

Aptima Combo 2™ Assay

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Sólo para exportación fuera de EE.UU.

Información general	2
Uso previsto	2
Resumen y explicación de la prueba	2
Principios del procedimiento	4
Advertencias y precauciones	4
Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos	8
Recogida y almacenamiento de muestras	9
Interpretación de la prueba – Resultados de control de calidad y del paciente	40
Limitaciones	43
Valores esperados de los sistemas DTS	46
Sistemas DTS Rendimiento clínico	48
Características de rendimiento analítico de los sistemas DTS	71
Concordancia de las muestras clínicas del TIGRIS DTS System	76
Rendimiento analítico del Tigris DTS System	82
Rendimiento analítico del Panther System	86
Bibliografía	91

Sistemas DTS™

Sistemas DTS	11
Reactivos y materiales suministrados	11
Material necesario que debe adquirirse por separado	13
Materiales opcionales	14
Procedimiento de prueba de los sistemas DTS	14
Notas sobre el procedimiento	20

Tigris™ DTS™

Tigris DTS System	25
Reactivos y materiales suministrados	25
Material necesario que debe adquirirse por separado	26
Materiales opcionales	27
Procedimiento de prueba del Tigris DTS System	27
Notas de procedimiento	31

Panther™

Panther System	32
Reactivos y materiales suministrados	32
Material necesario que debe adquirirse por separado	33
Materiales opcionales	34
Procedimiento de la prueba del Panther System	35
Notas de procedimiento	38

Información general

Uso previsto

El Aptima Combo 2™ Assay (ensayo Aptima Combo 2) es una prueba de amplificación de ácido nucleico que utiliza captura de dianas para la detección y diferenciación cualitativa *in vitro* de RNA ribosómico (ribosomal RNA, rRNA) de *Chlamydia trachomatis* (CT) y/o *Neisseria gonorrhoeae* (GC) para facilitar el diagnóstico de la enfermedad clamidial y/o gonocócica utilizando el Tigris™ DTS™ System o el Panther™ System, según se especifique. El ensayo puede utilizarse para el análisis de las siguientes muestras en pacientes sintomáticos y asintomáticos: muestras endocervicales, vaginales, uretrales masculinas, y muestras de hisopado rectal y faríngeas masculinas y femeninas obtenidas por el médico; muestras de hisopado vaginal y muestras¹ rectales y faríngeas masculinas y femeninas recogidas por los pacientes; y muestras de orina femenina y masculina. El ensayo también está diseñado para el análisis de muestras ginecológicas, tanto de pacientes sintomáticos como asintomáticos. Estas muestras cervicouterinas obtenidas en viales de solución PreservCyt™ pueden analizarse antes o después de un diagnóstico PAP. El análisis de las muestras procesadas después del PAP está limitado a las muestras procesadas únicamente con el ThinPrep™ 2000 System y el ThinPrep™ 5000 System.

El Aptima Combo 2 Assay es una prueba de sonda de ácido nucleico de amplificación seleccionada que utiliza captura de dianas para la detección y diferenciación cualitativas *in vitro* de RNA ribosómico (ribosomal RNA, rRNA) de *Chlamydia trachomatis* (CT) y/o *Neisseria gonorrhoeae* (GC) para facilitar el diagnóstico de la enfermedad urogenital clamidial y/o gonocócica utilizando el DTS System o el Panther System o utilizando la instrumentación semiautomatizada de los sistemas DTS, según se especifique. El ensayo puede utilizarse para analizar las siguientes muestras de individuos sintomáticos: muestras de hisopado endocervical, de hisopado vaginal y de hisopado uretral masculinas recogidas por el médico, y muestras de orina masculinas y femeninas. El ensayo puede utilizarse para analizar las siguientes muestras de individuos asintomáticos: muestras de hisopado endocervical, de hisopado vaginal y de hisopado uretral masculinas recogidas por el médico; muestras¹ de hisopado vaginal recogidas por la paciente y muestras de orina masculinas y femeninas. El ensayo también está diseñado para el análisis de muestras ginecológicas, tanto de pacientes sintomáticos como asintomáticos. La muestra cervicouterina obtenida en viales de solución PreservCyt puede analizarse antes o después de un diagnóstico PAP. El análisis de las muestras procesadas después del PAP está limitado a las muestras procesadas únicamente con el ThinPrep 2000 System y el ThinPrep 5000 System.

¹ Las muestras de hisopado vaginal recogidas por la paciente son una opción para el cribado de mujeres cuando el examen pélvico no está indicado. El kit de recolección de muestras de hisopado multitest Aptima no ha sido evaluado para uso doméstico.

Resumen y explicación de la prueba

Las infecciones por *Chlamydia trachomatis* (CT) y *Neisseria gonorrhoeae* (GC) son dos de las infecciones de transmisión sexual más comunes en todo el mundo. Solamente en los Estados Unidos, se comunicaron 1 526 658 nuevos casos de infecciones por CT (479 casos por 100 000 habitantes) y 395 216 nuevos casos de infecciones por GC (124 casos por 100 000 habitantes) al Centro para el Control de las Enfermedades (Centers for Disease Control, CDC) durante 2015 (9).

Chlamydiae es una bacteria intracelular estricta, inmóvil y gram-negativa. Las especies CT están compuestas de quince serotipos (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 y L3) que pueden provocar enfermedades en humanos (50). Los serotipos del D al K son la causa principal de infecciones clamidiales genitales en hombres y mujeres (38). *C. trachomatis*

puede provocar uretritis no gonocócica, epididimitis, proctitis, cervicitis, salpingitis aguda y enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) (7, 23, 40, 41). Las infecciones por *C. trachomatis* suelen ser asintomáticas tanto en hombres como en mujeres. Los niños nacidos de madres infectadas tienen un riesgo considerablemente mayor de padecer conjuntivitis de inclusión y neumonía clamidial (1, 17, 39).

Históricamente, se han utilizado varios métodos para la detección de CT en los laboratorios clínicos, incluido el cultivo celular, la prueba de inmunofluorescencia directa y el inmunoensayo enzimático. Metodologías más recientes de detección de CT incluyen ensayos de hibridación directa de sonda DNA y ensayos de amplificación de ácido nucleico (nucleic acid amplification test, NAAT). El cultivo celular se consideró en su día el «patrón de referencia» para la detección de CT. Los cultivos son muy específicos, pero publicaciones científicas han demostrado que las tecnologías NAAT tienen una sensibilidad clínica más alta que los cultivos (6, 14, 25, 44). Debido a su menor sensibilidad clínica y al rendimiento variable entre los distintos laboratorios, muchos laboratorios han sustituido el cultivo por sondas de DNA directas y NAAT.

N. gonorrhoeae es el agente causante de la gonorrea. *N. gonorrhoeae* son diplococos gram-negativos inmóviles. La mayoría de las infecciones gonocócicas son infecciones del tracto genital inferior sin complicaciones y pueden ser asintomáticas. Sin embargo, si no son tratadas, las infecciones pueden ascender y provocar EIP en el caso de las mujeres. La enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) se puede manifestar como endometritis, salpingitis, peritonitis pélvica y abscesos tubo-ováricos. En los hombres, la gonorrea puede complicarse por la aparición de epididimitis. En casos poco frecuentes, puede dar como resultado infertilidad (5). Un porcentaje más pequeño de personas con infecciones gonocócicas podrían desarrollar infección gonocócica diseminada (IGD) (22, 29).

El diagnóstico convencional de infección por GC requiere aislar el organismo en un medio selectivo o la observación de los diplococos en frotis con tinción de Gram (24). Los métodos de cultivo pueden tener una buena sensibilidad clínica, pero dependen en gran medida de la correcta manipulación de las muestras. Un almacenamiento y transporte incorrectos de la muestra puede provocar la pérdida de la viabilidad del organismo y producir resultados falsos negativos. Además, una técnica de obtención de muestras deficiente, materiales tóxicos de recogida de muestras y la inhibición del crecimiento por componentes de las secreciones corporales pueden provocar también resultados falsos negativos (11, 26). Los métodos no de cultivo utilizados en la detección de GC incluyen pruebas de sonda de DNA directas y NAAT.

La primera generación de NAAT para CT y GC tiene problemas tecnológicos que han limitado su rendimiento. Estos problemas incluyen el laborioso procesamiento de las muestras y la inhibición de la muestra, lo que puede provocar resultados falsos negativos (10, 15, 20, 27, 37, 45, 48, 49). El Aptima Combo 2 Assay es una NAAT de segunda generación que utiliza las tecnologías de captura de dianas, amplificación mediada por transcripción (Transcription-Mediated Amplification, TMA™) y el ensayo de doble cinética (Dual Kinetic Assay, DKA) para simplificar el procesamiento de las muestras, amplificar el rRNA seleccionado y detectar el amplicón, respectivamente. Ciertos estudios de comparación del rendimiento y la inhibición de muestras en distintos sistemas de amplificación han demostrado las ventajas de las tecnologías de captura de dianas, TMA y DKA (12, 18). El Aptima Combo 2 Assay detecta cualitativamente rRNA de CT y/o GC en muestras de hisopado endocervical, de hisopado vaginal y de hisopado uretral masculino recogidas por el médico, muestras de hisopado vaginal recogidas por la paciente, muestras de Pap en solución PreservCyt y muestras de orina masculina y femenina de individuos sintomáticos y asintomáticos.

Principios del procedimiento

El Aptima Combo 2 Assay combina las tecnologías de captura de dianas, TMA y DKA. Las muestras se recogen y transfieren a sus respectivos tubos de transporte. Las soluciones de transporte en estos tubos liberan los rRNA diana y los protegen contra la degradación durante el almacenamiento. Cuando el Aptima Combo 2 Assay se realiza en el laboratorio, las moléculas de rRNA diana se aíslan de muestras mediante el uso de oligómeros de captura a través de un proceso de captura de dianas que utiliza micropartículas magnéticas. Los oligómeros de captura contienen secuencias complementarias a regiones específicas de las moléculas dianas, así como una cadena de residuos de deoxiadenosina. Se utiliza un oligómero de captura distinto para cada diana. Durante el paso de hibridación, las regiones específicas de la secuencia de los oligómeros de captura se unen a regiones específicas de las moléculas seleccionadas. El complejo oligómero de captura:diana se captura y se extrae posteriormente de la solución reduciendo la temperatura de la reacción hasta alcanzar la temperatura ambiente. Esta reducción de temperatura permite que se produzca la hibridación entre la región de la deoxiadenosina del oligómero de captura y las moléculas de polideoxitimidina que están unidas covalentemente a las partículas magnéticas. Las micropartículas, incluidas las moléculas diana capturadas unidas a ellas, se desplazan al lado del tubo de reacción utilizando imanes y se aspira el sobrenadante. Las partículas se lavan para eliminar la matriz de muestras residual que puede contener inhibidores de la reacción de amplificación. Una vez finalizados los pasos de captura de dianas, las muestras están listas para la amplificación.

Los ensayos de amplificación seleccionada se basan en la capacidad de los cebadores de oligonucleótidos complementarios para hibridar de forma específica y permitir la amplificación enzimática de las cadenas de ácido nucleico seleccionadas. El Aptima Combo 2 Assay replica una región específica de 23S rRNA de CT y una región específica de 16S rRNA de GC mediante intermediarios de DNA. Se utiliza un solo juego de cebadores para cada molécula diana. La detección de las secuencias de producto de amplificación de rRNA (amplicón) se logra mediante la hibridación del ácido nucleico. Las sondas de DNA quimioluminiscentes monocatenarias, complementarias a una región de cada amplicón seleccionado, están marcadas con diferentes moléculas de éster de acridinio. Las sondas de DNA marcadas se combinan con el amplicón para formar híbridos RNA:DNA estables. El reactivo de selección diferencia la sonda hibridada de la no hibridada, eliminando la generación de señal de la sonda no hibridada. Durante el paso de detección, la luz emitida por los híbridos RNA:DNA marcados se mide como señales de fotones en un luminómetro, y se notifican como unidades relativas de luz (Relative Light Units, RLU). En el DKA, las diferencias en los perfiles cinéticos de las sondas marcadas con CT y GC permiten la diferenciación de señal; los perfiles cinéticos se derivan de la medición de los fotones emitidos durante el período de detección. La reacción de detección quimioluminiscente para la señal CT tiene una cinética muy rápida y el tipo cinético «flasher». La reacción de detección quimioluminiscente para la señal GC es relativamente más lenta y tiene el tipo cinético «glower». Los resultados del ensayo se determinan mediante un valor de corte basado en las RLU totales y en el tipo de curva cinética.

Advertencias y precauciones

- A. Para uso diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profesional.
- C. Para advertencias, precauciones y procedimientos adicionales específicos para el control de la contaminación del TIGRIS DTS System, consulte el *Tigris DTS System Operator's Manual* (Manual del usuario del TIGRIS DTS System).

- D. Para advertencias, precauciones y procedimientos adicionales específicos para el control de la contaminación del Panther System, consulte el *Panther System Operator's Manual* (Manual del usuario del Panther System).

Información para los laboratorios

- E. El ensayo no se evaluó en poblaciones de pacientes con una prevalencia baja de enfermedad de CT; por consiguiente, el rendimiento en casos de prevalencia baja no se ha determinado.
- F. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.
- G. Tome las precauciones habituales del laboratorio. No coma, beba ni fume en las áreas de trabajo designadas. Utilice guantes desechables sin polvo, protección para los ojos y batas de laboratorio al manipular las muestras y los reactivos del kit. Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit.
- H. **Advertencia: Productos irritantes y corrosivos:** Evite el contacto de Auto Detect 1 y Auto Detect 2 con la piel, los ojos y las mucosas. Si estos fluidos entran en contacto con la piel o los ojos, lávelos con agua. En el caso de derrames de estos fluidos, diluya con agua antes de secar con un paño.
- I. Las superficies de trabajo, pipetas y otros equipos se deben descontaminar regularmente con solución de hipoclorito de sodio del 2,5 % al 3,5 % (0,35 M a 0,5 M).

Información de los sistemas DTS

- J. Para reducir al mínimo la contaminación por amplicones en el ensayo, se recomienda encarecidamente utilizar un área aparte para el DKA. Este área dedicada debe estar separada de las áreas de preparación de reactivos, captura de dianas génicas y amplificación.
- K. Para evitar que las áreas del laboratorio se contaminen con amplicones, dichas áreas deben organizarse con un flujo de trabajo unidireccional: de la preparación del reactivo al DKA. Las muestras, equipos y reactivos no deben devolverse al área donde se realizó un paso anterior. Además, el personal no debe volver a las áreas de trabajo anteriores sin tomar las medidas de precaución adecuadas contra la contaminación.

Información sobre las muestras

- L. Este ensayo se ha analizado utilizando sólo muestras de hisopado endocervical y de hisopado uretral masculino, muestras de Pap en solución PreservCyt, muestras de hisopado vaginal y muestras de orina masculina y femenina. No se ha evaluado el rendimiento con muestras distintas a las especificadas en *Recogida y almacenamiento de muestras*.

Los laboratorios pueden validar otros dispositivos de recogida (30, 33).

Las muestras ginecológicas obtenidas para su preparación usando el ThinPrep 2000 System o el ThinPrep 5000 System deben recogerse con dispositivos de recogida de tipo escobilla o combinación de espátula de plástico/cepillo endocervical.

- M. Las fechas de caducidad que figuran en los kits de recogida son válidas para el centro de recogida y no para el laboratorio de análisis. Las muestras recogidas en cualquier momento antes de la fecha de caducidad del kit de recogida y transportadas y

almacenadas de acuerdo con el prospecto son válidas para el análisis aun cuando haya pasado la fecha de caducidad en el tubo de recogida.

- N. La solución PreservCyt se ha validado como medio alternativo para las pruebas con el Aptima Combo 2 Assay. Las muestras de Pap en solución PreservCyt procesadas con el procesador ThinPrep 3000 u otros instrumentos no se han evaluado en pruebas de detección de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* usando el Aptima Combo 2 Assay.
- O. Después de añadir la orina, el nivel de líquido en el tubo de transporte de orina debe estar entre las dos líneas indicadoras negras de la etiqueta del tubo. De lo contrario, la muestra debe rechazarse.
- P. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de muestras para garantizar la integridad de las mismas. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío distintas a las recomendadas.
- Q. Las muestras pueden ser infecciosas. Adopte las precauciones universales al realizar este ensayo. El director del laboratorio debe establecer métodos de manipulación y eliminación adecuados. Sólo se debería permitir realizar este procedimiento de diagnóstico a personal con la formación debida para manipular materiales infecciosos.
- R. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de las muestras. Las muestras pueden contener concentraciones extremadamente altas de organismos. Asegúrese de que los recipientes de muestras no entren en contacto unos con otros y deseche los materiales usados sin pasarlos por encima de los recipientes abiertos. Cambie los guantes si entran en contacto con la muestra.
- S. Si el laboratorio recibe un tubo de transporte de muestras en hisopo sin ningún hisopo dos hisopos, un hisopo de limpieza o un hisopo no suministrado por Hologic, la muestra debe rechazarse. Antes de rechazar un tubo de transporte de hisopo que no contenga ningún hisopo, compruebe que no se trata de un tubo de transferencia de muestras Aptima™, ya que este tubo de transporte de muestras no contendrá ningún hisopo.
- T. Para muestras de Pap en solución PreservCyt, recoja la muestra de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las alícuotas posteriormente eliminadas del vial PreservCyt para su análisis con el Aptima Combo 2 Assay deben procesarse utilizando sólo el kit de transferencia de muestras Aptima.
- U. Una vez realizada la perforación, el líquido puede salirse de los tapones de los tubos de transporte Aptima bajo determinadas condiciones. Siga las instrucciones en el *Procedimiento de prueba* adecuado para prevenir este caso.

Información sobre los ensayos

- V. No se ha evaluado el rendimiento del Aptima Combo 2 assay en adolescentes de menos de 14 años de edad.
- W. No utilice este kit después de su fecha de caducidad.
- X. **No intercambie, mezcle ni combine reactivos de ensayo** de kits con números de lotes diferentes. Los controles y fluidos del ensayo de Aptima pueden ser de diferentes números de lote.

Información de los sistemas DTS

- Y. Se deben utilizar puntas con tapones hidrofóbicos. Se necesita un mínimo de dos pipetas de repetición para su uso de forma dedicada con este ensayo: una para uso en los pasos de captura de dianas y amplificación, y otra para uso en los pasos del DKA. Se deben dedicar dos micropipeteadores para su uso de forma dedicada con este ensayo: uno para la transferencia de muestras y el otro para la preparación de reactivos. Todos los pipeteadores deben limpiarse regularmente, tal y como se describe en el *Procedimiento de prueba de los sistemas DTS, Notas sobre el procedimiento*.
- Z. Cuando se usen pipetas de repetición para la adición de reactivos, no toque el tubo con la punta de pipeta para impedir el arrastre de un tubo a otro.
- AA. Es necesaria una mezcla adecuada para lograr resultados exactos en el ensayo. Para obtener detalles completos, consulte *Procedimiento de prueba de los sistemas DTS, Notas sobre el procedimiento*.
- AB. Se deben dedicar baños de agua independientes para los pasos de captura de dianas, amplificación y DKA del ensayo.
- AC. Las tarjetas de sellado se deben desechar en el contenedor de desechos inmediatamente después de retirarlas de los tubos de reacción. Se deben utilizar siempre tarjetas de sellado nuevas: no deben reutilizarse nunca las utilizadas anteriormente. Las tarjetas de sellado se deben fijar firmemente a la parte superior de todos los tubos de reacción.

	Aptima Oil Reagent <i>Polydimethylsiloxane 100%</i>
	Atención H315 - Provoca irritación cutánea H319 - Provoca irritación ocular grave
	Selection Reagent Boric Acid 1-5% Sodium Hydroxide <1%
	Atención H315 - Provoca irritación cutánea H319 - Provoca irritación ocular grave
	Target Capture Reagent <i>EDTA 1-5%</i> H411 - Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos P273 - Evitar su liberación al medio ambiente P280 - Llevar gafas/máscara de protección

Nota: La documentación de peligros refleja las clasificaciones de las fichas de datos de seguridad (SDS) de la UE. Para la información de peligros específica para su país, consulte la SDS específicas del país en la Biblioteca de fichas de datos de seguridad en www.hologicds.com.

Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos

- A. Los siguientes reactivos permanecen estables cuando se almacenan a una temperatura entre 2 °C y 8 °C (refrigerados):
- Reactivo de amplificación Aptima Combo 2
 - Reactivo enzimático Aptima Combo 2
 - Reactivo de sonda Aptima Combo 2
 - Reactivo de captura de dianas B Aptima Combo 2
 - Control positivo, CT / Control negativo, GC APTIMA
 - Control positivo, GC / Control negativo, CT APTIMA
- B. Los siguientes reactivos permanecen estables cuando se almacenan a una temperatura entre 2 °C y 30 °C:
- Solución de reconstitución de amplificación Aptima Combo 2
 - Solución de reconstitución de reactivo enzimático Aptima Combo 2
 - Solución de reconstitución de reactivo de sonda Aptima Combo 2
 - Reactivo de selección Aptima Combo 2
- C. Los siguientes reactivos permanecen estables cuando se almacenan a una temperatura entre 15 °C y 30 °C (temperatura ambiente):
- Reactivo de captura
 - Solución de lavado Aptima
 - Tampón para fluido de desactivación Aptima
 - Reactivo de aceite Aptima
- D. El reactivo de captura de dianas de trabajo CT (wTCR) se mantiene estable durante 30 días cuando se almacena a una temperatura entre 15 °C y 30 °C. No refrigerar.
- E. Después de la reconstitución, el reactivo enzimático, el reactivo de amplificación y el reactivo de sonda permanecen estables durante 30 días cuando se almacenan a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.
- F. Deseche los reactivos reconstituidos y el wTCR sin usar después de 30 días o una vez pasada la fecha de caducidad del lote maestro, lo que suceda primero.
- G. Los controles son estables hasta la fecha indicada en los viales.
- H. Los reactivos almacenados en el Tigris DTS System tienen 48 horas de estabilidad una vez cargados.
- I. Los reactivos almacenados en el Panther System tienen 72 horas de estabilidad una vez cargados.
- J. Tanto el reactivo de sonda como el reactivo de sonda reconstituido son fotosensibles. Almacene los reactivos al abrigo de la luz. La estabilidad reconstituida especificada se basa en una exposición de 12 horas del reactivo de sonda reconstituido a dos bombillas fluorescentes de 60 W, a una distancia de 43 cm (17 pulgadas) y a una temperatura inferior a 30 °C. La exposición a la luz del reactivo de sonda reconstituido debe limitarse correspondientemente.

K. Una vez calentados a temperatura ambiente, algunos tubos de controles pueden aparecer turbios o contener precipitados. La turbiedad o la precipitación asociadas a los controles no afectan al rendimiento del control. Los controles se pueden utilizar estén claros o turbios/precipitados. Si se desean controles claros, se puede acelerar la solubilización incubándolos en el extremo superior del rango de temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C).

L. **No congele los reactivos.**

Recogida y almacenamiento de muestras

El Aptima Combo 2 Assay está diseñado para detectar la presencia de CT y GC en las siguientes muestras: muestras de hisopado endocervical y de hisopado uretral masculinas, muestras de hisopado vaginal, muestras de Pap en solución PreservCyt, y muestras de orina masculinas y femeninas. No se ha evaluado el rendimiento con muestras distintas a las recogidas con los siguientes kits de recogida de muestras:

- Kit de recolección de muestras de hisopado unisex Aptima para muestras de hisopado endocervical y muestras de hisopado uretral masculino
- Kit de recolección de orina Aptima para muestras de orina masculinas y femeninas
- Kit de recolección de muestras de hisopado multitest Aptima
- Kit de transporte de muestras Aptima (para utilizar con muestras ginecológicas recolectadas en solución PreservCyt)

A. Instrucciones de recogida:

Consulte el prospecto del kit de recogida de muestras pertinente para las instrucciones de recogida.

B. Transporte y almacenamiento de muestras antes de la prueba:

1. Muestras de hisopado:

- a. Una vez recogida la muestra, el hisopo se debe transportar y almacenar en el tubo de transporte de muestras de hisopado a una temperatura entre 2 °C y 30 °C hasta que se analice. Las muestras deben analizarse con el Aptima Combo 2 Assay en los 60 días siguientes a su recogida. Si es necesario almacenar las muestras durante más tiempo, congele entre -20 °C y -70 °C hasta 12 meses después de la recogida (consulte *Estudios de la estabilidad de las muestras*).

2. Muestras de orina:

- a. Las muestras de orina que todavía están en el recipiente de recolección principal deben llevarse al laboratorio a una temperatura entre 2 °C y 30 °C. Transfiera la muestra de orina en el tubo de transporte de muestras Aptima en las 24 horas siguientes a su recogida. Almacene entre 2 °C y 30 °C, y analice en los 30 días siguientes a su recogida.
- b. Una vez recogidas, las muestras de orina procesada se deben transportar en el tubo de transporte de muestras de orina Aptima a una temperatura entre 2 °C y 30 °C y almacenar entre 2 °C y 30 °C hasta que se analicen. Las muestras de orina procesada se deben analizar con el Aptima Combo 2 Assay a los 30 días siguientes a su recogida. Si fuera necesario ampliar el tiempo de almacenamiento, se pueden congelar a una temperatura entre -20 °C y -70 °C durante un período de hasta 12 meses después de la recogida (consulte *Estudios de la estabilidad de las muestras*).

3. Muestras de Pap en solución PreservCyt

- a. Las muestras de Pap en solución PreservCyt destinados al análisis de CT y/o GC deben ser procesadas para citología o transferirse a un tubo de transferencia de muestras Aptima en un período de 30 días desde la recogida cuando se almacenan entre 2 °C y 30 °C (consulte *Estudios de la estabilidad de las muestras*).
 - b. Si se va a usar el procedimiento de eliminación de alícuotas ThinPrep, consulte el *ThinPrep 2000, ThinPrep 3000, o ThinPrep 5000 Processor Operator's Manual—Addendum* (Manual del usuario del procesador ThinPrep 2000, ThinPrep 3000 o ThinPrep 5000—Apéndice) para obtener instrucciones sobre la eliminación de alícuotas. Transfiera 1 ml de la alícuota extraída al tubo de transferencia de muestras Aptima de acuerdo con las instrucciones del prospecto del kit de transferencia de muestras Aptima.
 - c. Si se analiza la muestra después de su procesamiento con el procesador ThinPrep 2000, procese la muestra de Pap en solución PreservCyt en conformidad con el *ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual* (Manual del usuario del procesador ThinPrep 2000) y el prospecto del kit de transferencia de muestras Aptima. Si se analiza la muestra después de su procesamiento con el procesador ThinPrep 5000, procese la muestra de Pap en solución PreservCyt en conformidad con el *ThinPrep 5000 Processor Operator's Manual* y el prospecto del kit de transferencia de muestras Aptima. Transfiera 1 ml del fluido restante en el vial de solución PreservCyt a un tubo de transferencia de muestras Aptima de acuerdo con las instrucciones del prospecto del kit de transferencia de muestras Aptima.
 - d. Una vez transferida la muestra de Pap en solución PreservCyt al tubo de transferencia de muestras Aptima, la muestra debe analizarse con el Aptima Combo 2 Assay antes de 30 días si se ha almacenado a una temperatura entre 2 °C y 8 °C o antes de 14 días si se ha almacenado entre 15 °C y 30 °C. Si fuera necesario ampliar el tiempo de almacenamiento, se pueden congelar a una temperatura entre -20 °C y -70 °C durante un período de hasta 12 meses después de la transferencia (consulte *Estudios de la estabilidad de las muestras*).
- C. Almacenamiento de muestras después de la prueba:
1. Los tubos de las muestras analizadas deben almacenarse verticalmente en una gradilla.
 2. Los tubos de transporte de muestras deben cubrirse con una nueva barrera de aluminio o película de plástico limpias.
 3. Si es necesario congelar o enviar las muestras analizadas, sustituya los tapones perforables de los tubos de transporte de muestras por tapones nuevos no perforables. Si es necesario enviar las muestras para su análisis a otro laboratorio, se deben mantener las temperaturas recomendadas. Antes de destapar las muestras anteriormente analizadas y tapadas, se deben centrifugar los tubos de transporte de muestras durante 5 minutos a una fuerza centrífuga relativa (Relative Centrifugal Force, RCF) de 420 para llevar todo el líquido al fondo del tubo. **Evite salpicaduras y todo tipo de contaminación cruzada.**

Nota: Las muestras deben enviarse de acuerdo con la normativa de transporte nacional e internacional.

Sistemas DTS

Los reactivos del Aptima Combo 2 Assay para CT y GC se indican a continuación para los sistemas DTS. Los símbolos de identificación de los reactivos también se indican junto al nombre del reactivo.

Reactivos y materiales suministrados

Kit del Aptima Combo 2 Assay, 100 pruebas (2 cajas) (Nº de 301032)

Caja refrigerada Aptima Combo 2 (caja 1 de 2)
(conservar entre 2 °C y 8 °C al recibirlo)

Símbolo	Componente	Cantidad
A	Reactivo de amplificación Aptima Combo 2 <i>Ácidos nucleicos no infecciosos liofilizados en solución tampón que contiene < 5 % de agente de carga.</i>	1 vial
E	Reactivo enzimático Aptima Combo 2 <i>Transcriptasa inversa y RNA polimerasa liofilizadas en solución de tampón HEPES con un contenido de reactivo de carga < 10 %.</i>	1 vial
P	Reactivo de sonda Aptima Combo 2 <i>Sondas de DNA quimioluminiscentes no infecciosas liofilizadas en solución de tampón succinato con un contenido de detergente < 5 %.</i>	1 vial
TCR-B	Reactivo de captura de dianas B Aptima Combo 2 <i>Ácido nucleico no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5 %.</i>	1 x 0,35 ml
PCT/NGC	Control positivo, CT / Control negativo, GC Aptima <i>Ácido nucleico CT no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5 %. Cada muestra de 400 µL contiene el equivalente de rRNA estimado de 1 IFU CT (5 fg/ensayo*).</i>	3 x 1,7 ml
PGC/NCT	Control positivo, GC / Control negativo, CT Aptima <i>Ácido nucleico GC no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5 %. Cada muestra de 400 µL contiene el equivalente de rRNA estimado de 50 células GC (250 fg/ensayo*).</i>	3 x 1,7 ml

* Los equivalentes rRNA se calcularon en función del tamaño del genoma y de la relación DNA:RNA/célula estimada de cada organismo.

La caja refrigerada contiene también lo siguiente (bandeja de almacenamiento):
(conservar entre 2 °C y 30 °C al recibirlo)

Símbolo	Componente	Cantidad
AR	Solución de reconstitución de amplificación Aptima Combo 2 <i>Solución acuosa con conservantes.</i>	1 x 9,3 ml
ER	Solución de reconstitución de reactivo enzimático Aptima Combo 2 <i>Solución de tampón HEPES con un surfactante y glicerol.</i>	1 x 3,3 ml
PR	Solución de reconstitución de reactivo de sonda Aptima Combo 2 <i>Solución de tampón succinato con un contenido de detergente < 5 %.</i>	1 x 12,4 ml
S	Reactivo de selección Aptima Combo 2 <i>Solución de tampón borato 600 mM con surfactante.</i>	1 x 31 ml
	Collares de reconstitución	3
	Tarjetas de sellado	1 envase

Caja a temperatura ambiente Aptima Combo 2 (caja 2 de 2)
(conservar entre 15 °C y 30 °C al recibirlo)

Símbolo	Componente	Cantidad
TCR	Reactivo de captura de dianas Aptima Combo 2 <i>Solución de tampón salino con un contenido de oligómeros de captura y fase sólida.</i>	1 x 22 ml
W	Solución de lavado Aptima <i>10 mM de solución de tampón HEPES con un contenido de detergente < 2 %.</i>	1 x 402 ml
DF	Tampón para fluido de desactivación Aptima <i>Solución de tampón bicarbonato 800 mM.</i>	1 x 402 ml
O	Reactivo de aceite Aptima <i>Aceite de silicona</i>	1 x 24,6 ml

Material necesario que debe adquirirse por separado

Nota: A menos que se indique lo contrario, los materiales comercializados por Hologic aparecen en la lista con su referencia.

	<u>N.º de catálogo</u>
Luminómetro Leader™ HC+	104747-01
Sistema de captura de dianas (Target Capture System, TCS) de Hologic	104555
Incubadoras y mezcladores vórtex:	
2 mezcladores vórtex multitubo	102160G
3 baños de agua circulante (62 °C ± 1 °C, 42 °C ± 1 °C, 62 °C ± 1 °C)	104586
3 espaciadores de baño de agua	104627
O	
2 baños de calor seco/mezcladores vórtex SB100™	105524
<i>Puede que se requieran baños SB100 adicionales a medida que aumente el volumen de la prueba</i>	
Kit Auto Detect Aptima	301048
2 pipeteadores Eppendorf Repeater Plus	105725
2 pipeteadores, 1000 µL RAININ PR1000	901715
Pipeteador Eppendorf, 20 µL a 200 µL	105726
Puntas de pipeta de repetición, 2,5 ml	21-381-329
Puntas de pipeta de repetición, 5,0 ml	21-381-330
Puntas de pipeta de repetición, 25,0 ml	21-381-115
Puntas, estilo P1000	105049
<i>punta de diámetro especial distribuida solamente por Hologic</i>	
Puntas de pipeta de 20 µL a 200 µL	705512 (Fisher)
Unidades de diez tubos (Ten Tube Unit, TTU)	TU0022
Casetes de diez puntas (Ten Tip Cassette, TTC)	104578
Kit de recolección de muestras de hisopado unisex Aptima para muestras de hisopado endocervical y muestras de hisopado uretral masculino	301041
Kit de recogida de muestras de orina Aptima para muestras de orina masculinas y femeninas	301040
Tubos de transporte de muestras de orina Aptima para muestras de orina masculinas y femeninas	105575
Kit de recolección de muestras de hisopado multitest Aptima	PRD-03546
Kit de transferencia de muestras Aptima	301154C
Kit de transferencia de muestras Aptima — imprimible	PRD-05110
Patrón de calibración SysCheck	301078

	<u>N.º de catálogo</u>
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 % al 7 % (0,7 M a 1,0 M)	—
Recipientes estándar para recogida de orina, sin conservantes	—
Recipiente de plástico con tapón grande	—
Tapones perforables Aptima	105668
Tapones no perforables de repuesto	103036A

Materiales opcionales

	<u>N.º de catálogo</u>
Potenciador de lejía Hologic para limpieza <i>para la limpieza sistemática de las superficies y el equipo</i>	302101
Kit de controles Aptima	301110
Fluidos del Aptima Assay <i>(Solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima)</i>	302002C
Paneles de capacitación en ITS	102325
Puntas conductoras de 1.000 µL, detectoras de líquido	10612513 (Tecan)
TECAN Freedom EVO 100/4, que contiene	900932
<i>Placa de la plataforma Aptima Combo 2 para sistemas DTS 800</i>	105200
<i>Depósito de reactivo (cuarto de módulo de 40 ml)</i>	104765
<i>Depósito de reactivo (cuarto de módulo de 19 ml x 2)</i>	104763

Procedimiento de prueba de los sistemas DTS

A. Preparación del equipo

1. Prepare un baño de agua a $62\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ (para captura de dianas e hibridación del cebador), un segundo baño de agua a $42\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ (para amplificación) y un tercer baño de agua a $62\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ (para DKA). Si se usa el baño de calor seco/mezclador vórtex SB100, consulte la *Hoja de aplicación del baño de calor seco/mezclador vórtex SB100 (Hoja de aplicación SB100)*.
2. Antes de iniciar el ensayo, limpie las superficies de trabajo y los pipeteadores con solución de hipoclorito de sodio del 2,5 % al 3,5 % (0,35 M a 0,5 M). Deje que la solución de hipoclorito de sodio permanezca en contacto con las superficies y los pipeteadores por lo menos 1 minuto y luego enjuague con agua. No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa en la que se vaya a realizar la prueba con cubiertas absorbentes limpias con forro de plástico, para mesas de laboratorio.
3. Coloque un número suficiente de casetes de diez puntas en el sistema de captura de dianas (Target Capture System, TCS). Asegúrese de que la botella de lavado del TCS esté llena de solución de lavado Aptima y el colector de aspiración esté conectado a la bomba de vacío. (Consulte el *Target Capture System Operator's Manual [Manual del usuario del sistema de captura de dianas]*).

B. Reconstitución de reactivos

Nota: La reconstitución de reactivos debe realizarse antes de iniciar la transferencia de muestras.

1. Para reconstituir los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda, combine los frascos de reactivo liofilizado con la solución de reconstitución. Si están refrigeradas, deje que las soluciones de reconstitución alcancen la temperatura ambiente antes de usarlas.
 - a. Empareje la solución de reconstitución adecuada con el reactivo liofilizado. Las etiquetas están codificadas por color de forma que se puedan emparejar correctamente.
 - b. Abra el vial del reactivo liofilizado e inserte con firmeza el extremo ranurado del collar de reconstitución en la abertura del vial (Figura 1 paso 1).
 - c. Abra la botella de la solución de reconstitución correspondiente y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
 - d. Mientras sostiene el frasco con la solución de reconstitución sobre la mesa, inserte firmemente el otro extremo del collar de reconstitución en la abertura del frasco (Figura 1, paso 2).
 - e. Invierta lentamente el conjunto de frasco y vial. Deje que la solución pase del frasco al vial de vidrio (Figura 1, paso 3).
 - f. Agite con una rotación suave la solución en el vial. Evite que se forme espuma al agitar el frasco (Figura 1, paso 4).
 - g. Espere a que el reactivo liofilizado pase a la solución y luego invierta de nuevo el conjunto de frasco y vial, inclinándolo a un ángulo de 45° para reducir al mínimo la formación de espuma (Figura 1, paso 5). Deje que todo el líquido regrese al frasco.
 - h. Retire el collar de reconstitución del frasco (Figura 1, paso 6).
 - i. Vuelva a tapar el frasco. Registre las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución en la etiqueta (Figura 1, paso 7).
 - j. Deseche el collar de reconstitución y el vial de cristal (Figura 1, paso 8).

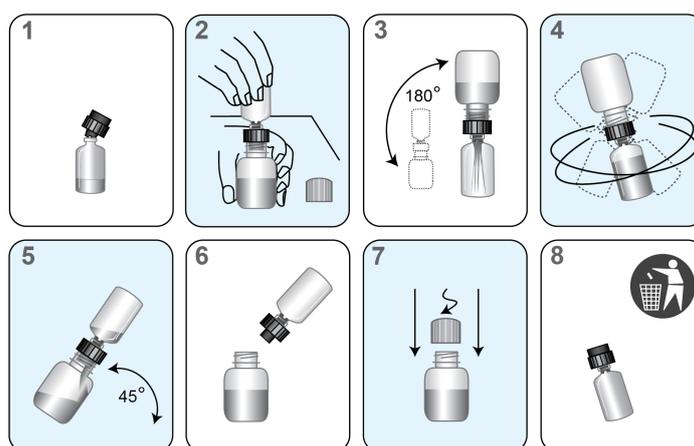


Figura 1. Proceso de reconstitución de los sistemas DTS

2. Los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda previamente reconstituidos deben alcanzar la temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) antes de que se inicie el ensayo. Si el reactivo de sonda contiene precipitado que no se disuelve a temperatura ambiente, caliéntelo a 62 °C durante 1 a 2 minutos. Después de este paso de calentamiento, el reactivo de sonda se puede utilizar aunque queden residuos del

precipitado. Después de la resuspensión, mezcle bien con un movimiento de inversión suave, con cuidado para que no se forme espuma.

Nota: Este paso de inversión se debe realizar cada vez que el precipitado se vuelva a pasar a la solución, ya sea mediante calentamiento a 62 °C o dejándolo calentar a la temperatura ambiente.

3. Prepare el reactivo de captura de dianas de trabajo (Working Target Capture Reagent, wTCR)
 - a. Transfiera 20 ml de TCR a un recipiente seco, limpio, dedicado y del tamaño adecuado.
 - b. Utilizando un micropipeteador, añada 200 µL de TCR-B al TCR.
 - c. Mezcle bien la solución mediante rotación.
 - d. Etiquete el recipiente. Anote las iniciales del usuario, la fecha de preparación y los dos números de lote.

Nota: Para un número más pequeño de reacciones (muestras y controles), utilice el siguiente método para calcular los volúmenes de TCR y TCR-B:

Volumen de TCR (ml) = (número de reacciones + 5 reacciones extra) x 0,1 ml

Volumen de TCR-B (ml) = Volumen de TCR (ml) / 100

C. Captura de dianas

La pipeta de repetición utilizada en la captura de dianas y la amplificación debe utilizarse de forma dedicada sólo en estos pasos. Consulte *Advertencias y precauciones* para obtener más información.

Preparación de las gradillas

1. Deje que los controles y las muestras alcancen la temperatura ambiente antes del procesamiento.
2. **No agite las muestras en un mezclador vórtex.**
3. Confirme visualmente que cada tubo de muestras satisface uno de los criterios siguientes:
 - a. La presencia de un solo hisopo de recogida Aptima azul en un tubo de transporte de muestras de hisopado unisex.
 - b. La presencia de un solo hisopo de recogida Aptima rosa en un tubo de transporte de muestras de hisopado multitest o vaginal.
 - c. Un volumen final de orina entre las líneas de llenado negras de un tubo de transporte de muestras de orina.
 - d. La ausencia de un hisopo en el tubo de transporte de muestras Aptima con muestras de Pap en solución PreservCyt.
4. Inspeccione los tubos de muestras antes de perforarlos:
 - a. Si un tubo de muestras contiene burbujas en el espacio entre el líquido y el tapón, centrifugue el tubo durante 5 minutos con una RCF de 420 para eliminar las burbujas.
 - b. Si un tubo de muestras tiene un volumen inferior al que se suele observar cuando se siguen las instrucciones de recogida, centrifúguelo durante 5 minutos a una RCF de 420 para asegurarse de que no quede líquido en el tapón.

- c. Si el nivel de líquido de un tubo de muestra de orina no está entre las dos líneas indicadoras negras de la etiqueta, la muestra debe rechazarse. No perforar un tubo sobrellenado.
- d. Si una muestra de orina contiene precipitados, caliente la muestra a 37 °C durante un máximo de 5 minutos. Si el precipitado no se vuelve a disolver, asegúrese visualmente de que éste no obstaculice el pipeteo de la muestra.

Nota: Una incorrecta realización de los pasos 4a-c puede provocar un vertido de líquido del tapón del tubo de muestras.

5. Si se van a analizar muestras con tapones estándar (no perforables), se deben centrifugar durante 5 minutos a una fuerza centrífuga relativa (Relative Centrifugal Force, RCF) de 420 para llevar todo el líquido al fondo del tubo antes de quitar el tapón.
Evite salpicaduras y todo tipo de contaminación cruzada.
6. Coloque suficientes TTU en la gradilla para unidades de diez tubos (Ten Tube Unit, TTU) para contener los controles y las muestras.
7. Si se desea disponer de una lista de trabajo, debe crearla en este momento. Para instrucciones sobre cómo crear una lista de trabajo, consulte el *Aptima Assay Software Operator's Manual* (Manual del usuario del software del Aptima Assay).
8. Mezcle bien el wTCR. Use la pipeta de repetición para añadir 100 µL en cada tubo de reacción.
9. Para trabajar correctamente con el software del Aptima Assay, el Control positivo, CT / Control negativo, GC debe estar en la primera posición de la primera TTU.
 - a. Sostenga el tubo de Control positivo, CT / Control negativo, GC en una mano o manténgalo en una gradilla. Esta etiqueta es rosa. El texto de la etiqueta es «CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC». Utilice un micropipeteador, perforar el tapón con cuidado de que la punta no llegue hasta el fondo del tubo. Añada 400 µL de Control positivo, CT / Control negativo, GC al primer tubo de reacción.
 - b. De la misma forma y utilizando una nueva punta de pipeta, añada 400 µL de Control positivo, GC / Control negativo, CT al segundo tubo de reacción. La etiqueta del segundo control es azul-verdosa. El texto de la etiqueta es «CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT».
10. Continúe con el procedimiento de preparación de la gradilla añadiendo 400 µL de cada muestra al resto de los tubos de reacción. Utilice una nueva punta de pipeta para cada muestra y control. El volumen aceptable de muestra o de control añadido a un tubo de reacción es 400 µL ± 100 µL. Consulte *Notas sobre el procedimiento, Pipeteo de controles y muestras* para obtener más información.

Captura de dianas

El uso del sistema de captura de dianas de Hologic se describe en el *Target Capture System Operator's Manual* (Manual del usuario del sistema de captura de dianas). Si se usa el baño de calor seco/mezclador vórtex SB100, consulte la *Hoja de aplicación SB100*.

11. Cubra las TTU con tarjetas de sellado y sacuda suavemente la gradilla con la mano.
No agite con mezclador vórtex. Incube la gradilla en un baño de agua a 62 °C ± 1 °C durante 30 ± 5 minutos.
12. Retire la gradilla del baño de agua y seque los fondos de los tubos sobre un material absorbente.
13. Asegúrese de que las tarjetas de sellado estén firmemente asentadas. Si es necesario, sustitúyalas por tarjetas de sellado nuevas y selle bien las TTU.

14. Agite la gradilla durante 60 segundos en el mezclador vórtex multitubo. Consulte *Notas sobre el procedimiento, Agitación con mezclador vórtex* para obtener más detalles. Comience la agitación con mezclador vórtex antes de transcurridos 2 minutos de haber retirado la gradilla del baño de agua.
15. Sin retirar las tarjetas de sellado, incube la gradilla a temperatura ambiente durante 30 ± 5 minutos.
16. Coloque la gradilla sobre la base magnética del TCS durante 5 a 10 minutos.
17. Cebe la línea de la bomba de la estación de distribución bombeando la solución de lavado Aptima a través del colector de distribución. Bombee suficiente líquido a través del sistema para que no haya burbujas de aire en la línea y para que las diez boquillas distribuyan un flujo de líquido continuo.
18. Encienda la bomba de vacío y desconecte el colector de aspiración en el primer conector, entre el colector de aspiración y el frasco separador. Asegúrese de que el vacuómetro cumpla la especificación de la prueba de fugas.² Esta lectura puede tardar 15 segundos. Vuelva a conectar el colector de aspiración y asegúrese de que el vacuómetro cumple la especificación del nivel de vacío. Deje encendida la bomba de vacío hasta que hayan finalizado todos los pasos de captura de dianas y el tubo del colector de aspiración esté seco.
19. Conecte firmemente el colector de aspiración al primer conjunto de puntas. Aspire todo el líquido bajando las puntas para introducirlas en la primera TTU hasta que entren brevemente en contacto con los fondos de los tubos. No mantenga las puntas en contacto con los fondos de los tubos.
20. Una vez completada la aspiración, expulse las puntas a su TTC original. Repita los pasos de aspiración para el resto de las TTU, usando una punta dedicada para cada muestra.
21. Coloque el colector de distribución sobre cada una de las TTU y, usando la bomba de la estación de distribución, dispense 1,0 ml de solución de lavado Aptima en cada uno de los tubos de la TTU.
22. Cubra los tubos con una tarjeta de sellado y retire la gradilla de la base magnética del TCS. Agite la gradilla una vez en el mezclador vórtex multitubo. Consulte *Notas sobre el procedimiento, Agitación con mezclador vórtex* para obtener más detalles.
23. Coloque la gradilla sobre la base magnética del TCS durante 5 a 10 minutos.
24. Aspire todo el líquido tal como se indica en Pasos 19 y 20.
25. Después de la aspiración final, retire la gradilla de la base magnética del TCS e inspeccione los tubos visualmente para asegurarse de que todo el líquido ha sido aspirado y de que todos los tubos contienen precipitados de partículas magnéticas. Si hay líquido visible, coloque la gradilla nuevamente en la base magnética del TCS durante 2 minutos y repita la aspiración de esa TTU con las mismas puntas utilizadas anteriormente para cada muestra.

Nota: Se puede aceptar el tubo si después de terminada la aspiración se puede ver algún precipitado de partículas magnéticas. Si no se puede ver ningún precipitado, la muestra debe volverse a analizar. Si la misma muestra no contiene un precipitado de partículas magnéticas en este paso en un ciclo subsiguiente, esto podría ser indicativo de un problema específico de la muestra. En este caso se recomienda recoger de nuevo la muestra.

D. Amplificación

² Consulte la Hoja de especificaciones del nivel de vacío del sistema de captura de dianas al final del *Target Capture System Operator's Manual* (Manual del usuario del sistema de captura de dianas) o póngase en contacto con el servicio técnico.

Si se usa el baño de calor seco/mezclador vórtex SB100, consulte la *Hoja de aplicación SB100*.

1. Use la pipeta de repetición para añadir 75 µL de reactivo de amplificación reconstituido a cada tubo de reacción. Todas las mezclas de reacción en la gradilla deben ser ahora rojas.
2. Use la pipeta de repetición para añadir 200 µL de reactivo de aceite a cada tubo de reacción.
3. Cubra los tubos con una tarjeta de sellado y agítelos en el mezclador vórtex multitubo.
4. Incube la gradilla en un baño de agua a 62 °C ± 1 °C durante 10 ± 5 minutos.
5. Transfiera la gradilla al baño de agua a 42 °C ± 1 °C e incúbelo durante 5 ± 2 minutos.
6. Con la gradilla en el baño de agua, retire con cuidado la tarjeta de sellado y, con la pipeta de repetición, añada 25 µL de reactivo enzimático reconstituido a cada tubo de reacción. Todas las mezclas de reacción deben ser ahora naranjas.
7. Cubra inmediatamente los tubos con tarjetas de sellado nuevas, retire la gradilla del baño de agua y mezcle los tubos de reacción agitando suavemente la gradilla con la mano.
8. Incube la gradilla en un baño de agua a 42 °C ± 1 °C durante 60 ± 15 minutos.

E. Ensayo de cinética doble (Dual Kinetic Assay, DKA)

Si se usa el baño de calor seco/mezclador vórtex SB100, consulte la *Hoja de aplicación SB100*.

La pipeta de repetición utilizada en los pasos de hibridación y selección debe utilizarse de forma dedicada sólo en estos pasos. Consulte *Advertencias y precauciones*.

1. Hibridación
 - a. Retire la gradilla del baño de agua y transfírela al área del DKA. Use la pipeta de repetición para añadir 100 µL del reactivo de sonda reconstituido a cada tubo de reacción. Todas las mezclas de reacción deben ser ahora amarillas.
 - b. Cubra los tubos con una tarjeta de sellado y agite la gradilla en el mezclador vórtex multitubo.
 - c. Incube la gradilla en un baño de agua a 62 °C ± 1 °C durante 20 ± 5 minutos.
 - d. Retire la gradilla del baño de agua e incúbela a temperatura ambiente durante 5 ± 1 minutos.
2. Selección
 - a. Use la pipeta de repetición para añadir 250 µL de reactivo de selección a cada tubo de reacción. Todas las mezclas de reacción deben ser ahora rojas.
 - b. Cubra los tubos con una tarjeta de sellado, agite la gradilla en el mezclador vórtex durante 10 segundos o hasta que el color sea uniforme, e incube la gradilla en un baño de agua a 62 °C ± 1 °C durante 10 ± 1 minutos.
 - c. Retire la gradilla del baño de agua.
3. Detección

La detección debe realizarse a una temperatura entre 18 °C y 28 °C.

- a. Incube la gradilla a una temperatura entre 18 °C y 28 °C durante 15 ± 3 minutos.

Nota: Este rango de temperatura es esencial para el rendimiento del ensayo.

- b. Para usar el luminómetro Leader HC+ y el software del Aptima Assay, consulte el *Leader HC+ Luminometer Operator's Manual* (Manual del usuario del luminómetro)

- Leader HC+) y el *Aptima Assay Software Operator's Manual* (Manual del usuario del software del Aptima Assay).
- c. Asegúrese de que los volúmenes de Auto Detect 1 y 2 alcancen para completar las pruebas.
 - d. Prepare el luminómetro Leader HC+. Para ello, coloque una TTU vacía en la posición para casete número 1 y realice el protocolo de **lavado**.
 - e. Cargue las TTU en el luminómetro.
 - f. Inicie sesión en el ordenador. Haga clic en **New Run** (Nuevo ciclo), seleccione el protocolo del **Aptima Combo 2 Assay** e introduzca el número de tubos (controles y muestras). Haga clic en **Next** (Siguiente) para iniciar el ciclo.

Nota: El ciclo debe completarse en las 2 horas siguientes a la finalización de la incubación del paso de selección.

- g. Prepare el fluido de desactivación mezclando volúmenes iguales de solución de hipoclorito de sodio del 5 % al 7 % (0,7 M a 1,0 M) y Aptima de desactivación en un recipiente de plástico con tapón grande. Etiquete y escriba la fecha de caducidad en el recipiente de plástico. El fluido de desactivación permanece estable durante 4 semanas a temperatura ambiente. Deseche el fluido de desactivación después de 4 semanas o después de haberse desactivado 100 muestras procesadas (lo que suceda primero).
- h. Una vez retiradas del luminómetro las TTU utilizadas, coloque las TTU en el contenedor del fluido de desactivación. Deje que las TTU permanezcan en el contenedor durante 15 minutos antes de desecharlas. El director del laboratorio debe establecer métodos de manipulación y eliminación adecuados.

Notas sobre el procedimiento

A. Controles

Para trabajar correctamente con el software del Aptima Assay, el Control positivo, CT / Control negativo, GC debe estar en la primera posición de la primera TTU. Esta etiqueta de control es rosa. El texto de la etiqueta es «CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC». El Control positivo GC / Control negativo CT debe estar en la segunda posición de la primera TTU. Esta etiqueta de control es azul-verdosa. El texto de la etiqueta es «CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT». La colocación en la posición incorrecta provocará el fallo del ciclo. Los controles adicionales deben introducirse como muestras de paciente y su validez deberá ser supervisada por el usuario.

B. Pipeteo de controles y muestras

El volumen de control o muestra añadido al tubo de reacción deberá ser de $400 \mu\text{L} \pm 100 \mu\text{L}$. Se recomienda la inspección visual del volumen pipeteado al tubo de reacción para garantizar que se transfiere el volumen adecuado. Se necesita un volumen adecuado de control o de muestra para conseguir resultados exactos. Si no se ha pipeteado el volumen correcto, vuelva a pipetear el wTCR y el control o muestra en un nuevo tubo de reacción.

C. Reactivos

La solución de reconstitución de reactivo de sonda puede precipitar mientras está almacenada. Si esto ocurre, caliente la solución de reconstitución de reactivo de sonda a $62 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 a 2 minutos. Después de este paso de calentamiento, la solución de reconstitución de reactivo de sonda se puede utilizar aunque queden residuos del

precipitado. Después de la resuspensión, mezcle bien el vial con un movimiento de inversión suave, con cuidado para que no se forme espuma.

D. Temperatura

1. Los pasos de captura de dianas, amplificación, hibridación y selección dependen de la temperatura. Por lo tanto, es imperativo que los baños de agua se mantengan dentro de los rangos de temperatura especificados.
2. La temperatura ambiente se define como de 15 °C a 30 °C.
3. Los pasos de detección en el ensayo se deben realizar a una temperatura entre 18 °C y 28 °C.

E. Tiempo

Las reacciones de captura de dianas, amplificación, hibridación y selección dependen todas del tiempo. Cumpla los tiempos especificados en el *Procedimiento de prueba de los sistemas DTS*.

F. Agitación con mezclador vórtex

Una agitación con mezclador vórtex correcta es importante para el rendimiento satisfactorio del Aptima Combo 2 Assay. Cuando se consigue un movimiento de agitación correcto, la suspensión gira a un ritmo que eleva la solución a la mitad superior del tubo. Esta manipulación (agitación en mezclador vórtex) se mantiene durante periodos de tiempo especificados. Para agitar en mezclador vórtex las reacciones, seleccione en el mezclador vórtex multitubo la velocidad más baja, fije la gradilla y encienda el aparato. Aumente lentamente la velocidad hasta que el líquido suba hasta la mitad del tubo. Agite durante 10 segundos, la cantidad de tiempo indicada, o hasta que el color sea uniforme. A continuación, reduzca la velocidad al mínimo antes de apagar el mezclador vórtex multitubo y retirar la gradilla. Las mezclas de reacción nunca deben tocar las tarjetas de sellado.

G. Baños de agua

1. El nivel de agua en los baños de agua debe mantenerse con una profundidad entre 3,8 y 5 cm (de 1,5 a 2,0 pulgadas), medido desde la bandeja metálica de soporte (en el fondo del baño de agua) hasta la superficie del agua. Esto garantiza la transferencia de calor adecuada.
2. Para evitar la contaminación cruzada, los baños de agua deben dedicarse a un paso específico del ensayo.

H. Descontaminación

1. Superficies y pipeteadores

Las superficies de las mesas de trabajo del laboratorio y los pipeteadores se deben descontaminar regularmente con solución de hipoclorito de sodio del 2,5 % al 3,5 % (0,35 M a 0,5 M). Deje que la solución de hipoclorito de sodio permanezca en contacto con las superficies por lo menos 1 minuto y luego enjuague con agua. No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Las soluciones de cloro pueden corroer el equipo y el metal. Enjuague a fondo con agua para evitar que se corra.

2. Colector de aspiración del TCS

- a. Coloque un nuevo TTC en la gradilla para TTC. Encienda la bomba de vacío. Conecte el colector de aspiración a las puntas del TTC. Aspire toda la solución de lavado restante en la cubeta de cebado de la estación de distribución de la solución de lavado. (Aparte el colector de distribución).

- b. Vierta al menos 100 ml de solución de hipoclorito de sodio del 0,5 % al 0,7 % (0,07 M a 0,1 M) o, si se prefiere, del 2,5 % al 3,5 % (0,35 M a 0,5 M) en la cubeta de cebado. Aspire toda la solución a través del colector de aspiración.
- c. Vierta al menos 100 ml de agua desionizada en la cubeta de cebado. Aspire toda el agua a través del colector de aspiración.
- d. Expulse las puntas a su TTC original.
- e. Deje encendida la bomba de vacío hasta que el tubo del colector esté seco para evitar el retroflujo.
- f. Descontamine las superficies del colector de aspiración según se describe en *Unidad TCS*.

3. Contenedor de desechos del TCS

Retire la botella de desechos del sistema de captura de dianas semanalmente o cuando esté llena en un 25 %.

- a. Apague la bomba de vacío y deje que la presión de vacío se iguale.
- b. Libere los conectores de desconexión rápida entre la botella de desechos y la botella de derrames, y entre la botella de desechos y el colector de aspiración.
- c. Retire la botella de desechos del alojamiento del depósito de vacío.
- d. Retire el tapón y añada cuidadosamente 400 ml de solución de hipoclorito de sodio del 5 % al 7 % (0,7 M a 1,0 M) al frasco (o 1 L si se utiliza una botella de desechos de 10 L).

Nota: Esto se puede llevar a cabo en una campana extractora de humos para no liberar gases en el laboratorio.

- e. Tape la botella de desechos y agite con una rotación suave el contenido hasta que esté completamente mezclado.
- f. Deje que la botella de desechos repose durante 15 minutos y, a continuación, deseche el contenido (desecho).
- g. Enjuague la botella de desechos con agua para eliminar todo resto de desechos.
- h. Tape la botella de desechos vacía y colóquela en el alojamiento del depósito de vacío. Conecte el conector de desconexión rápida a la unidad TCS. Deseche los guantes con cuidado.

4. Unidad TCS

Limpie las superficies de la unidad TCS, el colector de aspiración y las puntas eyectoras del tampón de lavado con toallas de papel humedecidas con una solución de hipoclorito de sodio del 2,5 % al 3,5 % (0,35 M a 0,5 M). Después del paso de hipoclorito de sodio, enjuague con agua y luego seque del todo las superficies con toallas de papel.

5. Gradillas

Sumerja las gradillas en una solución de hipoclorito de sodio del 2,5 % al 3,5 % (0,35 M a 0,5 M), comprobando que la solución las cubra. Mantenga las gradillas sumergidas durante 10 minutos. Una exposición más prolongada puede dañarlas. Enjuague bien las gradillas con agua, colóquelas sobre un paño limpio absorbente y deje que se sequen completamente al aire. Para prolongar la vida útil de las gradillas, séquelas boca arriba, no boca abajo.

I. Contaminación del ensayo

1. Si no se toman suficientes precauciones durante el protocolo del ensayo, pueden introducirse materiales contaminantes.
2. Las TTU deben descontaminarse en fluido de desactivación según se describe en el apartado *Detección*. No vuelva a usar las TTU.
3. Lleve a cabo la descontaminación regular del equipo y de las superficies de trabajo según se describe en *Notas sobre el procedimiento, Descontaminación*.
4. Como sucede en cualquier sistema de reactivos, el exceso de polvo en algunos guantes puede ser causa de contaminación de los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin polvo.

J. Protocolo de supervisión de la contaminación en laboratorios para los sistemas DTS

Existen numerosos factores específicos de los laboratorios que pueden contribuir a la contaminación, incluido el volumen de la prueba, el flujo de trabajo, la prevalencia de la enfermedad y otras actividades de laboratorio. Estos factores deben tenerse en consideración al establecerse la frecuencia con que se supervisará la contaminación. Los intervalos para la supervisión de la contaminación deben establecerse en función de las prácticas y procedimientos de cada laboratorio.

Para supervisar la contaminación del laboratorio, se puede realizar el siguiente procedimiento usando el kit de recogida de muestras de hisopado unisex Aptima para muestras de hisopado endocervical y muestras de hisopado uretral masculino:

1. Etiquete los tubos de transporte de hisopo con los números correspondientes a las áreas que se van a analizar.
2. Extraiga el hisopo para recogida de muestras (aplicador azul con impresiones verdes) de su envase, humedezca el hisopo en el medio de transporte de hisopo y pásela por el área designada con un movimiento circular.
3. Inserte inmediatamente el hisopo en el tubo de transporte.
4. Quiebre con cuidado el bastoncillo del hisopo en la línea marcada; tenga cuidado de que el contenido no salpique.
5. Vuelva a tapar bien el tubo de transporte de hisopo.
6. Repita los pasos del 2 al 5 en todas las áreas en las que se vaya a aplicar el hisopo.
7. Analice el hisopo utilizando el Aptima Combo 2 Assay de acuerdo con el *Procedimiento de prueba de los sistemas DTS*.

Si los resultados son positivos o equívocos para CT o GC (consulte *Interpretación de la prueba – Resultados de control de calidad y del paciente*), la superficie podría estar contaminada. Descontamine la superficie con solución de hipoclorito de sodio según lo recomendado en *Procedimiento de prueba de los sistemas DTS, Preparación del equipo*.

Nota: Si se sospecha la existencia de contaminación en el baño de agua, éste puede analizarse usando el procedimiento para muestras de orina, añadiendo 2,0 ml de agua al tubo de transporte de la muestra de orina.

K. Solución de problemas

1. Los valores bajos del control positivo pueden deberse a temperaturas incorrectas durante los distintos pasos del ensayo o a un tiempo de selección en el paso de selección mayor del recomendado.
2. Se puede producir alta luminiscencia de fondo si el tiempo de selección en el paso de selección se acorta, la temperatura de selección no es correcta o la mezcla es insuficiente después de la adición del reactivo de selección.

3. Si el Control positivo, CT / Control negativo, GC es positivo o equivoco para GC, o si el Control positivo, GC / Control negativo, CT es positivo o equivoco para CT, consulte *Notas sobre el procedimiento, Contaminación del ensayo* para obtener más información.

Tigris DTS System

Los reactivos para el Aptima Combo 2 Assay para CT y GC se indican a continuación para el Tigris DTS System. Los símbolos de identificación de los reactivos también se indican junto al nombre del reactivo.

Reactivos y materiales suministrados

Kit del Aptima Combo 2 Assay, 250 pruebas (2 cajas y 1 kit de controles) (Nº de catálogo 301130 y 301130B)

Caja refrigerada Aptima Combo 2 (caja 1 de 2)
(conservar entre 2 °C y 8 °C al recibirlo)

Símbolo	Componente	Cantidad
A	Reactivo de amplificación Aptima Combo 2 <i>Ácidos nucleicos no infecciosos liofilizados en solución de tampón con un contenido de agente de carga < 5 %.</i>	1 vial
E	Reactivo enzimático Aptima Combo 2 <i>Transcriptasa inversa y RNA polimerasa liofilizadas en solución de tampón HEPES con un contenido de reactivo de carga < 10 %.</i>	1 vial
P	Reactivo de sonda Aptima Combo 2 <i>Sondas de DNA quimioluminiscentes no infecciosas liofilizadas en solución de tampón succinato con un contenido de detergente < 5 %.</i>	1 vial
TCR-B	Reactivo de captura de dianas B Aptima Combo 2 <i>Ácido nucleico no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5 %.</i>	1 x 0,61 ml

Caja a temperatura ambiente Aptima Combo 2 (caja 2 de 2)
(conservar entre 15 °C y 30 °C al recibirlo)

Símbolo	Componente	Cantidad
AR	Solución de reconstitución de amplificación Aptima Combo 2 <i>Solución acuosa con conservantes.</i>	1 x 27,7 ml
ER	Solución de reconstitución de reactivo enzimático Aptima Combo 2 <i>Solución de tampón HEPES con un surfactante y glicerol.</i>	1 x 11,1 ml
PR	Solución de reconstitución de reactivo de sonda Aptima Combo 2 <i>Solución de tampón succinato con un contenido de detergente < 5 %.</i>	1 x 35,4 ml
S	Reactivo de selección Aptima Combo 2 <i>Solución de tampón borato 600 mM con surfactante.</i>	1 x 108 ml

Caja a temperatura ambiente Aptima Combo 2 (caja 2 de 2)
(conservar entre 15 °C y 30 °C al recibirlo)

Símbolo	Componente	Cantidad
TCR	Reactivo de captura de dianas Aptima Combo 2 <i>Solución de tampón salino con un contenido de oligómeros de captura y fase sólida.</i>	1 x 54 ml
	Collares de reconstitución	3
	Hoja de códigos de barras de lote maestro	1 hoja

Kit de controles Aptima
(conservar entre 2 °C y 8 °C al recibirlo)

Símbolo	Componente	Cantidad
PCT/NGC	Control positivo, CT / Control negativo, GC Aptima <i>Ácido nucleico CT no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5 %. Cada muestra de 400 µL contiene el equivalente de rRNA estimado de 1 IFU CT (5 fg/ensayo*).</i>	5 x 1,7 ml
PGC/NCT	Control positivo, GC / Control negativo, CT Aptima <i>Ácido nucleico GC no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5 %. Cada muestra de 400 µL contiene el equivalente de rRNA estimado de 50 células GC (250 fg/ensayo*).</i>	5 x 1,7 ml

* Los equivalentes rRNA se calcularon en función del tamaño del genoma y de la relación DNA:RNA/célula estimada de cada organismo.

Material necesario que debe adquirirse por separado

Nota: A menos que se indique lo contrario, los materiales comercializados por Hologic aparecen en la lista con su referencia.

	N.º de catálogo
Tigris DTS System	105118
Kit de fluidos del Aptima Assay <i>(Solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima)</i>	302382
Kit Auto Detect Aptima	301048
Kit de conservante de fluido del sistema Aptima	302380
Puntas conductoras de 1.000 µL, detectoras de líquido	10612513 (Tecan)
Kit para ciclo del Tigris DTS System, que contiene	301191
<i>Unidades multitubo (Multi-tube Unit, MTU)</i>	104772-02
<i>Kit de bolsa de desechos de MTU-puntas</i>	900907
<i>Deflectores de desechos de MTU</i>	900931
<i>Cubiertas de desechos de MTU</i>	105523
Kit de transferencia de muestras Aptima <i>para utilizar con muestras en solución PreservCyt</i>	301154C

	<u>N.º de catálogo</u>
Kit de transferencia de muestras Aptima — imprimible <i>para utilizar con muestras en solución PreservCyt</i>	PRD-05110
Kit de recolección de muestras de hisopado multitest Aptima	PRD-03546
Kit de recolección de muestras de hisopado unisex Aptima para muestras de hisopado endocervical y muestras de hisopado uretral masculino	301041
Kit de recogida de muestras de orina Aptima para muestras de orina masculinas y femeninas	301040
Tubos de transporte de muestras de orina Aptima para muestras de orina masculinas y femeninas	105575
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 % al 7 % (0,7 M a 1,0 M)	—
Agua para el Tigris DTS System <i>consulte las especificaciones en el Tigris DTS System Operator's Manual (Manual del usuario del Tigris DTS System)</i>	—
Guantes desechables	—
Patrón de calibración SysCheck	301078
Tapones perforables Aptima	105668
Tapones no perforables de repuesto	103036A
Tapones de repuesto para los kits de 250 pruebas <i>Soluciones de reconstitución de los reactivos de amplificación y de sonda</i>	—
	<i>CL0041 (100 tapones)</i>
<i>Solución de reconstitución de reactivo enzimático</i>	<i>501616 (100 tapones)</i>
<i>TCR y reactivo de selección</i>	<i>CL0040 (100 tapones)</i>

Materiales opcionales

	<u>N.º de catálogo</u>
Kit de controles Aptima	301110
Potenciador de lejía Hologic para limpieza <i>para la limpieza sistemática de las superficies y el equipo</i>	302101

Procedimiento de prueba del Tigris DTS System

Nota: Consulte el *Tigris DTS System Operator's Manual (Manual del usuario del Tigris DTS System)* para obtener información adicional sobre los procedimientos del Tigris DTS System.

A. Preparación del área de trabajo

1. Limpie las superficies de trabajo en las que van a preparar los reactivos y las muestras. Limpie las superficies de trabajo con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5 % - 3,5 % (0,35 M a 0,5 M). Deje que la solución de hipoclorito de sodio permanezca en contacto con las superficies por lo menos 1 minuto y luego enjuague con agua. No deje

que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa en la que se vayan a preparar los reactivos y las muestras con cubiertas absorbentes limpias, con forro de plástico, para mesas de laboratorio.

B. Reconstitución y preparación de reactivos de un nuevo kit

Nota: La reconstitución de reactivos debe realizarse antes de iniciar cualquier tarea con el Tigris DTS System.

1. Para reconstituir los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda, combine los frascos de reactivo liofilizado con la solución de reconstitución. Si están refrigeradas, deje que las soluciones de reconstitución alcancen la temperatura ambiente antes de usarlas.
 - a. Empareje cada solución de reconstitución con su reactivo liofilizado. Asegúrese de que existe correspondencia de colores en las etiquetas de la solución de reconstitución y del reactivo liofilizado antes de conectar el collar de reconstitución.
 - b. Compruebe los números de lote en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que estén emparejados los reactivos adecuados.
 - c. Abra el vial del reactivo liofilizado e inserte con firmeza el extremo ranurado del collar de reconstitución en la abertura del vial (Figura 2, paso 1).
 - d. Abra la botella de la solución de reconstitución correspondiente y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
 - e. Mientras sostiene el frasco con la solución de reconstitución sobre la mesa, inserte firmemente el otro extremo del collar de reconstitución en la abertura del frasco (Figura 2, paso 2).
 - f. Invierta lentamente el conjunto de los frascos. Deje que la solución pase del frasco al vial de vidrio (Figura 2, paso 3).
 - g. Agite con una rotación suave la solución en el vial para mezclarla. Evite que se forme espuma al agitar el frasco (Figura 2, paso 4).
 - h. Espere a que el reactivo liofilizado pase a la solución y luego invierta de nuevo el conjunto de los frascos, inclinándolos a un ángulo de 45° para reducir al mínimo la formación de espuma (Figura 2, paso 5). Deje que todo el líquido regrese a la botella de plástico.
 - i. Retire el collar de reconstitución y el vial de vidrio (Figura 2, paso 6).
 - j. Tape la botella de plástico. Registre las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución en la etiqueta (Figura 2, paso 7).
 - k. Deseche el collar de reconstitución y el vial de cristal (Figura 2, paso 8).

Advertencia: Evite que se forme espuma al reconstituir los reactivos. La espuma compromete la detección de nivel en el Tigris DTS System.

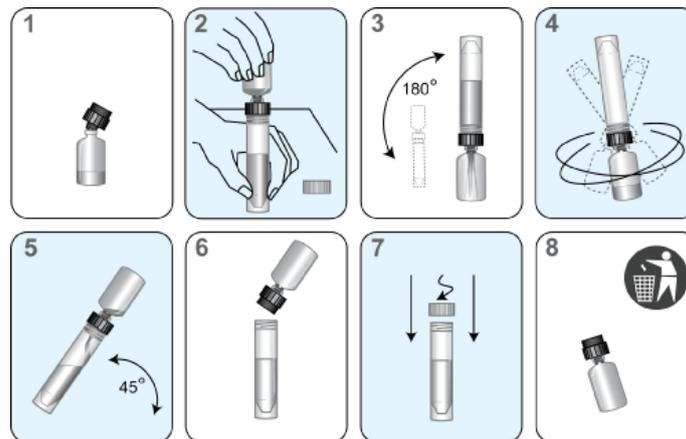


Figura 2. Proceso de reconstitución del Tigris DTS System o del Panther System

2. Prepare el reactivo de captura de dianas de trabajo (Working Target Capture Reagent, wTCR)
 - a. Empareje los frascos apropiados de TCR y TCR-B.
 - b. Compruebe los números de lote de los reactivos en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que estén emparejados los reactivos adecuados en el kit.
 - c. Abra el frasco de TCR y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
 - d. Abra el frasco de TCR-B y vierta todo su contenido en el frasco de TCR. Es normal que quede una pequeña cantidad de líquido en el frasco de TCR-B.
 - e. Tape el frasco de TCR y agite con una rotación suave la solución para mezclar el contenido. Evite que se forme espuma durante este paso.
 - f. Anote las iniciales del usuario y la fecha actual en la etiqueta.
 - g. Deseche el frasco y el tapón de TCR-B.
3. Prepare el reactivo de selección
 - a. Asegúrese de que el número de lote del frasco de reactivo coincida con el número de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro.
 - b. Anote las iniciales del usuario y la fecha actual en la etiqueta.

Nota: Mezcle bien mediante inversión suave todos los reactivos antes de cargarlos en el sistema. Tenga cuidado de que no se forme espuma durante la inversión de los reactivos.

C. Preparación de reactivos reconstituidos previamente

1. Los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda previamente reconstituidos deben alcanzar la temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) antes de que se inicie el ensayo.
2. Si el reactivo de sonda reconstituido contiene precipitado que no se disuelve a temperatura ambiente, caliente el frasco tapado a una temperatura que no exceda de 62 °C durante 1 a 2 minutos. Después de este paso de calentamiento, el reactivo de sonda se puede utilizar aunque queden residuos del precipitado. Mezcle el reactivo de

sonda por inversión, con cuidado de que no se forme espuma, antes de cargarlo en el sistema.

3. Mezcle bien cada reactivo mediante inversión suave antes de cargarlo en el sistema. Tenga cuidado de que no se forme espuma durante la inversión de los reactivos.
4. No rellene los frasco de reactivo. El Tigris DTS System reconocerá y rechazará los frascos que estén llenos hasta el borde.

D. Manipulación de muestras

1. Deje que los controles y las muestras alcancen la temperatura ambiente antes del procesamiento.
2. **No agite las muestras en un mezclador vórtex.**
3. Confirme visualmente que cada tubo de muestras satisface uno de los criterios siguientes:
 - a. La presencia de un solo hisopo de recogida Aptima azul en un tubo de transporte de muestras de hisopado unisex.
 - b. La presencia de un solo hisopo de recogida Aptima rosa en un tubo de transporte de muestras de hisopado multitest o vaginal.
 - c. Un volumen final de orina entre las líneas de llenado negras de un tubo de transporte de muestras de orina.
 - d. La ausencia de un hisopo en el tubo de transporte de muestras Aptima con muestras de Pap en solución PreservCyt.
4. Inspeccione los tubos de muestras antes de cargarlos en la gradilla:
 - a. Si un tubo de muestras contiene burbujas en el espacio entre el líquido y el tapón, centrifugue el tubo durante 5 minutos con una RCF de 420 para eliminar las burbujas.
 - b. Si un tubo de muestras tiene un volumen inferior al que se suele observar cuando se siguen las instrucciones de recogida, centrifúguelo durante 5 minutos a una RCF de 420 para asegurarse de que no quede líquido en el tapón.
 - c. Si el nivel de líquido de un tubo de muestra de orina no está entre las dos líneas indicadoras negras de la etiqueta, la muestra debe rechazarse. No perforo un tubo sobrellenado.
 - d. Si un muestra de orina contiene precipitados, caliente la muestra a 37 °C durante un máximo de 5 minutos. Si el precipitado no se vuelve a disolver, asegúrese visualmente de que éste no obstaculice el pipeteo de la muestra.

Nota: Una incorrecta realización de los pasos 4a-c puede provocar un vertido de líquido del tapón del tubo de muestras.

Nota: Se pueden analizar hasta 3 alícuotas independientes de cada tubo de muestras. Los intentos de pipetear más de 3 alícuotas del tubo de muestras pueden dar lugar a errores por volumen insuficiente.

E. Preparación del sistema

Configure el sistema y la lista de trabajo de acuerdo con las instrucciones del *Tigris DTS System Operator's Manual* (Manual del usuario del TIGRIS DTS System) y las *Notas de procedimiento*.

Notas de procedimiento

A. Controles

1. Para trabajar correctamente con el software del Aptima Assay de Tigris, se requieren controles delantero y de fin. El Control positivo, CT / Control negativo, GC debe estar en la primera posición y en la penúltima posición de una lista de trabajo. Esta etiqueta de control es rosa. El texto de la etiqueta es «CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC». El Control positivo, GC / Control negativo, CT debe estar en la segunda posición y en la última posición de una lista de trabajo. Esta etiqueta de control es azul-verdosa. El texto de la etiqueta es «CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT».
2. Cada tubo de control Aptima se puede analizar una vez. Los intentos de pipetear más de una vez del tubo pueden dar lugar a errores por volumen insuficiente.

B. Temperatura

La temperatura ambiente se define como de 15 °C a 30 °C.

C. Polvo de guantes

Como sucede en cualquier sistema de reactivos, el exceso de polvo en algunos guantes puede ser causa de contaminación de los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin polvo.

D. Protocolo de supervisión de la contaminación en laboratorios para el Tigris DTS System

Existen numerosos factores específicos de los laboratorios que pueden contribuir a la contaminación, incluido el volumen de la prueba, el flujo de trabajo, la prevalencia de la enfermedad y otras actividades de laboratorio. Estos factores deben tenerse en consideración al establecerse la frecuencia con que se supervisará la contaminación. Los intervalos para la supervisión de la contaminación deben establecerse en función de las prácticas y procedimientos de cada laboratorio.

Para supervisar la contaminación del laboratorio, se puede realizar el siguiente procedimiento usando el kit de recogida de muestras de hisopado unisex Aptima para muestras de hisopado endocervical y uretral masculina:

1. Etiquete los tubos de transporte de hisopo con los números correspondientes a las áreas que se van a analizar.
2. Extraiga el hisopo para recogida de muestras (aplicador azul con impresiones verdes) de su envase, humedezca el hisopo en el medio de transporte de hisopo y páselo por el área designada con un movimiento circular.
3. Inserte inmediatamente el hisopo en el tubo de transporte.
4. Quiebre con cuidado el bastoncillo del hisopo en la línea marcada; tenga cuidado de que el contenido no salpique.
5. Vuelva a tapar bien el tubo de transporte de hisopo.
6. Repita los pasos del 2 al 5 en todas las áreas en las que se vaya a aplicar el hisopo.

Si los resultados son positivos o equívocos para CT o GC, consulte *Interpretación de la prueba – Resultados de control de calidad y del paciente*. Para obtener información adicional sobre el control de contaminación, consulte el *Tigris DTS System Operator's Manual* (Manual del usuario del TIGRIS DTS System).

Panther System

Los reactivos para el Aptima Combo 2 Assay para CT y GC para el Panther System se indican a continuación. Los símbolos de identificación de los reactivos también se indican junto al nombre del reactivo.

Reactivos y materiales suministrados

Kit del Aptima Combo 2 Assay

100 pruebas, (2 cajas y 1 kit de controles) (N.º de catálogo 302923)

250 pruebas, (2 cajas y 1 kit de controles) (N.º de catálogo 303094)

Caja refrigerada Aptima Combo 2 (caja 1 de 2) (conservar entre 2 °C y 8 °C al recibirlo)

Símbolo	Componente	Cantidad Kit de 250 pruebas	Cantidad Kit de 100 pruebas
A	Reactivo de amplificación Aptima Combo 2 <i>Ácidos nucleicos no infecciosos liofilizados en solución de tampón con un contenido de agente de carga < 5 %.</i>	1 vial	1 vial
E	Reactivo enzimático Aptima Combo 2 <i>Transcriptasa inversa y RNA polimerasa liofilizadas en solución de tampón HEPES con un contenido de reactivo de carga < 10 %.</i>	1 vial	1 vial
P	Reactivo de sonda Aptima Combo 2 <i>Sondas de DNA quimioluminiscentes no infecciosas liofilizadas en solución de tampón succinato con un contenido de detergente < 5 %.</i>	1 vial	1 vial
TCR-B	Reactivo de captura de dianas B Aptima Combo <i>Ácido nucleico no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5 %.</i>	1 x 0,61 ml	1 x 0,30 ml

Caja a temperatura ambiente Aptima Combo 2 (caja 2 de 2) (conservar entre 15 °C y 30 °C al recibirlo)

Símbolo	Componente	Cantidad Kit de 250 pruebas	Cantidad Kit de 100 pruebas
AR	Solución de reconstitución de amplificación Aptima Combo 2 <i>Solución acuosa con conservantes.</i>	1 x 27,7 ml	1 x 11,9 ml
ER	Solución de reconstitución de reactivo enzimático Aptima Combo 2 <i>Solución de tampón HEPES con un surfactante y glicerol.</i>	1 x 11,1 ml	1 x 6,3 ml
PR	Solución de reconstitución de reactivo de sonda Aptima Combo 2 <i>Solución de tampón succinato con un contenido de detergente < 5 %.</i>	1 x 35,4 ml	1 x 15,2 ml

Caja a temperatura ambiente Aptima Combo 2 (caja 2 de 2)
(conservar entre 15 °C y 30 °C al recibirlo)

Símbolo	Componente	Cantidad Kit de 250 pruebas	Cantidad Kit de 100 pruebas
S	Reactivo de selección Aptima Combo 2 <i>Solución de tampón borato 600 mM con surfactante.</i>	1 x 108 ml	1 x 43,0 ml
TCR	Reactivo de captura de dianas Aptima Combo 2 <i>Solución de tampón salino con un contenido de oligómeros de captura y fase sólida.</i>	1 x 54 ml	1 x 26,0 ml
	Collares de reconstitución	3	3
	Hoja de códigos de barras de lote maestro	1 hoja	1 hoja

Kit de controles Aptima
(conservar entre 2 °C y 8 °C al recibirlo)

Símbolo	Componente	Cantidad
PCT/NGC	Control positivo, CT / Control negativo, GC Aptima <i>Ácido nucleico CT no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5 %. Cada muestra de 400 µL contiene el equivalente de rRNA estimado de 1 IFU CT (5 fg/ensayo*).</i>	5 x 1,7 ml
PGC/NCT	Control positivo, GC / Control negativo, CT Aptima <i>Ácido nucleico GC no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente < 5 %. Cada muestra de 400 µL contiene el equivalente de rRNA estimado de 50 células GC (250 fg/ensayo*).</i>	5 x 1,7 ml

* Los equivalentes rRNA se calcularon en función del tamaño del genoma y de la relación DNA:RNA/célula estimada de cada organismo.

Material necesario que debe adquirirse por separado

Nota: A menos que se indique lo contrario, los materiales comercializados por Hologic aparecen en la lista con su referencia.

	<u>N.º de catálogo</u>
Panther System	303095
Kit de fluidos del Aptima Assay <i>(Solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima)</i>	303014 (1.000 pruebas)
Kit Auto Detect Aptima	303013 (1.000 pruebas)
Unidades multitubo (Multi-tube Unit, MTU)	104772-02
Juego de bolsas de desechos Panther	902731
Tapa del recipiente de desechos Panther	504405

O kit para ciclo Panther <i>contiene MTU, bolsas de desechos, cubiertas para contenedores de desechos, fluidos de ensayo y reactivos Auto Detect</i>	303096 (5.000 pruebas)
Puntas conductoras de 1.000 µL, detectoras de líquido	10612513 (Tecan)
Kit de transferencia de muestras Aptima <i>para utilizar con muestras en solución PreservCyt</i>	301154C
Kit de transferencia de muestras Aptima — imprimible <i>para utilizar con muestras en solución PreservCyt</i>	PRD-05110
Kit de recolección de muestras de hisopado multitest Aptima	PRD-03546
Kit de recolección de muestras de hisopado unisex Aptima para muestras de hisopado endocervical y muestras de hisopado masculinas	301041
Kit de recogida de muestras de orina Aptima para muestras de orina masculinas y femeninas	301040
Tubos de transporte de muestras de orina Aptima para muestras de orina masculinas y femeninas	105575
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 % al 7 % (0,7 M a 1,0 M)	—
Guantes desechables	—
Patrón de calibración SysCheck	301078
Tapones perforables Aptima	105668
Tapones no perforables de repuesto	103036A
Tapones de repuesto para los kits de 250 pruebas <i>Soluciones de reconstitución de los reactivos de amplificación y de sonda</i>	—
	CL0041 (100 tapones)
<i>Solución de reconstitución de reactivo enzimático</i>	501616 (100 tapones)
<i>TCR y reactivo de selección</i>	CL0040 (100 tapones)
Tapones de repuesto para los kits de 100 pruebas <i>Soluciones de reconstitución de los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda</i>	—
	CL0041 (100 tapones)
<i>TCR y reactivo de selección</i>	501604 (100 tapones)

Materiales opcionales

	<u>N.º de catálogo</u>
Kit de controles Aptima	301110
Potenciador de lejía Hologic para limpieza <i>para la limpieza sistemática de las superficies y el equipo</i>	302101

Procedimiento de la prueba del Panther System

Nota: Consulte el *Panther System Operator's Manual (Manual del usuario del Panther System)* para obtener información adicional sobre los procedimientos del Panther System.

A. Preparación del área de trabajo

1. Limpie las superficies de trabajo en las que van a preparar los reactivos y las muestras. Limpie las superficies de trabajo con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5 % - 3,5 % (0,35 M a 0,5 M). Deje que la solución de hipoclorito de sodio permanezca en contacto con las superficies por lo menos 1 minuto y luego enjuague con agua. No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa en la que se vayan a preparar los reactivos y las muestras con cubiertas absorbentes limpias, con forro de plástico, para mesas de laboratorio.

B. Reconstitución y preparación de reactivos de un nuevo kit

Nota: La reconstitución de reactivos debe realizarse antes de iniciar cualquier tarea con el Panther system.

1. Para reconstituir los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda, combine los frascos de reactivo liofilizado con la solución de reconstitución. Si están refrigeradas, deje que las soluciones de reconstitución alcancen la temperatura ambiente antes de usarlas.
 - a. Empareje cada solución de reconstitución con su reactivo liofilizado. Asegúrese de que existe correspondencia de colores en las etiquetas de la solución de reconstitución y del reactivo antes de conectar el collar de reconstitución.
 - b. Compruebe los números de lote en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que estén emparejados los reactivos adecuados.
 - c. Abra el vial del reactivo liofilizado e inserte con firmeza el extremo ranurado del collar de reconstitución en la abertura del vial (Figura 3, paso 1).
 - d. Abra la botella de la solución de reconstitución correspondiente y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
 - e. Mientras sostiene el frasco con la solución de reconstitución sobre la mesa, inserte firmemente el otro extremo del collar de reconstitución en la abertura del frasco (Figura 3, paso 2).
 - f. Invierta lentamente el conjunto de los frascos. Deje que la solución pase del frasco al vial de vidrio (Figura 3, paso 3).
 - g. Agite con una rotación suave la solución del frasco para mezclarla. Evite que se forme espuma al agitar el frasco (Figura 3, paso 4).
 - h. Espere a que el reactivo liofilizado pase a la solución y luego invierta de nuevo el conjunto de los frascos, inclinándolos a un ángulo de 45° para reducir al mínimo la formación de espuma (Figura 3, paso 5). Deje que todo el líquido regrese a la botella de plástico.
 - i. Retire el collar de reconstitución y el vial de vidrio (Figura 3, paso 6).
 - j. Tape la botella de plástico. Registre las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución en la etiqueta (Figura 3, paso 7).
 - k. Deseche el collar de reconstitución y el vial de cristal (Figura 3, paso 8).

Advertencia: Evite que se forme espuma al reconstituir los reactivos. La espuma afecta a la detección del nivel en el Panther System.

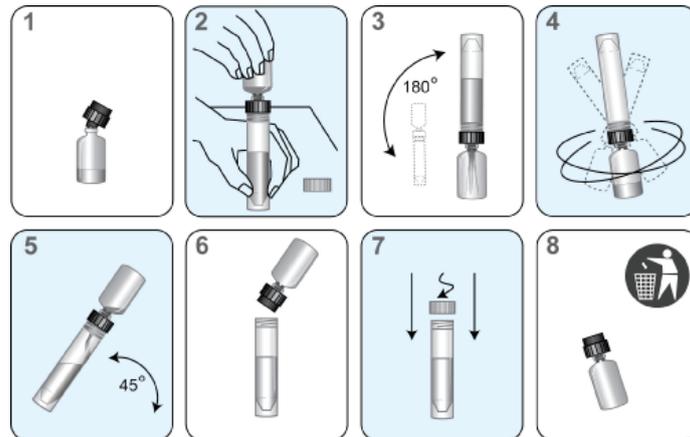


Figura 3. Proceso de reconstitución del Tigris DTS System o del Panther System

2. Prepare el reactivo de captura de dianas de trabajo (Working Target Capture Reagent, wTCR)
 - a. Empareje los frascos apropiados de TCR y TCR-B.
 - b. Compruebe los números de lote de los reactivos en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que estén emparejados los reactivos adecuados en el kit.
 - c. Abra el frasco de TCR y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
 - d. Abra el frasco de TCR-B y vierta todo su contenido en el frasco de TCR. Es normal que quede una pequeña cantidad de líquido en el frasco de TCR-B.
 - e. Tape el frasco de TCR y agite con una rotación suave la solución para mezclar el contenido. Evite que se forme espuma durante este paso.
 - f. Anote las iniciales del usuario y la fecha actual en la etiqueta.
 - g. Deseche el frasco y el tapón de TCR-B.
3. Prepare el reactivo de selección
 - a. Asegúrese de que el número de lote del frasco de reactivo coincida con el número de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro.
 - b. Anote las iniciales del usuario y la fecha actual en la etiqueta.

Nota: Mezcle bien mediante inversión suave todos los reactivos antes de cargarlos en el sistema. Tenga cuidado de que no se forme espuma durante la inversión de los reactivos.

- C. Preparación de reactivos reconstituidos previamente
 1. Los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda previamente reconstituidos deben alcanzar la temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) antes de que se inicie el ensayo.
 2. Si el reactivo de sonda reconstituido contiene precipitado que no se disuelve a temperatura ambiente, caliente el frasco tapado a una temperatura que no exceda de 62 °C durante 1 a 2 minutos. Después de este paso de calentamiento, el reactivo de sonda se puede utilizar aunque queden residuos del precipitado. Mezcle el reactivo de sonda por inversión, con cuidado de que no se forme espuma, antes de cargarlo en el sistema.

3. Mezcle bien cada reactivo mediante inversión suave antes de cargarlo en el sistema. cuidado de que no se forme espuma durante la inversión de los reactivos.
4. No rellene los frasco de reactivo. El Panther System reconocerá y rechazará las botellas que se hayan rellenado.

D. Manipulación de muestras

1. Deje que los controles y las muestras alcancen la temperatura ambiente antes del procesamiento.
2. **No agite las muestras en un mezclador vórtex.**
3. Confirme visualmente que cada tubo de muestras satisface uno de los criterios siguientes:
 - a. La presencia de un solo hisopo de recogida Aptima azul en un tubo de transporte de muestras de hisopado unisex.
 - b. La presencia de un solo hisopo de recogida Aptima rosa en un tubo de transporte de muestras de hisopado multitest o vaginal.
 - c. Un volumen final de orina entre las líneas de llenado negras de un tubo de transporte de muestras de orina.
 - d. La ausencia de un hisopo en el tubo de transporte de muestras Aptima con muestras de Pap en solución PreservCyt.
4. Inspeccione los tubos de muestras antes de cargarlos en la gradilla:
 - a. Si un tubo de muestras contiene burbujas en el espacio entre el líquido y el tapón, centrifugue el tubo durante 5 minutos con una RCF de 420 para eliminar las burbujas.
 - b. Si un tubo de muestras tiene un volumen inferior al que se suele observar cuando se siguen las instrucciones de recogida, centrifúguelo durante 5 minutos a una RCF de 420 para asegurarse de que no quede líquido en el tapón.
 - c. Si el nivel de líquido de un tubo de muestra de orina no está entre las dos líneas indicadoras negras de la etiqueta, la muestra debe rechazarse. No perforo un tubo sobrellenado.
 - d. Si un muestra de orina contiene precipitados, caliente la muestra a 37 °C durante un máximo de 5 minutos. Si el precipitado no se vuelve a disolver, asegúrese visualmente de que éste no obstaculice el pipeteo de la muestra.

Nota: Una incorrecta realización de los pasos 4a-c puede provocar un vertido de líquido del tapón del tubo de muestras.

Nota: Se pueden analizar hasta 4 alícuotas independientes de cada tubo de muestras. Los intentos de pipetear más de 4 alícuotas del tubo para muestras pueden dar lugar a errores de procesamiento.

E. Preparación del sistema

1. Prepare el sistema siguiendo las instrucciones del *Manual del usuario del Panther System* y *Notas de procedimiento*. Asegúrese de que se utilicen las gradillas para reactivos y los adaptadores de TCR del tamaño adecuado.
2. Cargue las muestras.

Notas de procedimiento

A. Controles

1. Para trabajar correctamente con el software del Aptima Assay de Panther, se requiere un par de controles. Los tubos de Control positivo, CT / Control negativo, GC, y de Control positivo, GC / Control negativo, CT, pueden cargarse en cualquier posición de la gradilla o en cualquier carril de la plataforma de muestras en el Panther System. El pipeteado de la muestra del paciente comenzará cuando se cumpla una de las dos siguientes condiciones:
 - a. El sistema está procesando actualmente un par de controles.
 - b. Hay resultados válidos para controles registrados en el sistema.
2. Una vez que los tubos de controles se hayan pipeteado y se estén procesando para un kit de reactivos específico, las muestras de paciente pueden analizarse con el kit asociado hasta 24 horas **a menos que**:
 - a. Los resultados de los controles son no válidos.
 - b. Se retire del sistema el kit de reactivos del ensayo asociado.
 - c. El kit de reactivos de ensayo asociado haya excedido los límites de estabilidad.
3. Cada tubo de control Aptima se puede analizar una vez. Los intentos de pipetear más de una vez del tubo pueden dar lugar a errores de procesamiento.

B. Temperatura

La temperatura ambiente se define como de 15 °C a 30 °C.

C. Polvo de guantes

Como sucede en cualquier sistema de reactivos, el exceso de polvo en algunos guantes puede ser causa de contaminación de los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin polvo.

D. Protocolo de supervisión de la contaminación en laboratorios para el Panther System

Existen numerosos factores específicos de los laboratorios que pueden contribuir a la contaminación, incluido el volumen de la prueba, el flujo de trabajo, la prevalencia de la enfermedad y otras actividades de laboratorio. Estos factores deben tenerse en consideración al establecerse la frecuencia con que se supervisará la contaminación. Los intervalos para la supervisión de la contaminación deben establecerse en función de las prácticas y procedimientos de cada laboratorio.

Para supervisar la contaminación del laboratorio, se puede realizar el siguiente procedimiento usando el kit de recogida de muestras de hisopado unisex Aptima para muestras de hisopado endocervical y uretral masculina:

1. Etiquete los tubos de transporte de hisopo con los números correspondientes a las áreas que se van a analizar.
2. Extraiga el hisopo para recogida de muestras (aplicador azul con impresiones verdes) de su envase, humedezca el hisopo en el medio de transporte de hisopo y páselo por el área designada con un movimiento circular.
3. Inserte inmediatamente el hisopo en el tubo de transporte.
4. Quiebre con cuidado el bastoncillo del hisopo en la línea marcada; tenga cuidado de que el contenido no salpique.
5. Vuelva a tapar bien el tubo de transporte de hisopo.
6. Repita los pasos del 2 al 5 en todas las áreas en las que se vaya a aplicar el hisopo.

Si los resultados son positivos o equívocos para CT o GC, consulte *Interpretación de la prueba – Resultados de control de calidad y del paciente*. Para obtener información adicional específica para el Panther System sobre el control de la contaminación, consulte al servicio técnico de Hologic.

Interpretación de la prueba – Resultados de control de calidad y del paciente

A. Interpretación de la prueba

El software del Aptima Assay interpreta automáticamente los resultados de la prueba utilizando el protocolo Aptima Combo 2 y los presenta como resultados de pruebas de CT y GC individuales. Un resultado de prueba puede ser negativo, equívoco, positivo, o no válido, de acuerdo con el tipo cinético y las RLU totales en el paso de detección (véase más adelante). Un resultado de prueba puede ser no válido por encontrarse algún parámetro fuera de los rangos normales esperados. Los resultados iniciales equívocos o no válidos de la prueba deben volverse a analizar.

Tipo cinético	RLU totales (x1000) para dar resultado CT		
	Negativo	Equívoco	Positivo
Sólo CT	1 a < 25	25 a < 100	100 a < 4.500
CT y GC	1 a < 85	85 a < 250	250 a < 4.500
CT indeterminado	1 a < 85	85 a < 4.500	ND

Tipo cinético	RLU totales (x1000) para dar resultado GC		
	Negativo	Equívoco	Positivo
Sólo GC	1 a < 60	60 a < 150	150 a < 4.500
GC y CT	1 a < 85	85 a < 250	250 a < 4.500
GC indeterminado	1 a < 85	85 a < 4.500	ND

B. Resultados del control de calidad y validez

El Control positivo, CT / Control negativo, GC y el Control positivo, GC / Control negativo, CT actúan como controles en los pasos de captura de dianas, amplificación y detección del ensayo. En cumplimiento de las directrices o requisitos de las normativas locales, regionales y/o nacionales o de las organizaciones de acreditación, se pueden incluir controles adicionales para lisis celular y estabilización del RNA. El Control positivo, CT / Control negativo, GC sirve como control negativo para los resultados de prueba de GC. El Control positivo, GC / Control negativo, CT sirve como control negativo para los resultados de prueba de CT. Si se desea, se puede añadir un control negativo doble proporcionado por el usuario para supervisar la señal de fondo del ensayo. La preparación correcta de las muestras se confirma visualmente por la presencia de un solo hisopo de recogida Aptima en un tubo de transporte de muestras en hisopo, un volumen final de orina entre las líneas de llenado negras de un tubo de transporte de muestras de orina, o la ausencia de un hisopo en un tubo de transferencia de muestras Aptima para muestras de Pap en solución PreservCyt.

Los controles positivos deben producir los siguientes resultados de la prueba:

Control	RLU totales (x1000)	Resultado de CT	Resultado de GC
Control positivo, CT/ Control negativo, GC	≥ 100 y < 3.000	Positivo	Negativo

Control positivo, GC/ Control negativo, CT	≥ 150 y < 3.000	Negativo	Positivo
---	-----------------	----------	----------

1. El software del Aptima Assay evalúa automáticamente los controles conforme a los criterios anteriores y presenta el estado del ciclo como aprobado (PASS) si se cumplen los criterios del control del ciclo o como fallido (FAIL) si los criterios no se cumplen.
2. Si el estado del ciclo es FAIL, todos los resultados de la prueba en el mismo ciclo son no válidos y no se deben registrar.
3. Cada laboratorio deberá poner en práctica los procedimientos de control adecuados para satisfacer los requisitos de las normativas CLIA (sección 493.1256).

Nota: Consulte *Solución de problemas o póngase en contacto con el servicio técnico de Hologic para recibir asistencia con los controles fuera de rango de los sistemas DTS.*

4. Un parámetro del Tigris DTS System permite a cada centro especificar una frecuencia de «encuadre de controles», lo cual permite colocar conjuntos de controles adicionales a intervalos definidos dentro de la lista de trabajo. Si se especifica este parámetro, el Tigris DTS System requerirá que se coloque un conjunto de controles después del número de muestras definido en el encuadre de control. El Tigris DTS System evalúa automáticamente cada control de la lista de trabajo de acuerdo con los criterios anteriores e invalidará todas las muestras en el encuadre o los encuadres de controles afectados si no se cumplen los criterios de los controles. Consulte el *Tigris DTS System Operator's Manual* (Manual del usuario del Tigris DTS System) para información adicional.
5. Los controles negativos puede que no sean efectivos en la monitorización del arrastre aleatorio de contaminación. Consulte *Rendimiento analítico del Tigris DTS System* para conocer los resultados procedentes de un estudio de arrastre analítico de diana de alta concentración que se realizó para demostrar el control de la contaminación cruzada en el Tigris DTS System. Consulte *Rendimiento analítico del Panther System* para conocer los resultados procedentes de un estudio de arrastre analítico de diana de alta concentración que se realizó para demostrar el control de la contaminación cruzada en el Panther System.

C. Control de preparación de muestras (opcional)

El Control positivo, CT / Control negativo, GC y el Control positivo, GC / Control negativo, CT proporcionados en el kit actúan como controles en los pasos de captura de dianas, amplificación y detección del ensayo, y deben incluirse en cada ciclo del ensayo. Si se desea, se pueden analizar controles para lisis celular y estabilización del RNA en medios de transporte adecuados (solución PreservCyt, STM) de acuerdo con los requisitos de las organizaciones de acreditación pertinentes o los procedimientos de cada laboratorio. Las muestras con un resultado positivo conocido pueden servir de controles si se preparan y analizan junto con muestras desconocidas. Las muestras utilizadas como controles de preparación deben almacenarse, manipularse y analizarse conforme a las instrucciones del prospecto. Los controles de preparación de muestras deben interpretarse de la misma forma que las muestras de pruebas de pacientes. Consulte *Interpretación de la prueba – Resultados de control de calidad y del paciente, Resultados de pruebas de pacientes.*

D. Resultados de pruebas de pacientes

1. Si los controles de un ciclo no generan los resultados esperados, no deben registrarse los resultados de la prueba en muestras de pacientes en ese mismo ciclo.
2. Resultados de muestras de hisopado, de Pap en solución PreservCyt y de orina. (Consulte a continuación).

a. Resultados iniciales

CT pos	Positivo para rRNA de CT.
CT neg	Supuestamente negativo para rRNA de CT.
CT Equiv	La muestra debe volverse a analizar.
GC pos	Positivo para rRNA de GC.
GC neg	Supuestamente negativo para rRNA de GC.
GC equiv	La muestra debe volverse a analizar.
No válido	La muestra debe volverse a analizar.

b. Resultados de la prueba repetida

CT pos	Positivo para rRNA de CT.
CT neg	Supuestamente negativo para rRNA de CT.
CT equiv	Indeterminado, se debe recoger una nueva muestra.
GC pos	Positivo para rRNA de GC.
GC neg	Supuestamente negativo para GC rRNA.
GC equiv	Indeterminado, se debe recoger una nueva muestra.
No válido	Indeterminado, se debe recoger una nueva muestra.

Notas:

- Se recomienda ponderar cuidadosamente los datos de rendimiento al interpretar los resultados del Aptima HPV Assay para individuos asintomáticos o para cualquier individuo de poblaciones con baja prevalencia.
- El primer resultado válido de cada analito es el resultado que debe registrarse.
- Un resultado negativo no impide la presencia de una infección CT o GC ya que los resultados dependen de una recogida de muestras correcta, de la ausencia de inhibidores y de si se detecta suficiente rRNA. Los resultados de la prueba pueden verse afectados por la recogida y almacenamiento incorrectos de la muestra, un error técnico o la confusión de muestras.
- Como sucede con todos los métodos de no cultivo, una muestra positiva obtenida de un paciente después de un tratamiento terapéutico no puede interpretarse como indicativa de la presencia de CT o GC viables.
- Como sucede con todos los métodos de análisis de orina, un resultado de orina negativo para una paciente clínicamente sospechosa de padecer una infección clamidial o gonocócica no descarta la presencia de CT o GC en el tracto genitourinario. En tales casos se recomienda analizar una muestra endocervical. Así mismo, un resultado de orina negativo para GC procedente de una mujer tiene un valor predictivo negativo inferior al de un resultado de hisopado endocervical.
- Se recomienda analizar una muestra endocervical en pacientes femeninas clínicamente sospechosas de padecer una infección clamidial o gonocócica. Si se recogen ambas muestras, de Pap y de hisopado endocervical, la muestra de Pap en solución PreservCyt debe recogerse antes de la muestra de hisopado endocervical.

Limitaciones

- A. El uso de este ensayo está limitado al personal con la debida formación para realizar el procedimiento. El incumplimiento de las instrucciones indicadas en este prospecto puede producir resultados equívocos.
- B. Las muestras de hisopado se evaluaron en el Aptima Combo 2 Assay en los sistemas DTS para determinar la interferencia por sangre, lubricantes ginecológicos y espermicidas. Se evaluaron muestras de orina para determinar la interferencia por sangre, vitaminas usadas habitualmente, minerales y analgésicos de venta libre. La interferencia de sangre también se evaluó en el Tigris DTS System y en el Panther System. Las muestras de hisopado también se evaluaron en el Panther System para determinar la interferencias de medicación para úlceras bucales, bálsamos labiales, antitusígenos, pasta de dientes, enjuagues bucales, crema hemorroidal, laxantes, antidiarreicos, antiácidos y heces. Los datos indican que estas sustancias no interfieren en el ensayo.
- C. No se han evaluado los efectos del uso de tampones, lavados vaginales y variables de recogida de muestras para determinar su impacto en la detección de CT o GC.
- D. La presencia de mucosidad en muestras endocervicales no interfiere en la detección de CT o GC con el Aptima Combo 2 Assay. Sin embargo, para garantizar la recogida de células infectadas con CT, deben recogerse muestras de las células epiteliales cilíndricas que recubren el endocérnix. Si no se elimina el exceso de mucosidad, la recogida de muestras de estas células no está garantizada.
- E. Este ensayo se ha analizado usando sólo las siguientes muestras:
- Muestras de hisopado endocervical, vaginal, uretral masculina, faríngea y rectal recogidas por el médico
 - Muestras de Pap en solución PreservCyt recogidas por el médico
 - Muestras de hisopado vaginal, rectal y faríngeo recogidas por la paciente
 - Muestras de orina masculinas y femeninas recogidas por el/la paciente

No se ha evaluado el rendimiento con muestras distintas a las recogidas con los siguientes kits de recogida de muestras:

- Kit de recolección de muestras de hisopado unisex Aptima para muestras de hisopado endocervical y muestras de hisopado uretral masculino
 - Kit de recolección de orina Aptima para muestras de orina masculinas y femeninas
 - Kit de recolección de muestras de hisopado multitest Aptima
 - Kit de transporte de muestras Aptima (para utilizar con muestras ginecológicas recogidas en solución PreservCyt)
- F. La recogida de muestras de orina, de hisopado vaginal y de Pap en solución PreservCyt no está concebida para sustituir los exámenes cervicouterinos y a las muestras endocervicales para el diagnóstico de infecciones del aparato genitourinario femenino. Las pacientes pueden padecer cervicitis, uretritis, infecciones de las vías urinarias o infecciones vaginales debido a otras causas o infecciones simultáneas con otros agentes.

- G. El Aptima Combo 2 Assay no pretende servir para la evaluación de sospechas de abusos sexuales ni para otras indicaciones médico-legales. En aquellas pacientes en las que un resultado falso positivo pueda tener un impacto psicológico o social adverso, el CDC recomienda repetir la prueba (8).
- H. La fiabilidad de los resultados depende de la recogida adecuada de las muestras. Dado que el sistema de transporte que se utiliza para este ensayo no permite la valoración microscópica de la idoneidad de las muestras, los clínicos deben recibir formación en las técnicas de recolección de muestras adecuadas. Consulte el prospecto del kit de recogida de muestras de Hologic correspondiente.
- I. El fracaso o éxito terapéutico no se puede determinar con el Aptima Combo 2 Assay, ya que el ácido nucleico puede persistir tras un tratamiento antimicrobiano adecuado.
- J. Los resultados del Aptima Combo 2 Assay deben interpretarse junto con otros datos de laboratorio y clínicos a disposición del clínico.
- K. Un resultado negativo no descarta una posible infección ya que los resultados dependen de una recolección de muestras correcta. Los resultados de la prueba pueden verse afectados por la recogida incorrecta de la muestra, un error técnico, la confusión de muestras o niveles de diana por debajo del límite de detección del ensayo.
- L. El Aptima Combo 2 Assay proporciona resultados cualitativos. Por lo tanto, no se puede establecer una correlación entre la magnitud de una señal positiva del ensayo y el número de organismos existentes en la muestra.
- M. Para los estudios clínicos con muestras de hisopado vaginal, de hisopado endocervical, de hisopado uretral masculino y de orina, las características de rendimiento en la detección de CT y GC proceden de poblaciones con alta prevalencia. Los resultados positivos en poblaciones de baja prevalencia deben interpretarse con cautela sin olvidar que la probabilidad de un positivo falso puede ser mayor que la de un positivo real.
- N. Para los estudios clínicos de muestras de Pap en solución PreservCyt, el rendimiento del Aptima Combo 2 Assay en la detección de CT y GC se deriva principalmente de poblaciones con baja prevalencia. No obstante, los resultados positivos en poblaciones con baja prevalencia deben interpretarse con cautela sin olvidar que la probabilidad de un positivo falso puede ser mayor que la de un positivo real.
- O. El rendimiento del kit de transferencia de muestras Aptima no se ha evaluado para analizar la muestra de Pap en solución PreservCyt tanto antes como después del Pap con ThinPrep.
- P. Las muestras de Pap en solución PreservCyt procesadas con otros instrumentos diferentes del ThinPrep 2000 o del ThinPrep 5000 no han sido evaluadas para su uso en Aptima Assays.
- Q. Las muestras de hisopado vaginal recogidas por la paciente son una opción para el cribado de mujeres cuando el examen pélvico no está indicado.
- R. Las aplicaciones de las muestras de hisopado vaginal, faríngeo y rectal recogidas por el paciente se limitan a centros médicos que cuenten con los recursos y el asesoramiento para explicar los procedimientos y las precauciones.
- S. El Aptima Combo 2 Assay no ha sido validado para su uso con muestras recogidas por las pacientes en su domicilio.

- T. No se ha evaluado el rendimiento del Aptima Combo 2 assay en adolescentes de menos de 14 años de edad.
- U. No se ha determinado el rendimiento del Tigris DTS System a altitudes superiores a los 2240 m (7355 pies). En laboratorios situados a altitudes superiores a los 2240 m (7355 pies) se realizarán verificaciones volumétricas y estudios específicos del ensayo adicionales antes de la instalación y del proceso de validación, o como parte de los mismos.
- V. No se ha evaluado el rendimiento del Panther System a altitudes superiores a los 2000 m (6561 pies).
- W. No hay evidencia de degradación de los ácidos nucleicos en la solución PreservCyt. Si una muestra de Pap en solución PreservCyt tiene cantidades pequeñas de material celular CT y GC, puede producirse una distribución desigual de este material celular. Además, en comparación con la recogida directa de las muestras con el medio de transporte de hisopado Aptima, el volumen adicional de la solución PreservCyt produce una mayor dilución del material de la muestra. Estos factores pueden afectar a la capacidad para detectar pequeñas cantidades de organismos en el material recogido. Si los resultados negativos de la muestra no concuerdan con la impresión clínica, puede ser necesario recoger una nueva muestra.
- X. Los clientes deberán validar independientemente un proceso de transferencia LIS.

Valores esperados de los sistemas DTS**Prevalencia**

La prevalencia de la enfermedad CT y/o GC en poblaciones de pacientes depende de factores de riesgo tales como la edad, el sexo, la presencia de síntomas, el tipo de clínica y el método de prueba. En las Tablas 1a, 1b y 1c se muestra un resumen de la prevalencia de tres resultados de enfermedades por CT y GC, de acuerdo con el Aptima Combo 2 Assay, para tres estudios clínicos multicéntricos por centro clínico y en general.

Prevalencia de la enfermedad de *C. trachomatis* y/o de *N. gonorrhoeae* de acuerdo con los resultados del Aptima Combo 2 Assay por centro clínico.

Tabla 1a: Muestras de hisopado endocervical y uretral masculino y muestras de orina

Centro	Hisopado endocervical y uretral masculino						Orina					
	% prevalencia (N° positivos/N° analizadas)						% prevalencia (N° positivos/N° analizadas)					
	CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+		CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+	
1	10,0	(39/392)	12,8	(50/392)	14,5	(57/392)	8,4	(33/395)	12,9	(51/395)	13,9	(55/395)
2	7,0	(13/186)	12,9	(24/186)	6,5	(12/186)	5,3	(13/245)	13,9	(34/245)	8,6	(21/245)
3	10,4	(48/462)	22,9	(106/462)	14,3	(66/462)	10,3	(48/465)	20,9	(97/465)	12,7	(59/465)
4	3,3	(9/270)	12,2	(33/270)	7,0	(19/270)	3,3	(9/270)	11,5	(31/270)	6,7	(18/270)
5	1,9	(10/533)	8,4	(45/533)	2,3	(12/533)	2,1	(12/567)	9,4	(53/567)	1,8	(10/567)
6	6,3	(43/678)	12,8	(87/678)	16,2	(110/678)	5,9	(40/681)	10,9	(74/681)	13,5	(92/681)
7	4,4	(11/252)	8,7	(22/252)	21,8	(55/252)	4,1	(12/295)	9,2	(27/295)	18,0	(53/295)
Todos	6,2	(173/2773)	13,2	(367/2773)	11,9	(331/2773)	5,7	(167/2918)	12,6	(367/2918)	10,6	(308/2918)

Tabla 1b: Muestras de hisopado vaginal recogidas por la paciente y recogidas por el médico

Centro	Muestra de hisopado vaginal recogida por la paciente						Hisopado vaginal recogido por el médico					
	% prevalencia (N.º positivos/N.º analizadas)						% prevalencia (N.º positivos/N.º analizadas)					
	CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+		CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+	
1	1,8	(4/220)	16,4	(36/220)	4,1	(9/220)	3	(7/230)	15,7	(36/230)	3,5	(8/230)
2	9,6	(19/198)	18,7	(37/198)	6,6	(13/198)	9,5	(19/199)	18,1	(36/199)	7	(14/199)
3	0,9	(1/111)	9	(10/111)	2,7	(3/111)	0,9	(1/113)	9,7	(11/113)	1,8	(2/113)
4	0,4	(1/266)	9	(24/266)	1,9	(5/266)	0,4	(1/267)	11,2	(30/267)	2,2	(6/267)
5	0,5	(1/199)	7,5	(15/199)	0,5	(1/199)	0,5	(1/199)	7	(14/199)	0,5	(1/199)
6	2,8	(8/290)	10	(29/290)	5,5	(16/290)	2	(6/296)	12,2	(36/296)	5,4	(16/296)
7	0	(0/102)	11,8	(12/102)	0	(0/102)	0	(0/102)	9,8	(10/102)	0	(0/102)
8	0	(0/48)	8,3	(4/48)	2,1	(1/48)	0	(0/51)	7,8	(4/51)	2	(1/51)
Todos	2,4	(34/1434)	11,6	(167/1434)	3,3	(48/1434)	2,4	(35/1457)	12,1	(177/1457)	3,3	(48/1457)

Tabla 1c: Muestra de Pap en solución PreservCyt

Centro	Pap en solución PreservCyt % prevalencia (N.º positivos/N.º)		
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+
1	3,0 (3/100)	13,0 (13/100)	2,0 (2/100)
2	0 (0/124)	3,2 (4/124)	0,8 (1/124)
3	0,4 (2/475)	6,1 (29/475)	0,4 (2/475)
4	0,4 (1/287)	4,2 (12/287)	0 (0/287)
5	0 (0/297)	5,1 (15/297)	1,0 (3/297)
6	0 (0/364)	5,5 (20/364)	0,6 (2/364)
Todos	0,4 (6/1647)	5,6 (93/1647)	0,6 (10/1647)

Las prevalencias de CT y GC se calcularon usando los resultados del Aptima Combo 2 Assay de la muestra de Pap en solución PreservCyt.

Valores predictivos positivos y negativos para tasas de prevalencia hipotéticas en Norteamérica

Los valores predictivos positivos y negativos (VPP y VPN) calculados para diferentes tasas de prevalencia con el Aptima Combo 2 Assay se muestran en las Tablas 2 y 3 para CT y GC, respectivamente. Estos cálculos se basan en una prevalencia hipotética y en la sensibilidad y especificidad generales calculadas a partir del estado de infección del paciente para dos estudios clínicos multicéntricos. La sensibilidad y la especificidad generales para CT fueron del 96,1 % y el 98,0 %, respectivamente (Tabla 2). La sensibilidad y la especificidad generales para GC fueron del 97,8 % y el 99,2 %, respectivamente (Tabla 3). El VPP y el VPN reales calculados con los datos del ensayo clínico se muestran en las Tablas 6a y 10a (muestras de hisopado y orina), las Tablas 6b y 10b (muestras de hisopado vaginal), y las Tablas 6c y 10c (muestras de Pap en solución PreservCyt).

Tabla 2: VPP y VPN hipotéticos para CT

Tasa de prevalencia (%)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Valor predictivo positivo (%)	Valor predictivo negativo (%)
1	96,1	98,0	33,1	100,0
2	96,1	98,0	50,0	99,9
5	96,1	98,0	72,0	99,8
10	96,1	98,0	84,5	99,6
15	96,1	98,0	89,6	99,3
20	96,1	98,0	92,4	99,0
25	96,1	98,0	94,2	98,7
30	96,1	98,0	95,4	98,3

Tabla 3: VPP y VPN hipotéticos para GC

Tasa de prevalencia (%)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Valor predictivo positivo (%)	Valor predictivo negativo (%)
1	97,8	99,2	55,3	100,0
2	97,8	99,2	71,4	100,0
5	97,8	99,2	86,6	99,9
10	97,8	99,2	93,2	99,7
15	97,8	99,2	95,6	99,6
20	97,8	99,2	96,8	99,4
25	97,8	99,2	97,6	99,2
30	97,8	99,2	98,1	99,0

Sistemas DTS Rendimiento clínico

Consulte *Concordancia de las muestras clínicas del TIGRIS DTS System* en la sección *Características de rendimiento analítico de los sistemas DTS* para el rendimiento clínico específico del Tigris DTS System.

Resultados del estudio clínico

El rendimiento del Aptima Combo 2 Assay en los sistemas DTS se determinó en tres estudios clínicos multicéntricos llevados a cabo en Norteamérica. El primer estudio clínico multicéntrico evaluó hisopados endocervicales y uretrales masculinos recogidos por el médico y muestras de orina masculina y femenina de 1.363 hombres y 1.569 mujeres inscritos en siete centros clínicos en diferentes localidades geográficas. El segundo estudio clínico multicéntrico evaluó muestras de hisopado vaginal recogidas por la paciente y recogidas por el médico procedentes de 1.464 mujeres inscritas en ocho centros clínicos en diferentes localidades geográficas. El tercer estudio clínico multicéntrico evaluó muestras de Pap en solución PreservCyt procedentes de 1.647 sujetos inscritos en seis centros clínicos. En los cálculos de rendimiento basados en el estado de síntomas, los sujetos se clasificaron como sintomáticos si manifestaban síntomas tales como secreciones, disuria y dolor pélvico. Los sujetos se clasificaron como asintomáticos si no manifestaron síntomas.

Estudio clínico de muestras de hisopado endocervical, de hisopado uretral masculino y de orina

En el estudio clínico multicéntrico de muestras de hisopado endocervical, de hisopado uretral y de orina, participaron 2.932 hombres y mujeres sintomáticos y asintomáticos que asistían a clínicas de ITS, obstetricia y ginecología y planificación familiar. Se recogieron hasta tres hisopados uretrales y una muestra de orina de hombres y cuatro hisopados endocervicales y una muestra de orina de mujeres. Para los hombres que suministraron un hisopado uretral, la prueba incluyó sólo cultivo de GC. Para los hombres que suministraron tres hisopados, la prueba incluyó cultivo de GC, el Aptima Combo 2 Assay y una NAAT para CT y GC disponible comercialmente. Las pruebas en hisopados endocervicales incluyeron el Aptima Combo 2 Assay, dos NAAT para CT disponibles comercialmente, una NAAT para GC disponible comercialmente y un cultivo de GC. Primero se recogió el hisopado de cultivo de GC y se aplicó una rotación al orden de recogida del resto de los hisopados para reducir al mínimo el margen de error de la recogida. La orina se analizó mediante el Aptima Combo 2 Assay, dos pruebas NAAT para CT disponibles comercialmente y un ensayo amplificado para GC disponible comercialmente. Los ensayos de amplificación disponibles comercialmente se usaron como ensayos de referencia en este estudio clínico del Aptima Combo 2 Assay.

Todos los cálculos de rendimiento se basaron en el número total de muestras de hisopado endocervical y uretral masculina y de orina masculina y femenina del Aptima Combo 2 Assay comparados con el algoritmo de estado de infección del paciente para cada sexo. En el algoritmo específico de cada sexo, la designación de un sujeto como infectado, no infectado o no concluyente se basó en los resultados combinados de la NAAT de referencia y los resultados de las pruebas de hisopado endocervical y uretral masculina y de orina. Para el estado de infección por CT, dos resultados positivos cualquiera en la NAAT de referencia con cualquier combinación de hisopado y de orina designan al sujeto como infectado. Si todos los resultados del ensayo de referencia fueran negativos, el sujeto quedaría designado como no infectado. Si existe un sólo resultado positivo, el sujeto queda designado como no concluyente. Para el estado de infección por GC, un cultivo positivo o resultados positivos de hisopado y de orina mediante el ensayo de referencia amplificado,

designan al sujeto como infectado. Un cultivo negativo y un resultado positivo único mediante el ensayo de referencia amplificado generaron un estado no concluyente. Si todos los resultados del ensayo de referencia fueran negativos, el sujeto quedaría designado como no infectado. Las Tablas 7a, 7b, 7c, 8, 11a, 11b, 11c, y 12 resumen la frecuencia de los resultados de prueba para las dos NAAT de referencia y el Aptima Combo 2 Assay para sujetos del estudio clínico.

Los resultados del Aptima Combo 2 Assay procedentes de muestras de hisopado endocervical y de hisopado uretral masculinas recogidas por el médico y de muestras de orina masculinas y femeninas se compararon con el algoritmo de estado de infección del paciente para la determinación de la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos. Se utilizaron un total de 15.661 resultados de la prueba de CT y 14.144 resultados de la prueba de GC en el análisis de los datos. La sensibilidad y la especificidad para CT por sexo, tipo de muestra y estado de síntomas se presentan en la Tabla 5a. La Tabla 6a presenta la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos del Aptima Combo 2 Assay para CT comparados con el estado de infección del paciente para cada centro clínico y en general. La sensibilidad y la especificidad para la detección de GC por sexo, tipo de muestra y estado de síntomas se presentan en la Tabla 9a. La Tabla 10a presenta la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos para GC del Aptima Combo 2 Assay comparados con el estado de infección del paciente para cada centro clínico y en general. Las muestras que dieron positivo en el Aptima Combo 2 Assay que tenían un estado de infección del paciente negativo (esto es, falsos positivos aparentes) se analizaron en ensayos alternativos de Hologic de amplificación para CT y GC. Estos ensayos amplifican secuencias de CT y GC que son diferentes de las amplificadas en el Aptima Combo 2 Assay. Las pruebas se realizaron en base a cada muestra (es decir, no necesariamente en muestras emparejadas de hisopado y de orina) y los resultados de los ensayos de amplificación alternativos no se utilizaron para cambiar las categorizaciones originales del paciente (Tablas 5a y 9a).

Se evaluaron muestras de hisopado endocervical para ver el impacto de la sangre en el rendimiento del ensayo CT y GC. De las 2.454 muestras evaluadas para rendimiento CT, 234 (el 9,5 %) tenían sangre. De las 2.829 muestras evaluadas para rendimiento GC, 247 (el 8,7 %) tenían sangre. Ni en el caso de CT ni en el de GC, el rendimiento del ensayo fue estadísticamente diferente para muestras con sangre comparadas con las muestras sin sangre. Se pueden encontrar datos adicionales sobre pruebas de sangre en *Sustancias interferentes*.

En el estudio clínico se evaluó el rendimiento del ensayo con muestras de hisopado endocervical y de orina procedentes de mujeres embarazadas. Para CT, la sensibilidad para las muestras de hisopado endocervical y de orina fue del 100 % (8/8) y del 100 % (8/8), respectivamente. La especificidad para las muestras de hisopado endocervical y de orina fue del 95,8 % (23/24) y del 100 % (24/24), respectivamente. Para GC, la sensibilidad para las muestras de hisopado endocervical y de orina fue del 100 % (8/8) y del 100 % (8/8), respectivamente. La especificidad para las muestras de hisopado endocervical y de orina fue del 100 % (26/26) y del 100 % (26/26), respectivamente.

De los 11.406 resultados del Aptima Combo 2 Assay procedentes de este estudio clínico multicéntrico, tres resultados de CT y nueve resultados de GC fueron equívocos en la repetición de la prueba y se excluyeron del análisis. Una muestra fue no válida para ambos resultados, CT y GC, y se la excluyó del estudio.

Estudio clínico de muestras de hisopado vaginal

En el estudio clínico multicéntrico de hisopado vaginal se inscribieron 1.464 mujeres sintomáticas y asintomáticas que asistían a clínicas de ITS, de Obstetricia y Ginecología, de adolescentes y de planificación familiar. De los 646 sujetos asintomáticos inscritos en el estudio, dos eran menores de 16 años de edad, 158 tenían edades entre 16 y 20, 231 entre 21 y 25, y 255 eran mayores de 25 años de edad. De los 818 sujetos sintomáticos inscritos en el estudio, 160 tenían edades entre 16 y 20, 324 entre 21 y 25, y 334 eran mayores de 25 años de edad. Se recogieron cinco muestras de cada paciente elegible: una muestra de orina, un hisopado vaginal recogido por la paciente, un hisopado vaginal recogido por el médico y dos hisopados endocervicales aleatorizados. Los resultados del Aptima Combo 2 Assay se generaron a partir de los dos hisopados vaginales, uno de los hisopados endocervicales y una alícuota de la muestra de orina. El segundo hisopado endocervical y una segunda alícuota de la muestra de orina se analizaron utilizando otra NAAT para CT disponible comercialmente y otra NAAT para GC disponible comercialmente. Las muestras de hisopado endocervical y de orina analizadas en el Aptima Combo 2 Assay y las otras NAAT disponibles comercialmente se utilizaron como pruebas NAAT de referencia para determinar el estado de infección de cada sujeto en el estudio clínico de muestras de hisopado vaginal. El análisis de las muestras se realizó en el centro de inscripción de los sujetos o en un centro de análisis externo.

Todos los cálculos de rendimiento se basaron en el número total de resultados de muestras de hisopado vaginal recogidas por la paciente y recogidas por el médico del Aptima Combo 2 Assay comparados con un algoritmo de estado de infección de la paciente. Se utilizaron un total de 2.073 resultados de la prueba de hisopado vaginal de CT y 2.073 resultados de la prueba de hisopado vaginal de GC en el análisis de los datos. En el algoritmo, la designación de un sujeto como infectado o no infectado con CT se basó en los resultados de muestras de hisopado endocervical y de orina procedentes del Aptima Combo 2 Assay disponible comercialmente y de la otra prueba NAAT disponible comercialmente. Los sujetos se consideraron infectados con CT si dos de las cuatro muestras de hisopado endocervical y de orina dieron positivo en el Aptima Combo 2 Assay y en la otra prueba NAAT de referencia (una muestra con resultado positivo en cada NAAT). Los sujetos se consideraron no infectados si menos de dos resultados de NAAT de referencia fueron positivos. Las Tablas 7b y 11b resumen el número de resultados de sujetos sintomáticos y asintomáticos designados como infectados o no infectados con CT o GC, respectivamente, de acuerdo con el algoritmo de estado de infección del paciente. Para este estudio clínico, se utilizaron dos NAAT disponibles comercialmente para determinar el estado de infección por GC. El cultivo no se utilizó como una prueba de referencia ya que el Aptima Combo 2 Assay ya se ha evaluado frente al cultivo para otros tipos de muestras (consulte *Estudio clínico de muestras de hisopado endocervical, de hisopado uretral masculino y de orina* para obtener detalles).

La sensibilidad y la especificidad para CT por sexo tipo de muestra y estado de síntomas se presentan en la Tabla 5b. La Tabla 6b presenta la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos del Aptima Combo 2 Assay para CT comparados con el estado de infección del paciente para cada centro clínico y en general. La sensibilidad y la especificidad para la detección de GC por sexo, tipo de muestra y estado de síntomas se presentan en la Tabla 9b. La Tabla 9b presenta la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos para GC del Aptima Combo 2 Assay comparados con el estado de infección del paciente para cada centro clínico y en general. Las muestras que dieron positivo en Aptima Combo 2 Assay y que tenían un estado de infección del paciente negativo (esto es, falsos positivos aparentes) se analizaron en ensayos TMA alternativos para CT y GC; estos ensayos TMA alternativos utilizan secuencias que difieren de las utilizadas en el Aptima Combo 2 Assay. Los resultados de los ensayos TMA alternativos no se utilizaron para cambiar las categorizaciones originales de los pacientes (Tablas 5b y 9b).

De los 1.464 sujetos inscritos, 13 eran sujetos con estado de paciente infectado por CT desconocido y 14 eran sujetos con estado de paciente infectado por GC desconocido. Los sujetos se designaron con un estado de infección del paciente desconocido si faltaban resultados que hacían imposible alcanzar una determinación concluyente sobre el estado de infección. Los resultados de estos sujetos no se incluyeron en ninguno de los cálculos de rendimiento. De los 5.782 resultados de muestras de hisopado vaginal del Aptima Combo 2 Assay procedentes del estudio clínico multicéntrico, hubo un pequeño porcentaje (28, 0,5 %) de muestras de hisopado vaginal que dio inicialmente un resultado no válido o equívoco para CT o GC al analizarse. Tras la repetición de la prueba, solo tres resultados de CT y dos de GC fueron equívocos y se excluyeron del análisis. No hubo muestras analizadas no válidas en la repetición de la prueba.

Estudio clínico de muestras de Pap en solución PreservCyt

Se realizó un estudio clínico multicéntrico prospectivo para evaluar el uso de la solución PreservCyt (un componente del sistema ThinPrep 2000) como medio alternativo para muestras ginecológicas para la detección de CT y GC. En el estudio clínico se evaluaron 1.647 mujeres sintomáticas y asintomáticas que asistían a clínicas de Obstetricia y Ginecología, de planificación familiar, de salud pública, de mujeres y de ITS. De las 1.647 sujetos disponibles, 1.288 eran asintomáticas y 359, sintomáticas. Las sujetos inscritas procedían de centros con una prevalencia de CT del 3,2 % al 14,0 % y una prevalencia de GC del 0 % al 5,0 %. Se recogieron dos muestras de cada sujeto elegible: una muestra de Pap en solución PreservCyt y una muestra de hisopado endocervical. Las muestras de Pap en solución PreservCyt se procesaron de acuerdo con el *ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual* (Manual del usuario del procesador ThinPrep 2000) y del prospecto del kit de transferencia de muestras Aptima. Una vez procesada la muestra de Pap en solución PreservCyt con el procesador ThinPrep 2000, la muestra se transfirió al kit de transferencia de muestras Aptima para su análisis con el Aptima Combo 2 Assay. Las muestras de Pap en solución PreservCyt y las muestras de hisopado endocervical se analizaron con el Aptima Combo 2 Assay.

La sensibilidad y la especificidad para muestras de Pap en solución PreservCyt se calcularon comparando los resultados con el algoritmo de estado de infección del paciente. En el algoritmo, la designación de un sujeto como infectado o no infectado con CT o GC se basó en los resultados de muestras de hisopado endocervical procedentes de dos pruebas NAAT disponibles comercialmente (Tablas 7c y 11c). Para CT, las NAAT de referencia incluyeron el Aptima Combo 2 Assay y el Aptima CT Assay. Para GC, las NAAT de referencia incluyeron el Aptima Combo 2 Assay y el Aptima GC Assay. Para establecer un paciente como infectado se requerían resultados positivos de ambas pruebas NAAT de referencia. Un paciente se estableció como *no infectado* si los resultados de las dos pruebas NAAT de referencia diferían o eran negativos.

La sensibilidad y la especificidad para CT en muestras de Pap en solución PreservCyt analizadas en el Aptima Combo 2 Assay por estado de síntomas y en general, se presentan en la Tabla 5c. Para CT, la sensibilidad general fue del 96,7 % (87/90). En pacientes sintomáticas y asintomáticas, la sensibilidad fue del 96,7 % (29/30) y del 96,7 % (58/60), respectivamente. La especificidad general para muestras de Pap en solución PreservCyt para CT fue del 99,2 % (1545/1557). En pacientes sintomáticas y asintomáticas, la especificidad fue del 98,5 % (324/329) y del 99,4 % (1221/1228), respectivamente. La Tabla 6c presenta los valores de sensibilidad y especificidad del Aptima Combo 2 Assay para CT en muestras de Pap en solución PreservCyt por centro clínico y en general. Para CT, el rango de sensibilidad abarcó desde el 92,9 % al 100 %. La especificidad abarcó desde el 97,7 % hasta el 100 %.

La sensibilidad y la especificidad para GC en muestras de Pap en solución PreservCyt analizadas en el Aptima Combo 2 Assay por estado de síntomas y en general, se presentan en la Tabla 9c. Para GC, la sensibilidad general fue del 92,3 % (12/13). En sujetos sintomáticas y asintomáticas, la sensibilidad fue del 100 % (7/7) y del 83,3 % (5/6), respectivamente. La especificidad general para muestras de Pap en solución PreservCyt para GC fue del 99,8 % (1630/1634). En sujetos sintomáticas y asintomáticas, la especificidad fue del 100 % (352/352) y del 99,7 % (1278/1282), respectivamente. La Tabla 10c presenta los valores de sensibilidad y especificidad del Aptima Combo 2 Assay para GC en muestras de Pap en solución PreservCyt por centro clínico y en general. Para GC, el rango de sensibilidad abarcó desde el 80,0 % al 100 %. La especificidad abarcó desde el 99,0 % hasta el 100 %.

La distribución de dispositivos de obtención de muestras cervicouterinas utilizados en este estudio clínico por centro clínico se resume en la Tabla 4.

Tabla 4: Resumen de los dispositivos de obtención de muestras cervicouterinas utilizados en el estudio de muestras de Pap en solución PreservCyt

Dispositivo de obtención de muestras cervicouterinas	Centro de recogida clínico						Total
	1	2	3	4	5	6	
Espátula/Cepillo citológico	0	124	475	287	57	364	1307
Dispositivo tipo escobilla	100	0	0	0	240	0	340

Tablas de rendimiento del *Chlamydia trachomatis*Sensibilidad y especificidad del *C. trachomatis*

Tabla 5a: Muestras del Aptima Combo 2 Assay frente a estado de infección del paciente

Muestra	Estado de síntomas	N	PR	PF ^a	NR	NF	Sensibilidad (IC 95 %)	Especificidad (IC 95 %)	
Hombres	Hisopado	Sint	676	190	15 ^a	464	7	96,4 % (92,8-98,6)	96,9 % (94,9-98,2)
		Asint	388	70	5 ^b	309	4	94,6 % (86,7-98,5)	98,4 % (96,3-99,5)
		Todos ¹	1065	260	20 ^c	774	11	95,9 % (92,9-98,0)	97,5 % (96,1-98,5)
	Orina	Sint	694	199	8 ^d	484	3	98,5 % (95,7-99,7)	98,4 % (96,8-99,3)
		Asint	400	77	4 ^e	316	3	96,3 % (89,4-99,2)	98,8 % (96,8-99,7)
		Todos ¹	1095	276	12 ^f	801	6	97,9 % (95,4-99,2)	98,5 % (97,4-99,2)
Mujeres	Hisopado	Sint	819	133	22 ^g	653	11	92,4 % (86,7-96,1)	96,7 % (95,1-97,9)
		Asint	569	61	6 ^h	501	1	98,4 % (91,3-100)	98,8 % (97,4-99,6)
		Todos ²	1389	195	28 ⁱ	1154	12	94,2 % (90,1-97,0)	97,6 % (96,6-98,4)
	Orina	Sint	821	136	8 ^j	668	9	93,8 % (88,5-97,1)	98,8 % (97,7-99,5)
		Asint	569	60	5 ^k	502	2	96,8 % (88,8-99,6)	99,0 % (97,7-99,7)
		Todos ²	1391	197	13 ^l	1170	11	94,7 % (90,7-97,3)	98,9 % (98,1-99,4)
Total	Hisopado	Sint	1495	323	37 ^m	1117	18	94,7 % (91,8-96,8)	96,8 % (95,6-97,7)
		Asint	957	131	11 ⁿ	810	5	96,3 % (91,6-98,8)	98,7 % (97,6-99,3)
		Todos ³	2454	455	48 ^o	1928	23	95,2 % (92,9-96,9)	97,6 % (96,8-98,2)
	Orina	Sint	1515	335	16 ^p	1152	12	96,5 % (94,0-98,2)	98,6 % (97,8-99,2)
		Asint	969	137	9 ^q	818	5	96,5 % (92,0-98,8)	98,9 % (97,9-99,5)
		Todos ³	2486	473	25 ^r	1971	17	96,5 % (94,5-98,0)	98,7 % (98,2-99,2)

PR = positivo real; PF = positivo falso; NR = negativo real; NF = negativo falso.

¹ Incluye 1 hombre del que no se conocían síntomas.

² Incluye 1 mujer de la que no se conocían síntomas.

³ Incluye 1 hombre y 1 mujer de los que no se conocían síntomas.

⁴ Los resultados de TMA alternativa para CT representan el N.º de resultados positivos/N.º de muestras analizadas:

a: 11/14; b: 3/5; c: 14/19; d: 4/8; e: 0/4; f: 4/12; g: 18/22; h: 4/6; i: 22/28; j: 2/8; k: 1/5; l: 3/13; m: 29/36; n: 7/11; o: 36/47; p: 6/16; q: 1/9 y r: 7/25.

Tabla 5b: Muestras de hisopado vaginal del Aptima Combo 2 Assay frente a estado de infección del paciente

Muestra	Estado de síntomas	N	PR	PF ¹	NR	NF	Sensibilidad (IC 95 %)	Especificidad (IC 95 %)	
Recogidas por la paciente	Hisopado vaginal	Asint	628	60	18 ^a	549	1	98,4 % (91,2-100)	96,8 % (95,0-98,1)
		Sint	809	111	25 ^b	669	4	96,5 % (91,3-99,0)	96,4 % (94,7-97,7)
Recogidas por el médico	Hisopado vaginal	Asint	636	59	16 ^c	559	2	96,7 % (88,7-99,6)	97,2 % (95,5-98,4)
		Todos	1445	170	41 ^d	1228	6	96,6 % (92,7-98,7)	96,8 % (95,6-97,7)

PR = positivo real; PF = positivo falso; NR = negativo real; NF = negativo falso.

¹ Los resultados de amplificación TMA alternativa para CT representan el N.º de resultados positivos/N.º de muestras analizadas: a: 15/18, b: 17/25, c: 15/16 y d: 32/41.

Tabla 5c: Muestras PreservCyt del Aptima Combo 2 Assay frente a estado de infección del paciente

Estado de síntomas	Resultado AC2/CT PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Sensibilidad (IC 95 %)	Especificidad (IC 95 %)
Asint	Positivo	58	1	0	6	96,7 % (88,5 - 99,6)	99,4 % (98,8 - 99,8)
	Negativo	2	1	12	1208		
	Total	60	2	12	1214		
Sint	Positivo	29	0	0	5	96,7 % (82,8 - 99,9)	98,5 % (96,5 - 99,5)
	Negativo	1	3	4	317		
	Total	30	3	4	322		
Todos	Positivo	87	1	0	11	96,7 % (90,6 - 99,3)	99,2 % (98,7 - 99,6)
	Negativo	3	4	16	1525		
	Total	90	5	16	1536		

+/+ = Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo ACT.

+/- = Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo ACT.

-/+ = Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo ACT.

-/- = Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical el ensayo ACT.

Rendimiento por centro clínico del *C. trachomatis*

Tabla 6a: Muestras del Aptima Combo 2 Assay frente a estado de infección del paciente

Muestra	Centro	N	PR	PF	NR	NF	Prev (%)	Sensibilidad (IC 95 %)	Especificidad (IC 95 %)	VPP (%)	VPN (%)
Hisopado	1	157	35	6	115	1	22,9	97,2 % (85,5-99,9)	95,0 % (89,5-98,2)	85,4	99,1
	2	93	19	2	72	0	20,4	100 % (82,4-100)	97,3 % (90,6-99,7)	90,5	100
	3	248	76	5	165	2	31,5	97,4 % (91,0-99,7)	97,1 % (93,3-99,0)	93,8	98,8
	4	51	12	1	38	0	23,5	100 % (73,5-100)	97,4 % (86,5-99,9)	92,3	100
	5	138	24	0	113	1	18,1	96,0 % (79,6-99,9)	100 % (96,8-100)	100	99,1
	6	353	74	6	268	5	22,4	93,7 % (85,8-97,9)	97,8 % (95,3-99,2)	92,5	98,2
	7	25	20	0	3	2	88,0*	90,9 % (70,8-98,9)	100 % (29,2-100)	100	60,0
	Todos	1065	260	20	774	11	25,4	95,9 % (92,9-98,0)	97,5 % (96,1-98,5)	92,9	98,6
Hombres											
Orina	1	157	35	6	115	1	22,9	97,2 % (85,5-99,9)	95,0 % (89,5-98,2)	85,4	99,1
	2	96	22	1	73	0	22,9	100 % (84,6-100)	98,6 % (92,7-100)	95,7	100
	3	249	78	2	169	0	31,3	100 % (95,4-100)	100 % (95,8-99,9)	97,5	100
	4	51	12	0	39	0	23,5	100 % (73,5-100)	98,8 % (91,0-100)	100	100
	5	162	31	2	129	0	19,1	100 % (88,8-100)	98,5 % (94,6-99,8)	93,9	100
	6	353	74	1	273	5	22,4	93,7 % (85,8-97,9)	99,6 % (98,0-100)	98,7	98,2
	7	27	24	0	3	0	88,9*	100 % (85,8-100)	100 % (29,2-100)	100	100
	Todos	1095	276	12	801	6	25,8	97,9 % (95,4-99,2)	98,5 % (97,4-99,2)	95,8	99,3
Hisopado	1	150	34	4	110	2	24,0	94,4 % (81,3-99,3)	96,5 % (91,3-99,0)	89,5	98,2
	2	81	11	1	68	1	14,8	91,7 % (61,5-99,8)	98,6 % (92,2-100)	91,7	98,6
	3	184	51	13	114	6	31,0	89,5 % (78,5-96,0)	89,8 % (83,1-94,4)	79,7	95,0
	4	196	27	2	167	0	13,8	100 % (87,2-100)	98,8 % (95,8-99,9)	93,1	100
	5	370	27	1	341	1	7,6	96,4 % (81,7-99,9)	99,7 % (98,4-100)	96,4	99,7
	6	274	35	7	230	2	13,5	94,6 % (81,8-99,3)	97,0 % (94,0-98,8)	83,3	99,1
	7	134	10	0	124	0	7,5	100 % (69,2-100)	100 % (97,1-100)	100	100
	Todos	1389	195	28	1154	12	14,9	94,2 % (90,1-97,0)	97,6 % (96,6-98,4)	87,4	99,0
Mujeres											
Orina	1	150	34	4	110	2	24,0	94,4 % (81,3-99,3)	96,5 % (91,3-99,0)	89,5	98,2
	2	81	12	1	68	0	14,8	100 % (73,5-100)	98,6 % (92,2-100)	92,3	100
	3	185	54	3	125	3	30,8	94,7 % (85,4-98,9)	97,7 % (93,3-99,5)	94,7	97,7
	4	196	24	2	167	3	13,8	88,9 % (70,8-97,6)	98,8 % (95,8-99,9)	92,3	98,2
	5	369	28	2	338	1	7,9	96,6 % (82,2-99,9)	99,4 % (97,9-99,9)	93,3	99,7
	6	276	35	1	238	2	13,4	94,6 % (81,8-99,3)	99,6 % (97,7-100)	97,2	99,2
	7	134	10	0	124	0	7,5	100 % (69,2-100)	100 % (97,1-100)	100	100
	Todos	1391	197	13	1170	11	15,0	94,7 % (90,7-97,3)	98,9 % (98,1-99,4)	93,8	99,1

PR = positivo real; PF = positivo falso; NR = negativo real; NF = negativo falso.

*Prevalencia sobreestimada debido a una recogida inicial limitada al cribado para la selección de sujetos sintomáticos.

Tabla 6b: Muestras de hisopado vaginal del Aptima Combo 2 Assay frente a estado de infección del paciente

Muestra	Centro	N	PR	PF	NR	NF	Prev. (%)	Sensibilidad (IC 95 %)	Especificidad (IC 95 %)	VPP (%)	VPN (%)	
Recogidas por la paciente	Hisopado vaginal	1	70	14	3	53	0	20,0	100 % (76,8-100)	94,6 % (85,1-98,9)	82,4	100
		2	45	13	3	29	0	28,9	100 % (75,3-100)	90,6 % (75,0-98,0)	81,3	100
		3	45	4	2	39	0	8,9	100 % (39,8-100)	95,1 % (83,5-99,4)	66,7	100
		4	152	6	3	142	1	4,6	85,7 % (42,1-99,6)	99,7 % (94,1-99,6)	66,7	99,3
		5	130	7	3	120	0	5,4	100 % (59,0-100)	97,6 % (93,0-99,5)	70,0	100
		6	75	8	2	65	0	10,7	100 % (63,1-100)	97,0 % (89,6-99,6)	80,0	100
		7	68	5	1	62	0	7,4	100 % (47,8-100)	98,4 % (91,5-100)	83,3	100
		8	43	3	1	39	0	7,0	100 % (29,2-100)	97,5 % (86,8-99,9)	75,0	100
		Todos	628	60	18	549	1	9,7	98,4 % (91,2-100)	96,8 % (95,0-98,1)	76,9	99,8
Recogidas por el médico	Hisopado vaginal	1	227	34	9	182	2	15,9	94,4 % (81,3-99,3)	95,3 % (91,2-97,8)	79,1	98,9
		2	196	50	5	139	2	26,5	96,2 % (86,8-99,5)	96,5 % (92,1-98,9)	90,9	98,6
		3	113	9	3	101	0	8,0	100 % (66,4-100)	97,1 % (91,8-99,4)	75,0	100
		4	262	19	11	231	1	7,6	95,0 % (75,1-99,9)	95,5 % (92,0-97,7)	63,3	99,6
		5	199	13	2	184	0	6,5	100 % (75,3-100)	98,9 % (96,2-99,9)	86,7	100
		6	296	33	9	254	0	11,1	100 % (89,4-100)	96,6 % (93,6-98,4)	78,6	100
		7	102	9	1	91	1	9,8	90,0 % (55,5-99,7)	98,9 % (94,1-100)	90,0	98,9
		8	50	3	1	46	0	6,0	100 % (29,2-100)	97,9 % (88,7-99,9)	75,0	100
		Todos	1445	170	41	1228	6	12,2	96,6 % (92,7-98,7)	96,8 % (95,6-97,7)	80,6	99,5

PR = positivo real; PF = positivo falso; NR = negativo real; NF = negativo falso.

Tabla 6c: Muestras PreservCyt del Aptima Combo 2 Assay frente a estado de infección del paciente

Centro	Resultado AC2/CT PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Prev (%)	Sensibilidad (IC 95 %)	Especificidad (IC 95 %)	VPP (%)	VPN (%)
1	Positivo	14	0	0	2	14,0	100 % (76,8 - 100)	97,7 % (91,9 - 99,7)	87,5	100
	Negativo	0	0	1	83					
	Total	14	0	1	85					
2	Positivo	4	0	0	0	3,2	100 % (39,8 - 100)	100 % (97,0 - 100)	100	100
	Negativo	0	0	2	118					
	Total	4	0	2	118					
3	Positivo	29	0	0	2	6,5	93,5 % (78,6 - 99,2)	99,5 % (98,4 - 99,9)	93,5	99,5
	Negativo	2	0	2	440					
	Total	31	0	2	442					
4	Positivo	8	1	0	4	2,8	100 % (63,1 - 100)	98,2 % (95,9 - 99,4)	61,5	100
	Negativo	0	2	1	271					
	Total	8	3	1	275					
5	Positivo	13	0	0	2	4,7	92,9 % (66,1 - 99,8)	99,3 % (97,5 - 99,9)	86,7	99,6
	Negativo	1	1	4	276					
	Total	14	1	4	278					
6	Positivo	19	0	0	1	5,2	100 % (82,4 - 100)	99,7 % (98,4 - 100)	95,0	100
	Negativo	0	1	6	337					
	Total	19	1	6	338					
Todos	Positivo	87	1	0	11	5,5	96,7 % (90,6 - 99,3)	99,2 % (98,7 - 99,6)	87,9	99,8
	Negativo	3	4	16	1525					
	Total	90	5	16	1536					

+/+ = Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo ACT.

+/- = Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo ACT.

-/+ = Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo ACT.

-/- = Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo ACT.

Chlamydia trachomatis Análisis para estado de infección de paciente femenino**Tabla 7a: Muestra de hisopado endocervical y de orina**

Estado de infección del paciente	NAAT 1		NAAT 2		Aptima Combo 2 Assay		Estado de síntomas	
	OF	HF	OF	HF	OF	HF	Sint	Asint
Infectado	ND	ND	+	+	+	+	1	0
Infectado	ND	+	ND	+	+	+	1	0
Infectado	ND	+	+	+	-	+	0	1
Infectado	-	+	ND	+	-	+	1	0
Infectado	-	+	-	+	-	+	4	0
Infectado	-	+	-	+	+	+	6	1
Infectado	-	+	+	+	-	+	1	0
Infectado	-	+	+	+	+	+	7	3
Infectado	+	ND	+	+	+	+	1	0
Infectado	+	-	ND	+	+	-	1	0
Infectado	+	-	+	-	-	-	1	0
Infectado	+	-	+	-	+	-	7	1
Infectado	+	-	+	-	+	+	2	1
Infectado	+	-	+	+	+	-	1	0
Infectado	+	-	+	+	+	+	3	3
Infectado	+	+	ND	+	+	+	6	2
Infectado	+	+	-	ND	+	+	1	0
Infectado	+	+	-	+	+	+	7	3
Infectado	+	+	+	ND	+	+	1	0
Infectado	+	+	+	-	+	+	2	2
Infectado	+	+	+	+	-	-	1	0
Infectado	+	+	+	+	-	+	1	1
Infectado	+	+	+	+	+	ND	1	0
Infectado	+	+	+	+	+	+	88	44
No infectado	-	-	-	-	ND	-	1	1
No infectado	-	-	-	-	-	ND	2	1
No infectado	-	-	-	-	-	-	648	497
No infectado	-	-	-	-	-	+	18	4
No infectado	-	-	-	-	+	-	4	3
No infectado	-	-	-	-	+	+	4	2
Total							822	570

OF = orina femenina; HF = hisopado endocervical femenino.

«ND» representa muestra no obtenida o no disponible para análisis.

Tabla 7b: Muestra de hisopado vaginal recogida por la paciente y recogida por el médico

Estado de infección del paciente	NAAT 1		NAAT 2 (Aptima Combo 2)		Aptima Combo 2 Assay		Estado de síntomas		Total
	HF	OF	HF	OF	HVP	HVM	Sint	Asint	
Infectado	+	+	+	+	+	+	79	43	122
Infectado	+	+	+	+	+	-	0	1	1
Infectado	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infectado	+	+	+	+	ND	-	1	0	1
Infectado	+	-	+	+	+	+	8	5	13
Infectado	+	-	+	+	-	-	1	0	1
Infectado	+	-	+	+	ND	+	1	0	1
Infectado	+	=	+	+	+	+	1	0	1
Infectado	-	+	+	+	+	+	8	3	11
Infectado	-	+	+	+	-	-	1	0	1
Infectado	-	-	+	+	+	+	1	2	3
Infectado	-	ND	+	+	+	+	1	0	1
Infectado	+	+	+	-	+	+	5	3	8
Infectado	+	-	+	-	+	+	5	0	5
Infectado	+	-	+	-	-	+	2	0	2
Infectado	+	+	-	+	+	+	0	1	1
Infectado	-	+	-	+	+	+	1	4	5
Infectado	-	+	-	+	+	-	1	0	1
Infectado	-	+	-	+	-	-	0	1	1
No infectado	-	-	+	-	+	+	0	4	4
No infectado	-	-	+	-	+	-	2	1	3
No infectado	-	-	+	-	-	+	2	1	3
No infectado	-	-	+	-	-	-	6	4	10
No infectado	-	-	+	-	ND	+	1	0	1
No infectado	-	-	+	-	ND	-	1	0	1
No infectado	-	-	-	+	+	+	4	2	6
No infectado	-	-	-	+	+	-	1	0	1
No infectado	-	-	-	+	-	-	0	2	2
No infectado	+	-	-	-	-	-	1	1	2
No infectado	-	+	-	-	-	-	1	2	3
No infectado	-	-	-	-	+	+	3	2	5
No infectado	-	-	-	-	+	-	2	7	9
No infectado	-	-	-	-	-	+	12	3	15
No infectado	-	-	-	-	-	-	623	516	1139
No infectado	-	-	-	-	-	ND	0	2	2
No infectado	-	-	-	-	-	=	1	0	1
No infectado	-	-	-	-	ND	+	0	1	1
No infectado	-	-	-	-	ND	-	11	8	19
No infectado	-	-	-	-	ND	ND	1	0	1
No infectado	-	-	-	-	ND	=	0	1	1
No infectado	-	-	-	-	=	+	0	1	1
No infectado	-	ND	-	-	-	-	2	2	4
No infectado	-	ND	-	-	ND	-	0	1	1
No infectado	-	=	-	-	-	-	12	9	21
No infectado	-	=	-	-	-	ND	0	1	1
No infectado	=	-	-	-	-	-	1	1	2
No infectado	-	-	-	ND	-	-	0	1	1
No infectado	-	-	ND	-	-	-	5	4	9
No infectado	-	-	=	-	-	+	1	0	1

Tabla 7b: Muestra de hisopado vaginal recogida por la paciente y recogida por el médico (continuación)

Estado de infección del paciente	NAAT 1		NAAT 2 (Aptima Combo 2)		Aptima Combo 2 Assay		Estado de síntomas		Total
	HF	OF	HF	OF	HVP	HVM	Sint	Asint	
No infectado	-	-	=	-	-	-	1	0	1
Total							811	640	1451

HF = hisopado endocervical femenino; OF = orina femenina; HVP = hisopado vaginal recogido por paciente asintomática; HVM = hisopado vaginal recogido por el médico. «ND» representa muestra no obtenida o no disponible para análisis. El signo de igualdad (=) representa un resultado erróneo en la repetición de la prueba.

Tabla 7c: Resultados del estado de infección del paciente en el estudio clínico de muestras de Pap en solución PreservCyt para C. trachomatis

estado de infección del paciente	Resultado de hisopado endocervical		Estado de síntomas	
	AC2	ACT	Sint	Asint
Infectado	+	+	30	60
No infectado	-	+	4	12
No infectado	+	-	3	2
No infectado	-	-	322	1214
Total			359	1288

C. trachomatis Análisis del estado de infección de paciente masculino**Tabla 8: Análisis de muestras de hisopado uretral y orina de C. trachomatis para el estado de infección de paciente masculino**

estado de infección del paciente	NAAT 1		NAAT 2	Aptima Combo 2 Assay		Estado de síntomas	
	OM	HM	OM	OM	HM	Sint	Asint
Infectado	ND	+	+	+	+	2	0
Infectado	-	+	+	+	+	10	4
Infectado	+	ND	+	+	ND	4	6
Infectado	+	ND	+	+	-	2	0
Infectado	+	ND	+	+	+	21	1
Infectado	+	-	+	+	-	3	3
Infectado	+	-	+	+	+	4	3
Infectado	+	+	ND	-	+	1	0
Infectado	+	+	ND	+	+	8	2
Infectado	+	+	-	+	+	12	4
Infectado	+	+	+	-	-	1	0
Infectado	+	+	+	-	+	1	3
Infectado	+	+	+	+	ND	1	0
Infectado	+	+	+	+	-	1	1
Infectado	+	+	+	+	+	131	53
No infectado	-	-	-	ND	-	0	2
No infectado	-	-	-	-	ND	13	8
No infectado	-	-	-	-	-	461	303
No infectado	-	-	-	-	+	10	5
No infectado	-	-	-	+	-	3	4
No infectado	-	-	-	+	+	5	0
Total						694	402

OM = orina masculina; HM = hisopo uretral masculino.

«ND» representa muestra no obtenida o no disponible para análisis.

Neisseria gonorrhoeae Tablas de rendimiento**N. gonorrhoeae** Sensibilidad y especificidad**Tabla 9a: Muestras del Aptima Combo 2 Assay frente a estado de infección del paciente**

Muestra		Síntomas	N	PR	PF ^a	NR	NF	Sensibilidad (IC 95 %)	Especificidad (IC 95 %)
Hombres	Hisopado	Sint	724	304	5 ^a	412	3	99,0 % (97,2–99,8)	98,8 % (97,2–99,6)
		Asint	378	15	12 ^b	351	0	100 % (78,2–100)	96,7 % (94,3–98,3)
		Todos ¹	1103	319	17 ^c	764	3	99,1 % (97,3–99,8)	97,8 % (96,5–98,7)
	Orina	Sint	750	311	1 ^d	433	5	98,4 % (96,3–99,5)	99,8 % (98,7–100)
		Asint	383	13	2 ^e	368	0	100 % (75,3–100)	99,5 % (98,1–99,9)
		Todos ¹	1134	324	3 ^f	802	5	98,5 % (96,5–99,5)	99,6 % (98,9–99,9)
Mujeres	Hisopado	Sint	881	94	15 ^g	772	0	100 % (96,2–100)	98,1 % (96,9–98,9)
		Asint	596	31	2 ^h	562	1	96,9 % (83,8–99,9)	99,6 % (98,7–100)
		Todos ²	1479	126	17 ⁱ	1335	1	99,2 % (95,7–100)	98,7 % (98,0–99,3)
	Orina	Sint	883	87	7 ^j	782	7	92,6 % (85,3–97,0)	99,1 % (98,2–99,6)
		Asint	599	28	3 ^k	564	4	87,5 % (71,0–96,5)	99,5 % (98,5–99,9)
		Todos ²	1484	116	10 ^l	1347	11	91,3 % (85,0–95,6)	99,3 % (98,6–99,6)
Total	Hisopado	Sint	1605	398	20 ^m	1184	3	99,3 % (97,8–99,8)	98,3 % (97,4–99,0)
		Asint	974	46	14 ⁿ	913	1	97,9 % (88,7–99,9)	98,5 % (97,5–99,2)
		Todos ³	2582	445	34 ^o	2099	4	99,1 % (97,7–99,8)	98,4 % (97,8–98,9)
	Orina	Sint	1633	398	8 ^p	1215	12	97,1 % (94,9–98,5)	99,3 % (98,7–99,7)
		Asint	982	41	5 ^q	932	4	91,1 % (78,8–97,5)	99,5 % (98,8–99,8)
		Todos ³	2618	440	13 ^r	2149	16	96,5 % (94,4–98,0)	99,4 % (99,0–99,7)

PR = positivo real; PF = positivo falso; NR = negativo real; NF = negativo falso.

¹ Incluye 1 hombre del que no se conocían síntomas.

² Incluye 1 mujer de la que no se conocían síntomas.

³ Incluye 1 hombre y 1 mujer de los que no se conocían síntomas.

⁴ Los resultados de TMA alternativa para GC representan el N.º de resultados positivos/N.º de muestras analizadas:

a: 5/5, b: 12/12, c: 17/17, d: 0/1, e: 2/2, f: 2/3, g: 13/15, h: 2/2, i: 15/17, j: 4/7, k: 0/2, l: 4/9, m: 18/20, n: 14/14, o: 32/34, p: 4/8, q: 2/4 y r: 6/12.

Tabla 9b: Muestras de hisopado vaginal del Aptima Combo 2 Assay frente a estado de infección del paciente

Muestra		Estado de síntomas	N	PR	PF ¹	NR	NF	Sensibilidad (IC 95 %)	Especificidad (IC 95 %)
Recogidas por la paciente	Hisopado vaginal	Asint	629	21	3 ^a	605	0	100 % (83,9–100)	99,5 % (98,6–99,9)
		Sint	807	51	7 ^b	747	2	96,2 % (87,0–99,5)	99,1 % (98,1–99,6)
Recogidas por el médico	Hisopado vaginal	Asint	637	21	4 ^c	611	1	95,5 % (77,2–99,9)	99,3 % (98,3–99,8)
		Todos	1444	72	11 ^d	1358	3	96,0 % (88,8–99,2)	99,2 % (98,6–99,6)

PR = positivo real; PF = positivo falso; NR = negativo real; NF = negativo falso.

¹ Los resultados de amplificación TMA alternativa para GC representan el N.º de resultados positivos/N.º de muestras analizadas: a: 3/3, b: 6/7, c: 3/4 y d: 9/11.

Tabla 9c: Muestras PreservCyt del Aptima Combo 2 Assay frente a estado de infección del paciente

Estado de síntomas	Resultado AC2/GC PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Sensibilidad (IC 95 %)	Especificidad (IC 95 %)
Asint	Positivo	5	0	1 ¹	3	83,3 % (35,9 - 99,6)	99,7 % (99,2 - 99,9)
	Negativo	1	0	5	1273		
	Total	6	0	6	1276		
Sint	Positivo	7	0	0	0	100 % (59,0 - 100)	100 % (99,0 - 100)
	Negativo	0	0	0	352		
	Total	7	0	0	352		
Todos	Positivo	12	0	1	3	92,3 % (64,0 - 99,8)	99,8 % (99,4 - 99,9)
	Negativo	1	0	5	1625		
	Total	13	0	6	1628		

¹ Una muestra tuvo un resultado discordante: Resultado equívoco en muestra de hisopado endocervical en el Aptima Combo 2 Assay/Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el APTIMA GC Assay.

+/+ = Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AGC.

+/- = Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AGC.

-/+ = Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AGC.

-/- = Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AGC.

Neisseria gonorrhoeae Rendimiento por centro clínico**Tabla 10a: Muestras del Aptima Combo 2 Assay frente a estado de infección del paciente**

Muestra	Centro	N	PR	PF	NR	NF	Prev (%)	Sensibilidad (IC 95 %)	Especificidad (IC 95 %)	VPP (%)	VPN (%)	
Hisopado	1	159	56	1	101	1	35,8	98,2 % (90,6–100)	99,0 % (94,7–100)	98,2	99,0	
	2	97	13	0	84	0	13,4	100 % (75,3–100)	100 % (95,7–100)	100	100	
	3	264	71	6	187	0	26,9	100 % (94,9–100)	96,9 % (93,4–98,9)	92,2	100	
	4	53	20	0	33	0	37,7	100 % (83,2–100)	100 % (89,4–100)	100	100	
	5	139	12	0	127	0	8,6	100 % (73,5–100)	100 % (97,1–100)	100	100	
	6	336	94	10	231	1	28,3	98,9 % (94,3–100)	95,9 % (92,5–98,0)	90,4	99,6	
	7	55	53	0	1	1	98,2*	98,1 % (90,1–100)	100 % (2,5–100)	100	50,0	
	Todos	1103	319	17	764	3	29,2	99,1 % (97,3–99,8)	97,8 % (96,5–98,7)	94,9	99,6	
Hombres	Orina	1	161	57	0	103	1	36,0	98,3 % (90,8–100)	100 % (96,5–100)	100	99,0
		2	104	19	0	85	0	18,3	100 % (82,4–100)	100 % (95,8–100)	100	100
		3	265	71	2	192	0	26,8	100 % (94,9–100)	99,0 % (96,3–99,9)	97,3	100
		4	53	20	0	33	0	37,7	100 % (83,2–100)	100 % (89,4–100)	100	100
		5	160	14	0	146	0	8,8	100 % (76,8–100)	100 % (97,5–100)	100	100
		6	335	89	1	241	4	27,8	95,7 % (89,4–98,8)	99,6 % (97,7–100)	98,9	98,4
		7	56	54	0	2	0	96,4*	100 % (93,4–100)	100 % (15,8–100)	100	100
	Todos	1134	324	3	802	5	29,0	98,5 % (96,5–99,5)	99,6 % (98,9–99,9)	99,1	99,4	
Mujeres	Hisopado	1	196	30	2	164	0	15,3	100 % (88,4–100)	98,8 % (95,7–99,9)	93,8	100
		2	83	9	1	72	1	12,0	90,0 % (55,5–99,7)	98,6 % (92,6–100)	90,0	98,6
		3	191	31	2	158	0	16,2	100 % (88,8–100)	98,8 % (95,6–99,8)	93,9	100
		4	215	7	0	208	0	3,3	100 % (59,0–100)	100 % (98,2–100)	100	100
		5	382	8	1	373	0	2,1	100 % (63,1–100)	99,7 % (98,5–100)	88,9	100
		6	278	36	8	234	0	12,9	100 % (90,3–100)	96,7 % (93,6–98,6)	81,8	100
		7	134	5	3	126	0	3,7	100 % (47,8–100)	97,7 % (93,4–99,5)	62,5	100
	Todos	1479	126	17	1335	1	8,6	99,2 % (95,7–100)	98,7 % (98,0–99,3)	88,1	99,9	
Mujeres	Orina	1	196	24	2	164	6	15,3	80,0 % (61,4–92,3)	98,8 % (95,7–99,9)	92,3	96,5
		2	83	9	1	72	1	12,0	90,0 % (55,5–99,7)	98,6 % (92,6–100)	90,0	98,6
		3	191	30	2	158	1	16,2	96,8 % (83,3–99,9)	98,8 % (95,6–99,8)	93,8	99,4
		4	215	5	2	206	2	3,3	71,4 % (29,0–96,3)	99,0 % (96,6–99,9)	71,4	99,0
		5	383	8	0	375	0	2,1	100 % (63,1–100)	100 % (99,0–100)	100	100
		6	282	35	2	244	1	12,8	97,2 % (85,5–99,9)	99,2 % (97,1–99,9)	94,6	99,6
		7	134	5	1	128	0	3,7	100 % (47,8–100)	99,2 % (95,8–100)	83,3	100
	Todos	1484	116	10	1347	11	8,6	91,3 % (85,0–95,6)	99,3 % (98,6–99,6)	92,1	99,2	

PR = positivo real; PF = positivo falso; NR = negativo real; NF = negativo falso.

*Prevalencia sobreestimada debido a una recogida inicial limitada al cribado para la selección de sujetos sintomáticos.

Tabla 10b: Muestras de hisopado vaginal del Aptima Combo 2 Assay frente a estado de infección del paciente

Muestra	Centro	N	PR	PF	NR	NF	Prev (%)	Sensibilidad (IC 95 %)	Especificidad (IC 95 %)	VPP (%)	VPN (%)	
Recogidas por la paciente	Hisopado vaginal	1	70	5	1	65	0	7,1	100 % (47,8 - 100)	98,5 (91,7 - 100)	83,3	100
		2	46	7	0	39	0	15,2	100 % (59,0 - 100)	100 % (91,0 - 100)	100	100
		3	45	2	0	43	0	4,4	100 % (15,8 - 100)	100 % (91,8 - 100)	100	100
		4	152	1	0	151	0	0,7	100 % (2,5 - 100)	100 % (97,6 - 100)	100	100
		5	130	1	0	129	0	0,8	100 % (2,5 - 100)	100 % (97,2 - 100)	100	100
		6	75	5	2	68	0	6,7	100 % (47,8 - 100)	97,1 (90,1 - 99,7)	71,4	100
		7	68	0	0	68	0	0,0	ND	100 % (94,7 - 100)	ND	100
		8	43	0	0	43	0	0,0	ND	100 % (91,8 - 100)	ND	100
		Todos	629	21	3	605	0	3,3	100 % (83,9 - 100)	99,5 (98,6 - 99,9)	87,5	100
Recogidas por el médico	Hisopado vaginal	1	227	12	3	212	0	5,3	100 % (73,5 - 100)	98,6 % (96,0 - 99,7)	80,0	100
		2	196	31	2	163	0	15,8	100 % (88,8 - 100)	98,8 % (95,7 - 99,9)	93,9	100
		3	113	3	0	109	1	3,5	75,0 % (19,4 - 99,4)	100 % (96,7 - 100)	100	99,1
		4	262	5	2	255	0	1,9	100 % (47,8 - 100)	99,2 % (97,2 - 99,9)	71,4	100
		5	198	2	0	196	0	1,0	100 % (15,8 - 100)	100 % (98,1 - 100)	100	100
		6	296	18	4	272	2	6,8	90,0 % (68,3 - 98,8)	98,6 % (96,3 - 99,6)	81,8	99,3
		7	102	0	0	102	0	0,0	ND	100 % (96,4 - 100)	ND	100
		8	50	1	0	49	0	2,0	100 % (2,5 - 100)	100 % (92,7 - 100)	100	100
		Todos	1444	72	11	1358	3	5,2	96,0 % (88,8 - 99,2)	99,2 % (98,6 - 99,6)	86,7	99,8

PR = positivo real; PF = positivo falso; NR = negativo real; NF = negativo falso.

Tabla 10c: Muestras PreservCyt del Aptima Combo 2 Assay frente a estado de infección del paciente

Centro	Resultado AC2/GC PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Prev (%)	Sensibilidad (IC 95 %)	Especificidad (IC 95 %)	VPP (%)	VPN (%)
1	Positivo	5	0	0	0	5,0	100 % (47,8 - 100)	100 % (96,2 - 100)	100	100
	Negativo	0	0	0	95					
	Total	5	0	0	95					
2	Positivo	1	0	0	0	0,8	100 % (2,5 - 100)	100 % (97,0 - 100)	100	100
	Negativo	0	0	0	123					
	Total	1	0	0	123					
3	Positivo	4	0	0	0	1,1	80,0 % (28,4 - 99,5)	100 % (99,2 - 100)	100	99,8
	Negativo	1	0	0	470					
	Total	5	0	0	470					
4	Positivo	1	0	0	0	0,3	100 % (2,5 - 100)	100 % (98,7 - 100)	100	100
	Negativo	0	0	3	283					
	Total	1	0	3	283					
5	Positivo	0	0	0	3	0,0	ND	99,0 % (97,1 - 99,8)	0,0	100
	Negativo	0	0	0	294					
	Total	0	0	0	297					
6	Positivo	1	0	1 ¹	0	0,3	100 % (2,5 - 100)	99,7 % (98,5 - 100)	50,0	100
	Negativo	0	0	2	360					
	Total	1	0	3	360					
Todos	Positivo	12	0	1	3	0,8	92,3 % (64,0 - 99,8)	99,8 % (99,4 - 99,9)	75,0	99,9
	Negativo	1	0	5	1625					
	Total	13	0	6	1628					

¹ Una muestra tuvo un resultado discordante: Resultado equívoco en muestra de hisopado endocervical en el Aptima Combo 2 Assay/Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el APTIMA GC Assay.

+/+ = Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AGC.

+/- = Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AGC.

-/+ = Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado positivo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AGC.

-/- = Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AC2/Resultado negativo en muestra de hisopado endocervical en el ensayo AGC.

Neisseria gonorrhoeae Análisis por estado de infección de paciente femenino**Tabla 11a: Muestra de hisopado endocervical y de orina**

estado de infección del paciente	NAAT		Cultivo	Aptima Combo 2 Assay		Estado de síntomas	
	OF	HF	HF	OF	HF	Sint	Asint
Infectado	ND	+	+	+	+	1	1
Infectado	-	-	+	-	-	0	1
Infectado	-	+	+	-	+	5	2
Infectado	-	+	+	+	+	9	2
Infectado	+	ND	+	+	+	1	0
Infectado	+	-	+	+	+	3	1
Infectado	+	+	ND	+	+	0	1
Infectado	+	+	-	+	+	11	2
Infectado	+	+	+	-	+	2	1
Infectado	+	+	+	+	+	62	21
No infectado	-	-	-	-	ND	2	3
No infectado	-	-	-	-	-	768	559
No infectado	-	-	-	-	+	12	2
No infectado	-	-	-	+	-	4	3
No infectado	-	-	-	+	+	3	0
Total						883	599

OF = orina femenina; **HF** = hisopado endocervical femenino.

«ND» representa muestra no obtenida o no disponible para análisis.

Tabla 11b: Análisis de muestras de hisopado vaginal recogidas por la paciente y recogidas por el médico

estado de infección del paciente	NAAT 1		NAAT 2		Aptima Combo 2 Assay		Estado de síntomas		Total
	HF	OF	HF	OF	HVP	HVM	Sint	Asint	
Infectado	+	+	+	+	+	+	44	15	59
Infectado	+	+	+	+	+	-	1	0	1
Infectado	+	+	+	+	ND	+	0	1	1
Infectado	+	-	+	+	+	+	2	2	4
Infectado	+	ND	+	+	+	+	1	0	1
Infectado	-	+	+	+	+	+	1	1	2
Infectado	-	-	+	+	+	+	1	1	2
Infectado	+	+	+	-	+	+	1	0	1
Infectado	+	-	+	-	+	+	1	1	2
Infectado	+	-	+	-	+	-	1	0	1
Infectado	+	+	-	+	+	+	1	0	1
Infectado	-	+	-	+	+	+	0	1	1
Infectado	-	+	-	+	+	-	0	1	1
Infectado	+	+	-	-	-	+	1	0	1
No infectado	-	-	+	-	-	-	5	1	6
No infectado	-	-	-	+	-	-	1	0	1
No infectado	+	-	-	-	+	+	1	0	1
No infectado	+	-	-	-	-	-	5	2	7
No infectado	-	+	-	-	+	+	0	1	1
No infectado	-	+	-	-	-	-	2	1	3
No infectado	-	-	-	-	+	+	2	0	2
No infectado	-	-	-	-	+	-	1	1	2
No infectado	-	-	-	-	-	+	2	2	4
No infectado	-	-	-	-	-	-	698	577	1275
No infectado	-	-	-	-	-	ND	0	2	2
No infectado	-	-	-	-	-	=	2	0	2
No infectado	-	-	-	-	ND	-	15	9	24
No infectado	-	-	-	-	ND	ND	1	0	1
No infectado	-	ND	-	-	-	-	2	2	4
No infectado	-	ND	-	-	ND	-	0	1	1
No infectado	-	=	-	-	-	-	11	10	21
No infectado	-	=	-	-	-	ND	0	1	1
No infectado	=	-	-	-	-	-	1	1	2
No infectado	-	-	-	ND	-	-	0	1	1
No infectado	-	-	ND	-	-	-	5	4	9
No infectado	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Total							810	640	1450

HF = hisopado endocervical femenino; **OF** = orina femenina; **HVP** = hisopado vaginal recogido por paciente asintomática; **HVM** = hisopado vaginal recogido por el médico; «ND» representa muestra no obtenida o no disponible para análisis. El signo de igualdad (=) representa un resultado equívoco en la repetición de la prueba.

N. gonorrhoeae Análisis por estado de infección de paciente femenino**Tabla 11c: Resultados del estado de infección del paciente en el estudio clínico de muestras de Pap en solución PreservCyt para N. gonorrhoeae**

estado de infección del paciente	Resultado de hisopado endocervical		Estado de síntomas	
	AC2	AGC	Sint	Asint
Infectado	+	+	7	6
No infectado	=	+	0	1
No infectado	-	+	0	5
No infectado	-	-	352	1276
Total			359	1288

N. gonorrhoeae Análisis por estado de infección de paciente masculino**Tabla 12: Muestra de hisopo uretral y orina**

estado de infección del paciente	NAAT 1		Cultivo	Aptima Combo 2 Assay		Estado de síntomas	
	OM	HM	HM	OM	HM	Sint	Asint
Infectado	ND	+	+	+	+	1	0
Infectado	-	ND	+	ND	+	0	1
Infectado	-	ND	+	+	+	1	0
Infectado	-	-	+	-	-	1	0
Infectado	-	+	+	+	+	4	1
Infectado	+	ND	+	ND	+	0	1
Infectado	+	ND	+	+	ND	8	0
Infectado	+	ND	+	+	-	1	0
Infectado	+	ND	+	+	+	50	1
Infectado	+	-	+	+	+	4	1
Infectado	+	+	ND	+	+	1	0
Infectado	+	+	-	+	+	11	1
Infectado	+	+	+	-	-	1	0
Infectado	+	+	+	-	+	3	0
Infectado	+	+	+	+	ND	1	0
Infectado	+	+	+	+	+	229	9
No infectado	-	-	-	ND	-	0	1
No infectado	-	-	-	ND	+	0	1
No infectado	-	-	-	-	ND	17	9
No infectado	-	-	-	-	-	411	349
No infectado	-	-	-	-	+	5	10
No infectado	-	-	-	+	-	1	1
No infectado	-	-	-	+	+	0	1
Total						750	387

OM = orina masculina; HM = hisopo uretral masculino; ND = muestra no obtenida o no disponible para análisis.

Distribución RLU de controles Aptima

La distribución de las RLU para el Control positivo Aptima, GC / Control negativo, CT y el Control positivo Aptima, CT / Control negativo, GC de todos los ciclos del Aptima Combo 2 Assay realizados durante los estudios de muestras clínicas se indica en la Tabla 13.

Tabla 13: Distribución de las RLU totales de los controles del Aptima Combo 2 Assay

Control	Estadísticas	RLU totales (x1000)		
		Estudio clínico de muestras de hisopado endocervical, hisopado uretral masculino y orina	Estudio clínico de muestras de hisopado vaginal	Estudio clínico de muestras de Pap en solución PreservCyt
Control positivo, CT / Control negativo, GC	Máximo	1572	1996	1747
	Percentil 75	1160	1279	1264
	Mediana	1063	1135	1165
	Percentil 25	996	933	1024
	Mínimo	274	174	494
Control positivo, GC / Control negativo, CT	Máximo	1359	1420	1438
	Percentil 75	1202	1255	1288
	Mediana	1093	1169	1201
	Percentil 25	989	1084	1099
	Mínimo	167	249	166

Estudio de precisión

Las pruebas de precisión se realizaron en tres centros para obtener medidas de reproducibilidad intra e inter ensayo. Se realizaron estudios de precisión como parte del estudio clínico de muestras de hisopado endocervical, hisopado uretral masculina y orina, y del estudio clínico de muestras de Pap en solución PreservCyt. Para el estudio anterior, cada centro clínico recibió tres paneles idénticos de 13 muestras que contenían de 0 a 500 fg de rRNA de CT, de 0 a 25,000 fg de rRNA de GC, o combinaciones de rRNA de CT y GC. Las pruebas se realizaron durante tres días utilizando un lote de kit de ensayo diferente cada día. Las estadísticas descriptivas generales de RLU, dentro del ciclo, entre ciclos y entre centros se resumen en la Tabla 14a.

Para el estudio de precisión posterior, la reproducibilidad se estableció con un panel de 12 muestras generado enriqueciendo la solución PreservCyt con 0 a 2.000 fg/ensayo de rRNA de CT y con 0 a 5.000 fg/ensayo de rRNA de GC y añadiendo una alícuota de 1,0 ml en el tubo de recogida del kit de transferencia de muestras Aptima. Dos (2) usuarios en cada uno de los tres centros realizaron un ciclo diario en cada uno de tres días, sumando tres ciclos válidos por usuario. Las pruebas se realizaron utilizando un lote de kit de ensayo. Los resultados de este estudio de precisión se resumen en la Tabla 14b.

Para ambos estudios se estableció la reproducibilidad enriqueciendo el medio de transporte adecuado (STM, solución PreservCyt) con rRNA. No se ha determinado la reproducibilidad en el análisis de muestras clínicas de hisopado, orina o Pap en solución PreservCyt que contenían el organismo seleccionado.

Tabla 14a: Medio de transporte de hisopo

Muestra del panel	N	RLU media (x1000)	Dentro del ciclo		Entre ciclos		Entre centros		
			SD (RLU)	CV (%)	SD (RLU)	CV (%)	SD (RLU)	CV (%)	
Alta	Hisopo CT	54	1.055	76.588	7,3	83.711	7,9	150.332	14,2
	Hisopo doble*	54	2.338	93.449	4,0	90.317	3,9	142.898	6,1
	Orina doble*	54	2.281	91.487	4,0	106.715	4,7	152.747	6,7
Media	Hisopo GC	54	1.265	30.561	2,4	55.642	4,4	34.413	2,7
	Hisopo CT	54	1.001	69.831	7,0	77.701	7,8	159.774	16,0
	Hisopo doble*	54	2.241	152.377	6,8	58.353	2,6	139.983	6,2
Baja	Hisopo GC	54	1.249	35.142	2,8	60.638	4,9	46.364	3,7
	Hisopo CT	54	1.013	61.795	6,1	90.906	9,0	131.207	13,0
	Hisopo doble*	54	2.085	286.034	13,7	161.764	7,8	58.837	2,8
	Orina doble*	54	2.201	95.705	4,3	118.760	5,4	106.802	4,9
Negativo	Hisopado GC	54	1.177	42.478	3,6	69.821	5,9	29.836	2,5
	Hisopado	54	7	1.301	18,3	2.311	32,5	1.901	26,8
	Orina	54	7	861	12,0	2.299	32,1	1.994	27,9

*Las muestras del panel positivo doble contenían rRNA de CT y GC.

Tabla 14b: Solución PreservCyt

Concentración (fg/ensayo)		N	Concordancia	RLU media (x1000)	Dentro del ciclo		Entre ciclos		Entre centros		Entre usuarios	
CT	GC				DE (x1000)	CV (%)	DE (x1000)	CV (%)	DE (x1000)	CV (%)	DE (x1000)	CV (%)
0	0	162	97,5 %	9,7	31,6	ND	3,4	ND	6,4	ND	4,7	ND
0	5.000	54	96,3 %	1296	146	11,3	54,8	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0
2.000	0	54	100 %	1140	54,1	4,7	79,8	7,0	101	8,9	2,4	0,2
2.000	5.000	54	100 %	2345	79,6	3,4	78,0	3,3	94,7	4,0	37,9	1,6
0	250	54	100 %	953	114	12,0	0,0	0,0	161	16,9	90,7	9,5
5	0	54	100 %	971	58,3	6,0	71,7	7,4	22,8	2,4	85,0	8,8
1.000	2.500	54	100 %	2294	114	5,0	88,9	3,9	153	6,7	0,0	0,0
100	250	54	98,1 %	1911	139	7,3	130	6,8	348	18,2	39,7	2,1
5	5.000	54	100 %	2136	113	5,3	130	6,1	98,8	4,6	166	7,8
2.000	250	54	96,3 %	2044	138	6,7	169	8,3	360	17,6	26,9	1,3

RLU = unidades relativas de luz; SD = desviación estándar; CV = coeficiente de variación; N/C representa una muestra que no corresponde para muestras de panel negativas.

Las muestras con resultados discordantes y equívocos se incluyeron en el análisis de variabilidad de la señal.

Para valores de CV y SD iguales a 0,0, la variabilidad debida a esta fuente es muy pequeña en relación a otras fuentes de variación.

Características de rendimiento analítico de los sistemas DTS

Consulte *Características de rendimiento analítico del Tigris DTS System* a continuación del apartado *Concordancia de las muestras clínicas del Tigris DTS System* para las características de rendimiento analítico específicas del Tigris DTS System.

Consulte *Características de rendimiento analítico del Panther System* para las características de rendimiento analítico específicas del Panther System.

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica (límites de detección) del *Chlamydia trachomatis* se determinó comparando directamente diluciones de organismos CT en cultivo celular y en el ensayo. La sensibilidad analítica declarada para el ensayo es de una unidad formadora de inclusión (Inclusion-Forming Unit, IFU) por ensayo (7,25 IFU/hisopado, 5,0 IFU/ml de orina, 9,75 IFU/ml de Pap en solución PreservCyt) para el total de 15 serotipos CT (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 y L3). Sin embargo, las diluciones de menos de 1,0 IFU/ensayo de todos los serotipos dieron positivo en el Aptima Combo 2 Assay.

La sensibilidad analítica de *Neisseria gonorrhoeae* se determinó comparando directamente diluciones de 57 aislados clínicos diferentes en cultivo y en el Aptima Combo 2 Assay con muestras de hisopado y de orina, y 20 aislados clínicos con muestras de Pap en solución PreservCyt. La sensibilidad analítica declarada para el ensayo es de 50 células/hisopo (362 células/hisopo, 250 células/ml de orina, 488 células/ml de Pap en solución PreservCyt). Sin embargo, todas las cepas analizadas dieron positivo a menos de 50 células/ensayo.

Especificidad analítica

Se evaluaron un total de 198 aislados de cultivo utilizando el Aptima Combo 2 Assay. Estos aislados incluían 154 aislados de cultivo que contenían 86 microorganismos que pueden aislarse del tracto genitourinario y 68 microorganismos adicionales que representan un corte transversal filogenético de organismos. Se realizó un estudio adicional para muestras extragenitales, incluidos 44 microorganismos que pueden encontrarse en hisopos extragenitales. Los organismos analizados incluían bacterias, hongos, levaduras, parásitos y virus.

Todos los microorganismos excepto el *C. psittaci*, *C. pneumoniae* y los virus se analizaron a $1,0 \times 10^6$ células/ensayo en hisopo y medio de transporte de orina. Los organismos *Chlamydia* y *Neisseria* se analizaron en el solución PreservCyt. *C. psittaci* y *C. pneumoniae* se analizaron a $1,0 \times 10^5$ IFU/ensayo. Se analizaron los virus de la forma siguiente: (A) virus del herpes simple I y II: $2,5 \times 10^4$ DICT₅₀/ensayo, (b) virus del papiloma humano 16: $2,9 \times 10^6$ copias de DNA/ensayo y (c) citomegalovirus: $4,8 \times 10^5$ células de cultivo celular infectado/ensayo.

En el segundo estudio, todos los microorganismos se analizaron en STM. No todos los aislados no virales se evaluaron a $1,0 \times 10^6$ CFU/ml excepto *Bacteriodes oralis*, *Fusobacterium necrophorum* y *Peptostreptococcus micros*, que se evaluaron a $1,0 \times 10^6$ copias de RNA/ml. Los virus se evaluaron a $1,0 \times 10^5$ DICT₅₀/ml excepto para Norovirus grupo II: $1,0 \times 10^6$ DICT₅₀/ml, enterovirus tipo 68: $1,0 \times 10^4$ DICT₅₀/ml y el virus de la gripe se analizaron a $2,0 \times 10^3$ DICT₅₀/ml. Únicamente las muestras de CT y GC produjeron resultados positivos en el Aptima Combo 2 Assay. La lista de organismos analizados en el primer estudio se indica en la Tabla 15, y la lista de microorganismos analizados en el segundo estudio se indica en la Tabla 16.

Tabla 15: Especificidad analítica

Organismo	Organismo	Organismo
<i>Achromobacter xerosis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria mucosa</i> (3)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	<i>Neisseria sicca</i> (3)
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Neisseria subflava</i> (14)
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria perflava</i>
<i>Actinomyces pyogenes</i>	<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Neisseria polysaccharea</i>
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Paracoccus denitrificans</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Virus herpes simple I	<i>Peptostreptococcus productus</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Virus herpes simple II	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	Virus del papiloma humano 16	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Kingella dentrificans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteriodes ureolyticus</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Bifidobacterium brevi</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Lactobacillus jensonii</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Legionella pneumophila</i> (2)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Leuconostoc paramensenteroides</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Chlamydia psittaci</i> (2)	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>N. meningitidis, serogrupo A</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
Citomegalovirus	<i>N. meningitidis, serogrupo B</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>N. meningitidis, serogrupo C</i> (4)	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Derxia gummosa</i>	<i>N. meningitidis, serogrupo D</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>N. meningitidis, serogrupo Y</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>N. meningitidis, serogrupo W135</i>	<i>Streptomyces griseinus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria cinerea</i> (4)	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Neisseria dentrificans</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria elongata</i> (3)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Neisseria flava</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Neisseria flavescens</i> (2)	
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Neisseria lactamica</i> (9)	

«(n)» representa el número de cepas analizadas.

Todos los microorganismos analizados dieron un resultado negativo en el Aptima Combo 2 Assay según el tipo de perfil cinético y RLU.

Tabla 16: Reactividad cruzada de microorganismos para muestras faríngeas y rectales

Organismo	Organismo	Organismo
Adenovirus	<i>Eggerthella lenta</i>	Metapneumovirus
<i>Anaerococcus spp.</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	Enterovirus	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Bacteroides oralis</i>	Virus de Epstein-Barr	Norovirus
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Giardia lamblia</i>	Especies de <i>Prevotella</i> .
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	Virus respiratorio sincitial
<i>Campylobacter rectus</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Rinovirus
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile</i>	Virus de la hepatitis B	<i>Shigella flexneri</i>
Coronavirus	Virus de la hepatitis C	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Virus de la gripe humana A	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	Virus de la gripe humana B	<i>Streptococcus anginosus group</i>
Virus Coxsackie	<i>Legionella jordanis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
Echovirus	<i>Legionella micdadei</i>	

Sustancias interferentes

Las siguientes sustancias interferentes se agregaron individualmente a muestras de hisopado y de Pap en solución PreservCyt: 10 % de sangre, gel anticonceptivo, espermicida, humectante, anestésico hemorroidal, aceite corporal, polvo, crema antifúngica, lubricantes vaginales, aerosol de higiene femenina y leucocitos ($1,0 \times 10^6$ células/ml). Las siguientes sustancias interferentes se agregaron individualmente a muestras de orina: 30 % de sangre, analitos de orina, proteína, glucosa, cetonas, bilirrubina, nitrato, urobilinógeno, pH 4 (ácido), pH 9 (alcalino), leucocitos ($1,0 \times 10^6$ células/ml), restos celulares, vitaminas, minerales, acetaminofén, aspirina e ibuprofeno. Todos se analizaron para determinar la potencial interferencia del ensayo en la ausencia y presencia de CT y GC al equivalente de rRNA estimado de 1,0 CT IFU/ensayo (5 fg/ensayo) y 50 células GC/ensayo (250 fg/ensayo). Los equivalentes rRNA se calcularon en función del tamaño del genoma y de la relación DNA:RNA/célula estimada de cada organismo.

No se observó ninguna interferencia con ninguna de las sustancias analizadas. No se observó ningún inhibidor de amplificación en el Aptima Combo 2 Assay.

Recuperación

Se añadieron *Escherichia coli* y *Gardnerella vaginalis* ($2,4 \times 10^5$ células/ensayo) y *Lactobacillus acidophilus*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides ureolyticus* y *Staphylococcus epidermis* ($1,0 \times 10^8$ células/ensayo) a muestras que contenían el equivalente de rRNA de aproximadamente 1,0 IFU CT (5 fg) y 50 células de GC (250 fg). Estas adiciones no interfirieron con la amplificación y detección de rRNA de CT o GC utilizando el Aptima Combo 2 Assay.

Estudios de la estabilidad de las muestras

A. Muestras de hisopado endocervical

Los datos que apoyan las condiciones de envío y almacenamiento recomendadas para muestras de hisopado endocervical se generaron con una mezcla de muestras de hisopado negativas. Se enriquecieron con CT y GC cinco mezclas de muestras en concentraciones finales de 10 IFU y 100 CFU por reacción, respectivamente. Las muestras enriquecidas se almacenaron a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Las muestras se

analizaron por duplicados los días 0, 20, 35, 60 y 90. Todas las condiciones de análisis dieron positivo para CT y GC en todas las ocasiones y temperaturas.

B. Muestras de Pap en solución PreservCyt

Los datos que apoyan las condiciones de envío y almacenamiento recomendadas para muestras de Pap en solución PreservCyt se generaron con una mezcla de muestras de Pap en solución PreservCyt negativas. Se enriquecieron con CT y GC cuatro mezclas de muestras a concentraciones finales de 10 IFU y 100 CFU por reacción, respectivamente. Las muestras de Pap en solución PreservCyt se mantuvieron a 30 °C durante 7 días y después se añadió 1,0 ml de la muestra a un tubo de transferencia Aptima. Las muestras enriquecidas se almacenaron a 4 °C, 10 °C y 30 °C. Las muestras almacenadas a 4 °C y 10 °C se analizaron por duplicado los días 0, 6, 13, 26, 30 y 36. Las muestras almacenadas a 30 °C se analizaron por duplicado los días 0, 5, 8, 14 y 17. Cuatro mezclas de muestras de Pap en solución PreservCyt enriquecidas se añadieron a los tubos de transferencia Aptima y se colocaron a 30 °C durante 14 días antes de almacenarlas a -20 °C o a -70 °C. Las muestras almacenadas a -20°C y -70°C se analizaron por duplicado después de 0, 30, 60, 90 y 106 días de almacenamiento. Todas las condiciones de análisis dieron positivo para CT y GC en todas las ocasiones y temperaturas.

C. Muestras de hisopado vaginal

Los datos que apoyan las condiciones de envío y almacenamiento recomendadas para muestras de hisopado vaginal se generaron con una mezcla de muestras de hisopado negativas. Quince mezclas de hisopado vaginal se enriquecieron con CT y GC a las concentraciones finales de 1,0 IFU y 50 CFU por reacción, respectivamente. Las muestras UTM también se almacenaron a -70 °C, -20 °C, 4 °C y 30 °C. Las muestras se analizaron utilizando una alícuota los días 0, 20, 36, 73 y 114. Todas las condiciones de análisis dieron positivo para CT y GC en todas las ocasiones y temperaturas.

D. Muestras de orina

Los datos que respaldan las condiciones de envío y almacenamiento recomendadas para muestras de orina se generaron con diez muestras de orina femeninas y diez muestras masculinas negativas. Las muestras de orina se enriquecieron con CT y GC a las concentraciones finales de 10 IFU y 100 CFU por reacción, respectivamente. Dos conjuntos de muestras de orina enriquecidas se mantuvieron a 4 °C y 30 °C durante 24 horas antes de añadirse al medio de transporte de orina (Urine Transport Medium, UTM). Los dos conjuntos de muestras UTM se mantuvieron a continuación a 4 °C y 30 °C, y se analizaron por triplicado los días 0, 1, 5, 20 y 35. Todas las muestras dieron positivo para CT y GC cuando las muestras de orina se conservaron a 4 °C antes de la adición del UTM. Cuando las muestras de orina se mantuvieron a 30 °C antes de la adición del UTM, todas las muestras dieron positivo para CT y el 95 % de las muestras dio positivo para GC el día 35. Estas mismas muestras se analizaron después de 116 días de almacenamiento a -20 °C y -70 °C. Todas las muestras dieron positivo para CT y GC en ambas condiciones de almacenamiento.

E. Estudio de la estabilidad de las muestras con congelación adicional (a -20 °C)

Los datos que respaldan las condiciones de almacenamiento recomendadas a una temperatura de -20 °C para las muestras de hisopado endocervical, hisopado uretral, hisopado vaginal, orina femenina, orina masculina y Pap en solución PreservCyt se generaron con 90 muestras de cada tipo con resultado negativo, donde 30 muestras fueron enriquecidas con CT y GC a 1,0 IFU y 50 CFU por reacción, respectivamente; 30 muestras fueron enriquecidas a 0,1 IFU y 5 CFU por reacción, respectivamente; y

30 muestras no fueron enriquecidas. Las muestras se almacenaron a -20 °C y se analizaron en los días 0, 200 y 400. Todas las muestras enriquecidas cumplieron los criterios de validación con una concordancia del 95 % con los resultados esperados.

Concordancia de las muestras clínicas del TIGRIS DTS System

Concordancia del Tigris DTS System

La concordancia entre los resultados del Aptima Combo 2 Assay generados en el Tigris DTS System totalmente automatizado y en los sistemas DTS semiautomatizados se evaluó realizando pruebas en muestras de hisopado endocervical, hisopado uretral masculina, orina femenina y masculina, hisopado vaginal y de Pap en solución PreservCyt. Cada una de las muestras clínicas se analizó individualmente con el Aptima Combo 2 Assay en el Tigris DTS System y los sistemas DTS de Hologic.

Estudio de concordancia de las muestras clínicas — Muestras de hisopado endocervical, hisopado uretral masculino y orina femenina y masculina

Hombres y mujeres que asisten a clínicas de ITS, de cuidados urgentes, de salud pública y de planificación familiar se inscribieron en siete centros clínicos de diferentes localidades geográficas con baja a alta prevalencia para CT y GC. El estudio de concordancia de las muestras clínicas evaluó la concordancia entre los dos sistemas utilizando muestras de hisopado y de orina procedentes de 485 hombres y 576 mujeres. De las 1.991 muestras analizadas, hubo un pequeño porcentaje que inicialmente dio un resultado no válido o equívoco para CT o GC al analizarlas en el Tigris DTS System (20, 1,0 %) y en los Sistemas DTS (14, 0,7 %). Tras la repetición de la prueba, hubo dos (2) muestras clínicas con resultados GC equívocos en el Tigris DTS System y no se incluyeron en los cálculos de equivalencia. Se calcularon el porcentaje de concordancia general y los porcentajes de concordancia positiva y negativa. Las muestras que dieron resultados discordantes entre los sistemas DTS y el Tigris DTS System se analizaron en ensayos TMA de amplificación alternativos para CT y GC, que son pruebas de amplificación de ácido nucleicos (nucleic acid amplification test, NAAT) que seleccionan secuencias de rRNA de CT o GC que difieren de las seleccionadas en el Aptima Combo 2 Assay. La prueba de repetición del Aptima Combo 2 Assay en los Sistemas DTS también se llevó a cabo en pruebas que dieron resultados discordantes entre el Tigris DTS System y los Sistemas DTS.

Las Tablas 17 y 18 muestran los porcentajes de concordancia general para todos los resultados de prueba emparejados, obtenidos en el Tigris DTS System y los Sistemas DTS para muestras de hisopado y de orina, respectivamente. Las concordancias generales fueron del 98,3 % para las muestras de hisopados y del 99,2 % para las muestras de orina. Consulte las Tablas 5a y 9a para los cálculos estimados del rendimiento del Aptima Combo 2 Assay para muestras de hisopado endocervical, hisopado uretral masculino, y orina masculina y femenina, analizadas en los sistemas DTS. Las estimaciones de rendimiento clínico para el Tigris DTS System con muestras de hisopado endocervical, de hisopado uretral masculinas y de orina masculinas y femeninas serán similares dados los resultados de la concordancia.

Estudio de concordancia de las muestras clínicas — Muestras de hisopado vaginal y de Pap en solución PreservCyt

Las mujeres que asistían a clínicas de ITS, de salud pública y de Obstetricia y Ginecología contribuyeron muestras de hisopado vaginal y de Pap en solución PreservCyt. Las muestras de hisopado vaginal se transfirieron directamente a Hologic para su análisis mientras que las muestras de Pap en solución PreservCyt se procesaron en dos laboratorios de citopatología antes de transferirse. En Hologic, las muestras de hisopado vaginal y de Pap en solución PreservCyt se evaluaron primero con el Aptima Combo 2 Assay en los sistemas DTS. Las muestras con resultados finales en los sistemas DTS no válidos o equívocos no se

seleccionaron para su análisis posterior en el Tigris DTS System. Las muestras positivas del Aptima Combo 2 Assay y un subconjunto de muestras negativas del Aptima Combo 2 Assay se seleccionaron para una prueba de comparación en el Tigris DTS System. Ciento setenta (170) muestras de hisopado vaginal y 170 muestras de Pap en solución PreservCyt procedentes de 181 mujeres se analizaron en ambos sistemas. La mayoría de las muestras (110 de hisopado vaginal y 107 de Pap en solución PreservCyt) que se seleccionaron para análisis comparativo procedían de mujeres sintomáticas. Se iniciaron 17 listas de trabajo: 13 (76,5 %) fueron válidas y 4 (23,5 %) se invalidaron por detectar el instrumento fondo alto en el luminómetro. El instrumento tenía los adaptadores de Detect 1 y 2 sueltos pudiendo haber permitido la entrada de aire en las líneas o la inyección de cantidades incorrectas de reactivos Detect. Estas listas de trabajo resultaron válidas al repetir las pruebas. De las 340 muestras analizadas, ninguna produjo resultados iniciales no válidos o equívocos en el Tigris DTS System.

Las Tablas 19 y 20 muestran los porcentajes de concordancia general de la detección CT y GC para todos los resultados de prueba emparejados, obtenidos en el Tigris DTS System y los sistemas DTS para muestras de hisopado vaginal y de Pap en solución PreservCyt, respectivamente. Las concordancias generales fueron del 98,2 % para las muestras de hisopado vaginal y del 98,2 % para las muestras de Pap en solución PreservCyt. Consulte las Tablas 5b, 5c, 9b, y 9c para los cálculos estimados del rendimiento del Aptima Combo 2 Assay para muestras de hisopado vaginal y de Pap en solución PreservCyt analizadas en los sistemas DTS. Las estimaciones de rendimiento clínico para el Tigris DTS System con muestras de hisopado vaginal y de Pap en solución PreservCyt serán similares dados los resultados de la concordancia.

Estudio de concordancia del panel clínico para CT/GC — Muestras de hisopado endocervical, hisopado uretral masculinas y orina femeninas y masculinas

El estudio de concordancia del panel clínico de CT/GC evaluó la equivalencia entre los dos sistemas utilizando 13 paneles clínicos de CT/GC preparados por Hologic que contenían de 0 a 2,500 unidades formadoras de inclusión (Inclusion Forming Units, IFU)/ml de CT y/o de 0 a 125,000 unidades formadoras de colonias (Colony Forming Units, CFU)/ml de GC. Los paneles clínicos de CT/GC se crearon a partir de muestras de hisopado y de orina recogidas de 222 hombres y 117 mujeres a quienes se asignó el estado de no infectadas en función de los resultados negativos del Aptima Combo 2 Assay para dichas muestras en los Sistemas DTS. Cada uno de los 13 paneles de CT/GC constaba de 5 réplicas de cada tipo de muestra (muestras de hisopado endocervical, de hisopado uretral masculinas, de orina femeninas, de orina masculinas) sumando un total de 20 réplicas por panel.

La Tabla 21 presenta los porcentajes de concordancia con resultados CT y GC esperados para el Tigris DTS System y los Sistemas DTS para cada uno de los 13 paneles de CT/GC. Las concentraciones abarcaron desde 10 veces por debajo y hasta 1000 veces por encima de los límites analíticos declarados del Aptima Combo 2 Assay de 1 IFU/ensayo para CT y 50 CFU/ensayo para GC. En la Tabla 21 también se indica el porcentaje de concordancia general (el 99,3 %) entre los resultados de los paneles CT/GC del Tigris DTS System y de los Sistemas DTS. Las concordancias positivas y negativas se muestran en las Tablas 22 y 23 para los resultados de los paneles CT y GC, respectivamente. Para los paneles de hisopo y de orina, las concordancias positivas fueron del 100 % y del 96,2 % respectivamente para CT, y ambas fueron del 100 % para GC. Las concordancias negativas de hisopo y de orina fueron del 100 % y del 98,0 % respectivamente para CT, y ambas del 100 % para GC. Tres de los 5 réplicas del panel de orina femenina, que estaban un logaritmo por debajo de la sensibilidad analítica declarada del Aptima Combo 2 Assay de 1 IFU/ensayo para CT, fueron CT- en el Tigris System. Una de 5 réplicas del panel de orina femenina procedente de un panel separado fue CT- en los Sistemas DTS.

Tabla 17: Estudio de concordancia de muestras clínicas: Resultados de las muestras de hisopado endocervical y uretral masculinas¹

Tigris DTS System	Sistemas DTS				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	30	0	0	0	30
CT+/GC-	0	108	0	2 ⁵	110
CT-/GC+	1 ²	0	67	0	68
CT-/GC-	0	12 ³	2 ⁴	796	810
Total	31	120	69	798	1018
Porcentaje de concordancia (IC 95 %)	96,8 % (83,3-99,9)	90,0 % (83,2-94,7)	97,1 % (89,9-99,6)	99,7 % (99,1-100)	ND
Porcentaje de concordancia total (IC 95 %): 98,3 % (97,3-99,0)					

+ indica Positivo, - indica Negativo, n/c = No corresponde.

¹ Datos no mostrados: Dos muestras dieron resultados CT-/GC equívocos tanto en el sistema Tigris como en los Sistemas DTS. Una muestra analizada resultó CT-/GC- en el TIGRIS, pero CT-/GC equívoco en los Sistemas DTS. Cuando se repitió el análisis en el Aptima Combo 2 Assay en los Sistemas DTS, el resultado de la muestra fue CT-/GC-. La muestra también tuvo un resultado GC- en el ensayo de amplificación TMA alternativo.

² 1/1 fue CT+/GC+ al repetir el análisis en los Sistemas DTS y fue CT+ en el ensayo de amplificación TMA alternativo.

³ 11/12 se volvieron a analizar. 11/11 fueron CT-/GC- al repetir el análisis en el Aptima Combo 2 Assay en los Sistemas DTS. 9/11 fueron CT- en los análisis del ensayo de amplificación TMA alternativo y 2/11 fueron CT+.

⁴ 2/2 fueron CT-/GC- al repetir el análisis en el Aptima Combo 2 Assay en los Sistemas DTS y fue GC- en el ensayo de amplificación TMA alternativo.

⁵ 2/2 fueron CT-/GC- al repetir el análisis en el Aptima Combo 2 Assay en los Sistemas DTS y fue CT- en el ensayo de amplificación TMA alternativo.

Tabla 18: Estudio de concordancia de muestras clínicas: Resultados de muestras de orina masculinas y femeninas

Tigris DTS System	Sistemas DTS				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	32	0	0	0	32
CT+/GC-	0	100	0	1 ³	101
CT-/GC+	0	0	52	0	52
CT-/GC-	0	8 ¹	1 ²	776	785
Total	32	108	53	777	970
Porcentaje de concordancia (IC 95 %)	100 % (89,1-100)	92,6 % (85,9-96,7)	98,1 % (89,9-100)	99,9 % (99,3-100)	ND
Porcentaje de concordancia total (IC 95 %): 99,2 % (98,1-99,5)					

+ indica Positivo, - indica Negativo, n/c = No corresponde.

¹ 7/8 fueron CT-/GC- al repetir el análisis en el Aptima Combo 2 Assay en los Sistemas DTS y fue CT- en el ensayo de amplificación TMA alternativo.

^{1/8} fue CT+/GC- al repetir el análisis en el Aptima Combo 2 Assay en los Sistemas DTS y fue CT+ en el ensayo de amplificación TMA alternativo.

² 1/1 fue CT-/GC- al repetir el análisis en el Aptima Combo 2 Assay en los Sistemas DTS y fue GC- en el ensayo de amplificación TMA alternativo.

³ 1/1 fue CT-/GC- al repetir el análisis en el Aptima Combo 2 Assay en los Sistemas DTS y fue CT+ en el ensayo de amplificación TMA alternativo.

Tabla 19: Estudio de concordancia de muestras clínicas: Resultados de muestras de hisopado vaginal

Tigris DTS System	Sistemas DTS				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	26	0	0	0	26
CT+/GC-	0	44	0	2	46
CT-/GC+	0	0	24	0	24
CT-/GC-	0	0	1	73	74
Total	26	44	25	75	170
Porcentaje de concordancia (IC 95 %)	100 % (86,8-100)	100 % (92,0-100)	96,0 % (79,6-99,9)	97,3 % (90,7-99,7)	ND
Porcentaje de concordancia total (IC 95 %): 98,2 % (94,9-99,6)					

+ indica Positivo, - indica Negativo, n/c = No corresponde.

Tabla 20: Estudio de concordancia de muestras clínicas: Resultados de muestras de Pap en solución PreservCyt

Tigris DTS System	Sistemas DTS				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	26	0	0	0	26
CT+/GC-	0	44	0	1	45
CT-/GC+	0	0	24	0	24
CT-/GC-	0	1	1	73	75
Total	26	45	25	74	170
Porcentaje de concordancia (IC 95 %)	100 % (86,8-100)	97,8 % (88,2-99,9)	96,0 % (79,6-99,9)	98,6 % (92,7-100)	ND
Porcentaje de concordancia total (IC 95 %): 98,2 % (94,9-99,6)					

+ indica Positivo, - indica Negativo, n/c = No corresponde.

Tabla 21: Estudio de concordancia del panel clínico CT/GC: Concordancia con los resultados CT y GC esperados para los paneles de hisopado endocervical, hisopado uretral masculino, y orina femenina y masculina

Muestra del panel CT/GC	Concentración de muestras del panel ¹		Réplicas	CT		GC	
	CT IFU/ml	GC CFU/ml		Tigris %	DTS %	Tigris %	DTS %
				concordancia	concordancia	concordancia	concordancia
Baja/Baja	2,5	125	20	100	100	100	100
Baja/Alta	2,5	125.000	20	100	95 ³	100	100
Alta/Baja	2.500	125	20	100	100	100	100
Alta/Alta	2.500	125.000	20	100	100	100	100
Muy baja/Neg	0,25 ²	0	20	85 ⁴	100	100	100
Baja/Neg	2,5	0	20	100	100	100	100
Media/Neg	25	0	20	100	100	100	100
Alta/Neg	2.500	0	20	100	100	100	100
Neg/Muy baja	0	12,5	20	100	100	100	100
Neg/Baja	0	125	20	100	100	100	100
Neg/Media	0	1.250	19	100	100	100	100
Neg/Alta	0	125.000	20	100	100	100	100
Neg/Neg	0	0	20	100	100	100	100
Porcentaje de concordancia general entre Tigris y DTS (IC 95 %): 99,3 % (98,3-99,8)							

IFU: unidades formadoras de inclusión, CFU: unidades formadoras de colonias, % concord Tigris= concordancia del TIGRIS con los resultados esperados, % concord DTS = concordancia de los DTS con los resultados esperados.

¹ Un tubo de recogida contiene aproximadamente 2,9 ml de medio de transporte para muestras de hisopado y 4,0 ml de medio de transporte/mezcla de orina para muestras de orina.

² La concentración CT en esta muestra del panel clínico CT/GC está un logaritmo por debajo de la sensibilidad analítica declarada del Aptima Combo 2 Assay de 1 IFU/ensayo (7,25 IFU/hisopo, 5 IFU/ml orina).

³ Una de 5 réplicas del panel de orina femenina fue CT- en los Sistemas DTS.

⁴ Tres de las 5 réplicas del panel de orina femenina fueron CT- en el sistema Tigris.

Tabla 22: Estudio de concordancia del panel clínico CT/GC: Resultados CT para los paneles de hisopado endocervical y uretral masculino, y de orina masculina y femenina

Muestra	N	DTS+ Tigris+ n	DTS+ Tigris- n	DTS- Tigris+ n	DTS- Tigris- n	Concordancia positiva (IC 95 %)	Concordancia negativa (IC 95 %)
Hisopado	129	80	0	0	49	100 (95,5-100)	100 (92,7-100)
Orina	130	76	3 ¹	1 ²	50	96,2 (89,3-99,2)	98,0 (89,6-100)

+ indica Positivo, - indica Negativo, IC = Intervalo de confianza

¹ Tres de los 5 réplicas del panel de orina femenina, que estaban un logaritmo por debajo de la sensibilidad analítica declarada del Aptima Combo 2 Assay de 1 IFU/ensayo para CT, fueron CT- en el Tigris System.

² Una de 5 réplicas del panel de orina femenina fue CT- en los Sistemas DTS.

Tabla 23: Estudio de concordancia del panel clínico CT/GC: Resultados GC para los paneles de hisopado endocervical y uretral masculino, y de orina masculina y femenina

Muestra	N	DTS+ Tigris+ n	DTS+ Tigris- n	DTS- Tigris+ n	DTS- Tigris- n	Concordancia positiva (IC 95 %)	Concordancia negativa (IC 95 %)
Hisopado	129	79	0	0	50	100 (95,4-100)	100 (92,9-100)
Orina	130	80	0	0	50	100 (95,5-100)	100 (92,9-100)

+ indica Positivo, - indica Negativo, IC = Intervalo de confianza, Tigris = Tigris DTS.

Estudio de precisión

La precisión del Tigris DTS System (es decir, la reproducibilidad) se evaluó en un centro clínico externo y en Hologic. La precisión del Aptima Combo 2 Assay se evaluó con tres sistemas Tigris, dos centros de estudio, dos lotes de kit del Aptima Combo 2 Assay y cuatro usuarios. La Tabla 24 presenta los datos RLU de precisión en términos de media, desviación estándar, coeficiente de variación (CV) y porcentaje de concordancia con los resultados esperados para cálculos de variabilidad entre centros, entre usuarios, entre lotes, entre ciclos y dentro del ciclo.

En el centro externo, dos usuarios realizaron tres listas de trabajo (es decir, ciclos) por lote de kit de Aptima Combo 2 Assay en un Tigris DTS System, completando un total de 6 listas de trabajo cada uno. En Hologic, dos usuarios realizaron tres listas de trabajo por lote de kit de Aptima Combo 2 Assay en dos Tigris DTS System, completando un total de 12 listas de trabajo cada uno. Por lo tanto, se completaron 36 listas de trabajo en total. Cada lista de trabajo se componía de seis paneles de precisión de 12 muestras idénticos con un contenido de 0 a 2.000 fg/ensayo de rRNA de CT y/o de 0 a 2.433 fg/ensayo de rRNA de GC. Cada lista de trabajo se componía de seis paneles de precisión de 12 muestras idénticos con un contenido de 0 a 2.000 fg/ensayo de rRNA de CT y/o de 0 a 5.000 fg/ensayo de rRNA de GC. Las muestras del panel que contenían CT y GC se distribuyeron en categorías según concentraciones de CT bajas (5 o 100 fg/ensayo), medias (1000 fg/ensayo) o altas (≥ 2000 fg/ensayo), y según concentraciones de GC bajas (≤ 250 fg/ensayo), medias (aprox. 2400 fg/ensayo) o altas (5000 fg/ensayo). La reproducibilidad se estableció enriqueciendo el medio de transporte de hisopado con rRNA. No se ha determinado la reproducibilidad en el análisis de muestras de hisopado y de orina que contenían el organismo seleccionado. La precisión se estimó de acuerdo con las directrices NCCLS EP5-A (32).

Tabla 24: Datos de precisión del Tigris DTS System

Conc.		Dentro-ciclo Entre-centro Entre-lote Entre-usuario Entre-ciclo												
CT	GC	N	Media	% Concord	DE	CV	DE	CV	DE	CV	DE	CV	DE	CV
			RLU (x1000)		(RLU x1000)	(%)	(RLU x1000)	(%)	(RLU x1000)	(%)	(RLU x1000)	(%)	(RLU x1000)	(%)
Neg	Neg	647	4	100	1,25	26,2	0,66	13,9	0,05	1,0	0,08	1,7	0,30	6,4
Neg	Alta	215	1.216	100	28,5	2,3	61,2	5,0	10,0	0,8	0	0	17,1	1,4
Alta	Neg	216	1.266	100	38,8	3,0	0	0	93,1	7,3	40,8	3,2	40,4	3,1
Alta	Alta	210	2.445	100	54,2	2,2	40,0	1,6	110,3	4,5	28,4	1,1	52,3	2,1
Neg	Baja ¹	217	1.132	100	30,3	2,6	61,0	5,3	0	0,0	20,7	1,8	18,5	1,6
Baja ¹	Neg	214	1.053	100	72,8	6,9	1,5	0,1	73,8	7,0	28,5	2,7	26,9	2,5
Media	Media	214	2.429	100	48,8	2,0	40,0	1,6	101,1	4,1	0	0	52,9	2,1
Baja ¹	Baja ¹	216	2.112	99,5	112,3	5,3	84,1	3,9	33,2	1,5	34,2	1,6	52,9	2,5
Baja ¹	Alta	216	2.282	100	77,3	3,3	97,8	4,2	59,3	2,6	0	0	41,7	1,8
Alta	Baja ¹	215	2.318	100	61,1	2,6	50,7	2,1	86,2	3,7	4,6	0,2	42,4	1,8

SD = desviación estándar; %CV = porcentaje del coeficiente de variación; % concord = porcentaje de concordancia, Conc. = Concentración.

Nota: La variabilidad de algunos factores podría ser numéricamente negativa, lo que puede ocurrir si la variabilidad debida a dichos factores es muy pequeña. Cuando esto sucede, la variabilidad medida en función de la desviación estándar y el %CV se establece en 0. Consulte las directrices aprobadas por la NCCLS EP5-A (32).

¹ Las muestras del panel con valores bajos se enriquecieron hasta alcanzar las sensibilidades analíticas declaradas del ensayo (5 fg CT rRNA/ensayo y 250 fg GC rRNA/ensayo, o ambas para la muestra positiva doble del panel). Para CT, el nivel de diana analizado es el equivalente de aproximadamente 36 fg/hisopado y 25 fg/ml de orina. Para GC, el nivel de diana analizado es el equivalente de aproximadamente 1800 fg/hisopado y 1250 fg/ml de orina. Según el tamaño del genoma y la relación DNA:RNA/célula estimada de cada organismo, 5 fg es el equivalente de 1 IFU CT y 250 fg es el equivalente de 50 células GC.

Rendimiento analítico del Tigris DTS System

Consulte *Características de rendimiento analítico del Panther System* para las características de rendimiento analítico específicas del Panther System.

Estudio de equivalencia de la sensibilidad analítica

Se analizaron diluciones de tres serotipos CT (E, F, G) asociados con la enfermedad genitourinaria en tres instrumentos Tigris DTS System y en paralelo en los sistemas DTSSistemas DTS. Los serotipos CT se diluyeron en los medios de transporte de hisopado y en una mezcla de muestra de orina procesada. Las concentraciones abarcaron desde 3 IFU por ensayo hasta 0,1 IFU por ensayo, que es un logaritmo por debajo de la sensibilidad analítica declarada para el ensayo de una unidad formadora de inclusión (Inclusion-Forming Unit, IFU) por ensayo (7,25 IFU/hisopado, 5 IFU/ml de orina). El porcentaje de positivos entre el TIGRIS y los Sistemas DTS fue equivalente al 95 % de confianza para los tres serotipos rebajados al nivel analítico declarado. Las diluciones por debajo del nivel también dieron positivo en ambas plataformas. En general, se demostró una sensibilidad comparable en el nivel de detección de un IFU por ensayo entre el Tigris DTS y Sistemas DTS.

Se preparó un panel de sensibilidad en la mezcla de muestras vaginales y un panel de sensibilidad en la mezcla de muestras de Pap en solución PreservCyt post-procesadas a CT 5 fg rRNA y se analizaron 60 réplicas en el Tigris DTS System. El porcentaje de positivos (IC 95 %) en el Tigris DTS System para la muestra de hisopado vaginal fue del 100 % (95,1 – 100) y para la muestra de Pap en solución PreservCyt postprocesada fue del 100 % (95,1 – 100).

Se analizaron diluciones de tres aislados clínicos de GC en tres Tigris DTS System y en paralelo en los sistemas DTS Sistemas DTS. Los aislados de GC se diluyeron en los medios de transporte de hisopado y en una mezcla de muestra de orina procesada. Las concentraciones abarcaron desde 150 células por ensayo hasta 5 células por ensayo, que es un logaritmo por debajo de la sensibilidad analítica declarada para el ensayo de 50 células/ensayo (362 células/hisopado, 250 células/ml de orina). El porcentaje de positivos entre el Tigris DTS y los Sistemas DTS fue equivalente al 95 % de confianza para los tres serotipos rebajados al nivel analítico declarado. Las diluciones por debajo del nivel también dieron positivo en ambas plataformas. En general, se demostró una sensibilidad comparable en el nivel de detección de 50 células por ensayo entre el Tigris DTS y los Sistemas DTS.

Se preparó un panel de sensibilidad en la mezcla de muestras vaginales y un panel de sensibilidad en la mezcla de muestras de Pap en solución PreservCyt postprocesadas a GC 250 fg rRNA y se analizaron 60 réplicas en el Tigris DTS System. El porcentaje de positivos (IC 95 %) en el Tigris DTS System para la muestra de hisopado vaginal fue del 100 % (95,1 – 100) y para la muestra de Pap en solución PreservCyt postprocesada fue del 100 % (95,1 – 100).

Estudio de panel clínico enriquecido con rRNA de CT/GC — Muestras de hisopado vaginal y de Pap en solución PreservCyt

El estudio de panel clínico enriquecido con rRNA de CT/GC evaluó la concordancia entre los dos sistemas utilizando dos paneles clínicos de CT/GC preparados por Hologic y enriquecidos con 0 a 5.000 fg rRNA/ensayo de CT y/o de 0 a 250.000 fg rRNA/ensayo de GC. Los paneles clínicos de CT/GC se crearon a partir de muestras de hisopado vaginal y de Pap en solución PreservCyt recogidas de 309 mujeres cuyas muestras dieron resultados

negativos en el Aptima Combo 2 Assay en los sistemas DTS cuando se analizaron en Hologic. Las muestras negativas se mezclaron por tipo de muestra, se enriquecieron o no con rRNA de CT y/o GC, y se dividieron en alícuotas como réplicas de cada muestra del panel. Las réplicas de cada una de las 13 muestras del panel con diferentes niveles de rRNA enriquecido se combinaron para crear un panel clínico para cada tipo de muestra. Cada panel contenía un total de 132 réplicas.

Un réplica de hisopado vaginal procedente de una muestra del panel de concentración CT muy baja (0.05 fg rRNA/ensayo) tuvo un resultado CT equívoco en los sistemas DTS.

La Tabla 25 presenta los porcentajes de concordancia de cada nivel de rRNA en los paneles de hisopado vaginal y de Pap en solución PreservCyt, respectivamente, con los resultados CT y GC esperados para el Tigris DTS System y para los sistemas DTS. Las concentraciones abarcaron desde 1 logaritmo por debajo hasta 3 logaritmos por encima de 5 fg rRNA/ensayo para CT y 250 fg rRNA/ensayo para GC. En la Tabla 25 también se indican los porcentajes de concordancia general (el 99,2 % para el panel de hisopado vaginal y el 100 % para el panel de Pap en solución PreservCyt).

Tabla 25: Estudio de concordancia del panel clínico enriquecido con rRNA de CT/GC: Concordancia con los resultados CT y GC esperados para el panel de hisopado vaginal y el panel de Pap en solución PreservCyt

Muestra del panel CT/GC	Concentración (fg rRNA/ensayo)		Réplicas	Panel de hisopado vaginal				Panel de Pap en solución PreservCyt			
	CT	GC		CT		GC		CT		GC	
				Tigris % concordancia	DTS % concordancia	Tigris % concordancia	DTS % concordancia	Tigris % concordancia	DTS % concordancia	Tigris % concordancia	DTS % concordancia
Baja/Baja	5	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Baja/Alta	5	250.000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Alta/Baja	5000	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Alta/Alta	5000	250.000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Muy baja/Neg	0,5	0	10	100	88,9 ¹	100	100	100	100	100	100
Baja/Neg	5	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Media/Neg	50	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Alta/Neg	5000	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Muy baja	0	25	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Baja	0	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Media	0	2500	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Alta	0	250.000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Neg	0	0	12	100	100	100	100	100	100	100	100
				Porcentaje de concordancia general entre Tigris y DTS (IC 95 %): 99,2 % (95,8-100)				Porcentaje de concordancia general entre Tigris y DTS (IC 95 %): 100 % (97,2-100)			

% de concordancia DTS = concordancia entre los resultados de los DTS y los resultados esperados, % de concordancia Tigris = concordancia entre los resultados de Tigris DTS y los resultados esperados.

¹ 1/10 réplicas tuvo resultados CT equívocos en los sistemas DTS y se excluyó de este análisis. 8/9 concordaron con los resultados esperados. 1/9 fue CT- en los sistemas DTS. La concentración CT de esta muestra del panel es de 1 logaritmo por debajo de 5 fg rRNA/ensayo.

Estudio de equivalencia de la especificidad analítica

Para un ensayo de amplificación de ácidos nucleicos, la especificidad analítica con respecto a organismos individuales está en gran medida determinada por la química del ensayo (por

ejemplo, las secuencias de los oligonucleótidos) más que por la plataforma. Dado que los reactivos del Aptima Combo 2 Assay son idénticos entre el Tigris DTS System y los Sistemas DTS, los experimentos de especificidad analítica del TIGRIS DTS System se diseñaron para centrarse en los aislados de cultivo más desafiantes. Estos organismos incluían los conocidos por sus reacciones cruzadas en otros ensayos de amplificación. Se seleccionaron 24 aislados de cultivo del panel de organismos de la Tabla 15, incluidos 3 organismos que están íntimamente relacionados con CT y 17 organismos que están íntimamente relacionados con GC. Todos los organismos analizados dieron resultados negativos en el Tigris DTS System.

Estudio de equivalencia de las sustancias interferentes

La sangre normalmente hallada en muestras genitourinarias podría interferir en algunos ensayos de amplificación. Se utilizó sangre completa para establecer el grado de interferencia de la sangre en el Tigris DTS System y la equivalencia entre el Tigris DTS System y los sistemas DTS con respecto a este posible interferente. Se añadió sangre nueva a mezclas de muestras clínicas de hisopado, de hisopado vaginal, de Pap en solución PreservCyt post-procesadas y de orina. Posteriormente se analizaron para determinar la posible interferencia en el ensayo en ausencia y presencia de CT y GC seleccionados. Los equivalentes rRNA estimados de una IFU CT/ensayo (5 fg/ensayo) y 50 GC células/ensayo (250 fg/ensayo) se utilizaron como concentraciones diana ya que estos representan la sensibilidad analítica del ensayo. Los equivalentes rRNA se calcularon en función del tamaño del genoma y de la relación DNA:RNA/célula estimada de cada organismo. Las muestras se analizaron en dos Tigris DTS System. Todas las muestras que contenían ácido nucleico seleccionado dieron positivo al analizarse a una concentración del 10 % (vol/vol) de sangre en muestras de hisopado, muestras de hisopado vaginal o muestras de Pap en solución PreservCyt post-procesadas, y del 30 % (vol/vol) de sangre en muestras de orina. Todas las muestras que no contenían la diana se identificaron correctamente como negativas para CT y GC. Estos resultados son idénticos a los demostrados para los sistemas DTS cuando se enriquecen con las mismas cantidades de sangre.

La sangre añadida a las muestras de hisopado, hisopado vaginal, de Pap en solución PreservCyt post-procesadas y de orina a concentraciones mucho más altas de lo que podría esperarse con la obtención normal de muestras, no interfirió con los resultados en el Tigris DTS System.

Estudios de arrastre para el Tigris DTS System

Para establecer que el Tigris DTS System reduce al mínimo el riesgo de resultados falsos positivos provocados por contaminación de arrastre, se realizó un estudio analítico de varios días utilizando paneles enriquecidos en tres Tigris DTS System. El estudio utilizó un 20 % de muestras GC con una diana de alta concentración y con un contenido de $1,0 \times 10^9$ células/reacción, que se distribuyeron aleatoriamente entre un 80 % de muestras negativas con un contenido de medios de transporte de hisopo. A lo largo del estudio se analizaron 1.372 muestras de diana de alta concentración y 5.516 muestras negativas en los tres Tigris DTS System. La proporción de arrastre general, incluidos los resultados falsos positivos y los equívocos, dio una media del 0,3 % (18/5491). Un total de 25 muestras negativas se registraron como no válidas y se excluyeron del cálculo. Se realizó un análisis independiente de un subconjunto de la población del estudio compuesto por las muestras negativas que siguieron inmediatamente a un resultado positivo alto. La proporción de arrastre para este subconjunto de la población, incluidos los resultados falsos positivos y los equívocos, dio una media del 1,1 % (12/1097). Para los resultados falsos positivos en este subconjunto, la proporción de arrastre abarcó desde el 0 % al 1,1 % en los tres Tigris DTS System. Para los

resultados equívocos en este subconjunto, la proporción de arrastre abarcó desde el 0 % al 0,9 % en los tres Tigris DTS System. Estos resultados demuestran que la contaminación de arrastre se reduce al mínimo en el Tigris DTS System.

Rendimiento analítico del Panther System**Estudio de concordancia de panel clínico enriquecido**

Las muestras individuales de orina negativas se enriquecieron con serotipo G de CT, GC o una combinación de CT y GC, para crear un panel de 120 muestras CT positivas, 120 muestras GC positivas y 120 muestras dobles positivas. Muestras del panel positivas para CT se enriquecieron con organismos a 0,25 IFU/ml, 2,5 IFU/ml o 25 IFU/ml (0,5 fg/ensayo, 5 fg/ensayo o 50 fg/ensayo). Muestras del panel positivas para GC se enriquecieron a 12,5 CFU/ml, 125 CFU/ml o 1.250 CFU/ml (25 fg/ensayo, 250 fg/ensayo o 2500 fg/ensayo). Los positivos dobles se enriquecieron con organismos de CT a 2,5 IFU/ml (5 fg/ensayo) y organismos de GC a 2.500.000 CFU/ml (5.000.000 fg/ensayo) o CT a 25 IFU/ml (50 fg/ensayo) y GC a 1.250 CFU/ml (2.500 fg/ensayo) o CT a 25.000 IFU/ml (50.000 fg/ensayo) y GC a 125 CFU/ml (250 fg/ensayo) o CT a 2,5 IFU/ml (5 fg/ensayo) y GC a 125 CFU/ml (250 fg/ensayo). Además, se recogieron 120 muestras de orina negativas para CT y GC. Los paneles positivos y negativos se analizaron en tres sistemas PANTHER y tres Tigris DTS System. El porcentaje de concordancia positiva entre el Panther System y el Tigris DTS System fue del 100 % con un límite inferior para el intervalo de confianza de 95 % de 99,5 para CT y GC. El porcentaje de concordancia negativa entre el Panther System y el Tigris DTS System fue del 99,9 % con un límite inferior para el intervalo de confianza del 95 % de 99,5. Los resultados del estudio se muestran en la Tabla 26.

Tabla 26: Estudio de concordancia de panel clínico enriquecido: Concordancia con los resultados de CT y GC esperados

Muestra del panel	Concentración (IFU o CFU/ml)		Concentración (fg/ensayo)		Réplicas	CT		GC	
	CT	GC	CT	GC		Tigris	Panther	Tigris	Panther
						% concordancia	% concordancia	% concordancia	% concordancia
Paneles CT/GC^{1,2}									
Baja/Baja	2,5	125	5	250	90	100	100	100	100
Med/Med	25	1.250	50	2.500	90	100	100	100	100
Baja/Alta	2,5	2.500.000	5	5.000.000	90	100	100	100	100
Alta/Baja	25.000	125	50.000	250	90	100	100	100	100
Paneles GC^{2,3}									
Neg/Muy baja	0	12,5	0	25	117*	100	100	100	100
Neg/Baja	0	125	0	250	120	100	100	100	100
Neg/Media	0	1.250	0	2.500	120	100	99,2	100	100
Paneles CT^{1,3}									
Muy baja/Neg	0,25	0	0,5	0	120	100	100	100	100
Baja/Neg	2,5	0	5	0	120	100	100	100	100
Media/Neg	25	0	50	0	120	100	100	100	100
Paneles negativos³									
Neg/Neg	0	0	0	0	360	100	100	99,7	99,7

* Una muestra del panel no estaba bien fabricada y se excluyó del análisis.

¹ Porcentaje de concordancia general positiva CT entre Tigris y Panther (IC 95 %): 100 % (99,5-100).

² Porcentaje de concordancia general positiva GC entre Tigris y Panther (IC 95 %): 100 % (99,5-100).

³ Porcentaje de concordancia general negativa entre Tigris y Panther (IC 95 %): 99,9 % (99,5-100).

Estudio de sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica del Aptima Combo 2 Assay se analizó utilizando tres matrices de muestras representativas. Estos fueron orina procesada con medio de transporte de orina (Urine Transport Medium, UTM), solución de Pap en solución PreservCyt diluida con medio de transporte de hisopado (Swab Transport Medium, STM) y STM. Se añadieron rRNA de CT y GC a mezclas de estas tres matrices a las concentraciones siguientes a concentraciones equivalentes de RNA 0,5 fg/ensayo, 5 fg/ensayo y 50 fg/ensayo (equivalentes de rRNA de 0,25 IFU/ml, 2,5 IFU/ml o 25 IFU/ml) para CT o 25 fg/ensayo, 250 fg/ensayo o 2500 fg/ensayo para GC (equivalentes de rRNA de 12,5 CFU/ml, 125 CFU/ml o 1.250 CFU/ml). Los equivalentes rRNA se calcularon en función del tamaño del genoma y de la relación DNA:RNA/célula estimada de cada organismo. Estos paneles se analizaron en tres Panther System utilizando tres lotes de reactivos en réplicas de 96. Se calculó la concordancia con el resultado esperado. La concordancia con los resultados esperados fue del 100 % (IC 95 %, 96,1–100 %) para todos los paneles de orina, del 100 % (IC 95 %, 96,0–100 %) para todos los paneles de solución Pap en solución PreservCyt, y del 100 % (IC 95 %, 96,1–100 %) para todos los paneles de STM. La sensibilidad analítica para el ensayo es 2,5 IFU/ml para CT y 125 CFU/ml para GC.

Estudio de reproducibilidad

La precisión del Aptima Combo 2 Assay se evaluó con tres Panther System y tres lotes del kit de Aptima Combo 2 Assay durante un período de 24 días. Se crearon paneles añadiendo rRNA de CT y/o GC en STM a las concentraciones indicadas en la Tabla 27. Los usuarios realizaron dos ciclos por día analizando cada muestra del panel en réplicas de dos por ciclo. El cálculo de la concordancia con el resultado esperado y la estimación de la precisión se realizaron de acuerdo con las directrices NCCLS EP5-A2 (34). El número total de réplicas para cada panel fue 96. La Tabla 27 presenta los datos RLU de precisión en términos de media, desviación estándar, coeficiente de variación (CV), porcentaje de concordancia con los resultados esperados y cálculos de variabilidad entre-instrumento, entre-lote, entre-ciclo y dentro-ciclo, así como de la variabilidad total.

Tabla 27: Precisión del Panther para el Aptima Combo 2 Assay

Matriz	CT (IFU/ml)	GC (CFU/ml)	N*	RLU media (x1000)	% concor- dancia	Entre instrumentos		Entre lotes		Entre ciclos		Dentro del ciclo		Total	
						SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)
MTM	0	0	96	6	100	0,06	1	0,88	13,5	0	0	1,02	15,7	1,3	20,1
	0,25	0	95	1226	100	70,03	5,7	20,03	1,6	8,43	0,7	47,05	3,8	87,1	7,1
	2,5	0	96	1249	100	77,97	6,2	6,11	0,5	0	0	32,87	2,6	84,8	6,8
	25	0	95	1268	100	72,85	5,7	15,3	1,2	0	0	39,58	3,1	84,3	6,6
	0	12,5	96	1081	100	18,44	1,7	28,59	2,6	0	0	26,68	2,5	43,2	4
	0	125	96	1266	100	29,81	2,4	0	0	8,86	0,7	27,58	2,2	41,6	3,3
	0	1250	96	1309	100	29,41	2,2	0	0	9,83	0,8	31,83	2,4	44,4	3,4
	2,5	125	96	2456	100	86,58	3,5	0	0	0	0	52,99	2,2	101,5	4,1
	2,5	2500	96	2509	100	73,13	2,9	0	0	19,8	0,8	46,77	1,9	89	3,5
	1000	2500	96	2496	100	31,72	1,3	6,14	0,2	0	0	193,66	7,8	196,3	7,9
Orina	0	0	94	6	100	0,2	3,2	0,66	10,8	0,36	5,9	1	16,3	1,3	21,2
	0,25	0	95	863	100	70,73	8,2	165,65	19,2	47,97	5,6	132,27	15,3	228,6	26,5
	2,5	0	95	1129	100	56,02	5	89,56	7,9	8,56	0,8	74,19	6,6	129,4	11,5
	25	0	96	1246	100	60,45	4,9	13,97	1,1	13,36	1,1	43,03	3,5	76,7	6,2
	0	12,5	96	1016	100	18,83	1,9	31,81	3,1	7,88	0,8	49,53	4,9	62,3	6,1
	0	125	96	1209	100	49,32	4,1	23,5	1,9	1,68	0,1	40,28	3,3	67,9	5,6
	0	1250	96	1252	100	53,01	4,2	40,34	3,2	7,72	0,6	40,23	3,2	78,2	6,2
	2,5	125	95	2290	100	73,92	3,2	40,88	1,8	10,43	0,5	56,12	2,5	101,9	4,4
PreservCyt	0	0	96	7	100	0	0	0,8	11,7	0	0	1,54	22,4	1,7	24,7
	0,25	0	96	1113	100	92,29	8,3	30,08	2,7	0	0	63,57	5,7	116	10,4
	2,5	0	96	1194	100	62,54	5,2	24,83	2,1	0	0	47,01	3,9	82,1	6,9
	25	0	95	1222	100	65,14	5,3	26,36	2,2	14,67	1,2	34,97	2,9	79,8	6,5
	0	12,5	93	994	100	33,28	3,3	36,92	3,7	15,97	1,6	26,15	2,6	58,4	5,9
	0	125	95	1189	100	40,1	3,4	4,45	0,4	10,87	0,9	21,44	1,8	47	4
	0	1250	95	1239	100	37,69	3	7,47	0,6	13,61	1,1	18,04	1,5	44,6	3,6
	2,5	125	95	2333	100	99,68	4,3	35,27	1,5	12,61	0,5	48,86	2,1	117,2	5

Nota: La variabilidad de algunos factores podría ser numéricamente negativa, lo que puede ocurrir si la variabilidad debida a dichos factores es muy pequeña. Cuando esto sucede, SD = 0 y CV = 0 %.

* Número total de réplicas para cada panel = 96. En ciclos seleccionados, no se volvieron a analizar réplicas no válidas individuales.

Especificidad analítica

La especificidad analítica no se probó en el Panther System. Consulte *Rendimiento analítico del Tigris DTS System* para el *Estudio de equivalencia de la especificidad analítica*.

Estudio de equivalencia de las sustancias interferentes

La sangre normalmente hallada en muestras genitourinarias podría interferir en algunos ensayos de amplificación. Se utilizó sangre completa para establecer el grado de interferencia de la sangre en el Panther System con respecto a este posible interferente. Se añadió sangre nueva a mezclas clínicas de muestras de hisopado vaginal, muestras de Pap en solución PreservCyt post-procesadas o muestras de orina. Posteriormente se analizó la posible interferencia en el ensayo en presencia y ausencia de CT y GC seleccionados. Los equivalentes de rRNA estimados de una IFU CT/ensayo (5 fg/ensayo) y 50 células GC/ensayo (250 fg/ensayo) se utilizaron como concentraciones diana, ya que estos representan

la sensibilidad analítica del ensayo. Las muestras se analizaron en el Panther System. Todas las muestras que contenían ácido nucleico seleccionado dieron positivo al analizarse a una concentración del 10 % (vol/vol) de sangre en muestras de hisopado o de Pap en solución PreservCyt, o del 30 % (vol/vol) de sangre en muestras de orina. Todas las muestras que no contenían la diana se identificaron correctamente como negativas para CT y GC. Estos resultados son idénticos a los demostrados para el Tigris DTS System cuando se enriquecen con las mismas cantidades de sangre. La sangre añadida a las muestras de hisopado, de PreservCyt y de orina a concentraciones mucho más altas de lo que podría esperarse con la obtención normal de muestras no interfirió con los resultados en el Panther System.

Estudios de arrastre para el Panther System

Para establecer que el Panther System reduce al mínimo el riesgo de resultados falsos positivos provocados por contaminación de arrastre, se realizó un estudio analítico de varios ciclos utilizando paneles enriquecidos en tres Panther System. El arrastre se evaluó utilizando aproximadamente un 20 % de muestras de GC de título elevado dispersadas entre muestras negativas. Los ciclos incluyeron grupos de muestras positivas altas con grupos de muestras negativas así como muestras positivas altas individuales dispersadas en un patrón específico dentro del ciclo. Se hicieron muestras de título elevado utilizando rRNA de GC añadido a STM para dar una concentración final de 5×10^5 fg rRNA/reacción (equivalente de rRNA de $2,5 \times 10^5$ CFU/ml). Las pruebas se llevaron a cabo utilizando 5 ciclos en cada uno de tres Panther System con un total de 2.936 muestras negativas. La proporción de arrastre general fue del 0 % con un intervalo de confianza del 95 % de 0–0,1 %. Un total de cuatro muestras negativas se registraron como no válidas y se excluyeron del cálculo.

Tipos de muestras extragenitales (muestras de hisopado faríngeo y rectal)

Resumen

Conjuntamente, los datos clínicos y analíticos proporcionados a continuación admiten el uso de Aptima Combo 2 Assay para analizar muestras de hisopado faríngeo y rectal para la detección cualitativa y diferenciación del RNA ribosómico (rRNA) de *Chlamydia trachomatis* (CT) y/o *Neisseria gonorrhoeae* (GC), con el fin de facilitar el diagnóstico de la clamidiasis y/o enfermedad gonocócica.

Sensibilidad analítica

Se determinó el límite de detección (95 % intervalo confianza, IC) de los hisopados extragenitales con el Aptima Combo 2 Assay para los hisopados faríngeos y rectales. Para ello se utilizó una mezcla de dos serotipos de CT (E y G) y dos aislados de GC clínicos. De dicho panel se analizaron al menos 20 réplicas durante 8 días utilizando dos Panther Systems diferentes y un lote de reactivos.

El límite de detección del 95 % de los hisopados faríngeos es de 0,005 IFU/ml (IC 95 %: 0,003-0,020) para CT y 0,10 CFU/ml (IC 95 % 0,09-0,13) para GC. El límite de detección del 95 % de los hisopados rectales es de 0,007 IFU/ml (IC 95 %: 0,005-0,023) para CT y 0,10 CFU/ml (IC 95 % 0,09-0,12) para GC.

Datos de rendimiento clínico

Se evaluaron los datos de rendimiento clínico de 15 publicaciones científicas (1, 2, 3, 13, 16, 19, 21, 28, 31, 35, 36, 42, 43, 46, 47) que estudiaron el uso del Aptima Combo 2 Assay para el análisis de muestras extragenitales.

Para las muestras de hisopado faríngeo de CT, los estudios indicaron estimaciones puntuales de sensibilidad del 100 % y estimaciones puntuales de especificidad del 100 % (35). Para las muestras de hisopado rectal de CT, los estudios indicaron estimaciones puntuales de sensibilidad entre el 71 % y el 100 % y estimaciones puntuales de especificidad entre el 95,6 % y el 100 % (1, 2, 3, 13, 31, 35).

Para las muestras de hisopado faríngeo de GC, los estudios indicaron estimaciones puntuales de sensibilidad entre el 88,2 % y el 100 % y estimaciones puntuales de especificidad entre el 87,8 % y el 100 % (2, 35). Para las muestras de hisopado rectal de GC, los estudios indicaron estimaciones puntuales de sensibilidad entre el 75 % y el 100 % y estimaciones puntuales de especificidad entre el 87,9 % y el 100 % (3, 13, 21, 31, 35, 42).

Reactividad cruzada de los microorganismos

Consulte la Tabla 16 para obtener una lista de los microorganismos en los que se ha analizado la reactividad cruzada en hisopados faríngeos y rectales.

Substancias potencialmente interferentes

Las siguientes sustancias interferentes que pueden encontrarse en hisopados extragenitales se añadieron individualmente en STM: medicación para úlceras bucales, bálsamos labiales, antitusígenos, pasta de dientes, enjuagues bucales, crema hemorroidal, laxantes, antidiarreicos, antiácidos y heces. Todas estas sustancias se analizaron para determinar la interferencia potencial del ensayo en ausencia y presencia de CT y GC a 3 veces el límite de detección del 95 % para cada tipo de muestra. Las muestras a las que se añadió CT y GC mostraron al menos el 95 % de positividad en presencia de las sustancias. Las sustancias a las que no se añadió CT o GC no dieron un resultado positivo tanto para CT o GC.

Manipulación y estabilidad de las muestras

Los datos que respaldan las condiciones de almacenamiento recomendadas para muestras de hisopado extragenital se generaron con una mezcla de muestras de hisopado negativas. A las muestras rectales y faríngeas se añadió CT y GC a concentraciones de 2 veces el límite de detección del 95 % para cada tipo de muestra de hisopado. Las muestras enriquecidas se almacenaron a -70 °C, -20 °C, 4 °C, y 30 °C. Las muestras se analizaron los días 0, 8, 15, 23, 36 y 60. Todas las condiciones de análisis dieron al menos 95 % positivo para CT y GC en todas las ocasiones y temperaturas.

Bibliografía

1. **Alexander S et al.** 2007. *Confirming the Chlamydia trachomatis status of referred rectal specimens.* Sex Transm Infect. Jul 83(4):327-9. Epub 2007 May 2.
2. **Alexander S et al.** 2008. Self-taken pharyngeal and rectal swabs are appropriate for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in asymptomatic men who have sex with men. Sex Transm Infect. Nov 84(6):488-92.
3. **Bachmann LH et al.** 2010. Nucleic Acid Amplification Tests for Diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* Rectal Infections. J. Clin. Microbiol. 48(5):1827.
4. **Beem, M. O., and E. M. Saxon.** 1977. Respiratory tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. NEJM 296:306-310.
5. **Berger R, Alexander E, Harnisch J et al.** 1979. Etiology, manifestations and therapy of acute epididymitis: prospective study of 50 cases. J Urol, 121(6), 750-754.
6. **Buimer, M., G. J. J. Van Doornum, S. Ching, P. G. H. Peerbooms, P. K. Plier, D. Ram, and H. H. Lee.** 1996. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by Ligase chain reaction-based assays with clinical specimens from various sites: implications for diagnostic testing and screening. J. Clin. Microbiol. 34:2395-2400.
7. **Cates, Jr., W., and J. N. Wasserheit.** 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. Am. J. Obstet. Gynecol. 164:1771-1781.
8. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2002. Screening Tests to Detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections. United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep. 51 (RR-15).
9. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2016. Reported STDs in the United States, 2015 National Data for Chlamydia, Gonorrhea, and Syphilis. CDC Fact Sheet.
10. **Chernesky, M. A., D. Jang, J. Sellors, K. Luinstra, S. Chong, S. Castriciano, and J. B. Mahony.** 1996. Urinary inhibitors of polymerase chain reaction and Ligase chain reaction and testing of multiple specimens may contribute to lower assay sensitivities for diagnosing *Chlamydia trachomatis* infected women. Mol. Cell. Probes. 11:243-249.
11. **Ching, S., H. Lee, E. W. Hook, III, M. R. Jacobs, and J. Zenilman.** 1995. Ligase chain reaction for detection of *Neisseria gonorrhoeae* in urogenital swabs. J. Clin. Microbiol. 33:3111-3114.
12. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrich, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen processing and concentration of *Chlamydia trachomatis* added can influence false-negative rates in the LCx assay but not in the Aptima Combo 2 Assay when testing for inhibitors. J. Clin. Microbiol. 41:778-782.
13. **Cosentino LA et al.** 2012. Use of nucleic acid amplification testing for diagnosis of anorectal sexually transmitted infections. J Clin Microbiol. Jun 50(6): 2005-2008.
14. **Crotchfelt, K. A., B. Pare, C. Gaydos, and T. C. Quinn.** 1998. Detection of *Chlamydia trachomatis* by the Hologic AMPLIFIED Chlamydia Trachomatis assay (AMP CT) in urine specimens from men and women and endocervical specimens from women. J. Clin. Microbiol. 36:391-394.
15. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. J. Clin. Microbiol. 37:386-390.
16. **Freeman AH et al.** 2011. Evaluation of self-collected versus clinician-collected swabs for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* pharyngeal infection among men who have sex with men. Sex Transm Dis. Nov 38(11):1036-1039.
17. **Frommell, G. T., R. Rothenberg, S. Wang, and K. McIntosh.** 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. Journal of Pediatrics 95:28-32.
18. **Gaydos, C. A., T.C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro, and J. Schachter.** 2003. Performance of the Aptima Combo 2 Assay for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in female urine and endocervical swab specimens. J. Clin. Microbiol. 41:304-309.
19. **Geiger R et al.** 2016. Investigation of the GeneXpertCT/NG assay for use with male pharyngeal and rectal swabs. Int J STD AIDS. August.
20. **Goessens, W. H. F., J. W. Mouton, W. I. Van Der Meijden, S. Deelen, T. H. Van Rijsoort-Vos, N. L. Toom, H. Verbrugh, and R. P. Verkooyen.** 1997. Comparison of three commercially available amplification assays, AMP CT, LCx, and COBAS AMPLICOR, for detection of *Chlamydia trachomatis* in first-void urine. J. Clin. Microbiol. 35:2628-2633.
21. **Harryman L et al.** 2012. Comparative performance of culture using swabs transported in Amies medium and the Aptima Combo 2 nucleic acid amplification test in detection of *Neisseria gonorrhoeae* from genital and extra-genital sites: a retrospective study. Sex Transm Infect. Feb 88(1):27-31.
22. **Holmes, K. K., G. W. Counts, and H. N. Beatz.** 1971. Disseminated Gonococcal infection. Ann. of Intern. Med. 74:979-993.
23. **Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson, and E. R. Alexander.** 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. NEJM 292:1199-1205.
24. **Hook, E. W., III, and H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal infections in the adult. p. 458. In K. Holmes et al. (eds.) Sexually Transmitted Diseases. McGraw Hill, New York, NY.
25. **Jaschek, G., C. A. Gaydos, L. E. Welsh, and T. C. Quinn.** 1993. Direct detection of *Chlamydia trachomatis* in urine specimens from symptomatic and asymptomatic men by using a rapid polymerase chain reaction assay. J. Clin. Microbiol. 31:1209-1212.
26. **Krauss, S. J., R. C. Geller, G. H. Perkins, and D. L. Rhoden.** 1976. Interference of *Neisseria gonorrhoeae* growth by other bacterial species. J. Clin. Microbiol. 4:288-295.

27. **Mahony, J., S. Chong, D. Jang, K. Luinstra, M. Faught, D. Dalby, J. Sellors, and M. Chernesky.** 1998. Urine specimens from pregnant and nonpregnant women inhibitory to amplification of *Chlamydia trachomatis* nucleic acid by PCR, Ligase chain reaction, and transcription-mediated amplification: identification of urinary substances associated with inhibition and removal of inhibitory activity. *J. Clin. Microbiol.* **36**:3122-3126.
28. **Mahto M., Mallinson H.** 2012. Response to 'Comparative performance of culture using swabs transported in Amies medium and the Aptima Combo 2 nucleic acid amplification test in detection of *Neisseria gonorrhoeae* from genital and extra-genital sites: a retrospective study. *Sex Transm Infect.* Apr; **88**(3):211.
29. **Masi, A. T., and B. I. Eisenstein.** 1981. Disseminated Gonococcal Infections (DGI) and Gonococcal Arthritis (GCA): II Clinical Manifestations, Diagnosis, Complications, Treatment and Prevention. *Semin. Arthritis Rheum.* **10**:173.
30. **McCurdy, Brenda W.** 1997. *Cumitech Guide on Verification and Validation of Procedures in the Microbiology Laboratory.* February, 1997, American Society for Microbiology. ASM Press.
31. **Moncada J et al.** 2009. Evaluation of self-collected glans and rectal swabs from men who have sex with men for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by use of nucleic acid amplification tests. *J Clin Microbiol.* Jun **47**(6): 1657-62.
32. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
33. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline for additional Guidance on Appropriate Internal Quality Control Testing Practices.
34. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2004. NCCLS EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline (2nd edition, Vol. 24, No. 25).
35. **Ota KV et al.** 2009. Detection of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* in pharyngeal and rectal specimens using the BD Probetec ET system, the Hologic Aptima Combo 2 assay and culture. *Sex Transm Infect.* Jun **85**(3):182-6.
36. **Papp JR et al.** 2007. The use and performance of oral-throat rinses to detect pharyngeal *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* Nov **59**(3):259-264. Epub 2007 Jul 26.
37. **Peterson E. M., V. Darrow, J. Blanding, S. Aarnaes, and L. M. de La Maza.** 1997. Reproducibility problems with the AMPLICOR PCR *Chlamydia trachomatis* test. *J. Clin. Microbiol.* **35**:957-959.
38. **Schachter, J.** 1985. Chlamydiae (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), p. 856-862. *In* E. H. Lennette, et al. (ed.), *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
39. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* **32**:45-61.
40. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* **298**:540-549.
41. **Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer.** 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **123**:753-757.
42. **Schachter J et al.** 2008. Nucleic acid amplification tests in the diagnosis of chlamydial and gonococcal infections of the oropharynx and rectum in men who have sex with men. *Sex Transm Dis.* Jul **35**(7):637-642.
43. **Sexton ME et al.** 2013. How reliable is self-testing for gonorrhea and chlamydia among men who have sex with men? *J Fam Pract.* Feb **62**(2):70-78.
44. **Stary, A., E. Schuh, M. Kerschbaumer, B. Gotz, and H. Lee.** 1998. Performance of transcription-mediated amplification and Ligase chain reaction assays for detection of chlamydial infection in urogenital samples obtained by invasive and noninvasive methods. *J. Clin. Microbiol.* **36**:2666-2670.
45. **Toye, B., W. Woods, M. Bobrowska, and K. Ramotar.** 1998. Inhibition of PCR in genital and urine specimens submitted for *Chlamydia trachomatis* testing. *J. Clin. Microbiol.* **36**:2356-2358.
46. **Turner AN et al.** HIV, rectal chlamydia, and rectal gonorrhoeae in men who have sex with men attending a sexually transmitted disease clinic in a Midwestern US city. *Sex Transm Dis.* Jun **40**(6):433-438.
47. **Turra M et al.** 2015. Detection and Confirmation of *Neisseria gonorrhoeae* Infections in Genital and Extragenital Samples using Aptima Assays on the Panther™ Instrument. *Microbiol Pathol.* **1**(2): 018.
48. **Verkooyen, R. P., A. Luijendijk, W. M. Huisman, W. H. F. Goessens, J. A. J. W. Kluytmans, J. H. Rijsoort-Vos, and H. A. Verbrugh.** 1996. Detection of PCR inhibitors in cervical specimens by using the AMPLICOR *Chlamydia trachomatis* assay. *J. Clin. Microbiol.* **34**:3072-3074.
49. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher, and M. Rosenstraus.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. *J. Clin. Microbiol.* **3**:74-80.
50. **Yuan, Y., Y-X. Zhang, N. G. Watkins, and H. D. Caldwell.** 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. *Infect. Immun.* **57**:1040-1049.



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 EE.UU.



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Asistencia al cliente: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Servicio técnico: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Para obtener más información de contacto, visite www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Aptima Combo 2, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep, Tigris, y TMA, son marcas comerciales de Hologic, Inc. y/o sus filiales en Estados Unidos y/o en otros países.

eppendorf (estilizado) y REPEATER son marcas comerciales de Eppendorf AG.

TECAN y FREEDOM EVO son marcas comerciales de Tecan Group AG.

Todas las demás marcas comerciales que puedan aparecer en este prospecto pertenecen a sus respectivos propietarios

Este producto puede estar cubierto por una o más de las patentes estadounidenses identificadas en www.hologic.com/patents.

© 2001-2019 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

502183ES Rev.007
2019-05