

Aptima HPV Assay

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

Samo za izvoz iz ZDA.

Splošne informacije	2
Predvidena uporaba	2
Povzetek in razlaga testa	2
Načela postopka	3
Opozorila in previdnostni ukrepi	4
Zahteve za shranjevanje reagenta in rokovanje z njim	6
Zbiranje in shranjevanje primerkov	7
Postopki kontrole kakovosti	21
Interpretacija testa	22
Omejitve	23
Pričakovani rezultati sistema Tigris DTS: pogostost mRNA visokotvegane virusa HPV	25
Zasnova klinične študije testa Aptima HPV Assay s tekočimi citološkimi primerki ThinPrep	26
Učinkovitost testa sistema Tigris DTS	28
Pričakovani rezultati sistema Panther: pogostost mRNA visokotvegane virusa HPV	57
Zasnova klinične študije testa Aptima HPV Assay s tekočimi citološkimi primerki ThinPrep	58
Učinkovitost testa na sistemu Panther	60
Literatura	84

Sistem Tigris™ DTS

Sistem Tigris DTS	9
Priloženi reagenti in materiali	9
Potrebni materiali, ki so na voljo posebej	10
Izbirni materiali	11
Testni postopek pri sistemu Tigris DTS	11
Opombe k postopku	13

Sistem Panther™

Sistem Panther	15
Priloženi reagenti in materiali	15
Potrebni materiali, ki so na voljo posebej	16
Izbirni materiali	16
Testni postopek pri sistemu Panther	17
Opombe k postopku	19

Splošne informacije

Predvidena uporaba

Test Aptima HPV assay je test za dokaz prisotnosti nukleinske kisline z amplifikacijo tarče za kvalitativno zaznavanje virusne informacijske RNA (mRNA) gena E6/E7 *in vitro* pri 14 visokotveganih vrstah humanega papilomskega virusa (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Test Aptima HPV assay ne ločuje med 14 visokotveganimi vrstami.

- Test Aptima HPV assay je indiciran za uporabo pri presejanju bolnic z rezultati testa PAP ASC-US (atipičnimi ploščatimi celicami nedoločenega pomena) za ugotavljanje potrebe po napotitvi na kolposkopijo. Rezultati tega testa niso namenjeni preprečevanju odhoda žensk na kolposkopijo.
- Test Aptima HPV assay je mogoče uporabiti skupaj s citologijo materničnega vratu za dodatno presejanje (sotestiranje) za oceno prisotnosti ali odsotnosti visokotveganih vrst virusa. Te informacije je, skupaj z zdravnikovo presojo anamneze citoloških izvidov, drugih dejavnikov tveganja in strokovnih smernic, mogoče uporabiti pri vodenju obravnave bolnice.
- Test Aptima HPV assay je mogoče, skupaj s citologijo materničnega vratu ali brez nje, uporabiti kot primarni presejalni test prve izbire za odkrivanje tistih žensk, pri katerih obstaja povečano tveganje za razvoj raka na materničnem vratu ali prisotnosti bolezni visoke stopnje. Te informacije je, skupaj z zdravnikovo presojo anamneze presejanja pri bolnici, drugih dejavnikov tveganja in strokovnih smernic, mogoče uporabiti pri vodenju obravnave bolnic.

Primerke brisa materničnega vratu, zbrane v vialah s testom PAP ThinPrep™, ki vsebujejo raztopino PreservCyt™, je mogoče s testom Aptima HPV assay testirati pred obdelavo testov PAP ali po njej; enako velja za primerke brisov materničnega vratu, zbrane s kompletom za zbiranje in prenos primerkov materničnega vratu Aptima. Test je za testiranje teh vrst primerkov mogoče uporabiti s sistemom Tigris DTS ali sistemom Panther. Primerke brisov materničnega vratu, zbrane v tekočini za konzerviranje SurePath, je mogoče testirati s testom Aptima HPV assay na sistemih Tigris DTS in Panther.

Povzetek in razlaga testa

Rak materničnega vratu je eden najpogostejših rakov pri ženskah na svetu. Virus HPV je etiološki agens, ki je odgovoren za več kot 99 % vseh pojavitev raka na materničnem vratu.¹
^{2,3} Virus HPV je pogost, spolno prenosljiv virus iz DNA, ki ga sestavlja več kot 100 genotipov.⁴

Genom virusa HPV je krožna dvojna vijačnica DNA, ki po dolžini vsebuje približno 7900 baznih parov. Genom ima osem prekrivajočih se odprtih bralnih okvirjev. Obstaja šest zgodnjih (E) genov, dva pozna (L) gena in ena neprevedena dolga kontrolna regija. Gena L1 in L2 kodirata veliko in malo kapsidno beljakovino. Zgodnji geni regulirajo podvojevanje virusa HPV. Gena E6 in E7 iz visokotveganih vrst virusa HPV sta znana onkogeni. Beljakovine, izražene iz policistronske mRNA gena E6/E7, spreminjajo delovanje celične beljakovine p53 in retinoblastomske beljakovine, kar povzroči motnje pri nadzornih točkah celičnega ciklusa in nestabilnost celičnega genoma.^{5,6}

Za patogene ali visokotvegane za bolezen materničnega vratu velja štirinajst genotipov virusa HPV.⁷ Več študij je povežalo genotipe 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 in 68 z napredovanjem bolezni.^{2,5,8} Pri bolnicah z nenehno okužbo z eno od teh vrst je tveganje za razvoj hude displazije ali karcinoma materničnega vratu povečano.^{7,9}

Okužbe z virusom HPV so zelo pogoste, pri večini žensk pa izginejo v 6 do 12 mesecih.^{8, 10} Prisotnost nukleinske kisline virusa HPV ne pomeni, da je prisotna displazija ali rak materničnega vratu. Vendar je pristop, ki je pri odkrivanju bolezni materničnega vratu učinkovit, ciljanje tistih onkogenih elementov virusa HPV, ki prispevajo k nenehni virusni okužbi in pretvorbi celic.³

Klinična učinkovitost testa Aptima HPV Assay pri primarnem presejanju za rak na materničnem vratu

Klinično učinkovitost testa Aptima HPV assay, uporabljenega pri primarnem presejanju, so v več študijah preučevali neodvisni raziskovalci. O učinkovitosti testa Aptima HPV pri primarnem presejanju žensk, ki so bile v študije vključene v devetih državah (na Kitajskem, v Kanadi, Franciji, Mehiki, Angliji, na Danskem, Nizozemskem, v Združenih državah Amerike in Nemčiji) iz desetih posamičnih kliničnih študij poročajo v trinajstih strokovno pregledanih publikacijah^{11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23}. Podatki iz teh študij kažejo, da je klinična učinkovitost testa Aptima HPV podobna klinični učinkovitosti drugih klinično potrjenih testov za virus HPV pri primarnem presejanju za predrakave in rakave spremembe na materničnem vratu.

Načela postopka

Pri testu Aptima HPV assay so trije koraki, ki se izvajajo v eni epruveti: zajem tarče, amplifikacija tarče z metodo amplifikacije, posredovane s prepisovanjem (Transcription-Mediated Amplification, TMA)²⁴ in zaznavanje produktov amplifikacije (amplikonov) s testom zaščite hibridizacije (Hybridization Protection Assay, HPA).²⁵ Test vključuje notranjo kontrolo (Internal Control, IC) za spremljanje zajemanja, amplifikacije in zaznavanje nukleinske kisline ter napake upravljavca in instrumenta.

Primerki so zbrani v epruveti ali preneseni v epruveto, ki vsebuje transportni medij za primerke (Specimen Transport Media, STM) ter lizira celice, sprošča mRNA in jo med shranjevanjem ščiti pred razpadanjem. Pri izvedbi testa Aptima HPV assay je tarčna mRNA izolirana iz primerka z uporabo oligomerov za zajem, ki so povezani z magnetnimi mikrodenci. Oligomeri za zajem vsebujejo zaporedja, ki so komplementarna specifičnim regijam tarčnih molekul mRNA virusa HPV in nizu ostankov deoksiadenozina. Med korakom hibridizacije se regije oligomerov za zajem, specifične za zaporedje, vežejo na specifične regije tarčne molekule mRNA virusa HPV. Tarčni kompleks oligomerov za zajem je nato z zmanjšanjem temperature reakcije na sobno temperaturo zajet iz raztopine. S tem znižanjem temperature lahko pride do hibridizacije med regijo deoksiadenozina na oligomerju za zajem in molekulah polideoksitimidina, ki so kovalentno pritrjene na magnetne delce. Nanje vezane mikrodence, vključno z zajetimi tarčnimi molekulami mRNA virusa HPV, magneti povlečejo na stranski del reakcijske epruvete, supernatant pa je aspiriran. Delci se izperejo, da je odstranjena preostala matrike primerka, ki bi lahko vsebovala zaviralce amplifikacije.

Ko je zajem tarče dokončan, je mRNA virusa HPV amplificirana z metodo TMA – metodo amplifikacije tarč na podlagi prepisovanja, pri kateri sta uporabljena dva encima, reverzna transkriptaza M-MLV in polimeraza RNA T7. Z reverzno transkriptazo je ustvarjena kopija DNA zaporedja tarčne mRNA, ki vsebuje promotorsko zaporedje za polimerazo RNA T7. Polimeraza RNA T7 iz predloge za kopijo DNA proizvede več kopij amplikona RNA.

Amplikon je zaznan s testom HPA, pri katerem so uporabljene enovijačne sonde nukleinske kisline s kemoluminiscentnimi oznakami. Označene sonde nukleinske kisline hibridizirajo posebej v amplikonu. Izbirni reagent razlikuje med hibridiziranimi in nehibridiziranimi sondami, tako da deaktivira oznako nehibridiziranih sond. Med korakom zaznavanja je svetloba, ki jo oddajajo hibridi RNA:DNA, z luminometrom izmerjena v obliki signalov fotonov, imenovanih relativne svetlobne enote (Relative Light Units, RLU). Končni rezultati testa so

interpretirani na podlagi razmerja med signalom in mejno vrednostjo analita (signal-to-cutoff, S/CO).

Vsaki reakciji je prek reagenta za zajem tarče dodana notranja kontrola. Notranja kontrola spremlja korake zajema tarče, amplifikacije in zaznavanja pri testu. Signal notranje kontrole v vsaki reakciji se od signala virusa HPV razlikuje po različni kinetiki oddajanja svetlobe iz sond z različnimi oznakami.²⁶ Za notranjo kontrolo specifični amplikon je zaznan s sondo s hitrim oddajanjem svetlobe (bliskajočo sondo). Aplikon, ki je specifičen za virus HPV, je zaznan s sondami, ki svetlobo oddajajo razmeroma počasneje (sijočimi sondami). Dvojni kinetični test (Dual Kinetic Assay, DKA) je metoda za razlikovanje med signali oznak bliskajočih se in sijočih sond.²⁶

Opozorila in previdnostni ukrepi

- A. Za diagnostično uporabo *in vitro*.
- B. Za profesionalno uporabo.
- C. Za dodatna specifična opozorila in previdnostne ukrepe glejte priročnike za upravljavca sistemov Tigris DTS in Panther.

Povezano z laboratorijem

- D. Uporabljajte le dobavljeno ali navedeno laboratorijsko opremo za enkratno uporabo.
- E. Izvajajte rutinske laboratorijske previdnostne ukrepe. Na območjih, namenjenih delu, ne jejte, ne pijte in ne kadite. Pri rokovanju s primerki in reagenti kompletov nosite rokavice brez smukca za enkratno uporabo, zaščitna očala in laboratorijske halje. Po rokovanju s primerki in reagenti kompletov si temeljito umijte roke.
- F. **Opozorilo: dražeče in korozivno:** preprečite stik tekočine Auto Detect 2 s kožo, očmi in sluznicami. Če ta tekočina pride v stik s kožo ali očmi, prizadeto območje sperite z vodo. Če se polije, polito tekočino najprej razredčite z vodo in jo šele nato obrišite do suhega.
- G. Delovne površine, pipete in drugo opremo je treba redno razkuževati z od 2,5- do 3,5-odstotno raztopino natrijevega hipoklorita (od 0,35 M do 0,5 M). Za več informacij glejte poglavje *Testni postopek pri sistemu Tigris DTS* ali *Testni postopek pri sistemu Panther DTS*.

Povezano s primerki



- H. Med pošiljanjem in shranjevanjem primerkov vzdržujte pravilno temperaturo, da se ohrani celovitost primerka. V pogojih pošiljanja in shranjevanja, razen v tistih, ki so priporočeni, stabilnost primerkov ni bila ovrednotena.
- I. Datumi izteka roka uporabnosti, navedeni na kompletih za zbiranje/prenos primerkov in epruveh, se nanašajo na mesto zbiranja/prenosa in ne na laboratorij za testiranje. Primerki, ki so bili zbrani/preneseni kadar koli pred temi datumi izteka roka uporabnosti, so veljavni za testiranje, če so bili transportirani in shranjeni v skladu z ustreznimi navodili za uporabo, tudi če so ti datumi izteka roka uporabnosti že potekli.
- J. Primerki so lahko kužni. Pri izvedbi tega testa izvajajte splošne previdnostne ukrepe. Metode pravilnega rokovanja in odstranjevanja mora določiti direktor laboratorija. Ta postopek je dovoljeno izvajati le osebu, ki je ustrezno usposobljeno za rokovanje s kužnimi materiali.

- K. Med rokovanjem s primerkom preprečujte navzkrižno kontaminacijo. Poskrbite, da posode s primerki ne bodo prišle v stik ena z drugo, ter odstranite uporabljene materiale, pri tem pa teh materialov ne podajajte preko odprtih posod. Če rokavice pridejo v stik s primerkom, jih zamenjajte.
- L. Pri prebadanju lahko pod določenimi pogoji iz pokrovčkov epruvel izteka tekočina. Za več informacij glejte poglavje *Testni postopek pri sistemu Tigris DTS* ali *Testni postopek pri sistemu Panther DTS*.
- M. Če je bila v epruveti z vzorcem puščena naprava za zbiranje, je treba tekočinske citološke primerke ThinPrep ter primerke, zbrane s kompletom za zbiranje in transport primerkov brisov materničnega vratu (CSCT), zavreči.
- N. Tekočinske citološke primerke SurePath je treba zavreči, če v viali ni naprave za zbiranje.

Povezano s testom

- O. Reagente shranjujte pri navedenih temperaturah. Če so uporabljeni nepravilno shranjeni reagenti, lahko to vpliva na učinkovitost testa.
- P. Preprečujte kontaminacijo reagentov z mikrobi in ribonukleazo.
- Q. Po koncu izteka roka uporabnosti kompleta ne uporabljajte.
- R. Ne zamenjajte, mešajte ali kombinirajte testnih reagentov ali kalibratorjev s tistimi iz kompletov z različnimi številkami serije.
- S. Tekočine Aptima Assay, reagenti za samodejno zaznavanje Aptima, tekoči konzervans sistema Aptima (samo pri sistemu Tigris DTS) in kontrole testa Aptima HPV assay (samo pri sistemu Tigris DTS) niso del glavne serije.
- T. Za točne rezultate testa je potrebno temeljito mešanje testnih reagentov.
- U. Uporabiti je treba konice s hidrofobnimi čepi.
- V. Nekateri reagenti tega kompleta so označeni s simboli za tveganje in varnost.

Opomba: V sporočilih o nevarnosti je izraženo razvrščanje v varnostnih listih EU. Za informacije iz sporočil o nevarnostih, ki so specifične za vaše območje, si oglejte varnostni list, specifičen za vaše območje, iz knjižnice varnostnih listov na spletnem mestu www.hologicds.com.

Informacije o nevarnosti EU	
	<p>Izbirni reagent BOROVA KISLINA 1–5 % Natrijev hidroksid < 1 % OPOZORILO H315 – Povzroča draženje kože. H319 – Povzroča hudo draženje oči.</p>
	<p>Reagent za zajem tarče EDTA 1–5 % H411 – Strupeno za vodne organizme, z dolgotrajnimi učinki. P273 – Preprečiti sproščanje v okolje. P280 – Nositi zaščito za oči/zaščito za obraz.</p>

Zahteve za shranjevanje reagenta in rokovanje z njim

Po datumu izteka roka uporabnosti, ki je označen na vialah, reagentov ne uporabljajte. Dodatna navodila za shranjevanje poiščite v nadaljevanju.

- A. Naslednji reagenti se ob prejemu shranjujejo pri temperaturi od 2 °C do 8 °C (ohlajeni):
 - reagent za amplifikacijo virusa HPV,
 - encimski reagent za virus HPV,
 - reagent za sondo za virus HPV,
 - reagent za notranjo kontrolo za virus HPV,
 - pozitivni in negativni kalibratorji za virus HPV,
 - pozitivne in negativne kontrole za virus HPV (samo pri sistemu Tigris DTS).
- B. Naslednji reagenti so shranjeni pri temperaturi od 15 °C do 30 °C (sobni temperaturi):
 - rekonstitucijska raztopina za amplifikacijo za virus HPV,
 - encimska rekonstitucijska raztopina za virus HPV,
 - rekonstitucijska raztopina sond za virus HPV,
 - reagent za zajem tarče za virus HPV,
 - izbirni reagent za virus HPV,
 - raztopina za izpiranje,
 - oljni reagent,
 - pufer za deaktivacijsko tekočino,
 - reagent za samodejno zaznavanje 1,
 - reagent za samodejno zaznavanje 2,
 - tekoči konzervans sistema Aptima (samo pri sistemu Tigris DTS).
- C. Po rekonstituciji so naslednji reagenti stabilni 30 dni, če so shranjeni pri temperaturi od 2 °C do 8 °C:
 - reagent za amplifikacijo virusa HPV,
 - encimski reagent za virus HPV,
 - reagent za sondo za virus HPV,
- D. Delovni reagent za zajem tarče (wTCR) je stabilen 30 dni, če je shranjen pri temperaturi od 15 °C do 30 °C. Ne ohlajajte.
- E. Morebitne neuporabljene reagente in wTCR zavržite po 30 dneh ali po izteku datuma uporabe glavne serije, odvisno od tega, kaj nastopi prej.
- F. Reagenti testa Aptima HPV assay so stabilni v seštevku 48 ur, če so shranjeni v sistemu Tigris DTS.
- G. Reagenti testa Aptima HPV assay so stabilni kumulativno 72 ur, če so shranjeni v sistemu Panther.
- H. Reagent sonde in rekonstituirani reagent sonde sta občutljiva na svetlobo. Reagenta shranjujte tako, da bosta zaščitena pred svetlobo.
- I. Reagentov ne zamrzujte.

Zbiranje in shranjevanje primerkov

A. Zbiranje in obdelava primerkov

Tekoči citološki primerki ThinPrep

1. Z metlici podobno napravo ali krtačko/loparčkom za odvzem citoloških primerkov zberite primerke brisov materničnega vratu v vialah testa PAP ThinPrep, ki vsebujejo raztopino PreservCyt, po navodilih proizvajalca.
2. Pred obdelavo ali po obdelavi s sistemom ThinPrep 2000, ThinPrep 3000, procesorjem ThinPrep 5000, procesorjem ThinPrep 5000 z instrumentom za samodejno dodajanje primerkov ali procesorjem ThinPrep Genesis prenesite 1 ml tekočega citološkega primerka ThinPrep v epruveto za prenos primerkov Aptima v skladu z navodili za uporabo kompleta za prenos primerkov Aptima.

Tekoči citološki primerki SurePath

1. Zberite tekoče citološke primerke SurePath v skladu z navodili za uporabo testa PAP SurePath in/ali sistema PrepStain.
2. Tekoče citološke primerke SurePath prenesite v epruveti za prenos primerkov Aptima v skladu z navodili za uporabo kompleta za prenos primerkov Aptima.

Primerki kompleta za zbiranje in prenos primerkov materničnega vratu Aptima

Zberite primerke po navodilih kompleta CSCT Aptima.

B. Transport in shranjevanje pred testiranjem

Tekoči citološki primerki ThinPrep

1. Tekoče citološke primerke ThinPrep transportirajte pri temperaturi od 2 °C do 30 °C.
2. Primerke je treba v epruveto za prenos primerkov Aptima prenesti v 105 dneh od zbiranja.
3. Pred prenosom je treba tekoče citološke primerke ThinPrep shranjevati pri temperaturi od 2 °C do 30 °C, pri čemer temperatura lahko največ 30 dni presega 8 °C.
4. Tekoče citološke primerke ThinPrep, ki so preneseni v epruveto za prenos primerkov Aptima, je mogoče pri temperaturi od 2 °C do 30 °C shranjevati do 60 dni.
5. Če je potreben daljši čas shranjevanja, je mogoče tekoče citološke primerke ThinPrep ali tekoče citološke primerke ThinPrep, razredčene v epruveti za prenos, shranjevati pri temperaturi –20 °C ali nižji temperaturi do 24 mesecev.

Tekoči citološki primerki SurePath

1. Tekoče citološke primerke SurePath transportirajte pri temperaturi od 2 °C do 25 °C.
2. Primerke je treba v epruveto za prenos primerkov Aptima prenesti v 7 dneh od zbiranja.
3. Pred prenosom je treba tekoče citološke primerke SurePath shranjevati pri temperaturi od 2 °C do 25 °C.
4. Tekoče citološke primerke SurePath, ki so preneseni v epruveto za prenos primerkov Aptima, je mogoče pri temperaturi od 2 °C do 25 °C shranjevati do 7 dni.

Primerki kompleta za zbiranje in prenos primerkov materničnega vratu Aptima

1. Primerke transportirajte in shranjujte pri temperaturi od 2 °C do 30 °C do 60 dni.
2. Če je potreben daljši čas shranjevanja, je mogoče primerke shranjevati pri temperaturi –20 °C ali nižji do 24 mesecev.

C. Obdelava tekočih citoloških primerkov SurePath

Opomba: Tekoče citološke primerke SurePath je pred testiranjem z testom Aptima HPV assay treba obdelati z raztopino za prenos Aptima.

1. Raztopina za prenos Aptima

Obdelane vzorce je pred testiranjem s testom Aptima HPV assay mogoče shranjevati pri temperaturi od 2 °C do 8 °C do 17 dni. Za več podrobnosti glejte navodila za uporabo kompleta za prenos primerkov Aptima.

D. Shranjevanje primerkov po testiranju

1. Primerke, ki so bili testirani, je treba na stojalu shranjevati v pokončnem položaju.
2. Epruvete za primerke je treba pokriti z novo, čisto plastično pregrado ali pregrado iz folije.
3. Če je treba testirane vzorce zamrzniti ali pošiljati, odstranite pokrovček, ki ga je mogoče predreti, in na epruvete za primerke namestite nove pokrovčke, ki jih ni mogoče predreti. Če je treba primerke poslati na testiranje v drug laboratorij, je treba vzdrževati navedene temperature. Pred odstranjevanjem pokrovčkov z vzorcev, ki so bili predhodno testirani in ponovno zaprti s pokrovčki, je treba epruvete za primerke 5 minut centrifugirati z relativno centrifugalno silo (Relative Centrifugal Force, RCF) 420, da se bo vsa tekočina spustila na dno epruvete.

Opomba: Primerke je treba pošiljati v skladu z veljavnimi nacionalnimi in mednarodnimi predpisi za transport.

Sistem Tigris DTS

Reagenti za test Aptima HPV assay za sistem Tigris DTS so našeti spodaj. Ob imenu reagenta so navedeni tudi simboli za identifikacijo reagenta.

Priloženi reagenti in materiali

Komplet testov Aptima HPV Assay, 250 testov, kat. št. 302611 (4 škatle)

Kalibratorje in kontrole je mogoče kupiti ločeno. Glejte kataloške številke posameznih škatel, ki so navedene spodaj.

Škatla za shranjevanje v ohlajenem stanju Aptima HPV
(ob prejemu shranite pri temperaturi od 2 °C do 8 °C)

Simbol	Sestavni del	Količina
A	reagent za amplifikacijo virusa HPV, <i>Nekužne nukleinske kisline, posušene v pufrski raztopini, ki vsebuje < 5 % sredstva za povečanje volumna.</i>	1 viala
E	encimski reagent za virus HPV, <i>Reverzna transkriptaza in polimeraza RNA, posušeni v pufrski raztopini HEPES, ki vsebuje < 10 % sredstva za povečanje volumna.</i>	1 viala
P	reagent za sonde za virus HPV, <i>Nekužne kemiluminiscentne sonde DNA (< 500 ng/vialo), posušene v sukcinatni pufrski raztopini, ki vsebuje < 5 % detergenta.</i>	1 viala
IC	reagent za notranjo kontrolo za virus HPV, <i>Nekužni transkript RNA v pufrski raztopini, ki vsebuje < 5 % detergenta.</i>	1 viala

Škatla za shranjevanje pri sobni temperaturi Aptima HPV
(ob prejemu shranite pri temperaturi od 15°C do 30°C)

Simbol	Sestavni del	Količina
AR	rekonstitucijska raztopina za amplifikacijo za virus HPV, <i>Vodna raztopina, ki vsebuje konzervanse.</i>	1 viala
ER	encimska rekonstitucijska raztopina za virus HPV, <i>Pufrska raztopina HEPES, ki vsebuje surfaktant in glicerol.</i>	1 viala
PR	rekonstitucijska raztopina sond za virus HPV, <i>Sukcinatna pufrska raztopina, ki vsebuje < 5 % detergenta.</i>	1 viala
S	izbirni reagent za virus HPV, <i>Boratna pufrska raztopina 600 mM, ki vsebuje surfaktant.</i>	1 viala
TCR	reagent za zajem tarče za virus HPV, <i>Nekužna nukleinska kislina v pufrski raztopini, ki vsebuje trdno fazo (< 0,5 mg/ml).</i>	1 viala
	Obročki za rekonstitucijo	3
	List s črtnimi kodami glavne serije	1 list

Škatla s kalibratorji Aptima HPV (kat. št. 302554)
(ob prejemu shranite pri temperaturi od 2 °C do 8 °C)

Simbol	Sestavni del	Količina
PCAL	Pozitivni kalibrator HPV <i>Nekužni transkript virusa HPV 16 in vitro pri 1000 kopijah na ml v pufrski raztopini, ki vsebuje < 5 % detergenta.</i>	5 vial
NCAL	Negativni kalibrator HPV <i>Pufrska raztopina, ki vsebuje < 5 % detergenta.</i>	5 vial

Škatla s kontrolami Aptima HPV (kat. št. 302556)
(ob prejemu shranite pri temperaturi od 2 °C do 8 °C)

Simbol	Sestavni del	Količina
PC	Pozitivna kontrola HPV <i>Lizirane, deaktivirane gojene celice, negativne in pozitivne za HPV, s 25 celicami na ml v pufrski raztopini, ki vsebuje < 5 % detergenta.</i>	5 vial
NC	Negativna kontrola HPV <i>Lizirane, deaktivirane gojene celice, negativne za HPV, v pufrski raztopini, ki vsebuje < 5 % detergenta.</i>	5 vial

Potrebni materiali, ki so na voljo posebej

Opomba: Če ni drugače določeno, so pri materialih, ki so na voljo pri družbi Hologic, navedene kataloške številke.

	<u>Kat. št.</u>
Sistem Tigris DTS	105118
Komplet tekočin testa Aptima <i>(raztopina za izpiranje Aptima, pufer Aptima za deaktivacijsko tekočino in oljni reagent Aptima)</i>	302382
Komplet Aptima Auto Detect	301048
Komplet Fluid Preservative sistema Aptima	302380
Konice, prevodne 1000 µl, zaznavanje tekočine	10612513 (Tecan)
Komplet Tigris DTS System Run	301191
<i>Enote z več epruветami (MTU)</i>	104772-02
<i>Vreča za odpadke za male konice enote MTU</i>	900907
<i>Deflektorji odpadkov enote MTU</i>	900931
<i>Pokrovi za odpadke enote MTU</i>	105523
Komplet za prenos primerkov Aptima	301154C
Komplet za prenos primerkov Aptima – možnost tiskanja	PRD-05110
Komplet za zbiranje in prenos primerkov materničnega vratu Aptima	302657
Pokrovčki Aptima, ki jih je mogoče predreti	105668
Pokrovčki, ki jih ni mogoče predreti, za zamenjavo	103036A
Nadomestni pokrovčki za rekonstitucijske raztopine za amplifikacijo in reagentne sond	CL0041
Nadomestni pokrovčki za rekonstitucijske raztopine encimskih reagentov	501616
Nadomestni pokrovčki za TCR in izbirne reagente	CL0040
Belilo, najmanj 5-odstotna ali 0,7 M raztopina natrijevega hipoklorita	—

Voda za sistem Tigris DTS	—
<i>Za specifikacije glejte priročnik za upravljalca sistema Tigris DTS.</i>	
Rokavice za enkratno uporabo	—
Komplet Aptima Transfer Solution (samo za primerke SurePath)	303658

Izbirni materiali

	<u>Kat. št.</u>
Ojačevalec belila za čiščenje	302101

Testni postopek pri sistemu Tigris DTS

Opomba: Za dodatne informacije o postopku pri sistemu Tigris DTS glejte priročnik za upravljalca sistema Tigris DTS.

A. Priprava delovnega območja

Očistite delovne površine, na katerih boste pripravljali reagente in vzorce. Delovne površine obrišite z od 2,5- do 3,5-odstotno (od 0,35 M do 0,5 M) raztopino natrijevega hipoklorita. Počakajte, da bo raztopina natrijevega hipoklorita v stiku s površinami vsaj 1 minuto, nato pa jih splaknite z vodo. Ne dopustite, da bi se raztopina natrijevega hipoklorita posušila. Površino mize, na kateri boste pripravljali reagente in vzorce, pokrijte s čistimi, vpojnimi pregrinjali s plastificirano spodnjo stranjo za laboratorijske mize.

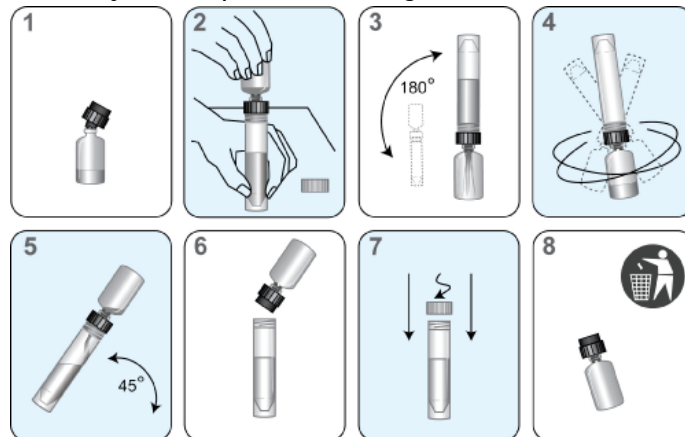
B. Priprava reagentov pri novem kompletu

Opomba: Pred začetkom kakršnega koli dela na sistemu Tigris DTS je treba izvesti rekonstitucijo reagenta.

1. Za rekonstitucijo reagentov za amplifikacijo, encimskih reagentov in reagentov za sonde združite steklenice liofiliziranega reagenta z rekonstitucijsko raztopino. Če so rekonstitucijske raztopine ohlajene, pred uporabo počakajte, da dosežejo sobno temperaturo.
 - a. Vsaki rekonstitucijski raztopini poiščite njen par liofiliziranega reagenta. Pred natikanjem obročka za rekonstitucijo poskrbite, da se bodo barvne oznake rekonstitucijske raztopine in liofiliziranega reagenta ujemale.
 - b. Preverite številke serije na listu s črtnimi kodami glavne serije, da zagotovite pravilno združevanje reagentov po parih.
 - c. Odprite vialo z liofiliziranim reagentom in čvrsto vstavite tisti konec obročka za rekonstitucijo, na katerem so zareze, v odprtino vialo (Slika 1, korak 1).
 - d. Odprite ujemajočo se rekonstitucijsko tekočino in postavite pokrovček na čisto, pokrito delovno površino.
 - e. Medtem ko držite steklenico z raztopino na mizi, čvrsto vstavite drugi konec obročka za rekonstitucijo v odprtino steklenice (Slika 1, korak 2).
 - f. Počasi obrnite sestavljene steklenice. Počakajte, da raztopina iz steklenice izteče v stekleno vialo (Slika 1, korak 3).
 - g. Raztopino v steklenici nežno sukajte, da se bo temeljito premešala. Med sukanjem steklenite pazite, da se ne bo tvorila pena (Slika 1, korak 4).
 - h. Počakajte, da liofilizirani reagent odteče v raztopino, nato pa sestavljene steklenice spet obrnite in jih nagnite pod kotom 45°, da se bo tvorilo čim manj pen (Slika 1, korak 5). Počakajte, da vsa tekočina steče nazaj v plastenko.
 - i. Odstranite obroček za rekonstitucijo in stekleno vialo (Slika 1, korak 6).

- j. Na plastenko znova namestite pokrovček. Na vseh vialah z rekonstituiranim reagentom zabeležite začetnice upravljavca in datum rekonstitucije (Slika 1, korak 7).
- k. Zavržite obroček za rekonstitucijo in stekleno vialo (Slika 1, korak 8).

Opozorilo: Pri rekonstituciji reagentov pazite, da se ne bo ustvarjala pena. Zaradi pene se poslabša zaznavanje ravni pri sistemu Tigris DTS.



Slika 1. Postopek rekonstitucije pri sistemu Tigris DTS

2. Pripravite delovni reagent za zajem tarče (wTCR):
 - a. Združite ustrezne steklenice TCR in IC po parih.
 - b. Preverite številke serije reagenta na listu s črtnimi kodami glavne serije, da poskrbite za pravilno združevanje reagentov v kompletu po parih.
 - c. Odprite steklenico TCR in postavite pokrovček na čisto, pokrito delovno površino.
 - d. Odprite steklenico IC in izlijte celotno vsebino v steklenico TCR. Pričakujete lahko, da bo v steklenici IC ostala majhna količina tekočine.
 - e. Steklenico TCR pokrijte s pokrovčkom in raztopino nežno sukajte, da zmešate vsebino. Pri tem koraku poskrbite, da se ne bo tvorila pena.
 - f. Na etiketo zabeležite začetnice upravljavca in trenutni datum.
 - g. Zavržite steklenico IC in pokrovček.
 - h. V wTCR se lahko tvori oborina, pri kateri se lahko zaradi napak preverjanja količine pojavijo neveljavni rezultati. Oborino je mogoče raztopiti s segrevanjem wTCR do 90 minut na temperaturo od 42 °C do 60 °C. Pred uporabo počakajte, da se temperatura wTCR izenači s sobno. Če je oborina še prisotna, ga ne uporabljajte.
3. Priprava izbirnega reagenta
 - a. Preverite številko serije reagenta na listu s črtnimi kodami glavne serije, da se prepričate, ali pripada kompletu.
 - b. Če izbirni reagent vsebuje oborino, ga 45 minut segrevajte pri temperaturi 60 °C ± 1 °C, da pospešite raztapljanje oborine. Vsebino steklenice vsakih 5 do 10 minut nežno premešajte. Pred uporabo počakajte, da se temperatura izbirnega reagenta izenači s sobno. Če je oborina ali motnost še prisotna, ga ne uporabljajte.

Opomba: Pred nalaganjem v sistem reagente nežno obračajte, da jih temeljito zmešate. Med obračanjem reagentov poskrbite, da se ne bo tvorila pena.

C. Priprava reagenta za predhodno rekonstituirane reagente

1. Temperatura predhodno rekonstituiranih reagentov za amplifikacijo, encimskih reagentov in reagentov za sonde mora pred začetkom testa doseči sobno temperaturo (od 15°C do 30 °C).
2. Če rekonstituirani reagent za sondo vsebuje oborino, ki se pri sobni temperaturi ne spremeni v raztopino, od 1 minute do 2 minut segrevajte pri temperaturi, ki ne presega 60 °C . Če je prisotna oborina ali motnost, ga ne uporabljajte.
3. Če wTCR vsebuje oborino, ga 90 minut segrevajte pri temperaturi od 42 °C do 60 °C. Pred uporabo počakajte, da se temperatura wTCR izenači s sobno. Če je oborina še prisotna, ga ne uporabljajte.
4. Če izbirni reagent vsebuje oborino, ga 45 minut segrevajte pri temperaturi 60 °C ± 1 °C, da pospešite raztapljanje oborine. Vsebinske steklenice vsakih 5 do 10 minut nežno premešajte. Pred uporabo počakajte, da se temperatura izbirnega reagenta izenači s sobno. Če je oborina ali motnost še prisotna, ga ne uporabljajte.
5. Pred nalaganjem v sistem vsak reagent nežno obračajte, da ga temeljito zmešate. Med obračanjem reagentov poskrbite, da se ne bo tvorila pena.
6. Steklenic za reagente ne napolnite do vrha. Sistem Tigris DTS bo steklenice, ki so bile napolnjene do vrha, prepoznal in zavrnil.

D. Rokovanje z vzorci

1. Pred obdelavo počakajte, da temperatura vzorcev (kalibratorjev, kontrol in primerkov) doseže sobno temperaturo.
2. **Vzorcev ne vrtinčite.**
3. Tekoče citološke primerke SurePath je treba pred testiranjem s testom Aptima HPV assay obdelati s proteinazo K v skladu z navodili v *Zbiranje in shranjevanje primerkov*, poglavje C.
4. Pred nalaganjem epruвет z vzorci na nosilec jih pregledajte. Če so v epruветi z vzorcem mehurčki ali pa je količina v njej manjša od običajno opažene, epruветo 5 minut centrifugirajte pri 420 RCF, da v pokrovčku zagotovo ne bo nobene tekočine.

Opomba: Če koraka 4 ne opravite, bi lahko iz pokrovčka epruветe s primerkom iztekala tekočina.

E. Priprava sistema

Pripravite instrument in delovni seznam v skladu z navodili v *priročniku za upravljalca sistema Tigris DTS* in spodnjim poglavjem *Opombe k postopku*.

Opombe k postopku

A. Kalibratorji

1. Na vsakem delovnem seznamu morajo biti 3 podvojitve negativnega in pozitivnega kalibratorja. Za pravilno delo s programsko opremo testa Aptima HPV assay mora biti negativni kalibrator na položaju prve epruветe prvega nosilca na seznamu opravił, pozitivni kalibrator pa na položaju druge epruветe prvega nosilca na delovnem seznamu.
2. Pri poskusu pipetiranja več kot treh podvojitve iz epruветe kalibratorja se lahko pojavijo napake zaradi nezadostne količine.

B. Kontrole

1. V programski opremi Aptima HPV assay sta potrebna začetek in konec kontrol postopka. Negativna kontrola mora biti na položaju tretje epruvete na prvem nosilcu in položaju predzadnje epruvete na zadnjem nosilcu z delovnega seznama. Pozitivna kontrola mora biti na položaju četrte epruvete na prvem nosilcu in položaju zadnje epruvete na zadnjem nosilcu z delovnega seznama.
2. Pri več kot enem poskusu pipetiranja iz epruvete kontrole se lahko pojavijo napake zaradi nezadostne količine.

C. Temperatura

Sobna temperatura je opredeljena kot območje od 15 °C do 30 °C.

D. Smukec na rokavicah

Kot pri vsakem sistemu za reagente lahko preveč smukca na nekaterih rokavicah onesnaži odprte epruvete. Priporočljive so rokavice brez smukca.

Sistem Panther

Reagenti za test Aptima HPV assay za sistem Panther so naštetih spodaj. Ob imenu reagenta so navedeni tudi simboli za identifikacijo reagenta.

Priloženi reagenti in materiali

Test Aptima HPV assay, 250 testov, kat. št. 303093 (3 škatle)

Test Aptima HPV assay, 100 testov, kat. št. 302929 (3 škatle)

Kalibratorje je mogoče kupiti ločeno. Glejte posamezne kataloške številke, ki so navedene spodaj.

Škatla za shranjevanje v ohlajenem stanju Aptima HPV (ob prejemu shranite pri temperaturi od 2 °C do 8 °C)

Simbol	Sestavni del	Količina
A	reagent za amplifikacijo virusa HPV, <i>Nekužne nukleinske kisline, posušene v pufrski raztopini, ki vsebuje < 5 % sredstva za povečanje volumna.</i>	1 viala
E	encimski reagent za virus HPV, <i>Reverzna transkriptaza in polimeraza RNA, posušeni v pufrski raztopini HEPES, ki vsebuje < 10 % sredstva za povečanje volumna.</i>	1 viala
P	reagent za sondo za virus HPV, <i>Nekužne kemiluminiscentne sonde DNA (< 500 ng/viala), posušene v sukcinatni pufrski raztopini, ki vsebuje < 5 % detergenta.</i>	1 viala
IC	reagent za notranjo kontrolo za virus HPV, <i>Nekužni transkript RNA v pufrski raztopini, ki vsebuje < 5 % detergenta.</i>	1 viala

Škatla za shranjevanje pri sobni temperaturi Aptima HPV (ob prejemu shranite pri sobni temperaturi od 15 °C do 30 °C)

Simbol	Sestavni del	Količina
AR	rekonstitucijska raztopina za amplifikacijo za virus HPV, <i>Vodna raztopina, ki vsebuje konzervanse.</i>	1
ER	encimska rekonstitucijska raztopina za virus HPV, <i>Pufrska raztopina HEPES, ki vsebuje surfaktant in glicerol.</i>	1
PR	rekonstitucijska raztopina sond za virus HPV, <i>Sukcinatna pufrska raztopina, ki vsebuje < 5 % detergenta.</i>	1
S	izbirni reagent za virus HPV, <i>Boratna pufrska raztopina 600 mM, ki vsebuje surfaktant.</i>	1
TCR	reagent za zajem tarče za virus HPV, <i>Nekužna nukleinska kislina v pufrski raztopini, ki vsebuje trdno fazo (< 0,5 mg/ml).</i>	1
	Obročki za rekonstitucijo	3
	List s črtnimi kodami glavne serije	1 list

Škatla s kalibratorji Aptima HPV (kat. št. 302554)
(ob prejemu shranite pri temperaturi od 2 °C do 8 °C)

Simbol	Sestavni del	Količina
PCAL	Pozitivni kalibrator HPV <i>Nekužni transkript virusa HPV 16 in vitro pri 1000 kopijah na ml v pufrski raztopini, ki vsebuje < 5 % detergenta.</i>	5 vial
NCAL	Negativni kalibrator HPV <i>Pufrska raztopina, ki vsebuje < 5 % detergenta.</i>	5 vial

Potrebni materiali, ki so na voljo posebej

Opomba: Če ni drugače določeno, so pri materialih, ki so na voljo pri družbi Hologic, navedene kataloške številke.

	<u>Kat. št.</u>
Sistem Panther	303095
Komplet Panther Run	303096
<i>Komplet tekočin testa Aptima</i>	303014
<i>(raztopina za izpiranje Aptima, pufer Aptima za deaktivacijsko tekočino in oljni reagent Aptima)</i>	
<i>Komplet Aptima Auto Detect</i>	303013
<i>Enote z več epruветami (MTU)</i>	104772-02
<i>Komplet vreč za odpadke sistema Panther</i>	902731
<i>Pokrov za odpadke sistema Panther</i>	504405
Konice, prevodne 1000 µl, zaznavanje tekočine	10612513 (Tecan)
Komplet za prenos primerkov Aptima	301154C
Komplet za prenos primerkov Aptima – možnost tiskanja	PRD-05110
Komplet za zbiranje in prenos primerkov materničnega vratu Aptima	302657
Pokrovčki Aptima, ki jih je mogoče predreti	105668
Pokrovčki, ki jih ni mogoče predreti, za zamenjavo	103036A
Nadomestni pokrovčki za 250 kompletov testov:	
<i>Raztopine za rekonstitucije reagenta za amplifikacijo in reagenta za sondo</i>	CL0041
<i>Raztopina za rekonstitucijo encimskega reagenta</i>	501616
<i>TCR in izbirni reagent</i>	CL0040
Nadomestni pokrovčki za 100 kompletov testov:	
<i>Raztopine za rekonstitucije reagenta za amplifikacijo in reagenta za sondo</i>	CL0041
<i>Raztopina za rekonstitucijo encimskega reagenta</i>	CL0041
<i>TCR in izbirni reagent</i>	501604
Belilo, najmanj 5-odstotna ali 0,7 M raztopina natrijevega hipoklorita	—
Rokavice za enkratno uporabo	—
Komplet Aptima Transfer Solution (samo za primerke SurePath)	303658

Izbirni materiali

	<u>Kat. št.</u>
Ojačevalec belila za čiščenje	302101

Testni postopek pri sistemu Panther

Opomba: Za dodatne informacije o postopku pri sistemu Panther glejte priročnik za upravljalca sistema Panther.

A. Priprava delovnega območja

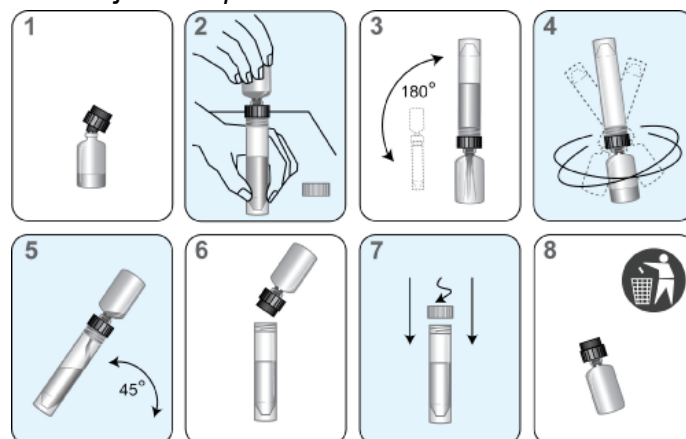
Očistite delovne površine, na katerih boste pripravljali reagente in vzorce. Delovne površine obrišite z od 2,5- do 3,5-odstotno (od 0,35 M do 0,5 M) raztopino natrijevega hipoklorita. Počakajte, da bo raztopina natrijevega hipoklorita v stiku s površinami vsaj 1 minuto, nato pa jih splaknite z vodo. Ne dopustite, da bi se raztopina natrijevega hipoklorita posušila. Površino mize, na kateri boste pripravljali reagente in vzorce, pokrijte s čistimi, vpojnimi pregrinjali s plastificirano spodnjo stranjo za laboratorijske mize.

B. Priprava reagentov pri novem kompletu

Opomba: Pred začetkom kakršnega koli dela na sistemu Panther je treba izvesti rekonstitucijo reagenta.

1. Za rekonstitucijo reagentov za amplifikacijo, encimskih reagentov in reagentov za sonde združite steklenice liofiliziranega reagenta z rekonstitucijsko raztopino. Če so rekonstitucijske raztopine ohlajene, pred uporabo počakajte, da dosežejo sobno temperaturo.
 - a. Vsaki rekonstitucijski raztopini poiščite njen par liofiliziranega reagenta. Pred natikanjem obročka za rekonstitucijo poskrbite, da se bodo barvne oznake rekonstitucijske raztopine in reagenta ujemale.
 - b. Preverite številke serije na listu s črnimi kodami glavne serije, da zagotovite pravilno združevanje reagentov po parih.
 - c. Odprite vialo z liofiliziranim reagentom in čvrsto vstavite tisti konec obročka za rekonstitucijo, na katerem so zareze, v odprtino vial (Slika 2, korak 1).
 - d. Odprite ujemajočo se rekonstitucijsko tekočino in postavite pokrovček na čisto, pokrito delovno površino.
 - e. Medtem ko držite steklenico z raztopino na mizi, čvrsto vstavite drugi konec obročka rekonstitucijo v steklenico (Slika 2, korak 2).
 - f. Počasi obrnite sestavljene steklenice. Počakajte, da raztopina iz steklenice izteče v stekleno vialo (Slika 2, korak 3).
 - g. Raztopino v steklenici nežno sukajte, da se bo temeljito premešala. Med sukanjem steklenice pazite, da se ne bo tvorila pena (Slika 2, korak 4).
 - h. Počakajte, da liofilizirani reagent odteče v raztopino, nato pa sestavljene steklenice spet obrnite in jih nagnite pod kotom 45°, da se bo tvorilo čim manj pen (Slika 2, korak 5). Počakajte, da vsa tekočina steče nazaj v plastenko.
 - i. Odstranite obroček za rekonstitucijo in stekleno vialo (Slika 2, korak 6).
 - j. Na plastenko znova namestite pokrovček. Na vseh vialah z rekonstituiranim reagentom zabeležite začetnice upravljalca in datum rekonstitucije (Slika 2, korak 7).
 - k. Zavrzite obroček za rekonstitucijo in vialo (Slika 2, korak 8).

Opozorilo: Pri rekonstituciji reagentov pazite, da se ne bo ustvarjala pena. Zaradi pene se poslabša zaznavanje ravni pri sistemu Panther.



Slika 2. Postopek rekonstitucije pri sistemu Panther

2. Pripravite delovni reagent za zajem tarče (wTCR):
 - a. Združite ustrezne steklenice TCR in IC po parih.
 - b. Preverite številke serije reagenta na listu s črtnimi kodami glavne serije, da poskrbite za pravilno združevanje reagentov v kompletu po parih.
 - c. Odprite steklenico TCR in postavite pokrovček na čisto, pokrito delovno površino.
 - d. Odprite steklenico IC in izlijte celotno vsebino v steklenico TCR. Pričakujete lahko, da bo v steklenici IC ostala majhna količina tekočine.
 - e. Steklenico TCR pokrijte s pokrovčkom in raztopino nežno sukajte, da zmešate vsebino. Pri tem koraku poskrbite, da se ne bo tvorila pena.
 - f. Na etiketo zabeležite začetnice upravljavca in trenutni datum.
 - g. Zavržite steklenico IC in pokrovček.
 - h. V wTCR se lahko tvori oborina, pri kateri se lahko zaradi napak preverjanja količine pojavijo neveljavni rezultati. Oborino je mogoče raztopiti s segrevanjem wTCR do 90 minut na temperaturo od 42 °C do 60 °C. Pred uporabo počakajte, da se temperatura wTCR izenači s sobno. Če je oborina še prisotna, ga ne uporabljajte.
 3. Priprava izbirnega reagenta
 - a. Preverite številko serije reagenta na listu s črtnimi kodami glavne serije, da se prepričate, ali pripada kompletu.
 - b. Če izbirni reagent vsebuje oborino, ga 45 minut segrevajte pri temperaturi 60 °C ± 1 °C, da pospešite raztapljanje oborine. Vsebinske steklenice vsakih 5 do 10 minut nežno premešajte. Pred uporabo počakajte, da se temperatura izbirnega reagenta izenači s sobno. Če je oborina ali motnost še prisotna, ga ne uporabljajte.
- Opomba:** Pred nalaganjem v sistem reagente nežno obračajte, da jih temeljito zmešate. Med obračanjem reagentov poskrbite, da se ne bo tvorila pena.
- C. Priprava reagenta za predhodno rekonstituirane reagente
 1. Temperatura predhodno rekonstituiranih reagentov za amplifikacijo, encimskih reagentov in reagentov za sonde mora pred začetkom testa doseči sobno temperaturo (od 15°C do 30 °C).

2. Če rekonstituirani reagent za sondo vsebuje oborino, ki se pri sobni temperaturi ne spremeni v raztopino, od 1 minute do 2 minut segrevajte pri temperaturi, ki ne presega 60 °C . Če je prisotna oborina ali motnost, ga ne uporabljajte.
3. Če wTCR vsebuje oborino, ga 90 minut segrevajte pri temperaturi od 42 °C do 60 °C. Pred uporabo počakajte, da se temperatura wTCR izenači s sobno. Če je oborina še prisotna, ga ne uporabljajte.
4. Če izbirni reagent vsebuje oborino, ga 45 minut segrevajte pri temperaturi 60 °C ± 1 °C, da pospešite raztapljanje oborine. Vsebino steklenice vsakih 5 do 10 minut nežno premešajte. Pred uporabo počakajte, da se temperatura izbirnega reagenta izenači s sobno. Če je oborina ali motnost še prisotna, ga ne uporabljajte.
5. Pred nalaganjem v sistem vsak reagent nežno obračajte, da ga temeljito zmešate. Med obračanjem reagentov poskrbite, da se ne bo tvorila pena.
6. Steklenic za reagente ne napolnite do vrha. Sistem Panther bo steklenice, ki so bile napolnjene do vrha, prepoznal in zavrnil.

D. Rokovanje z vzorci

1. Pred obdelavo počakajte, da temperatura vzorcev (kalibratorjev in primerkov) doseže sobno temperaturo.
2. **Primerkov ne vrtničite.**
3. Pred nalaganjem epruвет z vzorci na nosilec jih pregledajte. Če so v epruветi z vzorcem mehurčki ali pa je količina v njej manjša od običajno opažene, epruветo 5 minut centrifugirajte pri 420 RCF, da v pokrovčku zagotovo ne bo nobene tekočine.

Opomba: Če koraka 3 ne opravite, bi lahko iz pokrovčka epruветe s primerkom iztekala tekočina.

E. Priprava sistema

1. Pripravite sistem v skladu z navodili v *priročniku za upravljalca sistema Panther* in spodnjim poglavjem *Opombe k postopku*. Prepričajte se, da so uporabljeni nosilci za reagente in adapterji TCR pravih velikosti.
2. Naložite vzorce.

Opombe k postopku

A. Kalibratorji

1. Za pravilno delo s programsko opremo Aptima HPV assay na sistemu Panther so potrebne tri podvojitve pozitivnega kalibratorja in tri podvojitve negativnega kalibratorja. Na kateri koli položaj na katerem koli vzorčnem pasu pri sistemu Panther je mogoče naložiti eno vialo vsakega kalibratorja. Pipetiranje primerkov se bo začelo, ko bo izpolnjen eden od naslednjih dveh pogojev:
 - a. Sistem trenutno obdeluje pozitivni in negativni kalibrator.
 - b. V sistemu so zabeleženi veljavni rezultati za kalibratorja.
2. Ko so epruветe kalibratorjev pipetirane in obdelane za določeni komplet reagentov, je mogoče testirati primerke s kompletom reagentov za povezani test do 24 ur, razen če nastopi naslednje:
 - a. Kalibratorji so neveljavni.
 - b. Komplet reagentov za povezani test je odstranjen iz sistema.
 - c. Pri kompletu reagentov za povezani test so presežene mejne vrednosti stabilnosti.
3. Pri poskusu pipetiranja več kot treh podvojitvev iz epruветe kalibratorja se lahko pojavijo napake pri obdelavi.

B. Temperatura

Sobna temperatura je opredeljena kot območje od 15 °C do 30 °C.

C. Smukec na rokavicah

Kot pri vsakem sistemu za reagente lahko preveč smukca na nekaterih rokavicah onesnaži odprte epruvete. Priporočljive so rokavice brez smukca.

Postopki kontrole kakovosti

A. Merila veljavnosti postopka

Programska oprema samodejno določi veljavnost postopka. Postopek bo razveljavila, če se pojavi katero koli od teh stanj:

- Več kot ena neveljavna podvojitev negativnega kalibratorja.
- Več kot ena neveljavna podvojitev pozitivnega kalibratorja.
- Neveljavna negativna kontrola (samo pri sistemu Tigris DTS).
- Neveljavna pozitivna kontrola (samo pri sistemu Tigris DTS).

Postopek lahko razveljavi upravljavec, če med izvedbo testa opazi in dokumentira tehnične težave, težave upravljavca ali težave z instrumentov.

Neveljavni postopek je treba ponoviti. Prekinjene postopek je treba ponoviti.

B. Merila za sprejem kalibratorja

V spodnji preglednici so opredeljena merila za relativne svetlobne enote (RLU) pri podvojitvah negativnega in pozitivnega kalibratorja.

Negativni kalibrator	
Analit	$\geq 0 \text{ in } \leq 45.000 \text{ RLU}$
IC	$\geq 75.000 \text{ in } \leq 400.000 \text{ RLU}$
Pozitivni kalibrator	
Analit	$\geq 480.000 \text{ in } \leq 1.850.000 \text{ RLU}$
IC	$\leq 450.000 \text{ RLU}$

C. Izračun mejne vrednosti IC

Mejna vrednost IC je določena iz signala IC (bliskajoče sonde) iz podvojitve veljavnega negativnega kalibratorja.

$$\text{Mejna vrednost IC} = 0,5 \times [\text{srednja vrednost RLU IC veljavnih podvojitvev negativnega kalibratorja}]$$

D. Izračun mejne vrednosti analita

Mejna vrednost analita je določena iz signala analita (sijoče sonde) iz veljavnih podvojitvev negativnega kalibratorja ter signala analita iz veljavnih podvojitvev pozitivnega kalibratorja

$$\text{Mejna vrednost analita} = \frac{[\text{srednja vrednost RLU analita veljavnih podvojitvev negativnega kalibratorja}] + [0,09 \times \text{srednja vrednost RLU analita veljavnih podvojitvev pozitivnega kalibratorja}]$$

E. Izračun razmerja med signalom in mejno vrednostjo analita (Signal to Cutoff, S/CO)

Razmerje S/CO analita je določeno iz vrednosti RLU analita testnega vzorca in mejne vrednosti analita za postopek.

$$\text{Razmerje S/CO analita} = \frac{\text{vrednost RLU analita testnega vzorca}}{\text{mejna vrednost analita}}$$

F. Merila za sprejem kontrole (samo pri sistemu Tigris DTS)

Negativna kontrola mora imeti veljaven negativen rezultat (RLU IC \geq mejna vrednost IC in razmerje analita S/CO $<$ 0,50). Pozitivna kontrola mora imeti veljaven pozitiven rezultat (razmerje analita S/CO \geq 0,50).

Interpretacija testa

Programska oprema testa samodejno določi rezultate testa. Rezultat testa za analit, kot je določen z vrednostjo RLU IC in razmerjem S/CO, je lahko negativen, pozitiven ali neveljaven. Rezultat testa je lahko neveljaven tudi zaradi drugih parametrov (nenormalne oblike kinetične krivulje), ki so zunaj normalnih pričakovanih razponov. Prve neveljavne rezultate testov je treba ponoviti.

Za obvladovanje morebitnih zaviralnih snovi je mogoče primerke kompleta Aptima CSCT razredčiti. Razredčite 1 del neveljavnega primerka v 8 delih transportnega medija za primerke (raztopine v epruveh kompleta CSCT); npr. 560 µl primerka v novi epruveti kompleta CSCT, ki vsebuje 4,5 ml transportnega medija za primerke. Razredčeni primerek nežno obrnite, da se zmeša: pazite, da se ne bo tvorila pena. Razredčeni primerek zmešajte v skladu s standardnim postopkom testiranja.

Opomba: Za testiranje 1 alikvota vzorca je najmanjša potrebna količina 1,7 ml. Neveljavnega razredčenega primerka ne redčite. Če je rezultat pri razredčenem primerku neveljaven, je treba od bolnice pridobiti nov primerek.

Rezultat testa Aptima HPV Assay	Merila
Negativno	Razmerje S/CO analita < 0,50 IC ≥ mejna vrednosti IC IC ≤ 2.000.000 RLU
Pozitivno	Razmerje S/CO analita ≥ 0,50 IC ≤ 2.000.000 RLU Analit ≤ 13.000.000 RLU
Neveljavno	IC > 2.000.000 RLU ali razmerje S/CO analita < 0,50 in IC < mejna vrednosti IC ali Analit > 13.000.000 RLU

Omejitve

- A. Vrste primerkov, ki pri predvideni uporabi niso določene, niso ovrednotene.
- B. Učinkovitost testa Aptima HPV assay ni ovrednotena pri posameznicah, cepljenih proti virusu HPV.
- C. Test Aptima HPV assay ni ovrednoten pri primerih domnevne spolne zlorabe.
- D. Na učinkovitost lahko vpliva pogostost okužb z virusom HPV v populaciji. Pri testiranju populacij z nizko pogostostjo ali posameznic, pri katerih ni tveganja okužbe, se pozitivne napovedne vrednosti zmanjšajo.
- E. Tekoči citološki primerki ThinPrep, ki po pripravi preparatov testa PAP ThinPrep vsebujejo manj kot 1 ml, veljajo za nezadostne za test Aptima HPV assay.
- F. Vpliv odstranitve 1 ml tekočega citološkega primerka SurePath pred citološko obdelavo na citološki izvid ni ovrednoten.
- G. Na rezultate testa lahko vpliva nepravilno zbiranje, shranjevanje ali obdelava primerkov.
- H. Notranja kontrola spremlja zajem tarče ter amplifikacijo in korake zaznavanja pri testu. Ni namenjena nadzoru nad ustreznostjo jemanja vzorcev brisov materničnega vratu.
- I. Z negativnim testom Aptima HPV assay ni izključena možnost citoloških nenormalnosti ali prihodnjih ali osnovnih CIN2, CIN3 ali raka.
- J. Lubrikanti za osebno uporabo, ki vsebujejo polikvaternij 15, lahko motijo učinkovitost testa, če so prisotni v koncentracijah, večjih od 0,025 % (v/v ali w/v) testnega vzorca.
- K. Protiglivična zdravila, ki vsebujejo tiokonazol, lahko motijo učinkovitost testa, če so prisotni v koncentracijah, večjih od 0,075 % (w/v) testnega vzorca.
- L. Rezultati testa Aptima HPV assay so kvalitativni. Zato ni mogoče sklepati na povezavo med velikostjo pozitivnega signala testa in ravno izražanja mRNA v primerku.
- M. Zaznavanje mRNA visokotvegane virusa HPV je odvisno od števila kopij, ki so prisotne v primerku in na katere lahko vplivajo metode zbiranja primerkov, dejavniki, povezani z bolnicami, faza okužbe in prisotnost motečih snovi.
- N. Okužba z virusom HPV ni kazalnik citološko ugotovljene ploščatocelične intraepitelijske lezije visoke stopnje (HSIL) ali dejanska cervikalna intraepitelijska neoplazija (CIN) visoke stopnje, prav tako pa ne pomeni, da se bo razvila neoplazija CIN2, neoplazija CIN3 ali rak. Pri večini žensk, ki so okužene z eno ali več visokotveganimi vrstami virusa HPV, se ne razvije neoplazija CIN2 ali CIN3 ali rak.
- O. Učinki drugih morebitnih spremenljivk, kot je vaginalni izcedek, uporaba tamponov, tuširanje itd., ter spremenljivk zbiranja primerkov niso ovrednoteni.
- P. Uporaba tega pripomočka mora biti omejena na osebje, ki je usposobljeno za uporabo testa Aptima HPV assay.
- Q. Pri navzkrižni kontaminaciji vzorcev se lahko pojavijo lažni pozitivni rezultati. V neklinični študiji je bilo ugotovljeno, da stopnja prenosa s sistema Aptima HPV assay na sistem Tigris DTS znaša 0,3 %.

- R. Test Aptima HPV assay je treba interpretirati skupaj z drugimi laboratorijskimi in kliničnimi podatki, ki so na voljo zdravniku.
- S. Pri tem testu se lahko pojavijo lažni pozitivni rezultati. Transkripti *in vitro* iz genotipov nizkotveganega virusa HPV 26, 67, 70 in 82 so pri testu Aptima HPV assay izražali navzkrižno reaktivnost.
- T. Material pozitivne kontrole ni namenjen spremljanju učinkovitosti pri mejni vrednosti testa.

Pričakovani rezultati sistema Tigris DTS: pogostost mRNA visokotveganega virusa HPV

Pogostost okužbe z visokotveganim virusom HPV je zelo različna in nanjo vpliva več dejavnikov, h katerim največ prispeva starost.^{32,33} V mnogih študijah so preučevali pogostost virusa HPV, kot je določena z zaznavanjem DNA virusa HPV, vendar le v malo študijah poročajo o pogostosti na podlagi zaznavanja onkogene mRNA virusa HPV. V prospektivno klinično študijo, znano pod imenom preskušanje CLEAR, so bile vključene ženske iz več različnih kliničnih raziskovalnih centrov (n=18), pri katerih je bila geografska porazdelitev široka, njihova populacija pa raznolika (10 zveznih držav v Združenih državah Amerike).³⁴ Pogostost vzorcev virusa HPV s pozitivno mRNA, ki so jo opazovali v kliničnem preskušanju, je bila razvrščena na skupne podatke, starostno skupino in raziskovalni testni center. Rezultate za ASC-US (atipične ploščate celice nedoločenega pomena) in NILM (negativno za intraepitelijsko lezijo ali malignost) prikazuje preglednica Preglednica 1.

Preglednica 1: Pogostost mRNA visokotveganega virusa HPV glede na starostno skupino, raziskovalni testni center in vse združene podatke.

	Stopnja pozitivnosti % (x/n)	
	Populacija ASC-US (≥ 21 let)	Populacija NILM (≥ 30 let)
Vsi podatki	41,8 (400/958)	5,0 (540/10.871)
Starostna skupina (v letih)		
od 21 do 29	60,3 (252/418)	Ni na voljo.
od 30 do 39	36,8 (98/266)	6,9 (289/4199)
≥ 40	18,2 (50/274)	3,8 (251/6672)
Raziskovalni testni center		
1	41,6 (134/322)	4,7 (172/3682)
2	41,4 (150/362)	5,2 (194/3702)
3	42,3 (116/274)	5,0 (174/3487)

Ni na voljo. = Podatki niso na voljo.

Zasnova klinične študije testa Aptima HPV Assay s tekočimi citološkimi primerki ThinPrep

V ZDA je bila izvedena prospektivna, multicentrična klinična študija, znana pod imenom preskušanje CLEAR, za določanje klinične učinkovitosti testa Aptima HPV assay pri odkrivanju intraepitelijske neoplazije materničnega vratu stopnje 2 ali resnejše bolezni materničnega vratu (\geq CIN2). Pri preskušanju CLEAR je bilo vključeno vrednotenje ob izhodišču in 3-letno kontrolno vrednotenje.³⁴

Preskušanje CLEAR – vrednotenje ob izhodišču

V izhodišču preskušanja CLEAR (v izhodiščni fazi) so bile ženske na podlagi citoloških izvidov pri rutinskem presejanju za rak na materničnem vratu vpisane v študijo ASC-US ali študijo NILM. V populacijo študije ASC-US so bile vključene ženske, stare 21 in več let, s citološkimi izvidi za ASC-US, v populacijo študije NILM pa ženske, stare 30 in več let, s citološkimi izvidi za NILM. Študija NILM je bila zasnovana v podporo zahtevi po dodatnem presejanju za ženske, stare 30 in več let, saj bi morale ženske v tej starostni skupini in s citološkimi izvidi, ki presegajo ASC-US, oditi na kolposkopijo ne glede na stanje virusa HPV pri njih.³⁵

Vpisane so bile ženske iz 18 kliničnih raziskovalnih centrov, v glavnem klinik za porodništvo/ginekologijo, kar je zajemalo široko geografsko porazdelitev in raznoliko populacijo. Upravičene ženske so bile dodeljene v študijo ASC-US ali NILM na podlagi napotnega tekočega citološkega primerka ThinPrep. V izhodišču so bili preostali napotni primerki žensk v študiji ASC-US in NILM testirani s testom Aptima HPV assay in komercialnim testom DNA virusa HPV.

V izhodišču so bile vse ženske iz študije ASC-US napotene na kolposkopijo, ne glede na rezultate testa HPV pri njih. Izvedene so bile biopsija z endocervikalno kiretažo (ECC) in incizijske biopsije materničnega vratu (1 biopsija iz vsakega od 4 kvadrantov). Če je bila lezija vidna, je bila izvedena incizijska biopsija (usmerjena metoda; 1 biopsija na lezijo), v kvadrantih brez vidne lezije pa je bila biopsija izvedena na transformacijski coni (naključna metoda).

Na kolposkopijo so bile za vrednotenje v izhodišču napotene ženske v študiji NILM, pri katerih je bil rezultat testa Aptima HPV assay in/ali komercialnega testa DNA virusa HPV pozitiven, ter naključno izbrane ženske, katerih rezultati so bili pri obeh testih negativni. Za popravek pristranskosti preverjanja s prilagojenimi ocenami učinkovitosti z metodo večkratnega vstavljanja so bile vključene naključno izbrane ženske, katerih rezultati so bili pri obeh testih negativni. Pri vsaki ženski, pri kateri je bila opravljena kolposkopija, je bila opravljena biopsija ECC. Incizijske biopsije so bile opravljene samo iz vidnih lezij (usmerjena metoda; 1 biopsija na lezijo).

Stanje bolezni je določil odbor za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov na podlagi soglasja vsaj 2 strokovnjakov patologov. Stanje virusa HPV pri ženski je bilo za strokovnjake patologe skrito. Prav tako so bili zanje skriti stanje citoloških izvidov in histološke diagnoze, ki so jih postavili. Če se 3 patologi niso strinjali, so za doseganje soglasja vsi 3 preverili preparate pod mikroskopom z več glavami. Za preprečevanje pristranskosti so bili rezultati testa HPV za raziskovalce, zdravnike in ženske skriti do konca obiska kolposkopije.

V izhodišču je bila klinična učinkovitost testa Aptima HPV assay za zaznavanje \geq CIN2 in intraepitelijske neoplazije materničnega vratu stopnje 3 ali resnejše bolezni materničnega vratu (\geq CIN3) ocenjena relativno glede na stanje bolezni materničnega vratu, določeno v izhodišču. Za neposredno primerjavo z rezultati testa Aptima HPV assay je bila ocenjena tudi klinična učinkovitost komercialnega testa DNA virusa HPV.

Preskušanje CLEAR – vrednotenje pri spremljanju

Ženske v študiji NILM iz 14 kliničnih raziskovalnih centrov so bile upravičene do sodelovanja v 3-letni fazi spremljanja v študiji, če: i) so v izhodišču opravile obisk kolposkopije in pri njih ni bilo \geq CIN2 ali če ii) v izhodišču niso opravile obiska kolposkopije. Fazo spremljanja v študiji so predstavljali letni obiski. Ob teh obiskih so bili pri vsaki ženski odvzeti vzorci materničnega vratu za citološko preiskavo, nekatere pa so bile testirane s komercialnim testom HPV. Ženske z ASC-US ali resnejšimi citološkimi izvidi v obdobju spremljanja so bile napotene na kolposkopijo z istimi postopki biopsijskih in histoloških preiskav, kot so bili pri študiji NILM izvedeni pri vrednotenju v izhodišču. Stanje bolezni materničnega vratu ob kontrolnem obisku je veljalo za »negativno« na podlagi citoloških izvidov NILM, pri ženskah z nenormalnimi citološkimi izvidi pri testu pa na podlagi normalnih rezultatov ali soglasja o CIN1 odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov. Pri ženskah, pri katerih je bilo med obdobjem spremljanja zaznana bolezen \geq CIN2, je veljalo, da so spremljanje zaključile in te ženske se po zaznavi bolezni \geq CIN2 niso udeleževale obiskov. Pri ženskah, pri katerih v obdobju spremljanja ni bilo zaznane bolezni \geq CIN2, ki pa so se udeležile obiska v okviru študije v kontrolnem letu 1 in/ali v kontrolnem letu 2 ter so se udeležile obiska v okviru študije v kontrolnem letu 3 je veljalo, da so zaključile spremljanje.

Cilj študije spremljanja je bil primerjava tveganja za bolezen materničnega vratu v kumulativnem 3-letnem obdobju pri ženskah, pri katerih so bili rezultati testa Aptima HPV assay v izhodišču pozitivni, s tveganjem za bolezen materničnega vratu v kumulativnem 3-letnem obdobju pri ženskah, pri katerih so bili rezultati testa Aptima HPV assay v izhodišču negativni. Stanje bolezni materničnega vratu v 3-letnem obdobju je bilo opredeljeno na naslednji način:

- Pozitivno stanje bolezni materničnega vratu (\geq CIN2 in/ali \geq CIN3) – ženske, pri katerih je bila v izhodišču ali med spremljanjem zaznana bolezen \geq CIN2.
- Negativno stanje bolezni materničnega vratu ($<$ CIN2) – ženske, ki so zaključile spremljanje brez zaznane bolezni \geq CIN2 in za katere ni veljalo, da je stanje bolezni materničnega vratu pri njih »nedoločeno«.
- Nedoločeno stanje bolezni materničnega vratu – ženske, pri katerih so bili citološki izvidi pri testu med spremljanjem nenormalni in pri katerih ni bilo poznejšega rezultata odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov, ali ženske z nezadostno citološko preiskavo ob njihovem zadnjem obisku.
- Izgubljene za spremljanje – ženske, ki niso zaključile spremljanja in za katere ni veljalo, da je stanje bolezni materničnega vratu pri njih »nedoločeno«.

Klinična učinkovitost testa Aptima HPV assay za zaznavanje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 je bila ovrednotena relativno glede na 3-letno stanje bolezni materničnega vratu.

Učinkovitost testa sistema Tigris DTS

Starost populacije ASC-US \geq 21 let: klinična učinkovitost testa Aptima HPV Assay s tekočimi citološkimi primerki ThinPrep

Skupaj je bilo v študijo ASC-US vpisanih 1252 žensk, starih 21 let in več, s citološkimi izvidi ASC-US. Od teh je bilo 294 žensk umaknjenih, pri 19 pa je bila postavljena diagnoza nedoločene bolezni; vse so bile iz analize izključene. Preostalih 939 žensk, pri katerih je bilo mogoče izvesti vrednotenje, je bilo starih 21 in več let, pri njih pa so bili prisotni citološki izvidi ASC-US, rezultati testa Aptima HPV assay in prepričljivo stanje bolezni. Pri enaindevetdesetih (91) ženskah je bila odkrita bolezen \geq CIN2, pri enainštiridesetih (41) pa bolezen \geq CIN3. Pogostost bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 pri ženskah s citološkimi izvidi ASC-US, pri katerih je bilo mogoče izvesti vrednotenje, je znašala 9,7 % oziroma 4,4 %. Preglednica 2 prikazuje rezultate testa Aptima HPV assay glede na diagnozo odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov.

Preglednica 2: Starost populacije ASC-US \geq 21 let: rezultati testa Aptima HPV Assay glede na diagnozo odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov.

Rezultat testa Aptima HPV Assay*	Test DNA virusa HPV	Diagnoza odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov						
		Nedoločeno**	Normalno	CIN1	CIN2	CIN3	Rak	Skupaj
Pozitivno	Pozitivno	6	170	113	41	32	1	363
Pozitivno	Negativno	0	7	0	1	2	0	10
Pozitivno	Ni rezultata.***	0	14	11	0	2	0	27
Negativno	Pozitivno	0	47	13	2	3	0	65
Negativno	Negativno	10	371	55	6	1	0	443
Negativno	Ni rezultata.***	3	40	7	0	0	0	50
Skupaj		19	649	199	50	40	1****	958

*Pri vseh vzorcih so bili rezultati končni in veljavni (ob začetnem testiranju ali po razrešitvi začetnih neveljavnih rezultatov na postopek).

**19 preiskovank se je udeležilo obiska kolposkopije, diagnoze pa ni bilo mogoče podati iz naslednjih razlogov: < 5 biopsijskih primerkov je bilo vseh pridobljenih skupaj z normalnimi/CIN1 (n = 15) histološkimi izvidi, brez zbranih biopsij (n=3) in z izgubljenimi preparati za biopsijske primerke (n=1).

***Pri 77 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

****Pri eni preiskovanki je bil prisoten adenokarcinom in situ (AIS).

Preglednica 3 prikazuje ocene klinične učinkovitosti testa Aptima HPV assay, vključno z občutljivostjo, specifičnostjo, pozitivno napovedno vrednostjo (positive predictive value, PPV) in negativno napovedno vrednostjo (negative predictive value, NPV) za zaznavanje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 na podlagi vrednotenja vseh biopsij, pa tudi ocene za komercialni test DNA virusa HPV.

Preglednica 3: Starost populacije ASC-US \geq 21 let: učinkovitost testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV za zaznavanje bolezní \geq CIN2 in bolezní \geq CIN3.

	Učinkovitost	Test Aptima HPV Assay N = 939		Test DNA virusa HPV N = 865*	
		Ocena	(95 % IZ)	Ocena	(95 % IZ)
\geq CIN2	Vse biopsije				
	Občutljivost (%)	86,8 (79/91)	(78,4, 92,3)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)
	Specifičnost (%)	62,9 (533/848)	(59,6, 66,0)	55,8 (433/776)	(52,3, 59,3)
	PPV (%)	20,1 (79/394)	(18,1, 22,0)	18,7 (79/422)	(17,0, 20,4)
	NPV (%)	97,8 (533/545)	(96,5, 98,8)	97,7 (433/443)	(96,2, 98,8)
	Pogostost (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
	Usmerjene biopsije**				
	Občutljivost (%)	93,3 (56/60)	(84,1, 97,4)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)
	Specifičnost (%)	61,5 (539/876)	(58,3, 64,7)	54,5 (438/804)	(51,0, 57,9)
	PPV (%)	14,2 (56/393)	(12,7, 15,6)	13,1 (55/421)	(11,7, 14,2)
	NPV (%)	99,3 (539/543)	(98,3, 99,8)	99,1 (438/442)	(97,9, 99,7)
	Pogostost (%)	6,4 (60/936)		6,8 (59/863)	
\geq CIN3	Vse biopsije				
	Občutljivost (%)	90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
	Specifičnost (%)	60,2 (541/898)	(57,0, 63,4)	53,3 (440/826)	(49,9, 56,6)
	PPV (%)	9,4 (37/394)	(8,1, 10,4)	8,5 (36/422)	(7,4, 9,4)
	NPV (%)	99,3 (541/545)	(98,3, 99,8)	99,3 (440/443)	(98,3, 99,8)
	Pogostost (%)	4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	
	Usmerjene biopsije**				
	Občutljivost (%)	93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)
	Specifičnost (%)	59,6 (541/908)	(56,4, 62,7)	52,8 (441/836)	(49,4, 56,1)
	PPV (%)	6,9 (27/394)	(5,8, 7,6)	6,4 (27/422)	(5,5, 7,0)
	NPV (%)	99,6 (541/543)	(98,8, 100)	99,8 (441/442)	(98,9, 100)
	Pogostost (%)	3,1 (29/937)		3,2 (28/864)	

*Pri 74 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

**Soglasje o histološkem izvidu je bilo doseženo le z uporabo rezultatov iz usmerjenih biopsij. Pri ženskah brez usmerjenih biopsij gre za normalno kolposkopijo, v te analize pa so vključene kot ženske brez bolezní (< CIN2 ali < CIN3, kot ustreza). Ko so bile vključene samo usmerjene biopsije, soglasje ni bilo vedno doseženo.

Pri vrednotenju vseh biopsij so bile ocene klinične občutljivosti testa Aptima HPV assay in komercialnega testa DNA virusa HPV, kjer so za zaznavanje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 na voljo rezultati obeh testov, podobne (razlike v ocenah občutljivosti niso bile statistično pomembne: razlika v občutljivosti = $-2,3$ % [95 % IZ: $-9,5$ %, $4,8$ %]). Ocene klinične specifičnosti testa Aptima HPV assay za zaznavanje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 so bile višje od tiste pri komercialnem testu DNA virusa HPV (razlike v ocenah specifičnosti so bile statistično pomembne). Pri boleznih \geq CIN2 je razlika specifičnosti znašala $6,8$ % (95 % IZ: $4,9$ %, $9,0$ %). Vrednosti NPV so bile podobne, vendar je bila za zaznavanje bolezni \geq CIN2 vrednost PPV za test Aptima HPV assay nekoliko višja od vrednosti PPV za komercialni test DNA virusa HPV ($20,1$ % v primerjavi z $18,7$ %).

Od 91 primerov bolezni \geq CIN2 jih je bilo 60 ($65,9$ %) odkritih pri usmerjenih biopsijah, 31 ($34,1$ %) pa pri naključnih biopsijah in/ali biopsijah ECC (tj. ne pri usmerjenih biopsijah). Te ugotovitve so primerljive z rezultati iz objavljenih študij, v katerih je bilo približno 25 % do 40 % primerov bolezni \geq CIN2 odkritih samo iz primerkov naključnih biopsij in/ali biopsij ECC.^{36,37} Ko so bile za določanje stanja bolezni uporabljene samo usmerjene biopsije (pri čemer je veljala domneva, da so bili histološki izvidi pri ženskah brez usmerjenih biopsij normalni, ker ni bilo prisotnih nobenih vidnih lezij), je pogostost bolezni \geq CIN2 in \geq CIN3 v študiji znašala $6,4$ % in $3,1$ %. Ocene klinične občutljivosti za zaznavanje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 so bile pri obeh testih višje, če so bile uporabljene samo usmerjene biopsije, ne pa ocene, izračunane z uporabo vseh biopsij. Pri obeh testih je bila klinična specifičnost z uporabo samo usmerjenih biopsij podobna specifičnosti, ki je bila pridobljena z vključenimi vsemi biopsijami. V skladu s tem je bila specifičnost testa Aptima HPV assay pri uporabi samo usmerjenih biopsij znatno višja od tiste pri komercialnem testu DNA virusa HPV.

Ocene klinične učinkovitosti testa Aptima HPV assay in komercialnega testa DNA virusa HPV DNA glede na starostno skupino prikazujeta Preglednica 4 in Preglednica 5 (\geq CIN2 oziroma \geq CIN3 na podlagi ocene vseh biopsij).

Preglednica 4: Starost populacije ASC-US \geq 21 let: učinkovitost testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV za zaznavanje bolezni \geq CIN2 glede na starostno skupino.

	Učinkovitost	Test Aptima HPV Assay N = 939		Test DNA virusa HPV N = 865*	
		Ocena	(95 % IZ)	Ocena	(95 % IZ)
od 21 do 29 let		N = 415		N = 389	
	Občutljivost (%)	90,2 (55/61)	(80,2, 95,4)	94,9 (56/59)	(86,1, 98,3)
	Specifičnost (%)	44,9 (159/354)	(39,8, 50,1)	35,5 (117/330)	(30,5, 40,8)
	PPV (%)	22,0 (55/250)	(19,6, 24,2)	20,8 (56/269)	(19,0, 22,5)
	NPV (%)	96,4 (159/165)	(93,0, 98,5)	97,5 (117/120)	(93,6, 99,4)
	Pogostost (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
od 30 do 39 let		N = 262		N = 239	
	Občutljivost (%)	90,0 (18/20)	(69,9, 97,2)	80,0 (16/20)	(58,4, 91,9)
	Specifičnost (%)	68,2 (165/242)	(62,1, 73,7)	61,6 (135/219)	(55,1, 67,8)
	PPV (%)	18,9 (18/95)	(14,7, 22,7)	16,0 (16/100)	(11,8, 19,6)
	NPV (%)	98,8 (165/167)	(96,5, 99,8)	97,1 (135/139)	(94,1, 99,1)
	Pogostost (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
\geq 40 Leta		N = 262		N = 237	
	Občutljivost (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	Specifičnost (%)	82,9 (209/252)	(77,8, 87,1)	79,7 (181/227)	(74,0, 84,4)
	PPV (%)	12,2 (6/49)	(5,8, 18,4)	13,2 (7/53)	(6,9, 18,7)
	NPV (%)	98,1 (209/213)	(96,6, 99,4)	98,4 (181/184)	(96,6, 99,6)
	Pogostost (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)	

*Pri 74 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Preglednica 5: Starost populacije ASC-US ≥ 21 let: učinkovitost testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV za zaznavanje bolezni ≥ CIN3 glede na starostno skupino.

	Učinkovitost	Test Aptima HPV Assay N = 939		Test DNA virusa HPV N = 865*	
		Ocena	(95 % IZ)	Ocena	(95 % IZ)
od 21 do 29 let		N = 415		N = 389	
	Občutljivost (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Specifičnost (%)	42,3 (164/388)	(37,5, 47,2)	33,0 (120/364)	(28,3, 38,0)
	PPV (%)	10,4 (26/250)	(8,9, 11,4)	9,3 (25/269)	(8,2, 10,0)
	NPV (%)	99,4 (164/165)	(97,2, 100)	100 (120/120)	(97,5, 100)
	Pogostost (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
od 30 do 39 let		N = 262		N = 239	
	Občutljivost (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Specifičnost (%)	65,6 (166/253)	(59,6, 71,2)	59,6 (137/230)	(53,1, 65,7)
	PPV (%)	8,4 (8/95)	(5,2, 10,4)	7,0 (7/100)	(3,9, 9,1)
	NPV (%)	99,4 (166/167)	(97,6, 100)	98,6 (137/139)	(96,4, 99,8)
	Pogostost (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
≥ 40 Leta		N = 262		N = 237	
	Občutljivost (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Specifičnost (%)	82,1 (211/257)	(77,0, 86,3)	78,9 (183/232)	(73,2, 83,6)
	PPV (%)	6,1 (3/49)	(1,6, 10,2)	7,5 (4/53)	(2,9, 10,7)
	NPV (%)	99,1 (211/213)	(98,0, 99,9)	99,5 (183/184)	(98,2, 100)
	Pogostost (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)	

*Pri 74 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Preglednica 6 prikazuje absolutno tveganje bolezní (\geq CIN2 in \geq CIN3, na podlagi vrednotenja vseh biopsij) glede na rezultate testa Aptima HPV assay in relativno tveganje bolezní za pozitivne rezultate testa Aptima HPV assay v primerjavi z negativnimi ter ocene za komercialni test DNA virusa HPV. Relativno tveganje bolezní \geq CIN2 je znašalo 9,1 (95 % IZ: 5,0, 16,5), kar kaže, da je bila verjetnost za bolezen \geq CIN2 pri ženski s pozitivnim testom Aptima HPV assay 9,1-krat večja od tiste pri ženski z negativnim testom Aptima HPV assay. Relativno tveganje bolezní \geq CIN3 je znašalo 12,8 (95 % IZ: 4,6, 35,6).

Preglednica 6: Starost populacije ASC-US \geq 21 let: absolutno in relativno tveganje bolezní \geq CIN2 in bolezní \geq CIN3 pri rezultatih testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV.

	Rezultat testa	Test Aptima HPV Assay N = 939		Test DNA virusa HPV N = 865*	
		Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)	Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)
\geq CIN2	Pozitivno	20,1 (79/394) (18,1, 22,0)	9,1 (5,0, 16,5)	18,7 (79/422) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Negativno	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)		2,3 (10/443) (1,2, 3,8)	
	Pogostost (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
\geq CIN3	Pozitivno	9,4 (37/394) (8,1, 10,4)	12,8 (4,6, 35,6)	8,5 (36/422) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Negativno	0,7 (4/545) (0,2, 1,7)		0,7 (3/443) (0,2, 1,7)	
	Pogostost (%)	4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	

*Pri 74 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Preglednica 7 prikazuje ocene absolutnega in relativnega tveganja bolezni (\geq CIN2 in \geq CIN3, na podlagi vrednotenja vseh biopsij) za test Aptima HPV assay in komercialni test DNA virusa HPV glede na starostno skupino.

Preglednica 7: Starost populacije ASC-US \geq 21 let: absolutno in relativno tveganje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 pri rezultatih testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV glede na starostno skupino.

	Starost	Rezultat testa	Test Aptima HPV Assay N = 939		Test DNA virusa HPV N = 865*	
			Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)	Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)
\geq CIN2	od 21 do 29 let		N = 415		N = 389	
		Pozitivno	22,0 (55/250) (19,6, 24,2)	6,1 (2,7, 13,7)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)
		Negativno	3,6 (6/165) (1,5, 7,0)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Pogostost (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	od 30 do 39 let		N = 262		N = 239	
		Pozitivno	18,9 (18/95) (14,7, 22,7)	15,8 (3,8, 66,7)	16,0 (16/100) (11,8, 19,6)	5,6 (1,9, 16,1)
		Negativno	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Pogostost (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
	\geq 40 let		N = 262		N = 237	
		Pozitivno	12,2 (6/49) (5,8, 18,4)	6,5 (1,9, 22,2)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,2)
		Negativno	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)		1,6 (3/184) (0,4, 3,4)	
		Pogostost (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)	
\geq CIN3	od 21 do 29 let		N = 415		N = 389	
		Pozitivno	10,4 (26/250) (8,9, 11,4)	17,2 (2,4, 125)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Ni mogoče izračunati.
		Negativno	0,6 (1/165) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Pogostost (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	od 30 do 39 let		N = 262		N = 239	
		Pozitivno	8,4 (8/95) (5,2, 10,4)	14,1 (1,8, 111)	7,0 (7/100) (3,9, 9,1)	4,9 (1,0, 22,9)
		Negativno	0,6 (1/167) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Pogostost (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
	\geq 40 let		N = 262		N = 237	
		Pozitivno	6,1 (3/49) (1,6, 10,2)	6,5 (1,1, 38,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,9 (1,6, 122)
		Negativno	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)		0,5 (1/184) (0,0, 1,8)	
		Pogostost (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)	

*Pri 74 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Starost populacije NILM \geq 30 let: klinična učinkovitost testa Aptima HPV Assay s tekočimi citološkimi primerki ThinPrep v izhodišču

Skupaj je bilo v študijo NILM vpisanih 11.644 žensk s citološkimi izvidi NILM. Od teh je bilo 773 žensk umaknjenih in izključenih iz vrednotenja v izhodišču. Preostalih 10.871 žensk, pri katerih je bilo mogoče izvesti vrednotenje, je bilo starih 30 in več let, pri njih pa so bili prisotni citološki izvidi NILM in rezultati testa Aptima HPV assay. Od 540 žensk s pozitivnim rezultatom testa Aptima HPV assay se jih je 335 udeležilo kolposkopije v izhodišču. Od 10.331 žensk z negativnim rezultatom testa Aptima HPV assay se jih je 530 udeležilo kolposkopije v izhodišču. Histološki izvidi so bili pri dvajsetih (20) ženskah \geq CIN2, pri enajstih (11) \geq CIN3, pri 799 ženskah so bili normalni/CIN1, pri 46 ženskah pa je bilo stanje bolezni nedoločeno. Preglednica 8 prikazuje rezultate testa Aptima HPV assay glede na diagnozo odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov v izhodišču.

Preglednica 8: Starost populacije NILM \geq 30 let: rezultati testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV glede na diagnozo odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov v izhodišču.

Rezultat testa Aptima HPV Assay*	Test DNA virusa HPV	Diagnoza odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov						
		Nedoločeno	Normalno	CIN1	CIN2	CIN3	Rak	Skupaj
Pozitivno	Pozitivno	11	212	11	4	7	2	247
Pozitivno	Negativno	7	59	0	1	0	1	68
Pozitivno	Ni rezultata.**	3	16	1	0	0	0	20
Negativno	Pozitivno	10	170	8	2	1	0	191
Negativno	Negativno	15	313	9	1	0	0	338
Negativno	Ni rezultata.**	0	0	0	1	0	0	1
Skupaj		46	770	29	9	8	3***	865

*Pri vseh vzorcih so bili rezultati končni in veljavni (ob začetnem testiranju ali po razrešitvi začetnih neveljavnih rezultatov na postopek).

**Pri 21 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

***Pri treh ženskah je bil prisoten adenokarcinom in situ (AIS).

Skupaj je bilo stanje boleznih v izhodišču pri 10.052 ženskah nepreverjeno (vključno z nedoločenim) (Preglednica 9). Ker so bile na kolposkopijo napotene le naključno izbrane ženske z negativnimi rezultati pri testu Aptima HPV assay in komercialnem testu DNA virusa HPV, je bil v tej skupini delež žensk z nepreverjenim stanjem boleznih visok (96,6 %). Za prilagoditev te pristranskosti preverjanja je bila za oceno števila žensk z boleznijo, ki bi bile odkrite, če bi vse ženske opravile kolposkopijo, uporabljena metoda večkratnega vstavljanja. Na podlagi 819 žensk s potrjenim stanjem boleznih v izhodišču so predstavljene ocene učinkovitosti s prilagoditvijo zaradi pristranskosti preverjanja in ocene neprilagojene učinkovitosti.

Preglednica 9: Starost populacije NILM \geq 30 let: razvrstitev žensk, pri katerih je bilo mogoče izvesti vrednotenje, z NILM glede na rezultate testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV, stanje boleznih (\geq CIN2 in \geq CIN3) ter stanje preverjanja boleznih v izhodišču.

Rezultat testa Aptima HPV Assay*	Test DNA virusa HPV	Skupno žensk	Preverjeno stanje boleznih: \geq CIN2		Preverjeno stanje boleznih: \geq CIN3		Nepreverjeno stanje boleznih
			Ženske z boleznijo (\geq CIN2)	Ženske brez boleznih (< CIN2)	Ženske z boleznijo (\geq CIN3)	Ženske brez boleznih (< CIN3)	Ženske z nezanim stanjem boleznih (% nezanih)
Pozitivno	Pozitivno	360	13	223	9	227	124 (34,4 %)
Pozitivno	Negativno	150	2	59	1	60	89 (59,3%)
Pozitivno	Ni rezultata.**	30	0	17	0	17	13 (43,3%)
Negativno	Pozitivno	306	3	178	1	180	125 (40,8%)
Negativno	Negativno	9420	1	322	0	323	9097 (96,6%)
Negativno	Ni rezultata.**	605	1	0	0	1	604 (99,8%)
Skupaj		10.871	20	799	11	808	10.052 (92,5%)

*Pri vseh vzorcih so bili rezultati končni (ob začetnem testiranju ali po razrešitvi začetnih neveljavnih rezultatov na postopek).

**Pri 635 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Prilagojena pogostost bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 pri ženskah s citološkimi izvidi NILM je znašala 0,9 % oziroma 0,4 %. Preglednica 10 prikazuje ocene prilagojenega absolutnega in relativnega tveganja pri zaznavanju bolezni \geq CIN2 in \geq CIN3 v izhodišču. Prilagojeno relativno tveganje bolezni \geq CIN2 je znašalo 8,1 (95 % IZ: 2,3, 28,1), kar kaže, da je verjetnost za bolezen \geq CIN2 pri ženski s pozitivnim testom Aptima HPV assay 8,1-krat večja od tiste pri ženski z negativnim testom Aptima HPV assay. Prilagojeno relativno tveganje bolezni \geq CIN3 je znašalo 34,5 (95 % IZ: 2,7, 443,3). Preglednica 11 prikazuje skupne ocene neprilagojenega absolutnega in relativnega tveganja pri zaznavanju bolezni \geq CIN2 in \geq CIN3 v izhodišču, Preglednica 12 pa glede na starostno skupino.

Preglednica 10: Starost populacije NILM \geq 30 let: absolutno in relativno tveganje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 pri rezultatih testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV (ocene s prilagoditvijo zaradi pristranskosti preverjanja) v izhodišču.

Rezultat testa		Test Aptima HPV Assay		Test DNA virusa HPV	
		Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)	Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)
\geq CIN2	Pozitivno	4,7 (2,9, 7,6)	8,1 (2,3, 28,1)	3,7 (2,3, 6,0)	7,3 (1,6, 33,4)
	Negativno	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Pogostost (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Pozitivno	3,3 (1,4, 7,6)	34,5 (2,7, 443,3)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,4)
	Negativno	0,1 (0,0, 1,6)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Pogostost (%)	0,4		0,4	

Preglednica 11: Starost populacije NILM \geq 30 let: absolutno in relativno tveganje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 pri rezultatih testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV (neprilagojene ocene) v izhodišču.

Rezultat testa		Test Aptima HPV Assay N = 819		Test DNA virusa HPV N = 801*	
		Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)	Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)
\geq CIN2	Pozitivno	4,8 (15/314) (3,4, 5,8)	4,8 (1,8, 13,1)	3,8 (16/417) (2,9, 4,4)	4,9 (1,4, 16,7)
	Negativno	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Pogostost (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
\geq CIN3	Pozitivno	3,2 (10/314) (2,2, 3,7)	16,1 (2,1, 125)	2,4 (10/417) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,6)
	Negativno	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Pogostost (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

*Pri 18 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Preglednica 12: Starost populacije NILM \geq 30 let: absolutno in relativno tveganje bolezn \geq CIN2 in bolezn \geq CIN3 pri rezultatih testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV glede na starostno skupino (neprilagojene ocene) v izhodišču.

	Starost	Rezultat testa	Test Aptima HPV Assay N = 819		Test DNA virusa HPV N = 801*	
			Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)	Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)
\geq CIN2	od 30 do 39 let		N = 384		N = 377	
		Pozitivno	4,8 (8/167) (2,1, 9,2)	10,4 (1,3, 82,3)	3,2 (7/216) (1,3, 6,6)	2,6 (0,5, 12,4)
		Negativno	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		1,2 (2/161) (0,2, 4,4)	
		Pogostost (%)	2,3 (9/384)		2,4 (9/377)	
	\geq 40 Leta		N = 435		N = 424	
		Pozitivno	4,8 (7/147) (1,9, 9,6)	3,4 (1,0, 11,5)	4,5 (9/201) (2,1, 8,3)	10,0 (1,3, 78,1)
		Negativno	1,4 (4/288) (0,4, 3,5)		0,4 (1/223) (0,0, 2,5)	
		Pogostost (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
\geq CIN3	od 30 do 39 let		N = 384		N = 377	
		Pozitivno	3,0 (5/167) (1,0, 6,8)	6,5 (0,8, 55,1)	2,3 (5/216) (0,8, 5,3)	3,7 (0,4, 31,6)
		Negativno	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		0,6 (1/161) (0,0, 3,4)	
		Pogostost (%)	1,6 (6/384)		1,6 (6/377)	
	\geq 40 Leta		N = 435		N = 424	
		Pozitivno	3,4 (5/147) (1,1, 7,8)	Ni mogoče izračunati.	2,5 (5/201) (0,8, 5,7)	Ni mogoče izračunati.
		Negativno	0,0 (0/288) (0,0, 1,3)		0,0 (0/223) (0,0, 1,6)	
		Pogostost (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*Pri 18 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Preglednica 13 prikazuje prilagojene ocene klinične učinkovitosti testa Aptima HPV assay, vključno z občutljivostjo, specifičnostjo, PPV in NPV za zaznavanje bolezní \geq CIN2 in bolezní \geq CIN3, pa tudi ocene za komercialni test DNA virusa HPV. Preglednica 14 prikazuje ocene neprilagojene klinične učinkovitosti. Občutljivost pri testu Aptima HPV assay in komercialnem testu DNA virusa HPV je bila podobna, specifičnost pa je bila znatno višja pri testu Aptima HPV assay (neprekrivajoči se 95 % IZ). Ocene napovedne vrednosti testa Aptima HPV assay so bile klinično pomembne in podobne ocenam pri komercialnem testu DNA virusa HPV. Vrednosti NPV so bile podobne, vendar je bila za zaznavanje bolezní \geq CIN2 vrednost PPV za test Aptima HPV assay nekoliko višja od vrednosti PPV za komercialni test DNA virusa HPV (4,7% v primerjavi z 3,7%).

Preglednica 13: Starost populacije NILM \geq 30 let: učinkovitost testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV za zaznavanje bolezní \geq CIN2 in bolezní \geq CIN3 (ocene s prilagoditvijo zaradi pristranskosti preverjanja) v izhodišču.

	Učinkovitost	Test Aptima HPV Assay		Test DNA virusa HPV	
		Ocena	(95 % IZ)	Ocena	(95 % IZ)
\geq CIN2	Občutljivost (%)	31,0	(5,9, 56,1)	35,4	(3,8, 66,9)
	Specifičnost (%)	95,2	(94,8, 95,6)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,7	(2,9, 7,6)	3,7	(2,3, 6,0)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Pogostost (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Občutljivost (%)	61,5	(14,0, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Specifičnost (%)	95,2	(94,8, 95,6)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,3	(1,4, 7,6)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,4, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Pogostost (%)	0,4		0,4	

Preglednica 14: Starost populacije NILM \geq 30 let: učinkovitost testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV za zaznavanje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 (neprilagojene ocene) v izhodišču.

	Učinkovitost	Test Aptima HPV Assay N = 819		Test DNA virusa HPV N = 801*	
		Ocena	(95 % IZ)	Ocena	(95 % IZ)
\geq CIN2	Občutljivost (%)	75,0 (15/20)	(53,1, 88,8)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Specifičnost (%)	62,6 (500/799)	(59,2, 65,9)	48,7 (381/782)	(45,2, 52,2)
	PPV (%)	4,8 (15/314)	(3,4, 5,8)	3,8 (16/417)	(2,9, 4,4)
	NPV (%)	99,0 (500/505)	(98,1, 99,6)	99,2 (381/384)	(98,1, 99,8)
	Pogostost (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
\geq CIN3	Občutljivost (%)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Specifičnost (%)	62,4 (504/808)	(59,0, 65,7)	48,5 (383/790)	(45,0, 52,0)
	PPV (%)	3,2 (10/314)	(2,2, 3,7)	2,4 (10/417)	(1,6, 2,7)
	NPV (%)	99,8 (504/505)	(99,1, 100)	99,7 (383/384)	(98,9, 100)
	Pogostost (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

*Pri 18 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Neposredna primerjava testa Aptima HPV assay in komercialnega testa DNA virusa HPV kaže podobno občutljivost in statistično znatno izboljšano specifičnost testa Aptima HPV assay v primerjavi s specifičnostjo komercialnega testa DNA virusa HPV pri zaznavanju bolezni \geq CIN2, kot kažejo razmerja stopenj pravih pozitivnih rezultatov in lažnih pozitivnih rezultatov (Preglednica15 oziroma Preglednica16).

Preglednica 15: Starost populacije NILM \geq 30 let: razmerje stopenj pravih pozitivnih rezultatov (test Aptima HPV Assay/test DNA virusa HPV) pri ženskah z boleznijo \geq CIN2 (neprilagojene ocene) v izhodišču.

		Test DNA virusa HPV		Skupaj
		Pozitivno	Negativno	
Test Aptima HPV Assay	Pozitivno	13	2	15 (78,9%)
	Negativno	3	1	4
	Skupaj	16 (84,2%)	3	19
Razmerje stopenj pravih pozitivnih rezultatov = 0,94 (15/16) (95 % IZ: 0,67, 1,20)				

Preglednica 16: Starost populacije NILM \geq 30 let: razmerje stopenj lažnih pozitivnih rezultatov (test Aptima HPV Assay/test DNA virusa HPV) pri ženskah z boleznijo $<$ CIN2 (neprilagojene ocene) v izhodišču.

		Test DNA virusa HPV		Skupaj
		Pozitivno	Negativno	
Test Aptima HPV Assay	Pozitivno	223	59	282 (36,1%)
	Negativno	178	322	500
	Skupaj	401 (51,3%)	381	782
Razmerje stopenj lažnih pozitivnih rezultatov = 0,70 (282/401) (95 % IZ: 0,64, 0,77)				

Starost populacije NILM \geq 30 let: klinična učinkovitost testa Aptima HPV Assay po 3 letih spremljanja

V izhodišču je bilo 10.854 žensk, starih 30 let in več, s citološkimi izvidi NILM in veljavnimi rezultati testa Aptima HPV Assay, pri katerih je bilo mogoče izvesti vrednotenje in so bile upravičene do faze spremljanja. Med ženskami brez bolezni \geq CIN2 jih je 66,9 % (7.251/10.834) opravilo kontrolni obisk za test PAP ob 1. letu, 60,2 % (6.522/10.825) ob 2. letu, 58,6 % (6.344/10.818) pa ob 3. letu. Skupno je študijo zaključilo 58,8 % (6.380/10.854) žensk (z boleznijo \geq CIN2 v izhodišču ali med spremljanjem in/ali opravljenimi potrebnimi obiski).

Od 10.854 žensk so bili rezultati testa Aptima HPV Assay v izhodišču pri 540 (5,0 %) pozitivni. Od teh 540 žensk pri 263 (48,7 %) ženskah 3-letno stanje bolezni na podlagi citoloških in/ali kolposkopijskih/biopsijskih izvidov ni bilo ne pozitivno ne negativno. Pri preostalih 10.314 ženskah so bili rezultati testa Aptima HPV Assay v izhodišču negativni. Od teh 10.314 žensk je bilo pri 5.943 (57,6 %) ženskah 3-letno stanje bolezni pozitivno ali negativno. Od 6.206 žensk s 3-letnim stanjem bolezni je imelo 47 žensk bolezen \geq CIN2, vključno s 23, ki je imelo bolezen \geq CIN3; pri 6.159 ženskah je bila bolezen po mnenju odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov normalna/CIN1. Preglednica 17 prikazuje rezultate testa Aptima HPV assay in komercialnega testa DNA virusa HPV v izhodišču ter 3-letno stanje bolezni (vključuje izhodišče in vrednotenje med spremljanjem) glede na odbor za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov.

Preglednica 17: Starost populacije NILM \geq 30 let: razvrstitev žensk, ki so upravičene do faze spremljanja, glede na rezultate testa Aptima HPV Assay v izhodišču, rezultate testa DNA virusa HPV v izhodišču in stanja bolezni (\geq CIN2, \geq CIN3, nepreverjeno), določena v izhodišču in fazah spremljanja.

Rezultat testa Aptima HPV Assay	Test DNA virusa HPV	Skupno žensk	Preverjeno stanje bolezni: \geq CIN2		Preverjeno stanje bolezni: \geq CIN3		Nepreverjeno stanje bolezni	
			Ženske z boleznijo (\geq CIN2)	Ženske brez bolezni (< CIN2)	Ženske z boleznijo (\geq CIN3)	Ženske brez bolezni (< CIN3)	Izgubljeno za spremljanje	Nedoločeno*
Pozitivno	Pozitivno	360	22	154	15	161	165	19
Pozitivno	Negativno	150	2	72	1	73	68	8
Pozitivno	Ni rezultata.**	30	2	11	1	12	14	3
Negativno	Pozitivno	304	6	146	3	149	133	19
Negativno	Negativno	9.405	14	5.455	3	5.466	3.735	201
Negativno	Ni rezultata.**	605	1	321	0	322	269	14
Skupaj		10.854	47	6.159	23	6.183	4.384	264

*Ženske, pri katerih so bili citološki izvidi pri testu med spremljanjem nenormalni in pri katerih ni bilo poznejšega rezultata odbora za soglasje pri preverjanju histologije, in ženske z nezadostno citološko preiskavo ob njihovem zadnjem obisku. 174 žensk z nedoločenim stanjem bolezni je zaključilo spremljanje po protokolu.

**Pri 635 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Triletno kumulativno tveganje bolezni (\geq CIN2 in \geq CIN3) temelji na Kaplan-Meierjevi oceni (analizi življenjske preglednice) in vključuje bolezen, zaznano v izhodišču ali med spremljanjem. Ženske, pri katerih je obstajala določena indikacija za bolezen (ASC-US ali resnejši citološki izvidi), ne pa tudi rezultat mnenja odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov, so bile vključene v analizo z metodo večkratnega vstavljanja, da bi bilo mogoče napovedati število žensk z boleznijo, ki bi bilo odkrito, če bi opravile kolposkopijo.

Preglednica 18 prikazuje ocene 3-letnega kumulativnega absolutnega in relativnega tveganja pri zaznavanju bolezni \geq CIN2 in \geq CIN3.

Preglednica 18: Starost populacije NILM \geq 30 let: 3-letno kumulativno absolutno in relativno tveganje* bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 pri rezultatih testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV v izhodišču.

	Rezultat testa	Test Aptima HPV Assay		Test DNA virusa HPV	
		Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)	Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)
\geq CIN2	Pozitivno	7,39 (5,12, 10,59)	22,55 (12,68, 40,10)	6,42 (4,50, 9,13)	22,71 (12,19, 42,29)
	Negativno	0,33 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Pogostost (%)	0,68		0,68	
\geq CIN3	Pozitivno	4,66 (2,94, 7,36)	44,12 (16,91, 115,10)	4,14 (2,62, 6,52)	51,33 (17,74, 148,55)
	Negativno	0,11 (0,04, 0,25)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Pogostost (%)	0,34		0,35	

*3-letna kumulativna tveganja, prilagojena za druge možne pristranskosti, so bila podobna tveganjem v tej preglednici. Zaradi pričakovanih razlik tveganj v 1. in 2. letu pri dveh skupinah žensk v študiji spremljanja (tistih s kolposkopijo v izhodišču in tistih brez kolposkopije v izhodišču) je bilo poročano le o 3-letnem kumulativnem tveganju za združene skupine.

Triletna kumulativna pogostost bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 pri ženskah s citološkimi izvodi NILM v izhodišču je znašala 0,68 % oziroma 0,34 %. Relativno tveganje bolezni \geq CIN2 je znašalo 22,55 (95 % IZ: 12,68, 40,10), kar kaže, da je verjetnost za bolezen \geq CIN2 pri ženski s pozitivnim testom Aptima HPV assay 22,55-krat večja od tiste pri ženski z negativnim testom Aptima HPV assay. Relativno tveganje bolezni \geq CIN3 je znašalo 44,12 (95 % IZ: 16,91, 115,10).

Klinična učinkovitost testa Aptima HPV Assay s tekočimi citološkimi primerki SurePath

Primerki SurePath, obdelani z raztopino za prenos Aptima

Tekoči citološki primerki SurePath so bili zbrani pri kanadskih ženskah (n = 558), ki so bile na spremljanje napotene zaradi enega ali več nenormalnih testov PAP, okužbe z virusom HPV ali iz kakšnega drugega razloga. Alikvot (0,5 ml) vsakega primerka je bil prenesen v epruveto za prenos primerkov Aptima in nato obdelan z raztopino za prenos Aptima. Ena podvojitve vsakega primerka je bila testirana s testom Aptima HPV assay. Ločen alikvot (1 ml) vsakega primerka je bil odstranjen za vrednotenje s komercialnim testom PCR za virus HPV. Kot prikazuje Preglednica 19, je bila za test Aptima HPV assay in test PCR za virus HPV izračunana klinična občutljivost za zaznavanje bolezni, opredeljene kot citološki izvid \geq CIN3, s pozitivnimi in negativnimi napovednimi vrednostmi.

Preglednica 19: Učinkovitost testa Aptima HPV Assay in testa PCR za virus HPV za zaznavanje bolezni \geq CIN3.

Učinkovitost	Test Aptima HPV Assay N = 558		Test PCR za virus HPV N = 558	
	Ocena	(95 % IZ)	Ocena	(95 % IZ)
Občutljivost (%)	89,3 (25/28)	(72,8–96,3)	89,3 (25/28)	(72,8–96,3)
Specifičnost (%)	56,8 (301/530)	(52,5–60,9)	49,1 (260/530)	(44,8–53,3)
PPV (%)	9,8 (25/254)	(8,1–11,2)	8,5 (25/295)	(7,0–9,5)
NPV (%)	99,0 (301/304)	(97,6–99,8)	98,9 (260/263)	(97,2–99,7)
Pogostost (%)	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

Preglednica 20: Občutljivost testa Aptima HPV Assay s tekočimi citološkimi primerki SurePath in ThinPrep

Genotip HPV	Kopije/ reakcija	ThinPrep	SurePath
		% pozitivnih (95 % IZ)	% pozitivnih (95 % IZ)
16	60	98,3 (91,1–99,7)	100 (94,0–100)
18	100	100 (94,0–100)	100 (94,0–100)
31	25	100 (94,0–100)	95,0 (86,3–98,3)
33	60	96,7 (88,6–99,1)	98,3 (91,1–99,7)
35	25	100 (94,0–100)	100 (94,0–100)
39	25	100 (94,0–100)	91,7 (81,9–96,4)
45	40	100 (94,0–100)	95,0 (86,3–98,3)
51	250	100 (94,0–100)	100 (94,0–100)
52	600	100 (94,0–100)	98,3 (91,1–99,7)
56	100	98,3 (91,1–99,7)	93,3 (84,1–97,4)
58	50	95,0 (86,3–98,3)	93,3 (84,1–97,4)
59	75	96,7 (88,6–99,1)	91,7 (81,9–96,4)
66	150	98,3 (91,1–99,7)	95,0 (86,3–98,3)
68	30	96,7 (88,6–99,1)	93,3 (84,1–97,4)

Učinkovitost testa Aptima HPV Assay pri primerkih, zbranih s kompletom za zbiranje in transport primerkov brisov materničnega vratu (kompletom CSCT)

Pri 735 preiskovankah so bili zbrani pari tekočih citoloških primerkov ThinPrep in primerkov, zbranih s kompletom Aptima CSCT. En mililiter (1,0 ml) vsakega tekočega citološkega primerka ThinPrep je bil razredčen v 2,9 ml transportnega medija za primerke Aptima, ena podvojitev pa je bila s testom Aptima HPV assay testirana na sistemu Tigris DTS. Prav tako je bila s testom Aptima HPV assay testirana tudi ena podvojitev vsakega primerka CSCT. Določeno je bilo odstotno ujemanje pri testu Aptima HPV assay med tekočim citološkim primerkom ThinPrep in primerkom CSCT, rezultate pa prikazuje Preglednica 21.

Ujemanje pozitivnih rezultatov v odstotkih je znašalo 95,9 % (95 % IZ: 92,6–97,8), ujemanje negativnih rezultatov v odstotkih je znašalo 95,5 % (95 % IZ: 93,3–97,0), skupno ujemanje pa 95,6 % (95 % IZ: 93,9–96,9). Ugotovljena je bila močna medsebojna odvisnost tekočih citoloških primerkov in primerkov iz kompleta za transport (kapa = 0,90).

Preglednica 21: Skupno ujemanje rezultatov testa Aptima HPV Assay tekočih citoloških primerkov ThinPrep ter primerkov, zbranih s kompletom za zbiranje in prenos primerkov materničnega vratu Aptima, testiranih na sistemu Tigris DTS.

		Tekoči citološki primerek ThinPrep		Skupaj
		Pozitivno	Negativno	
Primerek, zbran s kompletom CSCT Aptima	Pozitivno	234	22	256
	Negativno	10	469	479
	Skupaj	244	491	735

Ujemanje pozitivnih rezultatov = 95,9 % (92,6–97,8)
 Ujemanje negativnih rezultatov = 95,5 % (93,3–97,0)
 Skupno ujemanje = 95,6 % (93,9–96,9)
 Koeficient kapa = 0,90

Analitična občutljivost

Meja zaznavanja (Limit of Detection, LOD) pri klinični mejni vrednosti je koncentracija RNA virusa HPV, pri kateri je rezultat 95 % odstotkov časa pozitiven (nad klinično mejno vrednostjo). Meja LOD testa Aptima HPV assay je bila določena s testiranjem plošč za redčenje transkriptov *in vitro* (IVT) pri vseh 14 visokotveganih genotipih in 4 celičnih linijah, okuženih z virusom HPV: SiHa, HeLa, MS751 in ME180 (ATCC, Manassas, Virginia). Pri ploščah IVT je bil transportni medij za primerke obogaten z IVT v različnih koncentracijah in nato pred testiranjem razredčenih z negativnimi tekočimi citološkimi primerki posameznic ThinPrep. Pri celičnih ploščah, okuženih z virusom HPV, je bila skupina tekočih citoloških primerkov ThinPrep, negativnih na virus HPV, obogatena s celicami, okuženimi z virusom HPV, v različnih koncentracijah in nato pred testiranjem razredčena s transportnim medijem za primerke. Trideset podvojitev vsake ravne kopije je bilo testiranih z vsako od obeh serij reagentov za skupaj 60 podvojitev. Testiranje je bilo izvedeno v 14 dneh, pri čemer je bilo opravljenih 1 do 12 ponovitev na dan in 5 ponovitev določenega genotipa in koncentracije v vsakem postopku. Z regresijsko analizo Probit rezultatov pozitivnosti pri vsaki plošči razredčitve je bila izračunana 95-odstotna meja zaznavanja.

Rezultati analize Probit, Preglednica 22, kažejo, da je 95-odstotna meja zaznavanja pri vrstah virusa HPV 16, 18, 31, 33, 35, 38, 45, 58, 59 in 68 znašala manj kot 100 kopij/reakcijo, pri vrstah 51, 52, 56 in 66 pa je 95-odstotna meja zaznavanja znašala med 100 in 300 kopij/reakcijo. Pri štirih testiranih celičnih linijah je 95-odstotna meja zaznavanja znašala manj kot 1 celico/reakcijo.

Preglednica 22: Meja zaznavanja pri klinični mejni vrednosti testa Aptima HPV Assay

Tarča	Meja zaznavanja* (95 % IZ)
HPV 16	48,7 (36,6–72,2)
HPV 18	80,9 (60,4–118,4)
HPV 31	18,6 (14,2–27,3)
HPV 33	49,1 (37,0–71,3)
HPV 35	19,1 (14,2–29,1)
HPV 39	24,6 (19,1–34,4)
HPV 45	33,8 (25,7–49,4)
HPV 51	206,6 (157,5–297,7)
HPV 52	266,2 (205,5–373,8)
HPV 56	100,1 (81,9–129,9)
HPV 58	48,0 (37,3–68,7)
HPV 59	49,0 (36,4–75,9)
HPV 66	168,7 (129,6–241,1)
HPV 68	27,0 (20,3–40,1)
SiHa	0,30 (0,24–0,43)
HeLa	0,18 (0,14–0,29)
ME180	0,11 (0,09–0,16)
MS751	0,19 (0,14–0,33)

*kopije na reakcijo za transkripte *in vitro* in celice na reakcijo za celične linije

Točnost testa

Točnost testa Aptima HPV assay je bila ovrednotena v dveh študijah, pri katerih je bila uporabljena ista plošča z 20 elementi. Za določanje ponovljivosti testa je bila izvedena študija 1 v 3 zunanjih raziskovalnih testnih centrih. Študija 2 za merjenje ponovljivosti testa je bila izvedena notranje. Na plošči je bilo 10 elementov, pozitivnih na virus HPV, s koncentracijami, ki so bile enake ali višje od meje zaznavanja testa (pričakovana pozitivnost: $\geq 95\%$), 4 elementi, pozitivni na virus HPV, s koncentracijami, ki so bile nižje od meje zaznavanja testa (pričakovana pozitivnost: od $> 0\%$ do $< 25\%$), in 6 elementov, ki so bili negativni na virus HPV. Elementi plošče, pozitivni na virus HPV, so bili pripravljene z obogatitvijo transportnega medija za primerke (STM) ali gojenih celic, okuženih z virusom HPV (SiHa, HeLa, ME180 in MS751; ATCC, Manassas, Virginia), s transkripti RNA *in vitro* (IVT) v raztopini PreservCyt. Elementi plošče, negativni na virus HPV, so bili pripravljene z medijem STM ali združenimi preostalimi tekočimi citološkimi primerki ThinPrep.

V študiji 1 sta 2 upravljavca v vsakem od 3 raziskovalnih testnih centrov (1 instrument na raziskovalni center) v 3 dneh izvedla 1 delovni seznam testa Aptima HPV assay na dan za vsako od 3 serij reagentov. Na vsakem delovnem seznamu so bile 3 podvojitve vsakega od elementov plošče za ponovljivost. Za vsak element plošče je bilo testiranih sto dvainšestdeset (162) posameznih epruvet z vzorcem (3 raziskovalni centri x 1 instrument x 2 upravljavca x 3 serije x 3 delovni seznama x 3 podvojitve). V študiji 2 je bilo testiranje opravljeno notranje, v 20 dneh, s skupno 162 testiranimi reakciji za vsak element plošče (1 raziskovalni center x 3 instrumenti x 3 upravljavci x 3 serije x 2 delovna seznama x 3 podvojitve).

Elemente plošče opisujeta Preglednica 23a (elemente plošče s pričakovanimi pozitivnimi rezultati) in Preglednica 23b (elemente plošče s pričakovanimi negativnimi rezultati), skupaj s povzetkom ujemanja s pričakovanimi rezultati in razmerjem S/CO analita na 2,5., 50. in 97,5. percentilu porazdelitve S/CO. Variabilnost razmerja S/CO analita pri elementih plošče s pričakovanimi pozitivnimi rezultati prikazuje Preglednica 24 za študijo 1 in Preglednica 25 za študijo 2.

Ujemanje pozitivnih rezultatov pri elementih plošče, pozitivnih na virus HPV, s koncentracijami, ki so bile enake meji zaznavanja testa ali višje, je pri 9 od 10 elementov plošče pri študiji 1 znašalo od 95,1 % do 100 %, pri študiji 2 pa od 93,2 % do 100 %. Pri preostalem elementu plošče, pozitivnem na virus HPV, je ujemanje v študiji 1 znašalo 77,2 %, v študiji 2 pa 79,0 %, kar je bilo nižje od pričakovanega, a pri obeh študijah dosledno. Ujemanje negativnih rezultatov pri elementih plošče, visoko negativnih na virus HPV, s koncentracijami, ki so bile pod mejo zaznavanja testa, je pri študiji 1 znašalo od 78,8 % do 93,8 %, pri študiji 2 pa od 82,1 % do 95,7 %. Ujemanje s pričakovanimi rezultati pri elementih plošče, negativnih na virus HPV, je pri študiji 1 znašalo od 96,9 % do 100 %, pri študiji 2 pa od 96,3 % do 100 %.

Preglednica 23a: Študiji ponovljivosti testa Aptima HPV Assay 1 in 2: opis plošče, ujemanje pozitivnih rezultatov in porazdelitev vrednosti razmerja S/CO analita v percentilih za elemente plošče s pričakovanimi pozitivnimi rezultati

Opis plošče (kopije ali celice/reakcija)	Študija 1 (3 raziskovalni testni centri)	Študija 2 (1 raziskovalni testni center)
	% ujemanja pozitivnih rezultatov (95 % IZ)	% ujemanja pozitivnih rezultatov (95 % IZ)
HPV 16 in HPV 18 IVT (100 kopij)	100 (161/161) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Celice SiHa (3 celice) in Celice HeLa (7,5 celice)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (100 kopij)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (160/160) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (100 kopij)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Celice MS751 (1 celica)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)
Celice ME180 (0,3 celice)	95,1 (154/162) (90,6, 97,5)	93,2 (151/162) (88,3, 96,2)
HPV 18 IVT (30 kopij)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (30 kopij)	100 (162/162) (97,7, 100)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
Celice HeLa (2,5 celice)	100 (162/162) (97,7, 100)	95,6 (152/159) (91,2, 97,9)
Celice SiHa (1 celica)*	77,2 (125/162) (70,1, 83,0)	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)

IVT = transkript *in vitro*. Medij STM je bil obogaten s transkriptom IVT, raztopina PreservCyt pa s celicami.

*Pričakovani % ujemanja pozitivnih rezultatov ~95 %; ugotovljeni nižji, verjetno zaradi variabilnosti pri proizvodnji elementa plošče.

Preglednica 23b: Študiji ponovljivosti testa Aptima HPV Assay 1 in 2: opis plošče, ujemanje negativnih rezultatov in porazdelitev vrednosti razmerja S/CO analita v percentilih za elemente plošče s pričakovanimi negativnimi rezultati

Opis plošče (kopije ali celice/reakcija)	Študija 1 (3 raziskovalni testni centri)	Študija 2 (1 raziskovalni testni center)
	% ujemanja negativnih rezultatov (95 % IZ)	% ujemanja negativnih rezultatov (95 % IZ)
HPV 18 IVT (1 kopija)*	78,8 (126/160) (71,8, 84,4)	83,3 (135/162) (76,8, 88,3)
HPV 16 IVT (1 kopija)*	80,9 (131/162) (74,1, 86,2)	88,3 (143/162) (82,4, 92,4)
Celice HeLa (0,05 celice)*	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)	82,1 (133/162) (75,5, 87,2)
Celice SiHa (0,03 celice)*	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
Serija STM 1	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Serija STM 2	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
Serija STM 3	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Zaloga vzorcev ThinPrep 1	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
Zaloga vzorcev ThinPrep 2	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)	96,3 (156/162) (92,2, 98,3)
Zaloga vzorcev ThinPrep 3	100 (162/162) (97,7, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

STM = transportni medij za primerke; IVT = transkript *in vitro*. Medij STM je bil obogaten s transkriptom IVT, raztopina PreservCyt pa s celicami.

* Pričakovani % ujemanja negativnih rezultatov > 75 % in < 100 %.

Preglednica 24: Študija ponovljivosti testa Aptima HPV Assay 1: variabilnost signala za elemente plošče s pričakovanimi pozitivnimi rezultati

Opis plošče (kopije ali celice/reakcija)	n	Sred- nja vred- nost S/CO	Med raziskovalni mi centri		Med upravljavci		Med serijami		Med delovnimi seznami		Znotraj delovnih seznamov		Skupaj	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV 16 in HPV 18 IVT (100 kopij)	161 [^]	23,4	0,1	0,4	0,1	0,4	0,9	4,0	0	0	1,6	7,0	1,9	8,1
Celice SiHa (3 celice) in Celice HeLa (7,5 celice)	162	17,9	0	0	1,4	8,1	0	0	0,6	3,1	5,1	28,6	5,3	29,9
HPV 18 IVT (100 kopij)	162	11,8	0	0	0	0	0,8	6,4	0,1	0,9	1,2	10,1	1,4	12,0
HPV 16 IVT (100 kopij)	162	10,8	0,2	1,5	0	0	0,1	1,1	0,3	2,6	0,3	3,1	0,5	4,5
Celice MS751 (1 celica)	162	13,3	0,3	2,1	0	0	1,0	7,8	0,9	7,1	2,2	16,2	2,6	19,4
Celice ME180 (0,3 celice)	162	6,5	0,2	3,2	0	0	0,6	8,6	0,4	5,5	2,4	36,2	2,5	37,7
HPV 18 IVT (30 kopij)	162	9,0	0,7	7,3	0	0	0,7	7,2	0,8	8,3	2,3	25,3	2,6	28,5
HPV 16 IVT (30 kopij)	162	10,8	0,1	0,8	0	0	0,1	1,3	0,4	3,8	0,9	8,4	1,0	9,3
Celice HeLa (2,5 celice)	162	12,4	0	0	0,4	3,3	0,4	3,1	0	0	2,3	18,4	2,4	19,0
Celice SiHa (1 celica)	162	7,5	0,3	3,7	1,0	13,0	0	0	0	0	4,8	63,6	4,9	65,0

SD = standardni odklon (standard deviation); CV = koeficient variacije (coefficient of variation); IVT = transkript *in vitro*; S/CO = razmerje signala in mejne vrednosti (signal to cutoff ratio)

[^]Pri enem vzorcu je bil rezultat testa Aptima HPV assay neveljaven in vzorec ni bil vključen v analize.

Opomba: Variabilnost pri določenih dejavnikih je lahko negativno število. Do tega lahko pride, če je variabilnost zaradi teh dejavnikov zelo majhna. V teh primerih sta vrednosti SD in CV prikazani kot 0.

Preglednica 25: Študija ponovljivosti testa Aptima HPV Assay 2: variabilnost signala za elemente plošče s pričakovanimi pozitivnimi rezultati

Opis plošče (kopije ali celice/reakcija)	n	Sred- nja vred- nost S/CO	Med instrumenti		Med upravljavci		Med serijami		Med delovnimi seznami		Znotraj delovnih seznamov		Skupaj	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV 16 in HPV 18 IVT (100 kopij)	162	23,2	0,4	1,5	0,6	2,3	0,8	3,4	0,8	3,4	1,5	6,3	2,0	8,4
Celice SiHa (3 celice) in Celice HeLa (7,5 celice)	162	18,6	0	0	1,7	9,3	0	0	3,5	18,6	3,7	20,0	5,4	28,9
HPV 18 IVT (100 kopij)	160 [^]	11,9	0,1	0,6	0,2	1,6	0,8	7,0	0,4	3,6	1,3	11,3	1,7	13,8
HPV 16 IVT (100 kopij)	162	10,8	0	0	0,1	1,3	0	0	0,2	2,2	0,7	6,1	0,7	6,6
Celice MS751 (1 celica)	162	13,6	0	0	0,6	4,3	0	0	2,5	18,4	2,1	15,2	3,3	24,2
Celice ME180 (0,3 celice)	162	5,8	0	0	0,6	10,8	0,5	9,4	2,2	36,9	1,7	29,7	2,9	49,5
HPV 18 IVT (30 kopij)	162	8,8	0,4	4,4	0,5	6,0	0,7	7,9	1,0	11,5	1,9	21,4	2,4	26,6
HPV 16 IVT (30 kopij)	162	10,5	0	0	0,1	1,3	0,2	2,0	1,6	14,9	1,2	11,2	2,0	18,8
Celice HeLa (2,5 celice)	159 [^]	12,0	0,6	5,1	1,0	8,5	0	0	2,8	23,8	2,0	16,6	3,7	30,6
Celice SiHa (1 celica)	162	7,4	0,9	12,5	0	0	0,7	9,3	1,8	24	4,2	56,8	4,7	63,8

SD = standardni odklon (standard deviation); CV = koeficient variacije (coefficient of variation); IVT = transkript *in vitro*; S/CO = razmerje signala in mejne vrednosti (signal to cutoff ratio)

[^]Pri petih vzorcih so bili rezultati testa Aptima HPV assay neveljavni (2 pri HPV 18 IVT (100 kopij), 3 pri celicah HeLa (2,5 celice)) in niso bili vključeni v analize.

Opomba: Variabilnost pri določenih dejavnikih je lahko negativno število. Do tega lahko pride, če je variabilnost zaradi teh dejavnikov zelo majhna. V teh primerih sta vrednosti SD in CV prikazani kot 0.

Izvedena je bila tudi tretja študija za določanje ponovljivosti testa s testiranjem plošče s 6 elementi združenih kliničnih tekočih citoloških primerkov ThinPrep. Šest edinstvenih skupin preostalih tekočih citoloških primerkov ThinPrep, negativnih na virus HPV, je bilo pripravljenih kot matrika, od tega sta bili dve testirani kot elementa plošče, negativna na virus HPV. Štiri edinstvene skupine tekočih citoloških primerkov ThinPrep, pozitivnih na virus HPV, so bile uporabljene za pripravo elementov plošče, ki so bili nizko ($n = 2$) in visoko ($n = 2$) pozitivni na virus HPV. Koncentracije pri nizko pozitivnih elementih plošče so bile enake meji zaznavanja testa (pričakovana pozitivnost: $\geq 95\%$, določena s testiranjem zaporednih razredčitev skupin za vsako posamezno skupino vzorcev, pozitivnih na HPV). Pri visoko pozitivnih elementih plošče so bile koncentracije 1–2 logaritma nad ocenjeno mejo zaznavanja pri vsaki posamezni zalogi, pozitivni na virus HPV (pričakovana pozitivnost: 100 % pozitivnost). Vsak element plošče je bil prenesen (1 ml) v epruveto za prenos primerkov Aptima, ki je na dan testiranja vsebovala STM. Testiranje sta interno izvedla 2 upravljavca z 1 serijo reagentov, 3 instrumenti, v 6 dneh (3 dni za vsakega upravljavca), testirala pa sta 2 postopka na dan, ko je bila plošča testirana podvojeno.

Elemente plošče opisuje Preglednica 26, skupaj s povzetkom ujemanja s pričakovanimi rezultati in razmerjem S/CO analita na 2,5., 50. in 97,5. percentilu porazdelitve signala. Variabilnost razmerja S/CO analita pri elementih plošče s pričakovanimi pozitivnimi rezultati prikazuje Preglednica 27.

Ujemanje je bilo 100 % pri elementih plošče, visoko pozitivnih na virus HPV, $\geq 98,6$ % pri elementih plošče, nizko pozitivnih na virus HPV, in $\geq 94,4$ % pri elementih plošče, negativnih na virus HPV.

Preglednica 26: Študija ponovljivosti testa Aptima HPV Assay 3: opis plošče, ujemanje v odstotkih

Opis plošče	% ujemanja (95 % IZ)
Nizko pozitivno 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Nizko pozitivno 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Visoko pozitivno 1	100 (72/72) (94,9, 100)
Visoko pozitivno 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Negativno 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Negativno 2	94,4 (68/72) (86,6, 97,8)

Preglednica 27: Študija ponovljivosti testa Aptima HPV Assay 3: analiza signala za elemente plošče s pričakovanimi pozitivnimi rezultati

Opis plošče	n	Sred- nja vred- nost S/CO	Med instrumenti		Med upravljavci		Med serijami		Med delovnimi seznami		Znotraj delovnih seznamov		Skupaj	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Nizko pozitivno 1	72	9,8	0	0	0	0	0	0	2,2	22,8	3,0	30,4	3,7	38,0
Nizko pozitivno 2	72	10,5	0	0	2,2	21,0	0,9	9,0	3,7	35,3	2,7	26,1	5,2	49,5
Visoko pozitivno 1	72	22,7	1,3	5,6	0	0	0,1	0,5	3,0	13,3	3,7	16,4	5,0	21,9
Visoko pozitivno 2	72	23,9	0	0	0	0	0	0	2,9	12,3	3,0	12,4	4,2	17,4

SD = standardni odklon (standard deviation); CV = koeficient variacije (coefficient of variation); S/CO = razmerje signala in mejne vrednosti (signal to cutoff ratio)

Opomba: Variabilnost pri določenih dejavnikih je lahko negativno število. Do tega lahko pride, če je variabilnost zaradi teh dejavnikov zelo majhna. V teh primerih sta vrednosti SD in CV prikazani kot 0.

Navzkrižna reaktivnost

Analitična specifičnost testa Aptima HPV assay je bila ovrednotenja z medijem v obliki raztopine PreservCyt, razredčenim v razmerju 1:2,9 v STM in obogatenim z gojenimi bakterijami, kvasom ali glivicami, gojenim virusom ali transkripti *in vitro* nizkotveganega virusa HPV. Organizme in koncentracije testa prikazuje Preglednica 28. Merila študije za oceno učinka prisotnosti mikroorganizma na specifičnost testa so temeljila na pozitivnosti. Navzkrižno reaktivnost so opazili pri nizkotveganih genotipih virusa HPV 26, 67, 70 in 82, ne pa pri katerih koli drugih testiranih organizmih.

Preglednica 28: Plošča analitične specifičnosti: organizmi in koncentracije brez navzkrižne reaktivnosti

Organizem	virusa HPV Koncentracija brez navzkrižne reaktivnosti	Organizem	virusa HPV Koncentracija brez navzkrižne reaktivnosti
Bakterije			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Micrococcus luteus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2x10 ⁷ CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	5x10 ⁷ CFU/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Bacillus cereus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5x10 ⁷ CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	5x10 ⁷ CFU/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae in Chlamydia trachomatis</i>	2,5 x 10 ⁷ CFU/ml 2,3 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3,2 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	6x10 ⁷ CFU/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Providencia stuartii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Ruminococcus productus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Fingoldia magna</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Serratia marcescens</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml		

Preglednica 28: Plošča analitične specifičnosti: organizmi in koncentracije brez navzkrižne reaktivnosti (se nadaljuje)

Organizem	virusa HPV Koncentracija brez navzkrižne reaktivnosti	Organizem	virusa HPV Koncentracija brez navzkrižne reaktivnosti
Kvas/praživali			
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 x 10 ⁷ celic/ml
Virusi			
Adenovirus 2	1 x 10 ⁷ vp/ml	Virus herpes simpleks 1	2,5 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
Citomegalovirus	5,6 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	Virus herpes simpleks 2	5x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Virus Epstein-Barr	4,3 x 10 ⁶ vp/ml	SV40	1,2 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
HIV-1	1,0 x 10 ⁶ kopij/ml		
Neciljani genotipi virusa HPV			
HPV 6	2.5x10 ⁶ kopij/ml	HPV 61	2.5x10 ⁶ kopij/ml
HPV 11	2.5x10 ⁶ kopij/ml	HPV 67	1 kopija/ml
HPV 26	2,5 kopij/ml	HPV 69	2.5x10 ⁶ kopij/ml
HPV 30	2.5x10 ⁶ kopij/ml	HPV 70	1 kopija/ml
HPV 34	2.5x10 ⁶ kopij/ml	HPV 71	2.5x10 ⁶ kopij/ml
HPV 42	2.5x10 ⁶ kopij/ml	HPV 73	2.5x10 ⁶ kopij/ml
HPV 43	2.5x10 ⁶ kopij/ml	HPV 81	2.5x10 ⁶ kopij/ml
HPV 44	2.5x10 ⁶ kopij/ml	HPV 82	1 kopija/ml
HPV 53	2.5x10 ⁶ kopij/ml	HPV 85	2.5x10 ⁶ kopij/ml
HPV 54	2.5x10 ⁶ kopij/ml		

vp = virusni delci (viral particles) CFU = enote, ki tvorijo kolonije (colony forming units) TCID₅₀ = infektivna doza kulture tkiva (tissue culture infective dose) 50

Opomba: S krepko pisavo so označene vrste, pri katerih je bila opažena navzkrižna reaktivnost (> 5 % pozitivnost) pri testiranju s koncentracijami, višjimi od tistih, zabeleženih v preglednici.

Analitična občutljivost testa Aptima HPV assay v prisotnosti mikroorganizmov je bila ovrednotena z isto ploščo, kot jo opisuje Preglednica 28 in je bila tudi obogatena z nizko koncentracijo celic SiHa, okuženih z virusom HPV (1 celica na reakcijo). Merila študije za oceno učinka prisotnosti mikroorganizma na občutljivost testa so temeljila na pozitivnosti. Nobeden od testiranih organizmov ni vplival na občutljivost testa Aptima HPV assay.

Motnje

S posameznimi snovmi, ki jih opisuje Preglednica 29, je bila obogatena raztopina PreservCyt pri 1 % in 10 % v/v ali w/v, ki je bila razredčena s STM in nato testirana s testom Aptima HPV assay. Vse snovi so bile testirane v prisotnosti in odsotnosti gojenih celic, okuženih z virusom HPV (SiHa, 3 celice/reakcijo). Motnje so opazili pri dveh od sedmih lubrikantov, ki so vsebovali polikvaternij 15, in pri enem od petih protiglivičnih zdravil, ki so vsebovala tiokonazol. Motenj niso opazili pri nobenih drugih testiranih snoveh.

Preglednica 29: Snovi, ki so bile s testom Aptima HPV Assay testirane za možne motnje

Kategorija izdelka	Blagovna znamka ali vrsta izdelka	Najvišja koncentracija*, ki je bila testirana in ni povzročila motenj pri učinkovitosti testa
Lubrikant	KY Sensual Mist	10 % v/v
	KY Warming Jelly	10 % w/v
	KY Warming Liquid	10 % v/v
	CVS Brand Personal Lubricant	10 % w/v
	Target Brand Warming Massage Lotion and Personal Lubricant	10 % v/v
	Astroglide Personal Lubricant	0,3% w/v (0,075 % w/v, testni vzorec)
	Target Brand Lubricating Liquid	0,1% v/v (0,025 % v/v, testni vzorec)
Spermicid	Gynol II Vaginal Contraceptive Original Formula	10 % w/v
	Gynol II Vaginal Contraceptive Extra Strength	10 % w/v
	Delfen Vaginal Contraceptive Foam	10 % w/v
	Encare Vaginal Contraceptive	10 % w/v
	Conceptrol Vaginal Contraceptive	10 % w/v
Protimikrobna zdravila/ zdravila proti srbenju	Vagisil Maximum Strength	10 % w/v
	Monistat Soothing Care	10 % w/v
	Monistat 3 Combination Pack	10 % w/v
	Target Brand Tioconazole 1	0,3% w/v (0,075 % w/v, testni vzorec)
	Target Brand Miconazole 3	10 % w/v
Glacialna etanojska kislina	EMD M/N AX0073-11	10 % v/v
Polna kri	polna kri	10 % v/v

*Lubrikanti za osebno rabo, ki vsebujejo polikvaternij 15.

Pričakovani rezultati sistema Panther: pogostost mRNA visokotveganega virusa HPV

Pogostost okužbe z visokotveganim virusom HPV je zelo različna in nanjo vpliva več dejavnikov, h katerim največ prispeva starost.^{32,33} V mnogih študijah so preučevali pogostost virusa HPV, kot je določena z zaznavanjem DNA virusa HPV, vendar le v malo študijah poročajo o pogostosti na podlagi zaznavanja onkogene mRNA virusa HPV. V prospektivno klinično študijo, znano pod imenom preskušanje CLEAR, so bile vključene ženske iz več različnih kliničnih raziskovalnih centrov (n=18), pri katerih je bila geografska porazdelitev široka, njihova populacija pa raznolika (10 zveznih držav v Združenih državah Amerike).³⁴ Kot je bilo določeno s testom Aptima HPV assay na sistemu Panther, je bila pogostost vzorcev virusa HPV s pozitivno mRNA, ki so jo opazovali v kliničnem preskušanju, razvrščena na skupne podatke, starostno skupino in raziskovalni testni center. Rezultate za ASC-US (atipične ploščate celice nedoločenega pomena) in NILM (negativno za intraepitelijsko lezijo ali malignost) prikazuje preglednica Preglednica30.

Preglednica 30: Pogostost mRNA visokotveganega virusa HPV glede na starostno skupino, raziskovalni testni center in vse združene podatke.

	Stopnja pozitivnosti % (x/n)	
	Populacija ASC-US (≥ 21 let)	Populacija NILM (≥ 30 let)
Vsi podatki	42,3 (404/956)	4,7 (512/10.860)
Starostna skupina (v letih)		
od 21 do 29	60,0 (251/418)	Ni na voljo.
od 30 do 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
Raziskovalni testni center		
1	41,5 (134/323)	3,7 (304/8286)
2	43,1 (137/318)	9,2 (118/1285)
3	42,2 (133/315)	7,0 (90/1289)

Ni na voljo. = Podatki niso na voljo.

Zasnova klinične študije testa Aptima HPV Assay s tekočimi citološkimi primerki ThinPrep

Test Aptima HPV assay na sistemu Panther je bil ovrednoten med prospektivno, multicentrično klinično študijo, ki je bila izvedena v ZDA in je znana tudi kot preskušanje CLEAR, z uporabo preostalih napotnih citoloških primerkov, zbranih pri ženskah, ki so podale privolitev.³⁴

Preskušanje CLEAR – vrednotenje ob izhodišču

Preskušanje CLEAR je bilo izvedeno za določanje klinične učinkovitosti testa Aptima HPV assay na sistemu Tigris DTS za zaznavanje intraepitelijske neoplazije materničnega vratu stopnje 2 ali resnejše bolezni materničnega vratu (\geq CIN2). Pri preskušanju CLEAR je bilo vključeno vrednotenje ob izhodišču in 3-letno kontrolno vrednotenje. Ženske so bile vpisane v študijo ASC-US ali študijo NILM na podlagi citoloških izvidov pri rutinskem presejanju za rak na materničnem vratu. V populacijo študije ASC-US so bile vključene ženske, stare 21 in več let, s citološkimi izvidi za ASC-US, v populacijo študije NILM pa ženske, stare 30 in več let, s citološkimi izvidi za NILM. Študija NILM je bila zasnovana v podporo zahtevi po dodatnem presejanju za ženske, stare 30 in več let, saj bi morale ženske v tej starostni skupini in s citološkimi izvidi, ki presegajo ASC-US, oditi na kolposkopijo ne glede na stanje virusa HPV pri njih.³⁵

Vpisane so bile ženske iz 18 kliničnih raziskovalnih centrov, v glavnem klinik za porodništvo/ginekologijo, kar je zajemalo široko geografsko porazdelitev in raznoliko populacijo. Upravičene ženske so bile dodeljene v študijo ASC-US ali NILM na podlagi napotnega tekočega citološkega primerka ThinPrep. V izhodišču so bili preostali napotni primerki žensk v študiji ASC-US in NILM na začetku testirani s testom Aptima HPV assay na sistemu Tigris DTS in komercialnim testom DNA virusa HPV. Primerki so bili nato arhivirani in shranjeni pri temperaturi $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, dokler niso bili testirani s testom Aptima HPV assay na sistemu Panther.

V izhodišču preskušanja CLEAR (v izhodiščni fazi) so bile vse ženske iz študije ASC-US napotene na kolposkopijo, ne glede na rezultate testa HPV pri njih. Izvedene so bile biopsija z endocervikalno kiretažo (ECC) in incizijske biopsije materničnega vratu (1 biopsija iz vsakega od 4 kvadrantov). Če je bila lezija vidna, je bila izvedena incizijska biopsija (usmerjena metoda; 1 biopsija na lezijo), v kvadrantih brez vidne lezije pa je bila biopsija izvedena na transformacijski coni (naključna metoda).

Na kolposkopijo so bile za vrednotenje v izhodišču napotene ženske v študiji NILM, pri katerih je bil rezultat testa Aptima HPV assay na sistemu Tigris DTS in/ali komercialnega testa DNA virusa HPV pozitiven, ter naključno izbrane ženske, katerih rezultati so bili pri obeh testih negativni. Za popravek pristranskosti preverjanja s prilagojenimi ocenami učinkovitosti z metodo večkratnega vstavljanja so bile vključene naključno izbrane ženske, katerih rezultati so bili pri obeh testih negativni. Pri vsaki ženski, pri kateri je bila opravljena kolposkopija, je bila opravljena biopsija ECC. Incizijske biopsije so bile opravljene samo iz vidnih lezij (usmerjena metoda; 1 biopsija na lezijo).

Stanje bolezni je določil odbor za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov na podlagi soglasja vsaj 2 strokovnjakov patologov. Stanje virusa HPV pri ženski je bilo za strokovnjake patologe skrito. Prav tako so bili zanje skriti stanje citoloških izvidov in histološke diagnoze, ki so jih postavili. Če se vsi 3 patologi niso strinjali, so za doseganje soglasja vsi 3 patologi preverili preparate pod mikroskopom z več glavami. Za preprečevanje pristranskosti so bili rezultati testa HPV za raziskovalce, zdravnike in ženske skriti do konca obiska kolposkopije.

V izhodišču je bila klinična učinkovitost testa Aptima HPV assay za zaznavanje \geq CIN2 in intraepitelijske neoplazije materničnega vratu stopnje 3 ali resnejše bolezni materničnega vratu (\geq CIN3) ocenjena relativno glede na stanje bolezni materničnega vratu, določeno v izhodišču. Za neposredno primerjavo z rezultati testa Aptima HPV assay je bila ocenjena tudi klinična učinkovitost komercialnega testa DNA virusa HPV.

Preskušanje CLEAR – vrednotenje pri spremljanju

Ženske v študiji NILM iz 14 kliničnih raziskovalnih centrov so bile upravičene do sodelovanja v 3-letni fazi spremljanja v študiji, če: i) so v izhodišču opravile obisk kolposkopije in pri njih ni bilo \geq CIN2 ali če ii) v izhodišču niso opravile obiska kolposkopije. Fazo spremljanja v študiji so predstavljali letni obiski. Ob teh obiskih so bili pri vsaki ženski odvzeti vzorci materničnega vratu za citološko preiskavo, nekatere pa so bile testirane tudi s komercialnim testom HPV. Ženske z ASC-US ali resnejšimi citološkimi izvidi v obdobju spremljanja so bile napotene na kolposkopijo z istimi postopki biopsijskih in histoloških preiskav, kot so bili pri študiji NILM izvedeni pri vrednotenju v izhodišču. Stanje bolezni materničnega vratu ob kontrolnem obisku je veljalo za »negativno« na podlagi citoloških izvidov NILM, pri ženskah z nenormalnimi citološkimi izvidi pri testu pa na podlagi normalnih rezultatov ali soglasja o CIN1 odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov. Pri ženskah, pri katerih je bilo med obdobjem spremljanja zaznana bolezen \geq CIN2, je veljalo, da so spremljanje zaključile in te ženske se po zaznavi bolezni \geq CIN2 niso udeleževale obiskov. Pri ženskah, pri katerih v obdobju spremljanja ni bilo zaznane bolezni \geq CIN2, ki pa so se udeležile obiska v okviru študije v kontrolnem letu 1 in/ali v kontrolnem letu 2 ter so se udeležile obiska v okviru študije v kontrolnem letu 3 je veljalo, da so zaključile spremljanje.

Cilj študije spremljanja je bil primerjava tveganja za bolezen materničnega vratu v kumulativnem 3-letnem obdobju pri ženskah, pri katerih so bili rezultati testa Aptima HPV assay v izhodišču pozitivni, s tveganjem za bolezen materničnega vratu v kumulativnem 3-letnem obdobju pri ženskah, pri katerih so bili rezultati testa Aptima HPV assay v izhodišču negativni. Stanje bolezni materničnega vratu v 3-letnem obdobju je bilo opredeljeno na naslednji način:

- Pozitivno stanje bolezni materničnega vratu (\geq CIN2 in/ali \geq CIN3) – ženske, pri katerih je bila v izhodišču ali med spremljanjem zaznana bolezen \geq CIN2.
- Negativno stanje bolezni materničnega vratu ($<$ CIN2) – ženske, ki so zaključile spremljanje brez zaznane bolezni \geq CIN2 in za katere ni veljalo, da je stanje bolezni materničnega vratu pri njih »nedoločeno«.
- Nedoločeno stanje bolezni materničnega vratu – ženske, pri katerih so bili citološki izvidi pri testu med spremljanjem nenormalni in pri katerih ni bilo poznejšega rezultata odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov, ali ženske z nezadostno citološko preiskavo ob njihovem zadnjem obisku.
- Izgubljene za spremljanje – ženske, ki niso zaključile spremljanja in za katere ni veljalo, da je stanje bolezni materničnega vratu pri njih »nedoločeno«.

Klinična učinkovitost testa Aptima HPV assay na sistemu Panther za zaznavanje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 je bila ovrednotena relativno glede na 3-letno stanje bolezni materničnega vratu.

Učinkovitost testa na sistemu Panther

Starost populacije ASC-US ≥ 21 let: klinična učinkovitost testa Aptima HPV Assay

Skupaj je bilo v študijo ASC-US vpisanih 1252 žensk, starih 21 let in več, s citološkimi izvidi ASC-US; 294 od teh žensk je bilo umaknjenih. Preostalih 958 je bilo upravičenih do testiranja na sistemu Panther. Pri dveh ženskah so vzorci manjkali, pri 19 pa je bila postavljena diagnoza nedoločene bolezni; vse so bile iz analize izključene. Preostalih 937 žensk, pri katerih je bilo mogoče izvesti vrednotenje, je bilo starih 21 in več let, pri njih pa so bili prisotni citološki izvidi ASC-US, rezultati testa Aptima HPV assay na sistemu Panther in prepričljivo stanje bolezni. Pri enaindevetdesetih (91) ženskah je bila odkrita bolezen ≥ CIN2, pri enainštiridesetih (41) pa bolezen ≥ CIN3. Pogostost bolezni ≥ CIN2 in bolezni ≥ CIN3 pri ženskah s citološkimi izvidi ASC-US, pri katerih je bilo mogoče izvesti vrednotenje, je znašala 9,7 % oziroma 4,4 %. Preglednica 31 prikazuje rezultate testa Aptima HPV assay glede na diagnozo odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov.

Preglednica 31: Starost populacije ASC-US ≥ 21 let: rezultati testa Aptima HPV Assay glede na diagnozo odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov.

Rezultat testa Aptima HPV Assay*	Test DNA virusa HPV	Diagnoza odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov						
		Nedoločeno**	Normalno	CIN1	CIN2	CIN3	Rak	Skupaj
Pozitivno	Pozitivno	6	178	110	40	32	1	367
Pozitivno	Negativno	0	5	2	0	2	0	9
Pozitivno	Ni rezultata.***	0	15	11	0	2	0	28
Negativno	Pozitivno	0	39	15	3	3	0	60
Negativno	Negativno	10	372	53	7	1	0	443
Negativno	Ni rezultata.***	3	39	7	0	0	0	49
Skupaj		19	648	198	50	40	1****	956

*Pri vseh vzorcih so bili rezultati končni in veljavni (ob začetnem testiranju ali po razrešitvi začetnih neveljavnih rezultatov na postopek).

**19 preiskovank se je udeležilo obiska kolposkopije, diagnoze pa ni bilo mogoče podati iz naslednjih razlogov: < 5 biopsijskih primerkov je bilo vseh pridobljenih skupaj z normalnimi/CIN1 (n = 15) histološkimi izvidi, brez zbranih biopsij (n=3) in z izgubljenimi preparati za biopsijske primerke (n=1).

***Pri 77 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

****Pri eni preiskovanki je bil prisoten adenokarcinom in situ (AIS).

Preglednica 32 prikazuje ocene klinične učinkovitosti testa Aptima HPV assay, vključno z občutljivostjo, specifičnostjo, pozitivno napovedno vrednostjo (positive predictive value, PPV) in negativno napovedno vrednostjo (negative predictive value, NPV) za zaznavanje bolezni ≥ CIN2 in bolezni ≥ CIN3 na podlagi vrednotenja vseh biopsij, pa tudi ocene za komercialni test DNA virusa HPV.

Preglednica 32: Starost populacije ASC-US ≥ 21 let: učinkovitost testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV za zaznavanje bolezni ≥ CIN2 in bolezni ≥ CIN3.

	Učinkovitost	Test Aptima HPV Assay N = 937		Test DNA virusa HPV N = 863*	
		Ocena	(95 % IZ)	Ocena	(95 % IZ)
≥ CIN2	Vse biopsije				
	Občutljivost (%)	84,6 (77/91)	(75,8, 90,6)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)
	Specifičnost (%)	62,1 (525/846)	(58,7, 65,3)	55,8 (432/774)	(52,3, 59,3)
	PPV (%)	19,3 (77/398)	(17,3, 21,2)	18,8 (79/421)	(17,0, 20,4)
	NPV (%)	97,4 (525/539)	(96,0, 98,5)	97,7 (432/442)	(96,2, 98,8)
	Pogostost (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
	Usmerjene biopsije**				
	Občutljivost (%)	90,0 (54/60)	(79,9, 95,3)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)
	Specifičnost (%)	60,8 (531/874)	(57,5, 63,9)	54,5 (437/802)	(51,0, 57,9)
	PPV (%)	13,6 (54/397)	(12,0, 15,0)	13,1 (55/420)	(11,7, 14,2)
	NPV (%)	98,9 (531/537)	(97,8, 99,6)	99,1 (437/441)	(97,9, 99,7)
	Pogostost (%)	6,4 (60/934)		6,9 (59/861)	
≥ CIN3	Vse biopsije				
	Občutljivost (%)	90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
	Specifičnost (%)	59,7 (535/896)	(56,5, 62,9)	53,3 (439/824)	(49,9, 56,7)
	PPV (%)	9,3 (37/398)	(8,0, 10,3)	8,6 (36/421)	(7,4, 9,4)
	NPV (%)	99,3 (535/539)	(98,3, 99,8)	99,3 (439/442)	(98,3, 99,8)
	Pogostost (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	
	Usmerjene biopsije**				
	Občutljivost (%)	93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)
	Specifičnost (%)	59,1 (535/906)	(55,8, 62,2)	52,8 (440/834)	(49,4, 56,1)
	PPV (%)	6,8 (27/398)	(5,7, 7,5)	6,4 (27/421)	(5,5, 7,0)
	NPV (%)	99,6 (535/537)	(98,8, 100)	99,8 (440/441)	(98,9, 100)
	Pogostost (%)	3,1 (29/935)		3,2 (28/862)	

*Pri 74 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

**Soglasje o histološkem izvidu je bilo doseženo le z uporabo rezultatov iz usmerjenih biopsij. Pri ženskah brez usmerjenih biopsij gre za normalno kolposkopijo, v te analize pa so vključene kot ženske brez bolezni (< CIN2 ali < CIN3, kot ustreza). Ko so bile vključene samo usmerjene biopsije, soglasje ni bilo vedno doseženo.

Pri vrednotenju vseh biopsij so bile ocene klinične občutljivosti testa Aptima HPV assay in komercialnega testa DNA virusa HPV za zaznavanje bolezni \geq CIN2 in \geq CIN3, pri katerih so bili pri obeh testih na voljo rezultati testa, podobne (razlike v ocenah občutljivosti niso bile statistično pomembne). Pri boleznih \geq CIN2 je razlika občutljivosti znašala -4,5 % (95 % IZ: -12,2 %, 2,5 %). Ocene klinične specifičnosti testa Aptima HPV assay za zaznavanje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 so bile višje od tiste pri komercialnem testu DNA virusa HPV (razlike v ocenah specifičnosti so bile statistično pomembne). Pri boleznih \geq CIN2 je razlika specifičnosti znašala 6,1% (95 % IZ: 4,2%, 8,2%). Vrednosti NPV so bile podobne, vendar je bila za zaznavanje bolezni \geq CIN2 vrednost PPV za test Aptima HPV assay nekoliko višja od vrednosti PPV za komercialni test DNA virusa HPV (19,3% v primerjavi z 18,8%).

Od 91 primerov bolezni \geq CIN2 jih je bilo 60 (65,9 %) odkritih pri usmerjenih biopsijah, 31 (34,1 %) pa pri naključnih biopsijah in/ali biopsijah ECC (tj. ne pri usmerjenih biopsijah). Te ugotovitve so primerljive z rezultati iz objavljenih študij, v katerih je bilo približno 25 % do 40 % primerov bolezni \geq CIN2 odkritih samo iz primerkov naključnih biopsij in/ali biopsij ECC.^{36,37} Ko so bile za določanje stanja bolezni uporabljene samo usmerjene biopsije (pri čemer je veljala domneva, da so bili histološki izvidi pri ženskah brez usmerjenih biopsij normalni, ker ni bilo prisotnih nobenih vidnih lezij), je pogostost bolezni \geq CIN2 in \geq CIN3 v študiji znašala 6,4 % in 3,1 %. Ocene klinične občutljivosti za zaznavanje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 so bile pri obeh testih višje, če so bile uporabljene samo usmerjene biopsije, ne pa ocene, izračunane z uporabo vseh biopsij. Pri obeh testih je bila klinična specifičnost z uporabo samo usmerjenih biopsij podobna specifičnosti, ki je bila pridobljena z vključenimi vsemi biopsijami. V skladu s tem je bila specifičnost testa Aptima HPV assay pri uporabi samo usmerjenih biopsij znatno višja od tiste pri komercialnem testu DNA virusa HPV.

Ocene klinične učinkovitosti testa Aptima HPV assay in komercialnega testa DNA virusa HPV DNA glede na starostno skupino prikazujeta Preglednica 33 in Preglednica 34 (\geq CIN2 oziroma \geq CIN3 na podlagi ocene vseh biopsij).

Preglednica 33: Starost populacije ASC-US \geq 21 let: učinkovitost testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV za zaznavanje bolezni \geq CIN2 glede na starostno skupino.

	Učinkovitost	Test Aptima HPV Assay N = 937		Test DNA virusa HPV N = 863*	
		Ocena	(95 % IZ)	Ocena	(95 % IZ)
od 21 do 29 let		N = 415		N = 389	
	Občutljivost (%)	88,5 (54/61)	(78,2, 94,3)	94,9 (56/59)	(86,1, 98,3)
	Specifičnost (%)	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)
	Pogostost (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
od 30 do 39 let		N = 261		N = 238	
	Občutljivost (%)	85,0 (17/20)	(64,0, 94,8)	80,0 (16/20)	(58,4, 91,9)
	Specifičnost (%)	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)
	Pogostost (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
\geq 40 Leta		N = 261		N = 236	
	Občutljivost (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	Specifičnost (%)	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)
	Pogostost (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	

*Pri 74 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Preglednica 34: Starost populacije ASC-US \geq 21 let: učinkovitost testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV za zaznavanje bolezni \geq CIN3 glede na starostno skupino.

	Učinkovitost	Test Aptima HPV Assay N = 937		Test DNA virusa HPV N = 863*	
		Ocena	(95 % IZ)	Ocena	(95 % IZ)
od 21 do 29 let		N = 415		N = 389	
	Občutljivost (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Specifičnost (%)	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)
	Pogostost (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
od 30 do 39 let		N = 261		N = 238	
	Občutljivost (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Specifičnost (%)	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)
	Pogostost (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
\geq 40 Leta		N = 261		N = 236	
	Občutljivost (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Specifičnost (%)	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)
	Pogostost (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*Pri 74 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Preglednica 35 prikazuje absolutno tveganje bolezní (\geq CIN2 in \geq CIN3, na podlagi vrednotenja vseh biopsij) glede na rezultate testa Aptima HPV assay in relativno tveganje bolezní za pozitivne rezultate testa Aptima HPV assay v primerjavi z negativnimi ter ocene za komercialni test DNA virusa HPV. Relativno tveganje bolezní \geq CIN2 je znašalo 7,4 (95 % IZ: 4,3, 13,0), kar kaže, da je bila verjetnost za bolezen \geq CIN2 pri ženski s pozitivnim testom Aptima HPV assay 7,4-krat večja od tiste pri ženski z negativnim testom Aptima HPV assay. Relativno tveganje bolezní \geq CIN3 je znašalo 12,5 (95 % IZ: 4,5, 34,9).

Preglednica 35: Starost populacije ASC-US \geq 21 let: absolutno in relativno tveganje bolezní \geq CIN2 in bolezní \geq CIN3 pri rezultatih testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV.

	Rezultat testa	Test Aptima HPV Assay N = 937		Test DNA virusa HPV N = 863*	
		Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)	Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)
\geq CIN2	Pozitivno	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)
	Negativno	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Pogostost (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
\geq CIN3	Pozitivno	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)
	Negativno	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Pogostost (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

*Pri 74 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Preglednica 36 prikazuje ocene absolutnega in relativnega tveganja bolezni (\geq CIN2 in \geq CIN3, na podlagi vrednotenja vseh biopsij) za test Aptima HPV assay in komercialni test DNA virusa HPV glede na starostno skupino.

Preglednica 36: Starost populacije ASC-US \geq 21 let: absolutno in relativno tveganje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 pri rezultatih testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV glede na starostno skupino.

	Starost	Rezultat testa	Test Aptima HPV Assay N = 937		Test DNA virusa HPV N = 863*	
			Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)	Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)
\geq CIN2	od 21 do 29 let		N = 415		N = 389	
		Pozitivno	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)
		Negativno	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Pogostost (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	od 30 do 39 let		N = 261		N = 238	
		Pozitivno	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)
		Negativno	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Pogostost (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	\geq 40 let		N = 261		N = 236	
		Pozitivno	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)
		Negativno	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)	
		Pogostost (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	
\geq CIN3	od 21 do 29 let		N = 415		N = 389	
		Pozitivno	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Ni mogoče izračunati.
		Negativno	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Pogostost (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	od 30 do 39 let		N = 261		N = 238	
		Pozitivno	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)
		Negativno	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Pogostost (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	\geq 40 let		N = 261		N = 236	
		Pozitivno	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)
		Negativno	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)	
		Pogostost (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*Pri 74 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Starost populacije NILM \geq 30 let: klinična učinkovitost testa Aptima HPV Assay s tekočimi citološkimi primerki ThinPrep v izhodišču

Skupaj je bilo v študijo NILM vpisanih 11.644 žensk s citološkimi izvidi NILM; od teh je bilo 773 žensk umaknjenih. Preostalih 10.871 je bilo upravičenih do testiranja na sistemu Panther. Pri enajstih ženskah so vzorci manjkali in bile so izključene iz vrednotenja testa Aptima HPV assay na sistemu Panther ob izhodišču. Preostalih 10.860 žensk, pri katerih je bilo mogoče izvesti vrednotenje, je bilo starih 30 in več let, pri njih pa so bili prisotni citološki izvidi NILM in rezultati testa Aptima HPV assay na sistemu Panther. Od 512 žensk s pozitivnim rezultatom testa Aptima HPV assay na sistemu Panther se jih je 284 udeležilo kolposkopije v izhodišču. Od 10.348 žensk z negativnim rezultatom testa Aptima HPV assay se jih je 580 udeležilo kolposkopije v izhodišču. Histološki izvidi so bili pri dvajsetih (20) ženskah \geq CIN2, pri enajstih (11) \geq CIN3, pri 798 ženskah so bili normalni/CIN1, pri 46 ženskah pa je bilo stanje boleznine nedoločeno. Preglednica 37 prikazuje rezultate testa Aptima HPV assay na sistemu Panther glede na diagnozo odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov v izhodišču.

Preglednica 37: Starost populacije NILM \geq 30 let: rezultati testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV glede na diagnozo odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov v izhodišču.

Rezultat testa Aptima HPV Assay*	Test DNA virusa HPV	Diagnoza odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov						
		Nedoločeno**	Normalno	CIN1	CIN2	CIN3	Rak	Skupaj
Pozitivno	Pozitivno	11	211	12	4	7	2	247
Pozitivno	Negativno	2	19	0	0	0	1	22
Pozitivno	Ni rezultata.***	2	12	1	0	0	0	15
Negativno	Pozitivno	10	170	7	2	1	0	190
Negativno	Negativno	20	353	9	2	0	0	384
Negativno	Ni rezultata.***	1	4	0	1	0	0	6
Skupaj		46	769	29	9	8	3****	864

*Pri vseh vzorcih so bili rezultati končni in veljavni (ob začetnem testiranju ali po razrešitvi začetnih neveljavnih rezultatov na postopek).

**46 preiskovank se je udeležilo obiska kolposkopije, diagnoze pa ni bilo mogoče podati iz naslednjih razlogov: ugotovljeno je bilo, da so biopsijski primerki nenormalni (n = 29), brez zbranih biopsij (n = 15) in z izgubljenimi preparati za biopsijske primerke (n = 2).

***Pri 21 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

****Pri treh ženskah je bil prisoten adenokarcinom in situ (AIS).

Skupaj je bilo stanje bolezni v izhodišču pri 10.042 ženskah nepreverjeno (vključno z nedoločenim) (Preglednica 38). Ker so bile na kolposkopijo napotene le naključno izbrane ženske z negativnimi rezultati pri testu Aptima HPV assay na sistemu Tigris DTS in komercialnem testu DNA virusa HPV, je bil v tej skupini delež žensk z nepreverjenim stanjem bolezni visok (96,6 %). Za prilagoditev te pristranskosti preverjanja je bila za oceno števila žensk z boleznijo, ki bi bile odkrite, če bi vse ženske opravile kolposkopijo, uporabljena metoda večkratnega vstavljanja. Na podlagi 818 žensk s potrjenim stanjem bolezni v izhodišču so predstavljene ocene učinkovitosti s prilagoditvijo zaradi pristranskosti preverjanja in ocene neprilagojene učinkovitosti.

Preglednica 38: Starost populacije NILM \geq 30 let: razvrstitev žensk, pri katerih je bilo mogoče izvesti vrednotenje, z NILM glede na rezultate testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV, stanje bolezni (\geq CIN2 in \geq CIN3) ter stanje preverjanja bolezni.

Rezultat testa Aptima HPV Assay*		Test DNA virusa HPV	Skupno žensk	Preverjeno stanje bolezni: \geq CIN2		Preverjeno stanje bolezni: \geq CIN3		Nepreverjeno stanje bolezni
Sistem Panther	Sistem Tigris DTS			Ženske z boleznijo (\geq CIN2)	Ženske brez bolezni (< CIN2)	Ženske z boleznijo (\geq CIN3)	Ženske brez bolezni (< CIN3)	Ženske z neznanim stanjem bolezni (% neznanih)
Pozitivno	Pozitivno	Pozitivno	313	13	189	9	193	111 (35,5%)
Pozitivno	Pozitivno	Negativno	37	1	18	1	18	18 (48,6%)
Pozitivno	Pozitivno	Ni rezultata.**	22	0	13	0	13	9 (40,9%)
Pozitivno	Negativno	Pozitivno	70	0	34	0	34	36 (51,4%)
Pozitivno	Negativno	Negativno	60	0	1	0	1	59 (98,3%)
Pozitivno	Negativno	Ni rezultata.**	10	0	0	0	0	10 (100%)
Negativno	Pozitivno	Pozitivno	46	0	33	0	33	13 (28,3%)
Negativno	Pozitivno	Negativno	113	1	41	0	42	71 (62,8%)
Negativno	Pozitivno	Ni rezultata.**	8	0	4	0	4	4 (50,0%)
Negativno	Negativno	Pozitivno	236	3	144	1	146	89 (37,7%)
Negativno	Negativno	Negativno	9.354	1	321	0	322	9.032 (96,6%)
Negativno	Negativno	Ni rezultata.**	591	1	0	0	1	590 (99,8%)
Skupaj			10.860	20	798	11	807	10.042 (92,5%)

*Pri vseh vzorcih so bili rezultati končni (ob začetnem testiranju ali po razrešitvi začetnih neveljavnih rezultatov na postopek).

**Pri 631 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Prilagojena pogostost bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 pri ženskah s citološkimi izvidi NILM je znašala 0,9 % oziroma 0,4 %. Preglednica 39 prikazuje ocene prilagojenega absolutnega in relativnega tveganja pri zaznavanju bolezni \geq CIN2 in \geq CIN3 v izhodišču. Prilagojeno relativno tveganje bolezni \geq CIN2 je znašalo 7,5 (95 % IZ: 2,1, 26,3), kar kaže, da je verjetnost za bolezen \geq CIN2 pri ženski s pozitivnim testom Aptima HPV assay 7,5-krat večja od tiste pri ženski z negativnim testom Aptima HPV assay. Prilagojeno relativno tveganje bolezni \geq CIN3 je znašalo 24,9 (95 % IZ: 2,0, 307,0). Preglednica 40 prikazuje skupne ocene neprilagojenega absolutnega in relativnega tveganja pri zaznavanju bolezni \geq CIN2 in \geq CIN3 v izhodišču, Preglednica 41 pa glede na starostno skupino.

Preglednica 39: Starost populacije NILM \geq 30 let: absolutno in relativno tveganje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 pri rezultatih testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV (ocene s prilagoditvijo zaradi pristranskosti preverjanja) v izhodišču.

	Rezultat testa	Test Aptima HPV Assay		Test DNA virusa HPV	
		Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)	Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)
\geq CIN2	Pozitivno	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negativno	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Pogostost (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Pozitivno	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negativno	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Pogostost (%)	0,4		0,4	

Preglednica 40: Starost populacije NILM \geq 30 let: absolutno in relativno tveganje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 pri rezultatih testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV (neprilagojene ocene) v izhodišču.

	Rezultat testa	Test Aptima HPV Assay N = 818		Test DNA virusa HPV N = 800*	
		Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)	Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)
\geq CIN2	Pozitivno	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)
	Negativno	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Pogostost (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
\geq CIN3	Pozitivno	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)
	Negativno	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Pogostost (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*Pri 18 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Preglednica 41: Starost populacije NILM ≥ 30 let: absolutno in relativno tveganje bolezn \geq CIN2 in bolezn \geq CIN3 pri rezultatih testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV glede na starostno skupino (neprilagojene ocene) v izhodišču.

	Starost	Rezultat testa	Test Aptima HPV Assay N = 818		Test DNA virusa HPV N = 800*	
			Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)	Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)
\geq CIN2	od 30 do 39 let		N = 383		N = 376	
		Pozitivno	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)
		Negativno	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Pogostost (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 Leta		N = 435		N = 424	
		Pozitivno	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)
Negativno		1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0,4 (1/223) (0,0, 1,8)			
Pogostost (%)		2,5 (11/435)		2,4 (10/424)		
\geq CIN3	od 30 do 39 let		N = 383		N = 376	
		Pozitivno	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)
		Negativno	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
		Pogostost (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	≥ 40 Leta		N = 435		N = 424	
		Pozitivno	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Ni mogoče izračunati.	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Ni mogoče izračunati.
Negativno		0,0 (0/319) (0,0, 0,8)	0,0 (0/223) (0,0, 1,1)			
Pogostost (%)		1,1 (5/435)		1,2 (5/424)		

*Pri 18 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Preglednica 42 prikazuje prilagojene ocene klinične učinkovitosti testa Aptima HPV assay, vključno z občutljivostjo, specifičnostjo, PPV in NPV za zaznavanje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 v izhodišču, pa tudi ocene za komercialni test DNA virusa HPV. Preglednica 43 prikazuje ocene neprilagojene klinične učinkovitosti. Občutljivost pri testu Aptima HPV assay in komercialnem testu DNA virusa HPV je bila podobna, specifičnost pa je bila znatno višja pri testu Aptima HPV assay (neprekrivajoči se 95 % IZ). Ocene napovedne vrednosti testa Aptima HPV assay so bile klinično pomembne in podobne ocenam pri komercialnem testu DNA virusa HPV. Vrednosti NPV so bile podobne, vendar je bila za zaznavanje bolezni \geq CIN2 vrednost PPV za test Aptima HPV assay nekoliko višja od vrednosti PPV za komercialni test DNA virusa HPV (4,5% v primerjavi z 3,7%).

Preglednica 42: Starost populacije NILM \geq 30 let: učinkovitost testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV za zaznavanje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 (ocene s prilagoditvijo zaradi pristranskosti preverjanja) v izhodišču.

	Učinkovitost	Test Aptima HPV Assay		Test DNA virusa HPV	
		Ocena	(95 % IZ)	Ocena	(95 % IZ)
\geq CIN2	Občutljivost (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Specifičnost (%)	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)
	Pogostost (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
\geq CIN3	Občutljivost (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Specifičnost (%)	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)
	Pogostost (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Preglednica 43: Starost populacije NILM \geq 30 let: učinkovitost testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV za zaznavanje bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 (neprilagojene ocene) v izhodišču.

	Učinkovitost	Test Aptima HPV Assay N = 818		Test DNA virusa HPV N = 800*	
		Ocena	(95 % IZ)	Ocena	(95 % IZ)
\geq CIN2	Občutljivost (%)	70,0 (14/20)	(48,1, 85,5)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Specifičnost (%)	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)
	Pogostost (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
\geq CIN3	Občutljivost (%)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Specifičnost (%)	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)
	Pogostost (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*Pri 18 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Neposredna primerjava testa Aptima HPV assay na sistemu Panther in komercialnega testa DNA virusa HPV kaže podobno občutljivost in statistično znatno izboljšano specifičnost testa Aptima HPV assay v primerjavi s specifičnostjo komercialnega testa DNA virusa HPV pri zaznavanju bolezni \geq CIN2, kot kažejo razmerja stopenj pravih in lažnih pozitivnih rezultatov (Preglednica44 oziroma Preglednica45).

Preglednica 44: Starost populacije NILM \geq 30 let: razmerje stopenj pravih pozitivnih rezultatov (test Aptima HPV Assay/test DNA virusa HPV) pri ženskah z boleznijo \geq CIN2 (neprilagojene ocene) v izhodišču.

		Test DNA virusa HPV		Skupaj
		Pozitivno	Negativno	
Test Aptima HPV Assay	Pozitivno	13	1	14 (73,7%)
	Negativno	3	2	5
	Skupaj	16 (84,2%)	3	19
Razmerje stopenj pravih pozitivnih rezultatov = 0,88 (14/16) (95 % IZ: 0,65, 1,10)				

Preglednica 45: Starost populacije NILM \geq 30 let: razmerje stopenj lažnih pozitivnih rezultatov (test Aptima HPV Assay/test DNA virusa HPV) pri ženskah z boleznijo $<$ CIN2 (neprilagojene ocene) v izhodišču.

		Test DNA virusa HPV		Skupaj
		Pozitivno	Negativno	
Test Aptima HPV Assay	Pozitivno	223	19	242 (31,0%)
	Negativno	177	362	539
	Skupaj	400 (51,2%)	381	781
Razmerje stopenj lažnih pozitivnih rezultatov = 0,61 (242/400) (95 % IZ: 0,55, 0,66)				

Starost populacije NILM \geq 30 let: klinična učinkovitost testa Aptima HPV Assay na sistemu Panther po 3 letih spremljanja

V izhodišču je bilo 10.843 žensk, starih 30 let in več, s citološkimi izvidi NILM in veljavnimi rezultati testa Aptima HPV Assay na sistemu Panther, ki so bile upravičene do faze spremljanja. Med ženskami brez bolezni \geq CIN2 jih je 67,0 % (7.247/10.823) opravilo kontrolni obisk za test PAP ob 1. letu, 60,3 % (6.517/10.814) ob 2. letu, 58,7 % (6.339/10.807) pa ob 3. letu. Skupno je študijo zaključilo 58,8 % (6.375/10.843) žensk (z boleznijo \geq CIN2 v izhodišču ali med spremljanjem in/ali opravljenimi potrebnimi obiski).

Od 10.843 žensk, pri katerih je bilo mogoče izvesti vrednotenje, so bili rezultati testa Aptima HPV Assay na sistemu Panther v izhodišču pri 511 (4,7 %) pozitivni. Od teh 511 žensk pri 255 (49,9%) ženskah 3-letno stanje bolezni na podlagi citoloških in/ali kolposkopijskih/biopsijskih izvidov ni bilo ne pozitivno ne negativno. Pri preostalih 10.332 ženskah so bili rezultati testa Aptima HPV Assay na sistemu Panther v izhodišču negativni. Od teh 10.332 žensk je bilo pri 5.946 (57,5%) ženskah 3-letno stanje bolezni pozitivno ali negativno.

Od 6.201 žensk s 3-letnim stanjem bolezní je imelo 47 žensk bolezen \geq CIN2, vključno s 23, ki je imelo bolezen \geq CIN3; pri 6.154 ženskah je bila bolezen po mnenju odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov normalna/CIN1. Preglednica 46 prikazuje rezultate testa Aptima HPV assay na sistemu Panther in komercialnega testa DNA virusa HPV v izhodišču ter 3-letno stanje bolezní (vključuje izhodišče in vrednotenje med spremljanjem) glede na odbor za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov.

Preglednica 46: Starost populacije NILM \geq 30 let: razvrstitev žensk, ki so upravičene do faze spremljanja, glede na rezultate testa Aptima HPV Assay v izhodišču, rezultate testa DNA virusa HPV v izhodišču in stanja bolezní (\geq CIN2, \geq CIN3, nepreverjeno), določena v izhodišču in fazah spremljanja.

Rezultat testa Aptima HPV Assay	Test DNA virusa HPV	Skupno žensk	Preverjeno stanje bolezní: \geq CIN2		Preverjeno stanje bolezní: \geq CIN3		Nepreverjeno stanje bolezní	
			Ženske z boleznijo (\geq CIN2)	Ženske brez bolezní (< CIN2)	Ženske z boleznijo (\geq CIN3)	Ženske brez bolezní (< CIN3)	Izgubljeno za spremljanje	Nedoločeno*
Pozitivno	Pozitivno	382	23	171	16	178	167	21
Pozitivno	Negativno	97	1	48	1	48	44	4
Pozitivno	Ni rezultata.**	32	2	10	1	11	17	3
Negativno	Pozitivno	281	5	129	2	132	130	17
Negativno	Negativno	9.452	15	5.476	3	5.488	3.756	205
Negativno	Ni rezultata.**	599	1	320	0	321	264	14
Skupaj		10.843	47	6.154	23	6.178	4.378	264

*Ženske, pri katerih so bili citološki izvidi pri testu med spremljanjem nenormalni in pri katerih ni bilo poznejšega rezultata odbora za soglasje pri preverjanju histologije, in ženske z nezadostno citološko preiskavo ob njihovem zadnjem obisku. 174 žensk z nedoločenim stanjem bolezní je zaključilo svoje spremljanje po protokolu.

**Pri 631 ženskah z rezultati testa Aptima HPV assay ni bilo rezultatov testa DNA virusa HPV, v glavnem zaradi nezadostne količine primerka za citološko preiskavo.

Triletno kumulativno tveganje bolezní (\geq CIN2 in \geq CIN3) temelji na Kaplan-Meierjevi oceni (analizi življenjske preglednice) in vključuje bolezen, zaznano v izhodišču ali med spremljanjem. Ženske, pri katerih je obstajala določena indikacija za bolezen (ASC-US ali resnejši citološki izvidi), ne pa tudi rezultat mnenja odbora za soglasje pri preverjanju histoloških izvidov, so bile vključene v analizo z metodo večkratnega vstavljanja, da bi bilo mogoče napovedati število žensk z boleznijo, ki bi bilo odkrito, če bi opravile kolposkopijo.

Preglednica 47 prikazuje ocene 3-letnega kumulativnega absolutnega in relativnega tveganja pri zaznavanju bolezní \geq CIN2 in \geq CIN3.

Preglednica 47: Starost populacije NILM \geq 30 let: 3-letno kumulativno absolutno in relativno tveganje* bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 pri rezultatih testa Aptima HPV Assay in testa DNA virusa HPV v izhodišču.

	Rezultat testa	Test Aptima HPV Assay		Test DNA virusa HPV	
		Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)	Absolutno tveganje (95 % IZ)	Relativno tveganje (95 % IZ)
\geq CIN2	Pozitivno	7,90 (5,50, 11,27)	24,45 (13,85, 43,15)	6,43 (4,50, 9,14)	22,71 (12,20, 42,30)
	Negativno	0,32 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Pogostost (%)	0,68		0,68	
\geq CIN3	Pozitivno	5,23 (3,34, 8,13)	57,11 (21,09, 154,62)	4,14 (2,62, 6,52)	51,34 (17,74, 148,58)
	Negativno	0,09 (0,04, 0,23)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Pogostost (%)	0,34		0,35	

*3-letna kumulativna tveganja, prilagojena za druge možne pristranskosti, so bila podobna tveganjem v tej preglednici. Zaradi pričakovanih razlik tveganj v 1. in 2. letu pri dveh skupinah žensk v študiji spremljanja (tistih s kolposkopijo v izhodišču in tistih brez kolposkopije v izhodišču) je bilo poročano le o 3-letnem kumulativnem tveganju za združene skupine.

Triletna kumulativna pogostost bolezni \geq CIN2 in bolezni \geq CIN3 pri ženskah s citološkimi izvodi NILM v izhodišču je znašala 0,68 % oziroma 0,34 %. Relativno tveganje bolezni \geq CIN2 je znašalo 24,45 (95 % IZ: 13,85, 43,15), kar kaže, da je verjetnost za bolezen \geq CIN2 pri ženski s pozitivnim testom Aptima HPV assay na sistemu Panther 24,45-krat večja od tiste pri ženski z negativnim testom Aptima HPV assay. Relativno tveganje bolezni \geq CIN3 je znašalo 57,11 (95 % IZ: 21,09, 154,62).

Klinična učinkovitost testa Aptima HPV Assay s tekočimi citološkimi primerki SurePath

Tekoči citološki primerki SurePath so bili zbrani pri kanadskih ženskah (n = 558), ki so bile na spremljanje napotene zaradi enega ali več nenormalnih testov PAP, okužbe z virusom HPV ali iz kakšnega drugega razloga. Alikvot (0,5 ml) vsakega primerka je bil prenesen v epruveto za prenos primerkov Aptima in nato obdelan z raztopino za prenos Aptima. Ena podvojitve vsakega primerka je bila testirana s testom Aptima HPV assay. Ločen alikvot (1 ml) vsakega primerka je bil odstranjen za vrednotenje s komercialnim testom PCR za virus HPV. Kot prikazuje Preglednica 48, je bila za test Aptima HPV assay in test PCR za virus HPV izračunana klinična občutljivost za zaznavanje bolezni, opredeljene kot citološki izvid \geq CIN3, s pozitivnimi in negativnimi napovednimi vrednostmi.

Preglednica 48: Učinkovitost testa Aptima HPV Assay in testa PCR za virus HPV za zaznavanje bolezni \geq CIN3.

Učinkovitost	Test Aptima HPV Assay N = 558		Test PCR za virus HPV N = 558	
	Ocena	(95 % IZ)	Ocena	(95 % IZ)
Občutljivost (%)	89,3 (25/28)	(72,8–96,3)	89,3 (25/28)	(72,8–96,3)
Specifičnost (%)	58,7 (311/530)	(54,4–62,8)	49,1 (260/530)	(44,8–53,3)
PPV (%)	10,2 (25/244)	(8,4–11,7)	8,5 (25/295)	(7,0–9,5)
NPV (%)	99,0 (311/314)	(97,6–99,8)	98,9 (260/263)	(97,2–99,7)
Pogostost (%)	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

Učinkovitost testa Aptima HPV Assay pri primerkih, zbranih s kompletom za zbiranje in transport primerkov brisov materničnega vratu (kompletom CSCT)

Klinični primerki, ki so bili pozitivni na visokotvegani virus HPV, in klinični primerki, ki so bili negativni na visokotvegani virus HPV, zbrani pri populacijah s presejanjem (ob rutinskem obisku) in napotitvijo (obisk kolposkopije) s kompletom Aptima CSCT, so bili testirani s testom Aptima HPV Assay na sistemih Panther in Tigris DTS z dvema serijama reagentov. Preglednica 49 prikazuje ujemanje med sistemoma Panther in Tigris DTS za primerke CSCT.

Preglednica 49 kaže, da je bilo pri primerkih CSCT skupno ujemanje pri sistemih Panther in Tigris DTS > 98 %. Od 632 testiranih kliničnih primerkov jih je bilo 69 CIN2+, 38 pa CIN3+. Občutljivost testa Aptima HPV assay za zaznavanje CIN2+ je znašala 97,1 % (95 % IZ 90,0–99,2 %) na sistemu Panther in 98,6 % (95 % IZ: 92,2–99,7) na sistemu Tigris DTS. Občutljivost za zaznavanje CIN3+ je znašala 100 % (IZ: 90,8–100 %) na sistemu Panther in sistemu Tigris DTS.

Preglednica 49: Ujemanje rezultatov testa Aptima HPV Assay pri primerkih Aptima CSCT, testiranih na sistemu Tigris DTS in sistemu Panther

		Sistem Tigris DTS		Skupaj
		Pozitivno	Negativno	
Sistem Panther	Pozitivno	490	3	493
	Negativno	9	130	139
	Skupaj	499	133	632

Skupno ujemanje = 98,1 % (IZ 96,7–98,9)

Ujemanje pozitivnih rezultatov = 98,2 % (IZ 96,6–99,0)

Ujemanje negativnih rezultatov = 97,7 % (IZ 93,6–99,2)

Analitična občutljivost

Meja zaznavanja (Limit of Detection, LOD) pri klinični mejni vrednosti je koncentracija RNA virusa HPV, pri kateri je rezultat 95 % odstotkov časa pozitiven (nad klinično mejno vrednostjo). Meja LOD testa Aptima HPV assay je bila določena s testiranjem plošč za redčenje transkriptov in vitro (IVT) pri vseh 14 visokotveganih genotipih in 4 celičnih linijah, okuženih z virusom HPV: SiHa, HeLa, MS751 in ME180 (ATCC, Manassas, Virginia). Pri ploščah IVT je bil transportni medij za primerke obogaten z IVT v različnih koncentracijah in nato pred testiranjem razredčenih z negativnimi tekočimi citološkimi primerki posameznic ThinPrep. Pri celičnih ploščah, okuženih z virusom HPV, je bila skupina tekočih citoloških primerkov ThinPrep, negativnih na virus HPV, obogatena s celicami, okuženimi z virusom HPV, v različnih koncentracijah in nato pred testiranjem razredčena s transportnim medijem za primerke. Trideset podvojitve vsake ravne kopije je bilo testiranih z vsako od obeh serij reagentov za skupaj 60 podvojitve. Testiranje se je izvajalo 17 dni, od 1 do 12 postopkov na dan, pri vsakem postopku pa je bilo testiranih 5 podvojitve danega genotipa in koncentracije. Z regresijsko analizo Probit rezultatov pozitivnosti pri vsaki plošči razredčitve je bila izračunana 95-odstotna meja zaznavanja.

Rezultati analize Probit, ki jih prikazuje Preglednica 50, kažejo, da je 95-odstotna meja zaznavanja pri vrstah virusa HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 in 68 znašala manj kot 100 kopij/reakcijo, pri vrstah 52, 58 in 66 pa je 95-odstotna meja zaznavanja znašala med 100 in 500 kopij/reakcijo. Pri štirih testiranih celičnih linijah je 95-odstotna meja zaznavanja znašala manj kot 1 celico/reakcijo.

Preglednica 50: Meja zaznavanja pri klinični mejni vrednosti testa Aptima HPV Assay

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

*Kopije na reakcijo za transkripte in vitro in celice na reakcijo za celične linije

Točnost testa

Točnost testa Aptima HPV assay je bila ovrednotena v dveh študijah, pri katerih je bila uporabljena ista plošča z 20 elementi. Študija 1 je bila izvedena v 3 raziskovalnih centrih, 2 zunanjih in 1 notranjem, študija 2 pa interno. Na plošči je bilo 13 elementov, pozitivnih na virus HPV, s koncentracijami, ki so bile enake ali višje od meje zaznavanja testa (pričakovana pozitivnost: $\geq 95\%$), 3 elementi, pozitivni na virus HPV, s koncentracijami, ki so bile nižje od meje zaznavanja testa (pričakovana pozitivnost: od $> 0\%$ do $< 25\%$), in 4 elementov, ki so bili negativni na virus HPV. Elementi plošče, pozitivni na virus HPV, so bili pripravljene z obogatitvijo raztopine PreservCyt, razredčene s transportnim medijem za primerke (STM), ali gojenih celic, okuženih z virusom HPV (SiHa, HeLa in MS751; ATCC, Manassas, Virginia), s transkripti RNA in vitro (IVT) v združene negativne tekoče citološke primerke ThinPrep, razredčene s STM. Elementi plošče, negativni na virus HPV, so bili pripravljene z raztopino PreservCyt ali združenimi negativnimi tekočimi citološkimi primerki ThinPrep, razredčenimi s STM.

V študiji 1 sta 2 upravljavca v vsakem od 3 raziskovalnih testnih centrov (1 instrument na raziskovalni center) v 3 dneh izvedla 2 delovna seznama testa Aptima HPV assay na dan (1 za vsako serijo reagentov). Na vsakem delovnem seznamu so bile 3 podvojitve vsakega od elementov plošče za ponovljivost. Za vsak element plošče je bilo testiranih sto osem (108) posameznih epruvt z vzorcem (3 raziskovalni centri x 1 instrument x 2 upravljavca x 2 seriji x 3 delovni seznama x 3 podvojitve). V študiji 2 je bilo testiranje opravljeno notranje, v 13 dneh, s skupno 162 testiranimi reakciji za vsak element plošče (1 raziskovalni center x 3 instrumenti x 3 upravljavci x 3 serije x 2 delovna seznama x 3 podvojitve).

Elemente plošče opisujeta Preglednica 51a (elemente plošče s pričakovanimi pozitivnimi rezultati) in Preglednica 51b (elemente plošče s pričakovanimi negativnimi rezultati), skupaj s povzetkom ujemanja s pričakovanimi rezultati in razmerjem S/CO analita na 2,5., 50. in 97,5. percentilu porazdelitve S/CO. Variabilnost razmerja S/CO analita pri elementih plošče s pričakovanimi pozitivnimi rezultati prikazuje Preglednica 52 za študijo 1 in Preglednica 53 za študijo 2.

Preglednica 51a: Študiji točnosti testa Aptima HPV Assay 1 in 2: opis plošče, ujemanje pozitivnih rezultatov in porazdelitev vrednosti razmerja S/CO analita v percentilih za elemente plošče s pričakovanimi pozitivnimi rezultati

Opis plošče (kopije ali celice/reakcija)	Študija 1 (3 raziskovalni testni centri)	Študija 2 (1 raziskovalni testni center)
	% ujemanja pozitivnih rezultatov (95 % IZ)	% ujemanja pozitivnih rezultatov (95 % IZ)
Klinični vzorec 1, visoko pozitiven na virus HPV	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Klinični vzorec 2, visoko pozitiven na virus HPV	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (1830 kopij)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,1, 100)
HPV 18 IVT (1550 kopij)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Klinični vzorec 1, nizko pozitiven na virus HPV	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)
Klinični vzorec 2, nizko pozitiven na virus HPV	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
Klinični vzorec 3, nizko pozitiven na virus HPV	100 (108/108) (96,6, 100)	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)
Klinični vzorec 4, nizko pozitiven na virus HPV	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 16 IVT (183 kopij)	100 (102/102) (96,4, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (155 kopij)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (159/159) (97,6, 100)
Celice MS751 (0,63 celice)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Celice HeLa (0,35 celice)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Celice SiHa (0,90 celice)	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)

IVT = transkript in vitro.

*Pričakovani % ujemanja pozitivnih rezultatov ~95 %; ugotovljen nižji, verjetno zaradi variabilnosti pri proizvodnji elementa plošče.

Preglednica 51b: Študiji točnosti testa Aptima HPV Assay 1 in 2: opis plošče, ujemanje negativnih rezultatov in porazdelitev vrednosti razmerja S/CO analita v percentilih za elemente plošče s pričakovanimi negativnimi rezultati

Opis plošče (kopije ali celice/reakcije)	Študija 1 (3 raziskovalni testni centri)	Študija 2 (1 raziskovalni testni center)
	% ujemanja negativnih rezultatov (95 % IZ)	% ujemanja negativnih rezultatov (95 % IZ)
Celice MS751 (0,005 celice)	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)
Celice SiHa (0,008 celice)	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
Celice HeLa (0,02 celice)	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)
Klinični vzorec 1, negativen na virus HPV	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
Klinični vzorec 2, negativen na virus HPV	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	100 (162/162) (97,7, 100)
Raztopina PreservCyt 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
Raztopina PreservCyt 2	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (161/161) (97,7, 100)

IVT = transkript in vitro.

*Pričakovani % ujemanja negativnih rezultatov > 75 % in < 100 %.

Preglednica 52: Študija točnosti testa Aptima HPV Assay 1: variabilnost signala za elemente plošče s pričakovanimi pozitivnimi rezultati

Opis plošče (kopije ali celice/reakcija)	n	Srednja vred- nost S/CO	Med instrumenti		Med upravljavci		Med serijami		Med delovnimi seznami		Znotraj delovnih seznamov		Skupaj	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Klinični vzorec 1, visoko pozitiven na virus HPV	107*	29,34	0,00	0,0	0,00	0,0	1,43	4,9	1,87	6,4	1,49	5,1	2,79	9,5
Klinični vzorec 2, visoko pozitiven na virus HPV	107*	30,09	0,55	1,8	0,00	0,0	1,06	3,5	0,73	2,4	2,21	7,3	2,61	8,7
HPV 16 IVT (1830 kopij)	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 (1550 kopij)	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
Klinični vzorec 1, visoko pozitiven na virus HPV	107*	8,24	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,23	39,2	3,23	39,2
Klinični vzorec 2, nizko pozitiven na virus HPV	108	7,07	0,00	0,0	0,41	5,8	0,00	0,0	0,00	0,0	4,57	64,7	4,59	65,0
Klinični vzorec 3, nizko pozitiven na virus HPV	108	10,23	0,26	2,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,32	12,9	3,23	31,6	3,49	34,2
Klinični vzorec 4, nizko pozitiven na virus HPV	108	4,68	0,50	10,7	0,20	4,2	0,00	0,0	0,99	21,1	3,02	64,6	3,22	68,9
HPV 16 IVT (183 kopij)	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 kopij)	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
Celice MS751 (0,63 celice)	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
Celice HeLa (0,35 celice)	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
Celice SiHa (0,90 celice)	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

*Pri dvanajstih vzorcih so bili rezultati testa Aptima HPV assay neveljavni (1 pri kliničnem vzorcu 1, visoko pozitivnem na virus HPV, 1 pri kliničnem vzorcu 2, visoko pozitivnem na virus HPV, 1 pri IVT HPV 16 (1830 kopij), 1 pri IVT HPV 18 (1550 kopij), 1 pri kliničnem vzorcu 1, nizko pozitivnem na virus HPV, 6 pri IVT HPV 16 (183 kopij) in 1 pri celicah SiHa (0,90 celic)).
CV = koeficient variacije; IVT = transkript in vitro; SD = standardni odklon.

Opomba: Variabilnost pri določenih dejavnikih je lahko negativno število. Do tega lahko pride, če je variabilnost zaradi teh dejavnikov zelo majhna. V teh primerih sta vrednosti SD in CV prikazani kot nič.

Preglednica 53: Študija točnosti testa Aptima HPV Assay 2: variabilnost signala za elemente plošče s pričakovanimi pozitivnimi rezultati

Opis plošče (kopije ali celice/reakcija)	n	Srednja vred- nost S/CO	Med instrumenti		Med upravljavci		Med serijami		Med delovnimi seznamami		Znotraj delovnih seznamov		Skupaj	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Klinični vzorec 1, visoko pozitiven na virus HPV	161*	26,81	0,75	2,8	0,00	0,0	0,91	3,4	0,48	1,8	1,84	6,9	2,24	8,3
Klinični vzorec 2, visoko pozitiven na virus HPV	162	28,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,96	3,3	0,65	2,3	2,35	8,2	2,62	9,1
HPV 16 IVT (1830 kopij)	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 (1550 kopij)	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
Klinični vzorec 1, visoko pozitiven na virus HPV	162	7,57	0,56	7,5	0,55	7,3	0,63	8,3	0,00	0,0	3,61	47,7	3,75	49,5
Klinični vzorec 2, nizko pozitiven na virus HPV	162	7,59	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	5,25	69,2	5,25	69,2
Klinični vzorec 3, nizko pozitiven na virus HPV	161*	8,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	3,0	0,00	0,0	3,48	39,4	3,49	39,5
Klinični vzorec 4, nizko pozitiven na virus HPV	162	4,95	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	15,2	0,00	0,0	3,35	67,6	3,43	69,3
HPV 16 IVT (183 kopij)	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 kopij)	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
Celice MS751 (0,63 celice)	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
Celice HeLa (0,35 celice)	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
Celice SiHa (0,90 celice)	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

*Pri šestih vzorcih so bili rezultati testa Aptima HPV assay neveljavni (1 za klinični vzorec 1, visoko pozitiven na virus HPV, 1 za IVT HPV 16 (1830 kopij), 1 za HPV klinični vzorec 3, nizko pozitiven na virus HPV, 3 za IVT HPV 18 (155 kopij)).
CV = koeficient variacije; IVT = transkript in vitro; SD = standardni odklon.

Opomba: Variabilnost pri določenih dejavnikih je lahko negativno število. Do tega lahko pride, če je variabilnost zaradi teh dejavnikov zelo majhna. V teh primerih sta vrednosti SD in CV prikazani kot nič.

Navzkrižna reaktivnost

Testiranje s potencialno navzkrižno reaktivnimi organizmi za test Aptima HPV assay je bilo izvedeno s sistemom Tigris DTS. Za rezultate glejte razdelek o sistemu Tigris DTS v poglavju *Navzkrižna reaktivnost* (Preglednica 28).

Motnje

Testiranje s potencialno motečimi snovmi za test Aptima HPV assay je bilo izvedeno s sistemom Tigris DTS. Za rezultate glejte razdelek o sistemu Tigris DTS v poglavju *Motnje* (Preglednica 29).

Literatura

1. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* **189**:12-19.
2. **Li N., 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.
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer.* **64(3)**:211-5.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond).* **110(5)**:525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* **16(1)**:1-17.
6. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **90(12)**:5583-7.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Sunyum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* **325(7364)**: 572-579.
8. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer.* **108(3)**:329-33. Erratum in: *Int J Cancer.* **108(6)**:945.
9. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol.* **73(1)**: 65-70.
10. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol.* **32 Suppl 1**:S16-24.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2010; 20(8):1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology.* 2011; 49(2):557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer.* 2011;129:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology.* 2012;125:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2013;23(3):513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer.* 2013;108:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, 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;51:1456-66.
19. **Heideman DAM, Hesselink AT, van Kemenade FJ, Iftner T, Berkhof J, Topal F, et al.** The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *Journal of Clinical Microbiology.* 2013;51(11):3653-7.
20. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlaberg R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods.* 2015;221:95-9.
21. **Iftner T, Becker S, Neis KJ, Castanon A, Iftner A, Holz B, et al.** Head-to-Head Comparison of the RNA368 Based Aptima Human Papillomavirus (HPV) Assay and the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in a Routine Screening Population of Women Aged 30 to 60 Years in Germany. *Journal of Clinical Microbiology.* 2015;53:2509-16.
22. **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.
23. **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 30years. *Eur J Cancer.* 2015 Jul;51(11):1456-66.
24. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
25. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem.* **35**: 1588-1594.
26. **Nelson, N. C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* **35**:8429-8438.

27. **Clad, A., M. Reuschenbach, J. Weinschenk, R. Grote, J. Rahmsdorf, and N. Freudenberg.** Performance of the Aptima high-risk HPV mRNA assay in a referral population in comparison with Hybrid Capture 2 and cytology. 2010. *J Clin Microbiol*, n/a. doi: 10.1128/JCM.01674-10.
28. **Ratnam S., F. Coutless, D. Fontaine, J. Bentley, N. Escott, P. Ghatage, G. Holloway, E. Bartellas, N. Kum, and A. Lear.** 2008. Clinical Correlations of Aptima HPV E6/E7 mRNA Test in Cervical Cancer Screening: Preliminary Results from a Multicentre Canadian Study. Presented at EUROGIN 2008, November 12-15, 2008, Scientific Communication SS **8-6**.
29. **Szarewski A., L. Ambroisine, L. Cadman, J. Austin, L. Ho, G. Terry, S. Little, R. Dina, J. McCarthy, H. Buckley, C. Bergeron, P. Soutter, D. Lyons, and J. Cuzick.** 2008. Comparison of predictors for High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia in Women with Abnormal Smears. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **17(11)**, November.
30. **Castle P.E., J. Dockter, C. Giachetti, F.A.R. Garcia, M. McCormick, A.L. Mitchell, E.B. Holladay, and D.P. Kolk.** 2007. A Cross-sectional Study of a Prototype Carcinogenic Human Papillomavirus E6/E7 Messenger RNA Assay for Detection of Cervical Pre-cancer and Cancer. *Clin Cancer Res.* **13(9)**. 2599.
31. **Monsonogo J., M.G. Hudgens, L. Zerat, J.C. Zerat, K. Syrjänen, P. Halfon, F. Ruiz, and J.S. Smith.** 2010. Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid based cytology in primary cervical cancer screening (The FASE study). *Int J Cancer*. n/a. doi 10.1002/ijc.25726.
32. **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.
33. **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.
34. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** 2013. Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* **208(2)**:144-145.
35. **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.
36. **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.
37. **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.



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

Podpora kupcem: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Tehnična podpora: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

EC|REP
Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Za več kontaktnih informacij obiščite spletno mesto
www.hologic.com.

Ta pripomoček je namenjen uporabi le na področju humane diagnostike *in vitro*.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep in Tigris so blagovne znamke in/ali registrirane blagovne znamke družbe Hologic, Inc. in/ali njenih hčerinskih družb v Združenih državah Amerike in/ali drugih državah.

eppendorf (stilizirano) in REPEATER sta blagovni znamki družbe Eppendorf AG.

RAININ je blagovna znamka družbe Rainin Instruments, LLC.

TECAN in FREEDOM EVO sta blagovni znamki družbe Tecan Group AG.

SUREPATH in PREPSTAIN sta blagovni znamki družbe TriPath Imaging, Inc.

Kakršne koli druge blagovne znamke, ki bi se lahko pojavile v teh navodilih za uporabo, pripadajo svojim zadevnim lastnikom.

Za ta izdelek lahko velja en ali več patentov ZDA, ki so navedeni na www.hologic.com/patents.

© 2007–2019 Hologic, Inc. Vse pravice pridržane.
AW-14517-3301 Rev. 007 (SL)

2019-07