

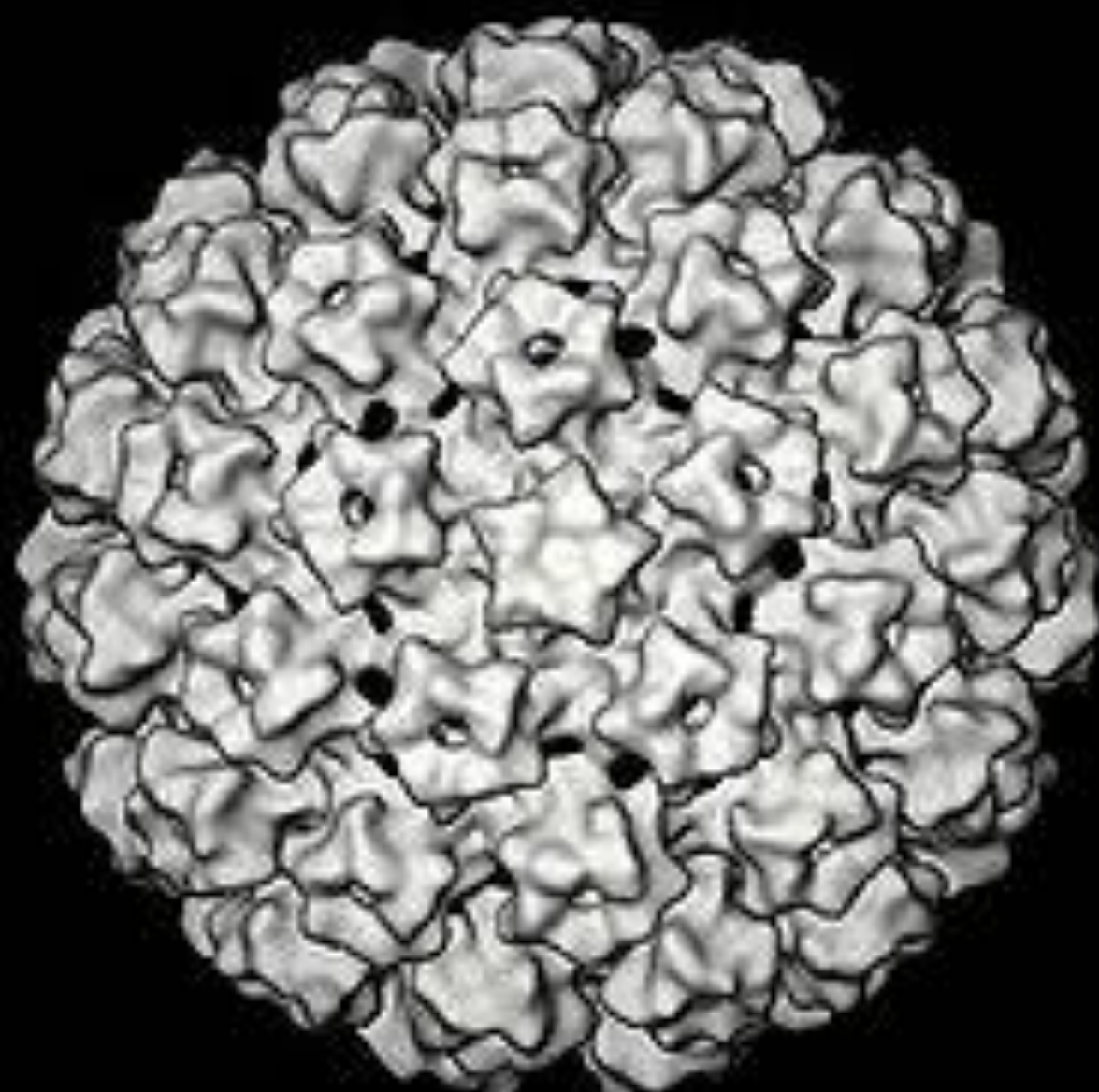
CAPTURA HÍBRIDA



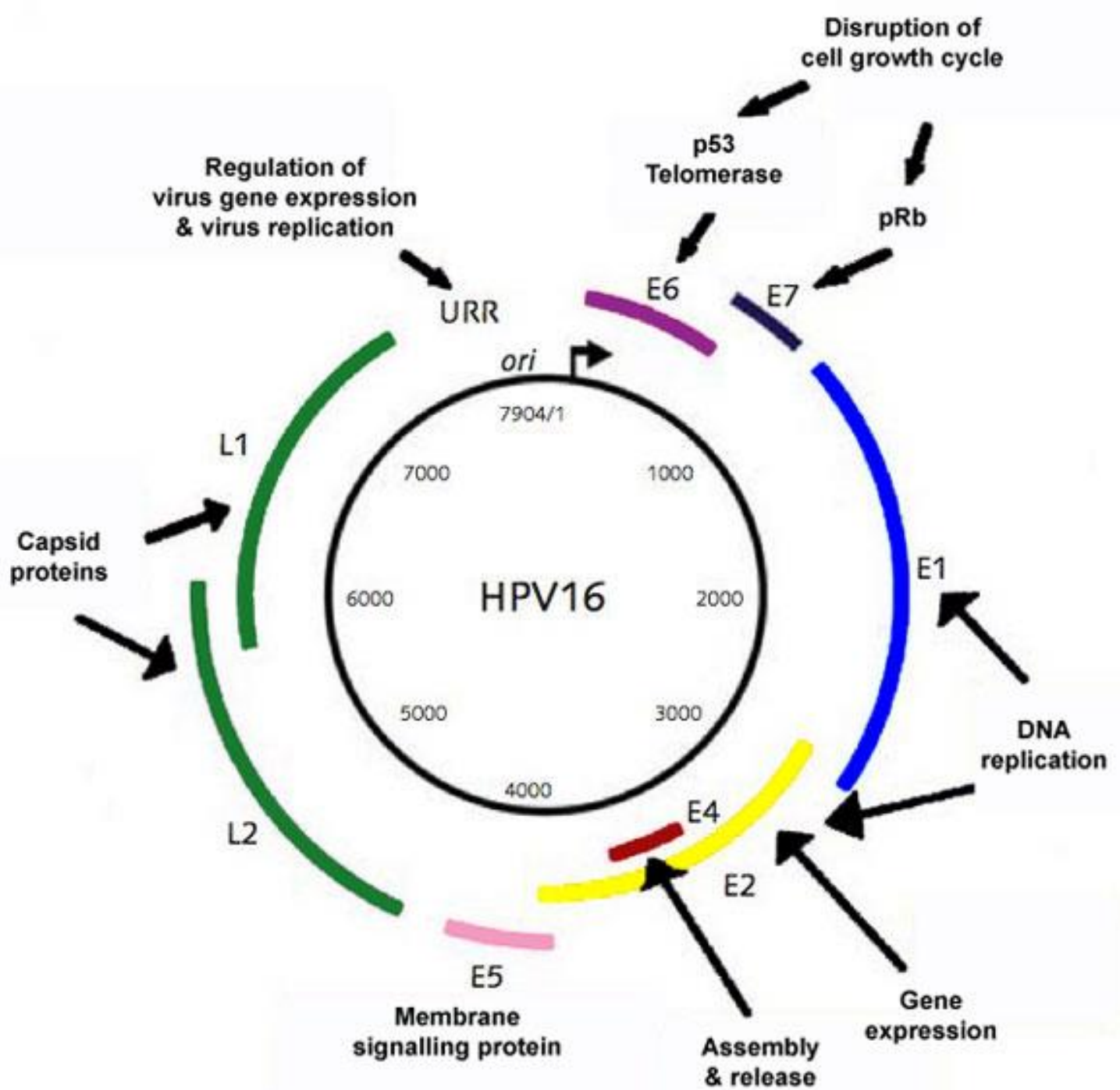
The *digene* HPV Test

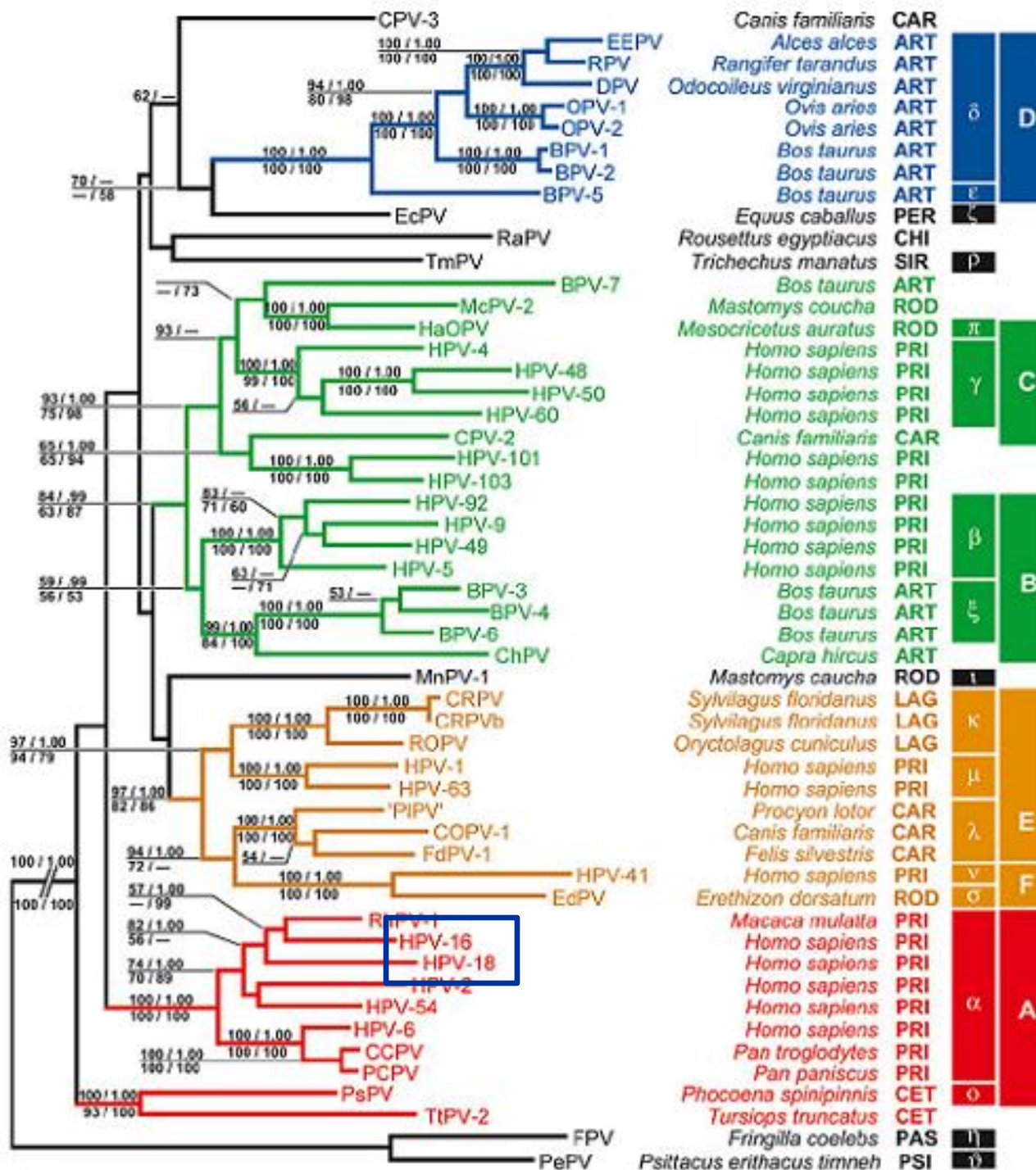
Blgo. Carlos V. Rivera Samaniego

INMUNOCHEM SAC



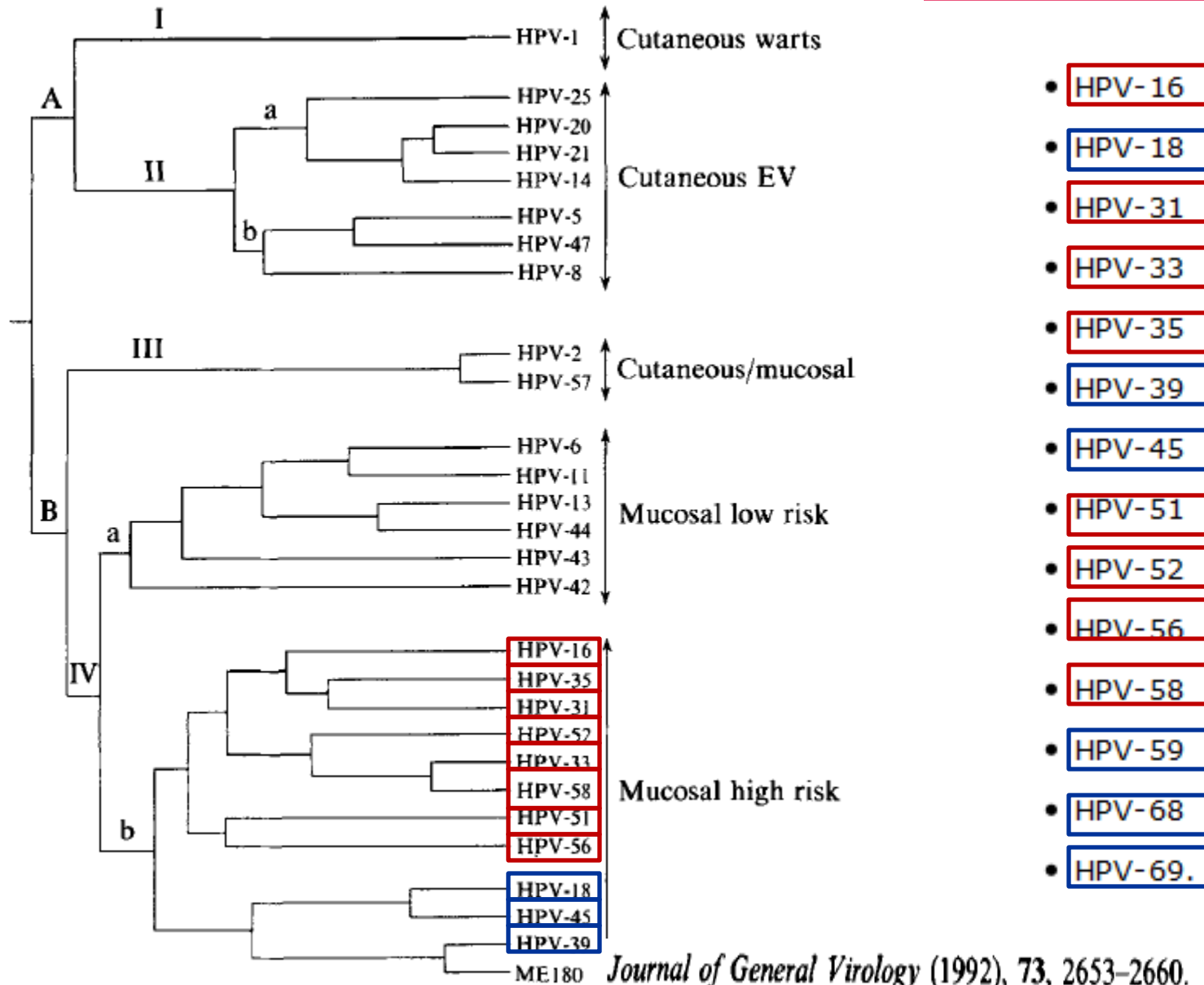
Genoma Virus de Papiloma Humano

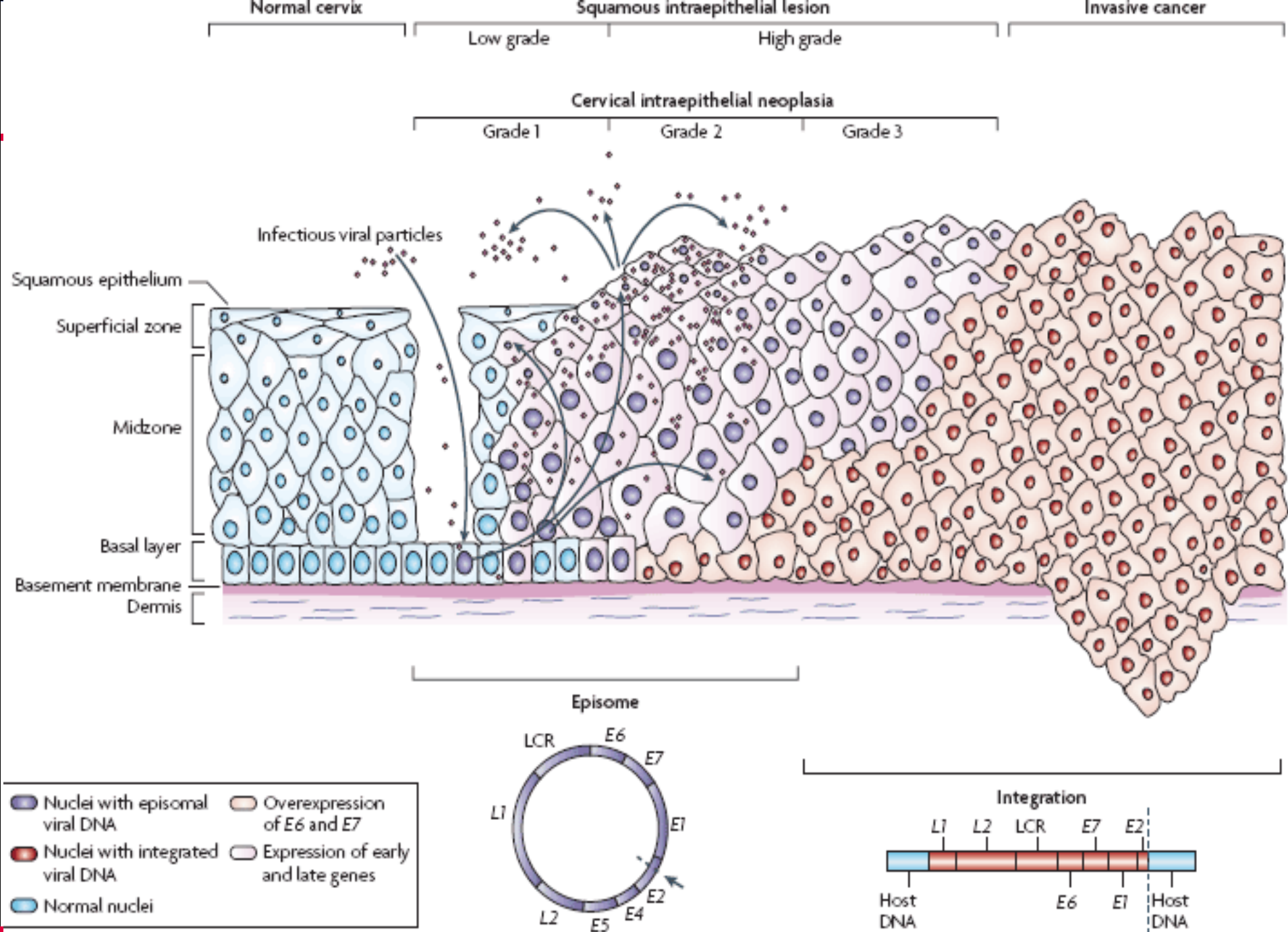




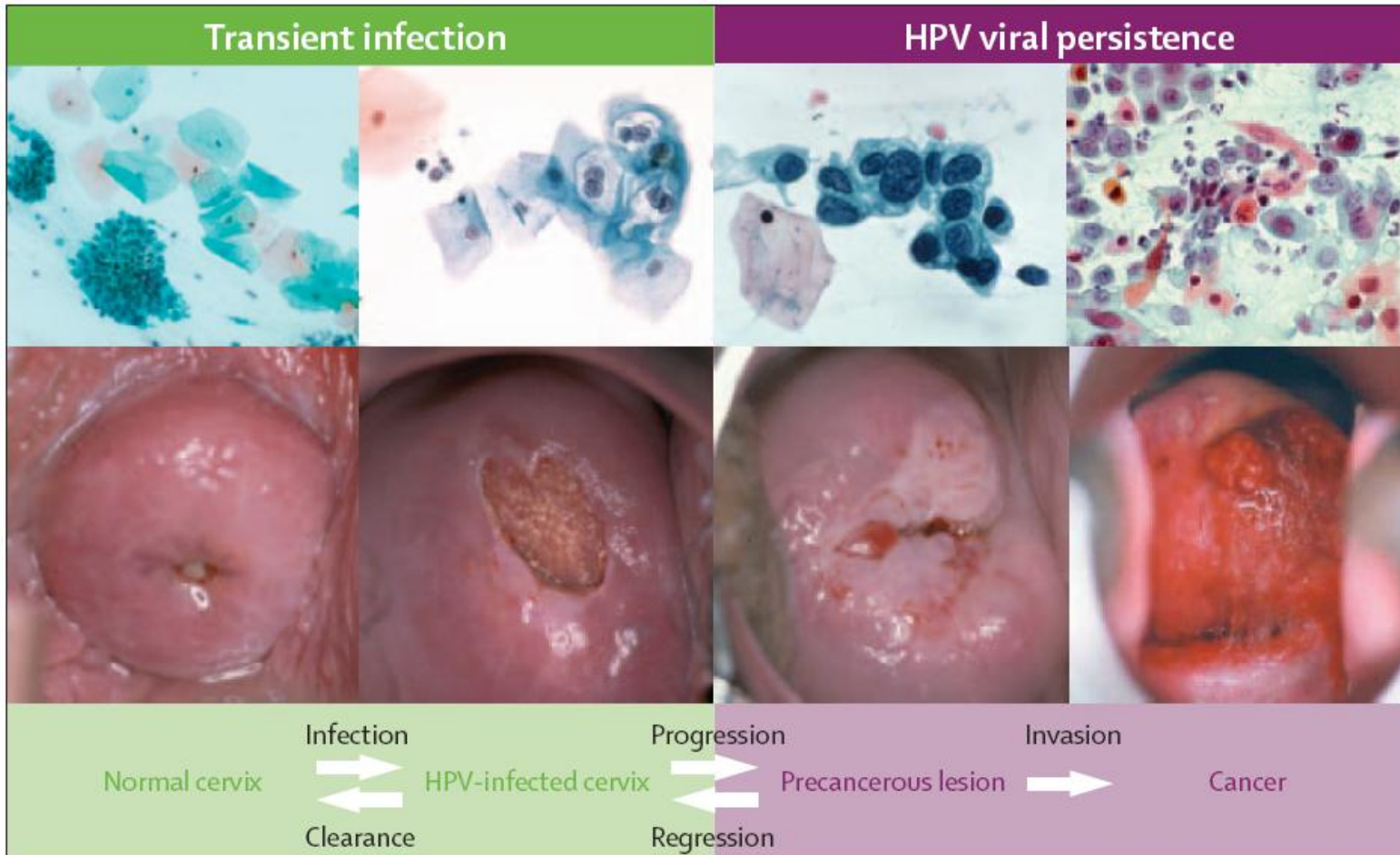
Filogenia del Virus de Papiloma

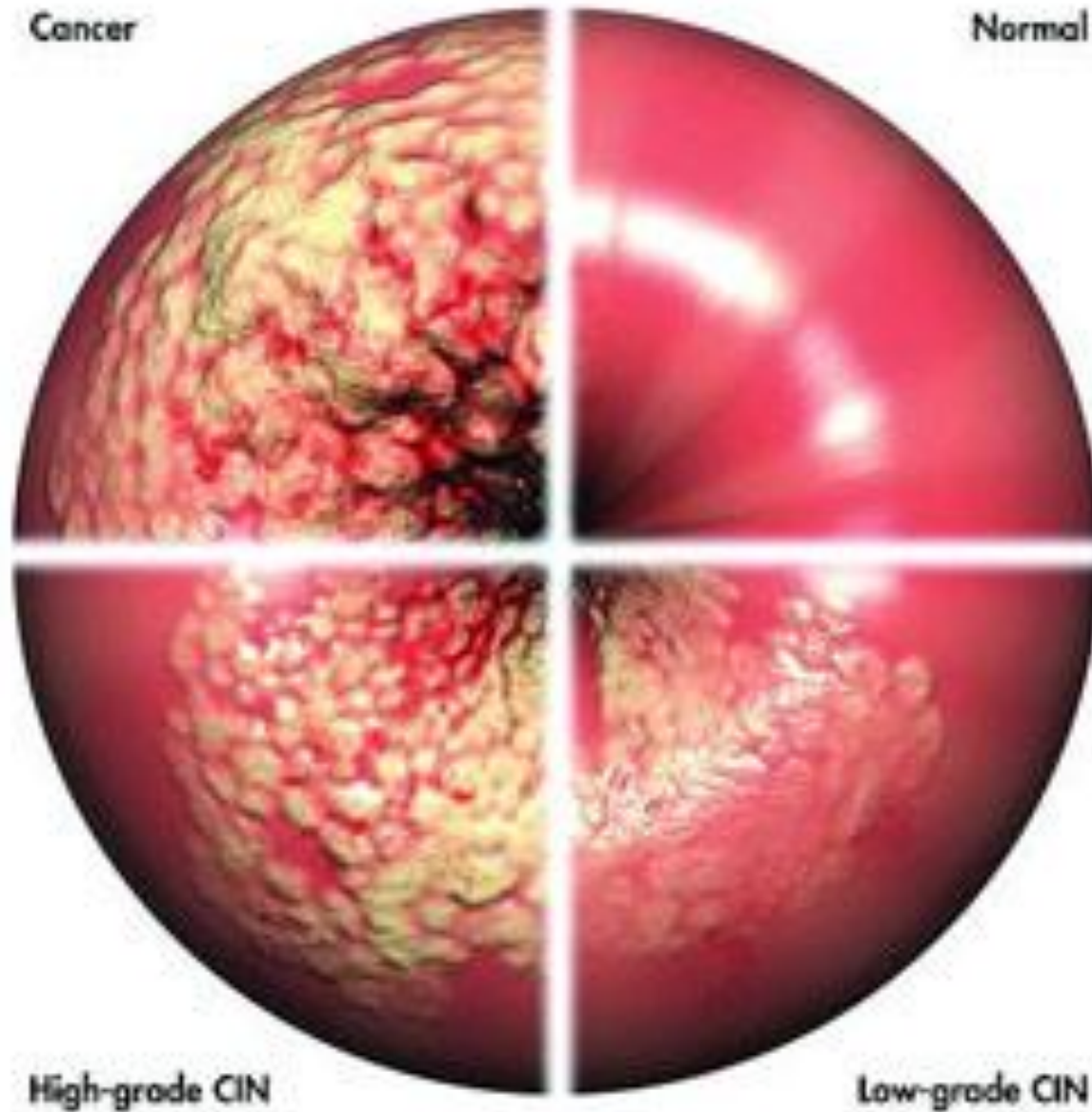
E1-E2-L1





“La mayoría de las infecciones por VPH se ven luego de los 2 años, el 10% que persisten durante estos 2 años están altamente vinculadas a las lesiones precancerosas”





The *digene* HPV Test

Hybrid Capture[®] 2

AMBIENTE, INSTRUMENTOS
Y METODO

INMUNOCHEM SAC

Specimen ID	Mean RLU	Result
CONTROL	42	NEGATIVE
CONTROL	551678	POSITIVE
898-0026	66	NEGATIVE
898-0027	482543	HPV POSITIVE
898-0028	38	NEGATIVE
CR17-001	50	NEGATIVE
CR25-025	1629380	HPV POSITIVE
	48	NEGATIVE
	36	NEGATIVE

Es un procedimiento de Biología Molecular que **DETECTA EL GENOMA DE VIRUS DE PAPILOMA HUMANO.**

Luego de tomada la muestra cervical, se utiliza el **ADN VIRAL** para unirlo o **HIBRIDARLO** con otra molécula de (**ARN**) que reconoce sólo el **ADN** del virus del papiloma.

Este complejo (hibrido) es detectado o **CAPTURADO** por anticuerpos que producen una señal de luz, sólo en los casos positivos.

Existe una relación directa entre la cantidad de luz emitida y la cantidad de virus analizado, por lo que se puede cuantificar la carga viral presente en la muestra cervical.

El dispositivo utilizado para la prueba de Captura Híbrida es el **DNA COLLECTION DEVICE**.

La presencia de sangre vaginal (no menstrual) no interfiere en el resultado de Captura de Híbridos;

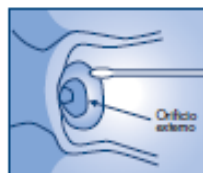
Con el kit colector de muestra – **DNA Collection Device** -, una toma única es suficiente para hacer la prueba de Captura Híbrida para VPH.



Toma de muestras

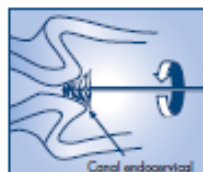
El *digene Cervical Sampler*^{*} de QIAGEN es un dispositivo específico diseñado para la toma de la muestra para la detección del ADN del VPH por la técnica de la Captura de Híbridos 2. Comparada con una muestra de citología líquida¹, una toma de muestra con el *digene Cervical Sampler* proporciona mayor seguridad por que la cantidad de muestra será suficiente para la prueba VPH. Para realizar una tamizaje primaria conjunta, utilice el *digene Cervical Sampler* y un dispositivo de toma de muestras para la citología conjuntamente; así evitará tener que volver a citar a la paciente y permitirá que el laboratorio procese la prueba VPH y la citología simultáneamente.

Toma de muestras con el *digene Cervical Sampler*



Preparación

Retire el exceso de mucosidad del orificio externo del cuello uterino y de los alrededores del exocérvix con una torunda de algodón o de Dacron[®]. Deseche la torunda.



Paso 1

Introduzca el capillo entre 1 y 1,5 cm en el orificio externo del cuello uterino hasta que las cerdas exteriores del capillo toquen el exocérvix. Hágalo girar tres veces por completo en sentido contrario a las agujas del reloj. No introduzca completamente el capillo en el canal cervical. Retire el capillo del canal. Evite que las cerdas toquen la parte exterior del tubo o cualquier otro objeto. [No ilustrado]



Paso 2

Introduzca la punta del capillo en el fondo del tubo de transporte. Ponga el bastoncillo en la marca del borde, dejando la punta del capillo dentro del tubo.



Paso 3

Vuelva a colocar la tapa en el tubo, ajustándola hasta que oiga un chasquido. Consulte el prospecto del envase para conocer las instrucciones sobre almacenamiento y transporte.

^{*} Este dispositivo no está previsto para toma de muestras para citología.

¹ ThinPrep[®] PreservCyt[®] es un tipo de muestra con marcado CE y aprobación de la FDA para la prueba *digene HPV Test*.



Almacenamiento y transporte de muestras para el *digene HPV HC2 DNA Test*

Conservación de los tubos de toma de muestras (*Cervical Sampler*): conservar a temperatura ambiente (15-30 °C). No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en la bolsa.

Conservación y transporte de las muestras:

- Hasta 2 semanas a temperatura ambiente. Transporte al laboratorio de análisis sin refrigeración
- En el laboratorio se pueden conservar:
 - hasta 1 semana más a 4 °C
 - hasta 3 meses a -20 °C

Información para pedidos

Producto	Contenido	Ref.
<i>digene HPV HC2 DNA Test</i>	Para 40 muestras cervicouterinas: de alto riesgo y bajo riesgo (96 pruebas) [*]	5196-1330
<i>digene High-Risk HPV HC2 DNA Test</i>	Para 88 muestras cervicouterinas (96 pruebas) [†]	5197-1330
<i>digene Cervical Sampler</i>	50 capillos cervicouterinos y solución Specimen Transport Medium	5122-1220

^{*} Incluye diluyente de sonda, sonda de alto riesgo y de bajo riesgo, controles de calidad, calibradora, microplaca de captura, reactivos y tampones.

[†] Incluye diluyente de sonda, sonda de alto riesgo, controles de calidad, calibrador, microplaca de captura, reactivos y tampones.

La prueba *digene HPV HC2 DNA Test* y la prueba *digene High-Risk HPV HC2 DNA Test* están previstas para uso diagnóstico *in vitro*.

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

Se pueden recibir pruebas *digene HPV HC2 DNA Test* en la medida. Consulte con su laboratorio para conocer su disponibilidad. Marcas comerciales: QIAGEN, *digene*, Hybrid Capture[®] (QIAGEN), ThinPrep[®], PreservCyt[®] (Cyto Corporation), Dacron[®] (DuPont). © 2009 QIAGEN, reservados todos los derechos. 1504021 06/2009

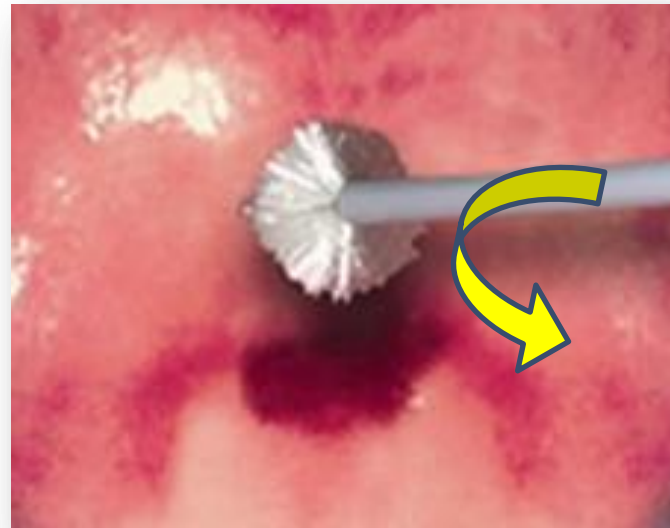
www.qiagen.com



1. Insertar canal en canal cervical, de 1 a 1,5 cm hasta tocar con las cerdas más grandes la región del ectocérvix. **NO INTRODUCIR EL DISPOSITIVO COMPLETAMENTE EN EL CANAL CERVICAL**







2. Girar cinco veces en **SENTIDO ANTIHORARIO;**



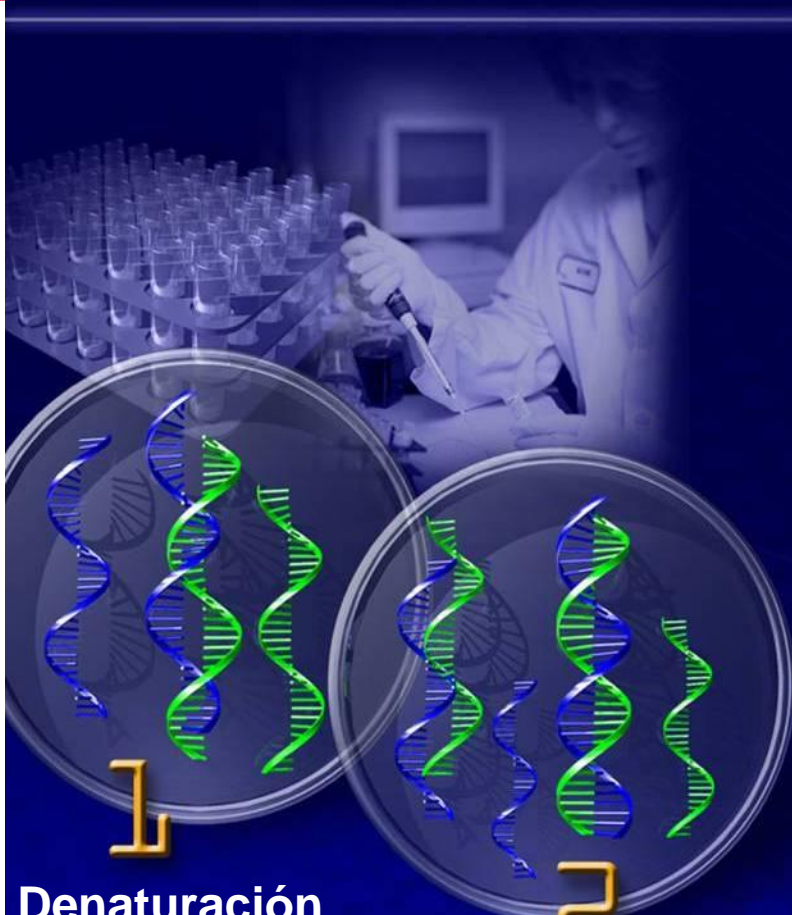
Introducir de 1,0 a 1,5 cm



PROCEDIMIENTO

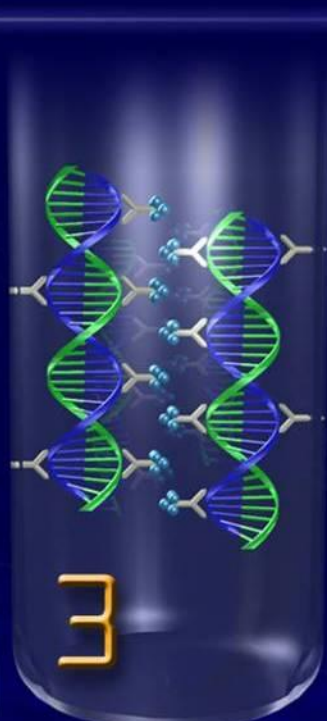
-  Espacio mínimo: 9 m²
-  No requiere instalaciones especiales
-  Temperatura ambiente 20° a 25° C
-  Ambiente separado de la rutina microbiológica



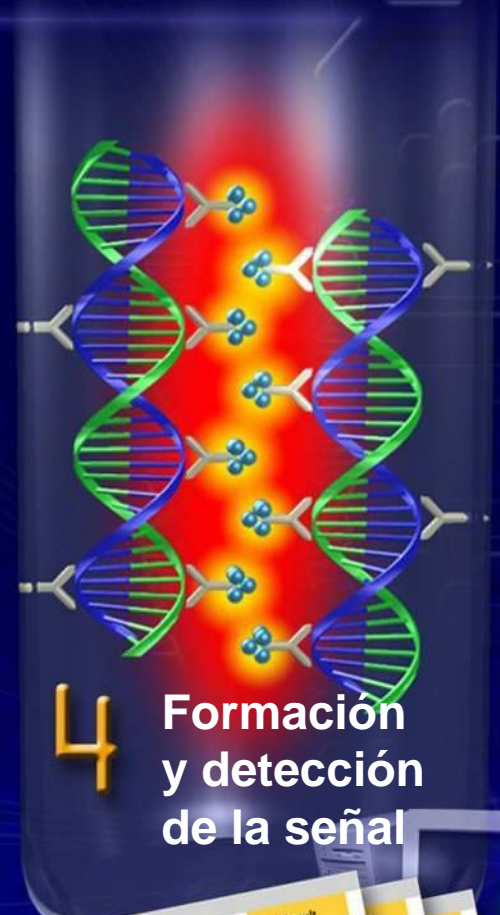


1
Denaturación del DNA

2
RNA:DNA Hibridación

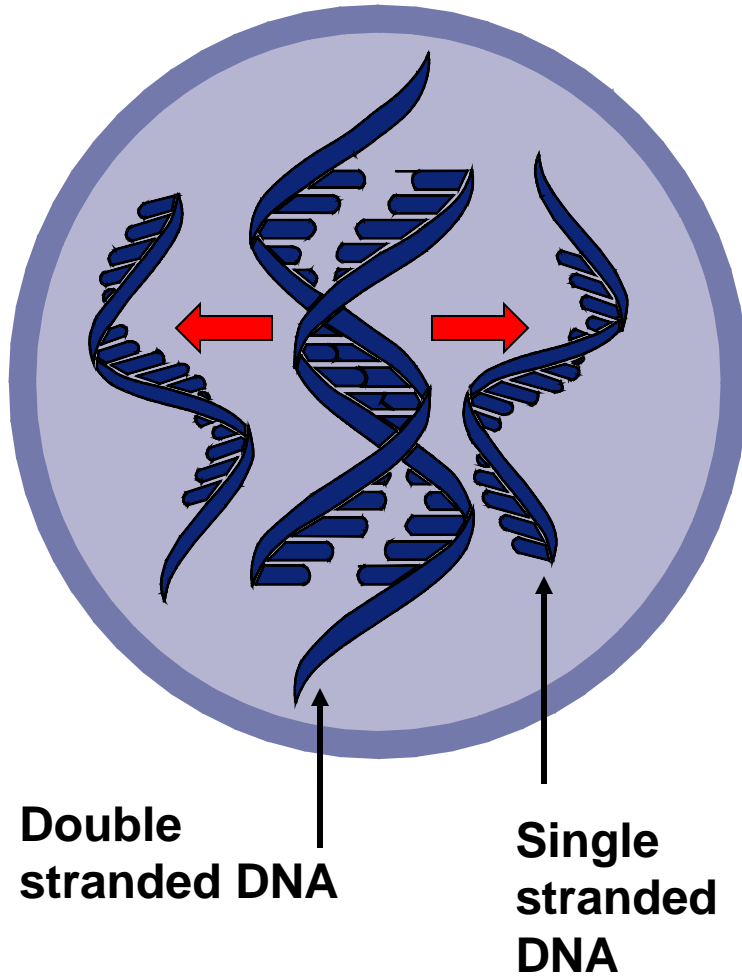


3
Captura de los Híbridos



4
Formación y detección de la señal

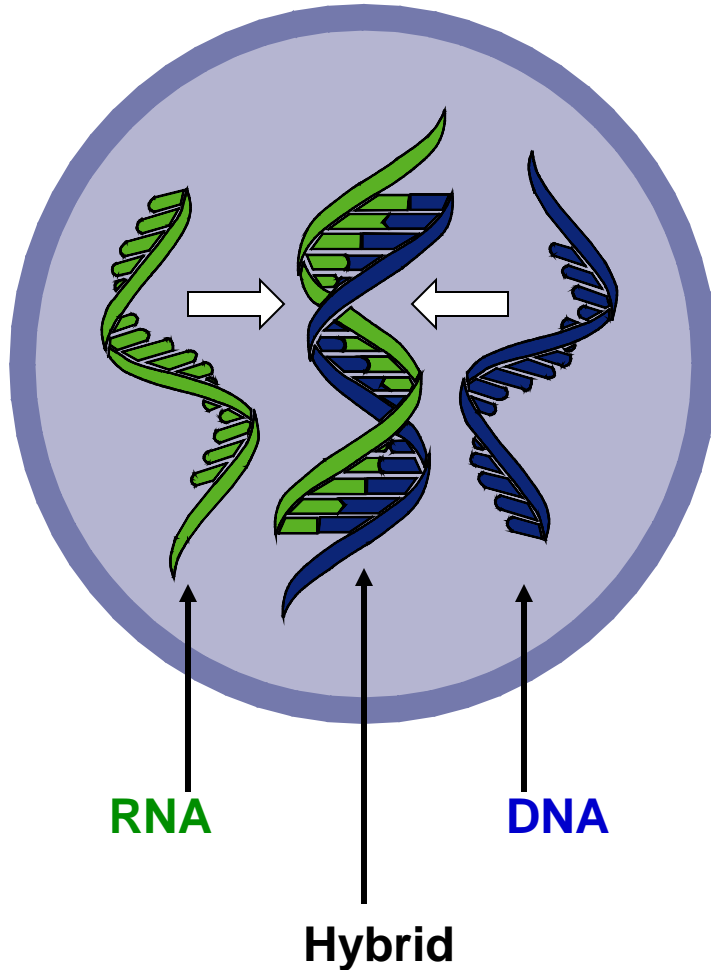
Sample/Specimen	ID	Mean RLU	Result
CONTROL		42	NEGATIVE
CONTROL		553,678	POSITIVE
R98-0026		36	NEGATIVE
R98-0027		482,543	HPV POSITIVE
R98-0028		38	NEGATIVE
CR77-001		50	NEGATIVE
CR75-025		1,629,380	HPV POSITIVE
		48	NEGATIVE
		36	NEGATIVE



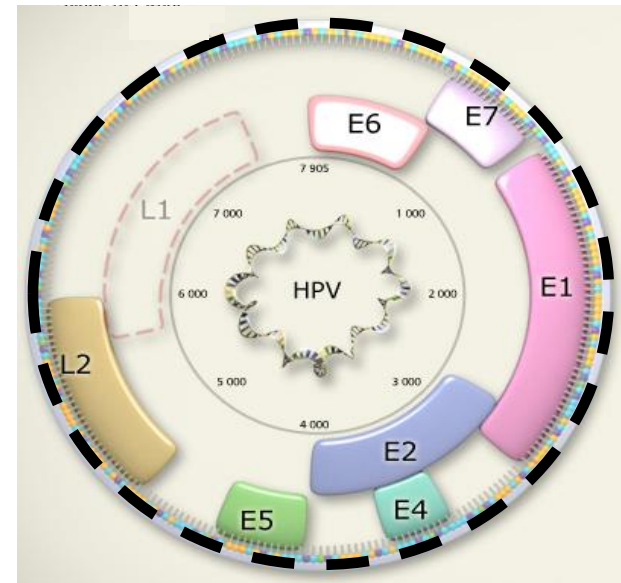
Separación de las cadenas

- Se usa un medio básico y calor.
- Se forma una sólo cadena de DNA.
- Resultados en esta etapa:
 - Células Lisadas.
 - DNA separado en dos hebras.
 - Eliminación de híbridos endógenos RNA:DNA

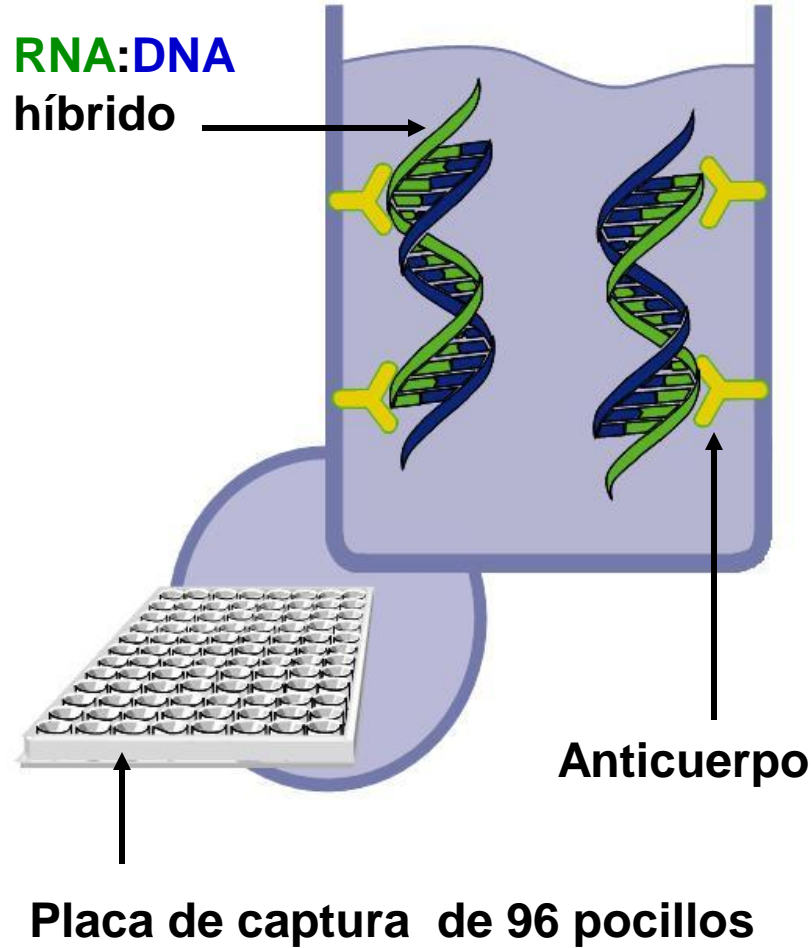
Formación del complejo RNA:DNA



- El tamaño total de la sonda complementaria reconoce la totalidad del genoma



- RNA:DNA Híbrido servirá como molécula objetivo en el análisis.



Captura de los Híbridos RNA:DNA

ADN viral + sonda ARN



Son “capturadas” por los anticuerpos policlonales fijados en la placa.



Los anticuerpos son altamente específicos; **NO** se unen a:



Hebras simples de ADN



ARN

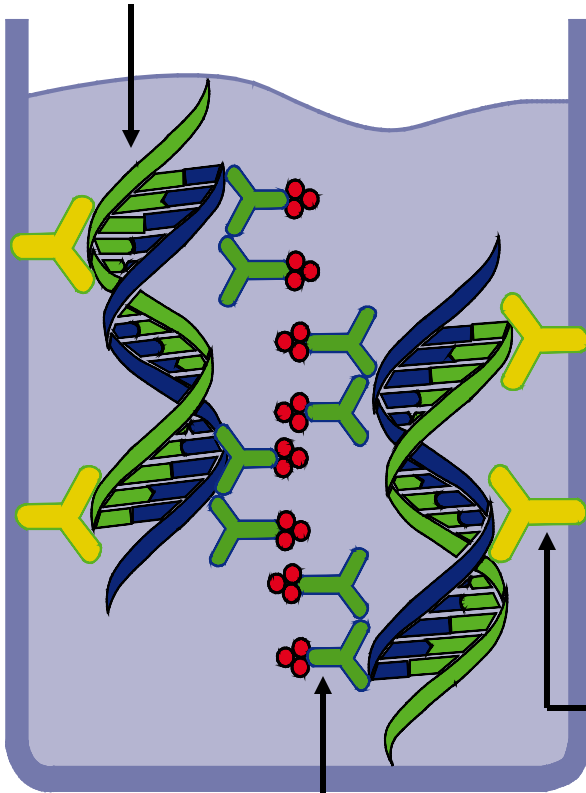


Híbridos ADN/ADN






Híbridos ARN/ARN

RNA:DNA HÍBRIDO



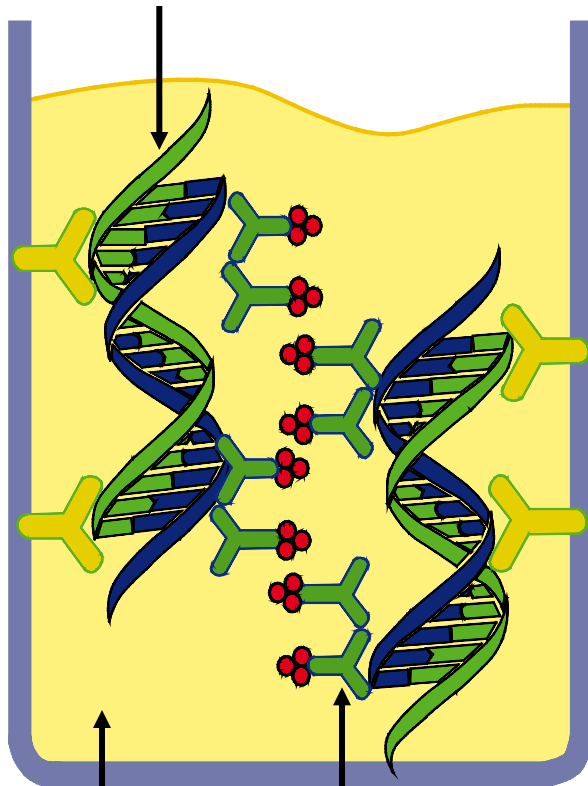
Detection of RNA:DNA hybrids

-  Unión de los anticuerpos **anti-híbridos** a las moléculas **ADN+ARN**
-  Los anti-híbridos están marcados con la enzima fosfatasa alcalina
-  Amplificación de la señal de hasta 3000 veces

1° anticuerpo
captura híbridos
RNA:DNA

2° anticuerpo
conjugado con ALP

RNA:DNA híbrido



Detección del sustrato

2º anticuerpo conjugado con ALP

Generación de la Señal

- La fosfatasa alcalina reacciona en la detección del sustrato, con el resultado de una señal luminiscente. La cual es leída con el luminómetro.





Video



1. Calentador de Microplacas

3. Lavador Automático de placas

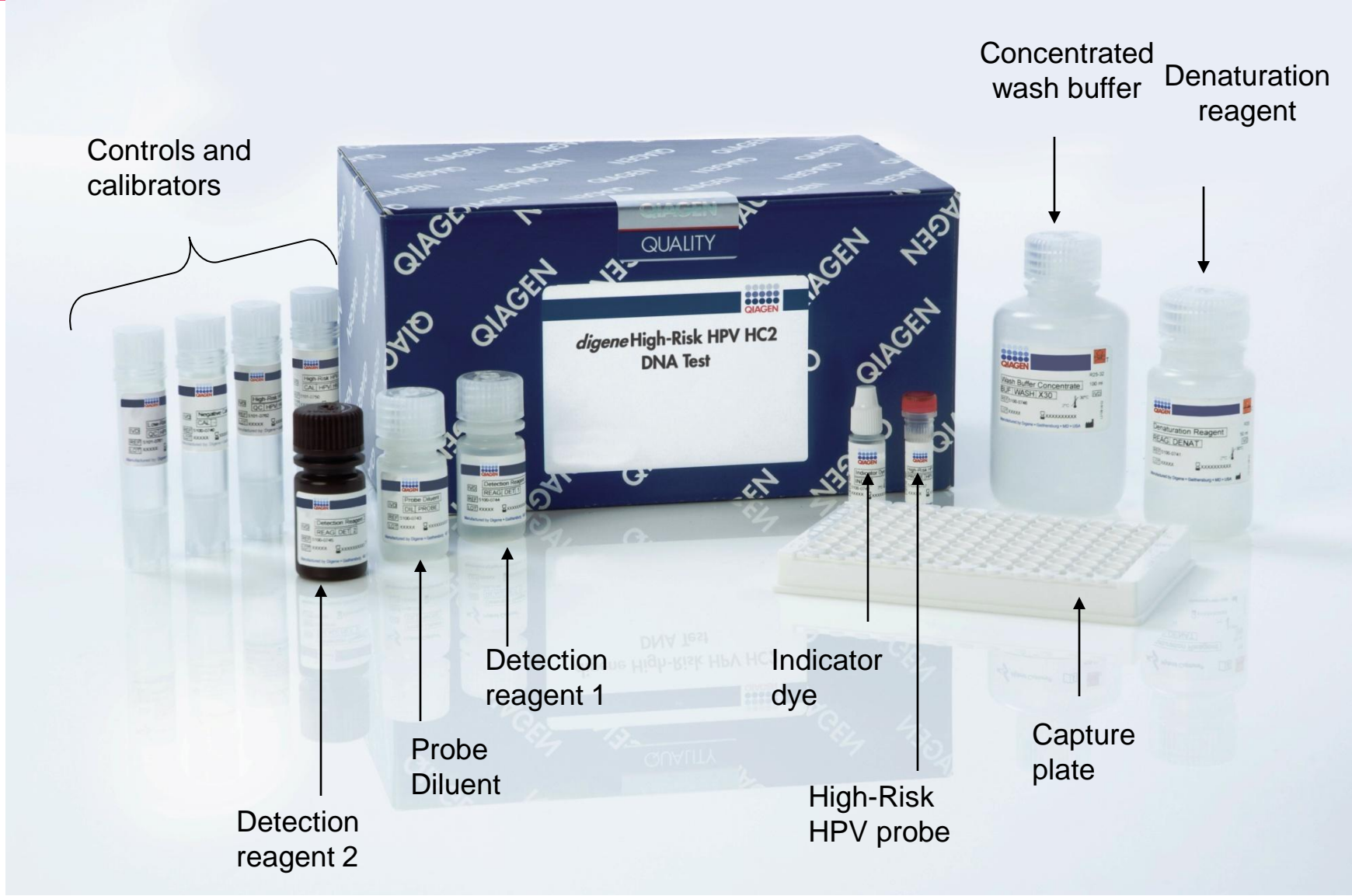
5. Computador

2. Rotary shaker

4. Vortex Multimuestra

6. Luminómetro

Components *digene* High-Risk HPV HC2 DNA kit



Controls and calibrators

Concentrated wash buffer

Denaturation reagent

digene High-Risk HPV HC2 DNA Test

Detection reagent 2

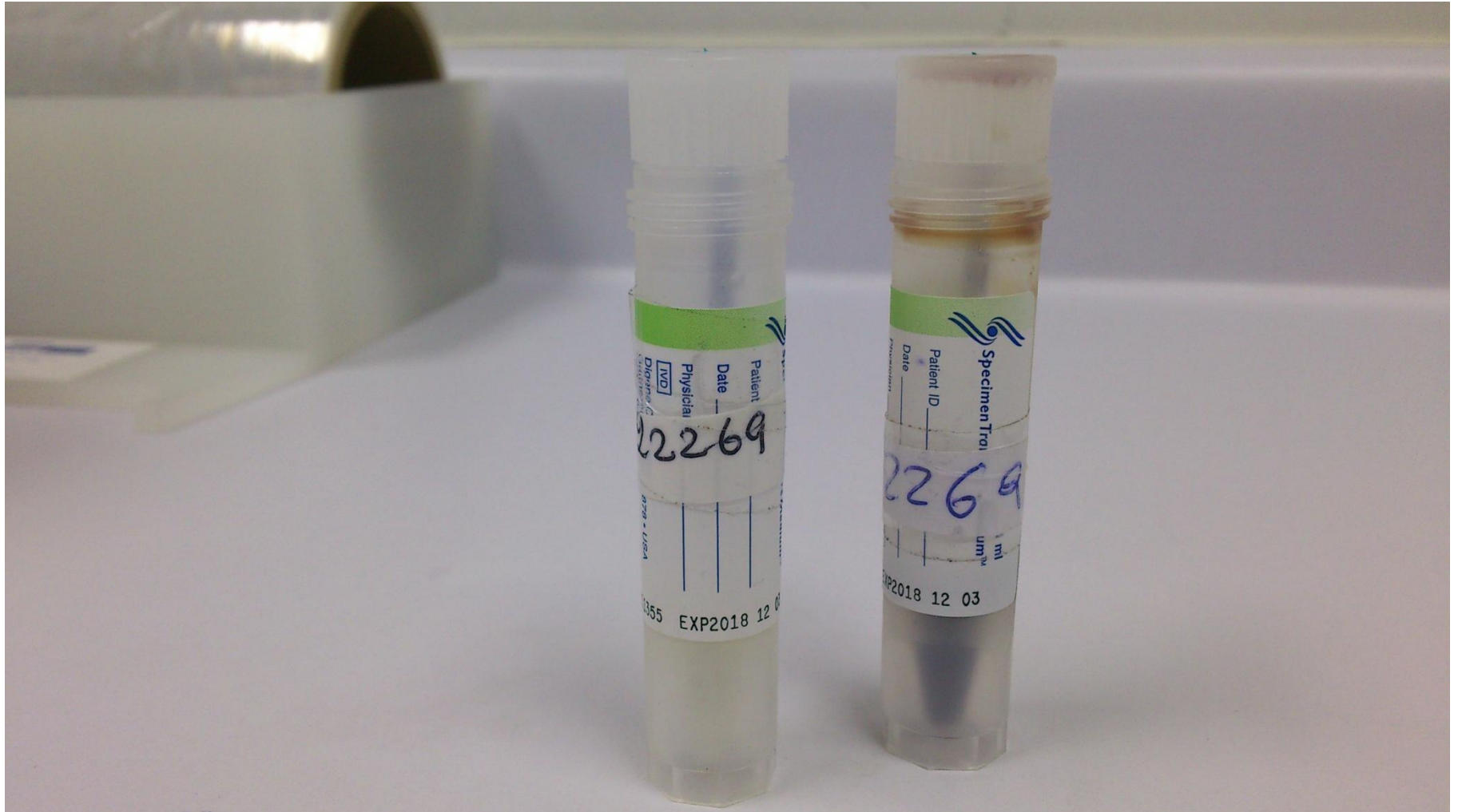
Detection reagent 1

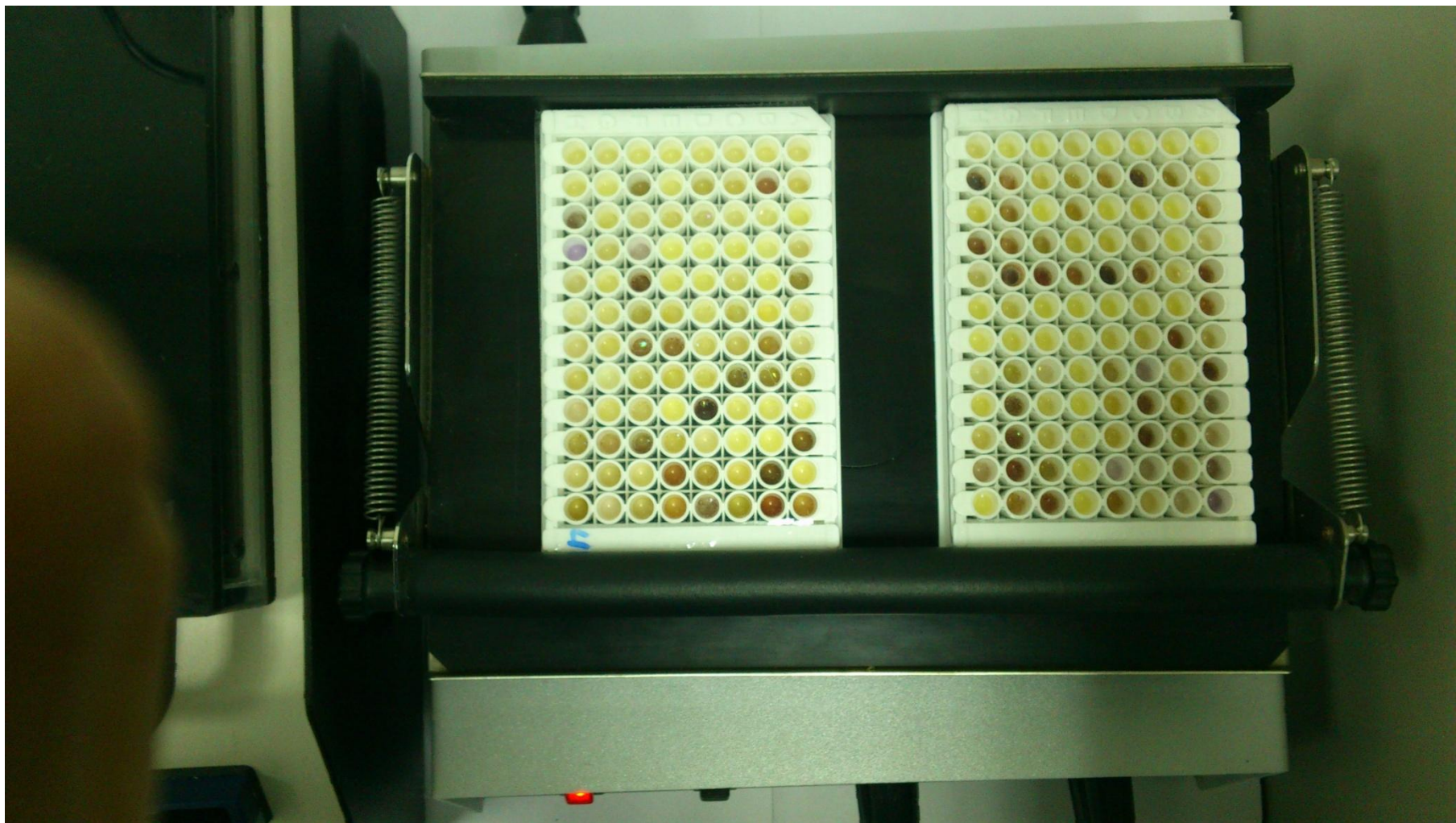
Probe Diluent

Indicator dye

High-Risk HPV probe

Capture plate





PRECAUCIÓN

CONSIDERAR LAS MISMAS PRECAUCIONES GENERALES PARA TRABAJO EN LABORATORIOS.

- * NO ALIMENTOS NI BEBIDAS
- * NO FUMAR.
- * PROTECCIÓN BÁSICA PARA EL CUERPO, MANOS Y OJOS.
 - CUERPO – MANDIL
 - MANOS – GUANTES
 - OJOS – LENTES DE PROTECCIÓN

- * ASEO PERSONAL ESTRICTO DE MANOS ANTES Y DESPUÉS DEL PROCEDIMIENTO.

- * ASEO DEL ÁREA CON HIPOCLORITO DE SODIO 0.5 % V/V U OTRO DESINFECTANTE ANTES Y DESPUÉS DEL PROCEDIMIENTO.

**UNA VEZ QUE LAS MUESTRAS HAN SIDO
DENATURADAS SON CONSIDERADAS INOCUAS Y NO
PRESENTAN MAYOR RIESGO PARA LA SALUD.**

[05] Edit Layout

Plate ID: Creation Date: Modified Date: No. of required QC control types:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

[24] Select Protocols

Protocol ID	Type
CT-ID	Qualitative
CTGC	Qualitative
GC-ID	Qualitative
HPV CPC-Q	Qualitative
HPV-HR-NoRTZ-Q	Qualitative
HPV-LR-NoRTZ-Q	Qualitative
HPV-LRHR-NoRTZ-Q	Dual
RCS CT-ID	Qualitative
RCS CTGC	Qualitative
RCS GC-ID	Qualitative

OK Cancel

Assays on layout:

Unassigned:

Plate ID: 270810c

8/27/2010 2:00:06PM

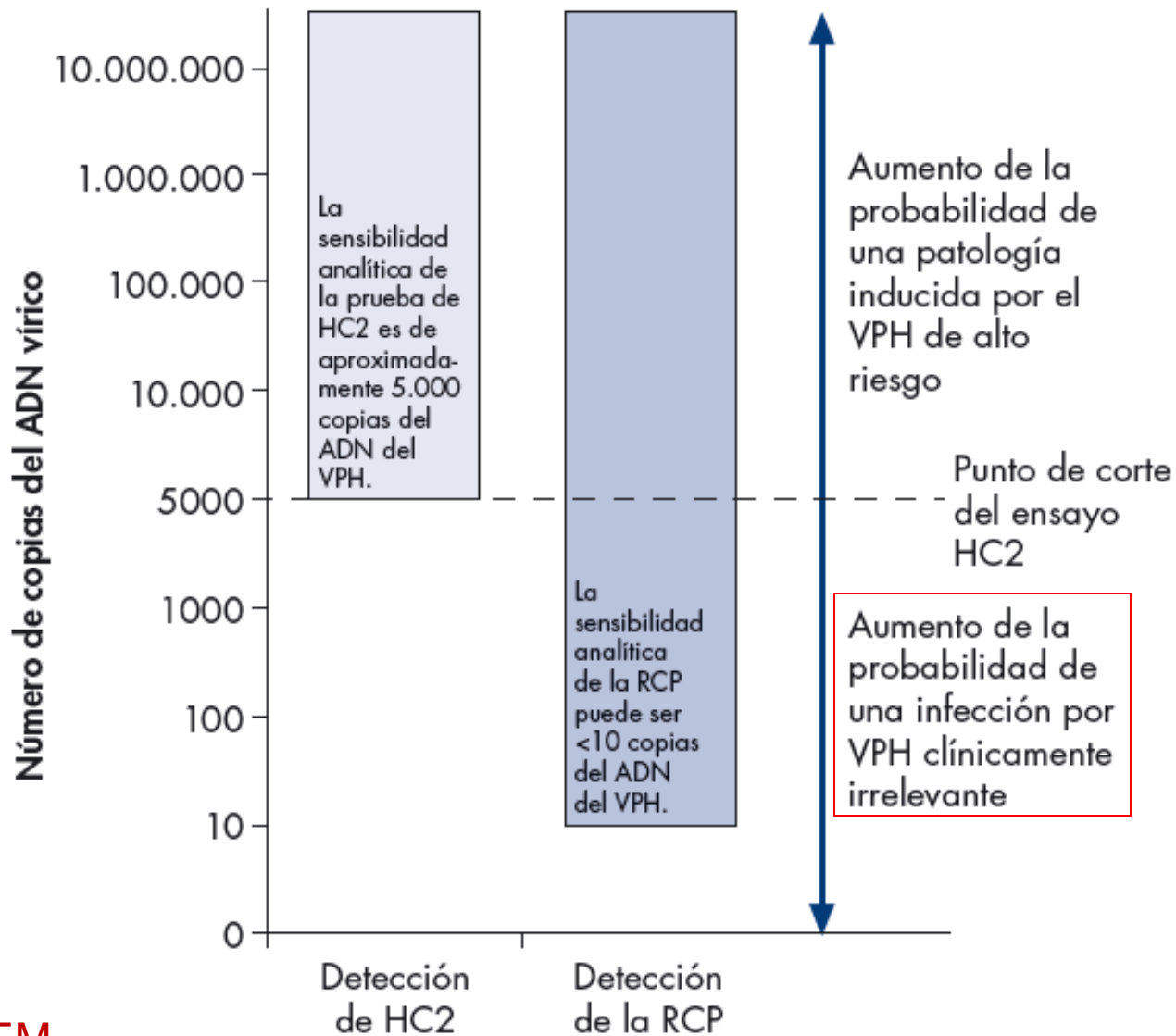
Primary		Secondary	
Positive Cutoff	Negative Cutoff	Positive Cutoff	Negative Cutoff
615.33	615.33	615.33	0.06

Test Name	Operator	Kit Lot #	Valid Run	Validated By	Primary Positive Cutoff	Primary Negative Cutoff	Secondary Positive Cutoff	Secondary Negative Cutoff				
HPV-HR-NoRTZ-Q	Super	5305785	True	Digene	615.33	615.33	615.33	0.06				
Loc.	Sample / Specimen ID	Result	Type	Cutoff	PatientID	RLU	Mean RLU	%CV	RLU/CO	Edited?	Repeat?	Comment
A1	NC					236	212	16.01	0.34			
B1	NC					414	212	16.01	0.34			Outlier
C1	NC					188	212	16.01	0.34			
D1	HRC					712	615	14.75	1.00			
E1	HRC					602	615	14.75	1.00			
F1	HRC					532	615	14.75	1.00			
G1	QC1-LR (Q)	Valid				494			0.80			
H1	QC2-HR (Q)	Valid				1,776			2.88			
A2	0022	High Risk				732			1.18			
B2	0023	High Risk				678			1.10			
C2	0024	High Risk				794			1.29			
D2	0025	—				590			0.89			
E2	0026	—				382			0.62			
F2	0027	—				474			0.77			
G2	0028	—				224			0.36			
H2	0029	High Risk				962			1.56			
A3	0030	High Risk				706			1.14			
B3	0031	High Risk				193,766			314.29			
C3	0032	High Risk				708			1.15			
D3	0033	—				348			0.56			
E3	0034	High Risk				776			1.26			

Supervisor: _____ Date: _____

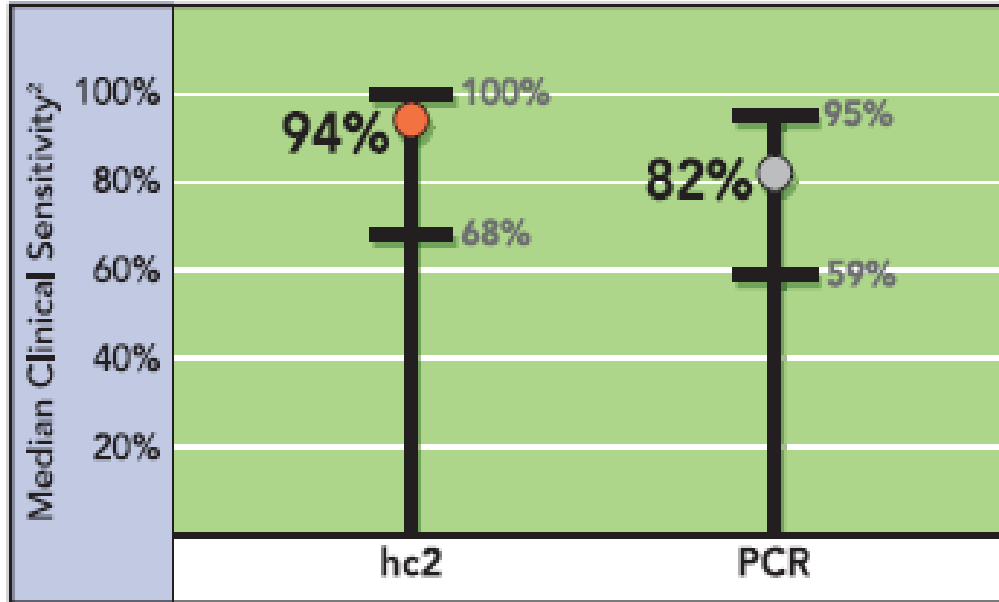


Hybrid Capture® II Software v.2.0
Instrument Serial #: 2710



SENSIBILIDAD CLÍNICA VERSUS ANALÍTICA

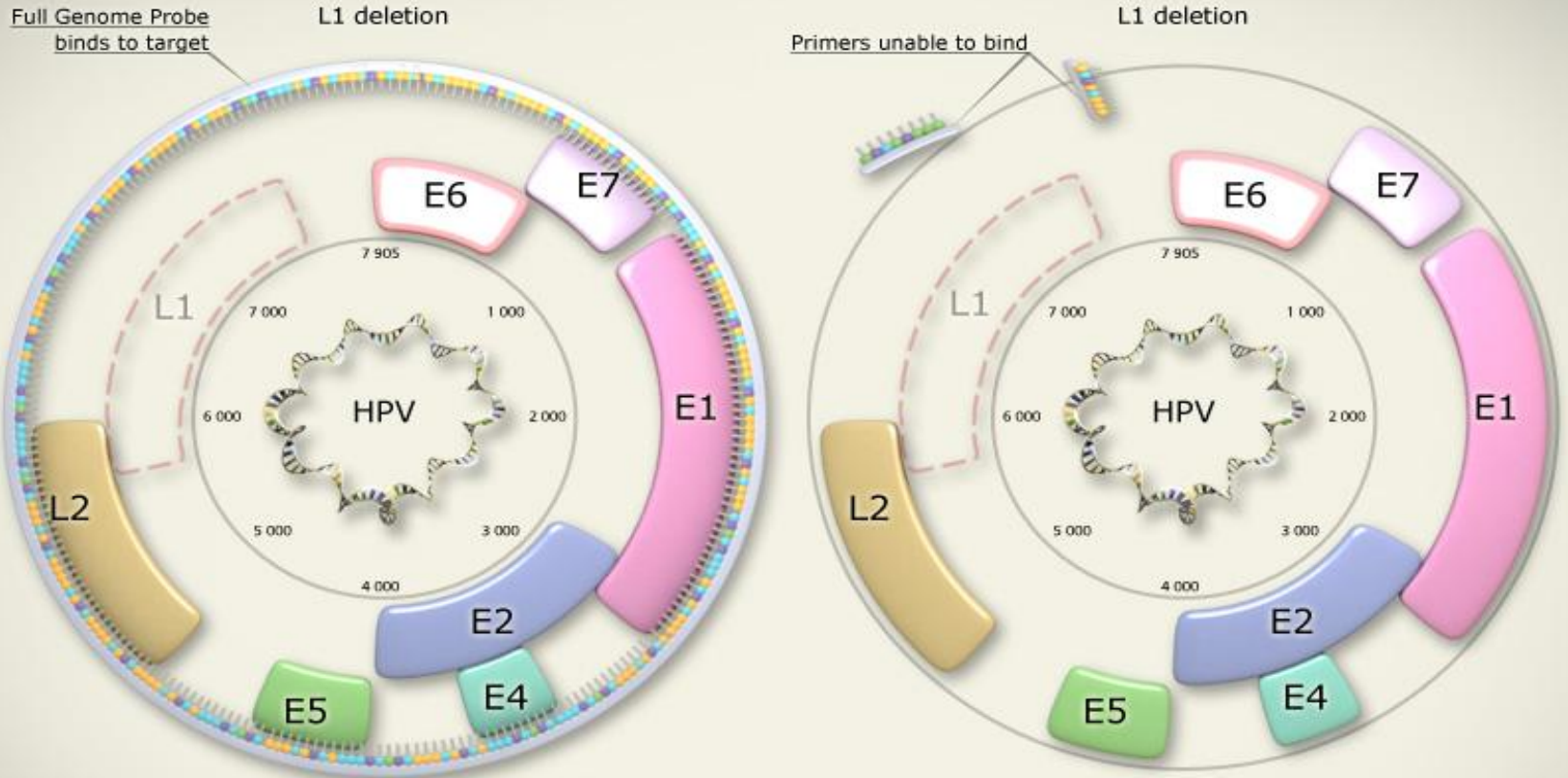
Datos obtenidos de 16 estudios publicados mostraron una mediana Sensibilidad Clínica del 82% para PCR



* Schiffman et al, Am J Clin Path 2005; 124: 722-732

Lorincz, HPV Testing by Hybrid Capture. Monsonogo J(ed): Emerging Issues of HPV Infections: From Science to Practice. Basel, Karger, 2006: 54-62

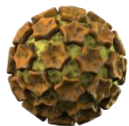
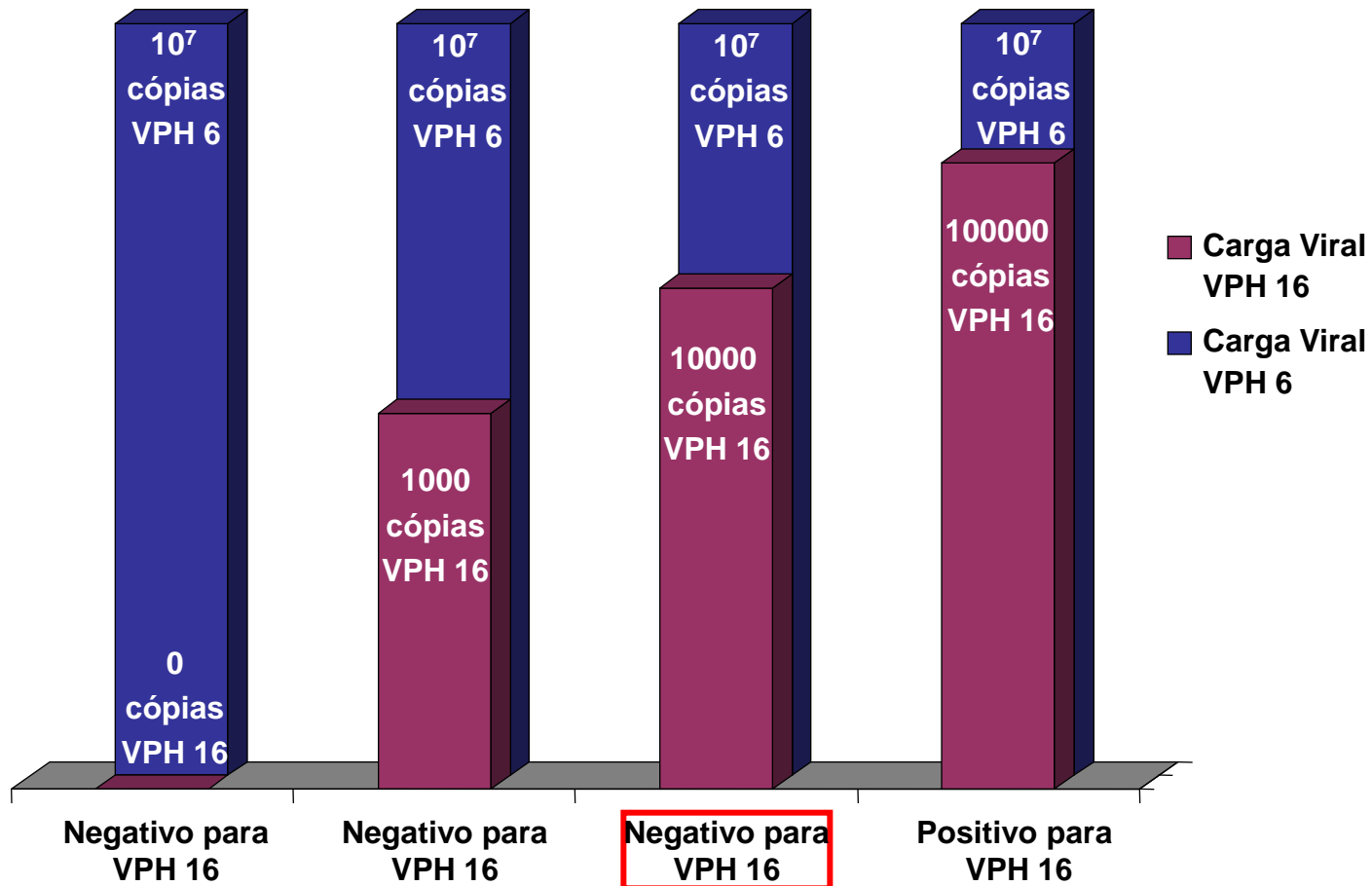
“HC2 fue más sensible que la PCR en la detección acumulativa de CIN3 o el cáncer por un período de 2 años”



Estas son las razones para el diseño de sondas basándose en el genoma completo por captura híbrida:

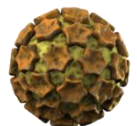
- 1.) Evite falsos negativos debido a la supresión en la región de L1
- 2.) Garantizar la sensibilidad de una prueba.

Competencia y Supresión en PCR



Nazarenko 2004 unpublished

El PCR pierde una infección de VPH 16 clínicamente relevante debido a la presencia de una alta carga viral del tipo 6 de VPH de bajo riesgo.



CAPTURA HÍBRIDA

VALIDACIONES
INTERNACIONALES



The NEW ENGLAND JOURNAL *of* MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

APRIL 2, 2009

VOL. 360 NO. 14

HPV Screening for Cervical Cancer in Rural India

Rengaswamy Sankaranarayanan, M.D., Bhagwan M. Nene, M.D., F.R.C.P., Surendra S. Shastri, M.D.,
Kasturi Jayant, M.Sc., Richard Muwonge, Ph.D., Atul M. Budukh, Ph.D., Sanjay Hingmire, B.Sc.,
Sylla G. Malvi, M.Sc., Ph.D., Ranjit Thorat, B.Sc., Ashok Kothari, M.D., Roshan Chinoy, M.D., Rohini Kelkar, M.D.,
Shubhada Kane, M.D., Sangeetha Desai, M.D., Vijay R. Keskar, M.S., Raghevendra Rajeshwarkar, M.D.,
Nandkumar Panse, B.Com., and Ketayun A. Dinshaw, M.D., F.R.C.R.



Table 3. Distribution of Clinical Stages and Rates of Death, According to Study Group (2000–2007).*

Stage at Diagnosis and Death from Cervical Cancer	HPV Testing	Cytologic Testing	VIA	Control
	<i>no./total no. (%)</i>			
Subjects with positive screening results				NA
Stage at diagnosis				
IA	45/87 (51.7)	58/88 (65.9)	34/91 (37.4)	
IB	25/87 (28.7)	20/88 (22.7)	19/91 (20.9)	
≥II	14/87 (16.1)	10/88 (11.4)	35/91 (38.5)	
Unknown	3/87 (3.4)	0	3/91 (3.3)	
Death from cervical cancer	12/87 (13.8)	18/88 (20.5)	27/91 (29.7)	
Subjects with negative screening results				NA
Stage at diagnosis				
IA	0	2/22 (9.1)	1/25 (4.0)	
IB	2/8 (25.0)	4/22 (18.2)	4/25 (16.0)	
≥II	5/8 (62.5)	15/22 (68.2)	19/25 (76.0)	
Unknown	1/8 (12.5)	1/22 (4.5)	1/25 (4.0)	
Death from cervical cancer	0	9/22 (40.9)	8/25 (32.0)	

Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial



*Guglielmo Ronco, Paolo Giorgi-Rossi, Francesca Carozzi, Massimo Confortini, Paolo Dalla Palma, Annarosa Del Mistro, Bruno Ghiringhello, Salvatore Girlando, Anna Gillio-Tos, Laura De Marco, Carlo Naldoni, Paola Pierotti, Raffaella Rizzolo, Patrizia Schincaglia, Manuel Zorzi, Marco Zappa, Nereo Segnan, Jack Cuzick, and the New Technologies for Cervical Cancer screening (NTCC) Working Group**



	Number of eligible women randomised	Phase 1	Phase 2	End of follow-up*
Turin	28 114	March, 2002–Feb, 2003	July, 2003–Oct, 2004	Nov, 2008
Trento	7260	Feb, 2002–May, 2003	June, 2003–Dec, 2004	Nov, 2008
Padua	10 654	April, 2002–Jan, 2003	Sept, 2003–Nov, 2004	April, 2008
Verona (Soave)	7645	Aug, 2002–June, 2003	Oct, 2003–June, 2004	April, 2008
Bologna	4980	March, 2002–May, 2003	Oct, 2003–Dec, 2004	Nov, 2008
Imola	5831	March, 2002–April, 2003	Sept, 2003–Jul, 2004	Nov, 2008
Ravenna	7588	March, 2002–Nov, 2002	Sept, 2003–April, 2004	Oct, 2008
Florence	16 167	Feb, 2002–June, 2003	July, 2003–Dec, 2004	June, 2008
Viterbo	6131	March, 2002–March, 2003	Oct, 2003–Dec, 2004	April, 2008

*Follow-up was concluded for each woman 3-5 years after referral to the second round of screening or the date reported in this table, whichever came first.

Table 1: Number of participants and periods of randomisation and follow-up at each centre

Human papillomavirus DNA testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial

N W J Bulkman, J Berkhof, L Rozendaal, F J van Kemenade, A J P Boeke, S Bulk, F J Voorhorst, R H M Verheijen, K van Groningen, M E Boon, W Ruitinga, M van Ballegooijen, P J F Snijders, C J L M Meijer

Design and methods of the evaluation of an HPV-based cervical cancer screening strategy in Mexico: The Morelos HPV Study

Yvonne Flores, MPH,^(1,2) Keerti Shah, MD, Dr PH,⁽²⁾ Eduardo Lazcano, MD, DrSc,⁽³⁾ Mauricio Hernández, MD, DrSc,⁽³⁾
David Bishai, MD, Ph D,⁽²⁾ Daron G Ferris, MD,⁽⁴⁾ Attila Lörincz, Ph D,⁽⁵⁾ Pilar Hernández, BA,⁽³⁾
Jorge Salmerón, MD, DrSc,⁽¹⁾ The Morelos HPV Study Collaborators*^{.(1,3,6,7)}

País	n	Muestreo	Tiempo de Seguimiento	Valor Predictivo Negativo
India	131 746	Aleatorio	8 años	100%
Holanda	44 938	Aleatorio	5 años	100%
Italia	94 370	Aleatorio	03 a 05 años	100%
México	7 868	Aleatorio	01 año	100%

Sankaranarayanan, et al, newengland journal of medicine 360;14

Bulkmans, et al Lancet 2007; 370: 1764–72

Ronco, et al, Lancet Oncol 2010; 11: 249–57

salud pública de méxico / vol.44, no.4, julio-agosto de 2002

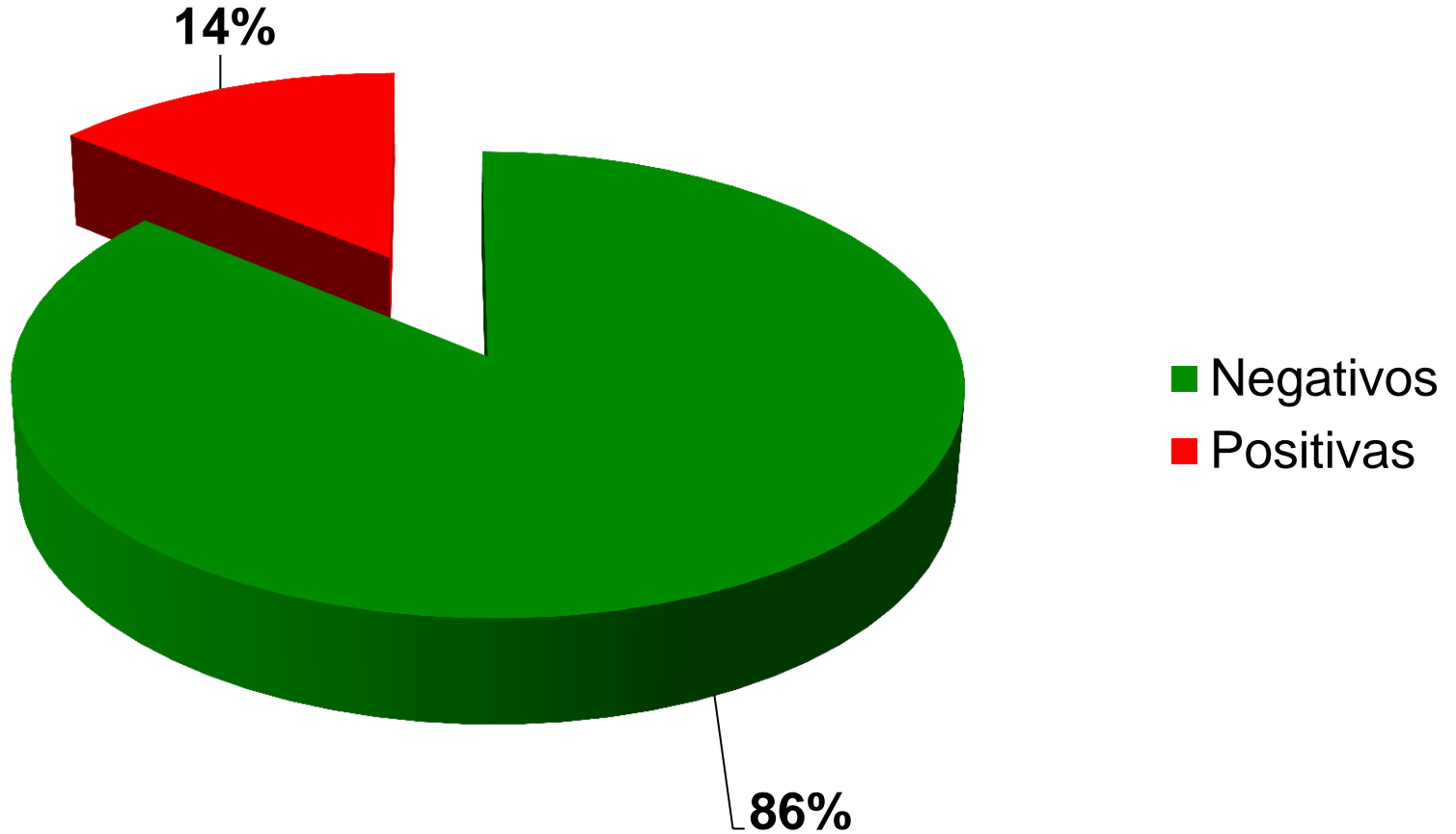
Cancer Causes Control Y. Flores, et al 2010 DOI 10.1007/s10552-010-9694-3

La prueba HC2 con mayor validación clínica en el mundo

Author	Year	No. of Women
Lorincz	92	2,627
Cuzick	99	1,703
Bozzetti	00	977
Ratnam	00	2,098
Schiffman	00	8,554
Wright	00	1,365
Costa	00	992
Zielinski	01	278
Solomon	01	3,488
Belinson	01	1,997
Clavel	01	5,671
Pretorius	02	845
Kulasingam	02	4,075
Syrjanen	02	3,175
de Sanjose	03	2,012
Salmeron	03	7,732
Sherman	03	20,810
Petry	03	7,592

Author	Year	No. of Women
Cuzick	03	10,358
Sankar.	04	18,085
Kulmala	04	1,511
Castle	05	5,060 (ALTS 20k+)
Schiffman	05	3,363
Soderlund	05	239
Sarian	05	4,195
Bigras	05	13,842
Sankar.	05	36,938
Kjaer/lftner	06	10,234
Kitchener	06	24,510
Mayrand	07	9,667
Cuzick	08	2,011
Kotaniemi	08	18,438
Ronco	08	24,638
Castle	09	560,289
Sankaranarayanan	09	134,126

> 970,000 mujeres evaluadas



American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early Detection of Cervical Cancer

Debbie Saslow, PhD,¹ Diane Solomon, MD,² Herschel W. Lawson, MD,³ Maureen Killackey, MD,⁴ Shalini L. Kulasingham, PhD,⁵ Joanna Cain, MD,⁶ Francisco A. R. Garcia, MD, MPH,⁷ Ann T. Moriarty, MD,⁸ Alan G. Waxman, MD, MPH,⁹ David C. Wilbur, MD,¹⁰ Nicolas Wentzensen, MD, PhD, MS,¹¹ Levi S. Downs, Jr, MD,¹² Mark Spitzer, MD,¹³ Anna-Barbara Moscicki, MD,¹⁴ Eduardo L. Franco, DrPH,¹⁵ Mark H. Stoler, MD,¹⁶ Mark Schiffman, MD,¹⁷ Philip E. Castle, PhD, MPH,^{18*} and Evan R. Myers, MD, MPH^{19*}

DOI: 10.1002/ajcp.17036

Abstract

An update to the American Cancer Society (ACS) guideline regarding screening for the early detection of cervical precancerous lesions and cancer is presented. The guidelines are based on a systematic evidence review, contributions from 6 working groups, and a recent symposium cosponsored by the ACS, the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and the American Society for Clinical Pathology, which was attended by 25 organizations. The new screening recommendations address age-appropriate screening strategies, including the use of cytology and high-risk human papillomavirus (HPV) testing, follow-up (eg, the management of screen positives and screening intervals for screen negatives) of women after screening, the age at which to exit screening, future considerations regarding HPV testing alone as a primary screening approach, and screening strategies for women vaccinated against HPV16 and HPV18 infections.

Cervical cancer screening has successfully decreased cervical cancer incidence and mortality. The American Cancer Society (ACS) guideline for the early detection of cervical cancer was last reviewed and updated in 2002; for the first time, those recommendations incorporated human papillomavirus (HPV) DNA testing.¹ Since that time, numerous studies have been published that support changes to recommended age-appropriate screening as well as the management of abnormal screening results, as summarized in **Table 1B**.²

Background

High-quality screening with cytology (Papancolour [Pap] testing) has markedly reduced mortality from squamous cell cervical cancer, which comprises 80% to 90% of cervical cancers.³⁻⁵ Since the introduction of cervical cytology in the United States in the middle of the 20th century, cervical cancer, once the most frequent cause of cancer death in women, now ranks 14th for cancer deaths.⁶ This reduction in mortality through screening is due to (1) an increase in the detection of invasive cancer at early stages, when the 5-year survival rate is approximately 92%;⁷ and (2) the detection and treatment of preinvasive lesions, which reduces the overall incidence of invasive cancer. In 2012, an estimated 12,170 cases of invasive cervical cancer will be diagnosed, and an estimated 4,220 women will die.⁶

It is now understood that persistent cervical infection with high-risk HPV genotypes ("types") is necessary for the development of cervical cancer and its immediate precursor lesion ("precancer"), cervical intraepithelial neoplasia (CIN) grade 3 (CIN3). Epidemiologic case series have shown that

Summary of Recommendations

Population	Page Numbers	Recommended Screening Method [†]	Management of Screen Results	Comments
Aged <21 y	521-522	No screening		HPV testing should not be used for screening or management of ASC-US in this age group
Aged 21-29 y	522-523	Cytology alone every 3 y	HPV-positive ASC-US [†] or cytology of LSIL or more severe: Refer to ASCCP guidelines ² Cytology negative or HPV-negative ASC-US [†] : Rescreen with cytology in 3 y	HPV testing should not be used for screening in this age group
Aged 30-65 y	523-529	HPV and cytology "cotesting" every 5 y (preferred) Cytology alone every 3 y (acceptable)	HPV-positive ASC-US or cytology of LSIL or more severe: Refer to ASCCP guidelines ² HPV positive, cytology negative: Option 1: 12-mo follow-up with cotesting Option 2: Test for HPV16 or HPV16/18 genotypes • If HPV16 or HPV16/18 positive: refer to colposcopy • If HPV16 or HPV16/18 negative: 12-mo follow-up with cotesting Cotest negative or HPV-negative ASC-US: Rescreen with cotesting in 5 y HPV-positive ASC-US [†] or cytology of LSIL or more severe: Refer to ASCCP guidelines ² Cytology negative or HPV-negative ASC-US [†] : Rescreen with cytology in 3 y	Screening by HPV testing alone is not recommended for most clinical settings [†]
Aged >65 y	529-531	No screening following adequate negative prior screening		Women with a history of CIN2 or a more severe diagnosis should continue routine screening for at least 20 y
After hysterectomy	531	No screening		Applies to women without a cervix and without a history of CIN2 or a more severe diagnosis in the past 20 y or cervical cancer ever
HPV vaccinated	531-533	Follow age-specific recommendations (same as unvaccinated women)		

Gracias