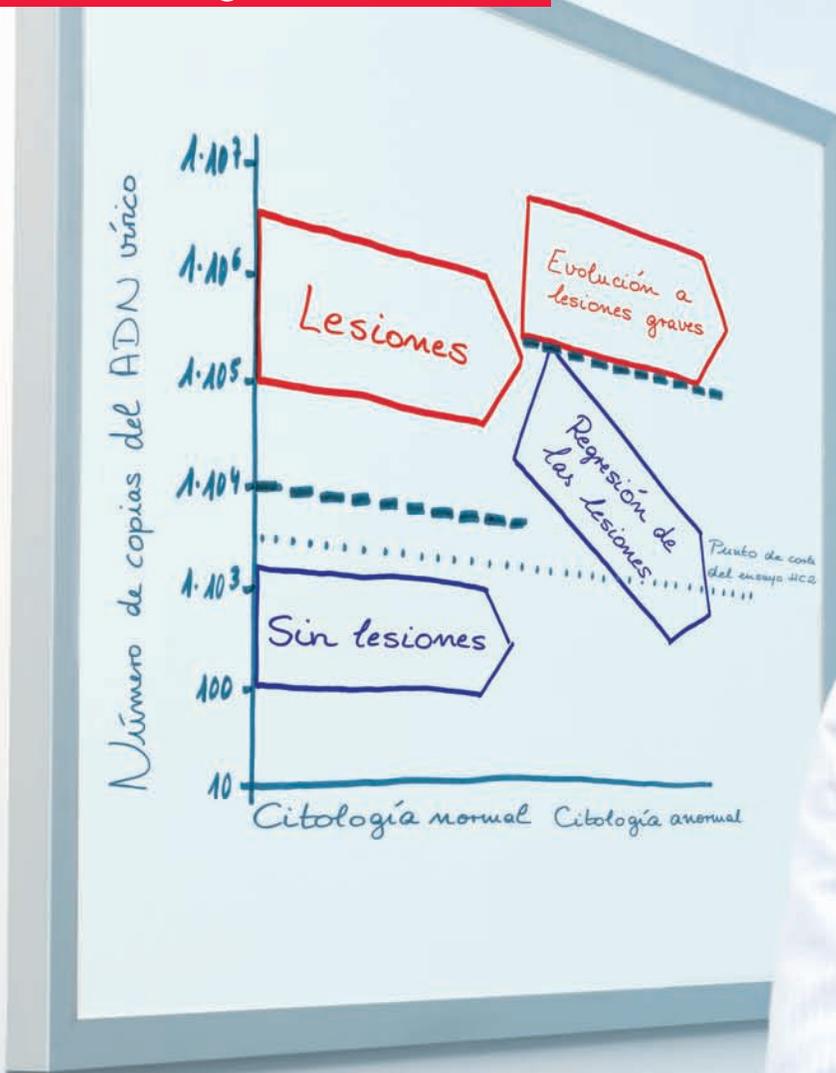


Prueba del ADN del VPH: sensibilidad clínica frente a sensibilidad analítica

The *digene* HPV Test



Cómo validar una prueba para VPH en cuanto al rendimiento clínico óptimo

La sensibilidad clínica refleja con mayor precisión la capacidad de un ensayo para diagnosticar lesiones en el cuello del útero.

La sensibilidad analítica es clave para las pruebas del VIH y la hepatitis C, pero es mucho menos fiable en la evaluación de una prueba para la detección del ADN del VPH. Las plataformas de análisis con una sensibilidad analítica elevada (p. ej., pruebas basadas en la PCR) pueden dar resultados positivos que son irrelevantes desde el punto de vista clínico y, por lo tanto, engañosos.

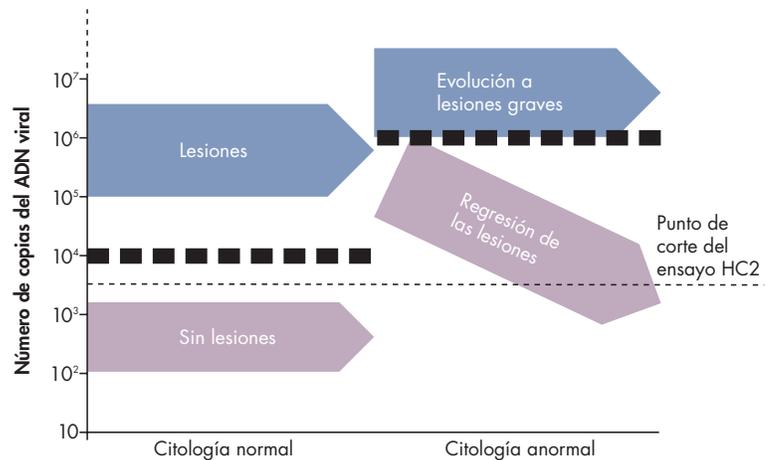


Figura 1. Relevancia clínica de un valor de punto de corte en relación con el riesgo de progresión de CIN+. Adaptado de Snijders P.J.F. et al. (1). La línea discontinua gruesa indica los umbrales de carga vírica informativos.

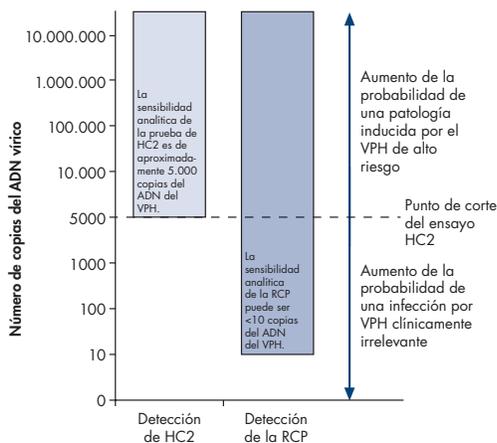


Figura 2. Importancia del punto de corte del ensayo de HC2. En esta figura se compara la relevancia clínica de la prueba HC2 HPV DNA de *digene* y los métodos basados en PCR. El valor del punto de corte del ensayo de HC2 diferencia entre las infecciones por VPH irrelevantes clínicamente y aquellas con muchas más probabilidades de desarrollar patologías causadas por el VPH de alto riesgo (1).

Para el análisis del VPH, la sensibilidad clínica es mucho más importante: el objetivo es identificar como positivas sólo las infecciones por VPH de alto riesgo que realmente pueden causar un cáncer de cuello de útero. El procedimiento de la prueba debe definir un valor umbral validado que diferencie entre las infecciones por VPH con relevancia clínica y la presencia del ADN del VPH que se relaciona con patologías futuras, en el cuello del útero (véase la Figura 1).

La prueba *digene* HC2 HPV DNA (basada en la tecnología Hybrid Capture® 2) es el **único** procedimiento de análisis para el VPH que permite a los médicos estimar la relevancia clínica de la infección por VPH de alto riesgo con un valor umbral validado (punto de corte) que especifica el número de copias del ADN por encima de las cuales se considera que la prueba es positiva. El punto de corte de la prueba *digene* HC2 HPV DNA es de aproximadamente 5.000 copias del ADN de VPH. Hasta la fecha, todos los métodos de PCR carecen de este valor umbral, que es esencial para la gestión de los pacientes (véase la Figura 2).

La prueba *digene* HC2 HPV DNA es la prueba para el VPH más validada y estandarizada.

Se han realizado en todo el mundo estudios con casi un millón pacientes (2, 3, 4, 5) con la prueba *digene* HC2 HPV DNA. Además, numerosos estudios han utilizado una serie de modelos y criterios de valoración clínicos con el fin de determinar la sensibilidad en la detección de infecciones por VPH de alto riesgo con relevancia clínica — lo que incluye displasia, estadios precancerosos y cáncer de cuello de útero. En 26 estudios seleccionados se ha demostrado que los resultados obtenidos con la prueba *digene* HC2 HPV DNA son mejores en cuanto a la sensibilidad clínica cuando se comparan con los métodos de PCR (véase la Figura 3).

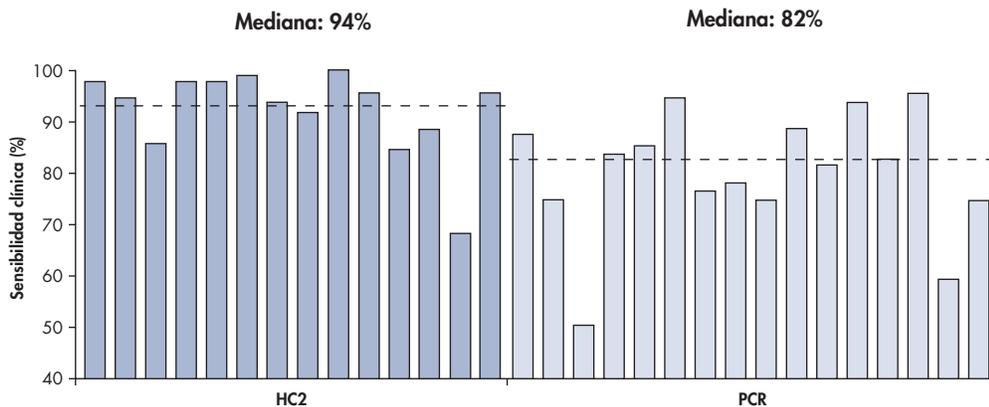


Figura 3. Resultados por estudio de la sensibilidad clínica de HC2 frente a la de la PCR. En esta figura se muestran los resultados de la medición de cada estudio de la prueba *digene* HC2 HPV DNA y los métodos de PCR en cuanto al reconocimiento de los estadios precancerosos (CIN 2+). Ver referencia bibliográfica 6.

En total, estos estudios demostraron que la prueba *digene* HC2 HPV DNA ha dado resultados con una mediana del 94% de sensibilidad clínica. Por el contrario, los procedimientos de PCR han demostrado una sensibilidad clínica de sólo el 82%. La prueba *digene* HC2 HPV DNA demostró de forma constante una sensibilidad superior en la detección de estadios precancerosos — necesaria tanto en el tamizaje primario como en la evaluación del riesgo (Figura 4).

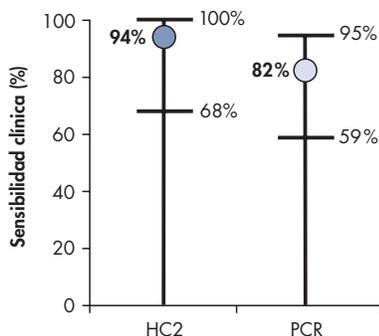
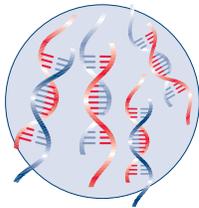


Figura 4. Resumen de la sensibilidad clínica de HC2 frente a la de la PCR. Las cifras que no están en negrita indican las sensibilidades superiores e inferiores detectadas en los estudios (6).

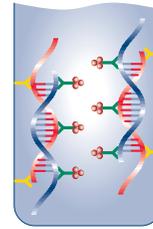
La prueba *digene* HC2 HPV DNA detecta la presencia de 13 tipos de VPH de alto riesgo — mediante sondas de ARN completas complementarias del ADN del VPH, anticuerpos especiales, reactivos de detección y quimioluminiscencia. La toma de muestras es parecida a la citología, hay que tomar un frotis celular del cuello del útero. Las células de la muestra se desnaturalizan y se divide el ADN del VPH en cadenas simples. A continuación se resumen los pasos básicos del ensayo.



Hibridar la sonda de ARN con el ADN diana. El ADN diana se combina con las sondas específicas de ARN, y se forman híbridos ARN:ADN.



Captura del híbrido. Los híbridos ARN:ADN se capturan en una fase sólida recubierta con anticuerpos de captura universal específicos para los híbridos ARN:ADN.



Amplificación de la señal. Los híbridos ARN:ADN capturados se detectan con varios anticuerpos conjugados con fosfatasa alcalina. Se lee la señal resultante de la reacción quimioluminiscente y se interpretan los resultados.

La potencia de la señal es proporcional a la carga de VPH en la muestra. El valor de punto de corte validado clínicamente de la prueba *digene* HC2 HPV DNA es 1 pg/ml o aproximadamente 5.000 copias víricas/muestra. Las muestras con cifras inferiores de copias del virus se clasifican como negativas. La prueba *digene* HC2 HPV DNA proporciona la sensibilidad clínica más elevada, necesaria para el diagnóstico del VPH y la gestión de los pacientes.

Por el contrario, en la PCR los cebadores se unen y amplifican áreas definidas del ADN vírico, lo cual plantea una serie de desventajas (Tabla 1). Debido a la ausencia de un valor umbral para las pruebas basadas en PCR, el número de resultados positivos irrelevantes clínicamente puede aumentar. Asimismo y más crítico, la PCR puede dar resultados falsos-negativos en presencia de una patología avanzada (7). La mayor parte de los métodos de PCR se basa en cebadores que tienen como diana las regiones L1 o E1 del genoma del VPH. Estos segmentos diana pueden eliminarse cuando el ADN vírico se integra en el genoma humano, — un precursor de muchos estadios avanzados de la enfermedad. Muchos métodos de PCR dan resultados falsos-negativos que no reconocen una parte de los estadios de la enfermedad, como displasia grave y carcinoma del cuello del útero.

La prueba *digene* HPV

La prueba *digene* HC2 HPV DNA es una herramienta primaria para detectar sólo las infecciones por VPH relevantes clínicamente.

La determinación de si una infección por VPH de alto riesgo puede causar cáncer de cuello de útero depende en gran medida del número de copias detectadas de ADN vírico. Sólo la prueba *digene* HC2 HPV DNA proporciona estos resultados clínicamente relevantes y es eficaz en todos los estadios de evolución de la enfermedad.

Tabla 1. HC2 y PCR: comparación punto por punto

	HC2	PCR
Marca CE y autorización de la FDA	Sí	No
Rendimiento clínico	94% de sensibilidad clínica	82% de sensibilidad clínica
Método estandarizado	Sí	No
Riesgo de resultados falsos-negativos debido a la inhibición	No	Sí
Riesgo de resultados falsos-negativos debido a la delección de los genes L1 o E1	No	Sí
Procesamiento	Hasta 264 pruebas en 8 horas	Depende del método
Datos usados para apoyar las directrices para el cáncer de cuello de útero	Sí	No
Perfil de tipos de alto riesgo	Tipos relevantes clínicamente aceptados actualmente 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 (8)	Depende del método

Información para los pedidos

Producto	Contenido	Nº de cat.
<i>digene</i> HC2 HPV DNA Test	96 pruebas para 40 muestras de cuello uterino*	5198-1220
<i>digene</i> HC2 High-Risk HPV DNA Test	96 pruebas para 88 muestras de cuello uterino†	5199-1220

* Incluye el diluyente de la sonda, las sondas de alto y bajo riesgo, los controles de calidad, el calibrador, la microplaca de captura, los reactivos y los tampones.

† Incluye el diluyente de la sonda, las sondas de alto riesgo, los controles de calidad, el calibrador, la microplaca de captura, los reactivos y los tampones.

La prueba *digene* HC2 HPV DNA y la prueba *digene* HC2 High-Risk HPV DNA están indicadas para uso de diagnóstico "in vitro".

Visite la página www.qiagen.com/hpv para obtener información más detallada.

Marcas comerciales: QIAGEN®, *digene*®, Hybrid Capture® (QIAGEN Group).
1056926 tecnolab s.a. Argentina 10/2010 © 2010 QIAGEN. Todos los derechos reservados.

Bibliografía

1. Snijders, P.J.F., van den Brule, A.J.C., and Meijer, C.J.L.M. (2003) The clinical relevance of human papillomavirus testing: relationship between analytical and clinical sensitivity. *J. Pathol.* **201**, 1.
2. Lorincz, A.T. (2006) HPV testing by hybrid capture. In: Monsonego, J., ed. *Emerging Issues on HPV Infections: From Science to Practice*. Basel: Karger, p 54.
3. Fetterman, B., Shaber, R., Pawlick, G., and Kinney, W. (2005) Lessons from practice: the first hundred thousand Pap and HPV cotests for general population screening. Poster presented at the 22nd International Papillomavirus Conference and Clinical Workshop. Vancouver.
4. Ronco, G. et al. (2008) Results at recruitment from a randomized controlled trial comparing human papillomavirus testing alone with conventional cytology as the primary cervical cancer screening test. *J. Natl. Cancer Inst.* **100**, 492.
5. Sankaranarayanan, R. et al (2009) HPV Screening for Cervical Cancer in Rural India. *N. Engl. J. Med.* **360**, 1385-1394
6. Lorincz, A.T. and Smith, J.S. (2006) Sexually transmissible viral pathogens: human papillomaviruses and herpes simplex viruses. In: Lorincz, A.T., ed. *Nucleic Acid Testing for Human Disease*. Boca Raton: Taylor & Francis Group/CRC Press, p 243.
7. Morris, B.J. (2005) Cervical human papillomavirus screening by PCR: advantages of targeting the E6/E7 region. *Clin. Chem. Lab. Med.* **43**, 1171.
8. Wright, T.C. Jr. and Schiffman, M. (2003) Adding a test for human papillomavirus DNA to cervical-cancer screening. *N. Engl. J. Med.* **348**, 489.



tecnolab
s.a.

oficinas centrales
av. alvarez thomas 198
2º piso j . c1427cco
capital federal . argentina
tel. 54 11 4555 0010
fax 54 11 4553 3331
info@tecnolab.com.ar
www.tecnolab.com.ar

depósito
charlone 144 . c1427bxd
capital federal . argentina
tel. 54 11 4553 1293

service
estomba 966 . c1427cov
capital federal . argentina
tel. 54 11 4554 3773

ISO 9001



Representante de QIAGEN para Argentina

tecnolab
s.a.

