

# SECCIÓN 7: ASPECTOS OPERACIONALES DEL LABORATORIO

## MENSAJES CLAVES

- La mayoría de las pruebas de VPH disponibles requieren de un laboratorio centralizado para procesar las muestras.
- Es importante integrar los procedimientos para procesar las pruebas de VPH con un laboratorio de patología.

## ASPECTOS OPERACIONALES DEL LABORATORIO

La integración de la prueba de VPH en el laboratorio de patología permite sumar esta al arsenal diagnóstico que poseen estos laboratorios, potenciando así la capacidad de información inmediata, y la posibilidad de una rápida revisión de casos-problema, como pueden ser el control de la correlación entre los diferentes parámetros de estudio de VPH y los estudios citológicos y de biopsias.

El estudio de VPH delimita 2 poblaciones:

- a) aquellas mujeres negativas para los tipos de VPH-AR en las que, dado el elevado valor predictivo negativo de la prueba, se puede permitir espaciar en el tiempo la repetición de sus estudios;
- b) un segundo grupo, en el cual se han detectado señales de tipos de VPH-AR, para el cual deben interactuar las diferentes unidades de un servicio o departamento de patología con los servicios de ginecología y patología cervical.

La comunicación y discusión de casos se facilita con una relación cercana entre las diferentes unidades y sectores de un laboratorio de patología. Así, en caso de no existir correlación o puntos de discrepancia, puede realizarse inmediatamente la revisión de los preparados citológicos e histopatológicos e inclusive la repetición de la prueba de VPH hasta lograr la correlación deseada para definir un caso dado, pudiendo variar o mantenerse los informes de las diferentes unidades.

Es esencial contar con un software que centralice la información de las mujeres: la prueba de VPH, los estudios citológicos (si aplica) e histopatológicos, así como también los de colposcopia y las terapias realizadas. De esta manera, puede detectarse, de manera fácil y rápida, si existe discrepancia en la correlación cito-histológica y dar lugar a una revisión que solucione puntos de discordancia.

La prueba de VPH no debe ser vista como un competidor de la citología o de la histopatología, sino como una parte más del arsenal diagnóstico de un laboratorio de patología y como una herramienta que potencia las posibilidades de los estudios de citología y patología, actuando, además, de control de calidad y moderador entre ambos.

## Acerca del espacio físico necesario y sus características

Es necesaria una sala luminosa, ya que debe trabajarse con precisión en micro-placa y utilizando pipetas de 1 a 8 canales. La sala debe ser estanca, es decir, no debe correr aire, ni polvo o sustancias que puedan contaminar los resultados. La temperatura debe ser constante mientras se trabaja, del orden de 20 a 22 °C, por lo cual la sala debe estar dotada de un equipo acondicionador de aire.

La sala debe tener encimeras de un ancho de unos 70 cm. y una longitud que permita la instalación de los diferentes componentes de la prueba de VPH. Dado que, el proceso de homogenización produce vibración en la encimera, es conveniente la separación de las mismas: una para los diversos componentes del equipo, otra para el sector de baño de agua caliente, preferentemente cercano a un grifo de agua corriente y a un lavadero, y una encimera para contener el luminómetro y el equipo informático.

Una isla central es de suma utilidad como sector para realizar las tareas de preparación de muestras, el traslado de reactivos a las pipetas y otras operaciones, antes de llevar las muestras a los componentes del equipo.

Las muestras pueden almacenarse 2 semanas a temperatura ambiente, 1 semana adicional en el laboratorio a temperaturas de 2-8 °C y hasta 3 meses a -20 °C. Debe disponerse entonces de un espacio para frigoríficos donde se almacenen los equipos utilizados para el estudio de muestras cervicales, siendo necesario que los frigoríficos mantengan la temperatura entre 2-8 °C. También debe disponerse de congeladores para mantener las muestras en estudio y como depósito temporal de las muestras ya estudiadas, que deben quedar a -20 °C. Dado que los frigoríficos, por efecto del calor emanado de sus motores, aumentan la temperatura de la habitación donde se encuentran en funcionamiento, es conveniente que estén ubicados en un lugar físico separado de la habitación donde se realiza la prueba de VPH, ya que esta debe estar a una temperatura constante.

El personal que trabaja en la sala de estudios de VPH debe observar estrictas normas de higiene y trabajar siempre y en cada paso con guantes sin talco pues este puede contaminar las muestras. No se debe fumar, ni permitir bebidas o comidas en el área de trabajo. No debe permitirse la presencia de personal ajeno a este tipo de trabajo.

## Consideraciones para el método y precauciones

### a) Consideraciones para el método:

- La prueba de VPH está diseñada para detectar las cepas de alto riesgo de VPH.
- Un resultado negativo no excluye totalmente la ausencia de virus de VPH pues hay limitaciones producidas por errores de muestreo o por niveles muy bajos de infección.
- El cepillo no debe utilizarse en mujeres embarazadas.
- Con elevadas concentraciones de cremas antimicóticas, gel anticonceptivo, o productos para higiene vaginal en el momento de la toma, existe la posibilidad de un falso negativo en muestras cuyos niveles de virus estén cercano al valor de corte.
- Puede existir reacción cruzada con el plasmidio pBR322, que podría dar lugar a falsos positivos, ya que este presenta algunas secuencias análogas, especialmente si hay altas concentraciones de este plasmidio bacteriano.

### b) Precauciones:

- No debe realizarse pipeteado bucal.
- No fumar, comer o beber en la zona donde se trabaja con reactivos.
- Deben utilizarse guantes de látex (SIN TALCO) en todas las fases del procedimiento.
- Los derrames deben limpiarse con desinfectantes para tuberculosis, como hipoclorito de sodio.
- No utilizar reactivos fuera de la fecha de vencimiento.
- Realizar el estudio fuera de los rangos de tiempo y temperatura especificados puede dar lugar a resultados inválidos.
- Los procedimientos de los controles de calidad, calibración de pruebas y criterios de verificación y la interpretación de los resultados de las muestras deben ser atentamente observados.
- Es importante el pipeteo exacto de los volúmenes de reactivos estipulados en las indicaciones del fabricante y la perfecta mezcla de los diferentes reactivos.
- El pipeteo de los agentes de detección 1 y 2 debe realizarse utilizando pipetas multicanal (8 canales) usando la técnica de pipeteo reversa.
- Los ácidos nucleicos son muy sensibles a la degradación por nucleasas del entorno, y existiendo nucleasas en la piel humana, deben cubrirse las superficies, evitar el polvo y utilizar guantes sin talco.
- El paso de desnaturalización debe realizarse inmediatamente luego de realizar la apertura del equipo. No observar esta precaución puede producir falsos resultados negativos.
- Las fases de homogenización realizadas inadecuadamente, la inversión de tubos o su inadecuada agitación pueden resultar en falsos positivos, debiendo ajustarse la técnica a lo especificado por el fabricante y realizarse meticulosa y sistemáticamente .
- El agente de detección 2 debe ser cuidadosamente protegido de la luz solar.
- Debe evitarse la contaminación de la micro-placa con bacterias, saliva, cabello o grasa de la piel.
- Las muestras pueden mantenerse un máximo de 2 semanas a temperatura ambiente.
- Las muestras deben enviarse al laboratorio sin refrigerar.
- Los tubos deben enviarse bien cerrados, en posición vertical, con los datos de la mujer rotulados, incluyendo nombre y apellido, número de identificación personal y procedencia.

- Si se va a realizar colposcopia, la muestra para estudio de VPH debe tomarse antes de la aplicación de ácido acético o yodo.
- Los falsos positivos pueden producirse por un inadecuado pipeteo si las alícuotas no son debidamente transportadas, y también en el proceso de hibridación, donde la pipeta no debe tocar los bordes del tubo ni el contenido de la sonda.
- Es necesario contar con personal con conocimientos técnicos refinados, con conocimiento de inglés y manejo de software.
- No debe permitirse la entrada a la sala a personal no autorizado o personal no validado por la empresa, ni mucho menos permitir la participación en el proceso de personal no cualificado.