

Aptima тест на ХПВ (Panther System)

Упутства за употребу
За дијагностику *in vitro*
Само за извоз у САД

Опште информације	2
Намена	2
Кратки преглед и објашњење теста	2
Принципи поступка	3
Сажетак сигурносних карактеристика и ефикасности	4
Упозорења и мере предострожности	4
Правила за складиштење и руковање реагенсима	7
Прикупљање и складиштење узорак	8
Систем „Panther”	10
Обезбеђени реагенси и материјали	10
Потребни материјали који се могу купити засебно	11
Додатни материјали	12
Поступак испитивања на систему Panther	12
Белешке о процедури	15
Поступци контроле квалитета	16
Тумачење теста	17
Ограничења	18
Очекивани резултати Panther система: Преваљенција иРНК високоризичног ХПВ-а	20
Ефикасност теста на Panther систему	23
Библиографија	54
Контакт информације и историја измена текста	56

Опште информације

Намена

Aptima HPV тест је тест нуклеинских киселина са сондом заснован на амплификацији циља за *in vitro* квалитативну детекцију Е6/Е7 вирусне информационе RNK (mRNK) из 14 високоризичних типова хуманог папилома вируса (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Aptima HPV тест не прави разлику између 14 високоризичних типова.

- Aptima тест на ХПВ је индикуван за употребу у скринингу апцијената са ASC-US (атипичне сквамозне ћелије недетерминисаног значаја) резултатима Папа теста како би се одредила потреба за упућивањем на колпоскопију. Резултати овог теста нису намењени да спрече жене да обаве колпоскопски преглед.
- Aptima HPV тест се може користити заједно са цервикалном цитологијом као допунски скрининг (ко-тестирање) ради процене присуства или одсуства високоризичних типова HPV. Ове информације, заједно са лекарском проценом цитолошке историје, другим факторима ризика и препорукама струке могу се користити за вођење лечења пацијента.
- Aptima тест на ХПВ може се користити као тест прве линије примарног скрининга, са или без цитолошког прегледа грлића материце, како би се идентификовале жене са повећаним ризиком од рака грлића материце или ризиком од присуства озбиљних болести. Ове информације, заједно са проценом лекара о историји скрининга пацијента, другим факторима ризика и препорукама струке могу се користити за вођење лечења пацијента.

Aptima HPV тест се може користити за испитивање следећих типова узорака на систему Panther: цервикалних узорака које је прикупио клиничар у бочицама за ThinPrep Pap тест које садрже PreservCyt раствор, пре или после Папа обраде, цервикалних узорака прикупљених помоћу Aptima комплета за прикупљање и транспорт цервикалних узорака, цервикалних узорака прикупљених у SurePath конзервационој течности, или вагиналних узорака које су испитанице саме прикупиле помоћу Aptima Multitest комплета за прикупљање узорака брисом.

Кратки преглед и објашњење теста

Рак грлића материце је један од најчешћих карцинома код жена на свету. ХПВ је етиолошки агенс одговоран за више од 99% свих карцинома грлића материце.^{1,2,3} ХПВ је уобичајени полно преносив ДНК вирус који се састоји од више од 100 генотипова.⁴

ХПВ вирусни геном је дволанчана кружна ДНК са дужином од приближно 7 900 базних парова. Геном има осам преклапајућих отворених оквира читања. Постоји шест раних (Е) гена, два касна (L) гена и један непреведени дугачки контролни регион. Гени L1 и L2 кодирају главне и секундарне протеине капсида. Рани гени регулишу вирусну репликацију ХПВ-а. Гени Е6 и Е7 који се односе на високоризичне ХПВ генотипове су познати онкогени. Протеини експримиран из полицистронске Е6/Е7 иРНК мењају протеинске функције ћелијског p53 и ретинобластома, што доводи до поремећаја контролних тачака ћелијског циклуса и нестабилности ћелијског генома.^{1, 4}

Четрнаест ХПВ генотипова сматра се патогеним или се сматра да представљају висок ризик од развоја болести грлића материце.⁵ Бројне студије су показале повезаност генотипова 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, и 68 са прогресијом болести.^{2, 6, 7} Жене са упорном инфекцијом једне од ових врста имају повећан ризик од развоја тешке дисплазије или рака грлића материце.^{5, 8}

ХПВ инфекције су врло честе и већина жена их се реши у року од 6 до 12 месеци.^{2, 9} Присуство ХПВ нуклеинске киселине не значи присуство цервикалне дисплазије или рака грлића материце. Међутим, ефикасан приступ детекцији болести грлића материце је циљање оних онкогених елемената ХПВ-а који доприносе пролонгираној вирусној инфекцији и ћелијској трансформацији.¹⁰

Клиничка ефикасност Aptima теста на ХПВ у примарном скринингу рака грлића материце

Клиничка ефикасност Aptima теста на ХПВ када се он користи као примарна метода скрининга проучавана је у бројним студијама које су спровели независни истраживачи. Најмање 25 рецензираних публикација¹¹⁻³⁵ из 15 одвојених клиничких студија говоре о ефикасности Aptima ХПВ у примарном скринингу код жена прегледаних у једанаест земаља (Кина, Канада, Француска, Мексико, Енглеска, Данска, Холандија, Сједињене Државе, Немачка, Шведска и Тајланд). Подаци из ових студија показују да Aptima ХПВ има сличне клиничке перформансе у поређењу са другим клинички одобреним ХПВ тестовима када се користи за примарни скрининг за преанцерозна стања грлића материце и рак.

Принципи поступка

Aptima тест на ХПВ укључује три главна корака, која се изводе у једној епрувети: узимање узорка, амплификација узорка помоћу амплификације уз помоћ транскрипције (ТМА)⁴² и детекција производа амплификације (ампликона) комплетом заштите од хибридизације (НРА).⁴³ Тест укључује систем интерне контроле (IC) за праћење хватања, амплификације и детекције нуклеинских киселина, као и праћење грешке оператора или инструмента.

Узорци се сакупљају или преносе у епрувету која садржи медијум за транспорт узорка (STM) који лизира ћелије, ослобађа иРНК и штити је од разградње током периода чувања узорка. Када се изводи Aptima HPV тест, циљна mRNK се изолује из узорка применом олигонуклеотида за хватање који су повезани са магнетним микрочестицама. Олигомери за хватање садрже секвенце комплементарне одређеним деловима циљних молекула иРНК ХПВ-а, као и ланац остатака деоксиаденозина. Током етапе хибридизације, делови олигомера за хватање који су специфични за секвенцу везују се за одређене делове циљног молекула иРНК ХПВ-а. Комплет олигомер за хватање-циљна секвенца се потом издваја из раствора снижавањем температуре реакције на собну температуру. Ово смањење температуре омогућава хибридизацију између регије деоксиаденозина на олигомеру за хватање и молекула полидеокситимидина који су ковалентно везани за магнетне честице. Микрочестице, укључујући и заробљене циљне молекуле HPV mRNK везане за њих, повлаче се на страну реакцијске епрувете помоћу магнета и супернатант се усисава. Честице се испирају како би се уклонила преостала матрица узорка која може садржавати инхибиторе амплификације.

Након завршетка везивања циљних молекула, иРНК ХПВ-а се амплификује коришћењем ТМА, што је метод амплификације нуклеинских киселина базиран на транскрипцији који користи два ензима, MMLV реверзну транскриптазу и T7 РНК полимеразу. Реверзна транскриптаза се користи за генерисање ДНК копије циљне иРНК секвенце која садржи промоторску секвенцу за T7 РНК полимеразу. T7 РНК полимеразу производи вишеструке копије ампликона РНК из шаблона копије ДНК.

Детекција ампликона се постиже уз НРА коришћењем једноланчаних проба нуклеинских киселина са хемилуминисцентним ознакама које су комплементарне ампликону. Означене пробе са нуклеинским киселинама се специфично хибридују са ампликоном. Селекциони реагенс прави разлику између хибридуваних и нехибридуваних проба деактивацијом ознаке на нехибридуваним узорцима. У фази детекције, светлост коју емитују означени хибриди РНК:ДНК мери се у облику фотонских сигнала који се називају релативне светлосне јединице (RLU) у луминометру. Коначни резултати анализе тумаче се на основу пропорционалног односа јачине сигнала и граничне вредности анализиране супстанце (S/CO).

IC се додаје свакој реакцији помоћу реагенса за хватање циљних молекула. IC прати кораке хватања циљних молекула, амплификације и детекције током анализе. IC Сигнал у свакој реакцији разликује се од ХПВ сигнала диференцијалном кинетиком емисије светлости од проба са различитим ознакама.⁴⁴ Ампликон специфичан за IC детектује се коришћењем проба са брзим емитовањем светлости (детектора трептаја). Ампликон специфичан за ХПВ детектује се коришћењем проба са релативно споријом кинетиком емисије светлости (детектора сјаја). Двострука кинетичка анализа (DKA) је техника која се користи за разликовање светлостних сигнала трептаја и сјаја.⁴⁴

Сажетак сигурносних карактеристика и ефикасности

SSP (Сажетак сигурносних карактеристика и ефикасности) доступан је у Европској бази података о медицинским производима (Eudamed), где је повезан са идентификаторима уређаја (Основни UDI-DI број уређаја). Да бисте пронашли SSP за Aptima ХПВ, погледајте основни јединствени идентификатор уређаја (BUDI број), који је: **54200455DIAGAPTHPVBR**.

Упозорења и мере предострожности

- A. За дијагностику *in vitro*.
- B. За професионалну употребу.
- C. Додатна специфична упозорења и мере предострожности налазе се у *Упутствима за употребу Panther/Panther Fusion система*.

Лабораторијски аспект

- D. Користите само приложени или наведени лабораторијски прибор за једнократну употребу.
- E. Придржавајте се уобичајених лабораторијских мера опреза. Немојте јести, пити или пушити у оквиру дефинисаног радног простора. Носите рукавице за једнократну употребу без заштитног праха, заштитне наочаре и лабораторијске капуте када радите са узорцима и реагенсима из комплета. Темељно оперите руке након руковања узорцима и реагенсима из комплета.
- F. **Упозорење: Иритантни и корозивни материјал:** Избегавајте контакт Auto Detect 2 материјала са кожом, очима и слузокожом. Ако ова течност дође у додир са кожом или очима, исперите захваћено подручје водом. Ако се ова течност пролије, разблажите је водом пре него што је осушите.
- G. Радне површине, пипете и друга опрема морају се редовно дезинфиковати 2,5—3,5% раствором натријум хипохлорита (0,35—0,5 М). Погледајте *Поступак испитивања на систему Panther* за више информација.

- H. Примењујте добру стандардну праксу за молекуларне лабораторије, укључујући праћење услова средине.

Везано за узорак

- I. Одржавајте одговарајући температурни режим током транспорта и складиштења узорака како бисте осигурали њихов интегритет. Није рађена процена стабилности узорака у условима транспорта и складиштења који нису препоручени.
- J. Датуми истека рока употребе наведени на комплетима и епруветама за прикупљање/пренос узорака и односе се на место прикупљања/преноса, а не на испитни центар. Узорци прикупљени/прослеђени у било ком тренутку пре истека ових датума истека су ваљани за тестирање, под условом да су транспортовани и складиштени у складу са одговарајућим упутствима садржаним унутар паковања, чак и ако су ти рокови употребе истекли.
- K. Придржавајте се универзалних мера предострожности и успостављених лабораторијских протокола за безбедно руковање, одлагање и спречавање унакрсне контаминације. Само особљу које је адекватно обучено за руковање инфективним материјалима треба дозволити да рукује узорцима.
- L. Одмах замените рукавице ако дођу у контакт са узорком. Да бисте спречили унакрсну контаминацију, одложите употребљене материјале и избегавајте њихово преношење преко било којих других посуда.
- M. Под одређеним условима, течност може исцурити из капица цеви када се оне пробуше. Пратите упутства у *Поступак испитивања на систему Panther* како би се спречила ова појава.
- N. ThinPrep течни цитолошки узорци и узорци Сета за прикупљање и транспорт узорака грлића материце (CSCT) требају бити одбачени ако је у епрувети за узорке остављен уређај за прикупљање узорака.
- O. Узорке сета за течну цитологију SurePath треба одбацили ако у бочици нема уређаја за сакупљање материјала.
- P. Ако лабораторија добије епрувету за транспорт за Aptima Multitest комплет за прикупљање бриса узорка без бриса, два бриса, брис за чишћење или брис који није испоручила компанија Hologic, узорак се мора одбацили.

Подаци везани за комплет теста

- Q. Придржавајте се универзалних мера предострожности.
- R. Чувајте реагенсе на наведеним температурама. На ефикасност резултата теста може утицати неправилно складиштење комплета за анализу.
- S. Избегавајте контаминацију реагенаса микробима и рибонуклеазама.
- T. Не користите комплет за анализу након истека рока употребе.
- U. Немојте замењивати, мешати или комбиновати аналитичке реагенсе или калибраторе из комплета који имају различите бројеве серија.
- V. Тачности Aptima теста и Auto Detect реагенси Aptima теста нису део Мастер серије; може се користити било која серија.
- W. Да би се добили тачни резултати анализе, потребно је потпуно и детаљно мешање реагенаса за анализу.

- X. Потребно је користити врхове пипета са хидрофобним умецима.
- Y. Неки реагенси из овог комплета означени су ознакама ризика и безбедности.

Напомена: Сигурносне информације одговарају онима које су дефинисане у ЕУ безбедносно-техничким листовима (SDS). За сигурносне информације специфичне за ваш регион погледајте регионалне безбедносне стандарде у библиотеци безбедносно-техничких листова на www.hologicsds.com. За више информација о симболима, погледајте легенде симбола на <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informacije o opasnostima za EU	
 	Selection Reagent <i>Borna kiselina 1 – 5%</i> <i>Triton X-100 1 – 5%</i> <i>Natrijum hidroksid < 1%</i> — OPASNOST H315 - Izaziva iritaciju kože. H360FD - Može štetno da utiče na plodnost. Može štetno da utiče na plod. P264 - Oprati lice, ruke i svu izloženu kožu detaljno nakon rukovanja. P280 - Nositi zaštitne rukavice / zaštitnu odeću / zaštitne naočare / zaštitu za lice. P302 + P352 - AKO DOSPE NA KOŽU: oprati sa puno vode i sapuna. P332 + P313 - Ako dođe do iritacije kože: potražiti medicinski savet/mišljenje. P362 + P364 - Skinuti kontaminiranu odeću i oprati je pre ponovne upotrebe. P201 - Pribaviti posebna uputstva pre upotrebe. P202 - Pre rukovanja obavezno pročitati sve mere predostrožnosti i bezbednosti. P308 + P313 - AKO dođe do izlaganja ili se sumnja da je došlo do izlaganja: potražiti medicinski savet/mišljenje. P405 - Skladištiti pod ključem. P501 - Odlaganje sadržaja/ambalaže u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.
	Target Capture Reagent <i>HEPES 5–10%</i> <i>EDTA 1–5%</i> <i>Litijum hidroksid monohidrat 1–5%</i> — — H412 - Štetno za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje/oslobađanje u životnu sredinu. P501 - Odlaganje sadržaja/ambalaže u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.
—	Amplification Reagent <i>HEPES 25–30%</i> — — H402 - Štetno za živi svet u vodi. H412 - Štetno za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje/oslobađanje u životnu sredinu. P501 - Odlaganje sadržaja/ambalaže u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.
—	Enzyme Reagent <i>HEPES 1–5%</i> <i>Triton X-100 1 – 5%</i> — — H412 - Štetno za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje/oslobađanje u životnu sredinu. P501 - Odlaganje sadržaja/ambalaže u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.
—	Probe Reagent <i>LAURIL SULFAT LITIJUMSKA SO 35–40%</i> <i>SUKCINSKA KISELINA 10–15%</i> — — H412 - Štetno za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje/oslobađanje u životnu sredinu. P501 - Odlaganje sadržaja/ambalaže u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.

Enzyme Reconstitution Solution**Glicerol 20 – 25%****Triton X-100 5 – 10%****HEPES 1 – 5%**

H412 - Štetno za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama.

P273 - Izbegavati ispuštanje/oslobađanje u životnu sredinu.

P501 - Odlaganje sadržaja/ambalaže u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.

Правила за складиштење и руковање реагенсима

Не користите реагенсе након истека рока употребе наведеног на бочицама. Додатна упутства за складиштење дата су у наставку.

- A. Следећи реагенси се чувају на температури између 2°C и 8°C (у фрижидеру) након примитка:

Реагенс за амплификацију ХПВ

Ензимски реагенс за ХПВ

Реагенс пробе ХПВ

Реагенс за унутрашњу контролу ХПВ-а

Позитивни и негативни калибратори ХПВ-а

- B. Следећи реагенси се чувају на температурама између 15°C и 30°C (собна температура):

Реконституцијски раствор за амплификацију ХПВ-а

Раствор за реконституцију ензима ХПВ-а

Раствор за реконституцију проба ХПВ-а

Реагенс за хватање циљних молекула ХПВ-а

ХПС селекциони реагенс

- C. Након реконституције, следећи реагенси остају стабилни 30 дана када се чувају на температурама између 2°C и 8°C:

Реагенс за амплификацију ХПВ

Ензимски реагенс за ХПВ

Реагенс пробе ХПВ

- D. Реагенс за хватање циљне секвенце (wTCR) је стабилан 30 дана на температурама између 15°C и 30°C. Не чувати у фрижидеру.

- E. Баците све неискоришћене реконституисане реагенсе и wTCR након 30 дана или након датума истека рока Мастер серије, у зависности од тога шта се прво догоди.

- F. Реагенси Aptima комплета за тест на ХПВ остају стабилни укупно 72 сата када се чувају унутар Panther система.

- G. Реагенс проба и реконституисани реагенс проба су осетљиви на светлост. Реагенсе чувајте на месту заштићеном од светлости.

- H. **Не замрзавајте реагенсе.**

Прикупљање и складиштење узорак

Напомена: Са свим узорцима треба руковати као да садрже потенцијално инфективне агенсе. Придржавајте се универзалних мера предострожности.

А. Прикупљање и обрада узорак

Течни цитолошки узорци ThinPrep

1. Прикупите цервикалне узорке у ThinPrep бочице за Папа тест које садрже раствор PreservCyt помоћу уређаја за прикупљање материјала типа метлице или циточеткице/лопатице према упутствима произвођача.
2. Пре или после обраде са ThinPrep 2000 апаратом за обраду узорак, ThinPrep 5000 апаратом за обраду узорак, ThinPrep 5000 апаратом за обраду узорак са аутоматским пуњачем, или ThinPrep Genesis апаратом за обраду узорак пренесите 1 мл течног цитолошког препарата ThinPrep у Aptima епрувету за пренос узорак према упутствима датим у Aptima комплету за пренос узорак и у Aptima упутству садржаном унутар паковања раствора за пренос.

Течни цитолошки узорци SurePath

1. Узмите узорак SurePath течне цитологије према упутствима за употребу SurePath Папа теста и/или PrepStain система.
2. Пренесите течни цитолошки узорак SurePath у епрувету за пренос узорак Aptima према упутствима датим у Aptima комплету за транспорт узорак и у Aptima упутству садржаном унутар паковања раствора за пренос.

Aptima комплет за прикупљање и транспорт цервикалних узорак

1. Прикупите узорак према упутствима за употребу Aptima CSCT комплета.

Узорци прикупљени помоћу Aptima Multitest комплета за прикупљање узорак брисом

1. Прикупите узорак у складу са упутством за употребу комплета за прикупљање узорак брисом Aptima Multitest.

В. Транспорт и складиштење пре тестирања

Течни цитолошки узорци ThinPrep

1. Транспортујте течне цитолошке узорке ThinPrep на температурама између 2°C и 30°C.
2. Узорци се морају пренети у епрувету за пренос Aptima узорак у року од 105 дана од сакупљања.
3. Пре преноса, течне цитолошке узорке ThinPrep треба чувати на температурама између 2°C и 30°C, али не дуже од 30 дана на температурама изнад 8°C.
4. Течни цитолошки узорци ThinPrep пренесени у епрувету за транспорт узорак Aptima могу се чувати на температури од 2°C до 30°C током 60 дана.
5. Ако је потребно дуже складиштење, течни цитолошки препарат ThinPrep или течни цитолошки препарат ThinPrep разблажен у епрувети за транспорт узорак може се чувати на температури од -20°C или нижиј током 24 месеца.

Течни цитолошки узорци SurePath

1. Транспортујте течне цитолошке узорке SurePath на температурама између 2°C и 25°C.
2. Узорци се морају пренети у епрувету за пренос Aptima узорак у року од 7 дана од сакупљања.
3. Пре преноса, течни цитолошки узорци SurePath требају се чувати на температури између 2°C и 25°C.
4. Течни цитолошки узорци SurePath пренесени у епрувету за транспорт узорак Aptima могу се чувати на температури од 2°C до 25°C до 7 дана.

Aptima комплет за прикупљање и транспорт цервикалних узорака

1. Транспортујте и складиштите узорке на температури између 2°C и 30°C током до 60 дана.
2. Ако је потребно дуже складиштење, узорци из транспортног комплета могу се чувати на температури од -20°C или нижој до 24 месеца.

Узорци прикупљени помоћу Aptima Multitest комплета за прикупљање узорака брисом

1. Транспорт узорака
 - a. Транспортујте узорке на температури од 2 °C до 30 °C.
 - b. Лабораторија треба да прими узорке у року од 5 дана од прикупљања.
2. Чување узорака пре тестирања
 - a. Опција 1: Узорци се могу чувати на температури од 2 °C до 8 °C до 30 дана.
 - b. Опција 2: Узорци се могу чувати на температури од 15 °C до 30 °C до 30 дана.

C. Обрада узорака течне цитологије SurePath

Напомена: Узорци течне цитологије SurePath морају бити третирани раствором за пренос Aptima пре тестирања Aptima тестом на ХПВ.

1. Aptima раствор за пренос

Обрађени узорци могу се чувати на температури од 2°C до 8°C до 17 дана пре тестирања Aptima тестом на ХПВ. За више детаља погледајте Aptima комплет за пренос узорака и Aptima упутство садржано унутар паковања раствора за пренос.

D. Чување узорака након тестирања

1. Узорци који су прошли анализу морају се чувати у усправном положају на сталку.
2. Епрувете са узорцима треба покрити новом чистом пластичном баријером или фолијом.
3. Ако узорке које анализирате треба замрзнути или транспортовати, уклоните пробојни чеп и ставите нови непробојни чеп на епрувете за узорке. Ако се узорци морају послати да би се извршила испитивања у другој установи, морају се одржавати у дефинисаном опсегу температура. Пре уклањања чепова епрувета са претходно тестираних и поново зачепљених узорака, епрувете са узорцима морају се центрифугирати 5 минута на 420 обртаја релативне центрифугалне силе (RCF) тако да се сва течност слегне на дно епрувете.

Напомена: Отпрема узорака мора се вршити у складу са важећим националним и међународним прописима о транспорту.

Систем „Panther”

У наставку су наведени реагенси за Aptima тест на ХПВ за Panther систем.
Идентификациони симболи реагенса су такође наведени поред назива реагенса.

Обезбеђени реагенси и материјали

Aptima комплет за тестирање на ХПВ, 250 тестова, Кат. Бр. 303093 (3 кутије)

Aptima комплет за тестирање на ХПВ, 100 тестова, Кат. Бр. 302929 (3 кутије)

Калибратори се могу купити засебно. Погледајте појединачне каталошке бројеве у наставку.

Aptima ХПВ расхладна комора
(чувати на температури од 2°C до 8°C након пријема)

Симбол	Компонента	Количина
A	Реагенс за амплификацију ХПВ <i>Неинфективне нуклеинске киселине осушене у пуферском раствору који садржи < 5% средства за повећање волумена.</i>	1 бочица
E	Ензимски реагенс за ХПВ <i>Реверзна транскриптаза и РНК полимеразе су осушени у HEPES пуферованом раствору који садржи < 10% средства за повећање волумена.</i>	1 бочица
P	Реагенс пробе ХПВ <i>Неинфективне хемилуминесцентне ДНК пробе (< 500 ng/ бочица) су осушене у сукцинатном пуферском раствору који садржи < 5% детерџента.</i>	1 бочица
IC	Реагенс за унутрашњу контролу ХПВ-а <i>Неинфективни РНК транскрипт у пуферском раствору који садржи < 5% детерџента.</i>	1 бочица

Aptima ХПВ кутија за складиштење на собној температури
(чувати на собној температури, 15°C до 30°C по пријему)

Симбол	Компонента	Количина
AR	Реконституцијски раствор за амплификацију ХПВ-а <i>Водени раствор који садржи конзервансе.</i>	1
ER	Раствор за реконституцију ензима ХПВ-а <i>Садржи HEPES пуферски раствор који садржи сурфактант и глицерол.</i>	1
PR	Раствор за реконституцију проба ХПВ-а <i>Пуферски раствор сукцината који садржи < 5% детерџента.</i>	1
S	ХПС селекциони реагенс <i>600 mM боратног пуферског раствора који садржи површински активан сурфактант.</i>	1
TCR	Реагенс за хватање циљних молекула ХПВ-а <i>Пуферски раствор који садржи чврсте фазе и олигомере за хватање молекула (<0,5 мг/мл).</i>	1
	Прстенови за реконституцију	3
	Листа бар-кодова Мастер серије	1 лист

Кутија за калибраторе Aptima ХПВ Aptima (Кат. Бр. 302554)
(чувати на температури од 2°C до 8°C након пријема)

Симбол	Компонента	Количина
PCAL	Калибратор позитивног ХПВ <i>In vitro</i> неинфективни ХПВ 16 транскрипт од 1 000 копија по мл у пуферском раствору који садржи < 5% детерџента.	5 бочица
NCAL	Калибратор негативног ХПВ-а Пуферисани раствор које садржи < 5% детерџента.	5 бочица

Потребни материјали који се могу купити засебно

Напомена: Материјали доступни код компаније Hologic имају каталошке бројеве, осим ако није другачије назначено.

Материјал	Кат. Бр.
Систем „Panther”	303095
Panther Fusion систем	PRD-04172
Систем за континуирани проток течности и отпада Panther (Panther Plus)	PRD-06067
Panther комплет циклуса	303096
Сет течности Aptima комплета (Aptima раствор за испирање, Aptima пуфер за деактивирајућу течност, и Aptima уљни реагенс)	303014
Aptima комплет за аутоматску детекцију	303013
Јединице за више епрувета (MTU)	104772-02
Panther комплет кеса за смеће	902731
Panther поклопац канте за смеће	504405
Врхови пипета, филтрирани на 1 000 µL, проводљиви, осетљиви на течност и за једнократну употребу	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
Нису сви производи доступни у свим регионима. Контакттирајте свог представника за информације о одређеном региону	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Aptima сет за пренос узорака	301154C
Aptima сет за пренос узорака — може се штампати	PRD-05110
Aptima сет за прикупљање и транспорт цервикалних узорака	302657
Aptima Multitest комплет за прикупљање узорака бриса	PRD-03546
Aptima пробојни чепови	105668
Заменски непропусни чепови	103036A
Резервни чепови за 250 тестних комплета:	—
Реконституцијски раствори реагенса за амплификацију и реагенса проба	CL0041
Раствор за реконституцију ензимског реагенса	501616
TCR и селекциони реагенс	CL0040
Резервни чепови за 100 тестних комплета:	—
Реконституцијски раствори реагенса за амплификацију и реагенса проба	CL0041
Раствор за реконституцију ензимског реагенса	CL0041
TCR и селекциони реагенс	501604
Избељивач 5,0—8,25% (0,7—1,16 M) раствор натријум хипохлорита	—

Рукавице за једнократну употребу —
 Aptima комплет за пренос раствора (искључиво за SurePath узорке) 303658

Додатни материјали

Материјал	Кат. Бр.
Hologic ојачивач избељивача за чишћење	302101
Грејни блок	—
Клацкалица за епрувету	—

Поступак испитивања на систему Panther

Напомена: За више информација о поступцима коришћења Panther-а, погледајте Упутство за употребу система Panther/Panther Fusion.

А. Припрема радног подручја

1. Очистите радне површине на којима ће се припремати реагенси. Обришите радне површине 2,5–3,5% раствором натријум хипохлорита (0,35–0,5 М). Сачекајте да раствор натријум хипохлорита буде у контакту са површинама најмање 1 минут а затим исперите дејонизованом водом (енгл. deionized, DI). Не дозволите да се раствор натријум хипохлорита осуши. Покријте радну површину лабораторијског стола на којем ће се припремати реагенси и узорци чистим упијајућим навлакама са пластифицираном полеђином.
2. Очистите посебну радну површину на којој ће се припремати узорци. Употребите процедуру описану изнад (корак А.1).
3. Очистите све пипеторе. Користите горе описану процедуру за чишћење (корак А.1).

В. Припрема новог сета реагенаса

Напомена: Пре почетка било каквог рада са Panther системом, треба извршити реконституцију реагенаса.

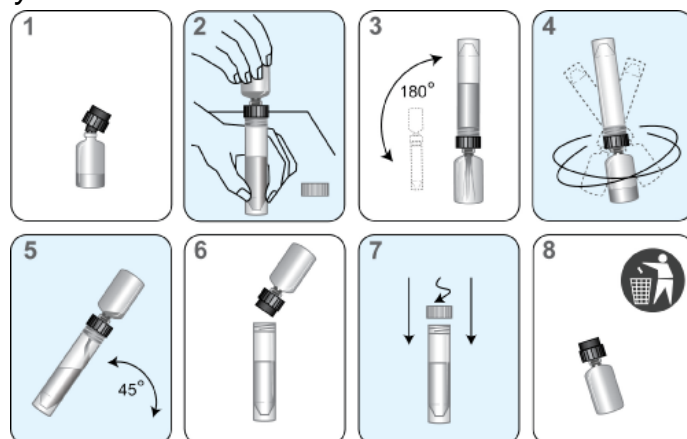
1. Пре тестирања, реагенси за амплификацију, ензим и сонду морају се реконституисати комбиновањем садржаја бочица са лиофилизованим реагенсом са одговарајућим раствором за реконституцију.
 - а. Дозволите да лиофилизовани реагенси достигну собну температуру (15 °C до 30 °C) пре употребе.
 - б. Упарите сваки раствор за реконституцију са његовим лиофилизованим реагенсом. Пре него што причврстите огрлицу за реконституцију, уверите се да раствор за реконституцију и реагенс имају исте симболе на налепници.
 - в. Проверите бројеве серија на листу бар кодова главне серије да бисте били сигурни да су упарени одговарајући реагенси. Обележите затвараче бочица са раствором за реконституцију.
 - д. Отворите стаклену бочицу са лиофилизованим реагенсом и чврсто уметните назубљени крај прстена за реконституцију у отвор стаклене бочице (Слика 1, Корак 1).
 - е. Отворите одговарајућу боцу раствора за реконституцију и поставите поклопац на чисту, покривену радну површину.

- f. Док држите бочицу са раствором на радној површини, чврсто уметните други крај прстена за реконституцију у отвор бочице (Слика 1, корак 2).
- g. Лагано протресите раствор у бочици да се добро измеша. Избегавајте стварање пене приликом протресања бочице (Слика 1 Корак 4).
- h. Подигните спојене бочице и кружним покретима их промешајте да би се садржај темељно измешао. Избегавајте стварање пене док вртите боцу (Слика 1, 4. корак).
- i. Уверите се да је лиофилизован реактенс потпуно растворен. Поново кружним покретима промешајте бочице, а затим благо љуљајте раствор у стакленој бочици напред-назад да би се садржај темељно измешао.
- j. Визуелно проверите да ли је реактенс потпуно растворен, без праха, грудвица или таласастих линија.
- k. Поново полако нагните спојене бочице како би сав раствор отекао назад у бочицу са раствором за реконституцију (слика 1, корак 5).
- l. Уклоните прстен за реконституцију и стаклену бочицу (Слика 1, Корак 6).
- m. Поново затворите пластичну бочицу или сачуваним, обележеним затварачем који одговара том реактенсу или новим затварачем. Немојте заменити затвараче. Забележите иницијале оператера и датум реконституције на етикети (Слика 1, Корак 7).
- n. Одбаците обујмицу за реконституцију и стаклену бочицу (Слика 1, 8. корак).
- o. Пре постављања на Panther систем, сваки реактенс темељно измешајте благим окретањем бочице наопако и назад.

Опција: Додатно мешање реактенаса за амплификацију, ензим и сонду дозвољено је постављањем поново затворених пластичних бочица на љуљалицу за епрувете подешену на умерену брзину и нагиб у трајању од најмање 5 минута. Уверите се да су реактенси темељно промешани.

Упозорење: Избегавајте стварање пене приликом реконституције реактенаса. Пена омета мерење нивоа у Panther систему

Упозорење: Одговарајуће мешање реактенаса неопходно је да би се постигли очекивани резултати теста.



Слика 1. Процес реконституције у Panther систему

2. Припремите радни реактенс за хватање циљне секвенце (wTCR):
 - a. Упарите одговарајуће бочице са TCR и IC.

- b. Проверите бројеве серија на Листи са бар-кодovima Мастер серије да бисте били сигурни да су упарени одговарајући реагенси у комплекту.
 - c. Отворите бочицу TCR и ставите чеп на чисту, покривену радну површину.
 - d. Отворите бочицу IC и сипајте сав садржај у бочицу TCR. Очекујте да у бочици IC остане мала количина течности.
 - e. Затворите бочицу TCR чепом и лагано протресите раствор да бисте помешали садржај. Избегавајте стварање пене у овој фази.
 - f. Запишите иницијале оператера и тренутни датум на етикети.
 - g. Баците IC бочицу и поклопац.
 - h. У wTCR се може створити талог који може довести до неважећих резултата због грешака у провери запремине. Талог се може растворити загревањем wTCR на температури између 42°C и 60°C током 90 минута. Пустите да се wTCR охлади на собну температуру пре употребе. Не користите ако остане талог.
3. Припремите селекциони реагенс
- a. Проверите број серије реагенса на Листи бар-кодова Мастер серије да бисте били сигурни да он припада комплекту.
 - b. Ако реагенс за одабир садржи талог, загревајте га на 60°C ± 1°C током 45 минута да бисте убрзали растварање талогa. Лагано промешајте садржај бочице сваких 5 до 10 минута. Пустите да се селекциони реагенс охлади на собну температуру пре употребе. Не користите ако суи даље присутни талог или замућеност.

Напомена: Темељно промешајте, лагано окрећући све реагенсе пре убацивања у систем. Избегавајте стварање пене док мешате реагенсе.

C. Припрема реагенса за претходно реконституисане реагенсе

1. Пре почетка анализе, претходно реконституисани реагенси за амплификацију, ензими и реагенси проба морају се загрејати на собну температуру (од 15°C до 30°C).

Опција: Реконституисани реагенси за амплификацију, ензим и сонду у затвореним пластичним бочицама могу се поставити на љуљалицу за епрувете подешену на умерену брзину и нагиб у трајању од најмање 25 минута како би се обезбедило да реагенси достигну собну температуру и да се темељно измешају.

2. Ако реконституисани реагенс проба садржи талог који се не враћа у раствор на собној температури, загрејте га на температуру која не прелази 60°C током 1—2 минута. Не користите ако су и даље присутни талог или замућеност.
3. Ако wTCR садржи талог, загрејте га на 42°C-60°C током 90 минута. Пустите да се wTCR охлади на собну температуру пре употребе. Не користите ако остане талог.
4. Ако реагенс за одабир садржи талог, загревајте га на 60°C ± 1°C током 45 минута да бисте убрзали растварање талогa. Лагано промешајте садржај бочице сваких 5 до 10 минута. Пустите да се селекциони реагенс охлади на собну температуру пре употребе. Не користите ако суи даље присутни талог или замућеност.
5. Темељно промешајте сваки реагенс, лагано га окрећући пре него што га убаците у систем. Избегавајте стварање пене док мешате реагенсе.
6. Не пуните бочице са реагенсима до врха. Panther систем препознаје и одбацује боце које су препуњене.

D. Обрада узоракa

1. За сваки узорак прикупљен помоћу Aptima Multitest комплекта за прикупљање узоракa брисом, извршите следеће кораке:

- a. Визуелно потврдите присуство једног ружичастог Aptima Multitest бриса у епрувети за прикупљање.
 - b. Загрејте Aptima Multitest брисеве узорака на 90 °C током 75 минута пре тестирања. Током овог поступка узорци треба да остану затворени.
2. Пустите да се узорци (калибратори и епрувете за узорке) загреју на собну температуру пре обраде.
- 3. Не убацујте узорке у вртложну мешалицу.**
4. Прегледајте епрувете са узорцима пре убацивања у носач апарата. Ако епрувета са узорком садржи мехуриће или има мању запремину од нормалне, центрифугирајте је 5 минута на 420 RCF како бисте били сигурни да нема течности у поклопцу.

Напомена: Непоштовање корака 4 може проузроковати цурење течности из поклопца епрувете са узорком.

Е. Припрема система

1. Подесите систем према упутствима датим у упутству за коришћење *Panther система* и у *Белешке о процедури* одељку испод. Уверите се да се користе носачи за реагенсе и TCR адаптери одговарајуће величине.
2. Убаците узорке.

Белешке о процедури

А. Калибратори

1. За исправан рад са софтвером за анализу Aptima комплекта за тестирање на ХПВ Panther систему потребна су три репликата Позитивног калибратора и три репликата Негативног калибратора. По једна бочица сваког калибратора може се убацити у било које празно место на носачу на било којој траци одељка за узорке Panther система. Пипетирање узорка почиње када се испуни један од следећа два услова:
 - a. Систем тренутно обрађује податке Позитивног и Негативног калибратора.
 - b. Важећи резултати за калибраторе су регистровани у систему.
2. Након пипетирања епрувета калибратора и њиховог третмана помоћу посебног сета реагенаса, узорци се могу користити са одговарајућим сетом реагенаса за анализу у року од 24 сата, осим у случају да:
 - a. су резултати калибратора нетачни.
 - b. одговарајући сет реагенаса комплекта буде извађен из система.
 - c. одговарајући сет реагенаса комплекта премаше граничне вредности стабилности.
3. Покушаји пипетирања више од три репликатора из епрувете калибратора могу довести до грешака у обради.

В. Температура

Собна Температура је дефинисана као температура између 15°C и 30°C.

С. Прах из рукавица

Као и код било ког другог система за реагенсе, вишак праха на неким рукавицама може контаминирати отворене епрувете. Препоручује се употреба рукавица без праха.

Поступци контроле квалитета

A. Критеријуми поузданости обраде

Софтвер аутоматски одређује ваљаност обраде. Софтвер ће класификовати обраду као неважећу ако се појави било који од следећих услова:

- Више од једног неважећег репликата негативног калибратора.
- Више од једног неважећег репликата позитивног калибратора.

Обраду може означити као неважећу и сам оператер ако се током анализе открију и документују технички проблеми, или проблеми повезани са оператером или инструментом.

Неважећа обрада мора се поновити.

B. Критеријуми прихватљивости калибратора

Табела у наставку приказује RLU критеријуме за негативне и позитивне репликате калибратора.

Негативни калибратор

Аналит ≥ 0 и $\leq 45\,000$ RLU

IC $\geq 75\,000$ и $\leq 400\,000$ RLU

Позитивни калибратор

Аналит $\geq 480\,000$ и $\leq 1\,850\,000$ RLU

IC $\leq 450\,000$ RLU

C. Израчунавање граничне вредности IC

Израчунавање граничне вредности IC се одређује по сигналу IC (трепталнице) од важећих репликата Негативног калибратора.

$$\text{Гранична вредност IC} = 0,5 \times [\text{средња вредност IC RLU важећих репликата Негативног калибратора}]$$

D. Израчунавање граничне вредности анализата

Гранична вредност анализиране супстанце се одређује по сигналу анализиране супстанце (сигнал сјаја) од важећих репликата Негативног калибратора, као и по сигналу анализиране супстанце од важећих репликата Позитивног калибратора

$$\text{Гранична вредност анализата} = \frac{[\text{средња вредност анализата RLU важећих репликата Негативног калибратора}] + 0,09 \times [\text{средња вредност IC RLU важећих репликата Позитивног калибратора}]}{2}$$

E. Израчунавање пропорционалног односа јачине сигнала и граничне вредности анализиране супстанце (S/CO) анализата

Однос S/CO анализата одређује се на основу RLU анализата у тестираном узорку и граничне вредности анализата у обради.

$$\text{S/CO анализата} = \frac{\text{RLU анализата тестног узорка}}{\text{гранична вредност анализата}}$$

Тумачење теста

Резултате теста аутоматски одређује софтвер за тест. Резултат теста може бити негативан, позитиван или неважећи како је дефинисано вредностима IC RLU и S/CO за дати аналит. Први важећи резултат је резултат који треба пријавити. Резултат теста такође може бити неважећи због тога што су други параметри (абнормални облик кинетичке криве) изван нормалних очекиваних опсега. Неважеће резултате теста треба поновити. Ако је резултат неважећи након поновног тестирања, треба прикупити нови узорак.

Узорци Aptima CSCT комплета могу се разблажити да би се елиминисале потенцијалне инхибиторне супстанце. Разблажите 1 део неважећег узорка у 8 делова медијума за пренос узорка (раствор у епруветама из комплета CSCT); на пример, 560 µL узорка у нову епрувету из комплета CSCT која садржи 4,5 мл медијума за пренос узорка. Лагано окрените разблажени узорак да се промеша; избегавајте стварање пене. Тестирајте разблажени узорак према стандардном поступку испитивања.

Напомена: За тестирање 1 аликвота узорка потребна је минимална запремина од 1,7 мл. Не разблажујте неважећи разблажени узорак. Ако разблажени узорак даје неважећи резултат, треба узети нови узорак од пацијента.

Резултат Aptima теста на ХПВ	Критеријуми
Негативан	$S/CO \text{ аналита} < 0,50$ $IC \geq IC \text{ гранична вредност}$ $IC \leq 2\,000\,000 \text{ RLU}$
Позитивно	$S/CO \text{ аналита} \geq 0,50$ $IC \leq 2\,000\,000 \text{ RLU}$ $\text{Аналит} \leq 13\,000\,000 \text{ RLU}$
Неважећи	$IC > 2\,000\,000 \text{ RLU}$ или $S/CO \text{ аналита} < 0,50$ и $IC < \text{гранична вредност } IC$ или $\text{Аналит} > 13\,000\,000 \text{ RLU}$

Ограничења

- A. Врсте узорака, осим оних назначених за употребу према намени, нису процењиване.
- B. Ефикасност Aptima теста на ХПВ код особа вакцинисаних против ХПВ-а није процењена.
- C. Aptima тест на ХПВ није процењен у случајевима сумње на сексуално злостављање.
- D. Преваленција ХПВ инфекције у популацији може утицати на радну продуктивност. Позитивне предиктивне вредности се смањују када се тестирају популације са ниском преваленцијом, или особе без ризика од инфекције.
- E. ThinPrep течни цитолошки узорци који садрже мање од 1 мл након припреме ThinPrep Папа стакалца сматрају се недовољним за Aptima тест на ХПВ.
- F. Није рађена процена утицаја уклањања 1 мл течног цитолошког препарата SurePath пре цитолошке обраде на резултат цитолошког испитивања.
- G. Неправилно прикупљање, складиштење или обрада узорака могу утицати на резултате испитивања.
- H. Интерна контрола (IC) прати кораке хватања циљних молекула, амплификације и детекције током анализе. Она није намењена да контролише ваљаност самог поступка узимања узорака из грлића материце.
- I. Негативни резултат Aptima теста на ХПВ не искључује могућност цитолошких абнормалности или будућих или прикривених CIN2, CIN3 или карцинома.
- J. Интимни лубриканти који садрже поликватернијум 15 могу утицати на ефикасност резултата теста ако је њихов садржај у испитиваном узорку већи од 0,025% (запреминског или тежинског удела, v/v или w/v).
- K. Антифунгални лекови који садрже тиоконазол могу утицати на резултате анализе ако је њихова концентрација већа од 0,075% (w/v) у испитиваном узорку.
- L. Средство за заштиту од сунца које садржи цинк-оксид може ометати перформансе теста када је присутно у концентрацијама већим од 2,5% (w/v) тест узорка.
- M. Крем за хемороиде који садржи цинк-оксид, бизмут-оксид и перуански балзам може ометати перформансе теста када је присутан у концентрацијама већим од 1% (w/v) тест узорка.
- N. Слиз може ометати перформансе теста када је присутна у концентрацијама већим од 2,5% (w/v) тест узорка.
- O. Aptima тест на ХПВ даје квалитативне резултате. Стога није могуће успоставити корелацију између величине позитивног сигнала анализе и нивоа експресије иРНК у узорку.
- P. Откривање иРНК високоризичног ХПВ-а зависи од броја копија присутних у узорку и на њега може утицати метода прикупљања узорака, фактори везани за пацијента, стадијум инфекције и присуство интерферирајућих супстанци.

- Q. Инфекција ХПВ-ом није показатељ цитолошког HSIL-а или прикривеног високог степена CIN, нити значи да ће се развити CIN2, CIN3 или рак. Већина жена које су заражене једним или више типова високоризичног ХПВ-а не развије високоризичне CIN2, CIN3 или рак.
- R. Утицај других потенцијалних фактора као што су вагинални исцедак, употреба тампона, вагинално испирање итд., као и варијабле које утичу на прикупљање узорака нису процењени.
- S. Употреба овог производа треба да буде ограничена на особље које је обучено за употребу Aptima теста на ХПВ.
- T. Унакрсна контаминација узорака може довести до лажно позитивних резултата. У претклиничкој студији утврђено је да стопа преноса хуманог папилома вируса када се анализира Aptima тест на ХПВ помоћу Panther система износи 0,7%.
- U. Резултате Aptima теста на ХПВ треба тумачити у комбинацији са другим лабораторијским и клиничким подацима доступним лекару.
- V. Лажно позитивни резултати могу се појавити током извођења овог теста. *In vitro* транскрипти ХПВ генотипова ниског ризика 26, 67, 70 и 82 показали су унакрсну реактивност са Aptima тестом на ХПВ.
- W. Могу се уочити разлике у перформансама код самостално узетих вагиналних узорака у поређењу са цервикалним узорцима које је узео лекар. Пацијенткиње са позитивним резултатима из самостално узетих вагиналних узорака треба упутити лекару на даљу евалуацију.

Очекивани резултати Panther система: Преваленција иРНК високоризичног ХПВ-а

Преваленција високоризичне ХПВ инфекције увелико варира и зависи од неколико фактора на које највише утиче старосна доб.^{36,37} Многе студије су испитивале преваленцију ХПВ-а утврђену откривањем ХПВ ДНК, међутим, само неколико студија извештава о преваленцији заснованој на откривању иРНК онкогених ХПВ-а. Жене са различитих клиничких локација (n=18) које представљају широку географску покривеност и разнолику популацију (10 држава у Сједињеним Државама) укључене су у проспективну клиничку студију познату као CLEAR испитивање. Као што је утврђено анализом ХПВ Aptima из Panther система, преваленција узорака позитивних на иРНК ХПВ уочених у клиничком испитивању категоризована је у целини по старосним групама и по локацији испитивања. Резултати су представљени у Табела 1 за популације са резултатима ASC-US (атипичне сквамозне ћелије неодређеног значаја) и NILM (негативно на интраепителну лезију или малигни тумор).

Табела 1: Преваленција иРНК високоризичног ХПВ-а у подели по старосној групи, локација тестирања и свеукупно

	Проценат позитивног резултата, % (x/n)	
	ASC-US популација (≥21 година)	NILM популација (≥30 година)
Сви	42,3 (404/956)	4,7 (512/10 860)
Старосна група (године)		
од 21 до 29	60,0 (251/418)	Н/П
од 30 до 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4 192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6 668)
Локација тестирања		
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)

Н/П = Није Применљиво

Дизајн клиничког испитивања за Aptima тест на ХПВ с течним цитолошким узорцима ThinPrep

Анализа Aptima теста на ХПВ на Panther систему процењена је коришћењем резидуалних референтних цитолошких узорака прикупљених од жена на основу њиховог пристанка у проспективном мултицентричном клиничком испитивању у САД-у познатом као CLEAR испитивање.³⁸

Тест Aptima HPV је први пут пуштен у рад на систему Tigris DTS 2008. године. У 2011. години, индикације су проширене на употребу теста Aptima HPV на систему Panther. Систем Panther је алтернативна, мања инструментална платформа за систем Tigris DTS. Оба система имају за циљ да у потпуности аутоматизују тестирање амплификоване нуклеинске киселине дијагностичких тестова. Одабрано тестирање перформанси теста обављено на систему Tigris DTS употребљено је као потпора за перформансе теста на систему Panther.

CLEAR испитивање — процена почетне фазе

CLEAR испитивање је извршено у циљу одређивања клиничне ефикасности Aptima теста на ХПВ на Tigris DTS систему за откривање цервикалне интраепителне неоплазије 2. степена или озбиљнијег обољења грлића материце ($\geq$ CIN2). CLEAR испитивање је укључивало процену почетне фазе и процену током трогодишњег праћења. Жене су биле укључене или у ASC-US студију или у NILM студију на основу резултата цитолошког испитивања на рутинском скринингу рака грлића материце. Студија ASC-US популације обухватила је жене старости 21 године и више са цитолошким резултатима ASC-US, а NILM студија је обухватила жене старости 30 година и више са NILM цитолошким резултатима. NILM студија је дизајнирана да подржи захтеве за додатним скринингом за жене старости од 30 година и више, јер жене у овом старосном распону са резултатима цитолошког испитивања већим од ASC-US треба да се подвргну колпоскопији без обзира на њихов ХПВ статус.³⁹

Студија је обухватила жене из 18 клиничких центара испитивања, пре свега акушерских/гинеколошких клиника, које су покривале широку географску покривеност и разнолику популацију. Жене које испуњавају услове биле су укључене у ASC-US студију или NILM студију на основу њиховог референтног ThinPrep течног цитолошког узорка. У почетној фази, резидуални референтни узорци узети од жена у ASC-US студији и NILM студији првобитно су тестирани на оба начина — Aptima тестом на ХПВ у Tigris DTS систему и комерцијално доступним ДНК тестом на ХПВ. Узорци су затим архивирани и чувани на -70°C док нису тестирани Aptima тестом на ХПВ на Panther систему.

У почетној фази CLEAR студије (Почетна фаза), све жене које су учествовале у ASC-US студији биле су упућене на колпоскопију, без обзира на резултате њиховог ХПВ теста. Добијени су резултати биопсије ендоцервикалне киретаже (ЕКС) и биопсије пункције грлића материце (1 биопсија из сваког од 4 квадранта). Ако је лезија била видљива, извршена је биопсија пункције (усмерена метода; 1 биопсија за сваку лезију), као и биопсија квадранта без видљиве лезије у пределу сквамозно-колумнарног прелаза (случајна метода).

У оквиру NILM студије, жене са позитивним резултатом на тесту Aptima HPV на систему Tigris DTS и/или на комерцијално доступном HPV ДНК тесту, као и насумично одабране жене које су биле негативне на оба теста, упућене су на колпоскопију ради почетне евалуације. Насумично одабране жене код којих су резултати обе анализе били негативни укључене су да би се исправила грешка у валидацији помоћу прилагођених процена ефикасности добијених методом вишеструке импутације. Свака жена која је прошла колпоскопију прошла је и ЕКС биопсију. Биопсије пункцијом узимане су само из видљивих лезија (усмерена метода; 1 биопсија по лезији).

Статус болести је одређен од стране Консензусне комисије за хистолошку експертизу, која је била заснована на усаглашености налаза најмање 2 експерта патолога. ХПВ статус жена је био скривен од стручњака за патологију. Такође им је био непознат цитолошки статус, као и хистолошке дијагнозе које су дале њихове колеге из комисије. Ако није било консензуса између сва 3 патолога, сва 3 патолога би прегледала слајдове помоћу микроскопа са више глава како би дошли до консензуса. Истраживачи, клинички здравствени радници и жене нису били упознати са резултатима ХПВ теста пре завршетка колпоскопије како би се избегла пристрасност.

У почетној фази, процењена је клиничка ефикасност Aptima теста на ХПВ за откривање $\geq$ CIN2 и цервикалне интраепителне неоплазије 3. степена или теже болести грлића материце ($\geq$ CIN3) у поређењу са статусом болести грлића материце утврђеним у почетној фази испитивања. Клиничка ефикасност комерцијално доступног ДНК теста на ХПВ такође је одређена за директно поређење са резултатима Aptima теста на ХПВ.

CLEAR испитивање — процена контролног праћења

Жене које су учествовале у NILM студији из 14 клиничких локација су испуњавале услове за учешће у трогодишњој фази контролног праћења ако су: i) биле подвргнуте колпоскопији на почетку студије и нису имале $\geq$ CIN2, или ii) нису биле подвргнуте колпоскопији у почетној фази студије. Контролна фаза студије састојала се од годишњих прегледа. Током ових посета, од сваке жене је узет узорак грлића материце за цитолошки преглед, а неке жене су такође тестиране комерцијално доступним ДНК тестом на ХПВ. Жене са ASC-US или тежим цитолошким резултатима током контролне фазе упућене су на колпоскопију користећи исте поступке биопсије и хистолошке поступке који су спроведени у процени NILM у почетној фази испитивања. Статус болести грлића материце у контролном прегледу сматран је „негативним” на основу NILM цитолошке анализе или, за жене са абнормалним резултатима цитолошке анализе, на основу нормалног резултата или резултата CIN1 утврђеног од стране Консензусне комисије за хистолошку експертизу. За жене које су имале $\geq$ CIN2 утврђен током контролног периода праћења сматра се да су комплетирале контролно праћење и нису посећивале лекаре након откривања $\geq$ CIN2. За жене којима није утврђен $\geq$ CIN2 у периоду контролног праћења, али су посетиле лекара у оквиру студије у контролној фази током 1. и/или 2. године праћења и које су посетиле лекара током 3. године праћења у оквиру студије, сматра се да су комплетирале контролно праћење.

Циљ студије контролног праћења био је да се упореди кумулативни трогодишњи ризик од цервикалне болести код жена са почетним позитивним резултатом Aptima теста на ХПВ са кумулативним трогодишњим ризиком од цервикалне болести код жена са почетним негативним резултатом Aptima теста на ХПВ. Утврђен је трогодишњи статус болести грлића материце изложен у наставку:

- Позитиван статус болести грлића материце ($\geq$ CIN2 и/или $\geq$ CIN3) — жене код којих је откривен $\geq$ CIN2 у почетној фази или током фазе контролног праћења.
- Негативан статус цервикалне болести ($<$ CIN2) — жене код којих током контролне фазе праћења није утврђен $\geq$ CIN2 и које нису имале „недефинисани” статус болести грлића материце.
- Недефинисани статус болести грлића материце — Жене које су имале абнормалне резултате цитолошке анализе током контролног праћења и које нису имале накнадне резултате Консензусне комисије за хистолошку експертизу, или жене са неадекватном цитолошком анализом у последњој контроли.
- Пропуштено контролно праћење — жене које нису комплетирале прегледе праћења и за које се сматрало да немају „недефинисани” статус болести грлића материце.

Клиничка ефикасност Aptima теста на ХПВ помоћу Panther система за откривање $\geq$ CIN2 и $\geq$ CIN3 процењена је на основу трогодишњег статуса болести грлића материце.

Ефикасност теста на Panther систему

ASC-US ≥ популација старија од 21 године: Клиничка ефикасност Aptima теста на ХПВ

Укупно, ASC-US студија је обухватила 1 252 жене старости 21 и више година са ASC-US резултатима цитолошког испитивања, од којих су 294 жене искључене. Преосталих 958 жена су испуњавале услове за тестирање на систему Panther. Узорци две жене су загубљени, а 19 их је имало недефинисану дијагнозу болести; све оне су искључене из анализе. Преосталих 937 жена које су се квалификовале за процену било је старије од 21 године са ASC-US резултатима цитолошког испитивања, резултатима Aptima теста на ХПВ на Panther систему и конкретним закључком о статусу болести. Деведесет и једна (91) жена имала је ≥CIN2, а четрдесет и једна (41) ≥CIN3. Преваленција ≥CIN2 и ≥CIN3 код жена које су се квалификовале за процену са ASC-US резултатима цитолошког испитивања била је 9,7%, односно 4,4%. Анализа резултата Aptima теста на ХПВ од стране Консензусне комисије за хистолошку експертизу представљена је у Табела 2.

Табела 2: ASC-US ≥ популација старија од 21 године: Резултати Aptima теста на ХПВ од стране Консензусне комисије за хистолошку експертизу

Aptima ХПВ Резултат теста*	ДНК тест на ХПВ	Дијагноза Консензусне комисије за хистолошку експертизу						Укупно
		Недефинисано**	Нормално	CIN1	CIN2	CIN3	Канцер	
Позитивно	Позитивно	6	178	110	40	32	1	367
Позитивно	Негативан	0	5	2	0	2	0	9
Позитивно	Нема резултата***	0	15	11	0	2	0	28
Негативан	Позитивно	0	39	15	3	3	0	60
Негативан	Негативан	10	372	53	7	1	0	443
Негативан	Нема резултата***	3	39	7	0	0	0	49
Укупно		19	648	198	50	40	1****	956

* Сви узорци су имали коначне важеће резултате (након почетног тестирања или након уклањања почетних неважећих резултата у свакој процедури).

** 19 пацијената је подвргнуто колпоскопији, али дијагноза није утврђена из следећих разлога: Добијено је < 5 узорака биопсије, сви са нормалним резултатима хистолошког испитивања Нормално/CIN1 (n=15), нису урађене биопсије (n=3), узорци биопсије су изгубљени (n=1).

*** 77 жена са резултатима Aptima теста на ХПВ нису имале резултате ДНК теста на ХПВ, углавном због недовољне запремине узорка за цитолошку анализу.

**** Један пацијент је имао аденокарцином in situ (AIS).

Процене клиничке ефикасности Aptima теста на ХПВ, укључујући осетљивост, специфичност, позитивну предиктивну вредност (PPV) и негативну предиктивну вредност (NPV) за откривање ≥CIN2 и ≥CIN3, засноване на процени свих биопсија и које укључују само циљне биопсије, дате су у одељку Табела 3, као и процене за комерцијално доступне ДНК тестове на ХПВ.

Табела 3: ASC-US ≥ популација старија од 21 године: Ефикасност Aptima теста на ХПВ и ДНК тестана ХПВ у откривању ≥CIN2 и ≥CIN3

Ефикасност	Aptima тест на ХПВ N=937		ДНК тест на ХПВ N=863*	
	Процена	(95% CI)	Процена	(95% CI)
≥CIN2	Све биопсије			
	Осетљивост (%)	84,6 (77/91)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)
	Специфичност (%)	62,1 (525/846)	55,8 (432/774)	(52,3, 59,3)
	PPV (%)	19,3 (77/398)	18,8 (79/421)	(17,0, 20,4)
	NPV (%)	97,4 (525/539)	97,7 (432/442)	(96,2, 98,8)
	Преваленција (%)	9,7 (91/937)	10,3 (89/863)	
	Циљне биопсије**			
	Осетљивост (%)	90,0 (54/60)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)
	Специфичност (%)	60,8 (531/874)	54,5 (437/802)	(51,0, 57,9)
	PPV (%)	13,6 (54/397)	13,1 (55/420)	(11,7, 14,2)
	NPV (%)	98,9 (531/537)	99,1 (437/441)	(97,9, 99,7)
	Преваленција (%)	6,4 (60/934)	6,9 (59/861)	
≥CIN3	Све биопсије			
	Осетљивост (%)	90,2 (37/41)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
	Специфичност (%)	59,7 (535/896)	53,3 (439/824)	(49,9, 56,7)
	PPV (%)	9,3 (37/398)	8,6 (36/421)	(7,4, 9,4)
	NPV (%)	99,3 (535/539)	99,3 (439/442)	(98,3, 99,8)
	Преваленција (%)	4,4 (41/937)	4,5 (39/863)	
	Циљне биопсије**			
	Осетљивост (%)	93,1 (27/29)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)
	Специфичност (%)	59,1 (535/906)	52,8 (440/834)	(49,4, 56,1)
	PPV (%)	6,8 (27/398)	6,4 (27/421)	(5,5, 7,0)
	NPV (%)	99,6 (535/537)	99,8 (440/441)	(98,9, 100)
	Преваленција (%)	3,1 (29/935)	3,2 (28/862)	

* 74 жене са резултатима Aptima теста на ХПВ нису имале резултате ДНК теста на ХПВ, углавном због недовољне запремине узорка за цитолошку анализу.

** Консензусни хистолошки резултат је изведен искључивим коришћењем резултата циљане биопсије. Жене које нису имале циљану биопсију одражавају резултате конвенционалне колпоскопије и укључене су у ове тестове као необолеле (<CIN2 или <CIN3, у зависности од околности). Није увек било могуће постићи консензус када су биле укључене искључиво циљане биопсије.

У процени свих биопсија, клиничке процене осетљивости Aptima теста на ХПВ и комерцијално доступних ДНК тестова на ХПВ за откривање $\geq\text{CIN}2$ и $\geq\text{CIN}3$, у случајевима где су били доступни резултати оба теста, биле су сличне (разлике у резултатима осетљивости нису биле статистички значајне). За $\geq\text{CIN}2$ разлика у осетљивости била је -4,5% (95% CI: -12,2%, 2,5%). Процене клиничке специфичности Aptima теста на ХПВ за откривање $\geq\text{CIN}2$ и $\geq\text{CIN}3$ биле су веће од резултата комерцијално доступних ДНК тестова на ХПВ (разлике у проценама специфичности биле су статистички значајне). За $\geq\text{CIN}2$ разлика у специфичности била је 6,1% (95% CI: 4,2%, 8,2%). Стопе NPV биле су сличне, али за откривање $\geq\text{CIN}2$, ниво PPV за Aptima тест на ХПВ био је нешто виши него код комерцијално доступних ДНК тестова на ХПВ (19,3% наспрам 18,8%).

Од 91 случаја са $\geq\text{CIN}2$, 60 (65,9%) је идентификовано на циљној биопсији, а 31 (34,1%) на насумичној и/или ЕСС биопсији (тј. нециљаним биопсијама). Ови подаци су упоредиви са резултатима објављених студија у којима је отприлике од 25% до 40% случајева $\geq\text{CIN}2$ идентификовано искључиво на основу насумичних и/или ЕСС биопсија^{40,41} Уз искључиво коришћење резултата циљане биопсије да би се утврдио статус оболења (под претпоставком да су жене које нису имале циљане биопсије имале нормалне хистолошке резултате јер није било видљивих лезија), преваленција $\geq\text{CIN}2$ и $\geq\text{CIN}3$ у студији била је 6,4% за први, односно 3,1% за други. Процене клиничке осетљивости за откривање $\geq\text{CIN}2$ и $\geq\text{CIN}3$ биле су веће за оба теста уз искључиво коришћење циљане биопсије у односу на процене израчунате коришћењем свих биопсија. За оба теста, клиничка специфичност када се користи само циљана биопсија била је слична оној која је добијена приликом укључивања резултата свих биопсија. Сходно томе, када се користи искључиво циљана биопсија, специфичност Aptima теста на ХПВ била је значајно већа од оне комерцијално доступних ДНК тестова на ХПВ.

Клиничке процене ефикасности Aptima теста на ХПВ и комерцијално доступних ДНК тестова на ХПВ приказане су према старосној групи у Табела 4и Табела 5 ($\geq\text{CIN}2$ и $\geq\text{CIN}3$, тим редом, на основу процене свих биопсија).

Табела 4: ASC-US ≥ популација старија од 21 године: Ефикасност Aptima теста на ХПВ и ДНК тестова на ХПВ у откривању ≥CIN2 по старосној групи

	Aptima тест на ХПВ N=937			ДНК тест на ХПВ N=863*	
	Ефикасност	Процена	(95% CI)	Процена	(95% CI)
од 21 до 29 година		N=415		N=389	
	Осетљивост (%)	88,5 (54/61)	(78,2, 94,3)	94,9 (56/59)	(86,1, 98,3)
	Специфичност (%)	44,9 (159/354)	(39,8, 50,1)	35,5 (117/330)	(30,5, 40,8)
	PPV (%)	21,7 (54/249)	(19,3, 23,9)	20,8 (56/269)	(19,0, 22,5)
	NPV (%)	95,8 (159/166)	(92,3, 98,1)	97,5 (117/120)	(93,6, 99,4)
	Преваленција (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
од 30 до 39 година		N=261		N=238	
	Осетљивост (%)	85,0 (17/20)	(64,0, 94,8)	80,0 (16/20)	(58,4, 91,9)
	Специфичност (%)	66,4 (160/241)	(60,2, 72,1)	61,9 (135/218)	(55,3, 68,1)
	PPV (%)	17,3 (17/98)	(13,1, 21,1)	16,2 (16/99)	(11,8, 19,8)
	NPV (%)	98,2 (160/163)	(95,7, 99,6)	97,1 (135/139)	(94,1, 99,1)
	Преваленција (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
≥ 40 година		N=261		N=236	
	Осетљивост (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	Специфичност (%)	82,1 (206/251)	(76,9, 86,3)	79,6 (180/226)	(73,9, 84,4)
	PPV (%)	11,8 (6/51)	(5,6, 17,7)	13,2 (7/53)	(6,9, 18,7)
	NPV (%)	98,1 (206/210)	(96,6, 99,4)	98,4 (180/183)	(96,6, 99,6)
	Преваленција (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	

* 74 жене са резултатима Aptima теста на ХПВ нису имале резултате ДНК теста на ХПВ, углавном због недовољне запремине узорка за цитолошку анализу.

Табела 5: ASC-US ≥ популација старија од 21 године: Ефикасност Aptima теста на ХПВ и ДНК тестова на ХПВ у откривању ≥CIN3 по старосној групи

	Ефикасност	Aptima тест на ХПВ N=937		ДНК тест на ХПВ N=863*	
		Процена	(95% CI)	Процена	(95% CI)
од 21 до 29 година		N=415		N=389	
	Осетљивост (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Специфичност (%)	42,5 (165/388)	(37,7, 47,5)	33,0 (120/364)	(28,3, 38,0)
	PPV (%)	10,4 (26/249)	(9,0, 11,5)	9,3 (25/269)	(8,2, 10,0)
	NPV (%)	99,4 (165/166)	(97,2, 100)	100 (120/120)	(97,5, 100)
	Преваленција (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
од 30 до 39 година		N=261		N=238	
	Осетљивост (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Специфичност (%)	64,3 (162/252)	(58,2, 69,9)	59,8 (137/229)	(53,4, 66,0)
	PPV (%)	8,2 (8/98)	(5,0, 10,1)	7,1 (7/99)	(4,0, 9,2)
	NPV (%)	99,4 (162/163)	(97,6, 100)	98,6 (137/139)	(96,4, 99,8)
	Преваленција (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
≥ 40 година		N=261		N=236	
	Осетљивост (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Специфичност (%)	81,3 (208/256)	(76,0, 85,6)	78,8 (182/231)	(73,1, 83,6)
	PPV (%)	5,9 (3/51)	(1,6, 9,7)	7,5 (4/53)	(2,9, 10,7)
	NPV (%)	99,0 (208/210)	(98,0, 99,9)	99,5 (182/183)	(98,2, 100)
	Преваленција (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

* 74 жене са резултатима Aptima теста на ХПВ нису имале резултате ДНК теста на ХПВ, углавном због недовољне запремине узорка за цитолошку анализу.

Апсолутни ризик од оболевања ($\geq\text{CIN}2$ и $\geq\text{CIN}3$ на основу процене свих биопсија) на основу резултата Aptima теста на ХПВ и релативни ризик од оболевања за позитивне у односу на негативне резултате Aptima теста на ХПВ приказани су у табели Табела 6, као и процене за комерцијално доступне ДНК тестове на ХПВ. Релативни ризик од $\geq\text{CIN}2$ био је 7,4 (95% CI: 4,3, 13,0), што указује да је жена са позитивним резултатом Aptima теста на ХПВ имала 7,4 пута већу вероватноћу да има $\geq\text{CIN}2$ него жена са негативним резултатом Aptima теста на ХПВ. Релативни ризик од $\geq\text{CIN}3$ био је 12,5 (95% CI: 4,5, 34,9).

Табела 6: ASC-US $\geq$ популација старија од 21 године: Апсолутни и релативни ризик $\geq\text{CIN}2$ и $\geq\text{CIN}3$ за резултате Aptima теста на ХПВ и ДНК теста на ХПВ

	Резултат теста	Aptima тест на ХПВ N=937		ДНК тест на ХПВ N=863*	
		Апсолутни ризик (95% CI)	Релативни ризик (95% CI)	Апсолутни ризик (95% CI)	Релативни ризик (95% CI)
≥CIN2	Позитивно	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)
	Негативан	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
		Преваленција (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)
≥CIN3	Позитивно	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)
	Негативан	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
		Преваленција (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)

* 74 жене са резултатима Aptima теста на ХПВ нису имале резултате ДНК теста на ХПВ, углавном због недовољне запремине узорка за цитолошку анализу.

Резултати процене апсолутног и релативног ризика од оболевања ($\geq$ CIN2 и $\geq$ CIN3 на основу процене свих биопсија) за Aptima тест на ХПВ и комерцијално доступне ДНК тестове на ХПВ приказани су у табели у наставку, приказани према старосној групи Табела 7.

Табела 7: ASC-US $\geq$ популација старија од 21 године: Апсолутни и релативни ризик од $\geq$ CIN2 и $\geq$ CIN3 за резултате Aptima теста на ХПВ и ДНК теста на ХПВ

		Aptima тест на ХПВ N=937		ДНК тест на ХПВ N=863*		
Старосна доб	Резултат теста	Апсолутни ризик (95% CI)	Релативни ризик (95% CI)	Апсолутни ризик (95% CI)	Релативни ризик (95% CI)	
≥CIN2	од 21 до 29 година	N=415		N=389		
		Позитивно	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)
		Негативан	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Преваленција (%)	9,7 (61/415)	15,2 (59/389)		
	од 30 до 39 година	N=261		N=238		
		Позитивно	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)
		Негативан	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Преваленција (%)	7,7 (20/261)	8,4 (20/238)		
	≥ 40 година	N=261		N=236		
		Позитивно	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)
Негативан		1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)		
Преваленција (%)		3,8 (10/261)	4,2 (10/236)			
≥CIN3	од 21 до 29 година	N=415		N=389		
		Позитивно	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Не може се израчунати
		Негативан	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Преваленција (%)	6,5 (27/415)	6,4 (25/389)		
	од 30 до 39 година	N=261		N=238		
		Позитивно	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)
		Негативан	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Преваленција (%)	3,4 (9/261)	3,8 (9/238)		
	≥ 40 година	N=261		N=236		
		Позитивно	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)
Негативан		1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)		
Преваленција (%)		1,9 (5/261)	2,1 (5/236)			

* 74 жене са резултатима Aptima теста на ХПВ нису имале резултате ДНК теста на ХПВ, углавном због недовољне запремине узорка за цитолошку анализу.

Популација NILM $\geq$ 30 година: Клиничка ефикасност Aptima теста на ХПВ уз коришћење ThinPrep течних цитолошких узорак у почетној фази студије

Укупно су у NILM студији учествовало 11 644 жене са NILM цитолошким резултатима цитолошке студије, од којих су 773 жене биле искључене. Преосталих 10 871 жена су испуњавале услове за тестирање на систему Panther. Једанаест жена није имало узорке и биле су искључене из основне процене Aptima теста на ХПВ урађеног на Panther систему. Преосталих 10 860 жена које се квалификују за процену било је старије од 30 година са NILM резултатима цитолошког испитивања и Aptima тестом на ХПВ урађеном на Panther систему. Од 512 жена са позитивним резултатима Aptima теста на ХПВ урађеног на Panther систему, 284 је у почетној фази подвргнуто колпоскопији. Од 10 348 жена са негативним резултатима Aptima теста на ХПВ, 580 је у почетној фази подвргнуто колпоскопији. Двадесет (20) жена имало је $\geq$ CIN2, а једанаест (11) $\geq$ CIN3; код 798 жена хистологија је била Нормална/CIN1; код 46 жена статус болести није утврђен. Резултати Aptima теста на ХПВ урађеног на Panther систему, који је спровела Консензусна комисија за хистолошку експертизу дијагноза у почетној фази студије, представљени су у Табела 8.

Табела 8: Популација NILM $\geq$ 30 година: Резултати Aptima теста на ХПВ и ДНК теста на ХПВ ДНК на основу налаза Консензусне комисије за хистолошку експертизу дијагноза у почетној фази студије

Резултат Aptima теста на ХПВ*	ДНК тест на ХПВ	Дијагноза Консензусне комисије за хистолошку експертизу						
		Недефинисано**	Нормално	CIN1	CIN2	CIN3	Канцер	Укупно
Позитивно	Позитивно	11	211	12	4	7	2	247
Позитивно	Негативан	2	19	0	0	0	1	22
Позитивно	Нема резултата***	2	12	1	0	0	0	15
Негативан	Позитивно	10	170	7	2	1	0	190
Негативан	Негативан	20	353	9	2	0	0	384
Негативан	Нема резултата***	1	4	0	1	0	0	6
Укупно		46	769	29	9	8	3****	864

* Сви узорци су имали коначне важеће резултате (након почетног тестирања или након уклањања почетних неважећих резултата у свакој процедури).

** 46 пацијената је подвргнуто колпоскопији, али дијагноза није успела да се утврди из следећих разлога: узорци биопсије показали су се неадекватним (n=29), биопсије нису узете (n=15) и биопсије су изгубљене (n=2).

*** 21 жена са резултатима Aptima теста на ХПВ није имала резултате ДНК теста на ХПВ, углавном због недовољне запремине узорка за цитолошку анализу.

**** Три жене су имале аденокарцином in situ (AIS).

Укупно 10 042 жене су имале су непроверени (укључујући непотврђени) статус болести у почетној фази студије (Табела 9). Пошто су само насумично одабране жене са негативним резултатима на оба теста — Aptima теста на ХПВ на Tigris DTS систему и комерцијално доступног ДНК теста на ХПВ упућене на колпоскопију, удео жена са непотврђеним статусом болести у овој групи био је висок (96,6%). Да би се исправио овај отклон верификације, коришћена је метода вишеструке импутације за процену броја оболелих жена које би биле идентификоване да су све жене подвргнуте колпоскопији. Представљене су и процене ефикасности кориговане за отклон верификације и процене ефикасности које нису кориговане за отклон верификације, засноване на 818 жена са потврђеним статусом болести у почетној фази студије.

Табела 9: Популација NILM $\geq$ 30 година: Класификација жена са NILM које се квалификују за процену на основу резултата Aptima теста на ХПВ Aptima и ДНК теста на ХПВ, статуса болести ($\geq$ CIN2 и $\geq$ CIN3) и статуса верификације (потврде) болести

Aptima ХПВ Резултат теста*		ДНК ХПВ Тест	Укупан број жена	Потврђени статус болести: $\geq$ CIN2		Потврђени статус болести: $\geq$ CIN3		Непотврђени статус болести
Систем „Panther”	Tigris DTS System			Оболеле жене ($\geq$ CIN2)	Жене које нису оболеле ($<$ CIN2)	Оболеле жене ($\geq$ CIN3)	Жене које нису оболеле ($<$ CIN3)	Жене са непознатим статусом болести (% Непознато)
Позитивно	Позитивно	Позитивно	313	13	189	9	193	111 (35,5%)
Позитивно	Позитивно	Негативан	37	1	18	1	18	18 (48,6%)
Позитивно	Позитивно	Нема резултата**	22	0	13	0	13	9 (40,9%)
Позитивно	Негативан	Позитивно	70	0	34	0	34	36 (51,4%)
Позитивно	Негативан	Негативан	60	0	1	0	1	59 (98,3%)
Позитивно	Негативан	Нема резултата**	10	0	0	0	0	10 (100%)
Негативан	Позитивно	Позитивно	46	0	33	0	33	13 (28,3%)
Негативан	Позитивно	Негативан	113	1	41	0	42	71 (62,8%)
Негативан	Позитивно	Нема резултата**	8	0	4	0	4	4 (50,0%)
Негативан	Негативан	Позитивно	236	3	144	1	146	89 (37,7%)
Негативан	Негативан	Негативан	9 354	1	321	0	322	9 032 (96,6%)
Негативан	Негативан	Нема резултата**	591	1	0	0	1	590 (99,8%)
Укупно			10 860	20	798	11	807	10 042 (92,5%)

* Сви узорци су имали коначне резултате (након почетног тестирања или након уклањања почетних поништених резултата у свакој процедури).

** 631 жена са резултатима Aptima теста на ХПВ није имала резултате ДНК теста на ХПВ, углавном због недовољне запремине узорка за цитолошку анализу.

Прилагођена преваленција $\geq\text{CIN}2$ и $\geq\text{CIN}3$ код жена са NILM резултатима цитолошког испитивања била је 0,9%, односно 0,4%. Прилагођене процене апсолутног и релативног ризика у откривању $\geq\text{CIN}2$ и $\geq\text{CIN}3$ у почетној фази испитивања дате су у Табела 10. Прилагођени релативни ризик $\geq\text{CIN}2$ био је 7,5 (95% CI: 2,1, 26,3), што указује да је жена са позитивним резултатом Aptima теста на ХПВ имала 7,5 пута већу вероватноћу да има $\geq\text{CIN}2$ него жена са негативним резултатом Aptima теста на ХПВ. Прилагођени релативни ризик $\geq\text{CIN}3$ био је 24,9 (95% CI: 2,0, 307,0). Неприлагођене процене апсолутног и релативног ризика за откривање $\geq\text{CIN}2$ и $\geq\text{CIN}3$ у почетној фази су наведене у целости у Табела 11 и по старосним групама у Табела 12.

Табела 10: Популација NILM ≥ 30 година: Апсолутни и релативни ризик од $\geq\text{CIN}2$ и $\geq\text{CIN}3$ за резултате Aptima теста на ХПВ и ДНК теста на ХПВ (процене прилагођене за грешке верификације) у почетној фази испитивања

	Резултат теста	Aptima тест на ХПВ		ДНК тест на ХПВ	
		Апсолутни ризик (95% CI)	Релативни ризик (95% CI)	Апсолутни ризик (95% CI)	Релативни ризик (95% CI)
≥CIN2	Позитивно	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Негативан	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Преваленција (%)		0,9	0,9	
≥CIN3	Позитивно	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Негативан	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Преваленција (%)		0,4	0,4	

Табела 11: Популација NILM ≥ 30 година: Апсолутни и релативни ризик од $\geq\text{CIN}2$ и $\geq\text{CIN}3$ за резултате Aptima теста на ХПВ и ДНК теста на ХПВ (процене које нису прилагођене) у почетној фази испитивања

		Aptima тест на ХПВ N=818		ДНК тест на ХПВ N=800*	
	Резултат теста	Апсолутни ризик (95% CI)	Релативни ризик (95% CI)	Апсолутни ризик (95% CI)	Релативни ризик (95% CI)
≥CIN2	Позитивно	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)
	Негативан	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Преваленција (%)		2,4 (20/818)		2,4 (19/800)
≥CIN3	Позитивно	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)
	Негативан	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Преваленција (%)		1,3 (11/818)		1,4 (11/800)

* 18 жена са резултатима Aptima теста на ХПВ нису имале резултате ДНК теста на ХПВ, углавном због недовољне запремине узорка за цитолошку анализу.

Табела 12: Популација NILM ≥ 30 година: Апсолутни и релативни ризик од $\geq$ CIN2 и $\geq$ CIN3 за резултате Aptima теста на ХПВ и ДНК теста на ХПВ по старосној групи (процене које нису прилагођене) у почетној фази испитивања

		Aptima тест на ХПВ N=818		ДНК тест на ХПВ N=800*	
Старосна доб	Резултат теста	Апсолутни ризик (95% CI)	Релативни ризик (95% CI)	Апсолутни ризик (95% CI)	Релативни ризик (95% CI)
од 30 до 39 година		N=383		N=376	
	Позитивно	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)
	Негативан	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
	Преваленција (%)	2,3 (9/383)	2,4 (9/376)		
	≥ 40 година		N=435		N=424
Позитивно		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)
Негативан		1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
Преваленција (%)		2,5 (11/435)	2,4 (10/424)		
од 30 до 39 година			N=383		N=376
	Позитивно	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)
	Негативан	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
	Преваленција (%)	1,6 (6/383)	1,6 (6/376)		
	≥ 40 година		N=435		N=424
Позитивно		4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Не може се израчунати	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Не може се израчунати
Негативан		0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
Преваленција (%)		1,1 (5/435)	1,2 (5/424)		

* 18 жена са резултатима Aptima теста на ХПВ нису имале резултате ДНК теста на ХПВ, углавном због недовољне запремине узорка за цитолошку анализу.

Прилагођене клиничке процене ефикасности Aptima теста на ХПВ, укључујући осетљивост, специфичност, PPV и NPV за откривање $\geq$ CIN2 и $\geq$ CIN3 у почетној фази, приказане су у табели Табела 13, као и процене за комерцијално доступан ДНК тест на ХПВ. Неприлагођене процене клиничке ефикасности дате су у Табела 14. Aptima тест на ХПВ и комерцијално доступан ДНК тест на ХПВ имали су сличну осетљивост, док је специфичност Aptima теста на ХПВ била значајно већа (дисјунктних 95% CI-ова). Процене прогностичке вредности Aptima теста на ХПВ теста биле су клинички значајне и сличне проценама комерцијално доступног ДНК теста на ХПВ. Стопе NPV биле су сличне, али за откривање $\geq$ CIN2, ниво PPV за Aptima тест на ХПВ био је нешто виши него код комерцијално доступних ДНК тестова на ХПВ (4,5% наспрам 3,7%).

Табела 13: Популација NILM $\geq$ 30 година: Ефикасност Aptima теста на ХПВ и ДНК теста на ХПВ у откривању $\geq$ CIN2 и $\geq$ CIN3 (резултати прилагођени за грешке верификације) у почетној фази испитивања

	Ефикасност	Aptima тест на ХПВ		ДНК тест на ХПВ	
		Процена	(95% CI)	Процена	(95% CI)
$\geq$ CIN2	Осетљивост (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Специфичност (%)	95,5	(95,1, 95,9)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,5	(2,7, 7,4)	3,7	(2,3, 6,1)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Преваленција (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
$\geq$ CIN3	Осетљивост (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Специфичност (%)	95,4	(95,0, 95,8)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,0	(1,6, 5,5)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,3, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Преваленција (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Табела 14: Популација NILM ≥ 30 година: Ефикасност Aptima теста на ХПВ и ДНК теста на ХПВ у откривању ≥CIN2 и ≥CIN3 (неприлагођени резултати) у почетној фази испитивања

	Aptima тест на ХПВ N=818		ДНК тест на ХПВ N=800*	
	Ефикасност	Процена (95% CI)	Процена (95% CI)	
≥CIN2	Осетљивост (%)	70,0 (14/20)	(48,1, 85,5)	84,2 (16/19) (62,4, 94,5)
	Специфичност (%)	68,0 (543/798)	(64,7, 71,2)	48,8 (381/781) (45,3, 52,3)
	PPV (%)	5,2 (14/269)	(3,5, 6,6)	3,8 (16/416) (2,9, 4,5)
	NPV (%)	98,9 (543/549)	(98,1, 99,5)	99,2 (381/384) (98,1, 99,8)
	Преваленција (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)
≥CIN3	Осетљивост (%)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)	90,9 (10/11) (62,3, 98,4)
	Специфичност (%)	67,9 (548/807)	(64,6, 71,0)	48,5 (383/789) (45,1, 52,0)
	PPV (%)	3,7 (10/269)	(2,5, 4,3)	2,4 (10/416) (1,6, 2,7)
	NPV (%)	99,8 (548/549)	(99,2, 100)	99,7 (383/384) (98,9, 100)
	Преваленција (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)

* 18 жена са резултатима Aptima теста на ХПВ нису имале резултате ДНК теста на ХПВ, углавном због недовољне запремине узорка за цитолошку анализу.

Директно поређење Aptima теста на ХПВ на Panther систему и комерцијално доступног ДНК теста на ХПВ показује сличну осетљивост и статистички значајно побољшану специфичност дређивања Aptima теста на ХПВ у поређењу са комерцијално доступним ДНК тестом на ХПВ у откривању $\geq \text{CIN}2$, о чему сведоче односи истински позитивних и лажно позитивних резултата (Табела 15 и Табела 16 тим редом).

Табела 15: Популација NILM ≥ 30 година: Однос истински позитивних резултата (Aptima тест на ХПВ/ДНК тест на ХПВ) код жена са $\geq \text{CIN}2$ (неприлагођени резултати) у почетној фази испитивања

		ДНК тест на ХПВ		Укупно
		Позитивно	Негативан	
Aptima тест на ХПВ	Позитивно	13	1	14 (73,7%)
	Негативан	3	2	5
Укупно		16 (84,2%)	3	19
Однос стопе истински позитивних резултата = 0,88 (14/16) (95% CI: 0.65, 1.10)				

Табела 16: Популација NILM ≥ 30 година: Стопа истински позитивних резултата (Aptima тест на ХПВ/ДНК тест на ХПВ) код жена са $< \text{CIN}2$ (неприлагођени резултати) у почетној фази испитивања

		ДНК тест на ХПВ		Укупно
		Позитивно	Негативан	
Aptima тест на ХПВ	Позитивно	223	19	242 (31,0%)
	Негативан	177	362	539
Укупно		400 (51,2%)	381	781
Стопа лажно позитивних резултата = 0,61 (242/400) (95% CI: 0.55, 0.66)				

Популација NILM ≥ 30 година: Клиничка ефикасност Aptima теста на ХПВ на Panther систему након трогодишњег контролног праћења

Студија је обухватила 10 843 жене старости 30 и више година са NILM резултатима цитолошког испитивања и важећим резултатима Aptima теста на ХПВ на Panther систему у почетној фази, које су испуњавале услове за учешће у фази контролног праћења. Од жена које нису имале $\geq \text{CIN}2$, 67,0% (7 247/10 823) жена су урадиле контролни Папа тест током 1. године, 60,3% (6 517/10 814) током 2. године и 58,7% (6 339/10 807) током 3. године. Свеукупно, 58,8% (6 375 од 10 843) жена је комплетирано студију (имало је $\geq \text{CIN}2$ у почетној фази или током фазе контролног праћења и/или је комплетирано потребне прегледе).

Од 10 843 жена које су испуњавале услове, 511 (4,7%) је имало позитивне резултате Aptima теста на ХПВ на Panther систему у почетној фази студије. Од ових 511 жена, 255 (49,9%) је имало позитиван или негативан статус болести након 3 године на основу резултата цитолошког прегледа или колпоскопије/биопсије. Код остале 10 332 жене,

почетни резултати испитивања Aptima теста на ХПВ на Panther систему били су негативни. Од те 10 332 жене, 5 946 (57,5%) је имало позитиван или негативан статус болести након 3 године. Од 6 201 жене са трогодишњим статусом болести, 47 жена је имало $\geq$ CIN2, укључујући 23 са $\geq$ CIN3; 6 154 жене су имале нормалан налаз/CIN1, према налазу Консензусне комисије за хистолошку експертизу. Резултати Aptima теста на ХПВ помоћу Panther система и комерцијално доступног ДНК тестана ХПВ, као и трогодишњи статус болести (укључујући почетну фазу и фазу контролног праћења) који је обезбедила Консензусна комисија за хистолошку експертизу представљени су у Табела 17.

Табела 17: Популација NILM $\geq$ 30 година: Класификација жена које су испуњавале услове за фазу контролног праћења према почетним резултатима Aptima теста на ХПВ, почетним резултатима ДНК анализе на ХПВ и статусу болести ($\geq$ CIN2, $\geq$ CIN3, непотврђено) утврђеним у почетној и фази контролног праћења

Резултат Aptima теста на ХПВ	ДНК тест на ХПВ	Укупан број жена	Потврђени статус болести: $\geq$ CIN2		Потврђени статус болести: $\geq$ CIN3		Непотврђени статус болести	
			Оболеле жене ($\geq$ CIN2)	Жене које нису оболеле (<CIN2)	Оболеле жене ($\geq$ CIN3)	Жене које нису оболеле (<CIN3)	Пропуштено контролно праћење	Недефинисано*
Позитивно	Позитивно	382	23	171	16	178	167	21
Позитивно	Негативан	97	1	48	1	48	44	4
Позитивно	Нема резултата**	32	2	10	1	11	17	3
Негативан	Позитивно	281	5	129	2	132	130	17
Негативан	Негативан	9 452	15	5 476	3	5 488	3 756	205
Негативан	Нема резултата**	599	1	320	0	321	264	14
Укупно		10 843	47	6 154	23	6 178	4 378	264

* Жене које су имале абнормалне резултате цитолошке анализе на контролним прегледима и које нису имале накнадне резултате Консензусне комисије за хистолошку експертизу, и жене са неадекватном цитолошком анализом у последњој контроли. 174 жене са недефинисаним статусом болести су комплетирали протокол контролног праћења.

** 631 жена са резултатима Aptima теста на ХПВ није имала резултате ДНК теста на ХПВ, углавном због недовољне запремине узорка за цитолошку анализу.

Кумулативни ризик од болести током 3 године ($\geq$ CIN2 и $\geq$ CIN3) заснован је на Каплан-Мајеровој процени (анализа табеле животног века) и укључује болест идентификовану у почетној фази или фази контролног праћења. Жене које су имале било какве индикације болести (ASC-US или озбиљнији резултати цитолошког прегледа), али нису имале резултате Консензусне комисије за хистолошку експертизу, укључене су у анализу методом вишеструке импутације како би се предвидео број жена са болешћу које би биле идентификоване да су жене биле подвргнуте колпоскопији.

Процене трогодишњег кумулативног апсолутног и релативног ризика за откривање $\geq$ CIN2 и $\geq$ CIN3 дате су у Табела 18.

Табела 18: Популација NILM $\geq$ 30 година: Трогодишњи кумулативни апсолутни и релативни ризици* од $\geq$ CIN2 и $\geq$ CIN3 резултат Aptima теста на ХПВ и ДНК теста на ХПВ у почетној фази испитивања

Резултат теста	Aptima тест на ХПВ		ДНК тест на ХПВ	
	Апсолутни ризик (95% CI)	Релативни ризик (95% CI)	Апсолутни ризик (95% CI)	Релативни ризик (95% CI)
$\geq$ CIN2	Позитивно	7,90 (5,50, 11,27)	6,43 (4,50, 9,14)	22,71 (12,20, 42,30)
	Негативан	0,32 (0,21, 0,51)	0,28 (0,17, 0,47)	
	Преваленција (%)	0,68	0,68	
$\geq$ CIN3	Позитивно	5,23 (3,34, 8,13)	4,14 (2,62, 6,52)	51,34 (17,74, 148,58)
	Негативан	0,09 (0,04, 0,23)	0,08 (0,03, 0,22)	
	Преваленција (%)	0,34	0,35	

* Трогодишњи кумулативни ризици прилагођени другим могућим одступањима били су слични ризицима наведеним у овој табели. Због очекиваних разлика у ризику у 1. и 2. години за две групе жена у студији контролног праћења (жене које су имале колпоскопију у почетној фази и жене које нису имале колпоскопију у почетној фази), пријављен је само кумулативни ризик унутар 3 године за комбиноване групе.

Кумулативна трогодишња преваленција $\geq$ CIN2 и $\geq$ CIN3 код жена са NILM резултатима цитолошког испитивања у почетној фази била је 0,68%, односно 0,34%. Релативни ризик $\geq$ CIN2 био је 24,45 (95% CI 13,85—43,15), што указује да је жена са позитивним Aptima тестом на ХПВ на Panther систему имала 24,45 пута већу вероватноћу да има $\geq$ CIN2 од жене са негативним резултатом Aptima теста на ХПВ. Релативни ризик од $\geq$ CIN3 био је 57,11 (95% CI: 21.09, 154.62).

Клиничка ефикасност Aptima теста на ХПВ уз коришћење SurePath течних цитолошких узорак

SurePath течни цитолошки узорци узети су од канадских жена ($n=1\,350$) које су упућене на контролни преглед због једног или више абнормалних резултата Папа теста, ХПВ инфекције или из неког другог разлога. Аликвота (0,5 мл) сваког узорка је пребачена у Aptima епрувету за пренос узорака и затим третирана Aptima раствором за пренос. Једна копија сваког узорка тестирана је Aptima тестом на ХПВ. За процену са комерцијално доступним PCR тестом на ХПВ тестом, одабран је по засебан аликуот (1 мл) сваког узорка. Клиничка осетљивост за утврђивање болести, дефинисана као резултат хистолошког прегледа $\geq\text{CIN3}$, израчуната је и за Aptima тест на ХПВ Aptima и за PCR тест на ХПВ, као што је приказано у Табела 19, са позитивним и негативним предиктивним вредностима.

Табела 19: Ефикасност Aptima теста на ХПВ и ДНК тестова на ХПВ у откривању $\geq\text{CIN3}$

Ефикасност	Aptima тест на ХПВ N=1 326		PCR тест на ХПВ N=1 351	
	Процена	(95% CI)	Процена	(95% CI)
Осетљивост (%)	89,6 (69/77)	(80,8—94,6)	94,8 (73/77)	(87,4—98,0)
Специфичност (%)	57,3 (716/1249)	(54,6—60,0)	52,0 (663/1274)	(49,3—54,8)
PPV (%)	11,5 (69/602)	(10,3—12,4)	10,7 (73/684)	(9,8—11,4)
NPV (%)	98,9 (716/724)	(98,0—99,5)	99,4 (663/667)	(98,6—99,8)
Преваленција (%)	5,8 (77/1 326)		5,7 (77/1 351)	

Ефикасност Aptima теста на ХПВ са узорковањем и транспортом узорака грлића материце

Упарени ThinPrep течни цитолошки узорци и узорци Aptima CSCT комплета су прикупљени од 735 пацијената. Један милилитар (1,0 мл) сваког течног цитолошког узорка ThinPrep разблажен је у 2,9 мл медијума за пренос Aptima узорака и тестиран је један репликат Aptima тестом на ХПВ на Tigris DTS систему. По један репликат сваког CSCT узорка такође је тестиран Aptima тестом на ХПВ. Проценат усклађености резултата Aptima теста на ХПВ и ThinPrep течног цитолошког узорка и CSCT узорка, а резултати су приказани у Табела 20.

Проценат позитивног подударања био је 95,9% (95% CI: 92,6—97,8); проценат негативног подударања био је 95,5% (95% CI: 93,3—97,0); а укупно подударање износило је 95,6% (95% CI: 93,9—96,9). Примећена је снажна корелација између резултата течне цитологије и узорака транспортног комплета ($\kappa = 0,90$).

Табела 20: Укупна усклађеност резултата Aptima теста на ХПВ из ThinPrep течних цитолошких узорак и Aptima комплета за прикупљање и транспорт узорак грлића материце тестираних на Tigris DTS систему

		ThinPrep течни цитолошки узорак		Укупно
		Позитивно	Негативан	
Узорак Aptima CSCT комплета	Позитивно	234	22	256
	Негативан	10	469	479
	Укупно	244	491	735

Позитивно подударање = 95,9% (92,6—97,8)
 Негативно подударање = 95,5% (93,3—97,0)
 Укупно подударање = 95,6% (93,9—96,9)
 Карра Коефицијент = 0,90

Клинички узорци позитивни на вискоризични ХПВ и негативни на вискоризични ХПВ прикупљени путем скрининга (рутинске посеете) и путем упута (колпоскопски прегледи) популација уз коришћење Aptima CSCT комплета тестирани су Aptima тестом на ХПВ на Panther и Tigris DTS системима користећи две серије реагенса. Усклађеност између Panther и Tigris DTS система за CSCT узорке приказана је у Табела 21.

За CSCT узорке, укупна усклађеност између Panther и Tigris DTS система била је > 98% као што је приказано у Табела 21. Од 632 тестирана клиничка узорка, 69 је било CIN2+ и 38 је било CIN3+. Осетљивост Aptima теста на ХПВ за откривање CIN2+ била је 97,1% (95% C.I. 90,0%—99,2%) на систему Panther и 98,6% (95% C.I. 92,2—99,7) на систему Tigris DTS. Осетљивост за одређивање CIN3+ била је 100% (C.I. 90,8%—100%) у системима Panther и Tigris DTS.

Табела 21: Усклађеност резултата Aptima теста на ХПВ са Aptima CSCT узорцима тестираним у Tigris DTS и Panther системима

		Tigris DTS System		Укупно
		Позитивно	Негативан	
Систем „Panther”	Позитивно	490	3	493
	Негативан	9	130	139
	Укупно	499	133	632

Укупно подударање = 98,1% (C.I. 96,7—98,9)
 Позитивно подударање = 98,2% (C.I. 96,6—99,0)
 Негативно подударање = 97,7% (C.I. 93,6—99,2)

Клиничке перформансе Aptima HPV теста са узорцима бриса прикупљеним помоћу Aptima Multitest комплета за прикупљање узорка

Клиничке перформансе за вагиналне узорке прикупљене помоћу Aptima Multitest комплета за прикупљање узорка брисом приказане су у студији спроведеној у Енглеској код жена старости 24–64 године.⁴⁵ Жене које су испуњавале услове за укључивање (односно које су испуниле критеријуме за укључивање и имале валидне HPV резултате и за узорке које је прикупио клиничар и за самоприкупљене узорке) обухватале су жене упућене на колпоскопију ради даљег испитивања након позитивног или неадекватног резултата HPV теста из узорка који је прикупио клиничар, добијеног у оквиру примарног скрининга или раног поновног позива највише 8 недеља (≤ 56 дана) пре колпоскопије ($n = 78$), као и жене старости 24–64 године код којих је наступио термин за рутински скрининг рака грлића материце или је тај термин већ био прекорачен ($n = 903$).

Од сваке учеснице студије прикупљени су један самоприкупљени узорак и један узорак који је прикупио клиничар. Вагинални узорци прикупљени помоћу Aptima Multitest комплета за прикупљање узорка брисом претходно су загревани на 90 °C током 75 минута и остављени да се охладе пре обраде на Panther систему.

Условна релативна осетљивост за самоприкупљене узорке дефинисана је као удео случајева CIN2+ откривених помоћу позитивног узорка који је прикупио клиничар, код којих је такође добијен позитиван резултат HPV теста на самоприкупљеном узорку добијеном током рутинског колпоскопског прегледа.

За условну релативну специфичност код жена без CIN2+, број жена у окружењу примарног скрининга са негативним резултатом теста на самоприкупљеном узорку добијеном током рутинског скрининг прегледа упоређен је са бројем жена које су имале негативан резултат теста на упареном узорку који је прикупио клиничар.

Процењена условна релативна осетљивост за цервикалну интраепителну неоплазију високог степена (CIN2+) износила је 0,92 (0,86–0,96), а за CIN3+ 1 (0,92–1,00). Процена релативне специфичности за CIN2+ износила је 0,87 (0,85–0,89).

Граница детекције (LoD) у цервикалним узорцима при клиничкој граничној вредности

Граница детекције (LoD) у клиничкој граничној вредности је концентрација РНК ХПВ која даје позитиван резултат (изнад клиничке граничне вредности) у 95% случајева. Граница детекције (LoD) теста Aptima HPV одређена је тестирањем панела разблажења *in vitro* транскриптата (IVT) за свих 14 високоризичних генотипова и 4 HPV-инфициране ћелијске линије: SiHa, HeLa, MS751 и ME180 (ATCC, Манасас, држава Вирџинија). Да би се добили IVT панели, IVT у различитим концентрацијама је додан у медијум за пренос узорка, а затим разблажен појединачним негативним ThinPrep течним цитолошким узорцима пре тестирања. Да би се добили панели ћелија заражених ХПВ-ом, у базене узорка течне цитологије ThinPrep негативне на ХПВ додане су ћелије заражене ХПВ-ом у различитим концентрацијама, а затим разблажене медијумом за транспорт узорка пре тестирања. Тридесет репликата сваког нивоа копирања тестирано је помоћу сваке од две серије реагенса, што је укупно износило 60 репликата. Тестирање је спроведено током 17 дана, од 1 до 12 циклуса дневно, а у сваком циклусу тестирано је 5 понављања датог генотипа и концентрације. Граница детекције од 95% израчуната је на основу Пробит-регресијске анализе позитивних резултата за сваки панел разблажења.

Резултати Пробит анализе Табела 22 показују да су ХПВ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59, и 68 је имали лимит детекције 95% за мање од 100 копија/реакција; а типови 52, 58 и 66 имали су 95% лимит детекције између 100 и 500 копија/реакција. У четири тестиране ћелијске линије, лимит детекције у 95% случајева био је мање од 1 ћелије по реакцији.

Табела 22: Граница детекције у цервикалним узорцима које је прикупио клиничар при клиничкој граничној вредности

Циљ	Лимит детекције* (95% CI)
ХПВ 16	49,4 (37,1—73,0)
ХПВ 18	44,0 (34,4—62,1)
ХПВ 31	32,5 (23,2—52,1)
ХПВ 33	67,5 (48,8—106,2)
ХПВ 35	32,7 (23,6—51,4)
ХПВ 39	20,9 (16,3—29,5)
ХПВ 45	37,1 (27,9—54,7)
ХПВ 51	51,1 (36,3—83,9)
ХПВ 52	410,2 (310,7—595,1)
ХПВ 56	59,4 (46,7—81,5)
ХПВ 58	124,1 (90,7—190,1)
ХПВ 59	81,1 (61,9—116,6)
ХПВ 66	118,5 (83,2—202,0)
ХПВ 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)

* Број копија по реакцији за IVT и број ћелија по реакцији за ћелијске линије

Граница детекције (LoD) у вагиналним узорцима при клиничкој граничној вредности

Граница детекције (LoD) теста Aptima HPV одређена је тестирањем панела разблажења IVT-а за свих 14 високоризичних генотипова и 4 HPV-инфициране ћелијске линије (SiHa, HeLa, ME180 и MS751) у матрици обједињених HPV-негативних самостално узетих вагиналних узорка. Сваки негативни збирни узорак матрице вагиналног бриса био је обogaћен циљним концентрацијама испод, на нивоу и изнад границе детекције (LoD). Двадесет репликата сваке концентрације тестирано је помоћу 2 серије реагенса на 2 система Panther/Panther Fusion. LoD при клиничкој граничној вредности дефинисан је као концентрација HPV РНК која је дала позитиван резултат у најмање 95% случајева.

Табела 23 наводи LoD утврђен на основу серије реагенса која је дала најконзервативнију (највишу) вредност LoD, са двостраним интервалом поверења од 95%. HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 66 и 68 имали су границе детекције од 95% мање од 100 копија по реакцији; HPV 52, 56, 58 и 59 имали су границе детекције од 95% између 100 и 600 копија по реакцији. Четири ћелијске линије имају границу детекције од 95% на 1 или мање од 1 ћелије/реакцији.

Табела 23: Граница детекције у самостално узетим вагиналним узорцима при клиничкој граничној вредности

Циљ	Граница детекције*	95% CI
HPV 16	50	76,4–99,1%
HPV 18	75	83,9–100%
HPV 31	30	76,4–99,1%
HPV 33	30	76,4–99,1%
HPV 35	5	76,4–99,1%
HPV 39	5	83,9–100%
HPV 45	30	76,4–99,1%
HPV 51	30	76,4–99,1%
HPV 52	600	76,4–99,1%
HPV 56	100	83,9–100%
HPV 58	100	83,9–100%
HPV 59	100	76,4–99,1%
HPV 66	50	76,4–99,1%
HPV 68	10	76,4–99,1%
SiHa	1	83,9–100%
HeLa	0.2	76,4–99,1%
ME180	0.03	83,9–100%
MS751	0.1	76,4–99,1%

* Број копија по реакцији за IVT и број ћелија по реакцији за ћелијске линије

Прецизност теста

Прецизност Aptima теста на ХПВ процењена је у две студије користећи исту групу од 20 чланова. Студија 1 је спроведена на 3 локације, 2 екстерне и 1 интерној, а студија 2 је спроведена унутар установе. Група је обухватила 13 чланова заражених ХПВ-ом чија је концентрација била на или изнад границе детекције теста (очекивани позитиван резултат: $\geq 95\%$), 3 члана заражена ХПВ-ом са концентрацијама испод границе детекције теста (очекивани позитиван резултат: Од $>0\%$ до $<25\%$), и 4 члана са негативним резултатом ХПВ-а. ХПВ-позитивне саставнице панела припремљене су додавањем *in vitro* РНК транскрипта (IVT) у PreservCyt раствор разблажен медијумом за пренос узорака (STM) или култивисаним ћелијама инфицираним ХПВ-ом (SiHa, HeLa, и MS751; ATCC, Манасас, Вирџинија) у комбиноване негативне ThinPrep течне цитолошке узорке разблажене STM-ом. ХПВ-негативне саставнице панела припремљене су коришћењем PreservCyt раствора или комбинованих негативних ThinPrep течних цитолошких узорака разблажених STM-ом.

У студији 1, 2 оператера на свакој од 3 локације тестирање (1 инструмент по локацији) обављала су 2 радне листе за анализу Aptima теста на ХПВ дневно (по 1 за сваку серију реагенса) током 3 дана. Свака радна листа садржавала је по 3 репликата сваког саставнице панела обновљивости. За сваку саставницу панела тестирано је сто осам (108) појединачних епрувета са узорцима (3 локације x 1 инструмент x 2 оператера x 2 серије x 3 радне листе x 3 репликата). У студији 2, тестирање је спроведено унутар установе током 13 дана, укупно су тестиране 162 реакције за сваку саставницу панела (1 локација x 3 инструмента x 3 оператера x 3 партије x 2 радне листе x 3 репликата).

Чланови панела су описани у Табела 24а (чланови панела са очекиваним позитивним резултатима) и Табела 24b (чланови панела са очекиваним негативним резултатима), заједно са сажетком подударности са очекиваним резултатима и S/CO вредностима анализата на 2,5., 50. и 97,5. перцентилу S/CO дистрибуције. Варијабилност S/CO вредности анализата за чланове панела са очекиваним позитивним резултатима приказана је у Табела 25 за Студију 1 и Табела 26 за Студију 2.

Табела 24а: Студије 1 и 2 прецизности Aptima теста на ХПВ: Опис стручног тима, позитивна сагласност и перцентилна дистрибуција вредности S/CO анализата за чланове стручног тима са очекиваним позитивним резултатима

Опис панела (копије или ћелије/ реакција)	Студија 1 (3 локације тестирање)				Студија 2 (1 локација тестирања)			
	% позитивног подударања (95% CI)	S/CO анализа Перцентил			% позитивног подударања (95% CI)	S/CO анализа Перцентил		
		2,5 ^{-ти}	50 ^{-ти}	97,5 ^{-ти}		2,5 ^{-ти}	50 ^{-ти}	97,5 ^{-ти}
Клинички узорак 1 високопозитиван на ХПВ	100 (107/107) (96,5, 100)	21,16	29,64	33,63	100 (161/161) (97,7, 100)	22,50	26,84	30,67
Клинички узорак 2 високопозитиван на ХПВ	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 (1 830 копија)	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 (1 550 копија)	100 (107/107) (96,5, 100)	13,09	14,55	18,08	100 (162/162) (97,7, 100)	11,26	13,47	15,63
Клинички узорак 1 нископозитиван на ХПВ	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
Клинички узорак 2 нископозитиван на ХПВ	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
Клинички узорак 3 нископозитиван на ХПВ	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
Клинички узорак 4 нископозитиван на ХПВ	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 копија)	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 копија)	100 (108/108) (96,6, 100)	4,87	12,01	15,21	100 (159/159) (97,6, 100)	7,82	11,59	13,84
Ћелије MS751 (0,63 ћелије)	100 (108/108) (96,6, 100)	5,90	10,99	14,00	100 (162/162) (97,7, 100)	5,61	10,14	12,26
HeLa ћелије (0,35 ћелије)	100 (108/108) (96,6, 100)	1,43	6,19	13,28	100 (162/162) (97,7, 100)	3,24	7,88	12,58
SiHa ћелије (0,90 ћелије)*	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 = ин витро транскрипт

* Очекивани проценат позитивног подударанја је ~95%; посматрани ниво је нижи, вероватно због варијабилности производње саставница панела.

Табела 24b: Студије 1 и 2 прецизности Aptima теста на ХПВ: Опис стручног тима, негативна сагласност и перцентилна дистрибуција вредности S/CO анализата за чланове стручног тима са очекиваним негативним резултатима

Опис панела (копије или ћелије/ реакција)	Студија 1 (3 локације тестирање)			Студија 2 (1 локација тестирања)				
	% негативно подударање (95% CI)	S/CO анализата Перцентил			% негативно подударање (95% CI)	S/CO анализата Перцентил		
		2,5 ^{-ти.}	50 ^{-ти.}	97,5 ^{-ти.}		2,5 ^{-ти.}	50 ^{-ти.}	97,5 ^{-ти.}
Ћелије MS751 (0,005 ћелије)	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
SiHa ћелије (0,008 ћелије)	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
HeLa ћелије (0,02 ћелије)	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
Клинички узорак 1 негативан на ХПВ	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
Клинички узорак 2 негативан на ХПВ	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
PreservCyt раствор 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
PreservCyt раствор 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

Табела 25: Студија 1 прецизности Aptima теста на ХПВ: Варијабилност сигнала за саставнице панела са очекиваним позитивним резултатима

Опис панела (копија или ћелије/реакција)	n	Средња вредност S/CO	Између инструмената		Између оператера		Између серија		Између радних листи		У оквиру радних листи		Укупно	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Високопозитиван на ХПВ клинички узорак 1	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
Високопозитиван на ХПВ клинички узорак 2	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 копија)	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 копија)	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
Нископозитиван на ХПВ клинички узорак 1	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
Нископозитиван на ХПВ клинички узорак 2	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
Нископозитиван на ХПВ клинички узорак 3	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
Нископозитиван на ХПВ клинички узорак 4	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 копија)	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 копија)	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
Ћелије MS751 (0,63 ћелије)	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
HeLa ћелије (0,35 ћелије)	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
SiHa ћелије (0,90 ћелије)	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 = коефицијент варијације; IVT = ин витро транскрипт; SD = стандардна девијација

* Дванаест узорака је имало неважеће резултате Aptima теста на ХПВ (1 за ХПВ високопозитивни клинички узорак 1, 1 за ХПВ високопозитивни клинички узорак 2, 1 за ХПВ 16 IVT (1 830 копија), 1 за ХПВ 18 IVT (1 550 копија), 1 за ниско-позитивни клинички узорак 1, 6 за ХПВ 16 IVT (183 копије) и 1 за SiHa ћелије (0,90 ћелија)).

Напомена: Варијабилност у зависности од неких фактора може бити нумерички негативна. То се може догодити ако је варијабилност узрокована овим факторима врло мала. У тим случајевима SD и CV се приказују као нула.

Табела 26: Студија 2 прецизности Aptima теста на ХПВ: Варијабилност сигнала за саставнице панела са очекиваним позитивним резултатима

Опис панела (копија или ћелије/реакција)	n	Средња вредност S/CO	Између инструмената		Између оператера		Између серија		Између радних листи		У оквиру радних листи		Укупно	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Високопозитиван на ХПВ клинички узорак 1	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
Високопозитиван на ХПВ клинички узорак 2	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 копија)	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 копија)	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
Нископозитиван на ХПВ клинички узорак 1	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
Нископозитиван на ХПВ клинички узорак 2	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
Нископозитиван на ХПВ клинички узорак 3	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
Нископозитиван на ХПВ клинички узорак 4	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 копија)	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 копија)	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
Ћелије MS751 (0,63 ћелије)	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
HeLa ћелије (0,35 ћелије)	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
SiHa ћелије (0,90 ћелије)	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 = коефицијент варијације; IVT = ин витро транскрипт; SD = стандардна девијација

* Шест узорака је имало неважеће резултате Aptima теста на ХПВ (1 за високопозитивни клинички узорак на ХПВ 1, 1 за ХПВ 16 IVT (1 830 копија), 1 за ХПВ ниско-позитивни клинички узорак 3, 3 за ХПВ 18 IVT (155 копија)).

Напомена: Варијабилност у зависности од неких фактора може бити нумерички негативна. То се може догодити ако је варијабилност узрокована овим факторима врло мала. У тим случајевима SD и CV се приказују као нула.

Унакрсна реактивност

Напомена: Тестирање са потенцијално унакрсним организмима на Aptima тест за ХПВ извршено је коришћењем Tigris DTS система. Aptima тест на ХПВ први пут је покренут у Tigris DTS систему у 2008. години. У 2011. години проширена је индикација за употребу Aptima теста на ХПВ Aptima теста на Panther систем. Panther систем је алтернативна, мања инструментална платформа у односу на Tigris DTS систем. Оба система су дизајнирана да у потпуности аутоматизују тестирање амплификованих нуклеинских киселина у дијагностичким тестовима. Селективно тестирање ефикасности комплета за тестирање извршено у Tigris DTS систему коришћено је за подршку изведби анализе ефикасности у Panther систему.

Аналитичка специфичност Aptima теста на ХПВ процењена је PreservCyt медијумом са раствором разблаженим у STM у односу 1:2,9 и додатим култивисаним бактеријама, квасцима или гљивицама, култивисаним вирусима или *in vitro* транскриптим ХПВ-а ниског ризика. Организми и тестиране концентрације су наведене у Табела 27. Критеријуми студије за процену утицаја присуства микроорганизама на аналитичку специфичност засновани су на позитивности. Примећена је унакрсна реактивност са генотиповима ХПВ ниског ризика 26, 67, 70 и 82, али не и са другим тестираним организмима.

Табела 27: Панел аналитичке специфичности: Организми и концентрације без унакрсне реактивности

Организам	Тест Концентрација са Без унакрсне реактивности	Организам	Тест Концентрација са Без унакрсне реактивности
Бактерија			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Lactobacillus mucosae</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Leptotrichia buccalis</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Atopobium vaginae</i>	5x10 ⁷ CFU/mL	<i>Micrococcus luteus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Bacillus cereus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2x10 ⁷ CFU/mL
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5x10 ⁷ CFU/mL
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Bifidobacterium breve</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Mycoplasma hominis</i>	5x10 ⁷ CFU/mL
<i>Bifidobacterium longum</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae u</i> <i>Chlamydia trachomatis</i>	2,5x10 ⁷ CFU/mL 2,3x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
<i>Campylobacter jejuni</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3,2x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Clostridium difficile</i>	6x10 ⁷ CFU/mL	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Prevotella bivia</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Eggerthella lenta</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Providencia stuartii</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Ruminococcus productus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Fingoldia magna</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Serratia marcescens</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Sneathia amnii</i> *	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁸ CFU/mL

Табела 27: Панел аналитичке специфичности: Организми и концентрације без унакрсне реактивности (наставак)

Организам	Тест Концентрација са Без унакрсне реактивности	Организам	Тест Концентрација са Без унакрсне реактивности
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Lactobacillus gasseri</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Ureaplasma parvum</i> *	1x10 ⁶ геномских копија/mL
<i>Lactobacillus iners</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1x10 ⁸ CFU/mL		
Квасац/протозоа			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Pichia fermentans</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Trichomonas tenax</i> *	1x10 ⁶ ћелија/mL**
<i>Pentatrichomonas hominis</i> *	1x10 ⁶ ћелија/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ ћелија/mL
Вируси			
Adenovirus 2	1x10 ⁷ vp/mL	Херпес симплекс вирус 1	2,5x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
Adenovirus 40*	1x10 ⁵ геномских копија/mL	Херпес симплекс вирус 2	5x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL
Cytomegalovirus	5,6x10 ² TCID ₅₀ /mL	HIV-1	1,0x10 ⁶ копија/mL
Епштајн-Баров вирус	4,3x10 ⁶ vp/mL	SV40	1,2 x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL
Не-циљани HPV генотипови			
HPV 6	2,5x10 ⁶ копија/mL	HPV 61	2,5x10 ⁶ копија/mL
HPV 11	2,5x10 ⁶ копија/mL	HPV 67	1 копија/mL
HPV 26	2,5 копија/mL	HPV 69	2,5x10 ⁶ копија/mL
HPV 30	2,5x10 ⁶ копија/mL	HPV 70	1 копија/mL
HPV 34	2,5x10 ⁶ копија/mL	HPV 71	2,5x10 ⁶ копија/mL
HPV 42	2,5x10 ⁶ копија/mL	HPV 73	2,5x10 ⁶ копија/mL
HPV 43	2,5x10 ⁶ копија/mL	HPV 81	2,5x10 ⁶ копија/mL
HPV 44	2,5x10 ⁶ копија/mL	HPV 82	1 копија/mL
HPV 53	2,5x10 ⁶ копија/mL	HPV 85	2,5x10 ⁶ копија/mL
HPV 54	2,5x10 ⁶ копија/mL		

vp = вирусне честице; CFU = јединице које формирају колоније; TCID₅₀ = инфективна доза 50 за културу ткива

Напомена: Подебљано су означени типови који су показали унакрсну реактивност (>5% позитивних резултата) када су тестирани у концентрацијама већим од оних наведених у табели.

Додатни организми су процењени у погледу унакрсне реактивности и микробне интерференције за вагиналне узорке које су испитанице саме прикупиле. Панел који се састојао од 15 организама испитан је у STM-у, у одсуству или присуству SiHa ћелија при 3X LoD. Није уочена унакрсна реактивност нити микробна интерференција ни код једног од организама при наведеним концентрацијама.

**Није уочена унакрсна реактивност за *Trichomonas tenax*. Иако је задржана позитивност од 100% за HPV циљ (SiHa ћелије при 3X LoD) у присуству *Trichomonas tenax*, уочено је смањење S/CO вредности које се повратило након поновног тестирања при 1x10⁵ ћелија/mL.

Аналитичка осетљивост Aptima теста на ХПВ у присуству микроорганизама процењена је истим панелом који је описан и у Табела 27, ком је такође додата ниска концентрација SiHa ћелија заражених ХПВ-ом (1 ћелија по реакцији). Критеријуми студије за процену утицаја присуства микроорганизама на аналитичку сензитивност засновани су на позитивности. Ниједан од тестираних организама није имао утицаја на осетљивост Aptima теста на ХПВ.

Интерференција

Напомена: Тестирање са потенцијалним ометајућим супстанцама за тест Aptima HPV извршено је коришћењем система Tigris DTS. Тест Aptima HPV је први пут пуштен у рад на систему Tigris DTS 2008. године. У 2011. години, индикације су проширене на употребу теста Aptima HPV на систему Panther. Систем Panther је алтернативна, мања инструментална платформа у поређењу са системом Tigris DTS. Оба система су намењена за потпуну аутоматизацију тестирања амплификације нуклеинских киселина код дијагностичких тестова. Одабрана тестирања перформанси теста завршена на систему Tigris DTS искоришћена су као подршка перформансама теста на систему Panther.

Супстанце описане у Табела 28 појединачно су додате у раствор PreservCyt у количини од 1% и 10% v/v или w/v, разблажене са STM, а затим тестиране Aptima тестом на ХПВ. Све супстанце су тестиране на присуство и одсуство култивисаних ћелија заражених ХПВ-ом (SiHa, 3 ћелије/реакција). Интерференција је примећена код употребе два од седам лубриканата која садрже поликватерниум-15 и једног од пет антифунгалних лекова који садрже тиоконазол. Није пронађена интерференција ни са једном другом тестираном супстанцом.

Табела 28: Супстанце тестиране на могућу интерференцију са резултатима Aptima теста на ХПВ

Категорија производа	Бренд или тип производа	Највећа тестирана концентрација* која није утицала на ефикасност анализе
Лубрикант	KY Sensual Mist	10% v/v
	KY Warming Jelly	10% w/v
	KY течност за загревање	10% v/v
	CVS Brand лични лубрикант	10% w/v
	Лосион за загревање и лични лубрикант марке Target	10% v/v
	Astroglide лубрикант за интимну употребу**	0,3% w/v (тестни узорак од 0,075% w/v)
	Течни лубрикант бренда Target**	0,1% v/v (0,025% v/v тестни узорак)
Спермицид	Gynol II вагинални контрацептив оригинална формула	10% w/v
	Gynol II вагинални контрацептив екстра јак	10% w/v
	Delfen вагинална контрацептивна пена	10% w/v
	Encare вагинални контрацептив	10% w/v
	Conceptrol Вагинални контрацептив	10% w/v
Средство против гљивица/ против свраба	Vagisil Maximum Strength	10% w/v
	Monistat Soothing Care	10% w/v
	Monistat 3 комбиновано паковање	10% w/v
	Target Brand Tioconazole 1	0,3% w/v (тестни узорак од 0,075% w/v)
	Miconazole 3 марке Target	10% w/v
Антибиотски гел†	Метронидазол гел	123 µg/mL
Антивирусни крем†	Zovirax (ацикловир) крем	66 µg/mL
	Abreva крем за херпес на уснама	5% w/v
Крем за хемороиде†	Anusol крем за хемороиде††	1% w/v
	Preparation H крем за хемороиде	5% w/v
Стероидни крем†	Cortizone-10 Max Strength крем против свраба	5% w/v
Средство за вагинално испирање†	Dynarex повидон-јод антисептични раствор за припрему	5% v/v
	Summer's Eve средство за вагинално испирање, додатно чишћење сирћетом и водом	5% v/v
	Summer's Eve средство за вагинално испирање за смањење непријатних мириса	5% w/v
Средство за интимну хигијену†	Summer's Eve средство за интимну хигијену	5% v/v
	Vagisil средство за суво прање	5% v/v
Гел за уклањање непријатних мириса†	RepHresh гел за уклањање непријатних мириса	5% v/v
Средство за дезинфекцију руку†	Germ-X средство за дезинфекцију руку	5% w/v

Табела 28: Супстанце тестиране на могућу интерференцију са резултатима Aptima теста на ХПВ (наставак)

Категорија производа	Бренд или тип производа	Највећа тестирана концентрација* која није утицала на ефикасност анализе
Сапун за руке [†]	Dial антибактеријски течни сапун за руке	5% w/v
	Method гел за прање руку	5% w/v
Лосион [†]	NIVEA лосион за тело	5% w/v
	CeraVe хидратантни лосион	5% w/v
Средство за заштиту од сунца [†]	Neutrogena лосион за сунчање	5% w/v
	NIVEA хидратантни лосион за сунчање	5% w/v
	Coppertone Sport Mineral лосион за сунчање ^{††}	2,5% w/v
Глацијална сирћетна киселина	EMD M/N AX0073-11	10% v/v
Пуна крв	Пуна крв	10% v/v
Слуз [†]	Свињски муцин ^{††}	2,5% w/v
Интравагинални хормони [†]	Естрадиол (естроген)	7,5 pg/mL
	Прогестерон	0,18 mg/mL
Семена течност [†]	Семена течност	5% v/v
Леукоцити [†]	Леукоцити	1x10 ⁶ ћелија/mL

*Концентрација у узорку раствора PreservCyt; концентрација тест узорка је 1/4 концентрације услед преноса узорка раствора PreservCyt у епрувету за транспорт која садржи STM.

**Лубриканти за интимну употребу који садрже поликуатернијум 15.

[†]Додатне супстанце су процењене у погледу интерференције у вагиналним узорцима које су испитанице саме прикупиле. Панел који се састојао од 15 супстанци испитан је у STM-у у одсуству или у присуству SiHa ћелија при 3X LoD.

^{††}Интерференција је уочена код следећих супстанци када су присутне у концентрацијама већим од наведених: крема за хемороиде (која садржи цинк-оксид, бизмут-оксид и перуански балзам) при 1% w/v, крема за сунчање (која садржи цинк-оксид) при 2,5% w/v и слуз при 2,5% w/v.

Библиографија

1. Doorbar, J. 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)*. **110**(5):525—41.
2. Monsonego 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):5 583—7.
5. Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, 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):1 411—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. Monsonego 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. Monsonego 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, Lynge 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, Lynge E. A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer*. 2015;51:1 456—66.
19. Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lynge 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, Lynge 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, Lynge E. Differential Detection of Human Papillomavirus Genotypes and Cervical Intraepithelial Neoplasia by Four Commercial Assays. *Journal of Clinical Microbiology*. 2016;54(11):2 669—2 675.
22. Rebolj M, Njor S, Lynge 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 тест на ХПВ 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):3 653—7.
24. Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlager 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;53:2 509—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: Истовремене студије са петогодишњим праћењем. *International Journal of Cancer*. 2020 Jun 1;146(11):3 114—3 123.
29. Cook DA, Smith LW, Law J, Mei W, van Niekerk DJ, Ceballos K, et al. Aptima тест на ХПВ 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):1 073—1 081.
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 тест на ХПВ 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**: 1 588—1 594.
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**:8 429—8 438.
45. Mathews, C. S., Sargent, A., Cuschieri, K., Rebolj, M., Brentnall, A. R., Mackie, A., Mills, C., Martinelli, C., Wright, A. M., Hunt, K., Bird, A., Patel, H., Smith, D., Johnson, T., Ellis, K., Hunt, M., & Denton, K. 2025. HPVValidate-human papillomavirus testing with DNA and mRNA assays on self-collected samples in cervical screening: comparison of test characteristics on three self-sampling devices. *British journal of cancer*, 133(5), 665—673.

Контакт информације и историја измена текста



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

За податке о адреси е-поште и телефонском броју Техничке подршке и Корисничке подршке у одређеној земљи посетите страницу www.hologic.com/support.

Озбиљне инциденте повезане са уређајем у Европској Унији треба пријавити произвођачу и надлежном органу државе-чланице у којем се налази корисник и/или пацијент.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris и повезани логотипи су заштитни знаци или регистровани заштитни знаци Hologic, Inc. и/или њених повезаних компанија у САД и/или другим земљама.

SurePath and PrepStain су робне марке BD-а.

Све остале робне марке које могу бити наведене у овом упутству унутар паковања припадају њиховим власницима.

Овај производ може бити предмет једног или више америчких патената наведених на www.hologic.com/patents.

©2016–2026 Hologic, Inc. Сва права задржана.

AW-22202-3901 Рев. 002

Март 2026.

Историја ревизије	Датум	Опис
AW-22202-3901 верз. 002	Март 2025. године	Ова верзија је у складу са AW-22202-001 верз. 002. (This version aligns with AW-22202-001 Rev. 002.)
AW-22202-3901 Рев. 002	Март 2026.	- Додате су безбедносне информације као што су добра лабораторијска пракса и универзалне мере предострожности - Ажурирана је табела безбедносних листова (SDS) - Ажурирана упутства за припрему реагенса за нови комплет - Ажуриран је одељак Ограничења - Додате су клиничке перформансе Aptima HPV теста са одељком о брису узорка Aptima Multitest - Ажурирана је табела интерференције супстанци и организама/концентрација - Уклоњени су одељци о ThingPrep процесору пре и после цитологије - Ажуриране су библиографске информације