

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay**

Para uso diagnóstico *in vitro*.  
Para exportación de EE. UU. únicamente.

<b>Información general</b> .....	<b>2</b>
Uso indicado .....	2
Resumen y explicación de la prueba .....	2
Principios del procedimiento .....	3
Advertencias y precauciones .....	4
Requisitos de conservación y manipulación de los reactivos .....	5
Recogida y conservación de las muestras .....	6
<b>Interpretación de las pruebas</b> .....	<b>22</b>
<b>Limitaciones</b> .....	<b>23</b>
<b>Resultados esperados en el Tigris DTS System: prevalencia del mRNA del HPV de alto riesgo</b> .....	<b>24</b>
<b>Rendimiento del ensayo en el Tigris DTS System</b> .....	<b>25</b>
<b>Resultados esperados con el Panther System: prevalencia del mRNA del HPV de alto riesgo</b> .....	<b>44</b>
<b>Rendimiento del ensayo en el Panther System</b> .....	<b>45</b>
<b>Bibliografía</b> .....	<b>62</b>

**Tigris™ DTS™ System**

<b>Tigris DTS System</b> .....	<b>9</b>
Reactivos y materiales suministrados .....	9
Materiales necesarios pero no suministrados .....	10
Procedimiento de prueba en el Tigris DTS System.....	11
Notas sobre el procedimiento .....	13

**Panther™ System**

<b>Panther System</b> .....	<b>15</b>
Reactivos y materiales suministrados .....	15
Materiales necesarios pero no suministrados .....	16
Procedimiento de prueba en el sistema Panther.....	17
Notas sobre el procedimiento .....	19

## Información general

### Uso indicado

El Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay (ensayo de genotipo Aptima HPVA 16 18/45) es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la detección cualitativa de RNA mensajero (mRNA) del vírico E6/E7 de los tipos de alto riesgo del virus del papiloma humano (Human Papillomavirus, HPV) tipos 16, 18 y 45 en muestras de mujeres con resultados positivos en el Aptima HPV assay. El mRNA del HPV se detecta en muestras de citología en solución recogidas en viales ThinPrep™ que contiene solución PreservCyt™ antes o después de procesar la citología, o en muestras recogidas con el kit de recogida y transporte de muestras de citología Aptima. Las muestras de citología recogidas en solución conservante SurePath pueden analizarse con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. El ensayo se utiliza con el Tigris DTS System y el Panther System.

### Resumen y explicación de la prueba

El cáncer de cuello uterino es uno de los más frecuentes en mujeres de todo el mundo. El HPV es el agente etiológico responsable de más del 99 % de todos los cánceres de cuello uterino.<sup>1,2,3</sup> El HPV es un virus DNA de transmisión sexual frecuente, que abarca más de 100 genotipos.<sup>4</sup>

El genoma vírico del HPV es un DNA bicatenario circular de aproximadamente 7900 pares de bases de longitud. El genoma tiene ocho marcos de lectura abiertos que se superponen. Existen seis genes precoces (E), dos genes tardíos (L) y una larga región de control que no se traduce. Los genes L1 y L2 codifican para las proteínas principal y secundaria de la cápside. Los genes precoces regulan la replicación vírica del HPV. Los genes E6 y E7 de los genotipos de alto riesgo del HPV son oncogenes conocidos. Las proteínas que se expresan a partir del mRNA policistrónico E6/E7 alteran las funciones de las proteínas del retinoblastoma y p53 celular, ocasionando la interrupción de los puntos de comprobación del ciclo celular y la inestabilidad del genoma celular.<sup>5,6</sup>

Hay 14 genotipos del HPV que se consideran patógenos o de alto riesgo para la progresión de la enfermedad de cuello uterino.<sup>7</sup> Numerosos estudios han vinculado los genotipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 con la progresión de la enfermedad.<sup>2,5,8</sup> Las mujeres que tienen una infección persistente con uno de estos tipos tienen un mayor riesgo de desarrollar un carcinoma o una displasia grave de cuello uterino.<sup>7,9</sup>

Los estudios demuestran que los diferentes tipos de HPV de alto riesgo confieren diferentes niveles de riesgo de desarrollar carcinoma o displasia grave de cuello uterino. En todo el mundo, los tipos de HPV 16, 18 y 45 se asocian a aproximadamente el 80 % de todos los cánceres invasivos de cuello uterino.<sup>2,10</sup> Estos tres tipos se encuentran en el 75 % de todos los carcinomas escamosos y el tipo 16 está presente en la mayoría (el 85 %) de estas infecciones. En los adenocarcinomas, los tipos 16, 18 y 45 del HPV se encuentran en el 80 %-94 % de los casos, y los tipos 18 y 45 están presentes en casi la mitad de estas infecciones.<sup>2,10</sup> Se ha descrito una asociación entre la presencia del HPV tipo 18 en estadios precoces del cáncer cervicouterino y un mal pronóstico.<sup>11</sup> Los tipos 18 y 45 del HPV están subnotificados en las lesiones precancerosas, lo que puede deberse a la presencia de lesiones ocultas del canal cervical inaccesibles a la exploración colposcópica.<sup>12</sup> En mujeres infectadas por el HPV tipos 16 o 18, el riesgo acumulado de desarrollar enfermedad cervicouterina es 10 veces superior en comparación con el riesgo de aparición de la enfermedad debido a otros tipos de alto riesgo.<sup>13,14,15</sup>

## Principios del procedimiento

El Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay consta de tres pasos principales, que tienen lugar en un solo tubo: captura de diana; amplificación mediada por transcripción (Transcription-Mediated Amplification, TMA) de la diana;<sup>16</sup> y detección de los productos de la amplificación (amplicones) mediante el ensayo de protección de la hibridación (Hybridization Protection Assay, HPA).<sup>17</sup> El ensayo incorpora un control interno (CI) para supervisar la captura, la amplificación y la detección del ácido nucleico, así como los errores del usuario o del instrumento.

Las muestras se recogen o se transfieren a un tubo que contiene medio de transporte de muestras (Specimen Transport Media, STM), una solución que lisa las células, libera el mRNA y lo protege de la degradación durante la conservación. Al realizar el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, el mRNA diana se aísla de la muestra utilizando oligómeros de captura unidos a micropartículas magnéticas. Los oligómeros de captura contienen secuencias complementarias de regiones específicas de las moléculas diana de mRNA del HPV, así como una cadena de residuos de desoxiadenosina. Durante el paso de hibridación, las regiones específicas de la secuencia de los oligómeros de captura se unen a regiones específicas de la molécula diana de mRNA del HPV. A continuación, el complejo oligómero de captura-diana es capturado separándolo de la solución mediante la disminución de la temperatura de reacción hasta la temperatura ambiente. Esta reducción de temperatura permite la hibridación entre la región desoxiadenosina del oligómero de captura y las moléculas de polidesoxitimidina unidas covalentemente a las partículas magnéticas. Las micropartículas, con las moléculas diana de mRNA del HPV capturadas y unidas a ellas, son atraídas hacia las paredes del tubo de reacción mediante imanes y se aspira el sobrenadante. Las partículas se lavan para eliminar la matriz de muestra residual, que puede contener inhibidores de la amplificación.

Una vez finalizado el proceso captura de diana, el mRNA de HPV se amplifica mediante TMA, un método de amplificación de ácidos nucleicos basado en la transcripción que utiliza dos enzimas, la transcriptasa inversa del MMLV y la RNA polimerasa T7. La transcriptasa inversa se utiliza para generar una copia de DNA de la secuencia de mRNA diana que contiene la secuencia promotora para la RNA polimerasa T7. La RNA polimerasa T7 genera varias copias del amplicón de RNA a partir del molde de copia de DNA.

La detección del amplicón se logra por medio del ensayo de protección de la hibridación (Hybridization Protection Assay, HPA) utilizando sondas de ácido nucleico monocatenarias con marcadores quimioluminiscentes complementarios al amplicón. Las sondas de ácido nucleico marcadas se hibridan específicamente con el amplicón. El reactivo de selección diferencia las sondas hibridadas de las no hibridadas, inactivando el marcador de las sondas no hibridadas. Durante el paso de detección, la luz emitida por los híbridos de RNA-DNA marcados se mide como señales de fotones denominadas unidades relativas de luz (Relative Light Units, RLU) en un luminómetro. Los resultados finales del ensayo se interpretan en función de la razón señal/valor de corte (Analyte Signal/Cutoff, S/CO) del analito.

A cada reacción se añade un control interno mediante el reactivo de captura de diana. El control interno supervisa los pasos de captura de diana, amplificación y detección del ensayo. El ensayo de cinética doble (Dual Kinetic Assay, DKA) es el método utilizado para diferenciar entre las señales procedentes del HPV y del CI.<sup>18</sup> El CI y el amplicón del HPV 16 se detectan mediante sondas que tienen una cinética rápida de emisión de la luz (flasher). La señal del CI en cada reacción se discrimina de la señal del HPV 16 por la magnitud de la emisión de luz. Los amplicones específicos del HPV 18 y 45 se detectan mediante sondas que tienen una cinética relativamente más lenta de emisión de la luz (glower).

## Advertencias y precauciones

- A. Para uso diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profesional.
- C. Consulte otras advertencias y precauciones relacionadas con los instrumentos en el *Manual del usuario del Tigris DTS System* (Tigris DTS System Operator's Manual) o en el *Manual del usuario del Panther System* (Panther System Operator's Manual).

### Relacionadas con el laboratorio

- D. Utilice únicamente el material desechable de laboratorio suministrado o especificado.
- E. Siga las precauciones de rutina del laboratorio. No coma, beba ni fume en las zonas de trabajo designadas. Utilice guantes desechables sin talco, protección ocular y bata de laboratorio cuando manipule las muestras y los reactivos del kit. Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit.
- F. **Advertencia: Irritantes y corrosivos:** Evite el contacto de los reactivos Auto Detect 2 con la piel, los ojos y las membranas mucosas. Si estos fluidos entran en contacto con la piel o los ojos, lave la zona afectada con agua. Si se produce un vertido de estos fluidos, dilúyalo con agua para limpiarlo.
- G. Las superficies de trabajo, pipetas y otros equipos se deben descontaminar periódicamente con solución de hipoclorito de sodio (lejía) del 2,5 % al 3,5 % (de 0,35 M a 0,5 M). Consulte el *Procedimiento de prueba en el Tigris DTS System* (Tigris DTS System Test Procedure) o el *Procedimiento de prueba en el Panther System* (Panther System Test Procedure) para obtener más información.

### Relacionadas con las muestras

- H. Mantenga las condiciones de temperatura apropiadas durante el envío y la conservación de las muestras para garantizar su integridad. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío y conservación distintas de las recomendadas.
- I. Las fechas de caducidad que figuran en los kits y en los tubos de recogida y transferencia de muestras se aplican a la zona de transferencia y no al centro de análisis. Las muestras recogidas o transferidas en cualquier momento antes de estas fechas de caducidad son válidas para el análisis, siempre que se hayan transportado y conservado conforme a las instrucciones del prospecto correspondiente, aunque ya se haya sobrepasado la fecha de caducidad.
- J. Las muestras pueden ser infecciosas. Siga las precauciones universales para realizar este ensayo. El director del laboratorio debe establecer los métodos de manipulación y eliminación adecuados. Este procedimiento solo debe realizarlo el personal que haya recibido la formación adecuada para manipular materiales infecciosos.
- K. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de las muestras. Compruebe que los recipientes de las muestras no entren en contacto unos con otros y deseche los materiales usados sin pasarlos por encima de los recipientes abiertos. Cámbiese los guantes si entran en contacto con una muestra.
- L. Una vez realizada la perforación, puede salir líquido de los tapones de los tubos en determinadas condiciones. Consulte el *Procedimiento de prueba en el Tigris DTS System* (Tigris DTS System Test Procedure) o el *Procedimiento de prueba en el Panther System* (Panther System Test Procedure) para obtener más información.

- M. Las muestras de citología en solución ThinPrep y en medio de recogida y transporte de muestras de citología (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) Aptima deben rechazarse si el dispositivo de recogida se ha quedado dentro del tubo de muestra.
- N. Las muestras de citología en solución SurePath deben rechazarse si no hay un dispositivo de recogida presente en el vial.

### Relacionadas con el ensayo

- O. Conserve los reactivos a la temperatura especificada. El uso de reactivos conservados incorrectamente pueden afectar a los resultados del ensayo.
- P. Evite la contaminación microbiana y por ribonucleasa de los reactivos.
- Q. No utilice el kit después de la fecha de caducidad.
- R. No intercambie, mezcle ni combine reactivos de ensayo ni calibradores de kits con números de lotes diferentes.
- S. Los fluidos del Aptima assay, el conservante del fluido del Aptima System (solo en el Tigris DTS System) y los reactivos Auto Detect no forman parte del lote maestro, y puede utilizarse cualquier lote.
- T. Es necesario mezclar bien los reactivos para lograr resultados precisos con el ensayo.
- U. Deben utilizarse puntas con tapones hidrófobos.
- V. Algunos reactivos de este kit están etiquetados con símbolos de riesgo y seguridad.

**Nota:** La Comunicación de Peligros refleja las clasificaciones de las Fichas de Datos de Seguridad (FDS) de la UE. Para obtener información sobre la comunicación de peligros específica de su región, consulte la FDS específica de la región en la Biblioteca de Fichas de Datos de Seguridad (Safety Data Sheet Library) en [www.hologicds.com](http://www.hologicds.com).

Información de peligros de la UE	
	<p><b>Reactivo de selección</b>  <b>ÁCIDO BÓRICO 1 – 5 %</b>  Hidróxido de sodio &lt; 1 %  <b>ATENCIÓN</b>  H315 – Provoca irritación cutánea  H319 – Provoca irritación ocular grave</p>
	<p><b>Reactivo de captura de diana</b>  <b>ÁCIDO ETILENDIAMINOTETRAACÉTICO 1 – 5 %</b>  H411 – Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos  P273 – Evitar su liberación al medio ambiente  P280 – Llevar gafas/máscara de protección</p>

### Requisitos de conservación y manipulación de los reactivos

No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en el vial. Consulte las instrucciones de conservación adicionales a continuación.

- A. Los siguientes reactivos deberán conservarse entre 2 °C y 8 °C (refrigerados) cuando se reciban:
- Reactivo de amplificación de HPV 16 18/45
  - Reactivo enzimático de HPV 16 18/45
  - Reactivo de sonda de HPV 16 18/45

- Reactivo de control interno de HPV 16 18/45  
Calibradores positivos de HPV 16 18/45 y calibradores negativos de HPV 16 18/45
- B. Los siguientes reactivos deberán conservarse a temperaturas entre 15 °C y 30 °C (temperatura ambiente):
- Solución de reconstitución del reactivo de amplificación de HPV 16 18/45
  - Solución de reconstitución del reactivo enzimático de HPV 16 18/45
  - Solución de reconstitución del reactivo de sonda de HPV 16 18/45
  - Reactivo de captura de diana de HPV 16 18/45
  - Reactivo de selección de HPV 16 18/45
  - Solución de lavado
  - Reactivo de aceite
  - Tampón para fluido de desactivación
  - Reactivo Auto Detect 1
  - Reactivo Auto Detect 2
  - Conservante de fluido del Aptima System (solo Tigris DTS System)
- C. Después de la reconstitución, los siguientes reactivos son estables durante 30 días si se conservan a una temperatura entre 2 °C y 8 °C:
- Reactivo de amplificación de HPV 16 18/45
  - Reactivo enzimático de HPV 16 18/45
  - Reactivo de sonda de HPV 16 18/45
- D. El reactivo de captura de diana en uso (working Target Capture Reagent, wTCR) es estable durante 30 días si se conserva entre 15 °C y 30 °C. No refrigerar.
- E. Deseche todos los reactivos reconstituidos y el wTCR no utilizados después de 30 días o de la fecha de caducidad del lote maestro, lo que ocurra primero.
- F. Los reactivos del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay son estables durante un total acumulado de 48 horas si se conservan cargados en el Tigris DTS System.
- G. Los reactivos del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay son estables durante un total acumulado de 72 horas si se conservan cargados en el Panther System.
- H. Tanto el reactivo de sonda como el reactivo de sonda reconstituido son fotosensibles. Conserve los reactivos protegidos de la luz.
- I. No congele los reactivos.

## Recogida y conservación de las muestras

- A. Recogida y procesamiento de las muestras

### *Muestras de citología en solución ThinPrep*

1. Recoja las muestras de citología en viales para citología ThinPrep con solución PreservCyt y dispositivos de recogida tipo escobilla o cepillo/espátula, siguiendo las instrucciones del fabricante.
2. Antes o después de procesar con el ThinPrep 2000 System, ThinPrep 3000 System, ThinPrep 5000 Processor, ThinPrep 5000 Processor con Autoloader o ThinPrep

Genesis Processor, transfiera 1 mL de espécimen de citología en solución ThinPrep en un tubo de transferencia de especímenes Aptima, siguiendo las indicaciones del prospecto del kit de transferencia de especímenes Aptima.

*Muestras de citología en solución SurePath*

1. Recoja una muestra de citología en solución SurePath siguiendo las instrucciones de uso de la prueba de citología SurePath o el PrepStain System.
2. Transfiera la muestra de citología en solución SurePath a un tubo de transferencia de muestras Aptima, siguiendo las instrucciones del prospecto del kit de transferencia de muestras Aptima.

*Muestras en el kit de transporte y recogida de muestras de citología Aptima*

Recoja la muestra siguiendo las instrucciones de uso del kit CSCT.

B. Transporte y conservación antes del análisis

*Muestras de citología en solución ThinPrep*

1. Transporte las muestras de citología en solución ThinPrep a una temperatura de 2 °C a 30 °C.
2. Las muestras deben transferirse a un tubo de transferencia de muestras Aptima en los 105 días siguientes a su recogida.
3. Antes de la transferencia, las muestras de citología en solución ThinPrep deben conservarse entre 2 °C y 30 °C, y no deben pasar más de 30 días a temperaturas superiores a 8 °C.
4. Las muestras de citología en solución ThinPrep transferidas a tubos de transferencia de muestras Aptima pueden conservarse entre 2 °C y 30 °C durante un máximo de 60 días.
5. Si es necesario conservarlas durante más tiempo, las muestras de citología en solución ThinPrep o en solución ThinPrep diluida en tubos de transferencia de muestras pueden conservarse entre -20 °C y -70 °C durante un máximo de 24 meses.

*Muestras de citología en solución SurePath*

1. Transporte las muestras de citología en solución SurePath a una temperatura de 2 °C a 25 °C.
2. Las muestras deben transferirse a un tubo de transferencia de muestras Aptima en los 7 días siguientes a su recogida.
3. Antes de la transferencia, las muestras de citología en solución SurePath deben conservarse entre 2 °C y 25 °C.
4. Las muestras de citología en solución SurePath transferidas a un tubo de transferencia de muestras Aptima pueden conservarse entre 2 °C y 25 °C durante un máximo de 7 días.
5. Las muestras SurePath transferidas deben tratarse con la solución de transferencia Aptima antes de analizarlas con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. Las muestras tratadas pueden conservarse a una temperatura de 2 °C a 8 °C durante un máximo de 17 días antes de analizarlas con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. Consulte el prospecto del kit de transferencia de muestras para obtener más información.

*Muestras en el kit de transporte y recogida de muestras de citología Aptima*

1. Transporte y conserve las muestras entre 2 °C y 30 °C durante un máximo de 60 días.
2. Si es necesario conservarlas durante más tiempo, las muestras del kit de transporte pueden conservarse entre -20 °C y -70 °C durante un máximo de 24 meses.

C. Almacenamiento de muestras después de la prueba

1. Las muestras analizadas deben conservarse en posición vertical en una gradilla.

2. Los tubos de muestra se deben cubrir con papel aluminio o plástico nuevo y limpio.
3. Si es necesario congelar o enviar las muestras analizadas, retire los tapones perforables de los tubos de muestra y sustitúyalos por tapones nuevos no perforables. Si es necesario enviar las muestras a otro laboratorio para su análisis, deben mantenerse las temperaturas especificadas. Antes de destapar las muestras anteriormente analizadas y tapadas de nuevo, se deben centrifugar los tubos de muestra durante 5 minutos a 420 RCF (fuerza centrífuga relativa) para llevar todo el líquido al fondo del tubo.

**Nota:** *Las muestras deben enviarse de acuerdo con las normativas de transporte locales, nacionales e internacionales aplicables.*

## Tigris DTS System

### Reactivos y materiales suministrados

**Kit de Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay**, 100 pruebas, REF. 303234 (3 cajas)

Los calibradores pueden adquirirse por separado. Consulte los números de referencia de las cajas individuales que figuran a continuación.

#### Caja refrigerada de Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay (conservar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
<b>A</b>	<b>Reactivo de amplificación de HPV 16 18/45</b> <i>Ácidos nucleicos no infecciosos desecados en solución de tampón con &lt; 5 % de agente de volumen.</i>	1 vial
<b>E</b>	<b>Reactivo enzimático de HPV 16 18/45</b> <i>Transcriptasa inversa y RNA polimerasa desecadas en solución de tampón HEPES con &lt; 10 % de reactivo de volumen.</i>	1 vial
<b>P</b>	<b>Reactivo de sonda de HPV 16 18/45</b> <i>Sondas de DNA quimioluminiscentes y no infecciosas (&lt; 500 ng/vial) desecadas en solución de tampón succinato con &lt; 5 % de detergente.</i>	1 vial
<b>CI</b>	<b>Reactivo de control interno de HPV 16 18/45</b> <i>Transcrito de RNA no infeccioso en solución de tampón con &lt; 5 % de detergente.</i>	1 vial

#### Caja a temperatura ambiente de Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay (conservar entre 15 °C y 30 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
<b>AR</b>	<b>Solución de reconstitución del reactivo de amplificación de HPV 16 18/45</b> <i>Solución acuosa con conservantes.</i>	1 vial
<b>ER</b>	<b>Solución de reconstitución del reactivo enzimático de HPV 16 18/45</b> <i>Solución de tampón HEPES con surfactante y glicerol.</i>	1 vial
<b>PR</b>	<b>Solución de reconstitución del reactivo de sonda de HPV 16 18/45</b> <i>Solución de tampón succinato con &lt; 5 % de detergente.</i>	1 vial
<b>S</b>	<b>Reactivo de selección de HPV 16 18/45</b> <i>Solución de tampón borato 600 mM con surfactante.</i>	1 vial
<b>TCR</b>	<b>Reactivo de captura de diana de HPV 16 18/45</b> <i>Ácidos nucleicos no infecciosos en solución tamponada con fase sólida (&lt; 0,5 mg/ml).</i>	1 vial
	<b>Collares de reconstitución</b>	3
	<b>Hoja de códigos de barras del lote maestro</b>	1 hoja

**Caja de calibradores Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay (REF. 303235)**  
(conservar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
<b>PCAL1</b>	<b>Calibrador positivo 1 para HPV 16 18/45</b> <i>Transcrito in vitro no infeccioso de HPV 18 a una concentración de 750 copias/ml en solución de tampón con &lt; 5 % de detergente.</i>	5 viales
<b>PCAL2</b>	<b>Calibrador positivo 2 para HPV 16 18/45</b> <i>Transcrito no infeccioso de HPV 16 in vitro a 1.000 copias/ml en solución tamponada con &lt; 5 % de detergente.</i>	5 viales
<b>NCAL</b>	<b>Calibrador negativo para HPV 16 18/45</b> <i>Solución de tampón con &lt; 5 % de detergente.</i>	5 viales

### Materiales necesarios pero no suministrados

**Nota:** A menos que se indique lo contrario, los materiales disponibles en Hologic aparecen en la lista con el número de referencia.

	<u>REF.</u>
Tigris DTS System	105118
Kit del ciclo del Tigris DTS System	301191
<i>Unidades multitubo (Multi-Tube Units, MTU)</i>	<i>104772-02</i>
<i>Bolsa para puntas/MTU desechadas</i>	<i>900907</i>
<i>Deflectores de MTU desechadas</i>	<i>900931</i>
<i>Cubiertas para MTU desechadas</i>	<i>105523</i>
Kit de fluidos del Aptima assay	302382
<i>(solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima)</i>	
Kit de reactivos Auto Detect Aptima	301048
Kit de conservante del fluido del Aptima System	302380
Puntas conductoras de 1.000 µl para detección de líquido	10612513 (Tecan)
Kit de transferencia de muestras Aptima	301154C
Kit de transferencia de especímenes Aptima — imprimible	PRD-05110
Kit de recogida y transporte de muestras de citología Aptima	302657
Tapones perforables Aptima	105668
Tapones no perforables de repuesto	103036A
Tapones de repuesto para los kits de 100 pruebas:	
<i>Soluciones de reconstitución del reactivo de amplificación y el reactivo de sonda</i>	<i>CL0041</i>
<i>Solución de reconstitución del reactivo enzimático</i>	<i>CL0041</i>
<i>TCR y reactivo de selección</i>	<i>501604</i>
Lejía (solución de hipoclorito de sodio al 5 % o 0,7 M como mínimo)	—
Agua para el Tigris DTS System	—
<i>Consulte las especificaciones en el Manual del usuario del Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual)</i>	
Guantes desechables	—
Kit de solución de transferencia Aptima (solo para muestras SurePath)	303658

### Materiales opcionales

	<u>REF.</u>
Potenciador de lejía para limpieza	302101

## Procedimiento de prueba en el Tigris DTS System

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

### A. Preparación de la zona de trabajo

Limpie las superficies de trabajo donde se prepararán los reactivos. Limpie las superficies de trabajo y las pipetas con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5 %-3,5 % (de 0,35 M a 0,5 M). Deje la solución de hipoclorito de sodio en contacto con las superficies y las pipetas durante 1 minuto como mínimo, 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 van a preparar los reactivos con un papel de filtro plastificado.

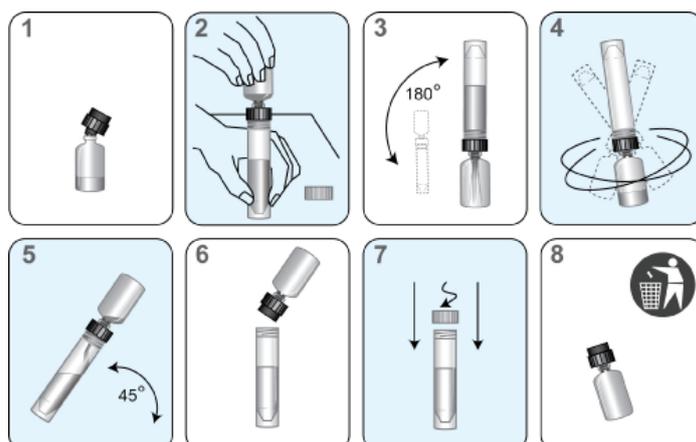
### B. Preparación de los reactivos de un nuevo kit

**Nota:** La reconstitución de los reactivos debe llevarse a cabo antes de iniciar cualquier tarea en el Tigris DTS System.

1. Para reconstituir los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda, combine los frascos de los reactivos liofilizados con la solución de reconstitución. Si las soluciones de reconstitución están refrigeradas, espere a que se equilibren a la temperatura ambiente antes de utilizarlas.
  - a. Empareje cada solución de reconstitución con el reactivo liofilizado correspondiente.
  - b. Compruebe los números de lote en la hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que está emparejando los reactivos adecuados.
  - c. Abra el vial del reactivo liofilizado e inserte firmemente el extremo ranurado del collar de reconstitución en la abertura del vial (Figura 1, Paso 1).
  - d. Abra la solución de reconstitución correspondiente y deje el tapón sobre una superficie de trabajo limpia y cubierta.
  - e. A la vez que sujeta el frasco de la solución sobre la mesa del laboratorio, inserte firmemente el otro extremo del collar de reconstitución en la abertura del frasco (Figura 1, Paso 2).
  - f. Invierta lentamente los frascos acoplados. Deje que la solución pase del frasco al vial de vidrio (Figura 1, Paso 3).
  - g. Agite la solución girándola suavemente en el vial hasta mezclarla bien. Evite que se forme espuma al agitar el vial (Figura 1, Paso 4).
  - h. Espere a que el reactivo liofilizado entre en solución y luego invierta de nuevo los frascos acoplados, inclinándolos en un ángulo de 45° para reducir al mínimo la formación de espuma (Figura 1, Paso 5). Deje que escurra todo el líquido de nuevo en el frasco de plástico.
  - i. Retire el collar de reconstitución y el vial (Figura 1, Paso 6).
  - j. Vuelva a tapar el frasco de plástico. Registre en la etiqueta las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución (Figura 1, Paso 7).
  - k. Deseche el collar de reconstitución y el vial (Figura 1, Paso 8).

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

**Nota:** Mezcle exhaustivamente los reactivos de amplificación, enzimático, de sonda y de selección, invirtiéndolos con cuidado antes de cargarlos en el sistema. Evite que se forme espuma durante inversión de los reactivos.



**Figura 1. Proceso de reconstitución en el Tigris DTS System**

2. Prepare el reactivo de captura de diana en uso (working Target Capture Reagent, wTCR):
  - a. Empareje los frascos adecuados de TCR y CI.
  - b. Compruebe los números de lote de los reactivos en la hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que está emparejando los reactivos adecuados.
  - c. Abra el frasco de TCR y deje el tapón sobre una superficie de trabajo limpia y cubierta.
  - d. Abra el frasco de CI y vierta el contenido completo en el frasco de TCR. Es normal que quede una pequeña cantidad de líquido en el frasco del CI.
  - e. Tape el frasco de TCR y agite la solución girándola suavemente para mezclar el contenido. Evite que se forme espuma durante este paso.
  - f. Anote en la etiqueta las iniciales del usuario y la fecha actual.
  - g. Deseche el frasco de CI y el tapón correspondiente.
  - h. Se pueden formar precipitados en el wTCR, lo que puede dar lugar a resultados no válidos debido a errores en la verificación del volumen. El precipitado se puede disolver calentando el wTCR a una temperatura entre 42 °C y 60 °C durante 90 minutos como máximo. Espere a que el wTCR se equilibre a la temperatura ambiente antes de utilizarlo. No utilice el reactivo si persiste el precipitado.
3. Prepare el reactivo de selección
  - a. Compruebe el número de lote del reactivo en la hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que forma parte del kit.
  - b. Si el reactivo de selección contiene precipitados, caliéntelo a 60 °C  $\pm$  1 °C durante 45 minutos como máximo para facilitar la disolución del precipitado. Mezcle suavemente el frasco cada 5 a 10 minutos. Espere a que el reactivo de selección se equilibre a la temperatura ambiente antes de utilizarlo. No lo utilice si persiste el precipitado o el contenido está turbio.

**Nota:** Mezcle bien todos los reactivos por inversión suave antes de cargarlos en el sistema. Evite que se forme espuma durante inversión de los reactivos.

## C. Preparación de los reactivos previamente reconstituidos

1. Los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda reconstituidos con anterioridad 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 precipitados que no entran en solución a temperatura ambiente, caliéntelo a una temperatura no superior a 60 °C durante 1 a 2 minutos. No utilice el reactivo si tiene precipitados o está turbio.
3. Si el wTCR contiene precipitados, caliéntelo entre 42 °C y 60 °C durante 90 minutos como máximo. Espere a que el wTCR se equilibre a la temperatura ambiente antes de utilizarlo. No utilice el reactivo si persiste el precipitado.
4. Si el reactivo de selección contiene precipitados, caliéntelo a 60 °C  $\pm$  1 °C durante 45 minutos como máximo para facilitar la disolución del precipitado. Mezcle suavemente el frasco cada 5 a 10 minutos. Espere a que el reactivo de selección se equilibre a la temperatura ambiente antes de utilizarlo. No lo utilice si persiste el precipitado o el contenido está turbio.
5. Mezcle bien cada reactivo por inversión suave antes de cargarlo en el sistema. Evite que se forme espuma durante inversión de los reactivos.
6. No llene en exceso los frascos de reactivos. El Tigris DTS System reconocerá y rechazará los frascos demasiado llenos.

## D. Manipulación de las muestras

1. Antes del procesamiento, deje que los calibradores y las muestras se equilibren a la temperatura ambiente.
2. **No agite las muestras en un mezclador vórtex.**
3. Inspeccione los tubos de muestra antes de cargarlos en las gradillas. Si un tubo de muestra contiene burbujas o tiene un volumen inferior al observado habitualmente, centrifugue el tubo durante 5 minutos a 420 RCF para asegurarse de que no queda líquido en el tapón.

**Nota:** Si no se sigue correctamente el Paso 3, podría perderse líquido por el tapón del tubo de muestra.

## E. Preparación del sistema

Configure el sistema y la lista de trabajo siguiendo las instrucciones del *Manual del usuario del Tigris DTS System* (Tigris DTS System Operator's Manual) y del apartado *Notas sobre el procedimiento*, a continuación.

## Notas sobre el procedimiento

## A. Calibradores

1. Cada lista de trabajo debe contener 2 réplicas del calibrador negativo y de cada calibrador positivo. Para que funcionen adecuadamente con el software del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, el calibrador negativo debe estar en la primera posición de tubo de la primera gradilla de la lista de trabajo, el calibrador positivo 1 debe estar en la segunda posición de tubo de la primera gradilla de la lista de trabajo y el calibrador positivo 2 debe colocarse en la tercera posición de tubo de la primera gradilla de la lista de trabajo.
2. Cualquier intento de pipetear más de dos réplicas de un tubo de calibrador puede dar lugar a errores de volumen insuficiente.

3. Los calibradores deben utilizarse con el lote maestro de reactivos correspondiente. El usuario debe asegurarse de que se utilice el lote correcto de calibradores con el lote maestro de reactivos del kit correspondiente, tal como se indica en la hoja de códigos de barras del lote maestro. Se debe indicar el número de lote correcto al solicitar calibradores adicionales.
- B. Temperatura  
La temperatura ambiente se define entre 15 °C y 30 °C.
- C. Talco en los guantes  
Al igual que en cualquier otro sistema de reactivos, el exceso de talco de algunos guantes puede contaminar los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin talco.

## Panther System

### Reactivos y materiales suministrados

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay**, 100 pruebas, REF. 303236 (3 cajas)

Los calibradores pueden adquirirse por separado. Consulte a continuación los números de referencia de las cajas individuales.

#### Caja refrigerada de Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay (conservar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
<b>A</b>	<b>Reactivo de amplificación de HPV 16 18/45</b> <i>Ácidos nucleicos no infecciosos desecados en solución de tampón con &lt; 5 % de agente de volumen.</i>	1 vial
<b>E</b>	<b>Reactivo enzimático de HPV 16 18/45</b> <i>Transcriptasa inversa y RNA polimerasa desecadas en solución de tampón HEPES con &lt; 10 % de reactivo de volumen.</i>	1 vial
<b>P</b>	<b>Reactivo de sonda de HPV 16 18/45</b> <i>Sondas de DNA quimioluminiscentes y no infecciosas (&lt; 500 ng/vial) desecadas en solución de tampón succinato con &lt; 5 % de detergente.</i>	1 vial
<b>CI</b>	<b>Reactivo de control interno de HPV 16 18/45</b> <i>Transcrito de RNA no infeccioso en solución de tampón con &lt; 5 % de detergente.</i>	1 vial

#### Caja a temperatura ambiente de Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay (conservar entre 15 °C y 30 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
<b>AR</b>	<b>Solución de reconstitución del reactivo de amplificación de HPV 16 18/45</b> <i>Solución acuosa con conservantes.</i>	1 vial
<b>ER</b>	<b>Solución de reconstitución del reactivo enzimático de HPV 16 18/45</b> <i>Solución de tampón HEPES con surfactante y glicerol.</i>	1 vial
<b>PR</b>	<b>Solución de reconstitución del reactivo de sonda de HPV 16 18/45</b> <i>Solución de tampón succinato con &lt; 5 % de detergente.</i>	1 vial
<b>S</b>	<b>Reactivo de selección de HPV 16 18/45</b> <i>Solución de tampón borato 600 mM con surfactante.</i>	1 vial
<b>TCR</b>	<b>Reactivo de captura de diana de HPV 16 18/45</b> <i>Ácidos nucleicos no infecciosos en solución de tampón con fase sólida (&lt; 0,5 mg/ml).</i>	1 vial
	<b>Collares de reconstitución</b>	3
	<b>Hoja de códigos de barras del lote maestro</b>	1 hoja

**Caja de calibradores Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay (REF. 303235)**  
(conservar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
PCAL1	<b>Calibrador positivo 1 para HPV 16 18/45</b> <i>Transcrito in vitro no infeccioso de HPV 18 a una concentración de 750 copias/ml en solución de tampón con &lt; 5 % de detergente.</i>	5 viales
PCAL2	<b>Calibrador positivo 2 para HPV 16 18/45</b> <i>Transcrito in vitro no infeccioso de HPV 16 a una concentración de 1.000 copias/ml en solución de tampón con &lt; 5 % de detergente.</i>	5 viales
NCAL	<b>Calibrador negativo para HPV 16 18/45</b> <i>Solución de tampón con &lt; 5 % de detergente.</i>	5 viales

### Materiales necesarios pero no suministrados

**Nota:** A menos que se indique lo contrario, los materiales disponibles en Hologic aparecen en la lista con el número de referencia.

	REF.
Panther System	303095
Kit del ciclo del Panther	303096
<i>Kit de fluidos del ensayo Aptima</i>	303014
<i>(solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima)</i>	
<i>Kit de reactivos Auto Detect Aptima</i>	303013
<i>Unidades multitubo (Multi-Tube Units, MTU)</i>	104772-02
<i>Kit de bolsas para desechos Panther</i>	902731
<i>Tapa del recipiente de desechos Panther</i>	504405
Puntas conductoras de 1.000 µl para detección de líquido	10612513 (Tecan)
Kit de transferencia de muestras Aptima	301154C
Kit de transferencia de especímenes Aptima — imprimible	PRD-05110
Kit de recogida y transporte de muestras de citología Aptima	302657
Tapones perforables Aptima	105668
Tapones no perforables de repuesto	103036A
Tapones de repuesto para los kits de 100 pruebas:	
<i>Soluciones de reconstitución del reactivo de amplificación y el reactivo de sonda</i>	CL0041
<i>Solución de reconstitución del reactivo enzimático</i>	CL0041
<i>TCR y reactivo de selección</i>	501604
Lejía (solución de hipoclorito de sodio al 5 % o 0,7 M como mínimo)	—
Guantes desechables	—
Kit de solución de transferencia Aptima (solo para muestras SurePath)	303658

### Materiales opcionales

	REF.
Potenciador de lejía para limpieza	302101

## Procedimiento de prueba en el sistema Panther

**Nota:** Consulte el Manual del usuario del sistema Panther (Panther System Operator's Manual) para obtener más información sobre el procedimiento en este sistema.

### A. Preparación de la zona de trabajo

Limpie las superficies de trabajo donde se prepararán 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-0,5 M). Deje la solución de hipoclorito de sodio en contacto con las superficies durante 1 minuto como mínimo 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 van a preparar los reactivos y las muestras con un papel de filtro plastificado.

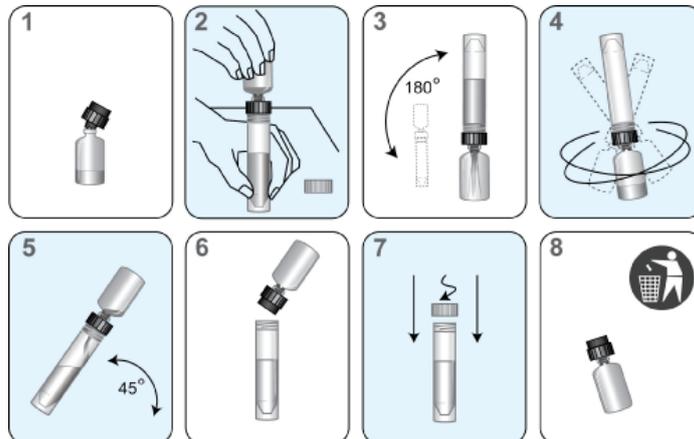
### B. Preparación de los reactivos de un nuevo kit

**Nota:** La reconstitución de los reactivos debe llevarse a cabo antes de iniciar cualquier tarea en el sistema Panther.

1. Para reconstituir los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda, combine los frascos de los reactivos liofilizados con la solución de reconstitución. Si las soluciones de reconstitución están refrigeradas, espere a que se equilibren a la temperatura ambiente antes de utilizarlas.
  - a. Empareje cada solución de reconstitución con el reactivo liofilizado correspondiente. Asegúrese de que los colores de las etiquetas de la solución de reconstitución y del reactivo coincidan antes de acoplar el collar de reconstitución.
  - b. Compruebe los números de lote en la hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que está emparejando los reactivos adecuados.
  - c. Abra el vial del reactivo liofilizado e inserte firmemente el extremo ranurado del collar de reconstitución en la abertura del vial (Figura 2, Paso 1).
  - d. Abra la solución de reconstitución correspondiente y deje el tapón sobre una superficie de trabajo limpia y cubierta.
  - e. A la vez que sujeta el frasco de la solución sobre la mesa del laboratorio, inserte firmemente el otro extremo del collar de reconstitución en el frasco (Figura 2, Paso 2).
  - f. Invierta lentamente los frascos acoplados. Deje que la solución escurra del frasco al interior del vial de vidrio (Figura 2, Paso 3).
  - g. Agite la solución girándola suavemente en el frasco hasta mezclarla perfectamente. Evite que se forme espuma al agitar el frasco (Figura 2, Paso 4).
  - h. Espere a que el reactivo liofilizado entre en solución y luego invierta de nuevo los frascos acoplados, inclinándolos en un ángulo de 45° para reducir al mínimo la formación de espuma (Figura 2, Paso 5). Deje que escurra todo el líquido de nuevo en el frasco de plástico.
  - i. Retire el collar de reconstitución y el vial de vidrio (Figura 2, Paso 6).
  - j. Vuelva a tapar el frasco de plástico. Registre en la etiqueta las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución (Figura 2, Paso 7).
  - k. Deseche el collar de reconstitución y el vial (Figura 2, Paso 8).

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

**Note:** Mezcle exhaustivamente los reactivos de amplificación, enzimático, de sonda y de selección, invirtiéndolos con cuidado antes de cargarlos en el sistema. Evite que se forme espuma durante inversión de los reactivos.



**Figura 2. Proceso de reconstitución en el Panther System**

2. Prepare el reactivo de captura de diana en uso (working Target Capture Reagent, wTCR):
  - a. Empareje los frascos adecuados de TCR y CI.
  - b. Compruebe los números de lote de los reactivos en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que está emparejando los reactivos adecuados del kit.
  - c. Abra el frasco de TCR y deje el tapón sobre una superficie de trabajo limpia y cubierta.
  - d. Abra el frasco de CI y vierta el contenido completo en el frasco de TCR. Es normal que quede una pequeña cantidad de líquido en el frasco del CI.
  - e. Tape el frasco de TCR y agite la solución girándola suavemente para mezclar el contenido. Evite que se forme espuma durante este paso.
  - f. Anote en la etiqueta las iniciales del usuario y la fecha actual.
  - g. Deseche el frasco de CI y el tapón correspondiente.
  - h. Se pueden formar precipitados en el wTCR, lo que puede dar lugar a resultados no válidos debido a errores en la verificación del volumen. El precipitado se puede disolver calentando el wTCR a una temperatura entre 42 °C y 60 °C durante 90 minutos como máximo. Espere a que el wTCR se equilibre a la temperatura ambiente antes de utilizarlo. No utilice el reactivo si persiste el precipitado.
3. Prepare el reactivo de selección
  - a. Compruebe el número de lote del reactivo en la hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que forma parte del kit.
  - b. Si el reactivo de selección contiene precipitados, caliéntelo a 60 °C ± 1 °C durante 45 minutos como máximo para facilitar su disolución. Mezcle suavemente el frasco cada 5 a 10 minutos. Espere a que el reactivo de selección se equilibre a la temperatura ambiente antes de utilizarlo. No lo utilice si persiste el precipitado o el contenido está turbio.

**Nota:** Mezcle bien todos los reactivos por inversión suave antes de cargarlos en el sistema. Evite que se forme espuma durante inversión de los reactivos.

## C. Preparación de los reactivos previamente reconstituidos

1. Los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda reconstituidos con anterioridad 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 precipitados que no entran en solución a temperatura ambiente, caliéntelo a una temperatura no superior a 60 °C durante 1 a 2 minutos. No utilice el reactivo si tiene precipitados o está turbio.
3. Si el wTCR contiene precipitados, caliéntelo entre 42 °C y 60 °C durante 90 minutos como máximo. Espere a que el wTCR se equilibre a la temperatura ambiente antes de utilizarlo. No utilice el reactivo si persiste el precipitado.
4. Si el reactivo de selección contiene precipitados, caliéntelo a 60 °C ± 1 °C durante 45 minutos como máximo para facilitar su disolución. Mezcle suavemente el frasco cada 5 a 10 minutos. Espere a que el reactivo de selección se equilibre a la temperatura ambiente antes de utilizarlo. No lo utilice si persiste el precipitado o el contenido está turbio.
5. Mezcle bien cada reactivo por inversión suave antes de cargarlo en el sistema. Evite que se forme espuma durante inversión de los reactivos.
6. No reponga las botellas de reactivos. El Panther System reconocerá y rechazará las botellas que se hayan rellenado.

## D. Manipulación de las muestras

1. Antes del procesamiento, deje que las muestras (calibradores, muestras y todas las muestras de control de calidad externo suministradas por el usuario) se equilibren a la temperatura ambiente.
2. **No agite las muestras en un mezclador vórtex.**
3. Inspeccione los tubos de muestra antes de cargarlos en la gradilla. Si un tubo de muestra tiene burbujas o un volumen inferior al observado habitualmente, centrifugue el tubo durante 5 minutos a 420 RCF para asegurarse de que no queda líquido en el tapón.

**Nota:** Si no se sigue correctamente el Paso 3, podría perderse líquido por el tapón del tubo de muestra.

## E. Preparación del sistema

Prepare el sistema siguiendo las instrucciones del *Manual del usuario del sistema Panther* (Panther System Operator's Manual) y las *Notas sobre el procedimiento* que aparecen a continuación. Asegúrese de utilizar gradillas de reactivos y adaptadores para TCR del tamaño adecuado.

**Notas sobre el procedimiento**

## A. Calibradores

1. Para que funcionen adecuadamente con el software del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System, se requieren dos réplicas del calibrador negativo y cada uno de los calibradores positivos. Puede cargar un vial de cada calibrador en cualquier posición de la gradilla en un carril del compartimento de muestras del Panther System. El pipeteo de las muestras comenzará cuando se cumpla una de las dos condiciones siguientes:
  - a. El Panther System está procesando los calibradores positivos y negativos.
  - b. Se han registrado resultados válidos para los calibradores en el Panther System.

2. Una vez que se hayan pipeteado y se estén procesando los tubos de calibradores de un kit de reactivos específico, se pueden procesar las muestras con el kit de reactivos del ensayo asociado en un tiempo máximo de 24 horas, a menos que:
    - a. Los calibradores no sean válidos.
    - b. Se retire del sistema el kit de reactivos del ensayo asociado del Panther System.
    - c. El kit de reactivos del ensayo asociado haya sobrepasado los límites de estabilidad.
  3. Cualquier intento de pipetear más de dos réplicas de un tubo de calibrador puede dar lugar a errores de volumen insuficiente.
- B. Temperatura
- La temperatura ambiente se define entre 15 °C y 30 °C.
- C. Talco en los guantes
- Al igual que en cualquier otro sistema de reactivos, el exceso de talco de algunos guantes puede contaminar los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin talco.

## Procedimientos de control de calidad

### A. Criterios de validez del ciclo

El software determina automáticamente la validez del ciclo. El software invalidará un ciclo en cualquiera de las siguientes condiciones:

- Hay más de una réplica no válida del calibrador negativo.
- Hay más de una réplica no válida del calibrador positivo 1.
- Hay más de una réplica no válida del calibrador positivo 2.
- Hay más de una réplica no válida de las 6 réplicas de calibrador combinadas.

El usuario puede invalidar un ciclo en caso de problemas técnicos, del usuario o del instrumento, si los documenta durante la realización del ensayo.

Los ciclos no válidos deben repetirse. Los ciclos anulados deben repetirse.

### B. Criterios de aceptación de los calibradores

En la tabla siguiente se definen los criterios de RLU para las réplicas de los calibradores negativos y positivos.

	<b>Tigris DTS System</b>	<b>Panther System</b>
<b>Calibrador negativo</b>		
18/45 RLU	$\geq 0$ y $\leq 60.000$ RLU	$\geq 0$ y $\leq 60.000$ RLU
CI/16 RLU	$\geq 75.000$ y $\leq 300.000$ RLU	$\geq 75.000$ y $\leq 300.000$ RLU
<b>Calibrador positivo 1</b>		
18/45 RLU	$\geq 850.000$ y $\leq 2.200.000$ RLU	$\geq 800.000$ y $\leq 2.200.000$ RLU
CI/16 RLU	$\leq 475.000$ RLU	$\leq 475.000$ RLU
<b>Calibrador positivo 2</b>		
18/45 RLU	$\leq 115.000$ RLU	$\leq 115.000$ RLU
CI/16 RLU	$\geq 625.000$ y $\leq 4.000.000$ RLU	$\geq 625.000$ y $\leq 4.000.000$ RLU

### C. Valor de corte del CI

El valor de corte del CI se determina a partir de la señal CI/analito 16 de las réplicas válidas del calibrador negativo.

$$\text{Valor de corte del CI} = 0,5 \times [\text{RLU media de la señal CI/16 de las réplicas válidas del calibrador negativo}]$$

### D. Valor de corte del analito 16

El valor de corte del analito para el HPV 16 se determina a partir de las RLU de la señal CI/16 de las réplicas válidas del calibrador negativo y de las réplicas válidas del calibrador positivo 2.

$$\text{Valor de corte del analito 16} = 2 \times [\text{RLU media de la señal CI/16 de las réplicas válidas del calibrador negativo}] + 0,1 \times [\text{RLU media de la señal CI/16 de las réplicas válidas del calibrador positivo 2}]$$

### E. Valor de corte del analito 18/45

El valor de corte del analito para el HPV 18/45 se determina a partir de las RLU de la señal 18/45 de las réplicas válidas del calibrador negativo y de las réplicas válidas del calibrador positivo 1.

$$\text{Valor de corte del analito 18/45} = 1 \times [\text{RLU media de la señal 18/45 de las réplicas válidas del calibrador negativo}] + 0,18 \times [\text{RLU media de la señal 18/45 de las réplicas válidas del calibrador positivo 1}]$$

## Interpretación de las pruebas

El software del ensayo determina automáticamente los resultados de las pruebas. El resultado de una prueba puede ser negativo tanto para HPV 16 como para HPV 18/45, negativo para HPV 16 y positivo para HPV 18/45, positivo para HPV 16 y negativo para HPV 18/45, positivo tanto para HPV 16 como para HPV 18/45, o no válido, según se determine por el valor de RLU del CI y las razones S/CO, tal como se describe en la siguiente tabla. El resultado de una prueba también puede no ser válido debido a que otros parámetros (p. ej., forma anormal de la curva) se encuentran fuera de los límites normales esperados. Los resultados no válidos de las pruebas deben repetirse.

Las muestras del kit CSCT pueden diluirse para reducir las posibles sustancias inhibitoras. Diluya una parte de la muestra no válida en 8 partes de medio de transporte de muestras (la solución presente en los tubos del kit CSCT); p. ej., 560 µl de muestra en un tubo nuevo del kit CSCT que contenga 4,5 ml de medio de transporte de muestras. Invierta suavemente la muestra diluida para mezclarla; evite que se forme espuma. Pruebe la muestra diluida siguiendo el procedimiento habitual del ensayo.

**Nota:** No diluya una muestra diluida no válida. Si se obtiene un resultado no válido con una muestra diluida, se debe obtener una muestra nueva de la paciente.

<b>Resultado del Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay</b>	<b>Criterios</b>
<b>Negativo - 16 Negativo - 18/45</b>	<i>RLU de CI/HPV 16 <math>\geq</math> valor de corte del CI y S/CO del HPV 16 <math>&lt; 1,00</math> y S/CO del HPV 18/45 <math>&lt; 1,00</math></i>
<b>Negativo - 16 Positivo - 18/45</b>	<i>S/CO del HPV 16 <math>&lt; 1,00</math> y S/CO del HPV 18/45 <math>\geq 1,00</math> y RLU de HPV 18/45 <math>\leq 3.000.000</math></i>
<b>Positivo - 16 Negativo - 18/45</b>	<i>S/CO del HPV 16 <math>\geq 1,00</math> y RLU de CI/HPV 16 <math>\leq 4.000.000</math> y S/CO DEL HPV 18/45 <math>&lt; 1,00</math></i>
<b>Positivo - 16 Positivo - 18/45</b>	<i>S/CO del HPV 16 <math>\geq 1,00</math> y RLU de CI/HPV 16 <math>\leq 4.000.000</math> y S/CO del HPV 18/45 <math>\geq 1,00</math> y RLU de HPV 18/45 <math>\leq 3.000.000</math></i>
<b>No válido</b>	<i>S/CO del HPV 16 <math>&lt; 1,00</math> y S/CO del HPV 18/45 <math>&lt; 1,00</math> y RLU de CI/HPV 16 <math>&lt;</math> valor de corte del CI</i>  <i>o</i> <i>RLU de CI/HPV 16 <math>&gt; 4.000.000</math></i>  <i>o</i> <i>RLU de HPV 18/45 <math>&gt; 3.000.000</math></i>

## Limitaciones

- A. No se ha evaluado el uso de tipos de muestras distintos a los identificados en el apartado de uso indicado.
- B. No se ha evaluado el rendimiento del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en personas vacunadas contra el HPV.
- C. El Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay no se ha evaluado en casos de sospecha de abuso sexual.
- D. La prevalencia de la infección por HPV en una población puede afectar al rendimiento. Los valores de predicción positivos disminuyen cuando las pruebas se realizan en poblaciones con una baja prevalencia o en personas sin riesgo de infección.
- E. Las muestras de citología en solución ThinPrep que contengan menos de 1 ml después de la preparación del frotis para citología ThinPrep no se consideran adecuadas para el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay.
- F. Los resultados de las pruebas pueden verse afectados por la recogida, conservación o procesamiento inadecuados de las muestras.
- G. El control interno supervisa los pasos de captura de diana, amplificación y detección del ensayo. No está concebido como un control de la idoneidad de las muestras de cuello uterino.
- H. Un resultado negativo en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay no excluye la posibilidad de anomalías citológicas, ni de CIN2, CIN3 o cáncer subyacentes o futuros.
- I. El Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay proporciona resultados cualitativos. Por consiguiente, no se puede establecer una correlación entre la magnitud de la señal de un ensayo positivo y el nivel de expresión de mRNA en una muestra.
- J. La detección del mRNA del HPV de alto riesgo (tipos 16, 18 y 45) depende del número de copias presente en la muestra, y puede verse afectada por los métodos de recogida de muestras, factores relacionados con la paciente, el estadio de la infección y la presencia de sustancias interferentes.
- K. La infección por HPV no es un indicador de HSIL citológico ni de CIN de grado alto subyacente, y tampoco significa que aparecerá CIN2, CIN3 o cáncer. La mayoría de las mujeres infectadas con uno o más tipos de HPV de alto riesgo no desarrolla CIN2, CIN3 ni cáncer.
- L. Los siguientes productos pueden interferir con el rendimiento del ensayo si están presentes a concentraciones superiores a las especificadas: lubricantes vaginales (que contengan Polyquaternium 15) al 1 % p/v, cremas antimicóticas (que contengan tioconazol) al 0,03 % p/v, moco al 0,3 % p/v, hormonas intravaginales (que contengan progesterona) al 1 % p/v, *Trichomonas vaginalis* a  $3 \times 10^4$  células/ml.
- M. Las altas concentraciones de HPV 45 pueden reducir la capacidad del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para detectar la presencia de HPV 16 a bajos niveles.
- N. No se han evaluado los efectos de otras variables potenciales, como el flujo vaginal, el uso de tampones, etc., ni de las variables relacionadas con la recogida de muestras.
- O. El uso de este producto puede limitarse al personal que haya recibido formación sobre el uso del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay.
- P. La contaminación cruzada de las muestras puede dar lugar a resultados positivos falsos. La tasa de arrastre del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Tigris DTS System y el Panther System, determinada en estudios no clínicos, fue del 0,35 % y del 0,19 %, respectivamente.
- Q. El Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay debe interpretarse junto con otros datos clínicos y de laboratorio de los que disponga el médico.

## Resultados esperados en el Tigris DTS System: prevalencia del mRNA del HPV de alto riesgo

La prevalencia de la infección por HPV de alto riesgo varía notablemente y depende de varios factores, el más importante de los cuales es la edad.<sup>19,20</sup> La prevalencia del HPV determinada por la detección del DNA del HPV se ha investigado en un gran número de estudios; sin embargo, pocos estudios indican la prevalencia basada en la detección del mRNA oncogénico del HPV. Se incluyó a mujeres de distintos centros clínicos (n=18) que representaban una amplia distribución geográfica y una población diversa (10 estados de Estados Unidos) en un estudio clínico prospectivo conocido como el ensayo CLEAR para evaluar el Aptima HPV assay, que detecta 14 tipos de HPV de alto riesgo.<sup>21</sup> Las muestras de las mujeres del ensayo CLEAR con resultados positivo del Aptima HPV assay se evaluaron con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en otro estudio clínico. La prevalencia del HPV 16, 18, y 45, así como de los 11 tipos de HPV de alto riesgo restantes observados en el ensayo clínico a partir de los resultados de los análisis con el Aptima HPV assay y el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, se categorizó en total, por grupo de edad y por centro de análisis. Los resultados se muestran en la Tabla 1 para las poblaciones ASC-US (células escamosas atípicas de relevancia no determinada) y NILM (negativas para lesiones o tumores intraepiteliales).

**Tabla 1:** Prevalencia del mRNA del HPV de alto riesgo en las poblaciones por grupo de edad, centro de análisis y todas combinadas

	Tasa de positivos % (x/n)							
	Población ASC-US (≥ 21 años)				Población NILM (≥ 30 años)			
	Pos. para HPV 16	Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	Pos. para los otros 11 tipos HR*	Pos. para HPV 16	Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	Pos. para los otros 11 tipos HR*
<b>Todos</b>	7,8 (71/912)	5,2 (47/912)	0,3 (3/912)	25,5 (233/912)	0,4 (47/10.846)	0,4 (47/10.846)	0 (0/10.846)	3,9 (421/10.846)
<b>Grupo de edad (años)</b>								
<b>De 21 a 29</b>	13,2 (51/386)	4,9 (19/386)	0,5 (2/386)	38,3 (148/386)	--	--	--	--
<b>De 30 a 39</b>	5,4 (14/257)	7,0 (18/257)	0,4 (1/257)	21,8 (56/257)	0,7 (30/4.188)	0,6 (27/4.188)	0 (0/4.188)	5,3 (221/4.188)
<b>≥ 40</b>	2,2 (6/269)	3,7 (10/269)	0 (0/269)	10,8 (29/269)	0,3 (17/6.658)	0,3 (20/6.658)	0 (0/6.658)	3,0 (200/6.658)
<b>Centro de análisis</b>								
<b>1</b>	9,0 (27/301)	4,3 (13/301)	0,7 (2/301)	24,9 (75/301)	0,4 (13/3.666)	0,5 (18/3.666)	0 (0/3.666)	3,8 (141/3.666)
<b>2</b>	7,4 (23/310)	6,1 (19/310)	0 (0/310)	26,5 (82/310)	0,5 (18/3.671)	0,5 (17/3.671)	0 (0/3.671)	3,7 (136/3.671)
<b>3</b>	7,0 (21/301)	5,0 (15/301)	0,3 (1/301)	25,2 (76/301)	0,5 (16/3.509)	0,3 (12/3.509)	0 (0/3.509)	4,1 (144/3.509)

-- = No aplicable, HR = alto riesgo, Pos. = Positivo

\*Tipos de HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68

## Rendimiento del ensayo en el Tigris DTS System

### Diseño del estudio clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con muestras de citología en solución ThinPrep

El Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay se evaluó utilizando muestras de citología remitidas, recogidas de mujeres que dieron su consentimiento durante el estudio clínico multicéntrico prospectivo en Estados Unidos, conocido como el ensayo CLEAR. El ensayo CLEAR se llevó a cabo para determinar el rendimiento clínico del Aptima HPV assay para la detección de la neoplasia intraepitelial de cuello uterino de grado 2 o superior ( $\geq$ CIN2). Se incluyó a las mujeres en el estudio ASC-US o en el estudio NILM en función de los resultados de la citología en solución ThinPrep remitidos tras las pruebas de rutina para la detección del cáncer de cuello uterino. La población del estudio ASC-US incluyó a mujeres mayores de 21 años con resultados de citología ASC-US, y la población del estudio NILM incluyó a mujeres mayores de 30 años con resultados de citología NILM.

Se analizaron mujeres de 18 centros clínicos, en su mayoría de clínicas de obstetricia y ginecología, con una amplia distribución geográfica, que constitúan una población diversa. Durante el ensayo CLEAR, se analizaron las muestras de citología sobrantes remitidas tanto con el Aptima HPV assay como con una prueba comercial de DNA del HPV. En el ensayo clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, las muestras de citología sobrantes remitidas se analizaron con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay.

Todas las mujeres del estudio ASC-US fueron remitidas para una colposcopia, independientemente de los resultados obtenidos con el Aptima HPV assay y la prueba comercial de DNA del HPV. Se obtuvieron biopsias por legrado endocervical (LEC) o biopsias de cuello uterino en sacabocados (1 biopsia de cada uno de los 4 cuadrantes). En los casos en los que la lesión era visible, se obtuvo una biopsia en sacabocados (método dirigido; 1 biopsia por lesión) y en los cuadrantes sin una lesión visible, la biopsia se obtuvo de la unión escamocolumnar (método aleatorio).

En el estudio NILM, las mujeres con resultados positivos en el Aptima HPV assay o la prueba comercial de DNA del HPV, así como mujeres con resultados negativos en ambos ensayos seleccionadas aleatoriamente, se remitieron para una colposcopia para la evaluación inicial. Se obtuvo una biopsia por LEC de cada mujer que se sometió a colposcopia. Solo se obtuvieron biopsias en sacabocados de las lesiones visibles (método dirigido; 1 biopsia por lesión). El seguimiento de las mujeres del estudio NILM no clasificadas como  $\geq$ CIN2 al inicio del estudio continuará durante 3 años con visitas de citología anuales. Las mujeres con resultados de citología ASC-US o más graves durante el periodo de seguimiento se remitirán para una colposcopia con el mismo procedimiento de biopsia realizado para la evaluación inicial.

El estado de la enfermedad se determinó mediante un grupo de consenso de la revisión histológica, basado en la concordancia de al menos 2 patólogos expertos. Los patólogos expertos no tuvieron acceso al estado citológico y de HPV de las mujeres, ni a los diagnósticos de los otros patólogos. Los resultados del Aptima HPV assay y de la prueba comercial de DNA del HPV no se mostraron a los investigadores, los médicos ni las mujeres hasta después de la visita de la colposcopia, con el fin de evitar sesgos.

Para validar el uso indicado del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay como prueba refleja a partir de un resultado positivo en el Aptima HPV assay, se consideró que los restos de las muestras de citología remitidos de todas las mujeres evaluables de los estudios ASC-US y NILM con un resultado positivo en el Aptima HPV assay eran elegibles para analizarse con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. Se determinó el rendimiento clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para la detección de  $\geq$ CIN2 y la neoplasia intraepitelial de cuello uterino de grado 3 o superior ( $\geq$ CIN3).

## Población ASC-US ≥ 21 años: rendimiento clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con muestras de citología en solución ThinPrep

En total, hubo 400 mujeres evaluables mayores de 21 años con resultados de citología ASC-US y resultados positivos del Aptima HPV assay cuyas muestras de citología remitidas fueron elegibles para su análisis con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. De ellas, 46 mujeres no contaban con muestras de citología remitidas disponibles para el análisis y 6 tenían un diagnóstico de enfermedad no determinado; todas ellas se excluyeron del análisis. Las 348 mujeres evaluables restantes tenían un estado de enfermedad concluyente y resultados válidos del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay basados en las pruebas reflejas de un resultado positivo del Aptima HPV assay. Sesenta y siete (67) mujeres tenían ≥CIN2 y 29 tenían ≥CIN3.

De las 348 mujeres evaluables con resultados positivos en el Aptima HPV assay, 117 tuvieron resultados positivos en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, lo que indica la presencia de HPV 16 o HPV 18/45; 231 tuvieron resultados negativos, lo que indica la presencia de uno o más de los otros 11 tipos de HPV de alto riesgo detectados por el Aptima HPV assay (es decir, los tipos 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 del HPV). Otras 545 mujeres evaluables mayores de 21 años con resultados de citología ASC-US tuvieron resultados negativos en el Aptima HPV assay durante el ensayo CLEAR. Un resultado negativo en el Aptima HPV assay indica la ausencia de los 14 tipos de HPV de alto riesgo, y fue designado como negativo para el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis. La prevalencia de ≥CIN2 y ≥CIN3 en mujeres evaluables con resultados de citología ASC-US fue del 8,8 % y del 3,7 %, respectivamente. Los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay por resultado del Aptima HPV assay y diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica se presentan en la Tabla 2.

**Tabla 2:** Población ASC-US ≥ 21 años: resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay por diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica

Resultado del Aptima HPV Assay	Resultado del AHPV-GT Assay*	Interpretación	Diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica						
			No determinado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cáncer	Total
Positivo	Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16	1	27	18	11	14	0	71
	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 18/45	3	23	14	3	3	1	47
	Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	0	1	0	1	1	0	3
	Neg. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para otros HPV HR	2	125	73	23	10	0	233
Total			6	176	105	38	28	1	354
Negativo	Neg. para HPV 16/18/45***	Neg. para HPV HR	13	458	75	8	4	0	558
Total			19	634	180	46	32	1****	912

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, CIN1 = neoplasia intraepitelial de cuello uterino de grado 1, HR = alto riesgo, Neg. = negativo, Pos. = positivo

\*Todas las muestras tuvieron resultados finales válidos (tras el análisis final o después de la resolución de las muestras inicialmente no válidas por procedimiento).

\*\*19 mujeres acudieron a la visita de colposcopia pero no fue posible llegar a un diagnóstico por los siguientes motivos: < 5 muestras de biopsia, todas ellas obtenidas con resultados histológicos normales/CIN1 (n=15), no se recogieron biopsias (n=3) o se perdieron las preparaciones de la biopsia (n=1).

\*\*\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas para el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

\*\*\*\*Una mujer presentó adenocarcinoma in situ (AIS).

El riesgo absoluto de enfermedad ( $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3) en función del resultado del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay se muestra en la Tabla 3. El riesgo de  $\geq$ CIN2 en mujeres con HPV presente de tipo 16, 18 o 45 fue del 29,1 %, en comparación con el 14,3 % en mujeres con uno o más de los otros 11 tipos de HPV de alto riesgo presentes, y del 2,2 % en mujeres sin ningún tipo de HPV de alto riesgo presente. Los riesgos absolutos se muestran por grupo de edad en la Tabla 4.

**Tabla 3:** Población ASC-US  $\geq$  21 años: riesgo absoluto de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 para los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay

Resultado del Aptima HPV Assay	Resultado del AHPV-GT Assay	Interpretación	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Riesgo absoluto de (IC del 95 %)	Riesgo absoluto de (IC del 95 %)
<b>Positivo</b>	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	29,1 (34/117) (22,4, 36,0)	16,2 (19/117) (11,4, 21,1)
	Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 únicamente	35,7 (25/70) (26,1, 45,9)	20,0 (14/70) (12,6, 28,0)
	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 18/45 únicamente	15,9 (7/44) (7,2, 28,3)	9,1 (4/44) (2,9, 19,5)
	Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	14,3 (33/231) (10,9, 17,9)	4,3 (10/231) (2,4, 6,8)
	Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	19,3 (67/348) (17,1, 21,3)	8,3 (29/348) (6,9, 9,4)
<b>Negativo</b>	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)	0,7 (4/545) (0,2, 1,6)
Prevalencia			8,8 % (79/893)	3,7 % (33/893)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas para el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

**Tabla 4:** Población ASC-US ≥ 21 años: riesgo absoluto de ≥CIN2 y ≥CIN3 para los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay, por grupo de edad

				≥CIN2	≥CIN3
	Resultado del Aptima HPV Assay	Resultado del AHPV-GT Assay	Interpretación	Riesgo absoluto de (IC del 95 %)	Riesgo absoluto de (IC del 95 %)
De 21 a 29 años	Positivo	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	26,8 (19/71) (18,3, 35,7)	15,5 (11/71) (9,3, 21,8)
		Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 únicamente	28,0 (14/50) (17,5, 39,6)	18,0 (9/50) (9,9, 26,9)
		Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 18/45 únicamente	15,8 (3/19) (3,7, 36,3)	5,3 (1/19) (0,2, 22,5)
		Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	17,0 (25/147) (12,6, 21,5)	5,4 (8/147) (2,8, 8,5)
		Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	20,2 (44/218) (17,6, 22,5)	8,7 (19/218) (7,1, 9,8)
	Negativo	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	3,6 (6/165) (1,5, 6,9)	0,6 (1/165) (0,0, 2,7)
Prevalencia				13,1 % (50/383)	5,2 % (20/383)
De 30 a 39 años	Positivo	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	32,3 (10/31) (19,0, 45,9)	16,1 (5/31) (7,0, 25,4)
		Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 únicamente	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 18/45 únicamente	18,8 (3/16) (3,0, 40,6)	12,5 (2/16) (1,3, 30,8)
		Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	12,7 (7/55) (6,2, 20,5)	3,6 (2/55) (0,6, 9,1)
		Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	19,8 (17/86) (15,1, 23,9)	8,1 (7/86) (4,7, 10,3)
	Negativo	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)	0,6 (1/167) (0,0, 2,3)
Prevalencia				7,5 % (19/253)	3,2 % (8/253)
≥ 40 años	Positivo	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 únicamente	66,7 (4/6) (27,1, 93,5)	33,3 (2/6) (6,2, 69,2)
		Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 18/45 únicamente	11,1 (1/9) (0,5, 39,7)	11,1 (1/9) (0,5, 37,1)
		Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	--- (0/0)	--- (0/0)
		Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	3,4 (1/29) (0,1, 14,0)	0 (0/29) (0,0, 8,2)
		Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	13,6 (6/44) (6,5, 20,6)	6,8 (3/44) (1,8, 11,4)
	Negativo	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)
Prevalencia				3,9 % (10/257)	1,9 % (5/257)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas para el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

El riesgo relativo de enfermedad con resultados positivos frente a negativos del Aptima HPV 16/45 Genotype assay se muestra en la Tabla 5. Las mujeres con HPV presente de tipo 16, 18 o 45 tuvieron 13,2 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN2 y 22,1 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN3 que las mujeres sin tipos de HPV de alto riesgo presentes. Las mujeres con HPV presente de tipo 16, 18 o 45 tuvieron 2,0 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN2 y 3,8 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN3 que las mujeres con uno o más de los otros 11 tipos de HPV de alto riesgo presentes.

**Tabla 5:** Población ASC-US  $\geq$  21 años: riesgo relativo de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 para los resultados del Aptima HPV 16/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay

Interpretación de los resultados del Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Riesgo relativo (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)
Positivo para HPV 16 o 18/45 frente a negativo para HPV HR	13,2 (7,0, 24,7)	22,1 (7,7, 63,8)
Positivo para HPV 16 o 18/45 frente a positivo para otros HPV HR	2,0 (1,3, 3,1)	3,8 (1,8, 7,8)
Positivo para otros HPV HR frente a negativo para HPV HR	6,5 (3,4, 12,3)	5,9 (1,9, 18,6)
Positivo para HPV HR frente a negativo para HPV HR	8,7 (4,8, 15,9)	11,4 (4,0, 32,0)
Prevalencia	8,8 % (79/893)	3,7 % (33/893)

IC = intervalo de confianza, HR = alto riesgo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas para el Aptima HPV 16/45 Genotype assay para los fines del análisis.

Las razones de probabilidad ( $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3) por el resultado del Aptima HPV 16/45 Genotype assay se muestran en la Tabla 6. Los tipos 16, 18 y 45 del HPV tuvieron 4,2 veces más probabilidades de estar presentes en una mujer con  $\geq$ CIN2 y 5,1 veces más probabilidades de estar presentes en una mujer con  $\geq$ CIN3.

**Tabla 6:** Población ASC-US  $\geq$  21 años: razones de probabilidad de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16/45 Genotype assay y el Aptima HPV assay

Interpretación de los resultados del Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Razón de probabilidad (IC del 95 %)	Razón de probabilidad (IC del 95 %)
Positivo para HPV 16 o 18/45	4,2 (3,0, 5,8)	5,1 (3,4, 6,9)
Positivo para otros HPV HR	1,7 (1,3, 2,3)	1,2 (0,6, 1,9)
Neg. para HPV HR	0,2 (0,1, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

IC = intervalo de confianza, HR = alto riesgo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas para el Aptima HPV 16/45 Genotype assay para los fines del análisis.

## Población NILM ≥ 30 años: rendimiento clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con muestras de citología en solución ThinPrep

En total, hubo 540 mujeres evaluables mayores de 30 años con resultados de citología NILM y resultados positivos del Aptima HPV assay cuyas muestras de citología remitidas fueron elegibles para su análisis con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. De ellas, 25 mujeres no contaban con muestras de citología remitidas disponibles para el análisis y fueron excluidas del análisis. Las 515 mujeres evaluables restantes tenían resultados válidos del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. De ellas, 317 mujeres se sometieron a colposcopia. Quince (15) mujeres tenían ≥CIN2 y 10 tenían ≥CIN3; 283 mujeres tenían una histología normal/CIN1; 19 mujeres tenían un estado de enfermedad no determinado.

De las 298 mujeres evaluables con un estado de enfermedad concluyente y resultados positivos del Aptima HPV assay, 61 tuvieron resultados positivos en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, lo que indica la presencia de HPV 16 o HPV 18/45; 237 tuvieron resultados negativos, lo que indica la presencia de uno o más de los otros 11 tipos de HPV de alto riesgo. Otras 505 mujeres evaluables mayores de 30 años con resultados de citología NILM y estado de enfermedad concluyente tuvieron resultados negativos en el Aptima HPV assay durante el ensayo CLEAR. Un resultado negativo en el Aptima HPV assay indica la ausencia de los 14 tipos de HPV de alto riesgo, y fueron designadas como negativas para el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis. Los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay por resultado del Aptima HPV assay y diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica se presentan en la Tabla 7.

**Tabla 7:** Población NILM ≥ 30 años: resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay por diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica.

Resultado del Aptima HPV Assay	Resultado del AHPV-GT Assay*	Interpretación	Diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica						
			No determinado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cáncer	Total
Positivo	Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16	2	27	0	0	3	1	33
	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 18/45	1	26	1	1	0	2	31
	Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	0	0	0	0	0	0	0
	Neg. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para otros HPV HR	16	218	11	4	4	0	253
Total			19	271	12	5	7	3	317
Negativo	Neg. para HPV 16/18/45***	Neg. para HPV HR	25	483	17	4	1	0	530
Total			44	754	29	9	8	3****	847

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo

\*Todas las muestras tuvieron resultados finales válidos (tras el análisis inicial o después de la resolución de las muestras inicialmente no válidas por procedimiento).

\*\*44 mujeres acudieron a la visita de colposcopia pero no fue posible llegar a un diagnóstico por los siguientes motivos: no se pudo llegar a un consenso debido a que las muestras no eran adecuadas (n=28), no se recogieron biopsias debido a factores subyacentes (n=13), o no se recogieron o se revisaron las biopsias debido a un error (n=3).

\*\*\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas para el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

\*\*\*\*Tres mujeres presentaron adenocarcinoma in situ (AIS).

De las 515 mujeres con resultados positivos en el Aptima HPV assay y resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, 217 tuvieron un estado de enfermedad no verificado (incluidos los no determinados), (Tabla 8). De las 10.331 mujeres con resultados negativos del Aptima HPV assay en el ensayo CLEAR original, 9.826 tuvieron un estado de enfermedad no verificado. Debido a que solo se remitieron para colposcopia mujeres aleatoriamente seleccionadas con resultados negativos tanto en el Aptima HPV assay como en la prueba comercial de DNA del HPV, la proporción de mujeres con un estado de enfermedad no verificado fue elevada en este grupo (96,6 %) Para compensar este sesgo en la verificación, se utilizó un método de imputación múltiple para calcular el número de mujeres con enfermedad que podrían haber sido identificadas en el caso de que se hubiera realizado una colposcopia a todas las mujeres. Se presentan los cálculos de rendimiento ajustados y no ajustados por el sesgo de verificación, basados en las 803 mujeres con un estado de enfermedad verificado.

**Tabla 8:** Población NILM  $\geq$  30 años: clasificación de mujeres NILM evaluables por resultados del Aptima HPV assay, del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y de la prueba de DNA del HPV, el estado de enfermedad ( $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3), y el estado de verificación de la enfermedad.

Resultado del Aptima HPV Assay*	Resultado del AHPV-GT Assay*	Prueba de DNA del HPV	Total de mujeres	Estado de enfermedad verificado: $\geq$ CIN2		Estado de enfermedad verificado: $\geq$ CIN3		Estado de enfermedad no verificado
				Mujeres enfermas ( $\geq$ CIN2)	Mujeres sin enfermedad ( $\geq$ CIN2)	Mujeres enfermas ( $\geq$ CIN3)	Mujeres sin enfermedad ( $\geq$ CIN3)	Mujeres con un estado de enfermedad desconocido (% desconocido)
Positivo	Positivo	Positivo	83	6	48	5	49	29 (34,9 %)
	Positivo	Negativo	9	1	5	1	5	3 (33,3 %)
	Positivo	Sin resultado**	2	0	1	0	1	1 (50,0 %)
	Negativo	Positivo	271	7	171	4	174	93 (34,3 %)
	Negativo	Negativo	137	1	52	0	53	84 (61,3 %)
	Negativo	Sin resultado**	13	0	6	0	6	7 (53,8 %)
Total			515	15	283	10	288	217 (42,1 %)
Negativo	--***	Positivo	306	3	178	1	180	125 (40,8 %)
	--***	Negativo	9.420	1	322	0	323	9.097 (96,6 %)
	--***	Sin resultado**	605	1	0	0	1	604 (99,8 %)
Total			10.846	20	783	11	792	10.043 (92,6 %)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, -- = no aplicable

\*Todas las muestras tuvieron resultados finales válidos (tras el análisis inicial o después de la resolución de las muestras inicialmente no válidas por procedimiento).

\*\*620 mujeres con resultados del Aptima HPV assay no tuvieron resultados de la prueba de DNA del HPV debido principalmente a un volumen insuficiente de la muestra de citología.

\*\*\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas para el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

El riesgo absoluto ajustado de enfermedad ( $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3) por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay se muestran en la Tabla 9a. El riesgo de  $\geq$ CIN2 en mujeres con HPV presente de los tipos 16, 18 o 45 fue del 12,6 %, frente al 3,4 % en las mujeres con uno o más de los otros 11 tipos de HPV de alto riesgo presentes y al 0,6 % en mujeres sin tipos de HPV de alto riesgo presentes. El riesgo absoluto no ajustado de enfermedad se muestra, en total, en la Tabla 9b, y por grupo de edad en la Tabla 10.

**Tabla 9a:** Población NILM  $\geq 30$  años: riesgo absoluto de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay (cálculos ajustados por el sesgo de verificación)

Resultado del Aptima HPV Assay	Resultado del AHPV-GT Assay	Interpretación	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Riesgo absoluto de (IC del 95 %)	Riesgo absoluto de (IC del 95 %)
<b>Positivo</b>	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	12,6 (3,7, 21,4)	9,5 (2,1, 16,8)
	Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 únicamente	14,5 (2,1, 26,9)	12,1 (0,7, 23,4)
	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 18/45 únicamente	10,7 (0,0, 22,5)	6,9 (0,0, 16,2)
	Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	--	--
	Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	3,4 (1,2, 5,6)	1,8 (0,1, 3,5)
	Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	5,0 (2,6, 7,5)	3,2 (1,3, 5,2)
<b>Negativo</b>	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	0,6 (0,1, 1,2)	0,4 (0,0, 0,7)
Prevalencia			0,9 %	0,5 %

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo, -- = no aplicable

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas para el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

**Tabla 9b:** Población NILM  $\geq 30$  años: riesgo absoluto de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay (cálculos no ajustados)

Resultado del Aptima HPV Assay	Resultado del AHPV-GT Assay	Interpretación	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Riesgo absoluto de (IC del 95 %)	Riesgo absoluto de (IC del 95 %)
<b>Positivo</b>	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	11,5 (7/61) (5,4, 18,9)	9,8 (6/61) (4,6, 15,2)
	Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 únicamente	12,9 (4/31) (4,0, 26,0)	12,9 (4/31) (4,3, 23,8)
	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 18/45 únicamente	10,0 (3/30) (2,4, 23,0)	6,7 (2/30) (0,8, 17,7)
	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	-- (0/0)	-- (0/0)
	Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	3,4 (8/237) (1,7, 5,3)	1,7 (4/237) (0,6, 3,2)
	Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	5,0 (15/298) (3,6, 6,2)	3,4 (10/298) (2,3, 3,9)
<b>Negativo</b>	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)
Prevalencia			2,5 % (20/803)	1,4 % (11/803)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo, -- = no aplicable

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas para el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

**Tabla 10:** Población NILM  $\geq 30$  años: riesgo absoluto de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay por grupo de edad (cálculos no ajustados)

	Resultado del Aptima HPV Assay	Resultado del AHPV-GT Assay	Interpretación	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Riesgo absoluto de (IC del 95 %)	Riesgo absoluto de (IC del 95 %)
De 30 a 39 años	Positivo	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	8,8 (3/34) (2,2, 17,8)	5,9 (2/34) (1,0, 13,3)
		Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 únicamente	0,0 (0/17) (0,0, 15,5)	0,0 (0/17) (0,0, 14,3)
		Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 18/45 únicamente	17,6 (3/17) (3,2, 35,4)	11,8 (2/17) (1,3, 27,0)
		Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	-- (0/0)	-- (0/0)
		Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	4,0 (5/124) (1,7, 6,2)	2,4 (3/124) (0,7, 4,2)
		Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	5,1 (8/158) (3,2, 6,1)	3,2 (5/158) (1,5, 4,0)
	Negativo	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	0,5 (1/217) (0,0, 1,9)	0,5 (1/217) (0,0, 1,7)
Prevalencia				2,4 % (9/375)	1,6 % (6/375)
$\geq 40$ años	Positivo	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	14,8 (4/27) (4,7, 27,3)	14,8 (4/27) (5,1, 22,8)
		Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 únicamente	28,6 (4/14) (6,3, 50,7)	28,6 (4/14) (6,4, 46,5)
		Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 18/45 únicamente	0,0 (0/13) (0,0, 20,1)	0,0 (0/13) (0,0, 17,1)
		Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	-- (0/0)	-- (0/0)
		Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	2,7 (3/113) (0,7, 5,8)	0,9 (1/113) (0,0, 3,1)
		Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	5,0 (7/140) (2,6, 7,0)	3,6 (5/140) (1,9, 4,2)
	Negativo	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	1,4 (4/288) (0,5, 2,5)	0,0 (0/288) (0,0, 0,8)
Prevalencia				2,6 % (11/428)	1,2 % (5/428)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo, -- = no aplicable

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas para el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

El riesgo relativo de enfermedad con resultados positivos frente a negativos del Aptima HPV 16/18/45 Genotype assay se muestra en la Tabla 11 (ajustados por el sesgo de verificación) y en la Tabla 12 (no ajustados). Las mujeres con HPV presente de tipo 16, 18 o 45 tuvieron 20,9 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN2 y 29,4 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN3 que las mujeres sin tipos de HPV de alto riesgo presentes. Las mujeres con HPV presente de tipo 16, 18 o 45 tuvieron 3,7 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN2 y 5,3 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN3 que las mujeres con uno o más de los otros 11 tipos de HPV de alto riesgo presentes.

**Tabla 11:** Población NILM  $\geq$  30 años: riesgo relativo de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16/18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay (cálculos ajustados por el sesgo de verificación)

Interpretación de la prueba del Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Riesgo relativo (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)
Pos. para el HPV 16 o 18/45 frente a Neg. para HPV HR	20,9 (6,3, 69,3)	29,4 (7,2, 120,8)
Pos. para el HPV 16 o 18/45 frente a Pos. para otros HPV HR	3,7 (1,5, 9,5)	5,3 (1,5, 18,2)
Pos. para otros HPV HR frente a Neg. para HPV HR	5,6 (1,8, 17,7)	5,6 (1,2, 26,0)
Pos. para HPV HR frente a Neg. para HPV HR	8,5 (2,9, 24,8)	10,1 (2,7, 38,2)
Prevalencia	0,9 %	0,5 %

IC = intervalo de confianza, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas para el Aptima HPV 16/18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

**Tabla 12:** Población NILM  $\geq$  30 años: riesgo relativo de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16/18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay (cálculos no ajustados)

Interpretación de la prueba del Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Riesgo relativo (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)
Pos. para el HPV 16 o 18/45 frente a Neg. para HPV HR	11,6 (3,8, 35,4)	49,7 (6,1, 406)
Pos. para el HPV 16 o 18/45 frente a Pos. para otros HPV HR	3,4 (1,3, 9,0)	5,8 (1,7, 20,0)
Pos. para otros HPV HR frente a Neg. para HPV HR	3,4 (1,1, 10,3)	8,5 (1,0, 75,8)
Pos. para HPV HR frente a Neg. para HPV HR	5,1 (1,9, 13,8)	16,9 (2,2, 132)
Prevalencia	2,5 % (20/803)	1,4 % (11/803)

IC = intervalo de confianza, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas para el Aptima HPV 16/18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

Las razones de probabilidad ( $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3) por el resultado del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay se muestran en la Tabla 13 (ajustadas por el sesgo de verificación) y en la Tabla 14 (no ajustadas). Los tipos 16, 18 y 45 del HPV tuvieron 17,1 veces más probabilidades de estar presentes en una mujer con  $\geq$ CIN2 y 21,9 veces más probabilidades de estar presentes en una mujer con  $\geq$ CIN3.

**Tabla 13:** Población NILM  $\geq$  30 años: razones de probabilidad de  $\geq$  CIN2 y  $\geq$  CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay (cálculos ajustados por el sesgo de verificación)

Interpretación de la prueba del Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Razón de probabilidad (IC del 95 %)	Razón de probabilidad (IC del 95 %)
Pos. para HPV 16 o 18/45	17,1 (6,2, 46,9)	21,9 (7,3, 65,2)
Pos. para otros HPV HR	4,2 (1,7, 10,1)	3,8 (1,2, 12,6)
Neg. para HPV HR	0,7 (0,5, 1,0)	0,7 (0,4, 1,1)

IC = Intervalo de confianza, HR = alto riesgo, Pos. = positivo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas para el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

**Tabla 14:** Población NILM  $\geq$  30 años: razones de probabilidad y probabilidad de enfermedad  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del HPV assay (cálculos no ajustados)

Interpretación de la prueba del Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Razón de probabilidad (IC del 95 %)	Razón de probabilidad (IC del 95 %)
Pos. para HPV 16 o 18/45	5,1 (2,3, 9,1)	7,9 (3,5, 12,9)
Pos. para otros HPV HR	1,4 (0,7, 2,2)	1,2 (0,4, 2,3)
Neg. para HPV HR	0,4 (0,1, 0,7)	0,1 (0,0, 0,6)

IC = Intervalo de confianza, HR = alto riesgo, Pos. = positivo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas para el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

## Rendimiento clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con muestras de citología en solución SurePath

Se recogieron muestras de citología en solución SurePath de mujeres canadienses remitidas para seguimiento debido a: uno o más resultados de citología anormales, infección por HPV u otros motivos. Se transfirió una alícuota (0,5 ml) de cada muestra a un tubo de transferencia de muestras Aptima y después se trató con la solución de transferencia Aptima. Se analizó una sola réplica de cada muestra con el Aptima HPV assay (n=494). A continuación, se analizaron muestras positivas con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. Además, se extrajo una alícuota (1 ml) más de cada muestra para evaluarla con una prueba comercial de PCR del HPV (n=557). El riesgo absoluto de enfermedad ( $\geq$ CIN3) para los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay se muestra en la tabla 15. Resultados similares se muestran para la prueba comercial de PCR del HPV, que diferencia el HPV 16 y el HPV 18, pero no el HPV 45, por separado de los demás genotipos de alto riesgo. El riesgo relativo de enfermedad para resultados de genotipos positivos frente a negativos del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y de la prueba de PCR del HPV se muestra en la Tabla 16.

**Tabla 15:** Riesgo absoluto de  $\geq$ CIN3 para los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y de una prueba comercial de PCR del HPV

Resultado HPV HR	Resultado de genotipos	Interpretación	Riesgo absoluto Aptima $\geq$ CIN3 (IC del 95 %)	Riesgo absoluto HPV PCR $\geq$ CIN3 (IC del 95 %)
<b>Positivo</b>	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45*	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45*	14,6 (9,6-19,5)	14,4 (10,4-18,1)
	Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45*	Pos. solo para HPV 16	19,4 (12,0-26,8)	16,8 (11,6-21,9)
	Neg. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45*	Pos. solo para HPV 18/45*	3,3 (0,1-13,8)	7,1 (1,0-18,8)
	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45*	Pos. para HPV 16 y HPV 18/45*	25,0 (1,3-75,2)	14,3 (0,7-49,9)
	Neg. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45*	Pos. para otros HPV HR	2,5 (1,4-3,7)	2,1 (1,1-3,3)
	Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	9,8 (8,1-11,2)	8,5 (7,0-9,5)
<b>Negativo**</b>	Neg. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45*	Neg. para HPV HR	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
<b>Prevalencia (%)</b>			4,9 %	5,0 %

HR = riesgo alto; Pos = positivo; Neg = negativo

\*La prueba de PCR del HPV solo diferencia el HPV 16 y el HPV 18 de los otros 12 genotipos de alto riesgo, incluido el HPV 45.

\*\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

**Tabla 16:** Riesgo relativo de  $\geq$ CIN3 para los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y de una prueba comercial de PCR del HPV

Resultados del Aptima Assay		Resultados de la prueba de PCR del HPV	
Interpretación de las pruebas	Riesgo relativo $\geq$ CIN3 (IC del 95 %)	Interpretación de las pruebas	Riesgo relativo $\geq$ CIN3 (IC del 95 %)
Positivo para HPV 16 o 18/45 frente a negativo para HPV HR	14,8 (4,3-50,3)	Positivo para HPV 16 o HPV 18 frente a negativo para HPV HR	12,6 (3,8-41,9)
Positivo para HPV 16 o 18/45 frente a positivo para otros HPV HR	2,0 (0,8-4,6)	Positivo para HPV 16 o HPV 18 frente a positivo para otros HPV HR	3,9 (1,6-9,5)
Positivo para otros HPV HR frente a negativo para HPV HR	7,5 (2,0-28,6)	Positivo para otros HPV HR frente a negativo para HPV HR	3,2 (0,8-12,8)
Positivo para HPV HR frente a negativo para HPV HR	10,0 (3,0-32,7)	Positivo para HPV HR frente a negativo para HPV HR	7,4 (2,3-24,3)
Prevalencia	4,9 %	Prevalencia	5,0 %

### Rendimiento clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con muestras en medio de recogida y transporte de muestras de citología

Las muestras en CSCT se recogieron de mujeres que acudieron a visitas de cribado de rutina o visitas de seguimiento, y se analizaron con el Aptima HPV assay. Las muestras en CSCT sobrantes (n=378) con un resultado positivo en el Aptima HPV assay se analizaron con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Tigris DTS System. Se determinó el genotipo de HPV de cada muestra mediante una prueba de genotipificación de DNA. Las muestras con resultados discordantes en la prueba de genotipificación (DNA y el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay) se analizaron con una prueba validada de secuenciación por PCR con transcriptasa inversa para resolver su estado de HPV 16, HPV 18 Y HPV 45. Se determinó la concordancia clínica (positiva y negativa) del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para la detección del HPV 16, 18 y 45 de alto riesgo. Los resultados se muestran en la Tabla 17.

**Tabla 17:** Concordancia clínica del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Tigris DTS System para la detección de HPV 16, 18 y 45 de alto riesgo en muestras en CSCT

		Método de referencia				Total
		Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Neg. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	
Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	125	0	1	0	126
	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	0	43	0	1	44
	Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	0	0	8	1	9
	Neg. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	1	1	0	197	199
	<b>Total</b>	126	44	9	199	378

Pos. = Positivo, Neg. = Negativo

Concordancia positiva: 98,3 % (176/179) (IC del 95 %: 95,2, 99,4)

Concordancia negativa: 99,0 % (197/199) (IC del 95 %: 96,4, 99,7)

## Sensibilidad analítica

El límite de detección (LD) en el valor de corte clínico es una concentración positiva (superior al valor de corte clínico) el 95 % de las veces. El LD del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay se determinó analizando muestras clínicas negativas individuales de citología en solución ThinPrep enriquecidas con transcritos *in vitro* de HPV a distintas concentraciones. Se analizaron treinta réplicas de cada nivel de copias con cada uno de los tres lotes de reactivos, para un total de 90 réplicas. Se realizaron análisis durante 6 días, con 3 ciclos por día y 5 réplicas de cada genotipo analizadas en cada ciclo. Se calculó el límite de detección del 95 % (Tabla 18) a partir del análisis de regresión Probit de los resultados de positividad de cada grupo de muestras de dilución.

**Tabla 18:** Límite de detección en el valor de corte clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay

Diana	Límite de detección (IC del 95 %)
HPV 16	57,3 (46,5 - 74,6)
HPV 18	84,8 (66,1 - 115,6)
HPV 45	60,0 (46,6 - 82,3)
SiHa	1,2 (0,9, 1,7)
HeLa	0,4 (0,3, 0,5)
MS751	2,6 (1,9, 4,2)

\*copias por reacción para los transcritos *in vitro* y células por reacción para las líneas celulares

## Precisión del ensayo

La precisión del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay se evaluó en dos estudios con el mismo grupo de muestras de 22 miembros. El estudio 1 se llevó a cabo en 3 centros de análisis externos para determinar la reproducibilidad del ensayo. El estudio 2 se llevó a cabo internamente para determinar la precisión en el laboratorio. El grupo de muestras incluyó 14 muestras positivas para HPV 16 o 18/45 con concentraciones iguales o superiores al límite de detección del ensayo (positividad esperada:  $\geq 95\%$ ), 5 muestras positivas para HPV 16 o 18/45 con concentraciones inferiores al límite de detección del ensayo (positividad esperada:  $> 0\%$  a  $< 25\%$ ), y 3 muestras negativas para HPV. Los miembros positivos para HPV 16 o 18/45 del grupo de muestras se prepararon añadiendo células cultivadas (SiHa, HeLa, and MS751; ATCC, Manassas, Virginia) infectadas por HPV a mezclas de muestras sobrantes de citología en solución ThinPrep, o diluyendo muestras clínicas de HPV 16, 18 o 45 en mezclas de muestras sobrantes de citología en solución ThinPrep. Los miembros negativos para HPV del grupo de muestras se prepararon con mezclas de muestras de citología en solución ThinPrep.

En el estudio 1, 2 técnicos en cada uno de los 3 centros de análisis (1 instrumento por centro) llevaron a cabo 2 listas de trabajo del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay por día durante 3 días. Las pruebas se llevaron a cabo utilizando 1 lote de reactivos. Cada lista de trabajo contenía 3 réplicas de cada uno de los miembros del grupo de muestras de reproducibilidad. Se analizaron ciento ocho (108) tubos de muestra individuales para cada miembro del grupo de muestras (3 centros x 1 instrumento x 2 técnicos x 1 lote x 2 listas de trabajo/día x 3 días x 3 réplicas). En el estudio 2, los análisis se llevaron a cabo internamente durante 20 días, con un total de 162 reacciones analizadas por cada miembro del grupo de muestras (1 centro x 3 instrumentos x 3 técnicos x 3 lotes x 2 listas de trabajo x 3 réplicas).

Los miembros del grupo de muestras se describen en la Tabla 19a y la Tabla 19b, junto con un resumen de la concordancia con los resultados esperados para el HPV 16 y el HPV 18/45, respectivamente.

**Tabla 19a:** Estudios 1 y 2 de precisión del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay: Descripción del grupo de muestras y porcentaje de concordancia con los resultados esperados para el HPV 16

Descripción del grupo de muestras (células/reacción)	Resultado esperado para el HPV 16	Porcentaje de concordancia (IC del 95 %)	
		Estudio 1 (3 centros de análisis)	Estudio 2 (1 centro de análisis)
Células SiHa (3,0 células)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células HeLa (0,6 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células MS751 (11,0 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 1 de HPV 16	Positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 1 de HPV 18/45	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Células SiHa (1,6 células) y células HeLa (3,3 células)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Células SiHa (1,6 células) y células MS751 (42,5 células)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Células SiHa (15,7 células) y células HeLa (0,3 células)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Células SiHa (15,7 células) y células MS751 (4,3 células)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (1,6 células)	Positivo	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Células HeLa (0,3 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Células MS751 (4,3 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 2 de HPV 16	Positivo	97,2 (104/107) (92,1, 99,0)	94,4 (152/161) (88,7, 97,0)
Muestra clínica 2 de HPV 18/45	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (0,1 células)	Negativo	85,2 (92/108) (77,3, 90,7)	84,6 (137/162) (78,2, 89,3)
Células HeLa (0,02 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células MS751 (0,04 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 3 de HPV 16	Negativo	95,4 (103/108) (89,6, 98,0)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
Muestra clínica 3 de HPV 18/45	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Muestra clínica 1 negativa para el HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 2 negativa para el HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 3 negativa para el HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

IC = Intervalo de confianza de la puntuación

**Nota:** El porcentaje de concordancia puede haberse visto afectado por variaciones en el enriquecimiento, la dilución o la distribución en alícuotas.

**Tabla 19b:** Estudios 1 y 2 de precisión del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay: Descripción del grupo de muestras y porcentaje de concordancia con los resultados esperados para el HPV 18/45

Descripción del grupo de muestras (células/reacción)	Porcentaje de concordancia (IC del 95 %)		
	Resultado esperado para el HPV 18/45	Estudio 1 (3 centros de análisis)	Estudio 2 (1 centro de análisis)
Células SiHa (3,0 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Células HeLa (0,6 células)	Positivo	93,5 (101/108) (87,2, 96,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Células MS751 (11,0 células)	Positivo	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
Muestra clínica 1 de HPV 16	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 1 de HPV 18/45	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Células SiHa (1,6 células) y células HeLa (3,3 células)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (1,6 células) y células MS751 (42,5 células)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Células SiHa (15,7 células) y células HeLa (0,3 células)	Positivo	63,9 (69/108) (54,5, 72,3)	67,7 (109/161) (60,1, 74,4)
Células SiHa (15,7 células) y células MS751 (4,3 células)	Positivo	98,1 (106/108) (93,5, 99,5)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
Células SiHa (1,6 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Células HeLa (0,3 células)	Positivo	71,3 (77/108) (62,1, 79,0)	92,5 (149/161) (87,4, 95,7)
Células MS751 (4,3 células)	Positivo	86,1 (93/108) (78,3, 91,4)	69,1 (112/162) (61,6, 75,7)
Muestra clínica 2 de HPV 16	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)
Muestra clínica 2 de HPV 18/45	Positivo	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	79,6 (129/162) (72,8, 85,1)
Células SiHa (0,1 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células HeLa (0,02 células)	Negativo	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	86,4 (140/162) (80,3, 90,9)
Células MS751 (0,04 células)	Negativo	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Muestra clínica 3 de HPV 16	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Muestra clínica 3 de HPV 18/45	Negativo	80,6 (87/108) (72,1, 86,9)	81,5 (132/162) (74,8, 86,7)
Muestra clínica 1 negativa para el HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Muestra clínica 2 negativa para el HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 3 negativa para el HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

IC = Intervalo de confianza de la puntuación

**Nota:** El porcentaje de concordancia puede haberse visto afectado por variaciones en el enriquecimiento, la dilución o la distribución en alícuotas.

## Reactividad cruzada

La especificidad analítica del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay se evaluó con mezclas de muestras sobrantes de citología en solución ThinPrep diluidas 1:2,9 en STM (similares a las muestras transferidas a un tubo de transferencia Aptima) y enriquecidas con bacterias, levaduras u hongos cultivados, virus cultivados o transcritos *in vitro* de HPV no diana. Los microorganismos y las concentraciones de prueba para las que no se observó reactividad cruzada se identifican en la Tabla 20. Los criterios del estudio para evaluar el efecto de la presencia de microorganismos sobre la especificidad del ensayo se basó en la positividad.

**Tabla 20:** Grupo de muestras de especificidad analítica: microorganismos y concentración sin reactividad cruzada

Microorganismo	Concentración de prueba sin reactividad cruzada	Microorganismo	Concentración de prueba sin reactividad cruzada
<b>Bacterias</b>			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Mycoplasma genitalium*</i>	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 x 10 <sup>5</sup> UFI/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Clostridium difficile</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Prevotaella bivia</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml		
<b>Genotipos de HPV de alto riesgo no diana*</b>			
HPV 31	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml	HPV 56	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml
HPV 33	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml	HPV 58	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml
HPV 35	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml	HPV 59	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml
HPV 39	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml	HPV 66	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml
HPV 51	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml	HPV 68	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml
HPV 52	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml		
<b>Levaduras/protozoarios</b>			
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	<i>Trichomonas vaginalis**</i>	1 x 10 <sup>5</sup> células/ml
<b>Virus</b>			
Adenovirus	5,25 x 10 <sup>7</sup> UFP/ml	VIH-1	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml
Citomegalovirus	1,58 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	Virus Herpes simplex 1	3,39 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Virus Epstein-Barr	1,59 x 10 <sup>5</sup> TD <sub>50</sub> /ml	Virus Herpes simplex 2	2,29 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml

**Tabla 20:** Grupo de muestras de especificidad analítica: microorganismos y concentración sin reactividad cruzada (continuación)

Microorganismo	Concentración de prueba sin reactividad cruzada	Microorganismo	Concentración de prueba sin reactividad cruzada
<b>Otros genotipos de HPV no diana*</b>			
HPV 6	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml	HPV 53	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml
HPV 11	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml	HPV 67	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml
HPV 26	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml	HPV 69	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml
HPV 30	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml	HPV 70	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml
HPV 34	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml	HPV 73	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml
HPV 42	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml	HPV 82	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml
HPV 43	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml	HPV 85	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml
HPV 44	2,5 x 10 <sup>6</sup> copias/ml		

UFC = unidades formadoras de colonias, UFP = unidades formadoras de placa, TD<sub>50</sub> = dosis de transformación 50, TCID<sub>50</sub> = dosis infecciosa en cultivos de tejidos 50

\*Transcrito *in vitro* analizado.

\*\*Aunque no se observó reactividad cruzada con *Trichomonas vaginalis*, sí se observaron interferencias (ver más adelante).

La sensibilidad analítica del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en presencia de los microorganismos se evaluó con el mismo grupo de muestras que se describe en la Tabla 20, al que también se añadieron concentraciones bajas de células SiHa (1,6 células/reacción) y HeLa (0,3 células/reacción) infectadas por el HPV. Los criterios del estudio para evaluar el efecto de la presencia de microorganismos sobre la sensibilidad del ensayo se basó en la positividad. La presencia de los microorganismos no interfirió con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, con excepción de *Trichomonas vaginalis* (TV). Las interferencias se observaron a concentraciones de TV superiores a 3 x 10<sup>4</sup> células/ml.

## Interferencias

Las sustancias descritas en la Tabla 21 se añadieron individualmente a mezclas de muestras de citología en solución ThinPrep diluidas 1:2,9 en STM a las concentraciones especificadas en la tabla. Todas las sustancias se analizaron con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en presencia y ausencia de células cultivadas infectadas por el HPV (SiHa, 1,6 células/reacción y HeLa, 0,3 células/reacción). Se observaron interferencias con los siguientes productos a concentraciones superiores a las especificadas: lubricantes vaginales (que contenían Polyquaternium 15) al 1 % p/v, cremas antimicóticas (que contenían tioconazol) al 0,03 % p/v, moco al 0,3 % p/v, hormonas intravaginales (que contenían progesterona) al 1 % p/v.

**Tabla 21:** Sustancias analizadas para determinar su posible interferencia con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay

Categoría del producto	Marca o tipo de producto	Mayor concentración analizada que no interfirió con el ensayo*
Lubricante vaginal	Lubricante líquido KY natural feeling	10 % v/v
	Lubricante líquido personal up & up (marca Target)	
	Astroglide**	1 % p/v
Gel espermicida/ anticonceptivo	Espuma vaginal anticonceptiva (EVA)	10 % p/v
	Gel vaginal anticonceptivo Options Conceptrol	
Crema antimicótica	Miconazol 3 up & up (marca Target)	10 % p/v
	Monistat 3, envase combinado	
	up & up (marca Target) tioconazol 1	0,03 % p/v
Ducha vaginal	Ducha vaginal Summer's Eve	10 % v/v
	Ducha vaginal up & up (marca Target)	
Spray íntimo	Spray desodorante íntimo Summer's Eve	10 % p/v
	Spray desodorante íntimo FDS	
Moco	Mucina porcina	0,3 % p/v
Hormonas intravaginales	Crema vaginal Estrace (estrógenos)	10 % p/v
	Crema Crinone (progesterona)	1 % p/v
Sangre completa***	Sangre completa	5 % v/v
Leucocitos	Leucocitos	1 x 10 <sup>7</sup> células/ml
Solución de lavado de ácido acético glacial <sup>^</sup>	Ácido acético glacial + solución Cytolyt	2,6 % v/v

\*concentración en la muestra de prueba; muestra de citología en solución ThinPrep diluida 1:2,9 en STM (similar a las muestras transferidas a un tubo de transferencia Aptima)

\*\*lubricante personal con Polyquaternium 15.

\*\*\*la sangre completa interfirió con el ensayo cuando se analizó a concentraciones de prueba del 10 % v/v

<sup>^</sup>la solución de lavado de ácido acético glacial se preparó mezclando una parte de ácido acético glacial y 9 partes de solución Cytolyt, tal como se indica en el *Manual del usuario del ThinPrep 2000 System* (ThinPrep 2000 System Operator's Manual).

## Resultados esperados con el Panther System: prevalencia del mRNA del HPV de alto riesgo

La prevalencia de la infección por HPV de alto riesgo varía notablemente y depende de varios factores, el más importante de los cuales es la edad.<sup>19,20</sup> La prevalencia del HPV determinada por la detección del DNA del HPV se ha investigado en un gran número de estudios; sin embargo, pocos estudios indican la prevalencia basada en la detección del mRNA oncogénico del HPV. Se incluyó a mujeres de distintos centros clínicos (n=18) que representaban una amplia distribución geográfica y una población diversa (10 estados de Estados Unidos) en un estudio clínico prospectivo conocido como el ensayo CLEAR, para evaluar el Aptima HPV assay, que detecta 14 tipos de HPV de alto riesgo.<sup>21</sup> Las muestras de las mujeres del ensayo CLEAR con resultados positivos del Aptima HPV assay en el Panther System se evaluaron con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System en otro estudio clínico. La prevalencia del HPV 16 y 18/45, así como de los 11 tipos de HPV de alto riesgo restantes observados en el ensayo clínico a partir de los resultados de los análisis con el Aptima HPV assay y el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System, se categorizó en total, por grupo de edad y por centro de análisis. Un resultado negativo del Aptima HPV assay en el Panther System indica que ninguno de los 14 tipos de HPV de alto riesgo está presente y, para los fines del análisis, se designa como negativo en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System. Los resultados se muestran en la Tabla 22 para las poblaciones ASC-US (células escamosas atípicas de relevancia no determinada) y NILM (negativas para lesiones o tumores intraepiteliales).

**Tabla 22:** Prevalencia del mRNA del HPV de alto riesgo en las poblaciones por grupo de edad, centro de análisis y todas combinadas

	Tasa de positivos % (x/n)							
	Población ASC-US (≥ 21 años)				Población NILM (≥ 30 años)			
	Pos. para HPV 16	Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	Pos. para los otros 11 tipos HR*	Pos. para HPV 16	Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	Pos. para los otros 11 tipos HR*
<b>Todo</b>	7,8 (71/911)	5,3 (48/911)	0,3 (3/911)	26,0 (237/911)	0,5 (50/10.839)	0,5 (49/10.839)	< 0,1 (1/10.839)	3,6 (391/10.839)
<b>Grupo de edad (años)</b>								
<b>De 21 a 29</b>	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	N/A	N/A	N/A	N/A
<b>De 30 a 39</b>	5,5 (14/255)	6,7 (17/255)	0,4 (1/255)	23,1 (59/255)	0,7 (31/4.183)	0,7 (31/4.183)	0 (0/4.183)	5,1 (215/4.183)
<b>≥ 40</b>	1,9 (5/268)	4,1 (11/268)	0 (0/268)	11,6 (31/268)	0,3 (19/6.656)	0,3 (18/6.656)	< 0,1 (1/6.656)	2,6 (176/6.656)
<b>Centro de análisis**</b>								
<b>1</b>	5,6 (17/304)	6,6 (20/304)	0,3 (1/304)	27,0 (82/304)	0,4 (16/3.610)	0,4 (16/3.610)	< 0,1 (1/3.610)	3,6 (130/3.610)
<b>2</b>	9,6 (29/303)	3,6 (11/303)	0,3 (1/303)	26,4 (80/303)	0,5 (18/3.614)	0,4 (15/3.614)	0 (0/3.614)	3,6 (130/3.614)
<b>3</b>	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3.615)	0,5 (18/3.615)	0 (0/3.615)	3,6 (131/3.615)

N/A = No aplicable, HR = alto riesgo, Pos. = Positivo

Nota: Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay en el Panther System se designaron, para los fines del análisis, como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System.

\* Tipos 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 del HPV

\*\* En la población NILM, no todos los sujetos con resultados negativos en el Aptima HPV assay en el Panther System se analizaron con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System. Para el análisis por centro de análisis, los resultados de estas mujeres se asignaron aleatoriamente a uno de los 3 centros de análisis.

## Rendimiento del ensayo en el Panther System

### Diseño del estudio clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con muestras de citología en solución ThinPrep

El Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System se evaluó utilizando muestras de citología remitidas, recogidas de mujeres que dieron su consentimiento durante el estudio clínico multicéntrico prospectivo en Estados Unidos, conocido como el ensayo CLEAR. El ensayo CLEAR se llevó a cabo para determinar el rendimiento clínico del Aptima HPV assay en el Tigris DTS System para la detección de la neoplasia intraepitelial de cuello uterino de grado 2 o superior ( $\geq$ CIN2). Se incluyó a las mujeres en el estudio ASC-US o en el estudio NILM en función de los resultados de la citología en solución ThinPrep remitidos tras las pruebas de rutina para la detección del cáncer de cuello uterino. La población del estudio ASC-US incluyó a mujeres mayores de 21 años con resultados de citología ASC-US y la población del estudio NILM incluyó a mujeres mayores de 30 años con resultados de citología NILM.

Se analizaron mujeres de 18 centros clínicos, en su mayoría de clínicas de obstetricia y ginecología, con una amplia distribución geográfica, que constitúan una población diversa. Durante el ensayo CLEAR, se analizaron las muestras de citología sobrantes remitidas tanto con el Aptima HPV assay en el Tigris DTS System como con una prueba comercial de DNA del HPV aprobada por la FDA. Las muestras de citología sobrantes remitidas elegibles del ensayo CLEAR se analizaron con el Aptima HPV assay en el Panther System. En el ensayo clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, las muestras de citología sobrantes remitidas se analizaron con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System.

Todas las mujeres del estudio ASC-US fueron remitidas para una colposcopia, independientemente de los resultados obtenidos en la prueba del HPV. Se obtuvieron biopsias por legrado endocervical (LEC) o biopsias de cuello uterino en sacabocados (1 biopsia de cada uno de los 4 cuadrantes). En los casos en los que la lesión era visible, se obtuvo una biopsia en sacabocados (método dirigido; 1 biopsia por lesión) y en los cuadrantes sin una lesión visible, la biopsia se obtuvo de la unión escamocolumnar (método aleatorio).

En el estudio NILM, las mujeres con resultados positivos en el Aptima HPV assay en el Tigris DTS System o la prueba comercial de DNA del HPV aprobada por la FDA, así como mujeres con resultados negativos en ambos ensayos seleccionadas aleatoriamente, se remitieron para una colposcopia para la evaluación inicial. Se obtuvo una biopsia por LEC de cada mujer que se sometió a colposcopia. Solo se obtuvieron biopsias en sacabocados de las lesiones visibles (método dirigido; 1 biopsia por lesión). El seguimiento de las mujeres del estudio NILM no clasificadas como  $\geq$ CIN2 al inicio del estudio continuará durante 3 años con visitas de citología anuales. Las mujeres con resultados de citología ASC-US o más graves durante el periodo de seguimiento se remitirán para una colposcopia con el mismo procedimiento de biopsia realizado para la evaluación inicial.

El estado de la enfermedad se determinó mediante un grupo de consenso de la revisión histológica, basado en la concordancia de al menos 2 patólogos expertos. Los patólogos expertos no tuvieron acceso al estado citológico y de HPV de las mujeres, ni a los diagnósticos de los otros patólogos. Los resultados de las pruebas del HPV no se mostraron a los investigadores, los médicos ni las mujeres hasta después de la visita de la colposcopia, con el fin de evitar sesgos.

Para validar el uso indicado del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System como prueba refleja para un resultado positivo en el Aptima HPV assay, se consideró que las muestras de citología sobrantes remitidas de todas las mujeres evaluables de los estudios ASC-US y NILM con un resultado positivo en el Aptima HPV assay eran elegibles para analizarse con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System. Se determinó el rendimiento clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System para la detección de  $\geq$ CIN2 y la neoplasia intraepitelial de cuello uterino de grado 3 o superior ( $\geq$ CIN3).

## Población ASC-US $\geq$ 21 años: rendimiento clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con muestras de citología en solución ThinPrep

En total, hubo 404 mujeres evaluables mayores de 21 años con resultados de citología ASC-US y resultados positivos en el Aptima HPV assay en el Panther System cuyas muestras de citología remitidas fueron elegibles para analizarse con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System. De ellas, 45 mujeres no contaban con un volumen de muestra de citología remitida suficiente para el análisis y 6 tenían un diagnóstico de enfermedad no determinado; después de un análisis de los valores faltantes, se excluyeron de los cálculos del rendimiento. Las 353 mujeres evaluables restantes tenían un estado de enfermedad concluyente y resultados válidos del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System, basados en las pruebas reflejas de un resultado positivo del Aptima HPV assay en el Panther System. Sesenta y siete (67) mujeres tenían  $\geq$ CIN2 y 30 tenían  $\geq$ CIN3.

De las 353 mujeres evaluables con resultados positivos en el Aptima HPV assay en el Panther System, 118 tuvieron resultados positivos en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System, lo que indica la presencia de HPV 16 o HPV 18/45; 235 tuvieron resultados negativos, lo que indica la presencia de uno o más de los otros 11 tipos de HPV de alto riesgo detectados por el Aptima HPV assay (es decir, los tipos 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 del HPV). Otras 539 mujeres evaluables mayores de 21 años con resultados de citología ASC-US tuvieron resultados negativos en el Aptima HPV assay en el Panther System. Un resultado negativo en el Aptima HPV assay indica la ausencia de los 14 tipos de HPV de alto riesgo, y fue designado como negativo en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System para los fines del análisis. La prevalencia de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 en mujeres evaluables con resultados de citología ASC-US fue del 9,1 % y del 3,8 %, respectivamente. Basándose en las pruebas con el Panther System, los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay por resultado del Aptima HPV assay y diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica se presentan en la Tabla 23.

**Tabla 23:** Población ASC-US  $\geq$  21 años: resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay por diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica

Resultado del ensayo de HPV Aptima	Resultado del AHPV-GT Assay*	Interpretación	Diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica						Total
			Indeterminado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cáncer	
Positivo	Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16	1	26	18	11	15	0	71
	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 18/45	3	23	16	2	3	1	48
	Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	0	1	0	1	1	0	3
	Neg. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para otros HPV HR	2	132	70	23	10	0	237
Total			6	182	104	37	29	1	359
Negativo	Neg. para HPV 16/18/45 ***	Neg. para HPV HR	13	450	75	10	4	0	552
Total			19	632	179	47	33	1****	911

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, CIN1 = neoplasia intraepitelial de cuello uterino de grado 1, HR = alto riesgo, Neg. = negativo, Pos. = positivo

\*Todas las muestras tuvieron resultados finales válidos (tras el análisis final o después de la resolución de las muestras inicialmente no válidas por procedimiento).

\*\*19 mujeres acudieron a la visita de colposcopia pero no fue posible llegar a un diagnóstico por los siguientes motivos: < 5 muestras de biopsia, todas ellas obtenidas con resultados histológicos normales/CIN1 (n=15), no se recogieron biopsias (n=3) o se perdieron las preparaciones de la biopsia (n=1).

\*\*\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

\*\*\*\*Una mujer presentó adenocarcinoma in situ (AIS).

El riesgo absoluto de enfermedad ( $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3) en función del resultado del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay se muestra en la Tabla 24. El riesgo de  $\geq$ CIN2 en mujeres con HPV presente de tipo 16, 18 o 45 fue del 28,8 %, en comparación con el 14,0 % en mujeres con uno o más de los otros 11 tipos de HPV de alto riesgo presentes, y del 2,6 % en mujeres sin ningún tipo de HPV de alto riesgo presente. Los riesgos absolutos se muestran por grupo de edad en la Tabla 25.

**Tabla 24:** Población ASC-US  $\geq$  21 años: riesgo absoluto de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 para los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay

Resultado del ensayo de HPV Aptima	Resultado del AHPV-GT Assay	Interpretación	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo absoluto (IC del 95 %)
<b>Positivo</b>	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	28,8 (34/118) (22,2, 35,7)	16,9 (20/118) (12,1, 21,8)
	Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 16	37,1 (26/70) (27,4, 47,4)	21,4 (15/70) (13,8, 29,5)
	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 18/45	13,3 (6/45) (5,5, 25,1)	8,9 (4/45) (2,9, 19,1)
	Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	14,0 (33/235) (10,7, 17,7)	4,3 (10/235) (2,3, 6,7)
	Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	19,0 (67/353) (16,8, 21,1)	8,5 (30/353) (7,1, 9,6)
<b>Negativo</b>	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)	0,7 (4/539) (0,2, 1,6)
Prevalencia			9,1 % (81/892)	3,8 % (34/892)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

**Tabla 25:** Población ASC-US  $\geq 21$  años: riesgo absoluto de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 para los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay, por grupo de edad

	Resultado del ensayo de HPV Aptima	Resultado del AHPV-GT Assay	Interpretación	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo absoluto (IC del 95 %)
De 21 a 29 años	Positivo	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	27,4 (20/73) (19,0, 36,2)	16,4 (12/73) (10,3, 22,5)
		Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 16	29,4 (15/51) (18,8, 41,1)	19,6 (10/51) (11,3, 28,5)
		Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 18/45	15,0 (3/20) (3,6, 34,6)	5,0 (1/20) (0,2, 21,6)
		Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	17,1 (25/146) (12,7, 21,7)	5,5 (8/146) (2,8, 8,6)
		Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	20,5 (45/219) (17,9, 23,0)	9,1 (20/219) (7,5, 10,2)
	Negativo	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	4,2 (7/166) (1,9, 7,6)	0,6 (1/166) (0,0, 2,7)
Prevalencia				13,5 % (52/385)	5,5 % (21/385)
De 30 a 39 años	Positivo	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	30,0 (9/30) (16,5, 43,9)	16,7 (5/30) (6,9, 26,2)
		Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 16	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 18/45	13,3 (2/15) (1,3, 35,2)	13,3 (2/15) (1,3, 32,1)
		Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	12,1 (7/58) (5,7, 19,5)	3,4 (2/58) (0,5, 8,5)
		Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	18,2 (16/88) (13,4, 22,3)	8,0 (7/88) (4,6, 10,0)
	Negativo	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)
Prevalencia				7,6 % (19/251)	3,2 % (8/251)
$\geq 40$ años	Positivo	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 16	80,0 (4/5) (36,8, 99,0)	40,0 (2/5) (6,3, 78,2)
		Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 18/45	10,0 (1/10) (0,4, 36,6)	10,0 (1/10) (0,4, 33,1)
		Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	--- (0/0)	--- (0/0)
		Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	3,2 (1/31) (0,1, 13,2)	0 (0/31) (0,0, 7,8)
		Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	13,0 (6/46) (6,1, 19,7)	6,5 (3/46) (1,7, 10,9)
	Negativo	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)
Prevalencia				3,9 % (10/256)	2,0 % (5/256)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

El riesgo relativo de enfermedad con resultados positivos frente a negativos del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay se muestra en la Tabla 26. Las mujeres con HPV presente de tipo 16, 18 o 45 tuvieron 11,1 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN2 y 22,8 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN3 que las mujeres sin tipos de HPV de alto riesgo presentes. Las mujeres con HPV presente de tipo 16, 18 o 45 tuvieron 2,1 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN2 y 4,0 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN3 que las mujeres con uno o más de los otros 11 tipos de HPV de alto riesgo presentes.

**Tabla 26:** Población ASC-US  $\geq$  21 años: riesgo relativo de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 para los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay

Interpretación de los resultados del Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo absoluto (IC del 95 %)
Positivo para HPV 16 o HPV 18/45 frente a negativo para HPV HR	11,1 (6,2, 20,0)	22,8 (8,0, 65,6)
Positivo para HPV 16 o HPV 18/45 frente a positivo para otros HPV HR	2,1 (1,3, 3,1)	4,0 (1,9, 8,2)
Positivo para otros HPV HR frente a negativo para HPV HR	5,4 (2,9, 9,9)	5,7 (1,8, 18,1)
Positivo para HPV HR frente a negativo para HPV HR	7,3 (4,2, 12,8)	11,5 (4,1, 32,2)
Prevalencia	9,1 % (81/892)	3,8 % (34/892)

IC = Intervalo de confianza, HR = alto riesgo, Pos. = positivo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

Las razones de probabilidad ( $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3) por el resultado del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay se muestran en la Tabla 27. Los tipos 16, 18 o 45 del HPV tuvieron 4,1 veces más probabilidades de estar presentes en una mujer con  $\geq$ CIN2 y 5,2 veces más probabilidades de estar presentes en una mujer con  $\geq$ CIN3.

**Tabla 27:** Población ASC-US  $\geq$  21 años: razones de probabilidad de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y el Aptima HPV assay

Interpretación de los resultados del Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Razón de probabilidad (IC del 95 %)	Razón de probabilidad (IC del 95 %)
Pos. para HPV 16 o 18/45	4,1 (2,9, 5,6)	5,2 (3,5, 7,0)
Pos. para otros HPV HR	1,6 (1,2, 2,1)	1,1 (0,6, 1,8)
Neg. para HPV HR	0,3 (0,2, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

IC = Intervalo de confianza, HR = alto riesgo, Pos. = positivo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

## Población NILM ≥ 30 años: rendimiento clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con muestras de citología en solución ThinPrep

En total, hubo 512 mujeres evaluables mayores de 30 años con resultados de citología NILM y resultados positivos del Aptima HPV assay en el Panther System cuyas muestras de citología remitidas fueron elegibles para analizar con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. De ellas, 21 mujeres (11 que se sometieron a una colposcopia y 10 que no) no contaban con un volumen de muestra de citología remitida suficiente para el análisis de este estudio; después de un análisis de los valores faltantes, se excluyeron de los cálculos del rendimiento. Las 491 mujeres evaluables tenían resultados válidos del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. De ellas, 273 mujeres se sometieron a colposcopia. Catorce (14) mujeres tenían ≥CIN2 y 10 tenían ≥CIN3; 245 mujeres tenían una histología normal/CIN1; 14 mujeres tenían un estado de enfermedad indeterminado.

De las 259 mujeres evaluables con un estado de enfermedad concluyente y resultados positivos del Aptima HPV assay en el Panther System, 65 tuvieron resultados positivos en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System, lo que indica la presencia de HPV 16 o HPV 18/45; 194 tuvieron resultados negativos, lo que indica la presencia de uno o más de los otros 11 tipos de HPV de alto riesgo. Otras 549 mujeres evaluables mayores de 30 años con resultados de citología NILM y estado de enfermedad concluyente tuvieron resultados negativos en el Aptima HPV assay en el Panther System. Un resultado negativo en el Aptima HPV assay indica la ausencia de los 14 tipos de HPV de alto riesgo, y fueron designadas como negativas para el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System para los fines del análisis. Los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay por resultado del Aptima HPV assay y diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica se presentan en la Tabla 28.

**Tabla 28:** Población NILM ≥ 30 años: resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay por diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica

Resultado del ensayo de HPV Aptima	Resultado del AHPV-GT Assay*	Interpretación	Diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica						
			Indeterminado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cáncer	Total
<b>Positivo</b>	Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16	2	28	0	0	3	1	34
	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 18/45	1	28	1	1	0	2	33
	Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	0	1	0	0	0	0	1
	Neg. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. para otros HPV HR	11	175	12	3	4	0	205
Total			14	232	13	4	7	3	273
<b>Negativo</b>	Neg. para HPV 16/18/45***	Neg. para HPV HR	31	527	16	5	1	0	580
Total			45	759	29	9	8	3****	853

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo

\*Todas las muestras tuvieron resultados finales válidos (tras el análisis inicial o después de la resolución de las muestras inicialmente no válidas por procedimiento).

\*\*45 mujeres acudieron a la visita de colposcopia pero no fue posible llegar a un diagnóstico por los siguientes motivos: no se pudo llegar a un consenso debido a que las muestras no eran adecuadas (n=29), no se recogieron biopsias debido a factores subyacentes (n=13), o no se recogieron o se revisaron las biopsias debido a un error (n=3).

\*\*\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

\*\*\*\*Tres mujeres presentaron adenocarcinoma in situ (AIS).

De las 491 mujeres con resultados positivos en el Aptima HPV assay en el Panther System y resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System, 232 tuvieron un estado de enfermedad no verificado (incluidos los no determinados) (Tabla 29). De las 10.348 mujeres con resultados negativos del Aptima HPV assay en el ensayo CLEAR original, 9.799 tuvieron un estado de enfermedad no verificado. Debido a que el estudio se diseñó de forma que solo se remitieran para colposcopia mujeres aleatoriamente seleccionadas con resultados negativos tanto en el Aptima HPV assay en el Tigris DTS System como en la prueba de DNA aprobada por la FDA, la proporción de mujeres con un estado de enfermedad no verificado fue elevada en este grupo (96,2 %). Para compensar este sesgo en la verificación, se utilizó un método de imputación múltiple para calcular el número de mujeres con enfermedad que podrían haber sido identificadas en el caso de que se hubiera realizado una colposcopia a todas las mujeres. Se presentan los cálculos de rendimiento ajustados y no ajustados por el sesgo de verificación, basados en las 808 mujeres con un estado de enfermedad verificado.

**Tabla 29:** Población NILM  $\geq$  30 años: clasificación de mujeres NILM evaluables por resultados del Aptima HPV assay, del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y de la prueba de DNA del HPV, el estado de enfermedad ( $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3), y el estado de verificación de la enfermedad.

Resultado del ensayo de HPV Aptima*	Resultado del AHPV-GT Assay*	Prueba de DNA del HPV	Total de mujeres	Estado de enfermedad verificado: $\geq$ CIN2		Estado de enfermedad verificado: $\geq$ CIN3		Estado de enfermedad no verificado
				Mujeres enfermas ( $\geq$ CIN2)	Mujeres sin enfermedad (<CIN2)	Mujeres enfermas ( $\geq$ CIN3)	Mujeres sin enfermedad (<CIN3)	Mujeres con un estado de enfermedad desconocido (% desconocido)
Positivo	Positivo	Positivo	88	6	52	5	53	30 (34,1 %)
	Positivo	Negativo	10	1	5	1	5	4 (40,0 %)
	Positivo	Sin resultado**	2	0	1	0	1	1 (50,0 %)
	Negativo	Positivo	291	7	169	4	172	115 (39,5 %)
	Negativo	Negativo	85	0	14	0	14	71 (83,5 %)
	Negativo	Sin resultado**	15	0	4	0	4	11 (73,3 %)
Total			491	14	245	10	249	232 (47,3 %)
Negativo	--***	Positivo	282	3	177	1	179	102 (36,2 %)
	--***	Negativo	9.467	2	362	0	364	9.103 (96,2 %)
	--***	Sin resultado**	599	1	4	0	5	594 (99,2 %)
Total			10.839	20	788	11	797	10.031 (92,5 %)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, -- = no aplicable

\*Todas las muestras tuvieron resultados finales válidos (tras el análisis inicial o después de la resolución de las muestras inicialmente no válidas por procedimiento).

\*\*616 mujeres con resultados del Aptima HPV assay no tuvieron resultados de la prueba de DNA del HPV debido principalmente a un volumen insuficiente de la muestra de citología.

\*\*\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

El riesgo absoluto ajustado de enfermedad ( $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3) por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay se muestran en la Tabla 30a. El riesgo de  $\geq$ CIN2 en mujeres con HPV presente de tipo 16, 18 o 45 fue del 10,8 %, en comparación con el 3,8 % en mujeres con uno o más de los otros 11 tipos de HPV de alto riesgo presentes, y del 1,0 % en mujeres sin ningún tipo de HPV de alto riesgo presente. El riesgo absoluto no ajustado de enfermedad se muestra, en total, en la Tabla 30b, y por grupo de edad en la Tabla 31.

**Tabla 30a:** Población NILM  $\geq$  30 años: riesgo absoluto de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay (cálculos ajustados por el sesgo de verificación)

Resultado del ensayo de HPV Aptima	Resultado del AHPV-GT Assay	Interpretación	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo absoluto (IC del 95 %)
<b>Positivo</b>	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	9,7 (4,6, 20,2)	8,5 (3,8, 19,2)
	Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 16	10,4 (4,0, 27,1)	10,3 (3,9, 27,1)
	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 18/45	8,8 (2,9, 26,4)	6,5 (1,7, 25,1)
	Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	0,0	0,0
	Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	3,2 (1,6, 6,3)	1,8 (0,6, 4,9)
	Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	4,6 (2,8, 7,4)	3,2 (1,7, 5,9)
<b>Negativo</b>	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	0,7 (0,2, 2,5)	0,2 (0,0, 4,8)
Prevalencia			1,1 %	0,8 %

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo, -- = no aplicable  
\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

**Tabla 30b:** Población NILM  $\geq$  30 años: riesgo absoluto de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay (cálculos no ajustados)

Resultado del ensayo de HPV Aptima	Resultado del AHPV-GT Assay	Interpretación	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo absoluto (IC del 95 %)
<b>Positivo</b>	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	10,8 (7/65) (5,1, 17,7)	9,2 (6/65) (4,3, 14,2)
	Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 16	12,5 (4/32) (3,7, 25,2)	12,5 (4/32) (3,9, 23,1)
	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 18/45	9,4 (3/32) (2,2, 21,8)	6,3 (2/32) (0,9, 16,8)
	Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	0,0 (0/1) (0,0, 93,5)	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)
	Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	3,6 (7/194) (1,7, 6,0)	2,1 (4/194) (0,7, 3,9)
	Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	5,4 (14/259) (3,7, 6,8)	3,9 (10/259) (2,6, 4,5)
<b>Negativo</b>	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)
Prevalencia			2,5 % (20/808)	1,4 % (11/808)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo, -- = no aplicable  
\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

**Tabla 31:** Población NILM  $\geq 30$  años: riesgo absoluto de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay por grupo de edad (cálculos no ajustados)

	Resultado del ensayo de HPV Aptima	Resultado del AHPV-GT Assay	Interpretación	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo absoluto (IC del 95 %)
De 30 a 39 años	Positivo	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	8,1 (3/37) (2,0, 16,4)	5,4 (2/37) (0,9, 12,3)
		Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 16	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 18/45	15,0 (3/20) (3,9, 30,6)	10,0 (2/20) (1,0, 22,8)
		Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	-- (0/0)	-- (0/0)
		Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	3,6 (4/111) (1,2, 6,2)	2,7 (3/111) (0,7, 4,7)
		Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	4,7 (7/148) (2,6, 6,1)	3,4 (5/148) (1,6, 4,3)
	Negativo	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)
Prevalencia				2,4 % (9/378)	1,6 % (6/378)
$\geq 40$ años	Positivo	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45	14,3 (4/28) (4,8, 26,4)	14,3 (4/28) (5,0, 21,9)
		Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 16	26,7 (4/15) (6,4, 47,9)	26,7 (4/15) (6,5, 43,1)
		Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. solo para HPV 18/45	0 (0/12) (0,0, 21,5)	0 (0/12) (0,0, 18,6)
		Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16 y 18/45	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)	0,0 (0/1) (0,0, 93,1)
		Neg. para HPV 16/18/45	Pos. para otros HPV HR	3,6 (3/83) (1,0, 7,8)	1,2 (1/83) (0,0, 4,1)
		Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	6,3 (7/111) (3,3, 8,9)	4,5 (5/111) (2,3, 5,4)
	Negativo	Neg. para HPV 16/18/45*	Neg. para HPV HR	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0 (0/319) (0,0, 0,8)
Prevalencia				2,6 % (11/430)	1,2 % (5/430)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo, -- = no aplicable  
 \*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

El riesgo relativo de enfermedad con resultados positivos frente a negativos del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay se muestra en la Tabla 32 (ajustados por el sesgo de verificación) y en la Tabla 33 (no ajustados). Las mujeres con HPV presente de tipo 16, 18 o 45 tuvieron 12,7 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN2 y 18,4 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN3 que las mujeres sin tipos de HPV de alto riesgo presentes. Las mujeres con HPV presente de tipo 16, 18 o 45 tuvieron 2,9 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN2 y 3,8 veces más probabilidades de tener  $\geq$ CIN3 que las mujeres con uno o más de los otros 11 tipos de HPV de alto riesgo presentes.

**Tabla 32:** Población NILM  $\geq$  30 años: riesgo relativo de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay (cálculos ajustados por el sesgo de verificación)

Interpretación de la prueba del Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Riesgo relativo (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)
Pos. para HPV 16 o 18/45 frente a Neg. para HPV HR	12,9 (3,1, 54,6)	53,3 (1,5, >999)
Pos. para HPV 16 o 18/45 frente a Pos. para otros HPV HR	3,0 (1,1, 8,8)	4,8 (1,2, 19,2)
Pos. para otros HPV HR frente a Neg. para HPV HR	4,3 (1,2, 15,1)	11,0 (0,4, 289,2)
Pos. para HPV HR frente a Neg. para HPV HR	6,1 (1,8, 21,0)	20,2 (0,7, 567,7)
Prevalencia	1,1 %	0,8 %

IC = intervalo de confianza, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

**Tabla 33:** Población NILM  $\geq$  30 años: riesgo relativo de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay (cálculos no ajustados)

Interpretación de la prueba del Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Riesgo relativo (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)
Pos. para HPV 16 o 18/45 frente a Neg. para HPV HR	9,9 (3,4, 28,4)	50,7 (6,2, 414,4)
Pos. para HPV 16 o 18/45 frente a Pos. para otros HPV HR	3,0 (1,1, 8,2)	4,5 (1,3, 15,4)
Pos. para otros HPV HR frente a Neg. para HPV HR	3,3 (1,1, 9,7)	11,3 (1,3, 100,7)
Pos. para HPV HR frente a Neg. para HPV HR	4,9 (1,9, 12,7)	21,2 (2,7, 164,7)
Prevalencia	2,5 % (20/808)	1,4 % (11/808)

IC = intervalo de confianza, HR = alto riesgo, Pos. = positivo, Neg. = negativo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

Las razones de probabilidad ( $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3) por el resultado del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay se muestran en la Tabla 34 (ajustadas por el sesgo de verificación) y en la Tabla 35 (no ajustadas). Los tipos 16, 18 o 45 del HPV tuvieron 17,1 veces más probabilidades de estar presentes en una mujer con  $\geq$ CIN2 y 21,9 veces más probabilidades de estar presentes en una mujer con  $\geq$ CIN3.

**Tabla 34:** Población NILM  $\geq$  30 años: razones de probabilidad de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del Aptima HPV assay (cálculos ajustados por el sesgo de verificación)

Interpretación de los resultados del Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Razón de probabilidad (IC del 95 %)	Razón de probabilidad (IC del 95 %)
Pos. para HPV 16 o 18/45	11,2 (3,3, 38,4)	24,1 (2,6, 225,9)
Pos. para otros HPV HR	3,5 (1,3, 9,4)	4,7 (0,7, 29,8)
Neg. para HPV HR	0,8 (0,6, 1,1)	0,4 (0,1, 2,2)

IC = Intervalo de confianza, HR = alto riesgo, Pos. = positivo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

**Tabla 35:** Población NILM  $\geq$  30 años: razones de probabilidad de  $\geq$ CIN2 y  $\geq$ CIN3 por los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y del HPV assay (cálculos no ajustados)

Interpretación de los resultados del Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Razón de probabilidad (IC del 95 %)	Razón de probabilidad (IC del 95 %)
Pos. para HPV 16 o 18/45	4,8 (2,1, 8,5)	7,4 (3,3, 12,0)
Pos. para otros HPV HR	1,5 (0,7, 2,5)	1,5 (0,5, 2,9)
Neg. para HPV HR	0,4 (0,2, 0,8)	0,1 (0,0, 0,6)

IC = Intervalo de confianza, HR = alto riesgo, Pos. = positivo

\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

## Rendimiento clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con muestras de citología en solución SurePath

Se recogieron muestras de citología en solución SurePath de mujeres canadienses remitidas para seguimiento debido a: uno o más resultados de citología anormales, infección por HPV u otros motivos. Se transfirió una alícuota (0,5 ml) de cada muestra a un tubo de transferencia de muestras Aptima y después se trató con la solución de transferencia Aptima. Se analizó una sola réplica de cada muestra con el Aptima HPV assay (n=481). A continuación, se analizaron muestras positivas con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y el Aptima HPV assay; los resultados se muestran en la Tabla 36. Resultados similares se muestran para la prueba comercial de PCR del HPV, que diferencia el HPV 16 y el HPV 18, pero no el HPV 45, por separado de los demás genotipos de alto riesgo. El riesgo relativo de enfermedad para resultados de genotipos positivos frente a negativos del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y de la prueba de PCR del HPV se muestra en la Tabla 37.

**Tabla 36:** Riesgo absoluto de  $\geq$ CIN3 para los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y de una prueba comercial de PCR del HPV

Resultado HPV HR	Resultado de genotipos	Interpretación	Riesgo absoluto Aptima $\geq$ CIN3 (IC del 95 %)	Riesgo absoluto HPV PCR $\geq$ CIN3 (IC del 95 %)
<b>Positivo</b>	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45*	Pos. para HPV 16 o HPV 18/45*	12,5 (7,6-17,3)	14,4 (10,4-18,1)
	Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45*	Pos. solo para HPV 16	16,4 (9,2-23,9)	16,8 (11,6-21,9)
	Neg. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45*	Pos. solo para HPV 18/45*	3,3 (0,1-13,2)	7,1 (1,0-18,8)
	Pos. para HPV 16 o Pos. para HPV 18/45*	Pos. para HPV 16 y HPV 18/45*	33,3 (1,8-83,7)	14,3 (0,7-49,9)
	Neg. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45*	Pos. para otros HPV HR	2,0 (1,0-3,1)	2,1 (1,1-3,3)
	Pos. o Neg.	Pos. para HPV HR	10,2 (8,4-11,7)	8,5 (7,0-9,5)
<b>Negativo**</b>	Neg. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45*	Neg. para HPV HR	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
<b>Prevalencia (%)</b>			4,0 %	5,0 %

HR = riesgo alto; Pos = positivo; Neg = negativo

\*La prueba de PCR del HPV solo diferencia el HPV 16 y el HPV 18 de los otros 12 genotipos de alto riesgo, incluido el HPV 45.

\*\*Las mujeres con resultados negativos en el Aptima HPV assay se designaron como negativas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para los fines del análisis.

**Tabla 37:** Riesgo relativo de  $\geq$ CIN3 para los resultados del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay y de una prueba comercial de PCR del HPV

Resultados del Aptima Assay		Resultados de la prueba de PCR del HPV	
Interpretación de las pruebas	Riesgo relativo $\geq$ CIN3 (IC del 95 %)	Interpretación de las pruebas	Riesgo relativo $\geq$ CIN3 (IC del 95 %)
Positivo para HPV 16 o 18/45 frente a negativo para HPV HR	13,1 (3,7-45,9)	Positivo para HPV 16 o 18/45 frente a negativo para HPV HR	12,6 (3,8-41,9)
Positivo para HPV 16 o 18/45 frente a positivo para otros HPV HR	2,0 (0,7-5,4)	Positivo para HPV 16 o 18/45 frente a positivo para otros HPV HR	3,9 (1,6-9,5)
Positivo para otros HPV HR frente a negativo para HPV HR	6,6 (1,6-27,1)	Positivo para otros HPV HR frente a negativo para HPV HR	3,2 (0,8-12,8)
Positivo para HPV HR frente a negativo para HPV HR	10,7 (3,3-35,1)	Positivo para HPV HR frente a negativo para HPV HR	7,4 (2,3-24,3)
Prevalencia	4,0 %	Prevalencia	5,0 %

## Rendimiento clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con muestras en medio de recogida y transporte de muestras de citología

El rendimiento del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay se evaluó con muestras en CSCT recogidas de mujeres remitidas para una visita de seguimiento debido a un resultado de citología anormal. Las muestras se analizaron inicialmente con el Aptima HPV assay (n=651). Las muestras con un resultado positivo en el Aptima HPV assay (n=414) se analizaron después con el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay tanto en el Tigris DTS System como en el Panther System.

Se determinó la concordancia clínica del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay para la detección del HPV 16, 18 y 45 de alto riesgo en el Panther System, utilizando el resultado en el Tigris DTS System como método de referencia. Se calculó el porcentaje de concordancia clínica positiva y negativa, y los intervalos de confianza del 95 % asociados de la puntuación. Los resultados se muestran en la Tabla 38.

**Tabla 38:** Concordancia clínica del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay en el Panther System para la detección de HPV 16, 18 y 45 de alto riesgo en muestras en CSCT

		Resultado en el Tigris DTS System				Total
		Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	Neg. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	
Resultado en el Panther System	Pos. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	194	0	1	3	198
	Neg. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	0	34	0	0	34
	Pos. para HPV 16, Pos. para HPV 18/45	0	0	7	0	7
	Neg. para HPV 16, Neg. para HPV 18/45	1	1	0	173	175
	<b>Total</b>	195	35	8	176	414

Pos. = Positivo, Neg. = Negativo

Concordancia positiva: 98,7 % (235/238) (IC del 95 %: 96,4, 99,6)

Concordancia negativa: 98,3 % (173/176) (IC del 95 %: 95,1, 99,4)

## Sensibilidad analítica

El límite de detección (LD) en el valor de corte clínico es una concentración positiva (superior al valor de corte clínico) el 95 % de las veces. El LD del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay se determinó analizando muestras clínicas de citología negativas, individuales o en mezclas, en solución ThinPrep, enriquecidas con transcritos *in vitro* de HPV o células cultivadas (SiHa, HeLa, and MS751; ATCC, Manassas, Virginia) infectadas con HPV a distintas concentraciones. Para los grupos de muestras de transcritos *in vitro*, se analizaron 60 réplicas de cada nivel de copias con cada uno de los dos lotes de reactivos, para un total de 120 réplicas. Para los grupos de muestras de líneas celulares, se analizaron 30 réplicas de cada nivel de copias con cada uno de los dos lotes de reactivos, para un total de 60 réplicas. Se realizaron análisis durante ocho días, con un mínimo de tres ciclos por día y cinco réplicas de cada genotipo analizadas en cada ciclo. Se calculó el límite de detección del 95 % (Tabla 39) a partir del análisis de regresión Probit de los resultados de positividad de cada grupo de muestras de dilución.

**Tabla 39:** Límite de detección en el valor de corte clínico del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay

Diana	Límite de detección (IC del 95 %)
HPV 16	23,7 (19,1, 30,9)
HPV 18	26,1 (21,2, 33,9)
HPV 45	34,5 (28,5, 43,6)
SiHa	0,4 (0,3, 0,7)
HeLa	0,7 (0,4, 1,4)
MS751	0,2 (0,1, 0,3)

\*copias por reacción para los transcritos *in vitro* y células por reacción para las líneas celulares

## Precisión del ensayo

La precisión del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay se evaluó en dos estudios con el mismo grupo de muestras de 24 miembros. El estudio 1 se llevó a cabo en 3 centros de análisis externos para determinar la reproducibilidad del ensayo. El estudio 2 se llevó a cabo internamente para determinar la precisión en el laboratorio. El grupo de muestras incluyó 17 muestras positivas para HPV 16 o 18/45 con concentraciones iguales o superiores al límite de detección del ensayo (positividad esperada:  $\geq 95\%$ ), 3 muestras positivas para HPV 16 o 18/45 con concentraciones inferiores al límite de detección del ensayo (positividad esperada:  $> 0\%$  a  $< 25\%$ ), y 4 muestras negativas para HPV. Los miembros del grupo de muestras positivos para HPV 16 o 18/45 se prepararon añadiendo transcritos *in vitro* de HPV o células cultivadas (SiHa, HeLa, and MS751; ATCC, Manassas, Virginia) infectadas con HPV a mezclas de muestras sobrantes de citología en solución ThinPrep, o diluyendo muestras clínicas de HPV 16, 18 o 45 en mezclas de muestras clínicas sobrantes de citología en solución ThinPrep. Los miembros negativos para HPV del grupo de muestras se prepararon con mezclas de muestras de citología en solución ThinPrep o PreservCyt.

En el estudio 1, 2 técnicos en cada uno de los 3 centros de análisis (1 instrumento por centro) llevaron a cabo 2 listas de trabajo del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay por día durante 3 días. Las pruebas se llevaron a cabo utilizando 2 lotes de reactivos. Cada lista de trabajo contenía 3 réplicas de cada uno de los miembros del grupo de muestras de reproducibilidad. Se analizaron ciento ocho (108) tubos de muestra individuales para cada miembro del grupo de muestras (3 centros x 1 instrumento x 2 técnicos x 2 lotes x 3 días x 3 réplicas). En el estudio 2, los análisis se llevaron a cabo internamente durante 13 días, con un total de 162 reacciones analizadas por cada miembro del grupo de muestras (1 centro x 3 instrumentos x 3 técnicos x 3 lotes x 2 listas de trabajo x 3 réplicas).

Los miembros del grupo de muestras se describen en la Tabla 40a y la Tabla 40b, junto con un resumen de la concordancia con los resultados esperados para el HPV 16 y el HPV 18/45, respectivamente.

**Tabla 40a:** Estudios 1 y 2 de precisión del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay: descripción del grupo de muestras y porcentaje de concordancia con los resultados esperados de HPV 16

Descripción del grupo de muestras (copias o células/reacción)	Resultado esperado para el HPV 16	Porcentaje de concordancia (IC del 95 %)	
		Estudio 1 (3 centros de análisis)	Estudio 2 (1 centro de análisis)
TIV de HPV 16 (240 copias)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
TIV de HPV 18 (260 copias)	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
TIV de HPV 45 (350 copias)	Negativo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Muestra clínica 1 de HPV 16	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 1 de HPV 18/45	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Células SiHa (4 células) y células HeLa (0,7 células)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (0,4 células) y células HeLa (7 células)	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Células SiHa (0,4 células)	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Células HeLa (0,7 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células MS751 (0,2 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (158/159) (96,5, 99,9)
TIV de HPV 16 (24 copias)	Positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	96,9 (157/162) (93,2, 98,7)
TIV de HPV 18 (26 copias)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
TIV de HPV 45 (35 copias)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 2 de HPV 16	Positivo	98,1 (105/107) (93,4, 99,5)	98,8 (160/162) (95,7, 99,7)
Muestra clínica 3 de HPV 16	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Muestra clínica 2 de HPV 18/45	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 3 de HPV 18/45	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (0,001 células)	Negativo	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (158/161) (94,8, 99,4)
Células HeLa (0,001 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células MS751 (0,006 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 1 negativa para el HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 2 negativa para el HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Neg. para HPV en PreservCyt 1	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Neg. para HPV en PreservCyt 2	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

IC = Intervalo de confianza de la puntuación

**Nota:** El porcentaje de concordancia puede haberse visto afectado por variaciones en el enriquecimiento, la dilución o la distribución en alícuotas.

**Tabla 40b:** Estudios 1 y 2 de precisión del Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay: descripción del grupo de muestras y porcentaje de concordancia con los resultados esperados de HPV 18/45

Descripción del grupo de muestras (copias o células/reacción)	Porcentaje de concordancia (IC del 95 %)		
	Resultado esperado para el HPV 18/45	Estudio 1 (3 centros de análisis)	Estudio 2 (1 centro de análisis)
TIV de HPV 16 (240 copias)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
TIV de HPV 18 (260 copias)	Positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
TIV de HPV 45 (350 copias)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 1 de HPV 16	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 1 de HPV 18/45	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Células SiHa (4 células) y células HeLa (0,7 células)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (0,4 células) y células HeLa (7 células)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (0,4 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Células HeLa (0,7 células)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células MS751 (0,2 células)	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	88,7 (141/159) (84,5, 93,5)
TIV de HPV 16 (24 copias)	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
TIV de HPV 18 (26 copias)	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
TIV de HPV 45 (35 copias)	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Muestra clínica 2 de HPV 16	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 3 de HPV 16	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 2 de HPV 18/45	Positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	95,7 (155/162) (91,7, 98,0)
Muestra clínica 3 de HPV 18/45	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Células SiHa (0,001 células)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Células HeLa (0,001 células)	Negativo	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Células MS751 (0,006 células)	Negativo	75,0 (81/108) (66,1, 82,2)	88,3 (143/162) (84,2, 93,2)
Muestra clínica 1 negativa para el HPV	Negativo	99,1 (106/107) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
Muestra clínica 2 negativa para el HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Neg. para HPV en PreservCyt 1	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Neg. para HPV en PreservCyt 2	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

IC = Intervalo de confianza de la puntuación

**Nota:** El porcentaje de concordancia puede haberse visto afectado por variaciones en el enriquecimiento, la dilución o la distribución en alícuotas.

**Reactividad cruzada**

Los análisis con microorganismos que podrían producir reacciones cruzadas en el Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay se llevaron a cabo en el Tigris DTS System. Los resultados se presentan en *Reactividad cruzada* (Tabla 20), en el apartado Tigris DTS System.

**Interferencias**

Los análisis con sustancias que podrían interferir con el Aptima HPV 16 18/45 assay se llevaron a cabo en el Tigris DTS System. Los resultados se presentan en *Interferencias* (Tabla 21), en el apartado Tigris DTS System.

## Bibliografía

1. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 189:12-19.
2. **Li N., Franceschi S., Howell-Jones R., Snijders P.J.F., Clifford G.M.** Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer.* 2011;128: 927-935. doi 10.1002/ijc.25396
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer.* 64(3):211-5.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond).* 110(5):525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* 16(1):1-17.
6. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90(12):5583-7.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Sunyum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* 325(7364): 572-579.
8. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer.* 108(3):329-33. Erratum in: *Int J Cancer.* 108(6):945.
9. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence—implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol.* 73(1): 65-70.
10. **De Sanjose S., et al.** 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet.* DOI 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
11. **Burger R.A., B. J. Monk, T. Kurosaki, H. Anton-Culver, S. Vasilv, M. L. Berman and S.P. Wilczynski.** 1996. Human Papillomavirus Type 18: Association with poor prognosis in early stage cervical cancer. *J. Nat. Cancer institute.* 88(19): 1361-1368.
12. **Safaeian M., M. Schiffman, J. Gage, D. Solomon, C. Wheeler and P. Castle.** 2009. Detection of Precancerous Cervical Lesions Is Differential by Human Papillomavirus Type. *Cancer Res.* 69(8): 3262-3266.
13. **Khan, M.J., P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder, M. Sherman, D.R. Scott, B.B. Rush, A.G. Glass and M. Schiffman.** 2005. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J. Natl. Cancer Inst.* 97(14): 1072-1079.
14. **ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.** HPV Genotyping Clinical Update. 2009. [http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical\\_update\\_20090408.pdf](http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical_update_20090408.pdf). Accessed March 22, 2012.
15. **Wright T.C., S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E.J. Wilkinson and D. Solomon.** 2007. 2006 Consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *Journal of Lower Genital Tract Disease.* 11(4):201-222.
16. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
17. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem.* 35: 1588-1594.
18. **Nelson, N.C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* 35:8429-8438.
19. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. *Annals Int Med.* 148:493.
20. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet.* 366, 991.
21. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. 2013. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* 208(2):144-145.



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

**EC REP**  
**Hologic BVBA**   
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

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

Asistencia técnica: +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

Para obtener más información, visite [www.hologic.com](http://www.hologic.com).

Este producto está indicado únicamente para su uso en el campo del diagnóstico *in vitro* en humanos.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, PreservCyt, ThinPrep y Tigris son marcas comerciales y/o marcas comerciales registradas de Hologic, Inc. y/o sus filiales en Estados Unidos y/o en otros países.

RAININ es marca comercial de Rainin Instruments, LLC.

SUREPATH y PREPSTAIN son marcas comerciales de TriPath Imaging, Inc.

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

Este producto puede estar cubierto por una o más de las patentes estadounidenses identificadas en [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2007-2019 Hologic, Inc. Reservados todos los derechos.  
AW-11504-301 Rev. 010

2019-06