

Aptima HPV Assay

За *in vitro* диагностична употреба.

Само за експорт на САЩ.

Основна информация	2
Предназначение	2
Резюме и обяснение на теста	2
Принципи на процедурата	3
Предупреждения и предпазни мерки	4
Изисквания за съхраняване и боравене с реагентите	6
Вземане и съхранение на проби	7
Процедури за контрол на качеството	21
Интерпретиране на теста	23
Ограничения	24
Очаквани резултати за система Tigris DTS: преобладаване на високорискова мРНК на HPV	26
Дизайн на клинично проучване на Aptima HPV assay с проби с течна цитология ThinPrep	27
Представяне на анализа на системата Tigris DTS	29
Очаквани резултати за система Panther: преобладаване на високорискова мРНК на HPV	58
Дизайн на клинично проучване на Aptima HPV assay с проби с течна цитология ThinPrep	59
Функциониране на анализа на система Panther	61
Библиография	87

Система Tigris™ DTS

Система Tigris DTS	9
Предоставени реагенти и материали	9
Материали, необходими, но предлагани отделно	10
Незадължителни материали	11
Процедура за тестване на система Tigris DTS	11
Процедурни бележки	14

Система Panther™

Система Panther	15
Предоставени реагенти и материали	15
Материали, необходими, но предлагани отделно	16
Незадължителни материали	16
Процедура за тестване на система Panther	17
Процедурни бележки	19

Основна информация

Предназначение

Aptima HPV assay представлява тест сонда с нуклеинова киселина с целева амплификация за *in vitro* качествено откриване на Е6/Е7 вирусен РНК посредник (мРНК) от 14 високорискови типове човешки папилома вирус (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Aptima HPV assay не прави дискриминация между 14-те високорискови типа.

- Aptima HPV assay е показан за употреба при скриниране на пациенти с ASC-US (atypical squamous cells of undetermined significance, атипични клетки на плосък епител с неясно значение) Pap тест резултати, за да определи необходимостта за направление за колпоскопия. Резултатите от този тест не са предназначени да пречат на жените да продължат с колпоскопия.
- Анализът Aptima HPV може да се използва с цервикална цитология за допълнително скриниране (съвместно тестване) за оценка на наличието или липсата на високорискови типове HPV. Тази информация, заедно с оценката на лекаря на цитологичната анамнеза, други рискови фактори и професионални указания, може да се използва за направляване на лечението на пациента.
- Aptima HPV assay може да се използва като главен скринингов тест от първа линия, със или без цервикална цитология, за откриване на жени в повишен риск за развитие на рак на шийката на матката или наличието на болест от висок клас. Тази информация, заедно с оценката на лекаря на скрининговата анамнеза на пациента, други рискови фактори и професионални указания, може да се използва за направляване на лечението на пациента.

Цервикалните проби, взети във флакони за Pap тест ThinPrep™, съдържащи PreservCyt™ Solution, може да се тестват с Aptima HPV assay с обработка или преди, или след Pap, както и цервикалните проби, взети с Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit. Анализът може да бъде използван за тестване на тези типове проби или със системата Tigris DTS, или със системата Panther. Цервикалните проби, взети в SurePath Preservative Fluid, могат да бъдат тествани с Aptima HPV assay на системата Tigris DTS и системата Panther.

Резюме и обяснение на теста

Ракът на шийката на матката е едно от най-често срещаните ракови заболявания при жените в света. HPV е етиологичният агент, отговорен за повече от 99% на всички цервикални ракови заболявания.^{1, 2, 3} HPV е често срещан полово предаван ДНК вирус, съставен от повече от 100 генотипа.⁴

HPV вирусният геном е двойно спирална кръгова ДНК, приблизително със 7900 базови двойки на дължина. Геномът има осем припокриващи се открити рамки за отчитане. Има шест ранни (early, E) гена, два късни (late, L) гена и един нетранслиран дълъг регион за контрол. Гените L1 и L2 кодират главните и второстепенните капсидни протеини. Ранните гени регулират HPV вирусна репликация. Гените Е6 и Е7 от високорискови HPV генотипове са известни онкогени. Протеините, експресирани от Е6/Е7 полицистронна мРНК изменят клетъчния р53 и функциите на протеин на ретинобластома, водещи до разрушаването на контролните точки на клетъчния цикъл и нестабилност на клетъчния геном.^{5, 6}

Четиринадесет HPV генотипа се считат за патогенни или високорискови за заболяване на шийката.⁷ Множество проучвания са свързали генотиповете 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45,

51, 52, 56, 58, 59, 66 и 68 с прогресия на заболяването.^{2, 5, 8} Пациентите с персистираща инфекция с един от тези типове са изложени на повишен риск от развиване на тежка дисплазия или цервикален карцином.^{7, 9}

Инфекциите с HPV са много често срещани и при повечето жени инфекциите с HPV се изчистват в рамките на 6 до 12 месеца.^{8, 10} Наличието на HPV нуклеинова киселина не означава, че има наличие на цервикална дисплазия или цервикален рак. Все пак, ефективен подход за откриване на цервикално заболяване е да се таргетират тези онкогенни елементи на HPV, които подхранват персистираща вирусна инфекция и клетъчна трансформация.³

Клинично представяне на Aptima HPV assay при първичен скрининг за рак на шийката на матката

Клиничното представяне на Aptima HPV assay, когато се използва в модалност за първичен скрининг, е било изследвано в множество проучвания от независими изследователи. В тринадесет публикации с колегиални рецензии^{11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23} от десет отделни клинични проучвания се докладва представянето на Aptima HPV при първичен скрининг при жени, включени в девет държави (Китай, Канада, Франция, Мексико, Англия, Дания, Нидерландия, Съединените щати и Германия). Данните от тези проучвания показват, че Aptima HPV има сходно клинично представяне в сравнение с други клинично валидирани HPV тестове, когато се използват за първичен скрининг за предраково и раково заболяване на шийката на матката.

Принципи на процедурата

Aptima HPV assay включва три основни стъпки, които се осъществяват в една епруветка: целево прихващане, целева амплификация чрез амплификация, медирана от транскрипцията (Transcription-Mediated Amplification, TMA),²⁴ и детекция на продуктите на амплификацията (ампликон) чрез анализ за защита на хибридизацията (Hybridization Protection Assay, HPA).²⁵ Анализът съдържа вътрешна контрола (IC) за мониториране на улавянето, амплификацията и детекцията на нуклеиновата киселина, както и на грешка на оператора или на апарата.

Пробите се вземат вътре или се прехвърлят в епруветка, съдържаща транспортна среда за проби (STM), която лизира клетките, освобождава мРНК и я защитава от разграждане по време на съхранението. Когато се извършва Aptima HPV assay, целевата мРНК се изолира от пробата чрез използване на олигомери за захващане, които се свързват с магнитни микрочастици. Олигомерите за захващане съдържат секвенции, допълващи специфични региони на целеви молекули от мРНК на HPV, както и низ от остатъци на дезоксиаденозин. По време на стъпката за хибридизация специфичните за секвенцията региони на олигомерите за захващане се свързват със специфичните региони на целева молекула мРНК на HPV. Комплексът олигомер за захващане: цел след това се захваща извън разтвора чрез намаляване на температурата на реакцията до стайна температура. Това намаление на температурата позволява хибридизацията да се осъществява между региона на дезоксиаденозина върху олигомера за захващане и молекулите на поли-дезокситимидин, които са ковалентно прикрепени към магнитните частици. Микрочастиците, включително захванатите целеви молекули мРНК на HPV, свързани към тях, се изтеглят към страната на епруветката за реакция с помощта на магнити и супернатентът се аспирира. Частиците се измиват, за да се отстрани остатъчната матрица на пробата, която може да съдържа инхибитори на амплификацията.

След като завърши целевото захващане, мРНК на HPV се амплифицира чрез ТМА, който представлява базиран на транскрипцията метод за амплификация на нуклеиновата киселина, който използва два ензима – обратна транскриптаза на MMLV и полимераза на РНК Т7. Обратната транскриптаза се използва за генериране на копие на ДНК на целевата секвенция на мРНК, съдържаща промоторна последователност за полимераза на РНК Т7. Полимераза на РНК Т7 генерира множество копия на ампликона на РНК от шаблона на копието на ДНК.

Детекцията на ампликона се постига от НРА чрез едноверижни сонди на нуклеинова киселина с хемилуминесцентни етикети, които допълват ампликона. Етикетираните сонди на нуклеинова киселина хибридизират специфично спрямо ампликона. Selection Reagent диференцира между хибридизираните и нехибридизираните сонди чрез инактивиране на етикета по нехибридизираните сонди. По време на стъпката за детекция светлината, излъчена от етикетираните хибриди РНК:ДНК, се измерва като фотонни сигнали, наречени относителни светлинни единици (RLU) в луминометър. Окончателните резултати от анализа се интерпретират на базата на сигнал към пределна граница (signal-to-cutoff, S/CO) на анализа.

IC се добавя към всяка реакция посредством Target Capture Reagent. IC мониторира стъпките за захващане, амплификация и детекция на мишената на анализа. Сигналят от IC във всяка реакция се дискриминира от сигнала на HPV чрез диференциалната кинетика на светлинната емисия от сондите с различни етикети.²⁶ Специфичният за IC ампликон се открива с помощта на сонда с бърза емисия на светлина (източник на мигащо осветление). Ампликонът, специфичен за HPV, се открива с помощта на сонди с относително по-бавна кинетика на светлинната емисия (източник на тлеещо осветление). Двойният кинетичен анализ (Dual Kinetic Assay, DKA) е метод, използван за диференциране между сигналите от етикетите на източника на мигащо осветление и източника на тлеещо осветление.²⁶

Предупреждения и предпазни мерки

- A. За *in vitro* диагностична употреба.
- B. За професионална употреба.
- C. За допълнителни специфични предупреждения и предпазни мерки вижте Ръководствата за оператора на система Tigris DTS и система Panther.

Свързани с лабораторията

- D. Използвайте само доставените или посочените лабораторни стъклари за еднократна употреба.
- E. Използвайте рутинни лабораторни предпазни мерки. Не яжте, не пийте и не пушете в обозначените работни зони. Носете ръкавици за еднократна употреба без пудра, предпазни средства за очите и лабораторни престилки, когато боравите с проби и реагенти в комплекти. Мийте ръцете си щателно след боравене с проби и реагенти в комплекти.
- F. **Предупреждение: дразнещ и корозивен:** избягвайте контакт на Auto Detect 2 с кожата, очите и мембраните на лигавиците. Ако тази течност влезе в контакт с кожата или очите, измийте засегнатата област с вода. Ако тази течност се разлее, разрежете разлива с вода, преди да избършете до сухо.

- G. Работните повърхности, пипети и друго оборудване трябва редовно да се обеззаразява с 2,5% до 3,5% (0,35 М до 0,5 М) разтвор на натриев хипохлорит. Вижте *Процедура за тестване на система Tigris DTS* или *Процедура за тестване на система Panther DTS* за повече информация.

Свързани с пробите



- H. Поддържайте правилни температурни условия по време на транспортиране и съхранение на пробите, за да обезпечите целостта на пробата. Стабилността на пробата не е оценявана при условия за транспортиране и съхранение, различни от препоръчаните.
- I. Датите за изтичане на срока на годност, посочени на комплектите за вземане/ прехвърляне на проби и епруветките, принадлежат към мястото за вземане/ прехвърляне, а не на здравното заведение за тестване. Пробите, взети/ прехвърлени по всяко време преди тези дати за изтичане на срока на годност, са валидни за тестване, при условие че са били транспортирани и съхранявани в съответствие с подходящата листовка, дори когато тези дати за изтичане на срока на годност са отминали.
- J. Пробите могат да бъдат заразни. Използвайте универсалните предпазни мерки при извършване на този анализ. Методите за правилно боравене и унищожаване трябва да бъдат установени от директора на лабораторията. Извършването на тази процедура трябва да се разреши само на персонал, подходящо обучен в боравенето с инфекциозни материали.
- K. Избягвайте кръстосано замърсяване по време на стъпките за боравене с пробите. Уверете се, че контейнерите за проби не контактуват един с друг и изхвърляйте използваните материали, без да прехвърляте върху отворени контейнери. Сменете ръкавиците, ако влязат в контакт с пробата.
- L. При пробождане от капачките на епруветките може да излезе течност при определени условия. Вижте *Процедура за тестване на система Tigris DTS* или *Процедура за тестване на система Panther DTS* за повече информация.
- M. Пробите за течна цитология ThinPrep и вземане и транспорт на цервикални проби (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) трябва да бъдат отхвърлени, ако в епруветката за пробата е останало устройство за вземане.
- N. Пробите за течна цитология SurePath трябва да бъдат отхвърлени, ако във флакона няма налично устройство за вземане.

Свързано с анализа

- O. Съхранявайте реагентите при посочените температури. Извършването на анализа може да бъде засегнато от използването на неправилно съхранявани реагенти.
- P. Избягвайте микробно и рибонуклеазно замърсяване на реагентите.
- Q. Не използвайте комплекта след изтичане на срока му на годност.
- R. Не правете взаимна замяна, смесване или комбиниране на реагенти за анализ или калибратори от комплекти с различни партидни номера.

- S. Aptima Assay Fluids, Aptima Auto Detect Reagents, Aptima System Fluid Preservative (само за система Tigris DTS) и контролите на Aptima HPV assay (само за система Tigris DTS) не са част от Master Lot; всяка партида може да се използва.
- T. Необходимо е щателно смесване на реагентите за анализ, за да се постигнат точни резултати от анализа.
- U. Трябва да се използват накрайници с хидрофобни запушалки.
- V. Някои реагенти от този комплект са обозначени със символи за риск и безопасност.

Забележка: В Информацията за опасностите са отразени класификациите на Информационните листове за безопасност (ИЛБ) на ЕС. За информация за опасностите, специфични за Вашия регион, вижте специфичния за региона ИЛБ в библиотеката за Информационни листове за безопасност на www.hologiccsds.com.

Информация за опасностите на ЕС	
	<p>Selection Reagent БОРНА КИСЕЛИНА 1 – 5% Натриев хидроксид < 1% ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ H315 – Причинява дразнене на кожата H319 – Причинява сериозно дразнене на очите</p>
	<p>Target Capture Reagent EDTA 1 – 5% H411 – Токсично за водните организми с дълготрайни въздействия P273 – Избягвайте изпускане в околната среда P280 – Носете защита на очите/ защита на лицето</p>

Изисквания за съхраняване и боравене с реагентите

Не използвайте реагенти след датата на изтичане на срока на годност, посочен на флаконите. Вижте по-долу за допълнителни инструкции за съхранение.

- A. Следните реагенти се съхраняват при 2°C до 8°C (в хладилник) при заявка:
- HPV Amplification Reagent
 - HPV Enzyme Reagent
 - HPV Probe Reagent
 - HPV Internal Control Reagent
 - HPV Positive Calibrators and Negative Calibrators
 - HPV Positive Controls and Negative Controls (само за система Tigris DTS)
- B. Следните реагенти се съхраняват при 15°C до 30°C (стайна температура):
- HPV Amplification Reconstitution Solution
 - HPV Enzyme Reconstitution Solution
 - HPV Probe Reconstitution Solution
 - HPV Target Capture Reagent
 - HPV Selection Reagent
 - Wash Solution
 - Oil Reagent

- Buffer for Deactivation Fluid
 - Auto Detect Reagent 1
 - Auto Detect Reagent 2
 - Aptima System Fluid Preservative (само за система Tigris DTS)
- C. След приготвяне следните реагенти са стабилни за 30 дни при съхраняване от 2°C до 8°C:
- HPV Amplification Reagent
 - HPV Enzyme Reagent
 - HPV Probe Reagent
- D. Working Target Capture Reagent (wTCR) е стабилен за 30 дни, когато е съхраняван при 15°C до 30°C. Не поставяйте в хладилник.
- E. Изхвърлете всички неизползвани приготвени реагенти и wTCR след 30 дни или след датата на срока на годност на Master Lot, което от двете настъпи първо.
- F. Реагентите на Aptima HPV assay са стабилни за кумулативно 48 часа, когато са съхранявани в апарата на система Tigris DTS.
- G. Реагентите на Aptima HPV assay са стабилни за кумулативно 72 часа, когато са съхранявани в апарата на система Panther.
- H. Probe Reagent и Reconstituted Probe Reagent са фоточувствителни. Съхранявайте реагентите защитени от светлина.
- I. Не замразявайте реагентите.

Вземане и съхранение на проби

- A. Вземане и обработване на проби

Проби с течна цитология ThinPrep

1. Вземайте цервикални проби във флакони за Pap тест ThinPrep, съдържащи PreservCyt Solution с устройства за вземане тип „метличка“ или циточетка/шпатула съгласно инструкциите на производителя.
2. Преди или след обработването с ThinPrep 2000 System, ThinPrep 3000 System, ThinPrep 5000 Processor, ThinPrep 5000 Processor with Autoloader или ThinPrep Genesis Processor, прехвърлете 1 mL от пробата с течна цитология ThinPrep в епруветка Aptima Specimen Transfer съгласно инструкциите в листовката на Aptima Specimen Transfer Kit.

Проби с течна цитология SurePath

1. Вземете проба с течна цитология SurePath според Pap тест SurePath и/или инструкциите за употреба на система PrepStain.
2. Прехвърлете пробата с течна цитология SurePath в епруветка Aptima Specimen Transfer съгласно инструкциите в листовката на Aptima Specimen Transfer Kit.

Проби за комплект за вземане и транспортиране на цервикални проби Aptima

- Вземете пробата съгласно инструкциите за употреба на Aptima CSCT Kit.

В. Транспортиране и съхранение преди тестване

Проби с течна цитология ThinPrep

1. Транспортирайте пробите с течна цитология ThinPrep при 2°C до 30°C.
2. Пробите трябва да бъдат прехвърлени в епруветка Aptima Specimen Transfer в рамките на 105 дни от вземането.
3. Преди прехвърлянето пробите с течна цитология ThinPrep трябва да се съхраняват при 2°C до 30°C, при не повече от 30 дни при температура над 8°C.
4. Пробите с течна цитология ThinPrep, прехвърлени в епруветка Aptima Specimen Transfer, може да се съхраняват при 2°C до 30°C за до 60 дни.
5. Ако е необходимо по-дълго съхранение, пробата с течна цитология ThinPrep или пробата с течна цитология ThinPrep, разреждана в епруветката Specimen Transfer, може да се съхранява при -20°C или по-ниска температура за до 24 месеца.

Проби с течна цитология SurePath

1. Транспортирайте пробите с течна цитология SurePath при 2°C до 25°C.
2. Пробите трябва да бъдат прехвърлени в епруветка Aptima Specimen Transfer в рамките на 7 дни от вземането.
3. Преди прехвърлянето пробите с течна цитология SurePath трябва да се съхраняват при 2°C до 25°C.
4. Пробите с течна цитология SurePath, прехвърлени в епруветка Aptima Specimen Transfer, може да се съхраняват при 2°C до 25°C за до 7 дни.

Проби за комплект за вземане и транспортиране на цервикални проби Aptima

1. Транспортирайте и съхранявайте пробите при 2°C до 30°C за до 60 дни.
2. Ако е необходимо по-дълго съхранение, пробите на транспортния комплект могат да бъдат съхранявани при -20°C или по-ниска температура за до 24 месеца.

С. Третиране на проби с течна цитология SurePath

Забележка: Пробите с течна цитология SurePath трябва да бъдат третирани с Aptima Transfer Solution преди тестване с Aptima HPV assay.

1. Aptima Transfer Solution

Третираните проби могат да бъдат съхранявани при 2°C до 8°C за до 17 дни преди тестването с Aptima HPV assay. Вижте листовката в комплекта Aptima Specimen Transfer за допълнителни подробности.

D. Съхранение на пробите след тестване

1. Пробите, които са били анализирани, трябва да бъдат съхранявани изправени в статив.
2. Епруветките за проби трябва да бъдат покрити с нова, чиста предпазна бариера от пластмаса или фолио.
3. Ако анализираниите проби трябва да бъдат замразени или транспортирани, свалете достъпната за проникване капачка и поставете нови капачки, които са недостъпни за проникване, на епруветките за проби. Ако пробите трябва да бъдат транспортирани за тестване в друго здравно заведение, трябва да се поддържат посочените температури. Преди отваряне на запушалките на предварителни тествани и повторно затворени проби, епруветките за проби трябва да бъдат центрофугирани за 5 минути при 420 относителна центробежна сила (Relative Centrifugal Force, RCF), за да се изведе цялата течност надолу до дъното на епруветката.

Забележка: Пробите трябва да бъдат изпращани в съответствие с приложимите национални и международни регламенти за транспортиране.

Система Tigris DTS

Реагентите за Aptima HPV assay са изброени по-долу за системата Tigris DTS. Символите за идентификация на реагентите също са изброени до името на реагента.

Предоставени реагенти и материали

Aptima HPV Assay Kit, 250 теста, кат. № 302611 (4 кутии)

Калибраторите и контролите могат да бъдат закупени отделно. Вижте по-долу каталожните номера на индивидуалните кутии.

Aptima HPV Refrigerated Box
(Съхранявайте при 2°C до 8°C при получаване)

Символ	Компонент	Количество
A	HPV Amplification Reagent <i>Незаразни нуклеинови киселини, изсушени в буферирани разтвори, съдържащи < 5% обемобразуващ агент.</i>	1 флакон
E	HPV Enzyme Reagent <i>Обратна транскриптаза и РНК полимеразата, изсушени в буферирани разтвори HEPES, съдържащи < 10% обемобразуващ реагент.</i>	1 флакон
P	HPV Probe Reagent <i>Незаразни хемилуминесцентни ДНК сонди (< 500 ng/флакон), изсушени в буферирани разтвори на сукцинат, съдържащи < 5% детергент.</i>	1 флакон
IC	HPV Internal Control Reagent <i>Незаразен РНК транскрипт в буферирани разтвори, съдържащи < 5% детергент.</i>	1 флакон

Aptima HPV Room Temperature Box
(Съхранявайте при 15°C до 30°C при получаване)

Символ	Компонент	Количество
AR	HPV Amplification Reconstitution Solution <i>Воден разтвор, съдържащ консерванти.</i>	1 флакон
ER	HPV Enzyme Reconstitution Solution <i>Буферирани разтвори HEPES, съдържащи повърхностно активно вещество (ПАВ) и глицерол.</i>	1 флакон
PR	HPV Probe Reconstitution Solution <i>Буферирани разтвори на сукцинат, съдържащи < 5% детергент.</i>	1 флакон
S	HPV Selection Reagent <i>600 mM буферирани разтвори на борат, съдържащи ПАВ.</i>	1 флакон
TCR	HPV Target Capture Reagent <i>Незаразна нуклеинова киселина в буферирани разтвори, съдържащи твърда фаза (< 0,5 mg/mL).</i>	1 флакон
	Reconstitution Collars	3
	Master Lot Barcode Sheet	1 лист

Aptima HPV Calibrators Box (кат. № 302554)
(Съхранявайте при 2°C до 8°C при получаване)

Символ	Компонент	Количество
PCAL	HPV Positive Calibrator <i>Незаразен HPV 16 in vitro транскрипт при 1000 копия на mL в буфериран разтвор, съдържащ < 5% детергент.</i>	5 флакона
NCAL	HPV Negative Calibrator <i>Буфериран разтвор, съдържащ < 5% детергент.</i>	5 флакона

Aptima HPV Controls Box (кат. № 302556)
(Съхранявайте при 2°C до 8°C при получаване)

Символ	Компонент	Количество
PC	HPV Positive Control <i>Лизирани, инактивирани HPV Negative и HPV Positive култивирани клетки при 25 клетки на mL в буфериран разтвор, съдържащ < 5% детергент.</i>	5 флакона
NC	HPV Negative Control <i>Лизирани, инактивирани HPV Negative култивирани клетки в буфериран разтвор, съдържащ < 5% детергент.</i>	5 флакона

Материали, необходими, но предлагани отделно

Забележка: Материалите, предлагани от Hologic, имат изброените каталожни номера, освен ако няма друго посочено.

	Кат. №
Tigris DTS System	105118
Aptima Assay Fluids Kit <i>(Aptima Wash Solution, Aptima Buffer for Deactivation Fluid, и Aptima Oil Reagent)</i>	302382
Aptima Auto Detect Kit	301048
Aptima System Fluid Preservative Kit	302380
Накрайници, провеждащи по 1000 µl, засичащи течност	10612513 (Tecan)
Tigris DTS System Run Kit	301191
<i>Multi-tube Units (MTU)</i>	104772-02
<i>MTU-Tiplet Waste Bag</i>	900907
<i>MTU Waste Deflectors</i>	900931
<i>MTU Waste Covers</i>	105523
Aptima Specimen Transfer Kit	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit – може да се отпечата	PRD-05110
Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit	302657
Aptima Penetrable Caps	105668
Резервни капачки, които са недостъпни за проникване	103036A
Spare Caps for Amplification и разтвори за приготвяне на Probe Reagent	CL0041
Spare Caps за разтвор за приготвяне Enzyme Reagent	501616
Spare Caps for TCR and Selection Reagent	CL0040
Белина, минимум 5% или 0,7 M разтвор на натриев хипохлорит	—

Вода за система Tigris DTS	—
<i>Направете справка в Ръководството на оператора за система Tigris DTS за спецификациите</i>	
Ръкавици за еднократна употреба	—
Aptima Transfer Solution Kit (само за проби SurePath)	303658

Незадължителни материали

	<u>Кат. №</u>
Bleach Enhancer for Cleaning	302101

Процедура за тестване на система Tigris DTS

Забележка: Вижте Ръководството на оператора за система Tigris DTS за допълнителна процедурна информация за система Tigris DTS.

A. Подготовка на работната зона

Почистете работните повърхности, където ще се приготвят реагенти и проби. Избършете работните повърхности с разтвор на натриев хипохлорит 2,5% до 3,5% (0,35 M до 0,5 M). Оставете разтвора на натриев хипохлорит да контактува с повърхностите за най-малко 1 минута и след това последвайте с изплакване с вода. Не оставяйте разтвора на натриев хипохлорит да изсъхне. Покрийте повърхността на работната маса, на която ще се приготвят реагентите и пробите, с чисти покривки за лабораторна маса, които са абсорбенти с пластмасова подложка.

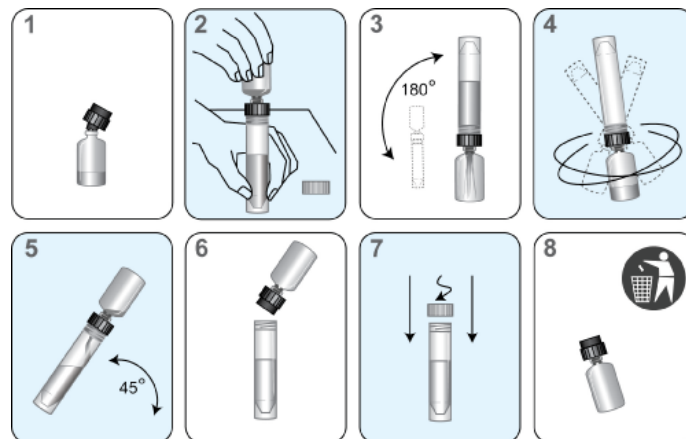
B. Подготовка на реагент на нов комплект

Забележка: Reagent Reconstitution трябва да се извърши преди започване на каквато и да било работа по системата Tigris DTS.

1. За приготвяне на Amplification, Enzyme и Probe Reagents комбинирайте бутилките от лиофилизиран реагент с разтвора за приготвяне. Ако са в хладилник, оставете разтворите за приготвяне да достигнат стайна температура преди употреба.
 - a. Подредете по двойки всеки разтвор за приготвяне с неговия лиофилизиран реагент. Уверете се, че разтворът за приготвяне и лиофилизираният реагент имат съвпадащи цветове на етикета, преди да прикрепите фланеца за приготвяне.
 - b. Проверете партидните номера на Master Lot Barcode Sheet, за да се уверите, че са подредени по двойки подходящите реагенти.
 - c. Отворете флакона с лиофилизиран реагент и здраво вкарайте края с нарезите на фланеца за приготвяне в отвора на флакона (Фигура 1, Стъпка 1).
 - d. Отворете съответстващия разтвор за приготвяне и поставете капачката на чиста, покрита работна повърхност.
 - e. Докато държите бутилката с разтвора върху работната маса, здраво вкарайте другия край на фланеца за приготвяне в отвора на бутилката (Фигура 1, Стъпка 2).
 - f. Бавно обърнете сглобените бутилки. Оставете разтвора да се източи от бутилката в стъкления флакон (Фигура 1, Стъпка 3).
 - g. Внимателно разклатете разтвора в бутилката, за да се смеси щателно. Избягвайте създаването на пяна при разклащането на бутилката (Фигура 1, Стъпка 4).

- h. Изчакайте лиофилизираният реагент да навлезе в разтвора, след това обърнете сглобените бутилки отново, като се накланя под ъгъл от 45°, за да сведете до минимум разпенването (Фигура 1, Стъпка 5). Оставете цялата течност да се източи обратно в пластмасовата бутилка.
- i. Свалете фланеца за приготвяне и стъкления флакон (Фигура 1, Стъпка 6).
- j. Затворете отново с капачката пластмасовата бутилка. Запишете инициалите на оператора и датата на приготвяне върху всички флакони с приготвен реагент (Фигура 1, Стъпка 7).
- k. Изхвърлете фланеца за приготвяне и стъкления флакон (Фигура 1, Стъпка 8).

Предупреждение: Избягвайте образуване на пяна при приготвяне на реагентите. Пяната компрометира регистрирането на нивото в системата Tigris DTS.



Фигура 1. Процес за приготвяне на система Tigris DTS

2. Пригответе работния Target Capture Reagent (wTCR):
 - a. Подредете по двойки подходящите бутилки с TCR и IC.
 - b. Проверете партидните номера на реагентите на Master Lot Barcode Sheet, за да се уверите, че подходящите реагенти в комплекта са подредени по двойки.
 - c. Отворете бутилката на TCR и поставете капачката на чиста, покрита работна повърхност.
 - d. Отворете бутилката на IC и излейте цялото съдържание в бутилката на TCR. Очаквайте малко количество от течността да остане в бутилката на IC.
 - e. Затворете с капачката бутилката на TCR и внимателно разклатете разтвора, за да смесите съдържанието. Избягвайте образуването на пяна при тази стъпка.
 - f. Запишете инициалите на оператора и текущата дата на етикета.
 - g. Изхвърлете бутилката с IC и капачката.
 - h. Може да се образува преципитат в wTCR, който може да доведе до невалидни резултати поради грешки в потвърждение на обема. Преципитатът може да се разтвори чрез затопляне на wTCR при 42°C до 60°C за до 90 минути. Оставете wTCR да се изравни до стайна температура преди употреба. Не използвайте, ако преципитатът продължава да съществува.
3. Подготвяне на Selection Reagent
 - a. Проверете партидния номер на реагента на Master Lot Barcode Sheet, за да се уверите, че той принадлежи към комплекта.

- b. Ако Selection Reagent съдържа преципитат, затоплете Selection Reagent при $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ за до 45 минути, за да улесните разтварянето на преципитата. Внимателно смесвайте бутилката на всеки 5 до 10 минути. Оставете Selection Reagent да се изравни до стайна температура преди употреба. Не използвайте, ако преципитатът или мътността продължават да съществуват.

Забележка: Щателно смесете чрез внимателно обръщане на всички реагенти преди зареждане на системата. Избягвайте образуването на пяна при обръщането на реагентите.

C. Подготовка на реагенти за предварително разтворени реагенти

1. Предварително разтворените Amplification, Enzyme и Probe Reagents трябва да достигнат стайна температура (15°C до 30°C) преди старта на анализа.
2. Ако приготвеният Probe Reagent съдържа преципитат, който не се връща към разтвора на стайна температура, нагрейте при температура, която не надвишава 60°C за 1 до 2 минути. Не използвайте при наличието на преципитат или мътност.
3. Ако wTCR съдържа преципитат, затоплете wTCR при 42°C до 60°C за до 90 минути. Оставете wTCR да се изравни до стайна температура преди употреба. Не използвайте, ако преципитатът продължава да съществува.
4. Ако Selection Reagent съдържа преципитат, затоплете Selection Reagent при $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ за до 45 минути, за да улесните разтварянето на преципитата. Внимателно смесвайте бутилката на всеки 5 до 10 минути. Оставете Selection Reagent да се изравни до стайна температура преди употреба. Не използвайте, ако преципитатът или мътността продължават да съществуват.
5. Щателно смесете всеки реагент чрез внимателно обръщане преди зареждане на системата. Избягвайте образуването на пяна при обръщането на реагентите.
6. Не пълнете догоре бутилките с реагент. Системата Tigris DTS ще разпознае и отхвърли бутилките, които са напълнени догоре.

D. Боравене с пробите

1. Оставете пробите (калибратори, контроли и проби) да достигнат стайна температура преди обработването.
2. **Не пускайте пробите във вихров миксер.**
3. Пробите с течна цитология SurePath трябва да се третират с протеиназа К преди тестване с Aptima HPV assay съгласно инструкциите в *Вземане и съхранение на проби* Раздел C.
4. Проверете епруветките за проби преди зареждането в статива. Ако дадена епруветка за проби съдържа мехурчета или има по-малък обем от типично наблюдавания, центрофугирайте епруветката за 5 минути при 420 RCF, за да се уверите, че няма течност в капачката.

Забележка: Неспазването на стъпка 4 може да доведе до изпускане на течност от капачката на епруветката за проби.

E. Подготовка на системата

Настройте апарата и работния списък съгласно инструкциите в *Ръководство на оператора за система Tigris DTS* и раздела *Процедурни бележки по-долу*.

Процедурни бележки

A. Калибратори

1. Всеки работен списък трябва да съдържа 3 репликата на Negative Calibrator и Positive Calibrator. За да работи правилно със софтуера на Aptima HPV assay, Negative Calibrator трябва да бъде в позицията на първата епруветка на първия статив на работния списък, а Positive Calibrator трябва да бъде във втората позиция за епруветка на първия статив на работния списък.
2. Опитите да се пипетират повече от три репликата от епруветка за калибратор може да доведат до грешки с недостатъчен обем.

B. Контроли

1. Софтуерът на Aptima HPV assay изисква начало и край на контроли на цикъла. Negative Control трябва да бъде в третата позиция за епруветка на първия статив и предпоследната позиция на епруветка на последния статив на работния списък. Positive Control трябва да бъде в четвъртата позиция за епруветка на първия статив и последната позиция на епруветка на последния статив на работния списък.
2. Опитите да се пипетира повече от веднъж от епруветка с контрола може да доведат до грешки с недостатъчен обем.

C. Температура

Стайната температура се дефинира като 15°C до 30°C.

D. Glove Powder

Както при всяка система с реагенти, прекомерният талк по някои ръкавици може да причини замърсяване на отворените епруветки. Препоръчват се ръкавици без талк.

Система Panther

Реагентите за Aptima HPV assay са изброени по-долу за системата Panther. Символите за идентификация на реагентите също са изброени до името на реагента.

Предоставени реагенти и материали

Aptima HPV assay, 250 теста, кат. № 303093 (3 кутии)

Aptima HPV assay, 100 теста, кат. № 302929 (3 кутии)

Калибраторите могат да бъдат закупени отделно. Вижте по-долу индивидуалните каталожни номера.

Aptima HPV Refrigerated Box (Съхранявайте при 2°C до 8°C при получаване)

Символ	Компонент	Количество
A	HPV Amplification Reagent <i>Незаразни нуклеинови киселини, изсушени в буфериран разтвор, съдържащ < 5% обемообразуващ агент.</i>	1 флакон
E	HPV Enzyme Reagent <i>Обратна транскриптаза и РНК полимераза, изсушени в буфериран разтвор HEPES, съдържащ < 10% обемообразуващ реагент.</i>	1 флакон
P	HPV Probe Reagent <i>Незаразни хемилуминесцентни ДНК сонди (< 500 ng/флакон), изсушени в буфериран разтвор на сукцинат, съдържащ < 5% детергент.</i>	1 флакон
IC	HPV Internal Control Reagent <i>Незаразен РНК транскрипт в буфериран разтвор, съдържащ < 5% детергент.</i>	1 флакон

Aptima HPV Room Temperature Box (съхранявайте при стайна температура, от 15°C до 30°C при получаване)

Символ	Компонент	Количество
AR	HPV Amplification Reconstitution Solution <i>Воден разтвор, съдържащ консерванти.</i>	1
ER	HPV Enzyme Reconstitution Solution <i>Буфериран разтвор HEPES, съдържащ повърхностно активно вещество (ПАВ) и глицерол.</i>	1
PR	HPV Probe Reconstitution Solution <i>Буфериран разтвор на сукцинат, съдържащ < 5% детергент.</i>	1
S	HPV Selection Reagent <i>600 mM буфериран разтвор на борат, съдържащ ПАВ.</i>	1
TCR	HPV Target Capture Reagent <i>Незаразна нуклеинова киселина в буфериран разтвор, съдържащ твърда фаза (< 0,5 mg/mL).</i>	1
	Reconstitution Collars	3
	Master Lot Barcode Sheet	1 лист

Aptima HPV Calibrators Box (кат. № 302554)
(Съхранявайте при 2°C до 8°C при получаване)

Символ	Компонент	Количество
PCAL	HPV Positive Calibrator <i>Незаразен HPV 16 in vitro транскрипт при 1000 копия на mL в буферизиран разтвор, съдържащ < 5% детергент.</i>	5 флакона
NCAL	HPV Negative Calibrator <i>Буферизиран разтвор, съдържащ < 5% детергент.</i>	5 флакона

Материали, необходими, но предлагани отделно

Забележка: Материалите, предлагани от Hologic, имат изброените каталожни номера, освен ако няма друго посочено.

	<u>Кат. №</u>
Panther System	303095
Panther Run Kit	303096
<i>Aptima Assay Fluids Kit</i>	303014
<i>(Aptima Wash Solution, Aptima Buffer for Deactivation Fluid, and Aptima Oil Reagent)</i>	
<i>Aptima Auto Detect Kit</i>	303013
<i>Multi-tube units (MTUs)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit</i>	902731
<i>Panther Waste Bin Cover</i>	504405
Накрайници, провеждащи по 1000 µl, засичащи течност	10612513 (Tecan)
Aptima Specimen Transfer Kit	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit – може да се отпечата	PRD-05110
Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit	302657
Aptima Penetrable Caps	105668
Резервни капачки, които са недостъпни за проникване	103036A
Spare Caps за 250 тестови комплекта:	
<i>Amplification Reagent and Probe Reagent reconstitution solutions</i>	CL0041
<i>Enzyme Reagent reconstitution solution</i>	501616
<i>TCR and Selection Reagent</i>	CL0040
Spare Caps за 100 тестови комплекта:	
<i>Amplification Reagent and Probe Reagent reconstitution solutions</i>	CL0041
<i>Enzyme Reagent reconstitution solution</i>	CL0041
<i>TCR and Selection Reagent</i>	501604
Белина, минимум 5% или 0,7 M разтвор на натриев хипохлорит	—
Ръкавици за еднократна употреба	—
Aptima Transfer Solution Kit (само за проби SurePath)	303658

Незадължителни материали

	<u>Кат. №</u>
Bleach Enhancer for Cleaning	302101

Процедура за тестване на система Panther

Забележка: *Вижте Ръководството на оператора за система Panther за допълнителна процедурна информация за система Panther.*

A. Подготовка на работната зона

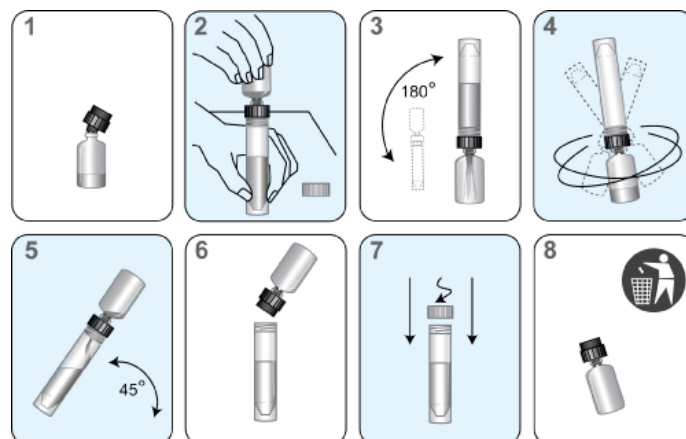
Почистете работните повърхности, където ще се приготвят реагенти и проби. Избършете работните повърхности с разтвор на натриев хипохлорит 2,5% до 3,5% (0,35 M до 0,5 M). Оставете разтвора на натриев хипохлорит да контактува с повърхностите за най-малко 1 минута и след това последвайте с изплакване с вода. Не оставяйте разтвора на натриев хипохлорит да изсъхне. Покрийте повърхността на работната маса, на която ще се приготвят реагентите и пробите, с чисти покривки за лабораторна маса, които са абсорбенти с пластмасова подложка.

B. Подготовка на реагент на нов комплект

Забележка: *Reagent Reconstitution трябва да се извърши преди започване на каквато и да било работа по системата Panther.*

1. За приготвяне на Amplification, Enzyme и Probe Reagents комбинирайте бутилките от лиофилизиран реагент с разтвора за приготвяне. Ако са в хладилник, оставете разтворите за приготвяне да достигнат стайна температура преди употреба.
 - a. Подредете по двойки всеки разтвор за приготвяне с неговия лиофилизиран реагент. Уверете се, че разтворът за приготвяне и реагентът имат съвпадащи цветове на етикета, преди да прикрепите фланеца за приготвяне.
 - b. Проверете партидните номера на Master Lot Barcode Sheet, за да се уверите, че са подредени по двойки подходящите реагенти.
 - c. Отворете флакона с лиофилизиран реагент и здраво вкарайте края с нарезите на фланеца за приготвяне в отвора на флакона (Фигура 2, Стъпка 1).
 - d. Отворете съответстващия разтвор за приготвяне и поставете капачката на чиста, покрита работна повърхност.
 - e. Докато държите бутилката с разтвора върху работната маса, здраво вкарайте другия край на фланеца за приготвяне в бутилката (Фигура 2, Стъпка 2).
 - f. Бавно обърнете сглобените бутилки. Оставете разтвора да се източи от бутилката в стъкления флакон (Фигура 2, Стъпка 3).
 - g. Внимателно разклатете разтвора в бутилката, за да се смеси щателно. Избягвайте създаването на пяна при разклащането на бутилката (Фигура 2, Стъпка 4).
 - h. Изчакайте лиофилизираният реагент да навлезе в разтвора, след това обърнете сглобените бутилки отново, като се накланя под ъгъл от 45°, за да сведете до минимум разпенването (Фигура 2, Стъпка 5). Оставете цялата течност да се източи обратно в пластмасовата бутилка.
 - i. Свалете фланеца за приготвяне и стъкления флакон (Фигура 2, Стъпка 6).
 - j. Затворете отново с капачката пластмасовата бутилка. Запишете инициалите на оператора и датата на приготвяне върху всички флакони с приготвен реагент (Фигура 2, Стъпка 7).
 - k. Изхвърлете фланеца за приготвяне и флакона (Фигура 2, Стъпка 8).

Предупреждение: Избягвайте образуване на пяна при приготвяне на реагентите. Пяната компрометира регистрирането на нивото в системата Panther.



Фигура 2. Процес за разтваряне за система Panther

2. Пригответе работния Target Capture Reagent (wTCR):
 - a. Подредете по двойки подходящите бутилки с TCR и IC.
 - b. Проверете партидните номера на реагентите на Master Lot Barcode Sheet, за да се уверите, че подходящите реагенти в комплекта са подредени по двойки.
 - c. Отворете бутилката на TCR и поставете капачката на чиста, покрита работна повърхност.
 - d. Отворете бутилката на IC и излейте цялото съдържание в бутилката на TCR. Очаквайте малко количество от течността да остане в бутилката на IC.
 - e. Затворете с капачката бутилката на TCR и внимателно разклатете разтвора, за да смесите съдържанието. Избягвайте образуването на пяна при тази стъпка.
 - f. Запишете инициалите на оператора и текущата дата на етикета.
 - g. Изхвърлете бутилката с IC и капачката.
 - h. Може да се образува преципитат в wTCR, който може да доведе до невалидни резултати поради грешки в потвърждение на обема. Преципитатът може да се разтвори чрез затопляне на wTCR при 42°C до 60°C за до 90 минути. Оставете wTCR да се изравни до стайна температура преди употреба. Не използвайте, ако преципитатът продължава да съществува.
3. Подготовка на Selection Reagent
 - a. Проверете партидния номер на реагента на Master Lot Barcode Sheet, за да се уверите, че той принадлежи към комплекта.
 - b. Ако Selection Reagent съдържа преципитат, затоплете Selection Reagent при 60°C ± 1°C за до 45 минути, за да улесните разтварянето на преципитата. Внимателно смесвайте бутилката на всеки 5 до 10 минути. Оставете Selection Reagent да се изравни до стайна температура преди употреба. Не използвайте, ако преципитатът или мътноста продължават да съществуват.

Забележка: Щателно смесете чрез внимателно обръщане на всички реагенти преди зареждане на системата. Избягвайте образуването на пяна при обръщането на реагентите.

C. Подготовка на реагенти за предварително разтворени реагенти

1. Предварително разтворените Amplification, Enzyme и Probe Reagents трябва да достигнат стайна температура (15°C до 30°C) преди старта на анализа.
2. Ако приготвеният Probe Reagent съдържа преципитат, който не се връща към разтвора на стайна температура, нагрейте при температура, която не надвишава 60°C за 1 до 2 минути. Не използвайте при наличието на преципитат или мътност.
3. Ако wTCR съдържа преципитат, затоплете wTCR при 42°C до 60°C за до 90 минути. Оставете wTCR да се изравни до стайна температура преди употреба. Не използвайте, ако преципитатът продължава да съществува.
4. Ако Selection Reagent съдържа преципитат, затоплете Selection Reagent при 60°C \pm 1°C за до 45 минути, за да улесните разтварянето на преципитата. Внимателно смесвайте бутилката на всеки 5 до 10 минути. Оставете Selection Reagent да се изравни до стайна температура преди употреба. Не използвайте, ако преципитатът или мътността продължават да съществуват.
5. Щателно смесете всеки реагент чрез внимателно обръщане преди зареждане в системата. Избягвайте образуването на пяна при обръщането на реагентите.
6. Не пълнете догоре бутилките с реагент. Системата Panther ще разпознае и отхвърли бутилките, които са напълнени догоре.

D. Боравене с пробите

1. Оставете пробите (калибратори и проби) да достигнат стайна температура преди обработването.
2. **Не пускайте проби във вихров миксер.**
3. Проверете епруветките за проби преди зареждането в статива. Ако дадена епруетка за проби съдържа мехурчета или има по-малък обем от типично наблюдавания, центрофугирайте епруетката за 5 минути при 420 RCF, за да се уверите, че няма течност в капачката.

Забележка: Неспазването на стъпка 3 може да доведе до изпускане на течност от капачката на епруетката за проби.

E. Подготовка на системата

1. Настройте системата съгласно инструкциите в *Ръководство на оператора за система Panther* и раздела *Процедурни бележки* по-долу. Уверете се, че се използват стативи за реагент с подходящия размер и адаптери на TCR.
2. Заредете пробите.

Процедурни бележки

A. Калибратори

1. За правилната работа със софтуера на Aptima HPV assay на системата Panther се изискват три репликата на Positive Calibrator и три репликата на Negative Calibrator. Един флакон от всеки калибратор може да се зареди във всяка позиция на статив във всяка Sample Bay Lane на системата Panther. Пипетирането на проби ще започне, когато е удовлетворено едно от следните две условия:
 - a. Positive и Negative Calibrator се обработват в момента от системата.
 - b. Валидни резултати за калибраторите са регистрирани на системата.

2. След като епруветките за калибратор са пипетирани и се обработват за конкретен комплект на реагент, пробите могат да се изпълнят с асоциирания комплект на реагент за анализ за до 24 часа, освен когато:
 - a. Калибраторите са невалидни.
 - b. Асоциираният комплект на реагент за анализ се премахва от системата.
 - c. Асоциираният комплект на реагент за анализ е надвишил границите за стабилност.
 3. Опитите да се пипетират повече от три репликата от епруетка за калибратор може да доведат до грешки в обработването.
- B. Температура
Стайната температура се дефинира като 15°C до 30°C.
- C. Glove Powder
Както при всяка система с реагенти, прекомерният талк по някои ръкавици може да причини замърсяване на отворените епруетки. Препоръчват се ръкавици без талк.

Процедури за контрол на качеството

A. Критерии за валидност на цикъла

Софтуерът автоматично определя валидността на цикъла. Софтуерът ще направи невалиден даден цикъл, ако възникне някое от следните условия:

- Повече от един невалиден репликат на Negative Calibrator.
- Повече от един невалиден репликат на Positive Calibrator.
- Невалидна Negative Control (само за система Tigris DTS).
- Невалидна Positive Control (само за система Tigris DTS).

Цикълът може да се направи невалиден от даден оператор, ако се наблюдават технически, операторски затруднения или такива от апарата и са документираща, докато се извършва анализът.

Невалиден цикъл трябва да се повтори. Прекратените цикли трябва да се повторят.

B. Критерии за приемане на калибратора

В таблицата по-долу са дефинирани критериите на RLU за репликатите на Negative и Positive Calibrator.

Negative Calibrator	
Аналит	$\geq 0 \text{ u} \leq 45\,000 \text{ RLU}$
IC	$\geq 75\,000 \text{ u} \leq 400\,000 \text{ RLU}$
Positive Calibrator	
Аналит	$\geq 480\,000 \text{ u} \leq 1\,850\,000 \text{ RLU}$
IC	$\leq 450\,000 \text{ RLU}$

C. Изчисляване на пределна стойност на IC

Пределната стойност на IC се определя от сигнала на IC (източника на мигащо осветление) от валидните репликати на Negative Calibrator.

$$\text{Пределна стойност на IC} = 0,5 \times [\text{средни RLU на IC на валидните репликати на Negative Calibrator}]$$

D. Изчисляване на пределна стойност на анализ

Пределната стойност на анализ се определя от сигнала на анализа (източника на тлеещо осветление) от валидните репликати на Negative Calibrator, както и сигнала на анализа от валидните репликати на Positive Calibrator

$$\text{Пределна стойност на анализ} = \frac{[\text{средни RLU на анализа на валидните репликати на Negative Calibrator}] + [0,09 \times \text{средни RLU на анализа на валидните репликати на Positive Calibrator}]}{1}$$

- Е. Изчисляване на сигнал към пределна граница (S/CO) на анализа

S/CO на анализа се определя от RLU на анализа на тестовата проба и сигнала към пределна граница на анализа за цикъла.

$$S/CO \text{ на анализа} = \frac{RLU \text{ на анализа на тестовата проба}}{\text{пределна стойност на анализ}}$$

- Ф. Критерии за приемане на контролата (само за системата Tigris DTS)

Negative Control трябва да има валиден отрицателен резултат (IC RLU \geq пределна стойност на IC и S/CO на анализа $< 0,50$). Positive Control трябва да има валиден положителен резултат (S/CO на анализа $\geq 0,50$).

Интерпретиране на теста

Резултатите от теста на анализа се определят автоматично от софтуера на анализа. Резултатът от теста може да бъде отрицателен, положителен или невалиден, както е определено от RLU на IC и S/CO за анализа. Резултатът от теста може също да бъде невалиден поради други параметри (анормална форма на кинетичната крива), които са извън нормалните очаквани диапазони. Първоначалните невалидни резултати от теста трябва да бъдат повторени.

Пробите на Aptima CSCT Kit могат да бъдат разреждени, за да преодолеят потенциалните инхибиторни вещества. Разреждете 1 част от невалидната проба в 8 части от транспортна среда за проби (разтворът в епруветките на CSCT Kit); напр. 560 µL проба в нова епруветка на CSCT Kit, която съдържа 4,5 mL транспортна среда за проби. Внимателно обърнете разрежданата проба, за да се смеси, избягвайте образуването на пяна. Тествайте разрежданата проба съгласно стандартната процедура на анализа.

Забележка: Изисква се минимален обем от 1,7 mL, за да се тества 1 аликвотна част на пробата. Не разреждайте невалидна разреждана проба. Ако дадена разреждана проба даде невалиден резултат, трябва да се получи нова проба от пациента.

Резултат от Aptima HPV Assay	Критерии
Отрицателен	<i>S/CO на анализа < 0,50 IC ≥ пределна стойност на IC IC ≤ 2 000 000 RLU</i>
Положителен	<i>S/CO на анализа ≥ 0,50 IC ≤ 2 000 000 RLU Аналит ≤ 13 000 000 RLU</i>
Невалиден	<i>IC > 2 000 000 RLU или S/CO на анализа < 0,50 и IC < пределна стойност на IC или Аналит > 13 000 000 RLU</i>

Ограничения

- A. Типовете проби, различни от идентифицираните в предназначението, не са били оценявани.
- B. Представянето на Aptima HPV assay не е било оценено за лица, ваксинирани за HPV.
- C. Aptima HPV assay не е бил оценен в случаите на съмнения за сексуална злоупотреба.
- D. Преобладаването на инфекция с HPV при дадена популация може да засегне представянето. Положителните прогнозни стойности се понижават при тестване на популации с ниско преобладаване или на лица без риск от инфекция.
- E. Пробите с течна цитология ThinPrep, съдържащи по-малко от 1 mL след подготовка на предметно стъкло за Pap тест ThinPrep, се считат за неподходящи за Aptima HPV assay.
- F. Отстраняването на 1 mL от проба с течна цитология SurePath преди цитологично обработване не е било оценявано за въздействие върху резултата на цитологията.
- G. Тези резултати могат да бъдат засегнати от неправилен подбор, съхранение на пробите или обработване на пробите.
- H. Internal Control мониторира стъпките за захващане, амплификация и детекция на мишената на анализа. Тя не е предназначена да контролира адекватността за вземане на цервикални проби.
- I. Отрицателният резултат от Aptima HPV assay не изключва възможността от цитологични аномалии или на бъдещи или подлежащи CIN2, CIN3 или рак.
- J. Личните лубриканти, които съдържат Polyquaternium 15, могат да попречат на функционирането на анализа, когато присъстват в концентрации, по-големи от 0,025% (v/v или w/v) на дадена тестова проба.
- K. Противогъбичните лекарства, които съдържат тиоконазол, могат да попречат на функционирането на анализа, когато присъстват в концентрации, по-големи от 0,075% (w/v) на дадена тестова проба.
- L. Aptima HPV assay предоставя качествени резултати. Следователно, не може да се изведе корелация между величината на положителен сигнал на анализа и нивото на експресия на мРНК в дадена проба.
- M. Откриването на високорискова мРНК на HPV зависи от броя на копията, налични в пробата, и може да бъде засегнато от методите за вземане на проби, пациентски фактори, стадий на инфекцията и наличието на интерфериращи вещества.
- N. Инфекцията с HPV не е индикатор за цитологичен HSIL или подлежащ CIN от висок клас, и не предполага, че ще се развие CIN2, CIN3 или рак. Повечето жени, инфектирани с един или повече високорискови типове HPV, не развиват CIN2, CIN3 или рак.

- O. Ефектите на други потенциални променливи, като вагинален секрет, използване на тампони, промивки с душ и т.н., и променливите за вземане на проби не са били оценени.
- P. Използването на този продукт трябва да бъде ограничено до персонала, обучен в използването на Aptima HPV assay.
- Q. Кръстосаното замърсяване на пробите може да предизвика фалшиво положителни резултати. Вероятността за пренасяне на Aptima HPV assay на системата Tigris DTS е определена в неклинечно проучване като 0,3%.
- R. Aptima HPV assay трябва да се интерпретира в съчетание с други лабораторни и клинични данни на разположение на клиничния специалист.
- S. При този тест може да възникнат фалшиво положителни резултати. *In vitro* транскрипти от нискорискови генотипове на HPV 26, 67, 70 и 82 показваха кръстосана реактивност с Aptima HPV assay.
- T. Материалът на положителната контрола не е предназначен да наблюдава представянето при пределната стойност на анализа.

Очаквани резултати за система Tigris DTS: преобладаване на високорискова мРНК на HPV

Преобладаването на високорискова инфекция с HPV варира широко и се влияе от няколко фактора, за които възрастта е най-големият принос.^{32,33} В много проучвания са изследвали преобладаването на HPV, определено от детекцията на ДНК на HPV, въпреки че в няколко проучвания се докладва преобладаване на базата на детекция на онкогенна мРНК на HPV. Жени от различни клинични центрове (n=18), представляващи широко географско разпределение и разнообразна популация (10 щата в рамките на Съединените щати), бяха включени в проспективно клинично проучване, известно като изпитването CLEAR.³⁴ Преобладаването на мРНК-положителни проби на HPV, наблюдавани в клиничното изпитване, бе категоризирано като цяло по възрастова група и по изследователски център. Резултатите са показани в Таблица 1 за популациите с ASC-US (атипични клетки на плосък епител с неясно значение) и NILM (отрицателни за интраепителна лезия или злокачествено образуване).

Таблица 1: Преобладаване на високорискова мРНК на HPV по възрастова група, изследователски център и всички комбинирани

	Ръст на положителност % (x/n)	
	Популация с ASC-US (≥ 21 години)	Популация с NILM (≥ 30 години)
Всички	41,8 (400/958)	5,0 (540/10 871)
Възрастова група (години)		
21 до 29	60,3 (252/418)	N/A
30 до 39	36,8 (98/266)	6,9 (289/4199)
≥ 40	18,2 (50/274)	3,8 (251/6672)
Изследователски център		
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)

N/A = не е приложимо

Дизайн на клинично проучване на Aptima HPV assay с проби с течна цитология ThinPrep

Проспективно, многоцентрово клинично проучване в САЩ, известно като изпитването CLEAR, бе проведено, за да се определи клиничното представяне на Aptima HPV assay за детекция на цервикални интраепителни неоплазми клас 2 или по-тежко цервикално заболяване (\geq CIN2). Изпитването CLEAR включва оценяване при базовото ниво и 3-годишна оценка за проследяване.³⁴

Изпитване CLEAR – оценяване при базовото ниво

При базовото ниво на изпитването CLEAR (Фаза на базовото ниво) жените били включени или в проучването ASC-US, или в проучването NILM въз основа на резултатите от цитологията от рутинен скрининг за рак на шийката на матката. Популацията на проучването ASC-US включва жени на възраст 21 и повече години с ASC-US резултати от цитологията, а популацията на проучването NILM включва жени на възраст 30 и повече години с NILM резултати от цитологията. Проучването NILM бе проектирано да поддържа искане за допълнителен скрининг за жени от 30-годишна възраст, тъй като жените на тази възраст с цитологични резултати, по-големи от ASC-US, трябва да продължат с колпоскопия, независимо от техния статус за HPV.³⁵

Включени са жените от 18 клинични центъра, предимно акушеро-гинекологични клиники, които обхващаха широко географско разпределение и разнообразна популация. Жените, които отговарят на критериите, бяха разпределени в проучването ASC-US или в проучването NILM на база на пробата с течна базирана цитология ThinPrep на тяхното направление. При базовото ниво остатъчните насочващи проби от жени в проучването ASC-US и в проучването NILM бяха тествани с Aptima HPV assay и с наличен в търговската мрежа ДНК тест за HPV.

При базовото ниво всички жени в проучването ASC-US бяха насочени към колпоскопия, независимо от техните резултати от теста за HPV. Бяха получени биопсия с ендоцервикален кюретаж (ЕСС) и цервикални пункционни биопсии (1 биопсия от всеки от 4-те квадранти). Ако е била видима лезия, бе получена пункционна биопсия (насочван метод; 1 биопсия на лезия), а в квадрантите без видима лезия бяха взети биопсии при сквамocolонната връзка (произволен метод).

В проучването NILM жените, положителни при Aptima HPV assay и/или наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV, както и произволно избрани жени, които са били отрицателни при двата анализа, бяха насочени за колпоскопия за оценката на базовото ниво. Произволно избраните жени, които са били отрицателни за двата анализа, бяха включени, за да се коригира предубеждението на проверката с коригирани оценки на представянето, генерирани с помощта на метод с многократно запълване. Биопсия с ЕСС бе получена от всяка жена, на която бе проведена колпоскопия. Пункционни биопсии бяха получени само от видимите лезии (насочван метод; по 1 биопсия на лезия).

Статусът на заболяването бе определен от Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии, базира се на съгласие от най-малко 2 експерти патолози. Експертите патолози бяха маскирани спрямо статуса за HPV на жената. Те също така бяха маскирани за статуса на цитологията, както и за хистологичните диагнози от единия и от другия. Ако 3-мата патолози имат несъгласие, всичките 3-ма патолози прегледат предметните стъкла на микроскоп с много глави, за да постигнат консенсус. Изследователите, клиничните специалисти и жените бяха маскирани за резултатите от теста за HPV до завършването на визитата за колпоскопия, за да се избегне предубеждение.

При базовото ниво клиничното представяне на Aptima HPV assay за детекция на \geq CIN2 и цервикални интраепителни неоплазми клас 3 или по-тежко цервикално заболяване (\geq CIN3) бе оценено спрямо статуса на цервикалното заболяване, определен при базовото ниво. Клиничното представяне на наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV също бе определен за директно сравняване с резултатите от Aptima HPV assay.

Изпитване CLEAR – проследяващо оценяване

Жените в проучването NILM от 14 клинични центъра бяха пригодни да участват в 3-годишната фаза за проследяване на проучването, ако: i) са имали визита за колпоскопия при базовото ниво и не са имали \geq CIN2, или ii) не са имали визита за колпоскопия при базовото ниво. Фазата за проследяване на проучването се състои от ежегодни визити. На тези визити за всяка жена бе извършено пробовземане от шийката на матката за цитология, а някои жени бяха тествани с наличен в търговската мрежа тест за HPV. Жените с ASC-US или по-сериозни резултати от цитологията по време на периода за проследяване бяха насочвани към колпоскопия с използване на същите процедури за биопсия и хистологично изследване, извършени за оценката при базовото ниво на проучването NILM. Статусът на цервикално заболяване при визита за проследяване бе считан за „отрицателен“ на базата на цитологията от NILM или – за жени с анормални резултати от цитологичния тест – на базата на нормални резултати или CIN1 Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии. Жените, които имаха \geq CIN2, открит през периода на проследяване, се считаха за завършили проследяването и не посещаваха визити след откриване на \geq CIN2. Жените, които нямаха открит \geq CIN2 през периода на проследяване, но които посетиха визита по проучването в 1-та година за проследяване и/или 2-рата година за проследяване и които са посетили визита по проучването в 3-та година за проследяване се считаха за завършили проследяването.

Целта на проучването за проследяване бе да сравни кумулативния 3-годишен риск от цервикално заболяване при жените с положителни резултати от Aptima HPV assay при базовото ниво с кумулативния 3-годишен риск от цервикално заболяване при жените с отрицателни резултати от Aptima HPV assay при базовото ниво. 3-годишният статус на цервикално заболяване бе определен, както следва:

- Положителният статус на цервикално заболяване (\geq CIN2 и/или \geq CIN3) – жени, които са имали \geq CIN2, открито при базовото ниво или при проследяването.
- Отрицателен статус на цервикално заболяване ($<$ CIN2) – жени, които са завършили проследяването без откриване на \geq CIN2 и които не са считани, че имат „неопределен“ статус на цервикално заболяване.
- Неопределен статус на цервикално заболяване – жени, които са имали анормални резултати от цитологичния тест по време на проследяването и които не са имали последващ резултат от Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии, или жени с неподходяща цитология на последната им визита.
- Загубени за проследяване – жени, които не са завършили проследяването и които не са считани, че имат „неопределен“ статус на цервикално заболяване.

Клиничното представяне на Aptima HPV assay за детекция на \geq CIN2 и \geq CIN3 бе оценено спрямо 3-годишния статус на цервикално заболяване.

Представяне на анализа на системата Tigris DTS

ASC-US ≥ 21 години популация: клинично представяне на Aptima HPV assay с проби с течна цитология ThinPrep

Общо имаше 1252 жени на възраст 21 и повече години с ASC-US резултати от цитологията, включени в проучването ASC-US. От тях 294 жени бяха оттеглени и 19 имаха неопределена диагноза на заболяването – всички бяха изключени от анализа. Останалите 939 жени, подлежащи на оценка, бяха на възраст 21 и повече години с ASC-US резултати от цитологията, резултати от Aptima HPV assay и заключителен статус на заболяването. Деветдесет и една (91) жени имаха ≥ CIN2, а четиридесет и една (41) имаха ≥ CIN3. Преобладаването на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 при жените, подлежащи на оценка с ASC-US резултати от цитологията, бяха 9,7% и 4,4%, респективно. Резултатите от Aptima HPV assay от диагнозите на Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии са представени в Таблица 2.

Таблица 2: ASC-US ≥ 21 години популация: резултати от Aptima HPV assay от диагноза на Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии

Резултат от Aptima HPV Assay*	ДНК тест за HPV	Диагноза на Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии						
		Неопределено**	Нормално	CIN1	CIN2	CIN3	Рак	Общо
Положителен	Положителен	6	170	113	41	32	1	363
Положителен	Отрицателен	0	7	0	1	2	0	10
Положителен	Без резултат***	0	14	11	0	2	0	27
Отрицателен	Положителен	0	47	13	2	3	0	65
Отрицателен	Отрицателен	10	371	55	6	1	0	443
Отрицателен	Без резултат***	3	40	7	0	0	0	50
Общо		19	649	199	50	40	1****	958

*Всички проби имаха окончателни валидни резултати (при първоначално тестване или след разрешаване на първоначалните невалидни данни за всяка процедура).

**19 участнички посетиха визитата за колпоскопия, но не можеше да се определи диагноза поради следните причини: < 5 проби за биопсия, получени като цяло с хистологични резултати Нормален/CIN1 (n=15), без взети биопсии (n=3) и изгубени предметни стъкла с биопсия (n=1).

***77 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

****Една участничка имаше аденокарцином in situ (AIS).

Оценките за клиничното представяне на Aptima HPV assay, включващи чувствителност, специфичност, положителна прогнозна стойност (PPV) и отрицателна прогнозна стойност (NPV) за откриване на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 на базата на оценяването на всички биопсии и включващи само насочените биопсии, са показани в Таблица 3, както и оценките за наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV.

Таблица 3: ASC-US ≥ 21 години популация: представяне на Aptima HPV assay и ДНК тест за HPV за откриване на ≥ CIN2 и ≥ CIN3

	Представяне	Aptima HPV Assay N=939		ДНК тест за HPV N=865*	
		Оценка	(95% CI)	Оценка	(95% CI)
≥ CIN2	Всички биопсии				
	Чувствителност (%)	86,8 (79/91)	(78,4, 92,3)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)
	Специфичност (%)	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)
	Преобладаване (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
	Насочени биопсии**				
	Чувствителност (%)	93,3 (56/60)	(84,1, 97,4)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)
	Специфичност (%)	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)
	Преобладаване (%)	6,4 (60/936)		6,8 (59/863)	
	≥ CIN3	Всички биопсии			
Чувствителност (%)		90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
Специфичност (%)		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)
Преобладаване (%)		4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	
Насочени биопсии**					
Чувствителност (%)		93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)
Специфичност (%)		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)
Преобладаване (%)		3,1 (29/937)		3,2 (28/864)	

*74 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

**Консенсусен хистологичен резултат бе изведен с използване само на резултатите от насочените биопсии. Жените без насочени биопсии отразяват нормална колпоскопия и са включени в тези анализи като незаболели (< CIN2 или < CIN3, според случая). Консенсус не бе постигнат винаги, когато са включени само насочени биопсии.

При оценяването на всички биопсии оценките за клинична чувствителност на Aptima HPV assay и на наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV, когато и резултатите от двата анализа са налични за откриването на \geq CIN2 и \geq CIN3, бяха сходни (разликите в оценките на чувствителността не бяха статистически значими: разлика в чувствителността = $-2,3\%$ [95% CI: $-9,5\%$, $4,8\%$]). Оценките за клинична специфичност на Aptima HPV assay за откриването на \geq CIN2 и \geq CIN3 бяха по-високи от тези на наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV (разликите в оценките на специфичността бяха статистически значими). При \geq CIN2 разликата в специфичността бе $6,8\%$ (95% CI: $4,9\%$, $9,0\%$). Стойностите на NPV бяха сходни, но за откриването на \geq CIN2 PPV за Aptima HPV assay бе малко по-висока от PPV за наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV ($20,1\%$ спрямо $18,7\%$).

От 91 случаи на \geq CIN2 60 ($65,9\%$) бяха открити при насочени биопсии и 31 ($34,1\%$) бяха идентифицирани от произволни и/или ЕСС биопсии (т.е. не при насочени биопсии). Тези находки са сравними с резултатите от публикуваните проучвания, при които приблизително 25% до 40% от случаите на \geq CIN2 бяха идентифицирани от произволни проби и/или проби само от ЕСС биопсии.³⁶⁻³⁷ При използването само на насочени биопсии за определяне статуса на заболяването (като се предполага, че жените без насочени биопсии са имали нормални хистологични резултати, понеже няма наличие на видими лезии) преобладаването на \geq CIN2 и \geq CIN3 в проучването бе $6,4\%$ и $3,1\%$, респективно. Оценките за клинична чувствителност за откриването на \geq CIN2 и \geq CIN3 бяха по-високи за двата теста с използване само на насочени биопсии, отколкото оценките, изчислени с използване на всички биопсии. При двата анализа клиничната специфичност с използване само на насочени биопсии бе сходна със специфичността, получена с всички включени биопсии. Съответно, когато се използват само насочени биопсии, специфичността на Aptima HPV assay бе значително по-висока от тази на наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV.

Оценките за клиничното представяне на Aptima HPV assay и наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV са показани по възрастова група в Таблица 4 и Таблица 5 (\geq CIN2 и \geq CIN3, респективно, на базата на оценяване на всички биопсии).

Таблица 4: ASC-US ≥ 21 години популация: представяне на Aptima HPV assay и ДНК тест за HPV за откриване на ≥ CIN2 по възрастова група

	Представяне	Aptima HPV Assay N=939		ДНК тест за HPV N=865*	
		Оценка	(95% CI)	Оценка	(95% CI)
21 до 29 години		N=415		N=389	
	Чувствителност (%)	90,2 (55/61)	(80,2, 95,4)	94,9 (56/59)	(86,1, 98,3)
	Специфичност (%)	44,9 (159/354)	(39,8, 50,1)	35,5 (117/330)	(30,5, 40,8)
	PPV (%)	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)
	Преобладаване (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
30 до 39 години		N=262		N=239	
	Чувствителност (%)	90,0 (18/20)	(69,9, 97,2)	80,0 (16/20)	(58,4, 91,9)
	Специфичност (%)	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)
	Преобладаване (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
≥ 40 Години		N=262		N=237	
	Чувствителност (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	Специфичност (%)	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)
	Преобладаване (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)	

*74 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Таблица 5: ASC-US ≥ 21 години популация: представяне на Aptima HPV assay и ДНК тест за HPV за откриване на ≥ CIN3 по възрастова група

	Представяне	Aptima HPV Assay N=939		ДНК тест за HPV N=865*	
		Оценка	(95% CI)	Оценка	(95% CI)
21 до 29 години		N=415		N=389	
	Чувствителност (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Специфичност (%)	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)
	Преобладаване (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
30 до 39 години		N=262		N=239	
	Чувствителност (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Специфичност (%)	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)
	Преобладаване (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
≥ 40 Години		N=262		N=237	
	Чувствителност (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Специфичност (%)	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)
	Преобладаване (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)	

*74 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Абсолютният риск от заболяване (\geq CIN2 и \geq CIN3, на базата на оценяването на всички биопсии) чрез резултат от Aptima HPV assay и относителният риск от заболяване за положителни спрямо отрицателни резултати от анализа са показани в Таблица 6, както и оценките за наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV. Относителният риск от \geq CIN2 бе 9,1 (95% CI: 5,0, 16,5), показващ, че една жена, която има положителен резултат от Aptima HPV assay, бе 9,1 пъти по-вероятно да има \geq CIN2, отколкото жена, която има отрицателен резултат от Aptima HPV assay. Относителният риск от \geq CIN3 бе 12,8 (95% CI: 4,6, 35,6).

Таблица 6: ASC-US \geq 21 години популация: абсолютни и относителни рискове на \geq CIN2 и \geq CIN3 за резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV

	Резултат от анализа	Aptima HPV Assay N=939		ДНК тест за HPV N=865*	
		Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)	Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)
\geq CIN2	Положителен	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)
	Отрицателен	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)		2,3 (10/443) (1,2, 3,8)	
	Преобладаване (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
\geq CIN3	Положителен	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)
	Отрицателен	0,7 (4/545) (0,2, 1,7)		0,7 (3/443) (0,2, 1,7)	
	Преобладаване (%)	4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	

*74 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Оценките за абсолютен и относителен риск за заболяване (\geq CIN2 и \geq CIN3, на база на оценяване на всички биопсии) за Aptima HPV assay и наличният в търговската мрежа ДНК тест за HPV са показани по възрастова група в Таблица 7.

Таблица 7: ASC-US ≥ 21 години популация: абсолютни и относителни рискове на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 за резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV по възрастова група

	Възраст	Резултат от анализа	Aptima HPV Assay N=939		ДНК тест за HPV N=865*	
			Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)	Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)
≥ CIN2	21 до 29 години		N=415		N=389	
		Положителен	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)
		Отрицателен	3,6 (6/165) (1,5, 7,0)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Преобладаване (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 до 39 години		N=262		N=239	
		Положителен	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)
		Отрицателен	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Преобладаване (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
	≥ 40 години		N=262		N=237	
		Положителен	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)
		Отрицателен	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)		1,6 (3/184) (0,4, 3,4)	
		Преобладаване (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)	
≥ CIN3	21 до 29 години		N=415		N=389	
		Положителен	10,4 (26/250) (8,9, 11,4)	17,2 (2,4, 125)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Не може да се изчисли
		Отрицателен	0,6 (1/165) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Преобладаване (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 до 39 години		N=262		N=239	
		Положителен	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)
		Отрицателен	0,6 (1/167) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Преобладаване (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
	≥ 40 години		N=262		N=237	
		Положителен	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)
		Отрицателен	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)		0,5 (1/184) (0,0, 1,8)	
		Преобладаване (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)	

*74 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

NILM ≥ 30 години популация: клинично представяне на Aptima HPV Assay с проби с точна цитология ThinPrep при базовото ниво

Общо имаше 11 644 с NILM резултати от цитология, включени в проучването NILM. От тях 773 жени бяха оттеглени и изключени от оценката при базовото ниво. Останалите 10 871 жени, подлежащи на оценка, бяха на възраст 30 и повече години с NILM резултати от цитологията и резултати от Aptima HPV assay. От 540-те жени с положителни резултати от Aptima HPV assay 335 присъстваха на колпоскопия при базовото ниво. От 10 331 жени с отрицателни резултати от Aptima HPV assay 530 присъстваха на колпоскопия при базовото ниво. Двадесет (20) жени имаха ≥ CIN2, а единадесет (11) имаха ≥ CIN3; 799 жени имаха нормална/CIN1 хистология; 46 жени бяха с неопределен статус на заболяването. Резултатите от Aptima HPV assay от диагнозата на Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии при базовото ниво са представени в Таблица 8.

Таблица 8: NILM ≥ 30 години популация: резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV от диагноза на Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии при базовото ниво

Резултат от Aptima HPV Assay*	ДНК тест за HPV	Диагноза на Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии						
		Неопределено	Нормално	CIN1	CIN2	CIN3	Рак	Общо
Положителен	Положителен	11	212	11	4	7	2	247
Положителен	Отрицателен	7	59	0	1	0	1	68
Положителен	Без резултат**	3	16	1	0	0	0	20
Отрицателен	Положителен	10	170	8	2	1	0	191
Отрицателен	Отрицателен	15	313	9	1	0	0	338
Отрицателен	Без резултат**	0	0	0	1	0	0	1
Общо		46	770	29	9	8	3***	865

*Всички проби имаха окончателни валидни резултати (при първоначално тестване или след разрешаване на първоначалните невалидни данни за всяка процедура).

**21 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

***Три жени имаха аденокарцином in situ (AIS).

Общо 10 052 жени имаха непроверен (включително неопределен) статус на заболяването при базовото ниво (Таблица 9). Тъй като само произволно избраните жени с отрицателни резултати както за Aptima HPV assay, така и за наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV, бяха насочени към колпоскопия, пропорцията на жените с непроверен статус на заболяването бе висок в тази група (96,6%). За да се коригира това отклонение на проверката, бе използван метод с многократно запълване, за да се оцени броят на жените със заболяване, които биха били идентифицирани, ако всички жени бяха преминали колпоскопия. Представени са и оценките на представянето, коригирани за отклонение на проверката, така и некоригираните оценки на представянето, на база на 819-те жени с проверен статус на заболяването при базовото ниво.

Таблица 9: NILM ≥ 30 години популация: класификация на подлежащите на оценка жени с NILM по резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV, статус на заболяването (≥ CIN2 и ≥ CIN3), и статус за проверка на заболяването при базовото ниво

Резултат от Aptima HPV Assay*	Тест за ДНК за HPV	Общо жени	Проверен статус на заболяването: ≥ CIN2		Проверен статус на заболяването: ≥ CIN3		Непроверен статус на заболяването
			Заболели жени (≥ CIN2)	Незаболели жени (< CIN2)	Заболели жени (≥ CIN3)	Незаболели жени (< CIN3)	Жени с неизвестен статус на заболяването (% неизвестен)
Положителен	Положителен	360	13	223	9	227	124 (34,4%)
Положителен	Отрицателен	150	2	59	1	60	89 (59,3%)
Положителен	Без резултат**	30	0	17	0	17	13 (43,3%)
Отрицателен	Положителен	306	3	178	1	180	125 (40,8%)
Отрицателен	Отрицателен	9420	1	322	0	323	9097 (96,6%)
Отрицателен	Без резултат**	605	1	0	0	1	604 (99,8%)
Общо		10 871	20	799	11	808	10 052 (92,5%)

*Всички проби имаха окончателни резултати (при първоначално тестване или след разрешаване на първоначалните невалидни данни за всяка процедура).

**635 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Коригираното преобладаване на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 при жените с NILM резултати от цитологията бяха 0,9% и 0,4%, респективно. Коригираните оценки за абсолютен и относителен риск за откриването на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 при базовото ниво са показани в Таблица 10. Коригираният относителен риск от ≥ CIN2 бе 8,1 (95% CI: 2,3, 28,1), показващ, че една жена, която е имала положителен Aptima HPV assay, бе 8,1 пъти по-вероятно да има ≥ CIN2, отколкото жена, която е имала отрицателен резултат от Aptima HPV assay. Коригираният относителен риск от ≥ CIN3 бе 34,5 (95% CI: 2,7, 443,3). Некоригираните оценки за абсолютен и относителен риск за откриването на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 при базовото ниво са показани като цяло в Таблица 11 и по възрастова група в Таблица 12.

Таблица 10: NILM ≥ 30 години популация: абсолютни и относителни рискове на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 за резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV (оценки, коригирани за отклонение на проверката) при базовото ниво

Резултат от анализа		Aptima HPV Assay		ДНК тест за HPV	
		Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)	Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)
≥ CIN2	Положителен	4,7 (2,9, 7,6)	8,1 (2,3, 28,1)	3,7 (2,3, 6,0)	7,3 (1,6, 33,4)
	Отрицателен	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Преобладаване (%)	0,9		0,9	
≥ CIN3	Положителен	3,3 (1,4, 7,6)	34,5 (2,7, 443,3)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,4)
	Отрицателен	0,1 (0,0, 1,6)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Преобладаване (%)	0,4		0,4	

Таблица 11: NILM ≥ 30 години популация: абсолютни и относителни рискове на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 за резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV (некоригирани оценки) при базовото ниво

Резултат от анализа		Aptima HPV Assay N=819		ДНК тест за HPV N=801*	
		Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)	Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)
≥ CIN2	Положителен	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)
	Отрицателен	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Преобладаване (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
≥ CIN3	Положителен	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)
	Отрицателен	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Преобладаване (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

*18 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Таблица 12: NILM ≥ 30 години популация: абсолютни и относителни рискове на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 за резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV по възрастова група (некоригирани оценки) при базовото ниво

	Възраст	Резултат от анализа	Aptima HPV Assay N=819		ДНК тест за HPV N=801*	
			Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)	Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)
≥ CIN2	30 до 39 години		N=384		N=377	
		Положителен	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)
		Отрицателен	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		1,2 (2/161) (0,2, 4,4)	
		Преобладаване (%)	2,3 (9/384)		2,4 (9/377)	
	≥ 40 Години		N=435		N=424	
		Положителен	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)
		Отрицателен	1,4 (4/288) (0,4, 3,5)		0,4 (1/223) (0,0, 2,5)	
		Преобладаване (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥ CIN3	30 до 39 години		N=384		N=377	
		Положителен	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)
		Отрицателен	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		0,6 (1/161) (0,0, 3,4)	
		Преобладаване (%)	1,6 (6/384)		1,6 (6/377)	
	≥ 40 Години		N=435		N=424	
		Положителен	3,4 (5/147) (1,1, 7,8)	Не може да се изчисли	2,5 (5/201) (0,8, 5,7)	Не може да се изчисли
		Отрицателен	0,0 (0/288) (0,0, 1,3)		0,0 (0/223) (0,0, 1,6)	
		Преобладаване (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*18 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Коригираните оценки за клиничното представяне на Aptima HPV assay, включващи чувствителност, специфичност, PPV и NPV за откриване на \geq CIN2 и \geq CIN3 са показани в Таблица 13, както и оценките за наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV. Некоригираните оценки за клиничното представяне са показани в Таблица 14. Aptima HPV assay и наличният в търговската мрежа ДНК тест за HPV имаха сходна чувствителност, докато специфичността бе по-висока за Aptima HPV assay (95% CI без припокриване). Оценките за прогнозна стойност на Aptima HPV assay бяха клинично значими и сходни с оценките за наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV. Стойностите на NPV бяха сходни, но за откриването на \geq CIN2 PPV за Aptima HPV assay бе малко по-висока от PPV за наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV (4,7% спрямо 3,7%).

Таблица 13: NILM \geq 30 години популация: представяне на Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV за откриване на \geq CIN2 и \geq CIN3 (оценки, коригирани за отклонение на проверката) при базовото ниво

	Представяне	Aptima HPV Assay		ДНК тест за HPV	
		Оценка	(95% CI)	Оценка	(95% CI)
\geq CIN2	Чувствителност (%)	31,0	(5,9, 56,1)	35,4	(3,8, 66,9)
	Специфичност (%)	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)
	Преобладаване (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Чувствителност (%)	61,5	(14,0, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Специфичност (%)	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)
	Преобладаване (%)	0,4		0,4	

Таблица 14: NILM ≥ 30 години популация: представяне на Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV за откриване на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 (некоригирани оценки) при базовото ниво

	Представяне	Aptima HPV Assay N=819		ДНК тест за HPV N=801*	
		Оценка	(95% CI)	Оценка	(95% CI)
≥ CIN2	Чувствителност (%)	75,0 (15/20)	(53,1, 88,8)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Специфичност (%)	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)
	Преобладаване (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
≥ CIN3	Чувствителност (%)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Специфичност (%)	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)
	Преобладаване (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

*18 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Директното сравняване на Aptima HPV assay и на наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV демонстрира сходна чувствителност и статистически значима подобрена специфичност на Aptima HPV assay спрямо наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV за откриване на \geq CIN2, показани чрез съотношенията на реално положителните и фалшиво положителните честоти (Таблица 15 и Таблица 16, респективно).

Таблица 15: NILM \geq 30 години популация: съотношение на реално положителните честоти (Aptima HPV Assay/ДНК тест за HPV) за жени с \geq CIN2 (некоригирани оценки) при базовото ниво

		ДНК тест за HPV		Общо
		Положителен	Отрицателен	
Aptima HPV Assay	Положителен	13	2	15 (78,9%)
	Отрицателен	3	1	4
	Общо	16 (84,2%)	3	19
Съотношение на реално положителните честоти = 0,94 (15/16) (95% CI: 0,67, 1,20)				

Таблица 16: NILM \geq 30 години популация: съотношение на фалшиво положителните честоти (Aptima HPV Assay/ДНК тест за HPV) за жени с $<$ CIN2 (некоригирани оценки) при базовото ниво

		ДНК тест за HPV		Общо
		Положителен	Отрицателен	
Aptima HPV Assay	Положителен	223	59	282 (36,1%)
	Отрицателен	178	322	500
	Общо	401 (51,3%)	381	782
Съотношение на фалшиво положителните честоти = 0,70 (282/401) (95% CI: 0,64, 0,77)				

NILM ≥ 30 години популация: клинично представяне на Aptima HPV Assay след 3 години проследяване

Имаше 10 854 жени, подлежащи на оценка, на възраст 30 и повече години с NILM резултати от цитология и валидни резултати от Aptima HPV assay при базовото ниво, които бяха пригодни за фазата за проследяване. От жените без ≥ CIN2, 66,9% (7251/10 834) от жените завършиха визитата за проследяване с Pap на 1-та година, 60,2% (6522/10 825) на 2-рата година, и 58,6% (6344/10 818) на 3-та година. Като цяло, 58,8% (6380/10 854) от жените завършили проучването (имали ≥ CIN2 при базовото ниво или по време на проследяването, и/или завършили изискваните визити).

От 10 854 жени 540 (5,0%) имаха положителни резултати от Aptima HPV assay при базовото ниво. От тези 540 жени 263 (48,7%) имаха или положителен, или отрицателен статус на заболяването на 3-та година на база на резултати от цитологията или от колпоскопия/биопсия. Останалите 10 314 жени имаха отрицателни резултати от Aptima HPV assay при базовото ниво. От тези 10 314 жени 5943 (57,6%) имаха или положителен, или отрицателен статус на заболяването на 3-та година. От 6206 жени с 3-годишен статус на заболяването 47 жени имаха ≥ CIN2, включително 23 с ≥ CIN3; 6159 жени имаха нормален/CIN1 от Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии. Резултатите при базовото ниво от Aptima HPV assay и наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV и 3-годишен статус на заболяването (включително оценка при базовото ниво и проследяването) от Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии са представени в Таблица 17.

Таблица 17: NILM ≥ 30 години популация: класификация на жените, пригодни за фазата на проследяване по резултати от Aptima HPV Assay при базовото ниво, по резултати от ДНК тест за HPV при базовото ниво и статус на заболяването (≥ CIN2, ≥ CIN3, Непроверен), определени при фазите на базово ниво и проследяване

Резултат от Aptima HPV Assay	ДНК тест за HPV	Общо жени	Проверен статус на заболяването: ≥ CIN2		Проверен статус на заболяването: ≥ CIN3		Непроверен статус на заболяването	
			Заболели жени (≥ CIN2)	Незаболели жени (< CIN2)	Заболели жени (≥ CIN3)	Незаболели жени (< CIN3)	Изгубени за проследяване	Неопределени*
Положителен	Положителен	360	22	154	15	161	165	19
Положителен	Отрицателен	150	2	72	1	73	68	8
Положителен	Без резултат**	30	2	11	1	12	14	3
Отрицателен	Положителен	304	6	146	3	149	133	19
Отрицателен	Отрицателен	9 405	14	5 455	3	5 466	3 735	201
Отрицателен	Без резултат**	605	1	321	0	322	269	14
Общо		10 854	47	6 159	23	6 183	4 384	264

*Жени, които са имали анормални резултати от цитологичния тест по време на проследяването и които не са имали последващ резултат от Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии, и жени с неподходяща цитология на последната им визита. 174 жени с неопределен статус на заболяването завършиха проследяването съгласно протокола.

**635 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Кумулативният риск от заболяване на 3-та година (≥ CIN2 и ≥ CIN3) се базира на оценката на Kaplan-Meier (анализ на таблица за смъртност) и включва заболяване, открито при базовото ниво или при проследяването. Жените, които имали някакво показание за заболяване (ASC-US или по-сериозни резултати от цитологията), но без резултат от Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии, бяха включени в анализ чрез използване на метода с многократно запълване, за да се прогнозира броят

на жените със заболяване, което би било идентифицирано, ако жените са преминали колпоскопия.

3-годишните кумулативни оценки за абсолютен и относителен риск за откриването на \geq CIN2 и \geq CIN3 са показани в Таблица 18.

Таблица 18: NILM \geq 30 години популация: 3-годишни абсолютни и относителни рискове* на \geq CIN2 и \geq CIN3 за резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV при базовото ниво

	Резултат от анализа	Aptima HPV Assay		ДНК тест за HPV	
		Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)	Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)
\geq CIN2	Положителен	7,39 (5,12, 10,59)	22,55 (12,68, 40,10)	6,42 (4,50, 9,13)	22,71 (12,19, 42,29)
	Отрицателен	0,33 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Преобладаване (%)	0,68		0,68	
\geq CIN3	Положителен	4,66 (2,94, 7,36)	44,12 (16,91, 115,10)	4,14 (2,62, 6,52)	51,33 (17,74, 148,55)
	Отрицателен	0,11 (0,04, 0,25)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Преобладаване (%)	0,34		0,35	

*3-годишните кумулативни рискове, коригирани за други възможни отклонения, бяха сходни с рисковете в тази таблица. Поради очакваните разлики в рисковете на 1-та година и на 2-рата година за двете групи от жени в проучването с проследяване (тези с колпоскопия при базовото ниво и тези без колпоскопия при базовото ниво) бе отчетен само 3-годишният кумулативен риск за комбинираните групи.

3-годишното кумулативно преобладаване на \geq CIN2 и \geq CIN3 при жените с NILM резултати от цитологията при базовото ниво бяха 0,68% и 0,34%, респективно. Относителният риск от \geq CIN2 бе 22,55 (95% CI: 12,68, 40,10), показващ, че една жена, която е имала положителен Aptima HPV assay, бе 22,55 пъти по-вероятно да има \geq CIN2, отколкото жена, която е имала отрицателен резултат от Aptima HPV assay. Относителният риск от \geq CIN3 бе 44,12 (95% CI: 16,91, 115,10).

Клинично представяне на Aptima HPV Assay с проби с течна цитология SurePath

Проби на SurePath, третирани с Aptima Transfer Solution

Пробите с течна цитология SurePath бяха взети от жени от Канада (n=558), които бяха насочени за проследяване поради един или повече аномални Pap тестове, инфекция с HPV или някаква друга причина. Аликвотна част (0,5 mL) от всяка проба бе прехвърлена в епруветка Aptima Specimen Transfer и обработена след това с Aptima Transfer Solution. Единичен репликат от всяка проба бе тестван с Aptima HPV assay. Отделна аликуотна част (1 mL) от всяка проба бе отстранена за оценяване с наличния в търговската мрежа PCR тест за HPV. Клиничната чувствителност за откриване на заболяването, дефинирано като \geq CIN3 хистологичен резултат, бе изчислена както за Aptima HPV assay, така за PCR тест за HPV, както е показано в Таблица 19, с положителните и отрицателни прогнозни стойности.

Таблица 19: Представяне на Aptima HPV Assay и PCR тест за HPV за откриване на \geq CIN3

Представяне	Aptima HPV Assay N=558		PCR тест за HPV N=558	
	Оценка	(95% CI)	Оценка	(95% CI)
Чувствителност (%)	89,3 (25/28)	(72,8 – 96,3)	89,3 (25/28)	(72,8 – 96,3)
Специфичност (%)	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)
Преобладаване (%)	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

Таблица 20: Чувствителност на Aptima HPV Assay с проби с течна цитология SurePath и ThinPrep

Генотип на HPV	Копия/реакция	ThinPrep	SurePath
		% Положителен (95% CI)	% Положителен (95% CI)
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)

Представяне на Aptima HPV Assay с проби за вземане и транспорт на цервикални проби

Комбинираните по двойки проби с течна цитология ThinPrep и проби Aptima CSCT Kit бяха взети от 735 участници. Един милилитър (1,0 mL) от всяка проба с течна цитология ThinPrep бе разреден в 2,9 mL транспортна среда за проби Aptima и единичен репликат, тестван с Aptima HPV assay на системата Tigris DTS. Единичен репликат от всяка CSCT проба също бе тестван с Aptima HPV assay. Процентното съгласуване на Aptima HPV assay между пробата с течна цитология ThinPrep и пробата CSCT бе определено и резултати са показани в Таблица 21.

Процентното положително съгласуване бе 95,9% (95% CI: 92,6 – 97,8); процентното отрицателно съгласуване бе 95,5% (95% CI: 93,3 – 97,0); а цялостното съгласуване бе 95,6% (95% CI: 93,9 – 96,9). Наблюдавана бе силна връзка между пробите с течна цитология и транспортния комплект (кара = 0,90).

Таблица 21: Цялостно съгласуване на резултати от Aptima HPV Assay от проби с течна цитология ThinPrep и проби за комплект за вземане и транспортиране на цервикални проби Aptima, тествани на системата Tigris DTS

		Проба с течна цитология ThinPrep		Общо
		Положителен	Отрицателен	
Проба с Aptima CSCT Kit	Положителен	234	22	256
	Отрицателен	10	469	479
	Общо	244	491	735

Положително съгласуване = 95,9% (92,6 – 97,8)

Отрицателно съгласуване = 95,5% (93,3 – 97,0)

Цялостно съгласуване = 95,6% (93,9 – 96,9)

Коефициент Карра = 0,90

Аналитична чувствителност

Границата на откриване (Limit of Detection, LOD) при клиничната пределна стойност е концентрацията на РНК на HPV, която дава положителен резултат (над клиничната пределна стойност) 95% от времето. LOD на Aptima HPV assay бе определена чрез тестване на панели за разреждане от *in vitro* транскрипти (IVT) за всичките 14 високорискови генотипа и 4 заразени с HPV клетъчни линии: SiHa, HeLa, MS751 и ME180 (ATCC, Манасас, Вирджиния). При IVT панели към транспортната среда за проби бе добавен IVT при различни концентрация и след това разреден с индивидуални отрицателни проби с течна цитология ThinPrep преди тестването. При заразени с HPV клетъчни панели към сборните колекции от HPV отрицателни проби с течна цитология ThinPrep бяха добавени HPV заразени клетки при различни концентрации и след това разреждени с транспортна среда за проби преди тестването. Тридесет репликати от всяко ниво на копие бяха тествани с всяка от двете партии реагенти за общо 60 репликата. Тестването бе извършено за 14 дни, като 1 до 12 цикъла извършвани на ден и 5 репликата от даден генотип и концентрация с тестване при всеки цикъл. Границата на откриване от 95% бе изчислена от анализ на регресията на Probit на резултатите за положителност за всеки панел за разреждане.

Резултатите от анализа на Probit, Таблица 22, показват, че HPV 16, 18, 31, 33, 35, 38, 45, 58, 59 и 68 имаха 95% граници на откриване, по-малко от 100 копия/реакция; и типове 51, 52, 56 и 66 имаха 95% граници на откриване между 100 и 300 копия/реакция. Тестваните четири клетъчни линии имаха 95% граници на откриване по-малко от 1 клетка/реакция.

Таблица 22: Граница на откриване при клинична пределна стойност на Aptima HPV Assay

Цел	Граница на откриване* (95% CI)
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)

*копия на реакция за *in vitro* транскрипти и клетки на реакция за клетъчни линии

Прецизност на анализа

Прецизността на Aptima HPV assay бе оценена в две проучвания с един и същи 20-членен панел. Проучване 1 бе проведено в 3 външни изследователски центъра, за да се определи възпроизводимостта на анализа. Проучване 2 бе проведено вътрешно, за да се измери повтаряемостта на анализа. Панелът включваше 10 HPV позитивни члена с концентрация при или над границата на откриване на анализа (очаквана положителност: $\geq 95\%$), 4 HPV позитивни члена с концентрации под границата на откриване на анализа (очаквана положителност: $> 0\%$ до $< 25\%$) и 6 HPV негативни члена. HPV позитивните членове на панела бяха подготвени чрез добавяне на *in vitro* РНК транскрипти (IVT) в транспортна среда за проби (STM) или инфектирани с HPV култивирани клетки (SiHa, HeLa, ME180 и MS751; ATCC, Манасас, Вирджиния) в PreservCyt Solution. HPV негативните членове на панела бяха подготвени с STM или комбинирани остатъчни проби с течна цитология ThinPrep.

В Проучване 1, 2 оператори при всеки от 3-те изследователски центъра (1 апарат на център) извършиха 1 работен списък с Aptima HPV assay на ден за 3 дни за всеки от 3 партии с реагент. Всеки работен списък съдържа 3 реплика на всеки от членовете на панела за възпроизводимост. Сто шестдесет и две (162) индивидуални епруветки за проби бяха тествани за всеки член на панела (3 центъра x 1 апарат x 2 оператори x 3 партии x 3 работни списъка x 3 реплика). В Проучване 2 бе проведено тестване при вътрешни условия за 20 дни с общо 162 реакции, тествани за всеки член на панела (1 център x 3 апарата x 3 оператори x 3 партии x 2 работни списъка x 3 реплика).

Членовете на панела са описани в Таблица 23a (членове на панела с очаквани положителни резултати) и Таблица 23b (членове на панела с очаквани отрицателни резултати), заедно с резюме на съгласуването с очакваните резултати и стойностите за S/CO на анализа от 2,5-ти, 50-ти и 97,5-ти проценти на разпределението на S/CO. Вариабилността на S/CO на анализа за членовете на панела с очаквани положителни резултати е показана в Таблица 24 за Проучване 1 и Таблица 25 за Проучване 2.

Положителното съгласуване за HPV позитивни членове на панела с концентрации при или над границата на откриване на анализа варира от 95,1% до 100% в Проучване 1 и от 93,2% до 100% в Проучване 2 за 9 от 10-те членове на панела. Останалият HPV позитивен член на панела генерира 77,2% съгласуване в Проучване 1 и 79,0% съгласуване в Проучване 2, което бе по-ниско от очакваното, но бе съгласувано между 2-те проучвания. Отрицателното съгласуване за HPV силно отрицателни членове на панела с концентрации под границата на откриване на анализа варира от 78,8% до 93,8% в Проучване 1 и от 82,1% до 95,7% в Проучване 2. Съгласуването с очаквани резултати за HPV отрицателни членове на панела варираше от 96,9% до 100% в Проучване 1 и от 96,3% до 100% в Проучване 2.

Таблица 23а: Проучване 1 и 2 за възпроизводимост на Aptima HPV Assay: описание на панела, положително съгласуване и разпространение на процентилите на стойности за S/CO на анализа за членове на панела с очаквани положителни резултати

Описание на панела (копия или клетки/реакция)	Проучване 1 (3 изследователски центъра)	Проучване 2 (1 изследователски център)
	% положително съгласуване (95% CI)	% положително съгласуване (95% CI)
HPV 16 и HPV 18 IVT (100 копия)	100 (161/161) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa клетки (3 клетки) и HeLa клетки (7,5 клетки)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (100 копия)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (160/160) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (100 копия)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751 клетки (1 клетка)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)
ME180 клетки (0,3 клетки)	95,1 (154/162) (90,6, 97,5)	93,2 (151/162) (88,3, 96,2)
HPV 18 IVT (30 копия)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (30 копия)	100 (162/162) (97,7, 100)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
HeLa клетки (2,5 клетки)	100 (162/162) (97,7, 100)	95,6 (152/159) (91,2, 97,9)
SiHa клетки (1 клетка)*	77,2 (125/162) (70,1, 83,0)	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)

IVT = *in vitro* транскрипт. IVT бе добавен към STM и клетките бяха добавени в PreservCyt Solution.

*Очакван % положително съгласуване ~ 95%; наблюдавано по-слабо вероятно поради производствена вариабилност на член на панела.

Таблица 23b: Проучване 1 и 2 за възпроизводимост на Aptima HPV Assay: описание на панела, отрицателно съгласуване и разпространение на процентилите на стойности за S/CO на анализа за членове на панела с очаквани отрицателни резултати

Описание на панела (копия или клетки/реакция)	Проучване 1 (3 изследователски центъра)	Проучване 2 (1 изследователски център)
	% отрицателно съгласуване (95% CI)	% отрицателно съгласуване (95% CI)
HPV 18 IVT (1 копие)*	78,8 (126/160) (71,8, 84,4)	83,3 (135/162) (76,8, 88,3)
HPV 16 IVT (1 копие)*	80,9 (131/162) (74,1, 86,2)	88,3 (143/162) (82,4, 92,4)
HeLa клетки (0,05 клетки)*	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)	82,1 (133/162) (75,5, 87,2)
SiHa клетки (0,03 клетки)*	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
STM Lot 1	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM Lot 2	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM Lot 3	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
ThinPrep Pool 1	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
ThinPrep Pool 2	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)	96,3 (156/162) (92,2, 98,3)
ThinPrep Pool 3	100 (162/162) (97,7, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

STM = транспортна среда за проби; IVT = *in vitro* транскрипт. IVT бе добавен към STM и клетките бяха добавени в PreservCyt Solution.

* Очакван % отрицателно съгласуване > 75% и < 100%.

Таблица 24: Проучване 1 за възпроизводимост на Aptima HPV Assay: вариабилност на сигнала за членове на панела с очаквани положителни резултати

Описание на панела (копия или клетки/реакция)	n	Средно S/CO	Между центрове		Между оператори		Между партиди		Между работни списъци		В рамките на работните списъци		Общо	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV 16 и HPV 18 IVT (100 копия)	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
SiHa клетки (3 клетки) и HeLa клетки (7,5 клетки)	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 копия)	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 копия)	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
MS751 клетки (1 клетка)	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
ME180 клетки (0,3 клетки)	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 копия)	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 копия)	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
HeLa клетки (2,5 клетки)	162	12,4	0	0	0,4	3,3	0,4	3,1	0	0	2,3	18,4	2,4	19,0
SiHa клетки (1 клетка)	162	7,5	0,3	3,7	1,0	13,0	0	0	0	0	4,8	63,6	4,9	65,0

SD = стандартно отклонение; CV = коефициент на вариация; IVT = *in vitro* транскрипт; S/CO = съотношение на сигнал към пределна граница

[^]Една проба имаше невалиден резултат от Aptima HPV assay и не бе включена в анализите.

Забележка: Вариабилността от някои фактори може да бъде цифрово отрицателна. Това може да се случи, ако вариабилността поради тези фактори е твърде малка. В тези случаи SD и CV са показани като 0.

Таблица 25: Проучване 2 за възпроизводимост на Aptima HPV Assay: вариабилност на сигнала за членове на панела с очаквани положителни резултати

Описание на панела (копия или клетки/реакция)	n	Средно S/CO	Между апаратите		Между оператори		Между партидите		Между работни списъци		В рамките на работните списъци		Общо	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV 16 и HPV 18 IVT (100 копия)	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
SiHa клетки (3 клетки) и HeLa клетки (7,5 клетки)	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 копия)	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 копия)	162	10,8	0	0	0,1	1,3	0	0	0,2	2,2	0,7	6,1	0,7	6,6
MS751 клетки (1 клетка)	162	13,6	0	0	0,6	4,3	0	0	2,5	18,4	2,1	15,2	3,3	24,2
ME180 клетки (0,3 клетки)	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 копия)	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 копия)	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
HeLa клетки (2,5 клетки)	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
SiHa клетки (1 клетка)	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 = стандартно отклонение; CV = коефициент на вариация; IVT = *in vitro* транскрипт; S/CO = съотношение на сигнал към пределна граница

[^]Пет проби имаха невалидни резултати от Aptima HPV assay (2 за HPV 18 IVT (100 копия), 3 за HeLa клетки (2,5 клетки)) и не бяха включени в анализите.

Забележка: Вариабилността от някои фактори може да бъде цифрово отрицателна. Това може да се случи, ако вариабилността поради тези фактори е твърде малка. В тези случаи SD и CV са показани като 0.

Проведено бе и трето проучване за определяне на възпроизводимостта на анализа чрез тестване на 6-членен панел на комбинирани клинични проби с точна цитология ThinPrep. Шест уникални сборни колекции на остатъчни HPV негативни проби с точна цитология ThinPrep бяха приготвени за матрицата, две от които бяха тествани като HPV негативни членове на панела. Четири уникални сборни колекции на HPV позитивни проби с точна цитология ThinPrep бяха използвани за подготвяне на ниските (n=2) и високи (n=2) HPV позитивни членове на панела. Слабо позитивните членове на панела имаха концентрации при границата на откриване на анализа (очаквана положителност: $\geq 95\%$, определена за всяка индивидуална HPV позитивна сборна колекция от тестване на серийни разреждания на сборните колекции). Силно позитивните членове на панела имаха концентрации при 1 – 2 logs над преценената граница на откриване за всяка индивидуална HPV позитивна сборна колекция (очаквана положителност: 100% положителност). Всеки член на панела бе прехвърлен (1 mL) в епруветка Aptima Specimen Transfer, съдържаща STM в деня на тестването. Тестването бе проведено при вътрешни условия от 2 оператори, използващи 1 партида на реагента, 3 апарата, за 6 дни (3 дни за всеки оператор), тестване с 2 цикъла на ден, при които панелът бе тестван в дубликат.

Членовете на панела са описани в Таблица 26, заедно с резюме на съгласуването с очакваните резултати и стойностите за S/CO на анализа от 2,5-ти, 50-ти и 97,5-ти проценти на разпределението на сигнала. Вариабилността на S/CO на анализа за членовете на панела с очаквани положителни резултати е показана в Таблица 27.

Съгласуването бе 100% за високите HPV позитивни членове на панела, $\geq 98,6\%$ за ниските HPV позитивни членове на панела, и $\geq 94,4\%$ бяха за HPV негативни членове на панела.

Таблица 26: Проучване 3 за възпроизводимост на Aptima HPV Assay: описание на панела, процентно съгласуване

Описание на панела	% съгласуване (95% CI)
Слабо положителни 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Слабо положителни 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Силно положителни 1	100 (72/72) (94,9, 100)
Силно положителни 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Отрицателни 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Отрицателни 2	94,4 (68/72) (86,6, 97,8)

Таблица 27: Проучване 3 за възпроизводимост на Aptima HPV Assay: анализ на сигнала за членове на панела с очаквани положителни резултати

Описание на панела	n	Среден S/CO	Между апаратите		Между оператори		Между партии		Между работни списъци		В рамките на работните списъци		Общо	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Слабо положителни 1	72	9,8	0	0	0	0	0	0	2,2	22,8	3,0	30,4	3,7	38,0
Слабо положителни 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
Силно положителни 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
Силно положителни 2	72	23,9	0	0	0	0	0	0	2,9	12,3	3,0	12,4	4,2	17,4

SD = стандартно отклонение; CV = коефициент на вариация; S/CO = съотношение на сигнал към пределна граница

Забележка: Вариабилността от някои фактори може да бъде цифрово отрицателна. Това може да се случи, ако вариабилността поради тези фактори е твърде малка. В тези случаи SD и CV са показани като 0.

Кръстосана реактивност

Аналитичната специфичност на Aptima HPV assay бе оценена със среда на разтвор PreservCyt, разреден 1:2,9 в STM и с добавени култивирани бактерии, дрожди или гъбички; култивиран вирус; или нискорискови *in vitro* транскрипти на HPV. Организмите и концентрациите на теста са идентифицирани в Таблица 28. Критериите на проучването за оценяване на ефекта на наличието на микроорганизма върху специфичността на анализа бяха базирани на положителността. Кръстосана реактивност бе наблюдавана при нискорисковите генотипове на HPV 26, 67, 70 и 82, но не при някои от другите тествани организми.

Таблица 28: Панел за аналитична специфичност: организми и концентрация без кръстосана реактивност

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

Таблица 28: Панел за аналитична специфичност: организми и концентрация без кръстосана реактивност (*продължение*)

Организъм	ДНК за HPV Концентрация Без кръстосана реактивност	Организъм	ДНК за HPV Концентрация Без кръстосана реактивност
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1x10 ⁸ CFU/mL		
Дрожди/протозои			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ клетки/mL
Вируси			
Аденовирус 2	1x10 ⁷ vp/mL	Херпес симплекс вирус 1	2,5x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
Цитомегаловирус	5,6x10 ² TCID ₅₀ /mL	Херпес симплекс вирус 2	5x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL
Вирус на Епщайн-Бар	4,3x10 ⁶ vp/mL	SV40	1,2 x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL
HIV-1	1,0x10 ⁶ копия/mL		
Нетаргетираните генотипове на HPV			
HPV 6	2,5x10 ⁶ копия/mL	HPV 61	2,5x10 ⁶ копия/mL
HPV 11	2,5x10 ⁶ копия/mL	HPV 67	1 копия/mL
HPV 26	2,5 копия/mL	HPV 69	2,5x10 ⁶ копия/mL
HPV 30	2,5x10 ⁶ копия/mL	HPV 70	1 копия/mL
HPV 34	2,5x10 ⁶ копия/mL	HPV 71	2,5x10 ⁶ копия/mL
HPV 42	2,5x10 ⁶ копия/mL	HPV 73	2,5x10 ⁶ копия/mL
HPV 43	2,5x10 ⁶ копия/mL	HPV 81	2,5x10 ⁶ копия/mL
HPV 44	2,5x10 ⁶ копия/mL	HPV 82	1 копия/mL
HPV 53	2,5x10 ⁶ копия/mL	HPV 85	2,5x10 ⁶ копия/mL
HPV 54	2,5x10 ⁶ копия/mL		

vp = вирусни частици
тъканната култура 50

CFU = колонообразуващи единици TCID₅₀ = доза на заразяване на

Забележка: Получер шрифт указва типовете, при които бе наблюдавана кръстосана реактивност (> 5% положителност) при тестване с концентрации, по-големи от отбелязаните в таблицата.

Аналитичната чувствителност на Aptima HPV assay при наличието на микроорганизмите бе оценена със същия панел, описан в Таблица 28, към който също бе добавена ниска концентрация на инфектирани с HPV SiHa клетки (1 клетка на реакция). Критериите на проучването за оценяване на ефекта на наличието на микроорганизма върху чувствителността на анализа бяха базирани на положителността. Чувствителността на Aptima HPV assay не бе засегната от никой от тестваните организми.

Интерференция

Веществата, описани в Таблица 29, бяха индивидуално добавени в разтвор PreservCyt при 1% и 10% v/v или w/v, разреждени с STM и след това тествани с Aptima HPV assay. Всички вещества бяха тествани при наличието и отсъствието на инфектирани с HPV култивирани клетки (SiHa, 3 клетки/реакция). Наблюдавана бе интерференция при два от седемте лубриканта, които съдържиха Polyquaternium 15, и един от петте противогъбични медикамента, който съдържаше тиоконазол. Не бе наблюдавана интерференция при никое от другите тествани вещества.

Таблица 29: Вещества, тествани за възможна интерференция с Aptima HPV Assay

Категория на продукта	Марка или тип на продукта	Най-висока тествана концентрация*, която не пречи на функционирането на анализа
Лубрикант	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 тест проба)
	Target Brand Lubricating Liquid	0,1% v/v (0,025% v/v тест проба)
Спермицид	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
Противогъбичен/ противосърбежен медикамент	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 тест проба)
	Target Brand Miconazole 3	10% w/v
Ледена оцетна киселина	EMD M/N AX0073-11	10% v/v
Цяла кръв	цяла кръв	10% v/v

*Лични лубриканти, които съдържат Polyquaternium 15.

Очаквани резултати за система Panther: преобладаване на високорискова мРНК на HPV

Преобладаването на високорискова инфекция с HPV варира широко и се влияе от няколко фактора, за които възрастта е най-големият принос.^{32,33} В много проучвания са изследвали преобладаването на HPV, определено от детекцията на ДНК на HPV, въпреки че в няколко проучвания се докладва преобладаване на базата на детекция на онкогенна мРНК на HPV. Жени от различни клинични центрове (n=18), представляващи широко географско разпределение и разнообразна популация (10 щата в рамките на Съединените щати), бяха включени в проспективно клинично проучване, известно като изпитването CLEAR.³⁴ Както бе определено от Aptima HPV assay на системата Panther, преобладаването на мРНК-положителни проби на HPV, наблюдавани в клиничното изпитване, бе категоризирана като цяло по възрастова група и по изследователски център. Резултатите са показани в Таблица 30 за популациите с ASC-US (атипични клетки на плосък епител с неясно значение) и NILM (отрицателни за интраепителна лезия или злокачествено образуване).

Таблица 30: Преобладаване на високорискова мРНК на HPV по възрастова група, изследователски център и всички комбинирани

	Ръст на положителност % (x/n)	
	Популация с ASC-US (≥ 21 години)	Популация с NILM (≥ 30 години)
Всички	42,3 (404/956)	4,7 (512/10 860)
Възрастова група (години)		
21 до 29	60,0 (251/418)	N/A
30 до 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
Изследователски център		
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)

N/A = не е приложимо

Дизайн на клинично проучване на Aptima HPV assay с проби с течна цитология ThinPrep

Aptima HPV assay на система Panther бе оценен с помощта на остатъчни насочващи проби от цитология, взети от дали съгласие жени по време на проспективното, многоцентрово клинично проучване в САЩ, известно като изпитването CLEAR.³⁴

Изпитване CLEAR – оценяване при базовото ниво

Изпитването CLEAR бе проведено, за да се определи клиничното представяне на Aptima HPV assay на системата Tigris DTS за откриването на цервикални интраепителни неоплазми от клас 2 или по-сериозно цервикално заболяване (\geq CIN2). Изпитването CLEAR включва оценяване при базовото ниво и 3-годишна оценка за проследяване. Жените били включени или в проучването ASC-US, или в проучването NILM въз основа на резултатите от цитологията от рутинен скрининг за рак на шийката на матката. Популацията на проучването ASC-US включва жени на възраст 21 и повече години с ASC-US резултати от цитология, а популацията на проучването NILM включва жени на възраст 30 и повече години с NILM резултати от цитология. Проучването NILM бе проектирано да поддържа искане за допълнителен скрининг за жени от 30-годишна възраст, тъй като жените на тази възраст с цитологични резултати, по-големи от ASC-US, трябва да продължат с колпоскопия, независимо от техния статус за HPV.³⁵

Включени са жените от 18 клинични центъра, предимно акушеро-гинекологични клиники, които обхващаха широко географско разпределение и разнообразна популация. Жените, които отговарят на критериите, бяха разпределени в проучването ASC-US или в проучването NILM на база на пробата с точно базирана цитология ThinPrep на тяхното направление. При базовото ниво остатъчните насочващи проби от жени в проучването ASC-US и в проучването NILM бяха тествани първоначално с Aptima HPV assay на системата Tigris DTS и с наличен в търговската мрежа ДНК тест за HPV. След това пробите бяха архивирани и съхранявани при -70°C , докато не били тествани с Aptima HPV assay на системата Panther.

При базовото ниво на изпитването CLEAR (Фаза на базовото ниво) всички жени в проучването ASC-US бяха насочени към колпоскопия, независимо от техните резултати от теста за HPV. Бяха получени биопсия с ендцервикален кюретаж (ЕСС) и цервикални пункционни биопсии (1 биопсия от всеки от 4-те квадранти). Ако е била видима лезия, бе получена пункционна биопсия (насочван метод; 1 биопсия на лезия), а в квадрантите без видима лезия бяха взети биопсии при сквамocolонната връзка (произволен метод).

В проучването NILM жените, положителни при Aptima HPV assay на системата Tigris DTS и/или наличният в търговската мрежа ДНК тест за HPV, както и произволно избрани жени, които са били отрицателни при двата анализа, бяха насочени за колпоскопия за оценката на базовото ниво. Произволно избраните жени, които са били отрицателни за двата анализа, бяха включени, за да се коригира предубеждението на проверката с коригирани оценки на представянето, генерирани с помощта на метод с многократно запълване. Биопсия с ЕСС бе получена от всяка жена, на която бе проведена колпоскопия. Пункционни биопсии бяха получени само от видимите лезии (насочван метод; по 1 биопсия на лезия).

Статусът на заболяването бе определен от Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии, базира се на съгласие от най-малко 2 експерти патолози. Експертите патолози бяха маскирани спрямо статуса за HPV на жената. Те също така бяха

маскирани за статуса на цитологията, както и за хистологичните диагнози от единия и от другия. Ако и 3-мата патолози имат несъгласие, всичките 3-ма патолози прегледаха предметните стъкла на микроскоп с много глави, за да постигнат консенсус. Изследователите, клиничните специалисти и жените бяха маскирани за резултатите от теста за HPV до завършването на визитата за колпоскопия, за да се избегне предубеждение.

При базовото ниво клиничното представяне на Aptima HPV assay за детекция на \geq CIN2 и цервикални интраепителни неоплазми клас 3 или по-тежко цервикално заболяване (\geq CIN3) бе оценено спрямо статуса на цервикалното заболяване, определен при базовото ниво. Клиничното представяне на наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV също бе определен за директно сравняване с резултатите от Aptima HPV assay.

Изпитване CLEAR – проследяващо оценяване

Жените в проучването NILM от 14 клинични центъра бяха пригодни да участват в 3-годишната фаза за проследяване на проучването, ако: i) са имали визита за колпоскопия при базовото ниво и не са имали \geq CIN2, или ii) не са имали визита за колпоскопия при базовото ниво. Фазата за проследяване на проучването се състои от ежегодни визити. На тези визити за всяка жена бе извършено пробовземане от шийката на матката за цитология, а някои жени също бяха тествани с наличен в търговската мрежа тест за HPV. Жените с ASC-US или по-сериозни резултати от цитологията по време на периода за проследяване бяха насочвани към колпоскопия с използване на същите процедури за биопсия и хистологично изследване, извършени за оценката при базовото ниво на проучването NILM. Статусът на цервикално заболяване при визита за проследяване бе считан за „отрицателен“ на базата на цитологията от NILM или – за жени с анормални резултати от цитологичния тест – на базата на нормални резултати или CIN1 Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии. Жените, които имаха \geq CIN2, открит през периода на проследяване, се считаха за завършили проследяването и не посещаваха визити след откриване на \geq CIN2. Жените, които нямаха открит \geq CIN2 през периода на проследяване, но които посетиха визита по проучването в 1-та година за проследяване и/или 2-рата година за проследяване и които са посетили визита по проучването в 3-та година за проследяване се считаха за завършили проследяването.

Целта на проучването за проследяване бе да сравни кумулативния 3-годишен риск от цервикално заболяване при жените с положителни резултати от Aptima HPV assay при базовото ниво с кумулативния 3-годишен риск от цервикално заболяване при жените с отрицателни резултати от Aptima HPV assay при базовото ниво. 3-годишният статус на цервикално заболяване бе определен, както следва:

- Положителният статус на цервикално заболяване (\geq CIN2 и/или \geq CIN3) – жени, които са имали \geq CIN2, открито при базовото ниво или при проследяването.
- Отрицателен статус на цервикално заболяване ($<$ CIN2) – жени, които са завършили проследяването без откриване на \geq CIN2 и които не са считани, че имат „неопределен“ статус на цервикално заболяване.
- Неопределен статус на цервикално заболяване – жени, които са имали анормални резултати от цитологичния тест по време на проследяването и които не са имали последващ резултат от Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии, или жени с неподходяща цитология на последната им визита.
- Загубени за проследяване – жени, които не са завършили проследяването и които не са считани, че имат „неопределен“ статус на цервикално заболяване.

Клиничното представяне на Aptima HPV assay на системата Panther за детекция на \geq CIN2 и \geq CIN3 бе оценено спрямо 3-годишния статус на цервикално заболяване.

Функциониране на анализа на система Panther

ASC-US ≥ 21 години популация: клинично представяне на Aptima HPV Assay

Общо имаше 1252 жени на 21 и повече години с ASC-US резултати от цитологията, включени в проучването ASC-US – от тях 294 жени бяха оттеглени. Останалите 958 жени бяха пригодни за тестване със системата Panther. При две жени имаше липсващи проби, а 19 имаха неопределена диагноза на заболяването – всички бяха изключени от анализа. Останалите 937 жени, подлежащи на оценка, бяха на 21 и повече години с ASC-US резултати от цитологията, резултати от Aptima HPV assay на системата Panther и заключителен статус на заболяването. Деветдесет и една (91) жени имаха ≥ CIN2, а четиридесет и една (41) имаха ≥ CIN3. Преобладаването на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 при жените, подлежащи на оценка с ASC-US резултати от цитологията, бяха 9,7% и 4,4%, респективно. Резултатите от Aptima HPV assay от диагнозите на Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии са представени в Таблица 31.

Таблица 31: ASC-US ≥ 21 години популация: резултати от Aptima HPV assay от диагноза на Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии

Резултати от Aptima HPV Assay*	ДНК тест за HPV	Диагноза на Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии						
		Неопределено**	Нормално	CIN1	CIN2	CIN3	Рак	Общо
Положителен	Положителен	6	178	110	40	32	1	367
Положителен	Отрицателен	0	5	2	0	2	0	9
Положителен	Без резултат***	0	15	11	0	2	0	28
Отрицателен	Положителен	0	39	15	3	3	0	60
Отрицателен	Отрицателен	10	372	53	7	1	0	443
Отрицателен	Без резултат***	3	39	7	0	0	0	49
Общо		19	648	198	50	40	1****	956

*Всички проби имаха окончателни валидни резултати (при първоначално тестване или след разрешаване на първоначалните невалидни данни за всяка процедура).

**19 участници посетиха визитата за колпоскопия, но не можеше да се определи диагноза поради следните причини: < 5 проби за биопсия, получени като цяло с хистологични резултати Нормален/CIN1 (n=15), без взети биопсии (n=3) и изгубени предметни стъкла с биопсия (n=1).

***77 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

****Една участничка имаше аденокарцином in situ (AIS).

Оценките за клиничното представяне на Aptima HPV assay, включващи чувствителност, специфичност, положителна прогнозна стойност (PPV) и отрицателна прогнозна стойност (NPV) за откриване на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 на базата на оценяването на всички биопсии и включващи само насочените биопсии, са показани в Таблица 32, както и оценките за наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV.

Таблица 32: ASC-US ≥ 21 години популация: представяне на Aptima HPV assay и ДНК тест за HPV за откриване на ≥ CIN2 и ≥ CIN3

	Представяне	Aptima HPV Assay N=937		ДНК тест за HPV N=863*		
		Оценка	(95% CI)	Оценка	(95% CI)	
≥ CIN2	Всички биопсии					
	Чувствителност (%)	84,6 (77/91)	(75,8, 90,6)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)	
	Специфичност (%)	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)	
	Преобладаване (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)		
	Насочени биопсии**					
	Чувствителност (%)	90,0 (54/60)	(79,9, 95,3)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)	
	Специфичност (%)	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)	
	Преобладаване (%)	6,4 (60/934)		6,9 (59/861)		
	≥ CIN3	Всички биопсии				
		Чувствителност (%)	90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
Специфичност (%)		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)	
Преобладаване (%)		4,4 (41/937)		4,5 (39/863)		
Насочени биопсии**						
Чувствителност (%)		93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)	
Специфичност (%)		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)	
Преобладаване (%)		3,1 (29/935)		3,2 (28/862)		

*74 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

**Консенсусен хистологичен резултат бе изведен с използване само на резултатите от насочените биопсии. Жените без насочени биопсии отразяват нормална колпоскопия и са включени в тези анализи като незаболели (< CIN2 или < CIN3, според случая). Консенсус не бе постигнат винаги, когато са включени само насочени биопсии.

При оценяването на всички биопсии оценките за клинична чувствителност на Aptima HPV assay и наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV за откриването на \geq CIN2 и \geq CIN3, при което има налични резултати и от двата анализа, бяха сходни (разликите в оценките за чувствителност не бяха статистически значими). При \geq CIN2 разликата в чувствителността бе $-4,5\%$ (95% CI: $-12,2\%$, $2,5\%$). Оценките за клинична специфичност на Aptima HPV assay за откриването на \geq CIN2 и \geq CIN3 бяха по-високи от тези на наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV (разликите в оценките на специфичността бяха статистически значими). При \geq CIN2 разликата в специфичността бе $6,1\%$ (95% CI: $4,2\%$, $8,2\%$). Стойностите на NPV бяха сходни, но за откриването на \geq CIN2 PPV за Aptima HPV assay бе малко по-висока от PPV за наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV ($19,3\%$ спрямо $18,8\%$).

От 91 случаи на \geq CIN2 60 ($65,9\%$) бяха открити при насочени биопсии и 31 ($34,1\%$) бяха идентифицирани от произволни и/или ЕСС биопсии (т.е. не при насочени биопсии). Тези находки са сравними с резултатите от публикуваните проучвания, при които приблизително 25% до 40% от случаите на \geq CIN2 бяха идентифицирани от произволни проби и/или проби само от ЕСС биопсии.^{36,37} При използването само на насочени биопсии за определяне статуса на заболяването (като се предполага, че жените без насочени биопсии са имали нормални хистологични резултати, понеже няма наличие на видими лезии) преобладаването на \geq CIN2 и \geq CIN3 в проучването бе $6,4\%$ и $3,1\%$, респективно. Оценките за клинична чувствителност за откриването на \geq CIN2 и \geq CIN3 бяха по-високи за двата теста с използване само на насочени биопсии, отколкото оценките, изчислени с използване на всички биопсии. При двата анализа клиничната специфичност с използване само на насочени биопсии бе сходна със специфичността, получена с всички включени биопсии. Съответно, когато се използват само насочени биопсии, специфичността на Aptima HPV assay бе значително по-висока от тази на наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV.

Оценките за клиничното представяне на Aptima HPV assay и наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV са показани по възрастова група в Таблица 33 и Таблица 34 (\geq CIN2 и \geq CIN3, респективно, на базата на оценяване на всички биопсии).

Таблица 33: ASC-US ≥ 21 години популация: представяне на Aptima HPV assay и ДНК тест за HPV за откриване на ≥ CIN2 по възрастова група

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

*74 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Таблица 34: ASC-US ≥ 21 години популация: представяне на Aptima HPV assay и ДНК тест за HPV за откриване на ≥ CIN3 по възрастова група

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

*74 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Абсолютният риск от заболяване (\geq CIN2 и \geq CIN3, на базата на оценяването на всички биопсии) чрез резултат от Aptima HPV assay и относителният риск от заболяване за положителни спрямо отрицателни резултати от анализа са показани в Таблица 35, както и оценките за наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV. Относителният риск от \geq CIN2 бе 7,4 (95% CI: 4,3, 13,0), показващ, че една жена, която има положителен резултат от Aptima HPV assay, бе 7,4 пъти по-вероятно да има \geq CIN2, отколкото жена, която има отрицателен резултат от Aptima HPV assay. Относителният риск от \geq CIN3 бе 12,5 (95% CI: 4,5, 34,9).

Таблица 35: ASC-US \geq 21 години популация: абсолютни и относителни рискове на \geq CIN2 и \geq CIN3 за резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV

	Резултат от анализа	Aptima HPV Assay N=937		ДНК тест за HPV N=863*	
		Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)	Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)
\geq CIN2	Положителен	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)
	Отрицателен	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Преобладаване (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
\geq CIN3	Положителен	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)
	Отрицателен	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Преобладаване (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

*74 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Оценките за абсолютен и относителен риск за заболяване (\geq CIN2 и \geq CIN3, на база на оценяване на всички биопсии) за Aptima HPV assay и наличният в търговската мрежа ДНК тест за HPV са показани по възрастова група в Таблица 36.

Таблица 36: ASC-US \geq 21 години популация: абсолютни и относителни рискове на \geq CIN2 и \geq CIN3 за резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV по възрастова група

	Възраст	Резултат от анализа	Aptima HPV Assay N=937		ДНК тест за HPV N=863*	
			Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)	Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)
\geq CIN2	21 до 29 години		N=415		N=389	
		Положителен	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)
		Отрицателен	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Преобладаване (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 до 39 години		N=261		N=238	
		Положителен	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)
		Отрицателен	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Преобладаване (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	\geq 40 години		N=261		N=236	
		Положителен	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)
		Отрицателен	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)	
		Преобладаване (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	
\geq CIN3	21 до 29 години		N=415		N=389	
		Положителен	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Не може да се изчисли
		Отрицателен	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Преобладаване (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 до 39 години		N=261		N=238	
		Положителен	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)
		Отрицателен	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Преобладаване (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	\geq 40 години		N=261		N=236	
		Положителен	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)
		Отрицателен	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)	
		Преобладаване (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

NILM ≥ 30 години популация: клинично представяне на Aptima HPV Assay с проби с течна цитология ThinPrep при базовото ниво

Общо имаше 11 644 с NILM резултати от цитология, включени в проучването NILM, от тях 773 жени бяха оттеглени. Останалите 10 871 жени бяха пригодни за тестване със системата Panther. Единадесет жени имаха липсващи проби и бяха изключени от оценката на базовото ниво на Aptima HPV assay на системата Panther. Останалите 10 860 жени, подлежащи на оценка, бяха на 30 и повече години с NILM резултати от цитологията и резултати от Aptima HPV assay на системата Panther. От 512-те жени с положителни резултати от Aptima HPV assay на системата Panther 284 присъстваха на колпоскопия при базовото ниво. От 10 348 жени с отрицателни резултати от Aptima HPV assay 580 присъстваха на колпоскопия при базовото ниво. Двадесет (20) жени имаха ≥ CIN2, а единадесет (11) имаха ≥ CIN3; 798 жени имаха нормална/CIN1 хистология; 46 жени бяха с неопределен статус на заболяването. Резултатите от Aptima HPV assay на системата Panther от диагнозата на Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии при базовото ниво са представени в Таблица 37.

Таблица 37: NILM ≥ 30 години популация: резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV от диагноза на Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии при базовото ниво

Резултат от Aptima HPV Assay*	ДНК тест за HPV	Диагноза на Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии						
		Неопределено**	Нормално	CIN1	CIN2	CIN3	Рак	Общо
Положителен	Положителен	11	211	12	4	7	2	247
Положителен	Отрицателен	2	19	0	0	0	1	22
Положителен	Без резултат***	2	12	1	0	0	0	15
Отрицателен	Положителен	10	170	7	2	1	0	190
Отрицателен	Отрицателен	20	353	9	2	0	0	384
Отрицателен	Без резултат***	1	4	0	1	0	0	6
Общо		46	769	29	9	8	3****	864

*Всички проби имаха окончателни валидни резултати (при първоначално тестване или след разрешаване на първоначалните невалидни данни за всяка процедура).

**46 участнички посетиха визитата за колпоскопия, но не можеше да се определи диагноза поради следните причини: проби за биопсия, определени като недостатъчни (n=29), без взети биопсии (n=15) и изгубени предметни стъкла с биопсия (n=2).

***21 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

****Три жени имаха аденокарцином in situ (AIS).

Общо 10 042 жени имаха непроверен (включително неопределен) статус на заболяването при базовото ниво (Таблица 38). Тъй като само произволно избраните жени с отрицателни резултати както за Aptima HPV assay на системата Tigris DTS, така и за наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV, бяха насочени към колпоскопия, пропорцията на жените с непроверен статус на заболяването бе висок в тази група (96,6%). За да се коригира това отклонение на проверката, бе използван метод с многократно запълване, за да се оцени броят на жените със заболяване, които биха били идентифицирани, ако всички жени бяха преминали колпоскопия. Представени са и оценките на представянето, коригирани за отклонение на проверката, така и некоригираните оценки на представянето, на база на 818-те жени с проверен статус на заболяването при базовото ниво.

Таблица 38: NILM ≥ 30 години популация: класификация на подлежащите на оценка жени с NILM по резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV, статус на заболяването (≥ CIN2 и ≥ CIN3), и статус за проверка на заболяването

Резултати от Aptima HPV Assay*		Тест за ДНК за HPV	Общо жени	Проверен статус на заболяването: ≥ CIN2		Проверен статус на заболяването: ≥ CIN3		Непроверен статус на заболяването
Система Panther	Система Tigris DTS			Заболели жени (≥ CIN2)	Незаболели жени (< CIN2)	Заболели жени (≥ CIN3)	Незаболели жени (< CIN3)	Жени с неизвестен статус на заболяването (% неизвестен)
Положителен	Положителен	Положителен	313	13	189	9	193	111 (35,5%)
Положителен	Положителен	Отрицателен	37	1	18	1	18	18 (48,6%)
Положителен	Положителен	Без резултат**	22	0	13	0	13	9 (40,9%)
Положителен	Отрицателен	Положителен	70	0	34	0	34	36 (51,4%)
Положителен	Отрицателен	Отрицателен	60	0	1	0	1	59 (98,3%)
Положителен	Отрицателен	Без резултат**	10	0	0	0	0	10 (100%)
Отрицателен	Положителен	Положителен	46	0	33	0	33	13 (28,3%)
Отрицателен	Положителен	Отрицателен	113	1	41	0	42	71 (62,8%)
Отрицателен	Положителен	Без резултат**	8	0	4	0	4	4 (50,0%)
Отрицателен	Отрицателен	Положителен	236	3	144	1	146	89 (37,7%)

Таблица 38: NILM ≥ 30 години популация: класификация на подлежащите на оценка жени с NILM по резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV, статус на заболяването (≥ CIN2 и ≥ CIN3), и статус за проверка на заболяването (*продължение*)

Резултати от Aptima HPV Assay*		Тест за ДНК за HPV	Общо жени	Проверен статус на заболяването: ≥ CIN2		Проверен статус на заболяването: ≥ CIN3		Непроверен статус на заболяването
Система Panther	Система Tigris DTS			Заболели жени (≥ CIN2)	Незаболели жени (< CIN2)	Заболели жени (≥ CIN3)	Незаболели жени (< CIN3)	Жени с неизвестен статус на заболяването (% неизвестен)
Отрицателен	Отрицателен	Отрицателен	9 354	1	321	0	322	9 032 (96,6%)
Отрицателен	Отрицателен	Без резултат**	591	1	0	0	1	590 (99,8%)
Общо			10 860	20	798	11	807	10 042 (92,5%)

*Всички проби имаха окончателни резултати (при първоначално тестване или след разрешаване на първоначалните невалидни данни за всяка процедура).

**631 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Коригираното преобладаване на \geq CIN2 и \geq CIN3 при жените с NILM резултати от цитологията бяха 0,9% и 0,4%, респективно. Коригираните оценки за абсолютен и относителен риск за откриването на \geq CIN2 и \geq CIN3 при базовото ниво са показани в Таблица 39. Коригираният относителен риск от \geq CIN2 бе 7,5 (95% CI: 2,1, 26,3), показващ, че една жена, която е имала положителен Aptima HPV assay, бе 7,5 пъти по-вероятно да има \geq CIN2, отколкото жена, която е имала отрицателен резултат от Aptima HPV assay. Коригираният относителен риск от \geq CIN3 бе 24,9 (95% CI: 2,0, 307,0). Некоригираните оценки за абсолютен и относителен риск за откриването на \geq CIN2 и \geq CIN3 при базовото ниво са показани като цяло в Таблица 40 и по възрастова група в Таблица 41.

Таблица 39: NILM \geq 30 години популация: абсолютни и относителни рискове на \geq CIN2 и \geq CIN3 за резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV (оценки, коригирани за отклонение на проверката) при базовото ниво

	Резултат от анализа	Aptima HPV Assay		ДНК тест за HPV	
		Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)	Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)
\geq CIN2	Положителен	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Отрицателен	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Преобладаване (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Положителен	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Отрицателен	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Преобладаване (%)	0,4		0,4	

Таблица 40: NILM \geq 30 години популация: абсолютни и относителни рискове на \geq CIN2 и \geq CIN3 за резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV (некоригирани оценки) при базовото ниво

	Резултат от анализа	Aptima HPV Assay N=818		ДНК тест за HPV N=800*	
		Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)	Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)
\geq CIN2	Положителен	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)
	Отрицателен	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Преобладаване (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	

Таблица 40: NILM ≥ 30 години популация: абсолютни и относителни рискове на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 за резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV (некоригирани оценки) при базовото ниво (*продължение*)

	Резултат от анализа	Aptima HPV Assay N=818		ДНК тест за HPV N=800*	
		Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)	Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)
≥ CIN3	Положителен	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)
	Отрицателен	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Преобладаване (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Таблица 41: NILM ≥ 30 години популация: абсолютни и относителни рискове на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 за резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV по възрастова група (некоригирани оценки) при базовото ниво

	Възраст	Резултат от анализа	Aptima HPV Assay N=818		ДНК тест за HPV N=800*	
			Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)	Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)
≥ CIN2	30 до 39 години		N=383		N=376	
		Положителен	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)
		Отрицателен	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Преобладаване (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 Години		N=435		N=424	
		Положителен	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)
Отрицателен		1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0,4 (1/223) (0,0, 1,8)			
Преобладаване (%)		2,5 (11/435)		2,4 (10/424)		
≥ CIN3	30 до 39 години		N=383		N=376	
		Положителен	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)
		Отрицателен	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
		Преобладаване (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	≥ 40 Години		N=435		N=424	
		Положителен	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Не може да се изчисли	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Не може да се изчисли
Отрицателен		0,0 (0/319) (0,0, 0,8)	0,0 (0/223) (0,0, 1,1)			
Преобладаване (%)		1,1 (5/435)		1,2 (5/424)		

*18 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Коригираните оценки за клиничното представяне на Aptima HPV assay, включващи чувствителност, специфичност, PPV и NPV за откриване на \geq CIN2 и \geq CIN3 при базовото ниво са показани в Таблица 42, както и оценките за наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV. Некоригираните оценки за клиничното представяне са показани в Таблица 43. Aptima HPV assay и наличният в търговската мрежа ДНК тест за HPV имаха сходна чувствителност, докато специфичността бе по-висока за Aptima HPV assay (95% CI без припокриване). Оценките за прогнозна стойност на Aptima HPV assay бяха клинично значими и сходни с оценките за наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV. Стойностите на NPV бяха сходни, но за откриването на \geq CIN2 PPV за Aptima HPV assay бе малко по-висока от PPV за наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV (4,5% спрямо 3,7%).

Таблица 42: NILM \geq 30 години популация: представяне на Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV за откриване на \geq CIN2 и \geq CIN3 (оценки, коригирани за отклонение на проверката) при базовото ниво

	Представяне	Aptima HPV Assay		ДНК тест за HPV	
		Оценка	(95% CI)	Оценка	(95% CI)
\geq CIN2	Чувствителност (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Специфичност (%)	95,5	(95,1, 95,9)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,5	(2,7, 7,4)	3,7	(2,3, 6,1)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Преобладаване (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
\geq CIN3	Чувствителност (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Специфичност (%)	95,4	(95,0, 95,8)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,0	(1,6, 5,5)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,3, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Преобладаване (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Таблица 43: NILM ≥ 30 години популация: представяне на Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV за откриване на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 (некоригирани оценки) при базовото ниво

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

*18 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Директното сравняване на Aptima HPV assay на системата Panther и на наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV демонстрира сходна чувствителност и статистически значима подобрена специфичност на Aptima HPV assay спрямо наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV за откриване на \geq CIN2, показани чрез съотношенията на реално положителните и фалшиво положителните честоти (Таблица44 и Таблица45, респективно).

Таблица 44: NILM \geq 30 години популация: съотношение на реално положителните честоти (Aptima HPV Assay/ДНК тест за HPV) за жени с \geq CIN2 (некоригирани оценки) при базовото ниво

		ДНК тест за HPV		Общо
		Положителен	Отрицателен	
Aptima HPV Assay	Положителен	13	1	14 (73,7%)
	Отрицателен	3	2	5
	Общо	16 (84,2%)	3	19
Съотношение на реално положителните честоти = 0,88 (14/16) (95% CI: 0,65, 1,10)				

Таблица 45: NILM \geq 30 години популация: съотношение на фалшиво положителните честоти (Aptima HPV Assay/ДНК тест за HPV) за жени с $<$ CIN2 (некоригирани оценки) при базовото ниво

		ДНК тест за HPV		Общо
		Положителен	Отрицателен	
Aptima HPV Assay	Положителен	223	19	242 (31,0%)
	Отрицателен	177	362	539
	Общо	400 (51,2%)	381	781
Съотношение на фалшиво положителните честоти = 0,61 (242/400) (95% CI: 0,55, 0,66)				

NILM \geq 30 години популация: клинично представяне на Aptima HPV Assay на системата Panther след 3 години проследяване

Имаше 10 843 жени на възраст 30 и повече години с NILM резултати от цитология и валидни резултати от Aptima HPV assay на системата Panther при базовото ниво, които бяха пригодни за фазата за проследяване. От жените без \geq CIN2, 67,0% (7247/10 823) от жените завършиха визитата за проследяване с Pap на 1-та година, 60,3% (6517/10 814) на 2-рата година, и 58,7% (6339/10 807) на 3-та година. Като цяло, 58,8% (6 375/10 843) от жените завършили проучването (имали \geq CIN2 при базовото ниво или по време на проследяването, и/или завършили изискваните визити).

От 10 843-те жени 511 (4,7%) имаха положителни резултати от Aptima HPV assay на системата Panther при базовото ниво. От тези 511 жени 255 (49,9%) имаха или положителен, или отрицателен статус на заболяването на 3-та година на база на резултати от цитологията или от колпоскопия/биопсия. Останалите 10 332 жени имаха

отрицателни резултати от Aptima HPV assay на системата Panther при базовото ниво. От тези 10 332 жени 5 946 (57,5%) имаха или положителен, или отрицателен статус на заболяването на 3-та година. От 6 201 жени с 3-годишен статус на заболяването 47 жени имаха \geq CIN2, включително 23 с \geq CIN3; 6 154 жени имаха нормален/CIN1 от Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии. Резултатите при базовото ниво от Aptima HPV assay на системата Panther и наличния в търговската мрежа ДНК тест за HPV и 3-годишен статус на заболяването (включително оценка при базовото ниво и проследяването) от Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии са представени в Таблица 46.

Таблица 46: NILM \geq 30 години популация: класификация на жените, пригодни за фазата на проследяване по резултати от Aptima HPV Assay при базовото ниво, по резултати от ДНК тест за HPV при базовото ниво и статус на заболяването (\geq CIN2, \geq CIN3, Непроверен), определени при фазите на базово ниво и проследяване

Резултат от Aptima HPV Assay	ДНК тест за HPV	Общо жени	Проверен статус на заболяването: \geq CIN2		Проверен статус на заболяването: \geq CIN3		Непроверен статус на заболяването	
			Заболели жени (\geq CIN2)	Незаболели жени ($<$ CIN2)	Заболели жени (\geq CIN3)	Незаболели жени ($<$ CIN3)	Изгубени за проследяване	Неопределени*
Положителен	Положителен	382	23	171	16	178	167	21
Положителен	Отрицателен	97	1	48	1	48	44	4
Положителен	Без резултат**	32	2	10	1	11	17	3
Отрицателен	Положителен	281	5	129	2	132	130	17
Отрицателен	Отрицателен	9 452	15	5 476	3	5 488	3 756	205
Отрицателен	Без резултат**	599	1	320	0	321	264	14
Общо		10 843	47	6 154	23	6 178	4 378	264

*Жени, които са имали анормални резултати от цитологичния тест по време на проследяването и които не са имали последващ резултат от Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии, и жени с неподходяща цитология на последната им визита. 174 жени с неопределен статус на заболяването завършиха своето проследяване съгласно протокола.

**631 жени с резултати от Aptima HPV assay нямаха резултати от ДНК тест за HPV главно поради недостатъчен обем на цитологичната проба.

Кумулативният риск от заболяване на 3-та година (\geq CIN2 и \geq CIN3) се базира на оценката на Kaplan-Meier (анализ на таблица за смъртност) и включва заболяване, открито при базовото ниво или при проследяването. Жените, които имали някакво показание за заболяване (ASC-US или по-сериозни резултати от цитологията), но без резултат от Консенсусна комисия за разглеждане на хистологии, бяха включени в анализ чрез използване на метода с многократно запълване, за да се прогнозира броят на жените със заболяване, което би било идентифицирано, ако жените са преминали колпоскопия.

3-годишните кумулативни оценки за абсолютен и относителен риск за откриването на \geq CIN2 и \geq CIN3 са показани в Таблица 47.

Таблица 47: NILM ≥ 30 години популация: 3-годишни абсолютни и относителни рискове* на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 за резултати от Aptima HPV Assay и ДНК тест за HPV при базовото ниво

	Резултат от анализа	Aptima HPV Assay		ДНК тест за HPV	
		Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)	Абсолютен риск (95% CI)	Относителен риск (95% CI)
≥ CIN2	Положителен	7,90 (5,50, 11,27)	24,45 (13,85, 43,15)	6,43 (4,50, 9,14)	22,71 (12,20, 42,30)
	Отрицателен	0,32 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Преобладаване (%)	0,68		0,68	
≥ CIN3	Положителен	5,23 (3,34, 8,13)	57,11 (21,09, 154,62)	4,14 (2,62, 6,52)	51,34 (17,74, 148,58)
	Отрицателен	0,09 (0,04, 0,23)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Преобладаване (%)	0,34		0,35	

*3-годишните кумулативни рискове, коригирани за други възможни отклонения, бяха сходни с рисковете в тази таблица. Поради очакваните разлики в рисковете на 1-та година и на 2-рата година за двете групи от жени в проучването с проследяване (тези с колпоскопия при базовото ниво и тези без колпоскопия при базовото ниво) бе отчетен само 3-годишният кумулативен риск за комбинираните групи.

3-годишното кумулативно преобладаване на ≥ CIN2 и ≥ CIN3 при жените с NILM резултати от цитологията при базовото ниво бяха 0,68% и 0,34%, респективно. Относителният риск от ≥ CIN2 бе 24,45 (95% CI 13,85, 43,15), показващ, че една жена, която е имала положителен Aptima HPV assay на системата Panther, бе 24,45 пъти по-вероятно да има ≥ CIN2, отколкото жена, която е имала отрицателен резултат от Aptima HPV assay. Относителният риск от ≥ CIN3 бе 57,11 (95% CI: 21,09, 154,62).

Клинично представяне на Aptima HPV Assay с проби с течна цитология SurePath

Пробите с течна цитология SurePath бяха взети от жени от Канада (n=558), които бяха насочени за проследяване поради един или повече аномални Pap тестове, инфекция с HPV или някаква друга причина. Аликвотна част (0,5 mL) от всяка проба бе прехвърлена в епруветка Aptima Specimen Transfer и обработена след това с Aptima Transfer Solution. Единичен репликат от всяка проба бе тестван с Aptima HPV assay. Отделна аликуотна част (1 mL) от всяка проба бе отстранена за оценяване с наличния в търговската мрежа PCR тест за HPV. Клиничната чувствителност за откриване на заболяването, дефинирано като \geq CIN3 хистологичен резултат, бе изчислена както за Aptima HPV assay, така за PCR тест за HPV, както е показано в Таблица 48, с положителните и отрицателни прогнозни стойности.

Таблица 48: Представяне на Aptima HPV Assay и PCR тест за HPV за откриване на \geq CIN3

Представяне	Aptima HPV Assay N=558		PCR тест за HPV N=558	
	Оценка	(95% CI)	Оценка	(95% CI)
Чувствителност (%)	89,3 (25/28)	(72,8 – 96,3)	89,3 (25/28)	(72,8 – 96,3)
Специфичност (%)	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)
Преобладаване (%)	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

Представяне на Aptima HPV Assay с проби за вземане и транспорт на цервикални проби

Високорисковите HPV позитивни и високорисковите HPV негативни клинични проби, взети от популациите за скрининг (рутинна визита) и с направление (визита за колпоскопия) с Aptima CSCT Kit, бяха тествани с Aptima HPV Assay на системите Panther и Tigris DTS с помощта на две партии реагенти. Съгласуването между системите Panther и Tigris DTS за пробите CSCT е показано в Таблица 49.

При пробите CSCT цялостното съгласуване между системите Panther и Tigris DTS бе $> 98\%$, както е показано в Таблица 49. От тестваните 632 клинични проби 69 бяха CIN2+, а 38 бяха CIN3+. Чувствителността на Aptima HPV assay за откриването на CIN2+ бе 97,1% (95% C.I. 90,0% – 99,2%) на системата Panther и 98,6% (95% CI: 92,2 – 99,7) на системата Tigris DTS. Чувствителността за откриване на CIN3+ бе 100% (CI: 90,8% – 100%) на двете системи Panther и Tigris DTS.

Таблица 49: Съгласуване на резултатите от Aptima HPV Assay от пробите Aptima CSCT, тествани на системите Tigris DTS и Panther

		Система Tigris DTS		Общо
		Положителен	Отрицателен	
Система Panther	Положителен	490	3	493
	Отрицателен	9	130	139
	Общо	499	133	632

Цялостно съгласуване = 98,1% (CI 96,7 – 98,9)

Положително съгласуване = 98,2% (CI 96,6 – 99,0)

Отрицателно съгласуване = 97,7% (CI 93,6 – 99,2)

Аналитична чувствителност

Границата на откриване (Limit of Detection, LOD) при клиничната пределна стойност е концентрацията на РНК на HPV, която дава положителен резултат (над клиничната пределна стойност) 95% от времето. LOD на Aptima HPV assay бе определена чрез тестване на панели за разреждане от *in vitro* транскрипти (IVT) за всичките 14 високорискови генотипа и 4 заразени с HPV клетъчни линии: SiHa, HeLa, MS751 и ME180 (ATCC, Манасас, Вирджиния). При IVT панели към транспортната среда за проби бе добавен IVT при различни концентрации и след това разреден с индивидуални отрицателни проби с течна цитология ThinPrep преди тестването. При заразени с HPV клетъчни панели към сборните колекции от HPV отрицателни проби с течна цитология ThinPrep бяха добавени HPV заразени клетки при различни концентрации и след това разредени с транспортна среда за проби преди тестването. Тридесет репликати от всяко ниво на копие бяха тествани с всяка от двете партиди реагенти за общо 60 репликата. Тестването бе извършено за 17 дни, като 1 до 12 цикъла извършвани на ден и 5 репликата от даден генотип и концентрация, тествани при всеки цикъл. Границата на откриване от 95% бе изчислена от анализ на регресията на Probit на резултатите за положителност за всеки панел за разреждане.

Резултатите от анализа на Probit в Таблица 50 показват, че HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 и 68 имаха 95% граници на откриване, по-малко от 100 копия/реакция; и типове 52, 58 и 66 имаха 95% граници на откриване между 100 и 500 копия/реакция. Тестваните четири клетъчни линии имаха 95% граници на откриване по-малко от 1 клетка/реакция.

Таблица 50: Граница на откриване при клинична пределна стойност на Aptima HPV Assay

Цел	Граница на откриване* (95% CI)
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)

*Копия на реакция за *in vitro* транскрипти и клетки на реакция за клетъчни линии

Прецизност на анализа

Прецизността на Aptima HPV assay бе оценена в две проучвания с един и същи 20-членен панел. Проучване 1 бе проведено в 3 центъра, 2 външни и 1 вътрешен, а Проучване 2 бе проведено при вътрешни условия. Панелът включваше 13 HPV позитивни члена с концентрация при или над границата на откриване на анализа (очаквана положителност: $\geq 95\%$), 3 HPV позитивни члена с концентрации под границата на откриване на анализа (очаквана положителност: $> 0\%$ до $< 25\%$) и 4 HPV негативни члена. HPV позитивните членове на панела бяха подготвени чрез добавяне на *in vitro* РНК транскрипти (IVT) в PreservCyt Solution, разреден с транспортна среда за проби (STM) или инфектирани с HPV култивирани клетки (SiHa, HeLa и MS751; ATCC, Манасас, Вирджиния) в комбинирани негативни проби с течна цитология ThinPrep, разредени с STM. HPV негативните членове на панела бяха подготвени с PreservCyt Solution или комбинирани негативни проби с течна цитология ThinPrep, разредени с STM.

В Проучване 1, 2 оператори при всеки от 3-те изследователски центъра (1 апарат на център) извършиха 2 работни списъка с Aptima HPV assay на ден (1 с всяка партида реагент) за 3 дни. Всеки работен списък съдържаше 3 репликата на всеки от членовете на панела за възпроизводимост. Сто и осем (108) индивидуални епруветки за проби бяха тествани за всеки член на панела (3 центъра x 1 апарат x 2 оператори x 2 партиди x 3 работни списъка x 3 репликата). В Проучване 2 бе проведено тестване при вътрешни условия за 13 дни с общо 162 реакции, тествани за всеки член на панела (1 център x 3 апарата x 3 оператори x 3 партиди x 2 работни списъка x 3 репликата).

Членовете на панела са описани в Таблица 51a (членове на панела с очаквани положителни резултати) и Таблица 51b (членове на панела с очаквани отрицателни резултати), заедно с резюме на съгласуването с очакваните резултати и стойностите за S/CO на анализа от 2,5-ти, 50-ти и 97,5-ти проценти на разпределението на S/CO. Вариабилността на S/CO на анализа за членовете на панела с очаквани положителни резултати е показана в Таблица 52 за Проучване 1 и Таблица 53 за Проучване 2.

Таблица 51а: Проучване 1 и 2 за прецизност на Aptima HPV Assay: описание на панела, положително съгласуване и разпространение на процентилите на стойности за S/CO на анализа за членове на панела с очаквани положителни резултати

Описание на панела (копия или клетки/ реакция)	Проучване 1 (3 изследователски центъра)	Проучване 2 (1 изследователски център)
	% положително съгласуване (95% CI)	% положително съгласуване (95% CI)
HPV силно положителна клинична проба 1	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
HPV силно положителна клинична проба 2	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (1830 копия)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,1, 100)
HPV 18 IVT (1550 копия)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV слабо положителна клинична проба 1	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)
HPV слабо положителна клинична проба 2	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
HPV слабо положителна клинична проба 3	100 (108/108) (96,6, 100)	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)
HPV слабо положителна клинична проба 4	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 16 IVT (183 копия)	100 (102/102) (96,4, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (155 копия)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (159/159) (97,6, 100)
MS751 клетки (0,63 клетки)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa клетки (0,35 клетки)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa клетки (0,90 клетки)	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)

IVT = in vitro транскрипт

*Очакван % положително съгласуване ~ 95%; наблюдавано по-слабо вероятно поради производствена вариабилност на член на панела.

Таблица 51b: Проучване 1 и 2 за прецизност на Aptima HPV Assay: описание на панела, отрицателно съгласуване и разпространение на процентилите на стойности за S/CO на анализа за членове на панела с очаквани отрицателни резултати

Описание на панела (копия или клетки/ реакция)	Проучване 1 (3 изследователски центъра)	Проучване 2 (1 изследователски център)
	% отрицателно съгласуване (95% CI)	% отрицателно съгласуване (95% CI)
MS751 клетки (0,005 клетки)	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)
SiHa клетки (0,008 клетки)	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
HeLa клетки (0,02 клетки)	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)
HPV-отрицателна клинична проба 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-отрицателна клинична проба 2	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt Solution 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt Solution 2	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (161/161) (97,7, 100)

IVT = in vitro транскрипт.

*Очакван % отрицателно съгласуване > 75% и < 100%.

Таблица 52: Проучване 1 за прецизност на Aptima HPV Assay: вариабилност на сигнала за членове на панела с очаквани положителни резултати

Описание на панела (копия или клетки/реакция)	n	Средно S/CO	Между апаратите		Между оператори		Между партидите		Между работни списъци		В рамките на работните списъци		Общо	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV силно положителна клинична проба 1	107*	29,34	0,00	0,0	0,00	0,0	1,43	4,9	1,87	6,4	1,49	5,1	2,79	9,5
HPV силно положителна клинична проба 2	107*	30,09	0,55	1,8	0,00	0,0	1,06	3,5	0,73	2,4	2,21	7,3	2,61	8,7
HPV 16 IVT (1830 копия)	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 копия)	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
HPV слабо положителна клинична проба 1	107*	8,24	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,23	39,2	3,23	39,2
HPV слабо положителна клинична проба 2	108	7,07	0,00	0,0	0,41	5,8	0,00	0,0	0,00	0,0	4,57	64,7	4,59	65,0
HPV слабо положителна клинична проба 3	108	10,23	0,26	2,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,32	12,9	3,23	31,6	3,49	34,2
HPV слабо положителна клинична проба 4	108	4,68	0,50	10,7	0,20	4,2	0,00	0,0	0,99	21,1	3,02	64,6	3,22	68,9
HPV 16 IVT (183 копия)	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 копия)	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
MS751 клетки (0,63 клетки)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
HeLa клетки (0,35 клетки)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
SiHa клетки (0,90 клетки)	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

*Дванадесет проби имаха невалидни резултати от Aptima HPV assay (1 за HPV силно положителна клинична проба 1, 1 за HPV силно положителна клинична проба 2, 1 за HPV 16 IVT (1830 копия), 1 за HPV 18 IVT (1550 копия), 1 за HPV слабо положителна клинична проба 1, 6 за HPV 16 IVT (183 копия) и 1 за SiHa клетки (0,90 клетки)).

CV = коефициент на вариация; IVT = in vitro транскрипт; SD = стандартно отклонение

Забележка: Вариабилността от някои фактори може да бъде цифрово отрицателна. Това може да се случи, ако вариабилността поради тези фактори е твърде малка. В тези случаи SD и CV са показани като нула.

Таблица 53: Проучване 2 за прецизност на Aptima HPV Assay: вариабилност на сигнала за членове на панела с очаквани положителни резултати

Описание на панела (копия или клетки/реакция)	n	Средно S/CO	Между апаратите		Между оператори		Между партидите		Между работни списъци		В рамките на работните списъци		Общо	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV силно положителна клинична проба 1	161*	26,81	0,75	2,8	0,00	0,0	0,91	3,4	0,48	1,8	1,84	6,9	2,24	8,3
HPV силно положителна клинична проба 2	162	28,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,96	3,3	0,65	2,3	2,35	8,2	2,62	9,1
HPV 16 IVT (1830 копия)	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 копия)	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
HPV слабо положителна клинична проба 1	162	7,57	0,56	7,5	0,55	7,3	0,63	8,3	0,00	0,0	3,61	47,7	3,75	49,5
HPV слабо положителна клинична проба 2	162	7,59	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	5,25	69,2	5,25	69,2
HPV слабо положителна клинична проба 3	161*	8,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	3,0	0,00	0,0	3,48	39,4	3,49	39,5
HPV слабо положителна клинична проба 4	162	4,95	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	15,2	0,00	0,0	3,35	67,6	3,43	69,3
HPV 16 IVT (183 копия)	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 копия)	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
MS751 клетки (0,63 клетки)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
HeLa клетки (0,35 клетки)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
SiHa клетки (0,90 клетки)	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

*Шест проби имаха невалидни резултати от Aptima HPV assay (1 за HPV силно положителна клинична проба 1, 1 за HPV 16 IVT (1830 копия), 1 за HPV слабо положителна клинична проба 3, 3 за HPV 18 IVT (155 копия)).
CV = коефициент на вариация; IVT = in vitro транскрипт; SD = стандартно отклонение

Забележка: Вариабилността от някои фактори може да бъде цифрово отрицателна. Това може да се случи, ако вариабилността поради тези фактори е твърде малка. В тези случаи SD и CV са показани като нула.

Кръстосана реактивност

Тестването с потенциални кръстосано реактивни организми за Aptima HPV assay бе извършено със системата Tigris DTS. Направете справка в *Кръстосана реактивност* (Таблица 28) в раздела за система Tigris DTS за резултатите.

Интерференция

Тестването с потенциални интерфериращи вещества за Aptima HPV assay бе извършено със системата Tigris DTS. Направете справка в *Интерференция* (Таблица 29) в раздела за система Tigris DTS за резултатите.

Библиография

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. Печатна грешка в: *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, Zerath L, Zerath 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, Zerath L, Zerath 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: официално списание на International Gynecological Cancer Society.* 2013;**23(3)**:513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer.* 2013;**108**:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, Lyng E.** Prevalence of human papillomavirus infection in unselected SurePath samples using the APTIMA HPV mRNA assay. *The Journal of Molecular Diagnostics*:2013;**15(5)**:670-7.
18. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lyng E.** A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer.* 2015;**51**:1456-66.
19. **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, Lyng E.** Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above. *PLoS One.* 2016 Jan 20;**11(1)**:e0147326.
23. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lyng E.** A daunting challenge: Human Papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 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. Представена на EUROGIN 2008, ноември 12-15, 2008 г., 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)**, ноември.
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. Zerath, J.C. Zerath, 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 USA

Отдел „Поддръжка
на клиентите“: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Отдел „Техническа
поддръжка“: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

EC|REP
Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

За повече информация за контакт посетете www.hologic.com.

Този продукт е предназначен за използване само в сферата на *in vitro* диагностика при хората.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep и Tigris са търговски марки и/или регистрирани търговски марки на Hologic, Inc. и/или филиалите им в Съединените американски щати и/или други държави.

erpendorf (стилизиран) и REPEATER са търговски марки на Eppendorf AG.

RAININ е търговска марка на Rainin Instruments, LLC.

TECAN и FREEDOM EVO са търговски марки на Tecan Group AG.

SUREPATH и PREPSTAIN са търговски марки на TriPath Imaging, Inc.

Всички други търговски марки, които могат да се появят в тази листовка, принадлежат на съответните им притежатели.

Този продукт може да е покрит от един или повече патенти на САЩ, идентифицирани на www.hologic.com/patents.

© 2007-2019 Hologic, Inc. Всички права запазени.
AW-14517-3801 Rev. 007 (BG)

2019-07