

Ensayo Aptima™ HPV (Panther™ System)

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

Información general	2
Uso indicado	2
Resumen y explicación de la prueba	2
Principios del procedimiento	3
Resumen de seguridad y rendimiento	4
Advertencias y precauciones	4
Requisitos de conservación y manipulación de los reactivos	6
Recogida y conservación de las muestras	7
Panther System	9
Reactivos y materiales suministrados	9
Materiales necesarios pero no suministrados	10
Materiales opcionales	11
Procedimiento de prueba en el Panther System	11
Notas sobre el procedimiento	13
Procedimientos de control de calidad	15
Interpretación de las pruebas	16
Limitaciones	17
Resultados esperados con el Panther System: Prevalencia del mRNA del HPV de alto riesgo	19
Población ASC-US ≥ 21 años: rendimiento clínico del Aptima HPV Assay	22
Bibliografía	50
Información de contacto e historial de revisiones	52

Información general

Uso indicado

El Aptima HPV Assay (Ensayo Aptima HPV) es una prueba de amplificación de diana por sonda de ácidos nucleicos para la detección cualitativa *in vitro* del RNA mensajero (mRNA) vírico E6/E7 procedente de los 14 tipos del virus del papiloma humano (HPV) de alto riesgo (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). El Aptima HPV Assay no discrimina entre los 14 tipos de alto riesgo.

- El Aptima HPV Assay está indicado para su uso en la detección de pacientes con resultado de ASC-US (células escamosas atípicas de significado incierto) para la citología con el fin de determinar la necesidad de derivación a colposcopia. Los resultados de esta prueba no tienen como finalidad evitar que las mujeres procedan con la colposcopia.
- El Aptima HPV Assay se puede utilizar con la citología cervical para realizar una detección complementaria (Cotest) para evaluar la presencia o ausencia de tipos de HPV de alto riesgo. Esta información, junto con la evaluación del médico de los antecedentes citológicos, otros factores de riesgo y directrices profesionales, se puede usar como guía en la gestión de los pacientes.
- El Aptima HPV Assay se puede utilizar como Test de primera línea en cribado primario, con o sin citología cervical, para identificar a mujeres con un mayor riesgo de desarrollar cáncer cervical o la presencia de enfermedad de alto riesgo. Esta información, junto con la evaluación del médico del historial citológico de la paciente, otros factores de riesgo u directrices profesionales, se puede usar como guía en la gestión de los pacientes.

El ensayo Aptima HPV puede utilizarse para analizar los siguientes tipos de muestras en el sistema Panther: muestras de cuello uterino recogidas en viales para citología ThinPrep™ con solución PreservCyt™ antes o después de la citología, muestras de cuello uterino recogidas con el kit de recogida y transporte de muestras de citología Aptima o muestras de cuello uterino recogidas en fluido conservante SurePath.

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 cervicouterinos.^{1, 2, 3} El HPV es un virus DNA de transmisión sexual común, con más de 100 genotipos.¹

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.^{6, 5}

Hay catorce genotipos del HPV que se consideran patógenos o de alto riesgo de enfermedad cervicouterina.⁵ 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.^{2, 6, 7} Las pacientes con una infección persistente con uno de estos tipos tienen un mayor riesgo de desarrollar una displasia grave o un carcinoma de cuello uterino.^{5, 8}

Las infecciones por HPV son muy frecuentes y la mayoría de las mujeres las eliminan en un plazo de 6 a 12 meses.^{42, 12} La presencia de ácidos nucleicos del HPV no significa que exista displasia o cáncer de cuello uterino. No obstante, un enfoque eficaz para la detección de la enfermedad de cuello uterino es centrarse en los elementos oncogénicos del HPV que ocasionan infecciones víricas persistentes y transformación celular.³

Rendimiento clínico del Aptima HPV Assay en la detección primaria del cáncer cervical

El rendimiento clínico del ensayo Aptima HPV utilizado en el cribado primario ha sido investigado en múltiples estudios por parte de investigadores independientes. Al menos 25 publicaciones¹¹⁻³⁵ revisadas por expertos en 15 estudios clínicos independientes demuestran el rendimiento del Aptima HPV en el cribado primario en mujeres inscritas en once países (China, Canadá, Francia, México, Inglaterra, Dinamarca, Países Bajos, Estados Unidos, Alemania, Suecia y Tailandia). Los datos de estos estudios muestran que el Aptima HPV tiene un rendimiento clínico similar comparado con otras pruebas clínicamente validadas de HPV cuando se usa para el cribado primario del precáncer y el cáncer de cuello uterino.

Principios del procedimiento

El Aptima HPV 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;⁴² y detección de los productos de la amplificación (amplicones) mediante el ensayo de protección de la hibridación (Hybridization Protection Assay, HPA).⁴³ 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 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. La señal del control interno de cada reacción se separa de la señal del HPV mediante la cinética diferencial de emisión de la luz procedente de las sondas con distintos marcadores.⁴⁴ El amplicón específico del control interno se detecta usando una sonda con emisión rápida de luz (flasher). El amplicón específico del HPV se detecta usando sondas con una cinética de emisión de luz relativamente más lenta (glower). El ensayo de cinética doble (Dual Kinetic Assay, DKA) es un método utilizado para diferenciar entre las señales procedentes de los marcadores flasher y glower.⁴⁴

Resumen de seguridad y rendimiento

El resumen de seguridad y rendimiento (SSP, por sus siglas en inglés) está disponible en la base de datos europea sobre productos sanitarios (Eudamed), donde está vinculado a los identificadores de dispositivos (UDI-DI básico). Para localizar el SSP del Aptima HPV, consulte el identificador único del producto básico (BUDI), que es: **54200455DIAGAPTHPVBR**.

Advertencias y precauciones

- A. Para uso diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profesional.
- C. Para conocer las advertencias y precauciones adicionales específicas, consulte los *manuales del usuario del Panther/Panther Fusion System*.

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 regularmente con solución de hipoclorito de sodio del 2,5 % al 3,5 % (0,35 M a 0,5 M). Consulte *Procedimiento de prueba en el Panther System* 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 recogida o transferencia, y no para el 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 correspondientes, 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, el líquido puede salirse de los tapones de los tubos bajo determinadas condiciones. Consulte *Procedimiento de prueba en el Panther System* 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) 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 el dispositivo de recogida no está 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 ensayo Aptima y los reactivos Aptima Auto Detect no forman parte del lote maestro; 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 seguridad (SDS) de la UE. Para obtener información sobre la comunicación de peligros específica de su región, consulte la SDS específica de la región en la Biblioteca de fichas de datos de seguridad en www.hologic.com/sds. Para obtener más información sobre los símbolos, consulte la leyenda de los símbolos en <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Información sobre riesgos de la UE	
	<p>Selection Reagent ÁCIDO BÓRICO AL 1-5 %</p> <p>ATENCIÓN H315 - Provoca irritación cutánea H319 - Provoca irritación ocular grave</p>
—	<p>Target Capture Reagent HEPES al 5-10 % ÁCIDO ETILENDIAMINOTETRAACÉTICO AL 1-5 % Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5 %</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos P273 - Evitar su liberación al medio ambiente P280 - Llevar gafas/máscara de protección</p>
—	<p>Amplification Reagent HEPES AL 25-30 %</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos P273 - Evitar su liberación al medio ambiente P280 - Llevar gafas/máscara de protección</p>
—	<p>Enzyme Reagent HEPES AL 1-5 %</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos P273 - Evitar su liberación al medio ambiente P280 - Llevar gafas/máscara de protección</p>
—	<p>Probe Reagent LAURYL SULFATE LITHIUM SALT 35-40 % ÁCIDO BUTANODIÓICO AL 10-15 % HIDRÓXIDO DE LITIO EN SOLUCIÓN AL 10-15 %</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo 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.
- Reactivo enzimático de HPV.
- Reactivo de sonda de HPV.
- Reactivo de control interno de HPV.
- Calibradores positivos y negativos de HPV.

- B. Los siguientes reactivos deberán conservarse a temperaturas entre 15 °C y 30 °C (temperatura ambiente):
- Solución de reconstitución de reactivo de amplificación de HPV.
 - Solución de reconstitución de reactivo enzimático de HPV.
 - Solución de reconstitución de reactivo de sonda de HPV.
 - Reactivo de captura de diana de HPV.
 - Reactivo de selección de HPV.
- 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.
 - Reactivo enzimático de HPV.
 - Reactivo de sonda de HPV.
- 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 ensayo Aptima HPV son estables durante un total acumulado de 72 horas si se conservan cargados en el Panther System.
- G. Tanto el reactivo de sonda como el reactivo de sonda reconstituido son fotosensibles. Conserve los reactivos protegidos de la luz.
- H. **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 cuello uterino en viales para citología ThinPrep con solución PreservCyt con dispositivos de recogida tipo escobilla o cepillo/espátula de citología, siguiendo las instrucciones del fabricante.
2. Antes o después de procesar con el procesador ThinPrep 2000, el procesador ThinPrep 5000, el procesador ThinPrep 5000 con cargador automático o el procesador ThinPrep Genesis, transfiera 1 mL de muestra de citología en solución ThinPrep a un tubo de transferencia de muestras Aptima, siguiendo las instrucciones del prospecto del kit de transferencia de muestras Aptima y de la solución de transferencia 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 sistema PrepStain.
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 y de la solución de transferencia 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 Aptima.

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 por más tiempo, las muestras de citología en solución ThinPrep o en solución ThinPrep diluida en tubos de transferencia de muestras pueden conservarse a -20 °C o menos durante un máximo de 24 meses.

Muestras de citología en solución SurePath:

1. Las muestras de citología en solución SurePath deben transportarse a una temperatura entre 2 °C y 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 transferirlas, las muestras de citología en solución SurePath deben conservarse a una temperatura entre 2 °C y 25 °C.
4. Las muestras de citología en solución SurePath transferidas a tubos de transferencia de muestras Aptima pueden conservarse entre 2 °C y 25 °C durante un máximo de 7 días.

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 por más tiempo, las muestras del kit de transporte se pueden conservar a -20 °C o menos durante un máximo de 24 meses.

C. Tratamiento de las muestras de citología en solución SurePath:

Nota: Las muestras de citología en solución SurePath deben tratarse con la solución de transferencia Aptima antes de analizarla con el Aptima HPV assay.

1. Solución de transferencia Aptima

Las muestras tratadas pueden almacenarse entre 2 y 8 °C durante un periodo máximo de 17 días antes de su análisis con el ensayo Aptima HPV. Consulte el prospecto del kit de transferencia de muestras Aptima y de la solución de transferencia Aptima para obtener más información.

D. Conservación de las muestras después del análisis:

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 nacionales e internacionales aplicables.

Panther System

A continuación se detallan los reactivos para el Aptima HPV Assay en el Panther System. Junto al nombre del reactivo se muestran también los símbolos de identificación del reactivo.

Reactivos y materiales suministrados

Aptima HPV Assay, 250 pruebas, REF. 303093 (3 cajas)

Aptima HPV Assay, 100 pruebas, REF. 302929 (3 cajas)

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

Caja refrigerada de HPV Aptima (conservar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

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

Caja a temperatura ambiente de HPV Aptima (conservar a temperatura ambiente, entre 15 °C y 30 °C, al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
AR	Solución de reconstitución de reactivo de amplificación de HPV <i>Solución acuosa con conservantes.</i>	1
ER	Solución de reconstitución de reactivo enzimático de HPV <i>Solución de tampón HEPES con surfactante y glicerol.</i>	1
PR	Solución de reconstitución de reactivo de sonda de HPV <i>Solución de tampón succinato con < 5 % de detergente.</i>	1
S	Reactivo de selección de HPV <i>Solución de tampón borato 600 mM con surfactante.</i>	1
TCR	Reactivo de captura de diana de HPV <i>Solución de tampón con oligómeros de captura y fase sólida (<0,5 mg/mL).</i>	1
	Collares de reconstitución	3
	Hoja de códigos de barras del lote maestro	1 hoja

Caja de calibradores de HPV Aptima (REF. 302554)
(conservar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
PCAL	Calibrador positivo de HPV <i>Transcrito no infeccioso de HPV 16 in vitro a 1.000 copias/ml en solución tamponada con < 5 % de detergente.</i>	5 viales
NCAL	Calibrador negativo de HPV <i>Solución tamponada con < 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.

Material	N.º de catálogo
Panther System	303095
Desechos y fluidos continuos del Panther System (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de 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 Aptima Auto Detect</i>	303013
<i>Unidades multitubo (Multi-tube Unit, MTU)</i>	104772-02
<i>Juego de bolsas de desechos Panther</i>	902731
<i>Tapa del recipiente de desechos Panther</i>	504405
Puntas, 1000 µL con filtros, conductoras, detectoras de líquido y desechables	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>No todos los productos están disponibles en todas las regiones. Póngase en contacto con su representante para obtener información específica sobre su región</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Kit de transferencia de muestras Aptima	301154C
Kit de transferencia de muestras 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 250 pruebas:	—
<i>Soluciones de reconstitución del reactivo de amplificación y del reactivo de sonda</i>	CL0041
<i>Solución de reconstitución del reactivo enzimático</i>	501616
<i>TCR y reactivo de selección</i>	CL0040
Tapones de repuesto para los kits de 100 pruebas:	—
<i>Soluciones de reconstitución del reactivo de amplificación y del 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 del 5,0 % al 8,25 % (de 0,7 M a 1,16 M)	—
Guantes desechables	—
Kit de solución de transferencia Aptima (solo para muestras SurePath)	303658

Materiales opcionales

Material	N.º de catálogo
Potenciador de lejía para limpieza	302101

Procedimiento de prueba en el Panther System

Nota: Consulte el Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System para obtener información adicional sobre los procedimientos del Panther System.

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 % (de 0,35 M a 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 Panther 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. 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 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 el 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 frasco hasta mezclarla bien. Evite que se forme espuma al agitar el frasco (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 de vidrio (Figura 1, Paso 6).
 - j. Vuelva a tapar el frasco de plástico. Anote las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución en todos los viales de reactivos reconstituidos (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 Panther System.

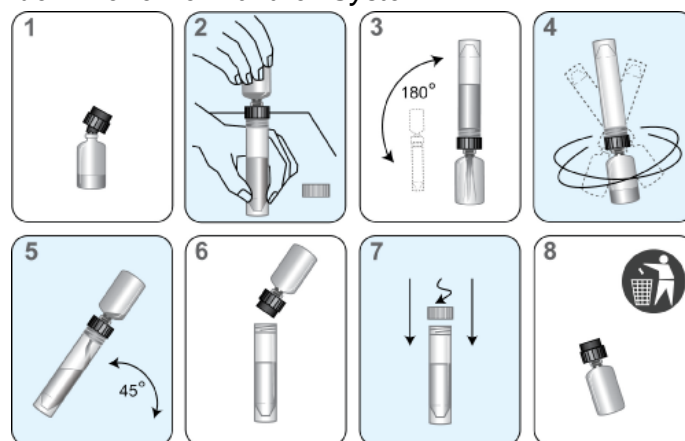


Figura 1. Proceso de reconstitución en el Panther System

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 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 ± 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 Panther 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 con un mezclador vórtex.**
3. Inspeccione los tubos de muestra antes de cargarlos en la gradilla. 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 el Paso 3, podría perderse líquido por el tapón del tubo de muestra.

E. Preparación del sistema:

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

Notas sobre el procedimiento

A. Calibradores:

1. Para que el software del Aptima HPV Assay funcione correctamente en el Panther System, se requieren tres réplicas del calibrador positivo y tres réplicas del calibrador negativo. Puede cargar un vial de cada calibrador en cualquier posición de la gradilla en cualquier 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 sistema está procesando un calibrador positivo y otro negativo.
 - b. Se han registrado resultados válidos para los calibradores en el sistema.

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 resultados del calibrador no sean válidos.
 - b. Se retire del sistema el kit de reactivos del ensayo asociado.
 - c. El kit de reactivos del ensayo asociado haya sobrepasado los límites de estabilidad.
 3. Cualquier intento de pipetear más de tres réplicas de un tubo de calibrador puede dar lugar a errores de procesamiento.
- 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.

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.

Calibrador negativo	
Analito	≥ 0 y ≤ 45.000 RLU
CI	≥ 75.000 y ≤ 400.000 RLU
Calibrador positivo	
Analito	≥ 480.000 y $\leq 1.850.000$ RLU
CI	≤ 450.000 RLU

C. Cálculo del valor de corte del CI.

El valor de corte del control interno se determina a partir de la señal del control interno (flasher) de las réplicas válidas del calibrador negativo.

$$\text{Valor de corte del CI} = 0,5 \times [\text{valor medio de RLU del control interno de las réplicas válidas del calibrador negativo}]$$

D. Cálculo del valor de corte del analito.

El valor de corte del analito se determina a partir de la señal del analito (glower) de las réplicas válidas del calibrador negativo, así como de la señal del analito de las réplicas válidas del calibrador positivo

$$\text{Valor de corte del analito} = [\text{valor medio de RLU del analito de las réplicas válidas del calibrador negativo}] + [0,09 \times \text{valor medio de RLU del analito de las réplicas válidas del calibrador positivo}]$$

E. Cálculo de la razón señal/valor de corte (Analyte Signal/Cutoff, S/CO) del analito.

La S/CO del analito se determina a partir del valor de RLU del analito de la muestra de prueba y del valor de corte del analito para el ciclo.

$$\text{S/CO del analito} = \frac{\text{RLU del analito de la muestra de prueba}}{\text{Valor de corte de analito}}$$

Interpretación de las pruebas

El software del ensayo determina automáticamente los resultados de las pruebas. El resultado de una prueba puede ser negativo, positivo o no válido, según se determine a partir del RLU del CI y la S/CO del analito. El resultado de una prueba también puede no ser válido debido a que otros parámetros (forma anormal de la curva cinética) se encuentran fuera de los límites normales esperados. Los resultados iniciales no válidos de las pruebas deben repetirse.

Las muestras del kit CSCT Aptima pueden diluirse para contrarrestar la presencia de posibles sustancias inhibidoras. 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: Se requiere un volumen mínimo de 1,7 ml para analizar una alícuota de muestra. 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.

Resultado del Aptima HPV Assay	Criterios
Negativo	<i>S/CO del analito < 0,50 CI ≥ Valor de corte del CI CI ≤ 2.000.000 RLU</i>
Positivo	<i>S/CO del analito ≥ 0,50 CI ≤ 2.000.000 RLU Analito ≤ 13.000.000 RLU</i>
No válido	<i>CI > 2.000.000 RLU o S/CO del analito < 0,50 y CI < Valor de corte del CI o Analito > 13.000.000 RLU</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 Assay en personas vacunadas contra el HPV.
- C. El Aptima HPV 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 Assay.
- F. No se han evaluado las consecuencias sobre el resultado de la citología de extraer 1 ml de una muestra de citología en solución SurePath antes del procesamiento citológico.
- G. Los resultados de las pruebas pueden verse afectados por la recogida, la conservación o el procesamiento inadecuados de las muestras.
- H. 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.
- I. 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. Un resultado negativo en el Aptima HPV Assay no excluye la posibilidad de anomalías citológicas, ni de CIN2, CIN3 o cáncer subyacentes o futuros.
- J. Los lubricantes personales que contienen Polyquaternium 15 pueden interferir con el rendimiento del ensayo si están presentes en concentraciones superiores al 0,025 % (v/v o p/v) en una muestra de prueba.
- K. Los medicamentos antimicóticos con tioconazol pueden interferir con el rendimiento del ensayo si están presentes en concentraciones superiores al 0,075 % (p/v) en una muestra de prueba.
- L. El Aptima HPV 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.
- M. La detección del mRNA del HPV de alto riesgo 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.
- N. 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.

- O. No se han evaluado los efectos de otras variables potenciales, como el flujo vaginal, el uso de tampones, duchas vaginales, etc., ni de las variables relacionadas con la recogida de muestras.
- P. El uso de este producto debe limitarse al personal que haya recibido formación sobre el uso del Aptima HPV Assay.
- Q. La contaminación cruzada de las muestras puede dar lugar a resultados positivos falsos. La tasa de arrastre del ensayo Aptima HPV en el Panther System determinada en un estudio no clínico es del 0,7 %.
- R. Los resultados del Aptima HPV Assay deben interpretarse conjuntamente con los demás datos clínicos y de laboratorio de que disponga el médico.
- S. Esta prueba puede producir resultados positivos falsos. Los transcritos *in vitro* de los genotipos de HPV de bajo riesgo 26, 67, 70 y 82 mostraron reactividad cruzada con el Aptima HPV Assay.

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 ampliamente y depende de varios factores, el más importante de los cuales es la edad.^{36,38} 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.³⁸ La prevalencia de las muestras positivas para mRNA del HPV, según los resultados del Aptima HPV Assay en el Panther System, observada en el ensayo clínico se categorizó en total, por grupo de edad y por centro de análisis. Los resultados se muestran en la Tabla 1 para las poblaciones células escamosas atípicas de importancia no determinada (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) y negativas para lesiones o tumores intraepiteliales (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM).

Tabla 1: Prevalencia del mRNA del HPV de alto riesgo por grupo de edad, centro de análisis y todos combinados

	Tasa de positivos % (x/n)	
	Población ASC-US (≥ 21 años)	Población NILM (≥ 30 años)
Todo	42,3 (404/956)	4,7 (512/10.860)
Grupo de edad (años)		
De 21 a 29	60,0 (251/418)	--
De 30 a 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4.192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6.668)
Centro de análisis		
1	41,5 (134/323)	3,7 (304/8.286)
2	43,1 (137/318)	9,2 (118/1.285)
3	42,2 (133/315)	7,0 (90/1.289)

-- = no aplicable

Diseño del ensayo clínico del Aptima HPV Assay con muestras de citología en solución ThinPrep

El Aptima HPV Assay en el sistema Panther se evaluó utilizando el sobrante de las muestras de citología remitidas, tomadas de las mujeres que dieron su consentimiento durante el estudio clínico multicéntrico y prospectivo en EE.UU., conocido como el ensayo CLEAR.³⁴

El ensayo Aptima HPV se lanzó por primera vez en el sistema Tigris™ DTS en 2008. En 2011 se expandieron las indicaciones para el uso del ensayo Aptima HPV en el Panther System. El Panther System es una plataforma de instrumentos alternativa al Tigris DTS System y más reducida. Ambos sistemas están diseñados para automatizar por completo las pruebas de ácidos nucleicos amplificados de los ensayos de diagnóstico. Se aprovecharon algunas pruebas de rendimiento de los ensayos que se realizaron en el Tigris DTS System para respaldar el rendimiento de los ensayos en el Panther System.

Ensayo CLEAR – Evaluación inicial

Se llevó a cabo el ensayo CLEAR para determinar el rendimiento clínico del Aptima HPV Assay para la detección de la neoplasia intraepitelial de cuello uterino de grado 2 o patologías del cuello uterino más graves (\geq CIN2). El ensayo CLEAR incluía una evaluación inicial y una evaluación de seguimiento de 3 años. Se incluyó a las mujeres en el estudio ASC-US o en el estudio NILM en función de los resultados de la citología obtenidos durante las pruebas de cribado de rutina de 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. El estudio NILM se diseñó en apoyo a la reivindicación del cribado complementario para mujeres mayores de 30 años, ya que las mujeres de esta edad con resultados de citología superiores a ASC-US deben someterse a una colposcopia independientemente del estado del HPV.³⁹

Se inscribieron mujeres de 18 centros clínicos, en su mayoría de clínicas de obstetricia y ginecología, con una amplia distribución geográfica, que constituían una población diversa. Las mujeres elegibles fueron asignadas al estudio ASC-US o al estudio NILM en función de los resultados de la muestra de citología en solución ThinPrep remitida. Al inicio, el sobrante de las muestras remitidas de mujeres del estudio ASC-US y del estudio NILM se analizó inicialmente con el Aptima HPV Assay en el Tigris DTS System y con una prueba comercial de DNA del HPV. Se obtuvieron entonces las muestras y se conservaron a -70 °C hasta que se analizaron con el Aptima HPV Assay en el Panther System.

Al inicio del ensayo CLEAR (fase inicial), 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, así como mujeres con resultados negativos en ambos ensayos seleccionadas aleatoriamente, se remitieron para una colposcopia para la evaluación inicial. Las mujeres seleccionadas aleatoriamente con resultados negativos en ambos ensayos se incluyeron para corregir por el sesgo de verificación con cálculos de rendimiento ajustados, generados mediante un método de imputación múltiple. 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 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 de HPV de las mujeres. Tampoco tuvieron acceso al estado citológico, ni a los diagnósticos histológicos de los otros patólogos. Si los 3 patólogos estuvieran en desacuerdo, los 3 patólogos revisarían los cortes en un microscopio multicabezal para alcanzar un consenso. 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.

Al inicio se evaluó el rendimiento clínico del Aptima HPV Assay para la detección de \geq CIN2 y la neoplasia intraepitelial de cuello uterino de grado 3 o patologías del cuello uterino más graves (\geq CIN3) con relación al estado citológico determinado al inicio. También se determinó el rendimiento clínico de la prueba de DNA del HPV aprobada por la FDA para su comparación directa con los resultados del Aptima HPV Assay.

Ensayo CLEAR– Evaluación de seguimiento

Las mujeres del estudio NILM de 14 centros clínicos eran aptas para participar en la fase de seguimiento de 3 años del estudio si: i) tuvieron una visita de colposcopia al inicio y no tuvieron \geq CIN2, o ii) no tuvieron una visita de colposcopia al inicio. La fase de seguimiento del estudio consistía de visitas anuales. En estas visitas, a todas las mujeres se les tomaron muestras para citología cervical, y se analizó a algunas mujeres con una prueba comercial de HPV. Las mujeres con ASC-US o resultados citológicos más graves durante el periodo de seguimiento fueron derivadas a colposcopia utilizando los mismos procedimientos de biopsia y examen histológico utilizados para la evaluación inicial del estudio NILM. El estado de la enfermedad cervical en la visita de seguimiento se consideró “negativo” basándose en la citología de NILM o, en el caso de mujeres con resultados anormales en la citología, basándose en resultados normales o de CIN1 según el grupo de consenso de la revisión histológica. Las mujeres a las que se detectó un \geq CIN2 durante el periodo de seguimiento se consideró que habían completado el seguimiento y no acudieron a las visitas después de la detección de \geq CIN2. Las mujeres a las que no se detectó un \geq CIN2 durante el periodo de seguimiento, pero que acudieron a una visita del estudio en el año 1 de seguimiento y/o el año 2 de seguimiento y que acudieron a una visita del año 3 de seguimiento and se consideró que habían completado el seguimiento.

El objetivo del estudio de seguimiento era comparar el riesgo acumulado a los 3 años de enfermedad cervical en mujeres con resultados iniciales positivos para el Aptima HPV Assay con el riesgo acumulado a los 3 años de enfermedad cervical en mujeres con resultados iniciales negativos para el Aptima HPV Assay. El estado de la enfermedad cervical a los 3 años se determinó del siguiente modo:

- Estado positivo de la enfermedad cervical (\geq CIN2 y/o \geq CIN3) – Mujeres a las que se detectó \geq CIN2 al inicio o durante el seguimiento.
- Estado negativo de la enfermedad cervical ($<$ CIN2) – Mujeres que completaron el seguimiento sin detección de \geq CIN2 y que se consideró que tenían un estado de enfermedad cervical “indeterminado”.
- Estado de enfermedad cervical indeterminado – Mujeres con resultados anormales en la citología durante el seguimiento y que no tuvieron un resultado posterior del grupo de consenso de la revisión histológica, o mujeres con una citología inadecuada en su última visita.
- Pérdida para el seguimiento – Mujeres que no completaron el seguimiento y que no se consideró que tuvieran un estado de enfermedad cervical “indeterminado”.

El rendimiento clínico del Aptima HPV Assay para la detección de \geq CIN2 y \geq CIN3 se evaluó respecto al estado de la enfermedad cervical a los 3 años.

Rendimiento del ensayo en el Panther System

Población ASC-US ≥ 21 años: rendimiento clínico del Aptima HPV Assay

En total, se incluyó a 1.252 mujeres mayores de 21 años con resultados de citología ASC-US en el estudio ASC-US; de ellas, 294 mujeres se retiraron del estudio. Las 958 mujeres restantes cumplían los requisitos para los análisis en el Panther System. Faltaron las muestras de 2 mujeres y 19 tuvieron un diagnóstico no determinado de la enfermedad; todas ellas se excluyeron del análisis. Las 937 mujeres evaluables restantes eran mayores de 21 años y tenían resultados de citología ASC-US, resultados del Aptima HPV Assay en el Panther System y un estado de enfermedad concluyente. Noventa y una (91) mujeres tenían ≥CIN2 y cuarenta y una (41) ≥CIN3. La prevalencia de ≥CIN2 y ≥CIN3 en mujeres evaluables con resultados de citología ASC-US fue del 9,7 % y del 4,4 %, respectivamente. Los resultados del Aptima HPV Assay según el diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2: Población ASC-US ≥ 21 años: resultados del Aptima HPV Assay según el diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica

Resultado del Aptima HPV Assay*	Prueba de DNA del HPV	Diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica						
		Indeterminado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cáncer	Total
Positivo	Positivo	6	178	110	40	32	1	367
Positivo	Negativo	0	5	2	0	2	0	9
Positivo	Sin resultado***	0	15	11	0	2	0	28
Negativo	Positivo	0	39	15	3	3	0	60
Negativo	Negativo	10	372	53	7	1	0	443
Negativo	Sin resultado***	3	39	7	0	0	0	49
Total		19	648	198	50	40	1****	956

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

**En 19 casos, las mujeres acudieron a la visita de coloscopia 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).

***77 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.

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

Los cálculos de rendimiento clínico del Aptima HPV Assay, incluidos los cálculos de sensibilidad, especificidad, y valor de predicción positivo (VPP) y negativo (VPN) para la detección de ≥CIN2 y ≥CIN3, basados en la evaluación de todas las biopsias o solo de las biopsias dirigidas, se muestran en la Tabla 3, al igual que los cálculos con la prueba comercial de DNA del HPV.

Tabla 3: Población ASC-US ≥ 21 años: rendimiento del Aptima HPV Assay y de una prueba de DNA del HPV para la detección de ≥CIN2 y ≥CIN3

	Rendimiento	Aptima HPV Assay N=937		Prueba de DNA del HPV N=863*	
		Cálculo	(IC del 95 %)	Cálculo	(IC del 95 %)
≥CIN2	Todas las biopsias				
	Sensibilidad (%)	84,6 (77/91)	(75,8, 90,6)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)
	Especificidad (%)	62,1 (525/846)	(58,7, 65,3)	55,8 (432/774)	(52,3, 59,3)
	VPP (%)	19,3 (77/398)	(17,3, 21,2)	18,8 (79/421)	(17,0, 20,4)
	VPN (%)	97,4 (525/539)	(96,0, 98,5)	97,7 (432/442)	(96,2, 98,8)
	Prevalencia (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
	Biopsias dirigidas**				
	Sensibilidad (%)	90,0 (54/60)	(79,9, 95,3)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)
	Especificidad (%)	60,8 (531/874)	(57,5, 63,9)	54,5 (437/802)	(51,0, 57,9)
	VPP (%)	13,6 (54/397)	(12,0, 15,0)	13,1 (55/420)	(11,7, 14,2)
	VPN (%)	98,9 (531/537)	(97,8, 99,6)	99,1 (437/441)	(97,9, 99,7)
	Prevalencia (%)	6,4 (60/934)		6,9 (59/861)	
	≥CIN3	Todas las biopsias			
Sensibilidad (%)		90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
Especificidad (%)		59,7 (535/896)	(56,5, 62,9)	53,3 (439/824)	(49,9, 56,7)
VPP (%)		9,3 (37/398)	(8,0, 10,3)	8,6 (36/421)	(7,4, 9,4)
VPN (%)		99,3 (535/539)	(98,3, 99,8)	99,3 (439/442)	(98,3, 99,8)
Prevalencia (%)		4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	
Biopsias dirigidas**					
Sensibilidad (%)		93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)
Especificidad (%)		59,1 (535/906)	(55,8, 62,2)	52,8 (440/834)	(49,4, 56,1)
VPP (%)		6,8 (27/398)	(5,7, 7,5)	6,4 (27/421)	(5,5, 7,0)
VPN (%)		99,6 (535/537)	(98,8, 100)	99,8 (440/441)	(98,9, 100)
Prevalencia (%)		3,1 (29/935)		3,2 (28/862)	

*74 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.

**El resultado histológico de consenso se obtuvo únicamente a partir de los resultados de las biopsias dirigidas. Las mujeres sin biopsias dirigidas reflejan una colposcopia normal y se incluyen en estos análisis como sin enfermedad (<CIN2 o <CIN3, según corresponda). Al incluir exclusivamente las biopsias dirigidas, en algunos casos no fue posible alcanzar un consenso.

Al evaluar todas las biopsias, los cálculos de sensibilidad clínica del Aptima HPV Assay y de la prueba comercial de DNA del HPV para la detección de \geq CIN2 y \geq CIN3, cuando se disponía de los resultados de ambos ensayos, fueron similares (las diferencias en los cálculos de sensibilidad no fueron estadísticamente significativos). Para \geq CIN2, la diferencia en sensibilidad fue del -4,5 % (IC del 95 %: -12,2 %, 2,5 %). Los cálculos de especificidad clínica del Aptima HPV Assay para la detección de \geq CIN2 y \geq CIN3 fueron más elevados que los obtenidos con la prueba comercial de DNA del HPV (las diferencias en los cálculos de especificidad fueron estadísticamente significativas). Para \geq CIN2, la diferencia en especificidad fue del 6,1 % (IC del 95 %: 4,2 %, 8,2 %). Los VPN fueron similares excepto para la detección de \geq CIN2, el VPP para el Aptima HPV Assay fue ligeramente más elevado que el VPP para la prueba comercial de DNA del HPV (19,3 % frente al 18,8 %).

De los 91 casos de \geq CIN2, 60 (65,9 %) fueron identificados en las biopsias dirigidas y 31 (34,1 %), en las biopsias aleatorias o de LEC (es decir, no en las biopsias dirigidas). Estos hallazgos son comparables a los resultados de los estudios publicados, en los que entre un 25 % y un 40 % de los casos de \geq CIN2, aproximadamente, se identificaron únicamente en las muestras de biopsias aleatorias o de LEC.^{40,41} Cuando se utilizaron únicamente las biopsias dirigidas para determinar el estado de la enfermedad (presuponiendo que las mujeres sin biopsias dirigidas tenían resultados histológicos normales puesto que no presentaban lesiones visibles), la prevalencia de \geq CIN2 y \geq CIN3 en el estudio fue del 6,4 % y del 3,1 %, respectivamente. Los cálculos de sensibilidad clínica para la detección de \geq CIN2 y \geq CIN3 fueron más elevados para ambos análisis cuando se utilizaron únicamente biopsias dirigidas que cuando se utilizaron todas las biopsias. Para ambos ensayos, la especificidad clínica cuando se utilizaron solo biopsias dirigidas fue similar a la obtenida cuando se utilizaron todas las biopsias. En consecuencia, cuando se utilizaron únicamente las biopsias dirigidas, la especificidad del Aptima HPV Assay fue significativamente mayor que la de la prueba comercial de DNA del HPV.

Los cálculos de rendimiento clínico del Aptima HPV Assay y de la prueba comercial de DNA del HPV se muestran, por grupo de edad, en las Tablas 4 y 5 (\geq CIN2 y \geq CIN3, respectivamente, basadas en la evaluación de todas las biopsias).

Tabla 4: Población ASC-US ≥ 21 años: rendimiento del Aptima HPV Assay y de una prueba de DNA del HPV para la detección de \geq CIN2 por grupo de edad

	Rendimiento	Aptima HPV Assay N=937		Prueba de DNA del HPV N=863*	
		Cálculo	(IC del 95 %)	Cálculo	(IC del 95 %)
De 21 a 29 años		N=415		N=389	
	Sensibilidad (%)	88,5 (54/61)	(78,2, 94,3)	94,9 (56/59)	(86,1, 98,3)
	Especificidad (%)	44,9 (159/354)	(39,8, 50,1)	35,5 (117/330)	(30,5, 40,8)
	VPP (%)	21,7 (54/249)	(19,3, 23,9)	20,8 (56/269)	(19,0, 22,5)
	VPN (%)	95,8 (159/166)	(92,3, 98,1)	97,5 (117/120)	(93,6, 99,4)
	Prevalencia (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
De 30 a 39 años		N=261		N=238	
	Sensibilidad (%)	85,0 (17/20)	(64,0, 94,8)	80,0 (16/20)	(58,4, 91,9)
	Especificidad (%)	66,4 (160/241)	(60,2, 72,1)	61,9 (135/218)	(55,3, 68,1)
	VPP (%)	17,3 (17/98)	(13,1, 21,1)	16,2 (16/99)	(11,8, 19,8)
	VPN (%)	98,2 (160/163)	(95,7, 99,6)	97,1 (135/139)	(94,1, 99,1)
	Prevalencia (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
≥ 40 años		N=261		N=236	
	Sensibilidad (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	Especificidad (%)	82,1 (206/251)	(76,9, 86,3)	79,6 (180/226)	(73,9, 84,4)
	VPP (%)	11,8 (6/51)	(5,6, 17,7)	13,2 (7/53)	(6,9, 18,7)
	VPN (%)	98,1 (206/210)	(96,6, 99,4)	98,4 (180/183)	(96,6, 99,6)
	Prevalencia (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	

*74 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.

Tabla 5: Población ASC-US ≥ 21 años: rendimiento del Aptima HPV Assay y de una prueba de DNA del HPV para la detección de ≥CIN3 por grupo de edad

	Rendimiento	Aptima HPV Assay N=937		Prueba de DNA del HPV N=863*	
		Cálculo	(IC del 95 %)	Cálculo	(IC del 95 %)
De 21 a 29 años		N=415		N=389	
	Sensibilidad (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Especificidad (%)	42,5 (165/388)	(37,7, 47,5)	33,0 (120/364)	(28,3, 38,0)
	VPP (%)	10,4 (26/249)	(9,0, 11,5)	9,3 (25/269)	(8,2, 10,0)
	VPN (%)	99,4 (165/166)	(97,2, 100)	100 (120/120)	(97,5, 100)
	Prevalencia (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
De 30 a 39 años		N=261		N=238	
	Sensibilidad (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Especificidad (%)	64,3 (162/252)	(58,2, 69,9)	59,8 (137/229)	(53,4, 66,0)
	VPP (%)	8,2 (8/98)	(5,0, 10,1)	7,1 (7/99)	(4,0, 9,2)
	VPN (%)	99,4 (162/163)	(97,6, 100)	98,6 (137/139)	(96,4, 99,8)
	Prevalencia (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
≥ 40 años		N=261		N=236	
	Sensibilidad (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Especificidad (%)	81,3 (208/256)	(76,0, 85,6)	78,8 (182/231)	(73,1, 83,6)
	VPP (%)	5,9 (3/51)	(1,6, 9,7)	7,5 (4/53)	(2,9, 10,7)
	VPN (%)	99,0 (208/210)	(98,0, 99,9)	99,5 (182/183)	(98,2, 100)
	Prevalencia (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 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.

El riesgo absoluto de enfermedad (\geq CIN2 y \geq CIN3, basado en la evaluación de todas las biopsias) según el resultado del Aptima HPV Assay, y el riesgo relativo de enfermedad según los resultados positivos frente a negativos del Aptima HPV Assay, se muestran en la Tabla 6, al igual que los cálculos obtenidos con la prueba comercial de DNA del HPV. El riesgo relativo de \geq CIN2 fue de 7,4 (IC del 95 %: 4,3, 13,0), lo que indica que una mujer con un resultado positivo en el Aptima HPV Assay tiene 7,4 veces más posibilidades de tener \geq CIN2 que una mujer con un resultado negativo en el Aptima HPV Assay. El riesgo relativo de \geq CIN3 fue de 12,5 (IC del 95 %: 4,5, 34,9).

Tabla 6: Población ASC-US \geq 21 años: riesgos absoluto y relativo de \geq CIN2 y \geq CIN3 para los resultados del Aptima HPV Assay y de una prueba de DNA del HPV

	Resultado del ensayo	Aptima HPV Assay N=937		Prueba de DNA del HPV N=863*	
		Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)	Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)
\geq CIN2	Positivo	19,3 (77/398) (17,3, 21,2)	7,4 (4,3, 13,0)	18,8 (79/421) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Negativo	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prevalencia (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
\geq CIN3	Positivo	9,3 (37/398) (8,0, 10,3)	12,5 (4,5, 34,9)	8,6 (36/421) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Negativo	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prevalencia (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

*74 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.

Los cálculos de riesgo absoluto y relativo de enfermedad (\geq CIN2 y \geq CIN3, basados en la evaluación de todas las biopsias) para el Aptima HPV Assay y la prueba comercial de DNA del HPV por grupo de edad se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7: Población ASC-US \geq 21 años: riesgos absoluto y relativo de \geq CIN2 y \geq CIN3 por grupo de edad para los resultados del Aptima HPV Assay y de una prueba de DNA del HPV

	Edad	Resultado del ensayo	Aptima HPV Assay N=937		Prueba de DNA del HPV N=863*	
			Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)	Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)
\geq CIN2	De 21 a 29 años		N=415		N=389	
		Positivo	21,7 (54/249) (19,3, 23,9)	5,1 (2,4, 11,0)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)
		Negativo	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalencia (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	De 30 a 39 años		N=261		N=238	
		Positivo	17,3 (17/98) (13,1, 21,1)	9,4 (2,8, 31,3)	16,2 (16/99) (11,8, 19,8)	5,6 (1,9, 16,3)
		Negativo	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalencia (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	\geq 40 años		N=261		N=236	
		Positivo	11,8 (6/51) (5,6, 17,7)	6,2 (1,8, 21,1)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,1)
		Negativo	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)	
		Prevalencia (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	
\geq CIN3	De 21 a 29 años		N=415		N=389	
		Positivo	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	No calculable
		Negativo	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalencia (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	De 30 a 39 años		N=261		N=238	
		Positivo	8,2 (8/98) (5,0, 10,1)	13,3 (1,7, 105)	7,1 (7/99) (4,0, 9,2)	4,9 (1,0, 23,2)
		Negativo	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalencia (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	\geq 40 años		N=261		N=236	
		Positivo	5,9 (3/51) (1,6, 9,7)	6,2 (1,1, 36,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,8 (1,6, 121)
		Negativo	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)	
		Prevalencia (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 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.

Población NILM ≥ 30 años: rendimiento clínico del Aptima HPV Assay con muestras de citología en solución ThinPrep al inicio

En total, se incluyó a 11.644 mujeres con resultados de citología NILM en el estudio NILM. De ellas, 773 mujeres se retiraron del estudio. Las 10.871 mujeres restantes cumplían los requisitos para los análisis en el Panther System. Faltaron las muestras de 11 mujeres, y se excluyeron de la evaluación inicial del Aptima HPV Assay en el Panther System. Las 10.860 mujeres evaluables restantes eran mayores de 30 años, tenían resultados de citología NILM y contaban con resultados del Aptima HPV Assay en el Panther System. De las 512 mujeres con resultados positivos del Aptima HPV Assay en el Panther System, 284 se sometieron a una colposcopia al inicio. De las 10.348 mujeres con resultados negativos del Aptima HPV Assay, 580 se sometieron a una colposcopia al inicio. Veinte (20) mujeres tenían ≥CIN2 y once (11) tenían ≥CIN3; 798 mujeres tenían una histología normal/CIN1; 46 mujeres tenían un estado de enfermedad indeterminado. Los resultados del Aptima HPV Assay en el Panther System según el diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica al inicio se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8: Población NILM ≥ 30 años: resultados del Aptima HPV Assay y de una prueba de DNA del HPV según el diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica al inicio

Resultado del Aptima HPV Assay*	Prueba de DNA del HPV	Diagnóstico del grupo de consenso de la revisión histológica						
		Indeterminado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cáncer	Total
Positivo	Positivo	11	211	12	4	7	2	247
Positivo	Negativo	2	19	0	0	0	1	22
Positivo	Sin resultado***	2	12	1	0	0	0	15
Negativo	Positivo	10	170	7	2	1	0	190
Negativo	Negativo	20	353	9	2	0	0	384
Negativo	Sin resultado***	1	4	0	1	0	0	6
Total		46	769	29	9	8	3****	864

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

**En 46 casos, las mujeres acudieron a la visita de colposcopia pero no fue posible llegar a un diagnóstico por los siguientes motivos: muestras de biopsia que resultaron inadecuadas (n=29), no se recogieron biopsias (n=15) o se perdieron las preparaciones de la biopsia (n=2).

***21 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.

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

En total, 10.042 mujeres tuvieron un estado de enfermedad no verificado al inicio (incluidos los no determinados) (Tabla 9). Debido a que solo se remitieron para colposcopia mujeres aleatoriamente seleccionadas con resultados negativos tanto en el Aptima HPV Assay en el Tigris DTS System 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 818 mujeres con un estado de enfermedad verificado al inicio.

Tabla 9: Población NILM \geq 30 años: clasificación de mujeres NILM evaluables por resultados del Aptima HPV Assay y de una prueba de DNA del HPV, estado de enfermedad (\geq CIN2 y \geq CIN3), y estado de verificación de la enfermedad

Resultado del Aptima HPV 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
Sistema Panther	Tigris DTS System			Mujeres enfermas (\geq CIN2)	Mujeres no enfermas (<CIN2)	Mujeres enfermas (\geq CIN3)	Mujeres no enfermas (<CIN3)	Mujeres con un estado de enfermedad desconocido (% desconocido)
Positivo	Positivo	Positivo	313	13	189	9	193	111 (35,5 %)
Positivo	Positivo	Negativo	37	1	18	1	18	18 (48,6 %)
Positivo	Positivo	Sin resultado**	22	0	13	0	13	9 (40,9 %)
Positivo	Negativo	Positivo	70	0	34	0	34	36 (51,4 %)
Positivo	Negativo	Negativo	60	0	1	0	1	59 (98,3 %)
Positivo	Negativo	Sin resultado**	10	0	0	0	0	10 (100 %)
Negativo	Positivo	Positivo	46	0	33	0	33	13 (28,3 %)
Negativo	Positivo	Negativo	113	1	41	0	42	71 (62,8 %)
Negativo	Positivo	Sin resultado**	8	0	4	0	4	4 (50,0 %)
Negativo	Negativo	Positivo	236	3	144	1	146	89 (37,7 %)
Negativo	Negativo	Negativo	9.354	1	321	0	322	9.032 (96,6 %)
Negativo	Negativo	Sin resultado**	591	1	0	0	1	590 (99,8 %)
Total			10.860	20	798	11	807	10.042 (92,5 %)

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

**631 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.

La prevalencia ajustada de \geq CIN2 y \geq CIN3 en mujeres con resultados de citología NILM fue del 0,9 % y del 0,4 %, respectivamente. Los cálculos ajustados de riesgo absoluto y relativo para la detección de \geq CIN2 y \geq CIN3 se muestran en la Tabla 10. El riesgo relativo ajustado de \geq CIN2 fue de 7,5 (IC del 95 %: 2,1, 26,3), lo que indica que una mujer con un resultado positivo en el Aptima HPV Assay tiene 7,5 veces más posibilidades de tener \geq CIN2 que una mujer con un resultado negativo en el Aptima HPV Assay. El riesgo relativo ajustado de \geq CIN3 al inicio fue de 24,9 (IC del 95 %: 2,0, 307,0). Los cálculos no ajustados de riesgo absoluto y relativo para la detección de \geq CIN2 y \geq CIN3 al inicio se muestran, en total, en la Tabla 11 y, por grupo de edad, en la Tabla 12.

Tabla 10: Población NILM \geq 30 años: riesgos absoluto y relativo de \geq CIN2 y \geq CIN3 para los resultados del Aptima HPV Assay y de una prueba de DNA del HPV (cálculos ajustados por el sesgo de verificación) al inicio

	Resultado del ensayo	Aptima HPV Assay		Prueba de DNA del HPV	
		Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)	Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)
\geq CIN2	Positivo	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negativo	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalencia (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Positivo	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negativo	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalencia (%)	0,4		0,4	

Tabla 11: Población NILM \geq 30 años: riesgos absoluto y relativo de \geq CIN2 y \geq CIN3 para los resultados del Aptima HPV Assay y de una prueba de DNA del HPV (cálculos no ajustados) al inicio

	Resultado del ensayo	Aptima HPV Assay N=818		Prueba de DNA del HPV N=800*	
		Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)	Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)
\geq CIN2	Positivo	5,2 (14/269) (3,5, 6,6)	4,8 (1,9, 12,3)	3,8 (16/416) (2,9, 4,5)	4,9 (1,4, 16,8)
	Negativo	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalencia (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
\geq CIN3	Positivo	3,7 (10/269) (2,5, 4,3)	20,4 (2,6, 159)	2,4 (10/416) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,8)
	Negativo	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalencia (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 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.

Tabla 12: Población NILM ≥ 30 años: riesgos absoluto y relativo de ≥CIN2 y ≥CIN3 por grupo de edad para los resultados del Aptima HPV Assay y de una prueba de DNA del HPV (cálculos no ajustados) al inicio

	Edad	Resultado del ensayo	Aptima HPV Assay N=818		Prueba de DNA del HPV N=800*	
			Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)	Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)
≥CIN2	De 30 a 39 años		N=383		N=376	
		Positivo	4,6 (7/153) (2,5, 5,9)	5,3 (1,1, 25,0)	3,3 (7/215) (1,8, 4,1)	2,6 (0,6, 12,4)
		Negativo	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Prevalencia (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 Años		N=435		N=424	
		Positivo	6,0 (7/116) (3,2, 8,5)	4,8 (1,4, 16,1)	4,5 (9/201) (2,9, 5,3)	10,0 (1,3, 78,1)
		Negativo	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
		Prevalencia (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥CIN3	De 30 a 39 años		N=383		N=376	
		Positivo	3,3 (5/153) (1,6, 4,1)	7,5 (0,9, 63,7)	2,3 (5/215) (1,1, 2,9)	3,7 (0,4, 31,7)
		Negativo	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
		Prevalencia (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	≥ 40 años		N=435		N=424	
		Positivo	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	No calculable	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	No calculable
		Negativo	0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
		Prevalencia (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*18 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.

Los cálculos ajustados de rendimiento clínico del Aptima HPV Assay, incluidos los cálculos de sensibilidad, especificidad, y valor de predicción positivo (VPP) y negativo (VPN) para la detección de \geq CIN2 y \geq CIN3 al inicio se muestran en la Tabla 13, al igual que los cálculos con la prueba comercial de DNA del HPV. Los cálculos no ajustados de rendimiento clínico se muestran en la Tabla 14. El Aptima HPV Assay y la prueba comercial de DNA del HPV mostraron una sensibilidad similar, mientras que la especificidad fue significativamente mayor con el Aptima HPV Assay (los IC del 95 % no se superponen). Los cálculos de los valores de predicción del Aptima HPV Assay fueron clínicamente relevantes y similares a los cálculos de la prueba comercial de DNA del HPV. Los VPN fueron similares excepto para la detección de \geq CIN2, el VPP para el Aptima HPV Assay fue ligeramente más elevado que el VPP para la prueba comercial de DNA del HPV (4,5 % frente al 3,7 %).

Tabla 13: Población NILM \geq 30 años: rendimiento del Aptima HPV Assay y de una prueba de DNA del HPV para la detección de \geq CIN2 y \geq CIN3 (cálculos ajustados por el sesgo de verificación) al inicio

	Rendimiento	Aptima HPV Assay		Prueba de DNA del HPV	
		Cálculo	(IC del 95 %)	Cálculo	(IC del 95 %)
\geq CIN2	Sensibilidad (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Especificidad (%)	95,5	(95,1, 95,9)	93,7	(93,2, 94,2)
	VPP (%)	4,5	(2,7, 7,4)	3,7	(2,3, 6,1)
	VPN (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Prevalencia (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
\geq CIN3	Sensibilidad (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Especificidad (%)	95,4	(95,0, 95,8)	93,6	(93,1, 94,1)
	VPP (%)	3,0	(1,6, 5,5)	2,3	(1,3, 4,1)
	VPN (%)	99,9	(98,3, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prevalencia (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Tabla 14: Población NILM ≥ 30 años: rendimiento del Aptima HPV Assay y de una prueba de DNA del HPV para la detección de ≥CIN2 y ≥CIN3 (cálculos no ajustados) al inicio

	Rendimiento	Aptima HPV Assay N=818		Prueba de DNA del HPV N=800*	
		Cálculo	(IC del 95 %)	Cálculo	(IC del 95 %)
≥CIN2	Sensibilidad (%)	70,0 (14/20)	(48,1, 85,5)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Especificidad (%)	68,0 (543/798)	(64,7, 71,2)	48,8 (381/781)	(45,3, 52,3)
	VPP (%)	5,2 (14/269)	(3,5, 6,6)	3,8 (16/416)	(2,9, 4,5)
	VPN (%)	98,9 (543/549)	(98,1, 99,5)	99,2 (381/384)	(98,1, 99,8)
	Prevalencia (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
≥CIN3	Sensibilidad (%)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Especificidad (%)	67,9 (548/807)	(64,6, 71,0)	48,5 (383/789)	(45,1, 52,0)
	VPP (%)	3,7 (10/269)	(2,5, 4,3)	2,4 (10/416)	(1,6, 2,7)
	VPN (%)	99,8 (548/549)	(99,2, 100)	99,7 (383/384)	(98,9, 100)
	Prevalencia (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 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.

La comparación directa del Aptima HPV Assay en el Panther System y de la prueba comercial de DNA del HPV muestra una sensibilidad similar y una especificidad mejorada de forma estadísticamente significativa del Aptima HPV Assay frente a la prueba comercial de DNA del HPV para la detección de \geq CIN2, tal como indican las razones entre las tasas de positivos verdaderos y falsos (Tablas 15 y 16, respectivamente).

Tabla 15: Población NILM \geq 30 años: razón de tasas de positivos verdaderos (Aptima HPV Assay/ prueba de DNA del HPV) para mujeres con \geq CIN2 (cálculos no ajustados) al inicio

		Prueba de DNA del HPV		Total
		Positivo	Negativo	
Aptima HPV Assay	Positivo	13	1	14 (73,7 %)
	Negativo	3	2	5
	Total	16 (84,2 %)	3	19
Razón de tasas de positivos verdaderos = 0,88 (14/16) (IC del 95 %: 0,65, 1,10)				

Tabla 16: Población NILM \geq 30 años: razón de tasas de positivos falsos (Aptima HPV Assay/ prueba de DNA del HPV) para mujeres con $<$ CIN2 (cálculos no ajustados) al inicio

		Prueba de DNA del HPV		Total
		Positivo	Negativo	
Aptima HPV Assay	Positivo	223	19	242 (31,0 %)
	Negativo	177	362	539
	Total	400 (51,2 %)	381	781
Razón de tasas de positivos falsos = 0,61 (242/400) (IC del 95 %: 0,55, 0,66)				

Población NILM de \geq 30 años: rendimiento clínico del Aptima HPV Assay en el Sistema Panther tras 3 años de seguimiento

Había 10.843 mujeres evaluables de 30 o más años de edad con resultados de citología de NILM y resultados válidos para el Aptima HPV Assay al inicio que eran aptas para la fase de seguimiento. De las mujeres sin \geq CIN2, el 67,0 % (7.247/10.823) de las mujeres completaron una visita de citología de seguimiento en el año 1, el 60,3 % (6.517/10.814) el año 2 y el 58,7 % (6.339/10.807) el año 3. En general, el 58,8 % (6.375/10.843) de las mujeres completaron el estudio (tuvieron \geq CIN2 al inicio o durante el seguimiento, y/o completaron las visitas requeridas).

De las 10.843 mujeres, 511 (4,7 %) tuvieron resultados positivos para el Aptima HPV Assay al inicio. De esas 511 mujeres, 255 (49,9 %) tuvieron un estado de la enfermedad positivo o negativo a los 3 años según los resultados de la citología o la colposcopia/biopsia. Las 10.332 mujeres restantes tuvieron resultados negativos para el Aptima HPV Assay al inicio. De esas 10.332 mujeres, 5.946 (57,5 %) tuvieron un estado de la enfermedad positivo o negativo a los 3 años. De las 6.201 mujeres con estado de la enfermedad a los 3 años, 47 mujeres tuvieron \geq CIN2 incluidas 23 con \geq CIN3; 6.154 mujeres tuvieron un resultado normal/

CIN1 según el grupo de consenso de la revisión histológica. Los resultados iniciales del Aptima HPV Assay y una prueba comercial de DNA del HPV, y el estado de la enfermedad a los 3 años (incluye la evaluación inicial y de seguimiento) según el grupo de consenso de la revisión histológica se presentan en la Tabla 17.

Tabla 17: Población NILM \geq 30 años: clasificación de mujeres aptas para la fase de seguimiento según los resultados iniciales del Aptima HPV Assay, los resultados iniciales de la prueba de DNA del HPV, y estado de la enfermedad (\geq CIN2, \geq CIN3, Sin verificar) determinado en las fases inicial y de seguimiento

Resultado del Aptima HPV Assay	Prueba de DNA del HPV	Total de mujeres	Estado de la enfermedad verificado: \geq CIN2		Estado de la enfermedad verificado: \geq CIN3		Estado de la enfermedad sin verificar	
			Mujeres con enfermedad (\geq CIN2)	Mujeres sin enfermedad (<CIN2)	Mujeres con enfermedad (\geq CIN3)	Mujeres sin enfermedad (<CIN3)	Perdido para el seguimiento	Indeterminado*
Positivo	Positivo	382	23	171	16	178	167	21
Positivo	Negativo	97	1	48	1	48	44	4
Positivo	Sin resultado**	32	2	10	1	11	17	3
Negativo	Positivo	281	5	129	2	132	130	17
Negativo	Negativo	9.452	15	5.476	3	5.488	3.756	205
Negativo	Sin resultado**	599	1	320	0	321	264	14
Total		10.843	47	6.154	23	6.178	4.378	264

*Las mujeres con resultados citológicos anormales durante el seguimiento y sin un resultado posterior del grupo de consenso de la revisión histológica, y las mujeres con una citología inadecuada en su última visita. 174 mujeres con estado indeterminado de la enfermedad completaron el seguimiento según el protocolo.

**631 mujeres con resultados del Aptima HPV Assay no tuvieron resultados de la prueba de DNA del HPV principalmente debido a un volumen de muestra citológica insuficiente.

El riesgo acumulado a los tres años de enfermedad (\geq CIN2 and \geq CIN3) se basa en la estimación de Kaplan-Meier (análisis de tabla de vida) e incluye la enfermedad detectada al inicio o en el seguimiento. Las mujeres que tuvieron alguna indicación de enfermedad (ASC-US o resultados citológicos más graves), pero son resultado del grupo de consenso de la revisión histológica fueron incluidas en el análisis mediante el uso de un método de imputación múltiple para predecir el número de mujeres con enfermedad que se habría identificado si las mujeres se hubieran sometido a una colposcopia.

Las estimaciones del riesgo absoluto y relativo acumulado a los 3 años para la detección de \geq CIN2 y \geq CIN3 se muestran en la Tabla 18.

Tabla 18: Población NILM \geq 30 años: riesgos absoluto y relativo* acumulado a los 3 años de \geq CIN2 y \geq CIN3 para resultados del Aptima HPV Assay y una prueba de DNA del HPV al inicio

	Resultado del ensayo	Aptima HPV Assay		Prueba de DNA del HPV	
		Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)	Riesgo absoluto (IC del 95 %)	Riesgo relativo (IC del 95 %)
\geq CIN2	Positivo	7,90 (5,50, 11,27)	24,45 (13,85, 43,15)	6,43 (4,50, 9,14)	22,71 (12,20, 42,30)
	Negativo	0,32 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Prevalencia (%)	0,68		0,68	
\geq CIN3	Positivo	5,23 (3,34, 8,13)	57,11 (21,09, 154,62)	4,14 (2,62, 6,52)	51,34 (17,74, 148,58)
	Negativo	0,09 (0,04, 0,23)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Prevalencia (%)	0,34		0,35	

*Los riesgos acumulados a los 3 años ajustados para otros posibles sesgos fueron similares a los riesgos en esta tabla. Debido a las diferencias anticipadas en los riesgos en el año 1 y en el año 2 para los dos grupos de mujeres en el estudio de seguimiento (aquellas con colposcopia al inicio y aquellas sin colposcopia al inicio), solo se notificó el riesgo acumulado a los tres años para los grupos combinados.

La prevalencia acumulada a los 3 años de \geq CIN2 y \geq CIN3 en mujeres con resultados citológicos de NILM al inicio fue de 0,68 % y 0,34 %, respectivamente. El riesgo relativo de \geq CIN2 era 24,45 (IC del 95 %: 13,85, 43,15), lo que indica que una mujer con positivo para el Aptima HPV Assay tiene 24,45 veces más probabilidades de tener \geq CIN2 que una mujer con negativo para el Aptima HPV Assay. El riesgo relativo de \geq CIN3 era 57,11 (IC del 95 %: 21,09, 154,62).

Rendimiento clínico del Aptima HPV Assay con muestras de citología en solución SurePath

Se recogieron muestras de citología en solución SurePath de mujeres canadienses (n=558) 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. Además, se extrajo una alícuota (1 ml) más de cada muestra para evaluarla con una prueba comercial de PRC del HPV. Se calculó la sensibilidad clínica para la detección de la enfermedad, definida como un resultado histológico \geq CIN3, tanto para el Aptima HPV Assay como para la prueba de PCR del HPV, como se muestra en la Tabla 19, con los valores de predicción positivos y negativos.

Tabla 19: Rendimiento del Aptima HPV Assay y de una prueba de PRC del HPV para la detección de \geq CIN3

Rendimiento	Aptima HPV Assay N=558		Prueba de PRC del HPV N=558	
	Cálculo	(IC del 95 %)	Cálculo	(IC del 95 %)
Sensibilidad (%)	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)
Especificidad (%)	58,7 (311/530)	(54,4 - 62,8)	49,1 (260/530)	(44,8 - 53,3)
VPP (%)	10,2 (25/244)	(8,4 - 11,7)	8,5 (25/295)	(7,0 - 9,5)
VPN (%)	99,0 (311/314)	(97,6 - 99,8)	98,9 (260/263)	(97,2 - 99,7)
Prevalencia (%)	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

Rendimiento del ensayo Aptima HPV con muestras de recogida y transporte de muestras de cuello uterino

Se recogieron muestras de citología en solución ThinPrep y muestras del kit CSCT Aptima emparejadas de 735 sujetos. Se diluyó un mililitro (1,0 mL) de cada muestra de citología en solución ThinPrep en 2,9 mL de medio de transporte de muestras Aptima y se analizó una sola réplica con el ensayo Aptima HPV en el Tigris DTS System. Se analizó una sola réplica de cada muestra de CSCT con el ensayo Aptima HPV. Se determinó el porcentaje de concordancia del ensayo Aptima HPV entre la muestra de citología en solución ThinPrep y la muestra de CSCT, y los resultados se muestran en la Tabla 20.

El porcentaje de concordancia positiva fue del 95,9 % (IC del 95 %: 92,6-97,8); el porcentaje de concordancia negativa fue del 95,5 % (IC del 95 %: 93,3-97,0); la concordancia general fue del 95,6 % (IC del 95 %: 93,9-96,9). Se observó una fuerte correlación entre las muestras de citología en solución y las muestras del kit de transporte ($\kappa = 0,90$).

Tabla 20: Concordancia general de los resultados del ensayo Aptima HPV de muestras de citología en solución ThinPrep y muestras del kit de recogida y transporte de muestras de citología Aptima analizadas en el Tigris DTS System

		Muestras de citología en solución ThinPrep		Total
		Positiva	Negativa	
Muestra del kit CSCT Aptima	Positiva	234	22	256
	Negativa	10	469	479
	Total	244	491	735

Concordancia positiva = 95,9 % (92,6-97,8)

Concordancia negativa = 95,5 % (93,3-97,0)

Concordancia general = 95,6 % (93,9-96,9)

Coefficiente kappa = 0,90

Se recogieron muestras clínicas positivas y negativas para el HPV de alto riesgo de poblaciones examinadas (visitas de rutina) y remitidas (visita de colposcopia) con el kit CSCT Aptima y se analizaron con el Aptima HPV Assay en el Panther System y el Tigris DTS System utilizando dos lotes de reactivos. La concordancia entre el Panther System y el Tigris DTS System para muestras de CSCT se muestra en la Tabla 21.

Para las muestras de CSCT, la concordancia global entre el Panther System y el Tigris DTS System fue > 98 %, como se muestra en la Tabla 21. De las 632 muestras clínicas, 69 fueron CIN2+ y 38, CIN3+. La sensibilidad del Aptima HPV Assay para la detección de CIN2+ fue del 97,1 % (IC del 95 %: 90,0 %-99,2 %) en el sistema Panther y del 98,6 % (IC del 95 %: 92,2 %-99,7 %) en el Tigris DTS System. La sensibilidad para la detección de CIN3+ fue del 100 % (IC: 90,8 %-100 %) tanto en el sistema Panther como en el Tigris DTS System.

Tabla 21: Concordancia de los resultados del Aptima HPV Assay con muestras de CSCT Aptima analizadas en el Tigris DTS System y el Panther System

		Tigris DTS System		Total
		Positivo	Negativo	
Sistema Panther	Positivo	490	3	493
	Negativo	9	130	139
	Total	499	133	632

Concordancia global = 98,1 % (IC 96,7-98,9)

Concordancia positiva = 98,2 % (IC 96,6-99,0)

Concordancia negativa = 97,7 % (IC 93,6-99,2)

Sensibilidad analítica

El límite de detección (LoD) en el valor de corte clínico es la concentración de RNA del HPV que arroja un resultado positivo (superior al valor de corte clínico) el 95 % de las veces. El LoD del Aptima HPV Assay se determinó analizando grupos de muestras de dilución de transcritos in vitro (IVT) para cada uno de los 14 genotipos de alto riesgo y 4 líneas celulares infectadas con el HPV: SiHa, HeLa, MS751 y ME180 (ATCC, Manassas, Virginia). Para los grupos de muestras de IVT, los medios de transporte de las muestras se enriquecieron con IVT a distintas concentraciones y luego se diluyeron con muestras individuales de citología en solución ThinPrep negativas antes de su análisis. Para los grupos de muestras celulares infectadas con HPV, las mezclas de muestras de citología en solución ThinPrep negativas para el HPV se enriquecieron con células infectadas con HPV a

distintas concentraciones y luego se diluyeron con medios de transporte de muestras antes de su análisis. Se analizaron treinta 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 17 días, con 1 a 12 ciclos por día y 5 réplicas de un genotipo y una concentración dados analizadas en cada ciclo. Se calculó el límite de detección del 95 % a partir del análisis de regresión Probit de los resultados de positividad de cada grupo de muestras de dilución.

Los resultados del análisis de regresión Probit en la Tabla 22 muestran que los tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 y 68 del HPV tienen límites de detección del 95 % inferiores a 100 copias/reacción, y que los tipos 52, 58 y 66 tienen límites de detección del 95 % entre 100 y 500 copias/reacción. Las cuatro líneas celulares analizadas tuvieron límites de detección del 95 % inferiores a 1 célula/reacción.

Tabla 22: Límite de detección en el valor de corte clínico del Aptima HPV Assay

Diana	Límite de detección* (IC del 95 %)
HPV 16	49,4 (37,1 - 73,0)
HPV 18	44,0 (34,4 - 62,1)
HPV 31	32,5 (23,2 - 52,1)
HPV 33	67,5 (48,8 - 106,2)
HPV 35	32,7 (23,6 - 51,4)
HPV 39	20,9 (16,3 - 29,5)
HPV 45	37,1 (27,9 - 54,7)
HPV 51	51,1 (36,3 - 83,9)
HPV 52	410,2 (310,7 - 595,1)
HPV 56	59,4 (46,7 - 81,5)
HPV 58	124,1 (90,7 - 190,1)
HPV 59	81,1 (61,9 - 116,6)
HPV 66	118,5 (83,2 - 202,0)
HPV 68	22,4 (17,1 - 32,4)
SiHa	0,25 (0,19 - 0,36)
HeLa	0,11 (0,09 - 0,14)
ME180	0,10 (0,08 - 0,16)
MS751	0,17 (0,14 - 0,25)

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

Precisión del ensayo

La precisión del Aptima HPV Assay se evaluó en dos estudios con el mismo grupo de muestras de 20 miembros. El estudio 1 se realizó en 3 centros, 2 externos y 1 interno, y el estudio 2 se realizó internamente. El grupo de muestras incluyó 13 miembros positivos para el HPV con concentraciones iguales o superiores al límite de detección del ensayo (positividad esperada: $\geq 95\%$), 3 miembros positivos para el HPV con concentraciones inferiores al límite de detección del ensayo (positividad esperada: $>0\%$ a $<25\%$), y 4 miembros negativos para el HPV. Los miembros del grupo de muestras positivas para el HPV se prepararon añadiendo transcritos in vitro (IVT) de RNA a Solución PreservCyt diluida con medio de transporte de muestras (Specimen Transport Medium, STM) o células cultivadas (SiHa, HeLa, y MS751; ATCC, Manassas, Virginia) infectadas con HPV en una mezcla de muestras de citología negativas en solución ThinPrep diluidas con STM. Los miembros del grupo de muestras negativos para el HPV se prepararon con Solución PreservCyt o con una mezcla de muestras negativas de citología en solución ThinPrep diluidas con STM.

En el estudio 1, 2 usuarios de cada uno de los 3 centros de análisis (1 instrumento por centro) analizaron 1 lista de trabajo del Aptima HPV Assay al día durante 3 días con cada uno de los 3 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 listas de trabajo 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 23a (miembros del grupo de muestras con resultados positivos esperados) y en la Tabla 23b (miembros del grupo de muestras con resultados negativos esperados), junto con un resumen de la concordancia con los resultados esperados y los valores de S/CO del analito en los percentiles 2,5°, 50° y 97,5° de la distribución de S/CO. La variabilidad de la S/CO del analito para los miembros del grupo de muestras con resultados positivos esperados se muestra en la Tabla 24 para el estudio 1 y en la Tabla 25 para el estudio 2.

Tabla 23a: Estudios 1 y 2 de precisión del Aptima HPV Assay: descripción del grupo de muestras, concordancia positiva y distribución percentil de los valores de S/CO del analito para los miembros del grupo de muestras con resultados positivos esperados

Descripción del panel (copias o células/ reacción)	Estudio 1 (3 centros de análisis)				Estudio 2 (1 centro de análisis)			
	% de concordancia positiva (IC del 95 %)	Percentil de S/CO del analito			% de concordancia positiva (IC del 95 %)	Percentil de S/CO del analito		
		2,5.º	50.º	97,5.º		2,5.º	50.º	97,5.º
Muestra clínica 1 positiva alta para el HPV	100 (107/107) (96,5, 100)	21,16	29,64	33,63	100 (161/161) (97,7, 100)	22,50	26,84	30,67
Muestra clínica 2 positiva alta para el HPV	100 (107/107) (96,5, 100)	25,98	29,77	36,03	100 (162/162) (97,7, 100)	25,00	28,61	33,99
HPV 16 IVT (1830 copias)	100 (107/107) (96,5, 100)	10,45	11,18	12,40	100 (161/161) (97,1, 100)	10,40	11,07	11,75
HPV 18 IVT (1550 copias)	100 (107/107) (96,5, 100)	13,09	14,55	18,08	100 (162/162) (97,7, 100)	11,26	13,47	15,63
Muestra clínica 1 positiva baja para el HPV	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	0,00	9,93	11,03	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)	0,00	9,53	10,95
Muestra clínica 2 positiva baja para el HPV	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	0,00	7,30	16,63	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)	0,00	7,56	19,67
Muestra clínica 3 positiva baja para el HPV	100 (108/108) (96,6, 100)	2,80	10,19	17,08	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)	1,14	9,53	15,38
Muestra clínica 4 positiva baja para el HPV	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	0,00	4,48	11,16	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)	0,00	4,66	12,00
HPV 16 IVT (183 copias)	100 (102/102) (96,4, 100)	10,03	11,14	11,97	100 (162/162) (97,7, 100)	10,24	11,05	11,85
HPV 18 IVT (155 copias)	100 (108/108) (96,6, 100)	4,87	12,01	15,21	100 (159/159) (97,6, 100)	7,82	11,59	13,84
Células MS751 (0,63 células)	100 (108/108) (96,6, 100)	5,90	10,99	14,00	100 (162/162) (97,7, 100)	5,61	10,14	12,26
Células HeLa (0,35 células)	100 (108/108) (96,6, 100)	1,43	6,19	13,28	100 (162/162) (97,7, 100)	3,24	7,88	12,58
Células SiHa (0,90 células)*	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	0,00	9,80	11,04	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)	0,00	9,19	10,94

IVT = transcrito *in vitro*

* % de concordancia positiva previsto ~95 %; la concordancia observada fue menor, lo que podría deberse a la variabilidad en la fabricación de la muestra del panel.

Tabla 23b: Estudios 1 y 2 de precisión del Aptima HPV Assay: descripción del grupo de muestras, concordancia negativa y distribución percentil de los valores de S/CO del analito para los miembros del grupo de muestras con resultados negativos esperados

Descripción del panel (copias o células/ reacción)	Estudio 1 (3 centros de análisis)			Estudio 2 (1 centro de análisis)				
	% de concordancia negativa (IC del 95 %)	Percentil de S/CO del analito			% de concordancia negativa (IC del 95 %)	Percentil de S/CO del analito		
		2,5.º	50.º	97,5.º		2,5.º	50.º	97,5.º
Células MS751 (0,005 células)	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	0,00	0,00	4,37	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	0,00	0,00	2,25
Células SiHa (0,008 células)	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	0,00	0,00	1,53	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)	0,00	0,00	7,56
Células HeLa (0,02 células)	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	0,00	0,00	3,95	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)	0,00	0,12	6,35
Muestra clínica 1 negativa para el HPV	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,33	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,07
Muestra clínica 2 negativa para el HPV	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	0,00	0,00	1,21	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,05
Solución PreservCyt 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,15	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,06
Solución PreservCyt 2	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,22	100 (161/161) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,09

Tabla 24: Estudio 1 de precisión del Aptima HPV Assay: variabilidad de la señal para los miembros del grupo de muestras con resultados positivos esperados

Descripción del grupo de muestras (copias o células/reacción)	n	S/CO medio	Entre instrumentos		Entre técnicos		Entre lotes		Entre listas de trabajo		Intra-listas de trabajo		Total	
			DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
Muestra clínica 1 positiva alta para el HPV	107*	29,34	0,00	0,0	0,00	0,0	1,43	4,9	1,87	6,4	1,49	5,1	2,79	9,5
Muestra clínica 2 positiva alta para el HPV	107*	30,09	0,55	1,8	0,00	0,0	1,06	3,5	0,73	2,4	2,21	7,3	2,61	8,7
HPV 16 IVT (1.830 copias)	107*	11,20	0,09	0,8	0,16	1,4	0,03	0,3	0,14	1,3	0,46	4,1	0,52	4,6
HPV 18 IVT (1.550 copias)	107*	14,89	0,18	1,2	0,00	0,0	0,20	1,3	0,14	0,9	1,53	10,3	1,56	10,5
Muestra clínica 1 positiva baja para el HPV	107*	8,24	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,23	39,2	3,23	39,2
Muestra clínica 2 positiva baja para el HPV	108	7,07	0,00	0,0	0,41	5,8	0,00	0,0	0,00	0,0	4,57	64,7	4,59	65,0
Muestra clínica 3 positiva baja para el HPV	108	10,23	0,26	2,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,32	12,9	3,23	31,6	3,49	34,2
Muestra clínica 4 positiva baja para el HPV	108	4,68	0,50	10,7	0,20	4,2	0,00	0,0	0,99	21,1	3,02	64,6	3,22	68,9
HPV 16 IVT (183 copias)	102*	11,09	0,08	0,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	2,3	0,54	4,9	0,61	5,5
HPV 18 IVT (155 copias)	108	11,78	0,00	0,0	0,43	3,7	0,00	0,0	1,12	9,5	1,97	16,7	2,30	19,6
Células MS751 (0,63 células)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
Células HeLa (0,35 células)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
Células SiHa (0,90 células)	107*	7,74	0,37	4,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,85	49,8	3,87	50,1

CV = coeficiente de variación; IVT = transcrito *in vitro*; DE = desviación estándar

*Doce muestras tuvieron resultados no válidos con el Aptima HPV Assay (1 para la muestra clínica 1 positiva alta para el HPV, 1 para la muestra clínica 2 positiva alta para el HPV, 1 para HPV 16 IVT (1.830 copias), 1 para HPV 18 IVT (1.550 copias), 1 para la muestra clínica 1 positiva baja para el HPV, 6 para HPV 16 IVT (183 copias) y 1 para células SiHa (0,90 células)).

Nota: La variabilidad debida a varios factores puede ser numéricamente negativa. Esto puede suceder si la variabilidad debida a esos factores es muy pequeña. En estos casos, la DE y el CV se indican como cero.

Tabla 25: Estudio 2 de precisión del Aptima HPV Assay: variabilidad de la señal para los miembros del grupo de muestras con resultados positivos esperados

Descripción del grupo de muestras (copias o células/reacción)	n	S/CO medio	Entre instrumentos		Entre técnicos		Entre lotes		Entre listas de trabajo		Intra-listas de trabajo		Total	
			DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
Muestra clínica 1 positiva alta para el HPV	161*	26,81	0,75	2,8	0,00	0,0	0,91	3,4	0,48	1,8	1,84	6,9	2,24	8,3
Muestra clínica 2 positiva alta para el HPV	162	28,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,96	3,3	0,65	2,3	2,35	8,2	2,62	9,1
HPV 16 IVT (1.830 copias)	161*	11,07	0,14	1,2	0,00	0,0	0,05	0,5	0,16	1,4	0,32	2,9	0,39	3,5
HPV 18 IVT (1.550 copias)	162	13,34	0,14	1,1	0,12	0,9	1,00	7,5	0,31	2,3	0,75	5,6	1,31	9,8
Muestra clínica 1 positiva baja para el HPV	162	7,57	0,56	7,5	0,55	7,3	0,63	8,3	0,00	0,0	3,61	47,7	3,75	49,5
Muestra clínica 2 positiva baja para el HPV	162	7,59	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	5,25	69,2	5,25	69,2
Muestra clínica 3 positiva baja para el HPV	161*	8,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	3,0	0,00	0,0	3,48	39,4	3,49	39,5
Muestra clínica 4 positiva baja para el HPV	162	4,95	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	15,2	0,00	0,0	3,35	67,6	3,43	69,3
HPV 16 IVT (183 copias)	162	11,02	0,13	1,2	0,11	1,0	0,12	1,1	0,13	1,2	0,54	4,9	0,59	5,4
HPV 18 IVT (155 copias)	159*	11,40	0,16	1,4	0,17	1,5	1,21	10,6	0,23	2,0	1,17	10,3	1,72	15,0
Células MS751 (0,63 células)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
Células HeLa (0,35 células)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
Células SiHa (0,90 células)	162	7,30	0,32	4,3	0,00	0,0	0,93	12,7	1,04	14,3	3,49	47,8	3,77	51,7

CV = coeficiente de variación; IVT = transcrito *in vitro*; DE = desviación estándar

*Seis muestras tuvieron resultados no válidos con el Aptima HPV Assay (1 para la muestra clínica 1 positiva alta para el HPV, 1 para HPV 16 IVT (1.830 copias), 1 para la muestra clínica 3 positiva baja para el HPV, 3 para HPV 18 IVT (155 copias)).

Nota: La variabilidad debida a varios factores puede ser numéricamente negativa. Esto puede suceder si la variabilidad debida a esos factores es muy pequeña. En estos casos, la DE y el CV se indican como cero.

Reactividad cruzada

Nota: Los análisis con microorganismos que podrían producir reacciones cruzadas en el ensayo Aptima HPV se realizaron con el Tigris DTS System. El ensayo Aptima HPV se lanzó por primera vez en el Tigris DTS System en 2008. En 2011 se expandieron las indicaciones para el uso del ensayo Aptima HPV en el Panther System. El Panther System es una plataforma de instrumentos alternativa al Tigris DTS System y más reducida. Ambos sistemas están diseñados para automatizar por completo las pruebas de ácidos nucleicos amplificados de los ensayos de diagnóstico. Se aprovecharon algunas pruebas de rendimiento de los ensayos que se realizaron en el Tigris DTS System para respaldar el rendimiento de los ensayos en el Panther System.

La especificidad analítica del ensayo Aptima HPV se evaluó con medio de solución PreservCyt diluido 1:2,9 con STM y enriquecido con bacterias, levaduras u hongos cultivados, virus cultivados o transcritos *in vitro* de HPV de bajo riesgo. Los

microorganismos y las concentraciones de prueba se identifican en la Tabla 26. Los criterios del estudio para evaluar el efecto de la presencia de microorganismos sobre la especificidad del ensayo se basaron en la positividad. Se observó reactividad cruzada con los genotipos de HPV de bajo riesgo 26, 67, 70 y 82, pero no con ninguno de los demás microorganismos evaluados.

Tabla 26: Panel de especificidad analítica: Microorganismos y concentración sin reactividad cruzada

Organismo	Concentración de prueba sin reactividad cruzada	Organismo	Concentración de prueba sin reactividad cruzada
Bacterias			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Actinomyces israelii</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Micrococcus luteus</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2 x 10 ⁷ UFC/mL
<i>Atopobium vaginae</i>	5 x 10 ⁷ UFC/mL	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Bacillus cereus</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5 x 10 ⁷ UFC/mL
<i>Bacteroides fragilis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Mycoplasma hominis</i>	5 x 10 ⁷ UFC/mL
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Bifidobacterium breve</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae y Chlamydia trachomatis</i>	2,5 x 10 ⁷ UFC/mL 2,3 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Neisseria meningitidis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3,2 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Clostridium difficile</i>	6 x 10 ⁷ UFC/mL	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Providencia stuartii</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Ruminococcus productus</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Finegoldia magna</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Serratia marcescens</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL		
Levaduras/Protozoos			
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 ⁸ UFC/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 x 10 ⁷ células/mL
Virus			

Tabla 26: Panel de especificidad analítica: Microorganismos y concentración sin reactividad cruzada (*continuación*)

Organismo	Concentración de prueba sin reactividad cruzada	Organismo	Concentración de prueba sin reactividad cruzada
Adenovirus 2	1 x 10 ⁷ pv/mL	Virus del herpes simple 1	2,5 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
Citomegalovirus	5,6 x 10 ² TCID ₅₀ /mL	Virus del herpes simple 2	5 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /mL
Virus de Epstein-Barr	4,3 x 10 ⁶ pv/mL	SV40	1,2 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /mL
HIV-1	1,0 x 10 ⁶ copias/mL		
Genotipos de HPV no diana			
HPV 6	2,5 x 10 ⁶ copias/mL	HPV 61	2,5 x 10 ⁶ copias/mL
HPV 11	2,5 x 10 ⁶ copias/mL	HPV 67	1 copia/mL
HPV 26	2,5 copias/mL	HPV 69	2,5 x 10 ⁶ copias/mL
HPV 30	2,5 x 10 ⁶ copias/mL	HPV 70	1 copia/mL
HPV 34	2,5 x 10 ⁶ copias/mL	HPV 71	2,5 x 10 ⁶ copias/mL
HPV 42	2,5 x 10 ⁶ copias/mL	HPV 73	2,5 x 10 ⁶ copias/mL
HPV 43	2,5 x 10 ⁶ copias/mL	HPV 81	2,5 x 10 ⁶ copias/mL
HPV 44	2,5 x 10 ⁶ copias/mL	HPV 82	1 copia/mL
HPV 53	2,5 x 10 ⁶ copias/mL	HPV 85	2,5 x 10 ⁶ copias/mL
HPV 54	2,5 x 10 ⁶ copias/mL		

vp = partículas virales; UFC = unidades formadoras de colonias; TCID₅₀ = dosis infecciosa 50 en cultivo de tejidos

Nota: La negrita indica los tipos en los que se observó reactividad cruzada (>5 % de positividad) cuando se analizaron en concentraciones superiores a las indicadas en la tabla.

La sensibilidad analítica del ensayo Aptima HPV en presencia de microorganismos se evaluó con el mismo panel descrito en la Tabla 26, que también se enriqueció con una concentración baja de células SiHa infectadas con HPV (1 célula por reacción). Los criterios del estudio para evaluar el efecto de la presencia de microorganismos sobre la sensibilidad del ensayo se basaron en la positividad. La sensibilidad del ensayo Aptima HPV no se vio afectada por la presencia de ninguno de los microorganismos evaluados.

Interferencia

Nota: Los análisis con sustancias que podrían producir reacciones cruzadas en el ensayo Aptima HPV se realizaron con el Tigris DTS System. El ensayo Aptima HPV se lanzó por primera vez en el Tigris DTS System en 2008. En 2011 se expandieron las indicaciones para el uso del ensayo Aptima HPV en el Panther System. El Panther System es una plataforma de instrumentos alternativa y más pequeña en comparación con el Tigris DTS System. Ambos sistemas están diseñados para automatizar por completo las pruebas de ácidos nucleicos amplificados de los ensayos de diagnóstico. Se aprovecharon algunas pruebas de rendimiento de los ensayos que se realizaron en el Tigris DTS System para respaldar el rendimiento de los ensayos en el Panther System.

Las sustancias que se describen en la Tabla 27 se añadieron individualmente a solución PreservCyt a una concentración del 1 % y del 10 % v/v o p/v, se diluyeron con STM y después se analizaron con el ensayo Aptima HPV. Todas las sustancias se analizaron en presencia y en ausencia de células cultivadas infectadas con HPV (SiHa, 3 células/reacción). Se observaron interferencias con dos de los siete lubricantes que contenían Polyquaternium 15 y con uno de los cinco antimicóticos que contenían tioconazol. No se observaron interferencias con ninguna de las otras sustancias analizadas.

Tabla 27: Sustancias analizadas para determinar su posible interferencia con el ensayo Aptima HPV

Categoría del producto	Marca o tipo de producto	Mayor concentración* analizada que no interfirió con el rendimiento del ensayo
Lubricante	KY Sensual Mist	10 % v/v
	KY Warming Jelly	10 % p/v
	KY Warming Liquid	10 % v/v
	Lubricante personal marca CVS	10 % p/v
	Loción de masaje de calentamiento y lubricante personal marca Target	10 % v/v
	Lubricante personal Astroglide	0,3 % p/v (muestra de prueba al 0,075 % p/v)
	Lubricante líquido marca Target	0,1 % v/v (muestra de prueba al 0,025 % v/v)
Espermicida	Anticonceptivo vaginal Gynol II, fórmula original	10 % p/v
	Anticonceptivo vaginal Gynol II, extrafuerte	10 % p/v
	Espuma anticonceptiva vaginal Delfen	10 % p/v
	Anticonceptivo vaginal Encare	10 % p/v
	Anticonceptivo vaginal Conceptrol	10 % p/v
Medicamentos antimicóticos/ antiprurito	Vagisil máxima potencia	10 % p/v
	Monistat Soothing Care	10 % p/v
	Monistat 3, envase combinado	10 % p/v
	Tioconazol 1 marca Target	0,3 % p/v (muestra de prueba al 0,075 % p/v)
	Mioconazol 3 marca Target	10 % p/v
Ácido acético glacial	EMD M/N AX0073-11	10 % v/v
Sangre completa	Sangre completa	10 % v/v

* Lubricantes personales con Polyquaternium 15.

Muestras de citología en solución ThinPrep antes y después de la citología procesadas en el procesador ThinPrep 2000

Se realizaron pruebas para demostrar la equivalencia de las muestras clínicas de citología en solución ThinPrep con alícuotas extraídas antes y después del procesamiento en el procesador ThinPrep 2000. Se analizaron cincuenta (50) pares de muestras preprocesadas y posprocesadas con cada uno de los tres lotes de reactivos para un total de 150 conjuntos de muestras. La concordancia general entre las muestras preprocesadas y posprocesadas fue del 96,0 % (IC del 95 %: 91,6 %-98,2 %). La concordancia positiva (usando muestras posprocesadas como referencia) fue del 95,6 % (IC del 95 %: 89,2 %-98,3 %) y la concordancia negativa fue del 96,6 % (IC del 95 %: 88,5 %-99,1 %). El coeficiente kappa fue de 0,92.

Muestras de citología en solución ThinPrep antes y después de la citología procesadas en el procesador ThinPrep 5000

Se realizaron pruebas para determinar la concordancia de las muestras de citología en solución ThinPrep en la solución PreservCyt analizadas con el ensayo Aptima HPV antes y después del procesamiento en el procesador ThinPrep 5000. Se evaluaron un total de 200 muestras de citología en solución ThinPrep artificiales (100 positivas en HPV, 100 negativas en HPV) en el ensayo Aptima HPV antes y después del procesamiento en el procesador ThinPrep 5000. El estudio mostró un rendimiento comparable entre las muestras antes y después de la citología en todas las concentraciones probadas (Tabla 28).

Tabla 28: Resultados de las muestras antes y después de la citología

		Antes de la citología			
		Muestras positivas (por encima de C95)		Muestras negativas (por debajo de C95)	
		Enriquecidas con HeLa a ~10 veces el LD (IC del 95 %)	Enriquecidas con HeLa a 1,5-3 veces el LD (IC del 95 %)	Enriquecidas con HeLa a 0,05 veces el LD (IC del 95 %)	Sin enriquecer (IC del 95 %)
Después de la citología	Porcentaje de concordancia positiva	100,0	98,7	0,0	N/A
		(83,9, 100,0)	(93,2, 99,8)	(0,0, 79,3)	
		20/20	78/79	0/1	
	Porcentaje de concordancia negativa	N/A	0,0	97,4	100,0
			(0,0, 79,3)	(86,8, 99,5)	(94,0, 100,0)
			0/1	38/39	60/60
Total	20	80	40	60	

IC = Intervalo de confianza

Muestras de citología en solución ThinPrep antes y después de la citología procesadas en el procesador Genesis

Se realizaron pruebas para demostrar la equivalencia de las muestras clínicas de citología en solución ThinPrep con alícuotas extraídas antes y después del procesamiento en el procesador Genesis. De cada muestra de preprocesamiento, se analizaron dos alícuotas únicas. Para las muestras en las que coincidían los resultados de ambas alícuotas de preprocesamiento, se utilizó un resultado de referencia compuesto de preprocesamiento para calcular la concordancia con una alícuota de posprocesamiento de la misma muestra. Para 2068 muestras con un resultado de referencia compuesto, la concordancia general entre los resultados del preprocesamiento y del posprocesamiento fue del 98,2 % (IC del 95 %: 97,5-98,7 %). La concordancia positiva fue del 97,9 % (IC del 95 % 94,7-99,2 %) y la concordancia negativa fue del 98,2 % (IC del 95 %: 97,5-98,7 %).

Bibliografía

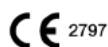
1. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)*. **110(5)**:525-41.
2. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. 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.
3. **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.
4. **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.
5. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Sunsum, 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.
6. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*. **16(1)**:1-17.
7. **Li N., S. Franceschi, R. Howell-Jones, P. J. Snijders, G. M. Clifford.** 2010. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*, n/a. doi: 10.1002/ijc.25396.
8. **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.
9. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol*. **32 Suppl 1**:S16-24.
10. **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.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2010; 20(8):1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011; 49(2):557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer*. 2011;129:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology*. 2012;125:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2013;23(3):513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer*. 2013;108:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, Lyng E.** Prevalence of human papillomavirus infection in unselected SurePath samples using the APTIMA HPV mRNA assay. *The Journal of Molecular Diagnostics*:2013;15(5):670-7.
18. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lyng E.** A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer*. 2015;51:1456-66.
19. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lyng E.** Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above. *PLoS One*. 2016 Jan 20;11(1):e0147326.
20. **Preisler S, Rebolj M, Ejegod DM, Lyng E, Rygaard C, Bonde J.** Cross-reactivity profiles of hybrid capture II, cobas, and APTIMA human papillomavirus assays: split-sample study. *BMC Cancer*. 2016;16:510.
21. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lyng E.** Differential Detection of Human Papillomavirus Genotypes and Cervical Intraepithelial Neoplasia by Four Commercial Assays. *Journal of Clinical Microbiology*. 2016;54(11):2669-2675.
22. **Rebolj M, Njor S, Lyng E, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Bonde J.** Referral population studies underestimate differences between human papillomavirus assays in primary cervical screening. *Cytopathology*. 2017;28(5):419-428.
23. **Heideman DAM, Hesselink AT, van Kemenade FJ, Iftner T, Berkhof J, Topal F, et al.** The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013;51(11):3653-7.
24. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlaberg R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods*. 2015;221:95-9.
25. **Iftner T, Becker S, Neis KJ, Castanon A, Iftner A, Holz B, et al.** Head-to-Head Comparison of the RNA368 Based Aptima Human Papillomavirus (HPV) Assay and the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in a Routine Screening Population of Women Aged 30 to 60 Years in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015;53:2509-16.

26. **Iftner T, Neis KJ, Castanon A, Landy R, Holz B, Woll-Herrmann A, et al.** Longitudinal Clinical Performance of the RNA-Based Aptima Human Papillomavirus (AHPV) Assay in Comparison to the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in Two Consecutive Screening Rounds with a 6-Year Interval in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*. 2019;57(1):e01177-18.
27. **Maggino T, Sciarrone R, Murer B, Dei Rossi MR, Fedato C, Maran M, et al.** Screening women for cervical cancer carcinoma with a HPV mRNA test: first results from the Venice pilot program. *British Journal of Cancer* volume 115, pages 525-532(2016).
28. **Zorzi M, Del Mistro A, Giorgi Rossi P, Laurino L, Battagello J, Lorio M, et al.** Risk of CIN2 or more severe lesions after negative HPVmRNA E6/E7 overexpression assay and after negative HPV-DNA test: Concurrent cohorts with a 5-year follow-up. *International Journal of Cancer*. 2020 Jun 1;146(11):3114-3123.
29. **Cook DA, Smith LW, Law J, Mei W, van Niekerk DJ, Ceballos K, et al.** Aptima HPV Assay versus Hybrid Capture® 2 HPV test for primary cervical cancer screening in the HPV FOCAL trial. *Journal of clinical virology* 2017;87:23-29.
30. **Cook DA, Smith LW, Law JH, Mei W, Gondara L, van Niekerk DJ, et al.** Comparative performance of human papillomavirus messenger RNA versus DNA screening tests at baseline and 48 months in the HPV FOCAL trial. *Journal of Clinical Virology*. 2018;108:32-37.
31. **Huijsmans CJ, Geurts-Giele WR, Leeijen C, Hazenberg HL, van Beek J, de Wild C, et al.** HPV Prevalence in the Dutch cervical cancer screening population (DuSC study): HPV testing using automated HC2, cobas and Aptima workflows. *BMC Cancer*. 2016;16(1):922.
32. **Loonen AJM, Huijsmans CJJ, Geurts-Giele WRR, Leeijen C, van der Linden JC, van den Brule, AJC.** Performance analysis of high-throughput HPV testing on three automated workflows. *APMIS* 2020; 128: 497- 505.
33. **Lindroth Y, Borgfeldt C, Thorn G, Bodelsson G, Forslund O.** Population-based primary HPV mRNA cervical screening compared with cytology screening. *Preventative Medicine*. 2019;124:61-66.
34. **Forslund O, Miriam Elfström K, Lamin H, Dillner J.** HPV-mRNA and HPV-DNA detection in samples taken up to seven years before severe dysplasia of cervix uteri. *International Journal of Cancer*. 2019 Mar 1;144(5):1073-1081.
35. **Sangrajrang S, Laowahutanont P, Wongsena M, Muwonge R, Imsamran W, Ploysawang P, Basu P.** Human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA primary cervical cancer screening: Evaluation and triaging options for HPV-positive women. *Journal of Medical Screening*. 2019 Dec;26(4):212-218.
36. **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.
37. **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.
38. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** 2013. Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. **208(2)**:144-145.
39. **Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D.** 2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests. 2007. *Am J Obstet Gynecol* 197 (4); 346-355.
40. **Pretorius R.G., W. H. Zhang, J. L. Belinson, et al.** Colposcopically directed biopsy, random cervical biopsy, and endocervical curettage in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia II or worse. 2004. *Am J Obstet Gynecol*. **191**:430-434.
41. **Pretorius R.G., R. J. Kim, J. L. Belinson, P. Elson, Y-L Qiao.** Inflation of sensitivity of cervical cancer screening tests secondary to correlated error in colposcopy. 2006. *J Low Genit Tract Dis*. **10(1)**:5-9.
42. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
43. **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.
44. **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.

Información de contacto e historial de revisiones



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Para obtener la dirección de correo y el número de teléfono de la asistencia técnica y la atención al cliente específicos de cada país, visite www.hologic.com/support.

Los incidentes graves que se produzcan en relación con el dispositivo en la Unión Europea deben comunicarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario o el paciente.

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

SurePath y PrepStain son marcas comerciales de TriPath Imaging, Inc.

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

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

©2016-2023 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-22202-301 Rev. 001

2023-03

Historial de revisiones	Fecha	Descripción
AW-22202 Rev. 001	Marzo de 2023	<ul style="list-style-type: none"> Se han creado las instrucciones de uso del ensayo Aptima™ HPV (Panther™ System) AW-22202 Rev. 001 de acuerdo con AW-14517 Rev. 007 para el cumplimiento normativo con IVDR. Se ha actualizado la sección Uso indicado eliminando la referencia para el uso en el Tigris DTS System. Se ha añadido la sección Resumen de seguridad y rendimiento. Se ha actualizado la información sobre riesgos de la UE. Se han actualizado las secciones Advertencias y precauciones, Requisitos de conservación y manipulación de los reactivos, Recogida y conservación de las muestras, Reactivos y materiales suministrados, Materiales necesarios pero no suministrados, Procedimiento de prueba en el Panther System y Limitaciones, así como las tablas de precisión del ensayo, reactividad cruzada e interferencia, y la Bibliografía. Se ha actualizado la información de contacto, incluida la siguiente: información sobre el representante de la Unión Europea, el marcado CE, el representante de Australia y la asistencia técnica. Varias actualizaciones de estilo y formato.