NA (No aplicable)
- **Causa**
 - La prueba se detuvo con el botón «detener la prueba» (stop test).
 - Fallo eléctrico.
- **Solución**
 - Asegure la alimentación.
 - Repita la prueba con un cartucho nuevo.

Procedimiento de repetición de la prueba

1



Deseche el cartucho utilizado.

Siga las directrices de seguridad del centro para la eliminación de los cartuchos.

2



Obtenga la muestra residual, mezcle conforme al prospecto.

Si el volumen de muestra restante es insuficiente o si la repetición de la prueba sigue indicando NO VÁLIDO (INVALID), ERROR o SIN RESULTADO (NO RESULT), obtenga una muestra nueva.

3



Obtenga un nuevo cartucho.

Etiquete adecuadamente como nueva prueba en el nuevo cartucho.

Procese la muestra conforme al prospecto.

4



Ejecute la prueba en el sistema GeneXpert.



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 sistema
 - Mensajes de error (si los hubiera)
 - Versión de software y, si corresponde, «Service Tag» (número de servicio técnico) del ordenador.
- Presente su queja utilizando el siguiente enlace <http://www.cephheid.com/us/support>

Región	Teléfono	Correo electrónico del Servicio Técnico
EE. UU.	+ 1 888 838 3222	techsupport@cephheid.com
Australia y Nueva Zelanda	+ 1800 107 884 (AU) + 0800 001 028 (NZ)	techsupportANZ@cephheid.com
Brasil y Latinoamérica	+ 55 11 3524 8373	latamsupport@cephheid.com
China	+ 86 021 5406 5387	techsupportchina@cephheid.com
Francia	+ 33 563 825 319	support@cephheid.com
Alemania	+ 49 69 710 480 480	support@cephheid.com
India, Bangladesh, Bután, Nepal y Sri Lanka	+ 91 11 48353010	techsupportindia@cephheid.com
Italia	+ 39 800 902 567	support@cephheid.com
Japón	+ 0120 95 4886	support@japan.cephheid.com
Sudáfrica	+ 27 861 22 76 35	support@cephheid.com
Reino Unido	+ 44 3303 332 533	support@cephheid.com
Bélgica y Países Bajos	+33 563 825 3319	support@cephheid.com
Otros países europeos, de Oriente Próximo y africanos	+ 33 563 825 319 + 971 4 253 3218	support@cephheid.com

Gracias.

www.Cepheid.com

