

Aptima HPV Assay

Pentru utilizare în diagnosticarea *in vitro*.

Exclusiv pentru export din SUA.

Informații generale	2
Destinația de utilizare	2
Rezumat și explicație a testului	2
Principiile procedurii	3
Avertismente și precauții	4
Cerințe privind depozitarea și manipularea reactivilor	6
Recoltarea și depozitarea eșantioanelor	7
Proceduri de control al calității	30
Interpretarea testului	31
Limitări	32
Performanța testului cu Analizoarele DTS	34
Rezultate anticipate pentru Analizorul Tigris DTS: Prevalența mRNA HPV cu risc crescut ..	43
Conceptul studiului clinic asupra Aptima HPV Assay cu eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep	44
Performanța testului cu Analizorul Tigris DTS	46
Rezultate anticipate pentru Analizorul Panther: Prevalența mRNA HPV cu risc crescut ..	75
Conceptul studiului clinic asupra Aptima HPV Assay cu eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep	76
Performanța testului cu Analizorul Panther	78
Bibliografie	102

Analizoarele DTS™

Analizoare DTS	9
Reactivi și materiale furnizate	9
Materiale necesare dar disponibile separat	10
Materiale opționale	11
Procedura de testare cu analizoarele DTS	11
Note de procedură	16

Analizorul Panther™

Analizorul Panther	24
Reactivi și materiale furnizate	24
Materiale necesare dar disponibile separat	25
Materiale opționale	25
Procedura de testare cu analizorul Panther	26
Note de procedură	28

Analizorul Tigris™ DTS

Analizorul Tigris DTS	18
Reactivi și materiale furnizate	18
Materiale necesare dar disponibile separat	19
Materiale opționale	20
Procedura de testare cu analizorul Tigris DTS	20
Note de procedură	22

Informații generale

Destinația de utilizare

Aptima HPV Assay (Testul HPV Aptima) este un test de analiză a acidului nucleic prin amplificarea analitului pentru detecția calitativă *in vitro* a RNA mesager viral (mRNA) pentru proteinele E6/E7 din 14 tipuri de papilomavirus uman (HPV) cu risc ridicat (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Aptima HPV Assay nu face deosebire între cele 14 tipuri cu risc ridicat.

- Aptima HPV Assay este indicat pentru utilizarea în screeningul pacienților cu rezultate ASC-US (celule scuamoase atipice cu semnificație nedeterminată) ale testului Papanicolau pentru a determina necesitatea trimiterii la colposcopie. Rezultatele acestui test nu au rolul de a împiedica efectuarea colposcopiei la femei.
- Aptima HPV Assay poate fi utilizat în asociere cu citologia cervicală pentru screeningul suplimentar (co-testare) în vederea stabilirii prezenței sau absenței tipurilor de HPV cu risc ridicat. Aceste informații, împreună cu evaluarea de către medic a antecedentelor citologice, alți factori de risc și ghidurile profesionale, pot fi utilizate pentru a ghida deciziile luate în privința pacientei.
- Aptima HPV Assay poate fi utilizat ca prim test de screening, cu sau fără citologie cervicală, pentru a identifica femeile cu risc ridicat de apariție a cancerului de col uterin sau prezența bolii într-un stadiu avansat. Aceste informații, împreună cu evaluarea de către medic a antecedentelor de screening ale pacientei, alți factori de risc și ghidurile profesionale, pot fi utilizate pentru a ghida deciziile luate în privința pacientei.

Eșantioanele cervicale recoltate în flacoane pentru testul Papanicolau ThinPrep™ care conțin soluție PreservCyt™ pot fi testate cu Aptima HPV Assay înainte sau după procesarea Papanicolau, la fel ca și eşantioanele cervicale recoltate cu trusa de recoltare și transport al eşantioanelor cervicale Aptima. Testul poate fi utilizat pentru a testa aceste tipuri de eşantioane pe analizoare Direct Tube Sampling (DTS), analizorul DTS Tigris sau analizorul Panther. Eșantioanele de țesut cervical recoltate în lichidul conservant SurePath pot fi testate cu Aptima HPV Assay pe analizorul DTS Tigris și pe analizorul Panther.

Rezumat și explicație a testului

Cancerul de col uterin este unul dintre cele mai răspândite tipuri de cancer la femei, la nivel mondial. HPV este agentul etiologic care generează mai mult de 99% din toate cazurile de cancer de col uterin.^{1,2,3} HPV este un virus DNA răspândit, transmis prin contact sexual, care cuprinde mai mult de 100 de genotipuri.⁴

Genomul viral al HPV este de tip DNA dublu catenar, circular, de aproximativ 7900 perechi de baze ca lungime. Genomul are opt cadre de citire deschise suprapuse. Există șase gene timpurii (E), două gene tardive (L) și o regiune de control lungă netranslatată. Genele L1 și L2 codifică proteinele majore și minore ale capsidului. Genele timpurii reglează replicarea virală a HPV. Genele E6 și E7 din genotipurile HPV cu risc ridicat sunt cunoscute drept oncogene. Proteinele exprimate de mRNA policistronic E6/E7 alterează funcțiile celulare ale proteinei p53 și proteinei retinoblastomului, conducând la ruperea punctelor de control ale ciclului celular și la instabilitatea genomului celular.^{5,6}

Paisprezece tipuri de HPV sunt considerate patogene sau cu risc ridicat de boală cervicală.⁷ Mai multe studii au constatat o legătură între genotipurile 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 și 68 și progresia bolii.^{2,5,8} Pacientele cu o infecție persistentă cu unul dintre aceste tipuri au un risc ridicat de apariție a displaziei severe sau a carcinomului cervical.^{7,9}

Infecțiile cu HPV sunt foarte răspândite și, în cazul celor mai multe femei, organismul elimină infecțiile cu HPV într-un interval de 6 până la 12 luni.^{8, 10} Prezența acidului nucleic al HPV nu înseamnă prezența displaziei cervicale sau a cancerului de col uterin. Totuși, o abordare eficientă pentru detecția bolii cervicale este de a ținti acele elemente oncogene ale HPV care stimulează infecția virală persistentă și transformarea celulară.³

Performanța clinică a Aptima HPV Assay în screeningul primar pentru cancerul de col uterin

Performanța clinică a Aptima HPV Assay atunci când este utilizat într-o modalitate de screening primar a fost investigată în cadrul mai multor studii de către investigatori independenți. Treisprezece publicații revizuite inter pares^{11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23} din zece studii clinice separate indică performanța testului HPV Aptima în screeningul primar la femeile înrolate din nouă țări (China, Canada, Franța, Mexic, Anglia, Danemarca, Olanda, Statele Unite și Germania). Datele din aceste studii arată că Aptima HPV Assay are o performanță clinică similară comparativ cu alte teste HPV validate din punct de vedere clinic atunci când este utilizat în screeningul primar pentru boala pre-canceroasă și cancerul de col uterin.

Principiile procedurii

Aptima HPV Assay implică trei etape principale, care au loc într-un singur tub: captura analitului, amplificarea analitului prin amplificare mediată prin transcripție (TMA)²⁴ și detecția produselor de amplificare (amplicon) prin dozare prin hibridizare protejată (HPA).²⁵ Testul conține un control intern (CI) pentru a monitoriza captarea, amplificarea și detecția acidului nucleic, ca și erorile operatorului sau ale instrumentului.

Eșantioanele sunt recoltate sau transferate într-un tub care conține mediul de transport (MTE) care lizează celulele, eliberează mRNA-ul și îl protejează împotriva degradării în timpul depozitării. Când este efectuat Aptima HPV Assay, analitul mRNA este izolat de eșantion prin utilizarea oligomerilor de captură care sunt legați de microparticule magnetice. Oligomerii de captură conțin secvențe complementare unor regiuni specifice ale moleculelor analitului mRNA HPV, precum și o catenă de reziduuri de deoxiadenozină. În timpul etapei de hibridizare, regiunile specifice secvenței ale oligomerilor de captură se leagă de regiuni specifice ale moleculei analitului mRNA HPV. Complexul oligomer de captură/analit este apoi captat din soluție prin scăderea temperaturii reacției la temperatura camerei. Această reducere de temperatură permite producerea hibridizării între regiunea cu deoxiadenozină a oligomerului de captură și moleculele de polideoxitimidină care sunt atașate în mod covalent de particulele magnetice. Microparticulele, inclusiv moleculele analitului mRNA HPV captate legate de acestea, sunt trase către partea laterală a tubului de reacție utilizând magneți iar supernatantul este aspirat. Particulele sunt spălate pentru a înlătura matricea reziduală a eșantionului care poate conține inhibitori pentru amplificare.

După ce este finalizată captura analitului, mRNA HPV este amplificat utilizând TMA, care este o metodă de amplificare a acidului nucleic bazată pe transcripție care utilizează două enzime, transcriptaza inversă a MMLV și T7 RNA polimerază. Transcriptaza inversă este utilizată pentru a genera o copie DNA a secvenței analitului mRNA care conține o secvență promotor pentru T7 RNA polimerază. T7 RNA polimerază produce mai multe copii de amplicon RNA din modelul copiei DNA.

Detecția ampliconului este realizată prin HPA utilizând probe de acid nucleic monocatenar marcate chemiluminescent care sunt complementare ampliconului. Probele de acid nucleic marcate hibridizează în mod specific cu ampliconul. Reactivul de selecție face diferența între probele hibridizate și cele nehibridizate prin inactivarea marcajului de pe probele nehibridizate.

În timpul etapei de detecție, lumina emisă de hibridii RNA-DNA marcați este măsurată ca semnale fotonice numite unități relative de lumină (RLU) într-un luminometru. Rezultatele finale ale testului sunt interpretate pe baza raportului semnal-prag pentru analit (S/P).

CI este adăugat la fiecare reacție prin intermediul reactivului de captură a analitului. CI monitorizează etapele de captură a analitului, de amplificare și de detecție ale testului. Semnalul CI în fiecare reacție este diferențiat de semnalul HPV prin cinetica diferită a emisiei de lumină de la probe cu marcaje diferite.²⁶ Ampliconul specific CI este detectat utilizând o probă cu o emisie rapidă de lumină (semnal intermitent). Ampliconul specific HPV este detectat utilizând probe cu o cinetică relativ mai lentă a emisiei de lumină (semnal stabil). Dozarea cu cinetică duală (DKA) este o metodă utilizată pentru a diferenția între semnalele intermitente și cele cu semnal stabil.²⁶

Avertismente și precauții

- A. Pentru utilizare în diagnosticarea *in vitro*.
- B. Pentru avertismente și precauții specifice suplimentare, consultați manualele operatorului pentru Analizoarele DTS, Analizorul Tigris DTS și Analizorul Panther.

În legătură cu laboratorul

- C. Utilizați doar instrumentarul și consumabilele de laborator de unică folosință prevăzute sau specificate.
- D. Folosiți precauțiile de laborator obișnuite. Nu consumați alimente sau băuturi și nu fumați în zonele de lucru desemnate. Purtați mănuși fără talc de unică folosință, ochelari de protecție și halate de laborator atunci când maneveți eșantioane și reactivi din trusă. Spălați-vă cu atenție pe mâini după ce maneveți eșantioane și reactivi din trusă.
- E. **Avertisment: Substanțe iritante și corozive:** Evitați contactul Auto Detect 1 și Auto Detect 2 cu pielea, ochii și mucoasele. În cazul în care aceste lichide intră în contact cu pielea sau ochii, spălați zona afectată cu apă. În cazul vărsării acestor lichide, diluați suprafața afectată cu apă și apoi ștergeți.
- F. Suprafețele de lucru, pipetele și alte echipamente trebuie decontaminate în mod regulat cu soluție de hipoclorit de sodiu între 2,5% și 3,5% (între 0,35 M și 0,5 M). Consultați *Procedura de testare cu analizoarele DTS*, *Procedura de testare cu analizorul Tigris DTS* sau *Procedura de testare cu analizorul Panther DTS* pentru informații suplimentare.

Aspecte specifice Analizoarelor DTS

- G. Pentru a preveni contaminarea zonelor de laboratoare cu ampliconi, zona laboratorului trebuie astfel organizată cu un flux de lucru unidirecțional, de la pregătirea reactivilor până la detecție. Eșantioanele, echipamentele și reactivii nu trebuie să revină în zona în care a fost efectuată o etapă anterioară. De asemenea, personalul nu trebuie să se întoarcă în zonele de activitate anterioare fără măsuri corespunzătoare de protecție împotriva contaminării. Se recomandă cu insistență crearea unei zone separate pentru detecție.

În legătură cu eșantioanele

- H. Mențineți condiții de temperatură corespunzătoare pe parcursul expedierii și depozitării eșantioanelor pentru a asigura integritatea acestora. Stabilitatea eșantioanelor nu a fost evaluată în condiții de expediere și depozitare diferite de cele recomandate.
- I. Datele de expirare prevăzute pe trusele și tuburile de recoltare/transfer al eșantioanelor fac referire la locația de recoltare/transfer, și nu la unitatea de testare. Eșantioanele recoltate/transferate în orice moment anterior acestor date de expirare sunt valide pentru testare cu condiția ca acestea să fi fost transportate și depozitate conform prospectului din ambalaj, chiar dacă aceste date de expirare au fost depășite.
- J. Eșantioanele prezintă potențial contagios. Aplicați Precauții universale la efectuarea acestui test. Directorul laboratorului trebuie să stabilească metodele adecvate de manipulare și eliminare. Această procedură trebuie efectuată exclusiv de personal instruit corespunzător pentru manipularea materialelor contagioase.
- K. Evitați contaminarea încrucișată pe parcursul etapelor de manipulare a eșantioanelor. Asigurați-vă că recipientele cu eșantioane nu se ating între ele și eliminați materialele utilizate fără a le trece pe deasupra recipientelor deschise. Schimbați mănușile dacă se ating de eșantioane.
- L. În momentul perforării, din capacele tuburilor se poate scurge lichid în anumite condiții. Consultați *Procedura de testare cu analizoarele DTS*, *Procedura de testare cu analizorul Tigris DTS* sau *Procedura de testare cu analizorul Panther DTS* pentru informații suplimentare.
- M. Eșantioanele pentru citologie în mediu lichid ThinPrep și eșantioanele cervicale recoltate cu trusa de recoltare și transport (RTEC) trebuie respinse în cazul în care în tubul de probă a fost lăsat un dispozitiv de recoltare.
- N. Eșantioanele pentru citologie în mediu lichid SurePath trebuie respinse în cazul în care în flacon nu există un dispozitiv de recoltare.

În legătură cu testul

- O. Depozitați reactivii la temperaturile prevăzute. Performanța testului poate fi afectată de utilizarea unor reactivi depozitați necorespunzător.
- P. Evitați contaminarea microbiană și ribonucleică a reactivilor.
- Q. Nu utilizați trusa după data de expirare.
- R. Nu interschimbați, amestecați sau combinați reactivi de testare sau calibratori din truse cu numere de lot diferite.
- S. Fluidele de testare Aptima, reactivii de auto detecție Aptima, conservantul de fluid de sistem Aptima (doar pentru Analizoare DTS și Analizor DTS Tigris) și controalele Aptima HPV Assay (doar pentru Analizor DTS și Analizor DTS Tigris) nu fac parte din Lotul principal; poate fi utilizat orice lot.
- T. Este necesară amestecarea atentă a reactivilor de dozare pentru a obține rezultate precise ale testării.
- U. Trebuie folosite vârfuri cu tampoane hidrofobe.

Aspecte specifice Analizelor DTS

- V. Trebuie folosite cel puțin două pipetoare cu repetare dedicate utilizării la acest test: unul în vederea utilizării în etapa de **captură a analitului** și de **amplificare**, și unul în vederea utilizării în etapele de **post amplificare**.
- W. În timpul folosirii pipetoarelor cu repetare pentru adăugarea reactivului, nu atingeți tubul cu vârful de pipetă pentru a preveni transferul de la un tub la altul.
- X. Toate pipetoarele trebuie curățate în mod regulat, conform descrierii din *Note de procedură*.
- Y. Sunt necesare cel puțin două instrumente SB100™ separate, unul pentru captura analitului/amplificare și unul pentru post amplificare.
- Z. NU refolosiți cartoanele de sigilare. Pentru fiecare etapă trebuie folosite cartoane de sigilare noi.

Cerințe privind depozitarea și manipularea reactivilor

Nu folosiți reactivi după data de expirare înscrisă pe flacoane. Consultați informațiile de mai jos pentru instrucțiunile de depozitare.

- A. Următorii reactivi sunt depozitați între 2 °C și 8 °C (refrigerați) în momentul primirii:
 - Reactiv HPV de amplificare
 - Reactiv HPV enzimatic
 - Reactiv HPV pentru marcare
 - Reactiv HPV control intern
 - Calibratori pozitivi și Calibratori negativi HPV
 - Controale pozitive și controale negative HPV (doar pentru Analizoare DTS și Analizor Tigris DTS)
- B. Următorii reactivi sunt depozitați între 15 °C și 30 °C (la temperatura camerei):
 - Soluție de reconstituire amplificare HPV
 - Soluție de reconstituire enzimatică HPV
 - Soluție de reconstituire marker HPV
 - Reactiv de captură a analitului HPV
 - Reactiv de selectare HPV
 - Soluție de spălare
 - Reactiv ulei
 - Soluție-tampon pentru lichidul de dezactivare
 - Reactiv de auto detecție 1
 - Reactiv de auto detecție 2
 - Conservant fluid de sistem Aptima (doar pentru Analizor Tigris DTS)
- C. După reconstituire, următorii reactivi sunt stabili timp de 30 de zile atunci când sunt depozitați între 2 °C și 8 °C:
 - Reactiv HPV de amplificare

- Reactiv HPV enzimatic
Reactiv HPV pentru marcare
- D. Reactivul de captare a analitului de lucru (wTCR) este stabil timp de 30 de zile atunci când este depozitat între 15 °C și 30 °C. A nu se refrigera.
- E. Eliminați orice reactivi reconstituiți și wTCR nefolosiți după 30 de zile sau după data de expirare a Lotului principal, oricare dintre acestea survine mai întâi.
- F. Reactivii de dozare Aptima HPV assay sunt stabili timp de 48 de ore în total atunci când sunt depozitați în cadrul Analizorului Tigris DTS.
- G. Reactivii de dozare Aptima HPV assay sunt stabili timp de 72 de ore în total atunci când sunt depozitați în cadrul Analizorului Panther.
- H. Reactivul pentru marker și reactivul pentru marker reconstituit sunt fotosensibili. Depozitați reactivii în locuri ferite de lumină.
- I. Nu congelați reactivii.

Recoltarea și depozitarea eșantioanelor

- A. Recoltarea și procesarea eșantioanelor.

Eșantioanele pentru citologie în mediu lichid ThinPrep

1. Recoltați eșantioanele cervicale în flacoane pentru testul Papanicolau ThinPrep care conțin soluție PreservCyt cu dispozitive de tip perie sau spatulă de recoltare cervicală, conform instrucțiunilor producătorului.
2. Înainte sau după procesarea cu ajutorul Analizorului ThinPrep 2000, ThinPrep 3000, Procesor ThinPrep 5000 sau Procesor ThinPrep 5000 cu Autoloader, transferați 1 ml din eșantionul pentru citologie în mediu lichid ThinPrep într-un tub de transfer al eșantioanelor Aptima conform instrucțiunilor de pe prospectul din ambalajul trusei de transfer al eșantionului Aptima.

Eșantioanele pentru citologie în mediu lichid SurePath (doar pentru Analizor Tigris DTS și Analizor Panther)

1. Recoltați un eșantion pentru citologie în mediu lichid SurePath conform instrucțiunilor de utilizare a testului Papanicolau SurePath și/sau a Analizorului PrepStain.
2. Transferați eșantionul pentru citologie în mediu lichid SurePath într-un tub de transfer al eșantioanelor Aptima conform instrucțiunilor de pe prospectul din ambalajul trusei de transfer al eșantionului Aptima.

Eșantioanele din trusa de recoltare și transport al eșantioanelor cervicale Aptima

Recoltați eșantionul conform instrucțiunilor de utilizare a Trusei RTEC Aptima

- B. Transport și depozitare înaintea testării.

Eșantioanele pentru citologie în mediu lichid ThinPrep

1. Transportați eșantioanele pentru citologie în mediu lichid ThinPrep la temperaturi între 2 °C și 30 °C.
2. Eșantioanele trebuie transferate într-un tub de transfer al eșantioanelor Aptima în termen de 105 zile de la recoltare.

- Înainte de transfer, eșantioanele pentru citologie în mediu lichid ThinPrep trebuie depozitate la temperaturi între 2 °C și 30 °C, fără a depăși 30 de zile la temperaturi peste 8 °C.
- Eșantioanele pentru citologie în mediu lichid ThinPrep transferate într-un tub de transfer al eșantioanelor Aptima pot fi depozitate la temperaturi între 2 °C și 30 °C timp de maxim 60 de zile.
- Dacă este necesară o perioadă de depozitare prelungită, eșantionul pentru citologie în mediu lichid ThinPrep sau eșantionul pentru citologie în mediu lichid ThinPrep diluat în tubul de transfer al eșantioanelor poate fi depozitat la temperaturi de -20 °C sau mai scăzute timp de maxim 24 de luni.

Eșantioanele pentru citologie în mediu lichid SurePath (doar pentru Analizor Tigris DTS și Analizor Panther)

- Transportați eșantioanele pentru citologie în mediu lichid SurePath la temperaturi între 2 °C și 25 °C.
- Eșantioanele trebuie transferate într-un tub de transfer al eșantioanelor Aptima în termen de 7 zile de la recoltare.
- Înainte de transfer, eșantioanele pentru citologie în mediu lichid SurePath trebuie depozitate la temperaturi între 2 °C și 25 °C.
- Eșantioanele pentru citologie în mediu lichid SurePath transferate într-un tub de transfer al eșantioanelor Aptima pot fi depozitate la temperaturi între 2 °C și 25 °C timp de maxim 7 zile.

Eșantioanele din trusa de recoltare și transport al eșantioanelor cervicale Aptima

- Transportați și depozitați eșantioanele la temperaturi între 2 °C și 30 °C timp de maxim 60 de zile.
- Dacă este necesară o perioadă de depozitare prelungită, eșantioanele din trusa de transport pot fi depozitate la temperaturi de -20 °C sau mai scăzute timp de maxim 24 de luni.

- C. Tratatamentul eșantioanelor pentru citologie în mediu lichid SurePath (doar pentru Analizor Tigris DTS și Analizor Panther).

Notă: *Eșantioanele pentru citologie în mediu lichid SurePath trebuie tratate cu soluție de transfer Aptima înainte de testarea cu Aptima HPV Assay.*

- Soluția de transfer Aptima (doar pentru analizoarele Tigris DTS și Panther).

Eșantioanele tratate pot fi depozitate la temperaturi între 2 °C și 8 °C timp de maxim 17 zile înainte de testarea cu Aptima HPV assay. Consultați prospectul din ambalajul trusei de transfer al eșantioanelor Aptima pentru detalii suplimentare.

- D. Depozitarea eșantionului după testare.

- Eșantioanele care au fost testate trebuie depozitate în poziție verticală într-un stativ.
- Tuburile cu eșantioane trebuie acoperite cu o protecție nouă, curată, din plastic sau folie.
- În cazul în care probele testate trebuie congelate sau expediate, înlăturați dopul penetrabil și aplicați dopuri noi, nepenetrabile pe tuburile de eșantioane. În cazul în care eșantioanele trebuie expediate pentru testare într-o altă unitate, trebuie menținute temperaturile prevăzute. Înainte de a înlătura dopurile de pe probele testate și acoperite din nou cu dopuri, tuburile cu eșantioane trebuie centrifugate timp de 5 minute la 420 Forță Centrifugală Relativă (RCF) pentru a readuce tot lichidul la fundul tubului.

Notă: *Eșantioanele trebuie expediate în conformitate cu reglementările privind transportul aplicabile la nivel național și internațional.*

Analizoare DTS

Mai jos sunt enumerați reactivii pentru Aptima HPV assay pentru Analizoarele DTS. Alături de numele reactivului sunt notate și simbolurile de identificare a reactivilor.

Reactivi și materiale furnizate

Notă: Pentru informații despre declarațiile privind pericolele sau precauțiile ce pot fi asociate reactivilor, consultați Safety Data Sheet Library (Biblioteca cu fișele tehnice de securitate) la www.hologic.com/sds.

Trusă Aptima HPV assay, 100 teste, Nr. cat. 302610 (4 cutii)

Calibratorii și controalele pot fi achiziționate separat. Consultați mai jos numerele de catalog pentru fiecare cutie în parte.

Cutie frigorifică Aptima HPV (depozitați între 2 °C și 8 °C în momentul primirii)

Simbol	Componentă	Cantitate
A	Reactiv de amplificare HPV <i>Acizi nucleici neinfecțioși uscați în soluție tamponată conținând < 5% agent de expandare.</i>	1 flacon
E	Reactiv enzimatic HPV <i>Transcriptază inversă și polimeraza ARN uscată în soluție tamponată HEPES conținând < 10% reactiv de expandare.</i>	1 flacon
P	Reactiv pentru marker HPV <i>Markeri ADN chemiluminescent ne-infecțioși (< 500 ng/flacon) uscați în succinat soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	1 flacon
IC	Reactiv de control intern HPV <i>Transcripție ARN ne-infecțioasă în soluție tamponată ce conține < 5% detergent.</i>	1 flacon

Cutie Aptima HPV la temperatura camerei (depozitați între 15 °C și 30 °C în momentul primirii)

Simbol	Componentă	Cantitate
AR	Soluție de reconstituire pentru amplificarea HPV <i>Soluție apoasă conținând conservanți.</i>	1 flacon
ER	Soluție de reconstituire a enzimei HPV <i>Soluție tamponată HEPES conținând surfactant și glicerol.</i>	1 flacon
PR	Soluție de reconstituire a markerului HPV <i>Succinat soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	1 flacon
S	Reactiv de selecție HPV <i>Soluție tamponată borat 600 mM conținând surfactant.</i>	1 flacon
TCR	Reactiv de captură a analitului HPV <i>Acid nucleic ne-infecțios în soluție tamponată conținând faza solidă (< 0,5 mg/ml).</i>	1 flacon
	Cartoane de sigilare	1 pachet
	Coliere reconstituire	3

Cutie calibratori Aptima HPV (Nr. Cat. 302554)
(depozitați între 2 °C și 8 °C în momentul primirii)

Simbol	Componentă	Cantitate
PCAL	Calibrator pozitiv HPV <i>Transcripție in vitro HPV 16 ne-infecțioasă la 1.000 de copii per ml în soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	5 flacoane
NCAL	Calibrator negativ HPV <i>Soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	5 flacoane

Cutie controale Aptima HPV (Nr. Cat. 302556)
(depozitați între 2 °C și 8 °C în momentul primirii)

Simbol	Componentă	Cantitate
PC	Control pozitiv HPV <i>Celule de cultură lizate inactivate HPV negative și HPV pozitive la 25 de celule per ml în soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	5 flacoane
NC	Control negativ HPV <i>Celule de cultură lizate inactivate HPV negative în soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	5 flacoane

Materiale necesare dar disponibile separat

Notă: Materialele disponibile de la Hologic au numerele de catalog notate, cu excepția cazului în care se specifică în mod diferit.

	<u>Nr. Cat.</u>
Luminometru Leader™ HC+	104747
Sistem de captură a analitului (TCS) Hologic	104555
2 băi cu încălzire uscată/vortex SB100	105524F
Trusă Aptima Auto Detect	301048C
Trusă lichide pentru testare Aptima	302002C
Micropipetor, 1.000 µl RAININ PR1000	104216
2 pipetoare eppendorf Repeater Plus	105725
Vârfuri pipetor cu repetare (2,5 ml, 5,0 ml, 25,0 ml)	—
Vârfuri, 1.000 µl P1000	105049
<i>Vârfurile cu diametre speciale sunt disponibile numai de la Hologic</i>	
Unități cu zece tuburi (TTU)	TU0022
Stativ pentru TTU	104579
Casete cu zece vârfuri [de pipetă] (TTC)	104578
Trusă de transfer eşantion Aptima	301154C
Trusă de recoltare și transport al eşantioanelor cervicale Aptima	302657
Clor, hipoclorit de sodiu soluție de minim 5% sau 0,7 M	—
Mănuși de unică folosință	—
Capace penetrabile Aptima	105668
Capace înlocuitoare nepenetrabile	103036A

Materiale opționale

	<u>Nr. Cat.</u>
Instrument TECAN Freedom EVO 100/4	900932
Ansamblu placă platformă, DTS 800	105200
Vârfuri, 1.000 µl conductive, detectoare de lichid	10612513 (Tecan)
Rezervor reactiv (modul sfert 40 ml)	104765
Rezervor reactiv divizat (modul sfert 19 ml x 2)	901172
Întăritor de clor pentru curățare	302101

Procedura de testare cu analizoarele DTS

A. Pregătirea zonei de lucru/echipamentelor

- Înainte de începerea testării, ștergeți suprafețele de lucru și pipetoarele cu hipoclorit de sodiu soluție de 2,5% până la 3,5% (0,35 M până la 0,5 M). Lăsați soluția să intre în contact cu suprafețele și pipetoarele timp de cel puțin 1 minut iar apoi clătiți cu apă. Nu lăsați soluția să se usuce. Acoperiți suprafața mesei pe care va fi efectuată testarea cu folii de protecție pentru masa de laborator captușite cu plastic, absorbante, curate.
- Așezați un număr suficient de casete cu zece vârfuri în sistemul de captură a analitului (TCS). Asigurați-vă că recipientul de spălare a TCS este umplut cu soluție de spălare iar rampa de aspirare este conectată la pompa de aspirație. Consultați *Manualul operatorului sistemului de captură a analitului*.
- Pregătiți instrumentul TECAN Freedom EVO conform instrucțiunilor din Manualul operatorului și fișa de aplicare HPV.
- Pregătiți instrumentul SB100 de preamplificare conform instrucțiunilor din Manualul operatorului și fișa de aplicare HPV. Porniți instrumentul și începeți protocolul „APTIMA HPV PREAMP” pentru ca instrumentul să poată atinge temperatura de 62 °C.
- La finalizarea etapei de preamplificare, pregătiți instrumentul SB100 de post amplificare conform instrucțiunilor din Manualul operatorului și fișa de aplicare HPV. Porniți instrumentul și începeți protocolul „APTIMA HPV PSTAMP” pentru ca instrumentul să poată atinge temperatura de 62 °C.
- La finalizarea etapei de amplificare, pregătiți luminometrul Leader HC+ conform instrucțiunilor din Manualul operatorului după adăugarea reactivului pentru marcarea, așa cum este descris în etapele de post amplificare.

B. Reconstituirea reactivului/pregătirea unei noi truse

Notă: *Reconstituirea reactivului trebuie efectuată înainte de începerea transferului eșantionului.*

- Pentru a reconstitui reactivii de amplificare Aptima HPV, enzimatici și ai markerului, combinați recipientele de reactiv liofilizat cu soluția de reconstituire. Dacă au fost păstrate la frigider, lăsați soluțiile de reconstituire să ajungă la temperatura camerei înainte de utilizare:
 - Împerecheați fiecare soluție de reconstituire cu reactivul său liofilizat. Asigurați-vă că soluția de reconstituire și reactivul liofilizat au etichete de aceeași culoare înainte de a monta colierul de reconstituire.
 - Deschideți flaconul de reactiv liofilizat și introduceți cu fermitate capătul crestă al colierului de reconstituire în apertura flaconului (Figura 1, Etapa 1).
 - Deschideți recipientul de soluție de reconstituire ce îi corespunde și așezați capacul pe o suprafață de lucru curată, protejată.

- d. Ținând recipientul de soluție pe masă, introduceți cu fermitate celălalt capăt al colierului de reconstituire în apertura flaconului (Figura 1, Etapa 2).
- e. Întoarceți cu atenție ansamblul format din recipient și flacon. Lăsați soluția să se scurgă în recipientul de sticlă (Figura 1, Etapa 3).
- f. Rotiți ușor soluția în flacon pentru a se amesteca complet. Evitați crearea spumei în timpul rotirii flaconului (Figura 1, Etapa 4).
- g. Așteptați ca agentul liofilizat să se constituie în soluție, apoi întoarceți ansamblul format din recipient și flacon, înclinând la un unghi de 45° pentru a minimiza crearea spumei (Figura 1, Etapa 5). Lăsați să se scurgă tot lichidul înapoi în recipient.
- h. Scoateți colierul de reconstituire și flaconul de sticlă (Figura 1, Etapa 6).
- i. Puneți din nou capacul la recipientul de plastic. Înregistrați inițialele operatorului și data reconstituirii pe flacoanele de reactiv reconstituit (Figura 1, Etapa 7).
- j. Eliminați atât colierul de reconstituire cât și flaconul de sticlă (Figura 1, Etapa 8).

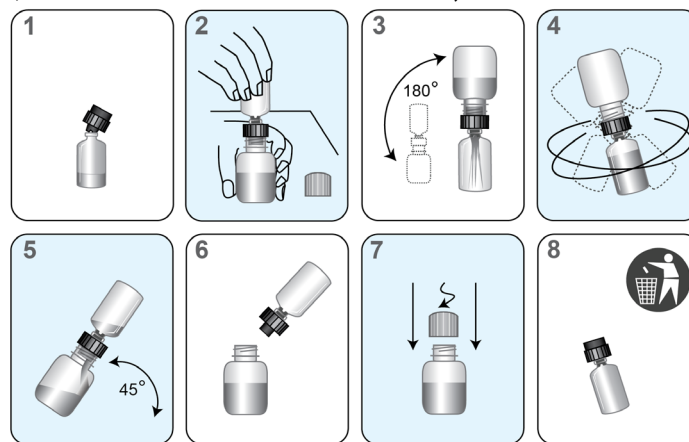


Figura 1. Procesul de reconstruire la analizoarele DTS

2. Pregătiți reactivul de captare a analitului de lucru (wTCR):
 - a. Împerecheați recipientele corespunzătoare de TCR și CI.
 - b. Deschideți recipientul de TCR și așezați capacul pe o suprafață de lucru curată, protejată.
 - c. Deschideți recipientul de CI și turnați întregul conținut într-un recipient de TCR. În flaconul de CI poate rămâne o cantitate mică de lichid.
 - d. Puneți capacul la recipientul de TCR și rotiți ușor soluția pentru a amesteca complet conținutul. Evitați crearea spumei pe parcursul acestei etape.
 - e. Înregistrați inițialele operatorului și data curentă pe etichetă.
 - f. Eliminați recipientul de CI și capacul.
 - g. În wTCR se poate forma precipitat. Precipitatul poate fi dizolvat prin încălzirea wTCR la temperaturi între 42 °C și 60 °C timp de maxim 90 de minute. Lăsați wTCR să se echilibreze la temperatura camerei înainte de utilizare.
3. Pregătiți reactivul de selecție:

În cazul în care reactivul de selecție prezintă precipitat, încălziți reactivul de selecție la 60 °C ± 1 °C timp de maxim 45 de minute pentru a facilita dizolvarea precipitatului. Amestecați ușor recipientul la fiecare 5 până la 10 minute. Lăsați reactivul de selecție să se echilibreze la temperatura camerei înainte de utilizare. Nu utilizați dacă precipitatul sau aspectul tulbure persistă.

C. Pregătirea reactivului pentru reactivi reconstituiți anterior

1. Reactivii de amplificare, enzimatici, ai markerului reconstituiți anterior trebuie să atingă temperatura camerei (între 15 °C și 30 °C) înainte de începerea testării.
2. În cazul în care reactivul pentru marcarea reconstituit conține precipitat care nu se constituie în soluție la temperatura camerei, încălziți la o temperatură care să nu depășească 60 °C timp de 1 până la 2 minute. După reconstituirea suspensiei, amestecați flaconul întorcându-l ușor. Nu utilizați dacă precipitatul sau aspectul turbid este prezent.
3. Dacă wTCR conține precipitat, încălziți wTCR la temperaturi între 42 °C și 60 °C timp de maxim 90 de minute. Lăsați wTCR să se echilibreze la temperatura camerei înainte de utilizare.
4. În cazul în care reactivul de selecție prezintă precipitat, încălziți reactivul de selecție la 60 °C ± 1 °C timp de maxim 45 de minute pentru a facilita dizolvarea precipitatului. Amestecați ușor recipientul la fiecare 5 până la 10 minute. Lăsați reactivul de selecție să se echilibreze la temperatura camerei înainte de utilizare. Nu utilizați dacă precipitatul sau aspectul turbid persistă.
5. Amestecați cu atenție fiecare reactiv prin întoarcere ușoară înainte de utilizare. Evitați crearea spumei pe parcursul întoarcerii reactivilor.

D. Configurarea stativului

1. Lăsați probele (calibratori, controale și eșantioane) să atingă temperatura camerei înainte de procesare.
2. Nu vortexați probele.
3. Inspectați tuburile de probă înainte de a le perfora. Dacă un tub de probă prezintă bule sau are un volum mai scăzut față de media observată, centrifugați tubul timp de 5 minute la 420 RCF pentru a vă asigura că nu există lichid în capac.

Notă: Neefectuarea pasului 3 poate avea ca rezultat vărsarea de lichid din capacul tubului de probă.

4. Așezați suficiente TTU în stativul pentru TTU astfel încât să încapă calibratorii, controalele și eșantioanele.
5. (Opțional) Creați o fișă de lucru folosind software-ul de editare a fișelor de lucru Aptima. Consultați secțiunea referitoare la editorul pentru fișe de lucru din *Manualul operatorului pentru software-ul Aptima Assay* pentru instrucțiuni specifice.

Opțiunea de pipetare manuală

1. Amestecați wTCR cu atenție (TCR plus CI). Cu ajutorul unui pipetor cu repetare, adăugați 100 μl de wTCR în fiecare tub de reacție.
2. Cu ajutorul unui micropipetor, perforați capacul tubului de probă, asigurându-vă că nu introduceți vârful în partea inferioară a tubului.
3. Folosiți un vârf de pipetă diferit pentru fiecare calibrator, control și eșantion.
4. Adăugați 400 μl de calibrator negativ în primele trei tuburi din primul TTU.
5. Adăugați 400 μl de calibrator pozitiv în tuburile 4-6 din primul TTU.
6. Adăugați 400 μl de control negativ în tubul 7 din primul TTU.
7. Adăugați 400 μl de control pozitiv în tubul 8 din primul TTU.
8. Adăugați 400 μl din fiecare eșantion în tuburile rămase.
9. În momentul în care toate probele au fost pipetate, acoperiți TTU-urile cu cartoane de sigilare și continuați cu captura analitului.

Opțiunea cu instrument TECAN Freedom EVO

Consultați *Fișa de aplicare TECAN Freedom EVO 100/4 pentru Aptima HPV Assay* pentru instrucțiuni specifice cu privire la adăugarea de wTCR și mostre în cazul utilizării acestui instrument.

E. Captura analitului

Pentru informații detaliate privind utilizarea instrumentului SB100 la Aptima HPV Assay, consultați *Fișa de aplicare a băii cu încălzire uscată/vortex SB100 pentru Aptima HPV Assay*.

Pentru informații privind utilizarea Sistemului de captură a analitului Hologic, consultați *Manualul operatorului sistemului de captură a analitului*.

Notă: *Pipetorul cu repetare utilizat în captura analitului și amplificare trebuie utilizat exclusiv în aceste etape. Consultați Procedura de testare cu analizorul Tigris DTS pentru informații suplimentare.*

1. Acoperiți cartoanele de sigilare cu cadrul SB100.
2. În momentul în care instrumentul SB100 a atins temperatura de 62 °C, fixați cadrul și stativul împreună pentru a vă asigura că TTU-urile sunt blocate pe poziție în stativ și împingeți ușor stativul în blocul de încălzire. Acționați cu atenție pentru a nu stropi conținutul pe cartoanele de sigilare. Rotiți butoanele negre până când rulmenții se blochează în orificiile de pe cadru.
3. Apăsăți tasta corespunzătoare pentru a porni programul.
4. Când apare indicația pe afișajul SB100 la finalizarea ultimei etape de incubare, scoateți ușor stativul din blocul de încălzire, asigurându-vă că nu stropiți conținut pe cartoanele de sigilare.
5. Amplasați stativul pe platforma magnetică a sistemului de captură a analitului (TCS) timp de 5 până la 10 minute. Efectuați următoarele etape de spălare:
 - a. Amorsați liniile de la pompa stației de distribuție pompând soluție de spălare prin distribuitor. Pompați suficient lichid prin sistem astfel încât să nu existe bule de aer pe linie și toate cele 10 duze să evacueze un jet constant de lichid.
 - b. Porniți pompa de aspirație și deconectați rampa de aspirare de la primul conector dintre distribuitor și recipientul de captare. Asigurați-vă că vacuumetrul respectă specificația pentru proba de etanșitate. Poate dura până la 15 secunde până se obține această valoare. Reconectați rampa de aspirare și asigurați-vă că vacuumetrul respectă specificația pentru nivelul de vid. Lăsați pompa de aspirație pornită până când toate etapele de captură a analitului sunt finalizate iar rampa de aspirare este uscată.
 - c. Conectați strâns rampa de aspirare la primul set de vârfuri. Aspirați tot lichidul coborând vârfurile în primul TTU până când acestea ating pentru puțin timp fundul tuburilor. Nu prelungiți contactul între vârfuri și fundul tuburilor.
 - d. După ce aspirarea este finalizată, scoateți vârfurile în caseta lor originală. Repetați etapele de aspirare pentru restul TTU-urilor, folosind câte un vârf separat pentru fiecare eșantion.
 - e. Poziționați distribuitorul peste fiecare TTU și, cu ajutorul stației de distribuție, distribuiți câte 1,0 ml de soluție de spălare în fiecare tub din TTU.
 - f. Acoperiți tuburile cu un carton de sigilare și scoateți stativul din TCS.
6. Acoperiți cartoanele de sigilare cu cadrul SB100 și împingeți în blocul de încălzire al SB100. Apăsăți tasta corespunzătoare pentru a vortexa tuburile. După finalizarea vortexării, înlăturați stativul.
7. Pe instrumentul SB100, apăsați tasta corespunzătoare pentru a continua cu pre-încălzirea blocului.
8. Așezați stativul înapoi în TCS și repetați etapele de aspirare de la 5c și 5d de mai sus.

9. După ultima aspirație, scoateți stativul de pe platforma magnetică a TCS și inspectați vizual tuburile pentru a vă asigura că a fost aspirat tot lichidul și că toate tuburile conțin pelete din particule magnetice. Dacă este vizibil lichid, amplasați stativul înapoi pe platforma TCS timp de 2 minute și repetați aspirația pentru respectivul TTU utilizând aceleași vârfuri folosite anterior pentru fiecare eșantion în parte.
10. Continuați cu etapa de amplificare.

F. Amplificarea

1. Adăugați reactiv de amplificare și reactiv ulei.

Opțiunea de pipetare manuală

- a. Cu ajutorul unui pipetor cu repetare, adăugați 75 μ l de reactiv de amplificare în fiecare tub de reacție. Toate amestecurile de reacție din stativ trebuie să aibă culoarea roșie.
- b. Cu ajutorul unui pipetor cu repetare, adăugați 200 μ l de reactiv ulei.
- c. Acoperiți tuburile cu cartoane de sigilare.
- d. Continuați cu etapa 2.

Opțiunea cu instrument TECAN Freedom EVO

Consultați *Fișa de aplicare TECAN Freedom EVO 100/4 pentru Aptima HPV Assay* pentru instrucțiuni specifice cu privire la adăugarea de reactivi de amplificare și ulei în cazul utilizării acestui instrument.

2. Acoperiți cartoanele de sigilare cu cadrul SB100 și împingeți stativul în blocul de încălzire.
3. Apăsăți tasta corespunzătoare pentru a porni incubarea.
4. La momentul indicat, înlăturați cadrul SB100. Înlăturați și eliminați cartoanele de sigilare și adăugați 25 μ l de reactiv enzimatic reconstituit cu ajutorul unui pipetor cu repetare, în timp ce stativul se află încă în blocul de încălzire.
5. Acoperiți tuburile cu cartoane de sigilare noi și cadrul SB100.
6. Apăsăți tasta corespunzătoare pentru a porni incubarea de amplificare.
7. În momentul în care s-a finalizat etapa de incubare, înlăturați stativul din instrumentul SB100 și continuați cu etapa de post amplificare.

G. Post amplificarea

Porniți instrumentul SB100 de post amplificare și selectați protocolul „APTIMA HPV PSTAMP” pentru ca instrumentul să poată atinge temperatura de 62 °C.

Pentru informații specifice privind utilizarea instrumentului SB100 la Aptima HPV Assay, consultați *Fișa de aplicare a băii cu încălzire uscată/vortex SB100 pentru Aptima HPV Assay*.

Notă: Pipetorul cu repetare utilizat la detectare trebuie utilizat exclusiv în aceste etape. Consultați *Avertismente și precauții*.

Notă: Etapele de post amplificare trebuie efectuate într-o zonă separată, alta decât cea pentru etapele de pregătire a reactivului și de pre-amplificare. Consultați *Notele de procedură*.

1. Scoateți și eliminați cartoanele de sigilare.
2. Cu ajutorul unui pipetor cu repetare, adăugați 100 μ l de reactiv pentru marker reconstituit în fiecare tub de reacție. Toate amestecurile de reacție din stativ trebuie să aibă culoarea galbenă.

3. Acoperiți tuburile cu cartoanele de sigilare și cu cadrul SB100 și împingeți ușor stativul în blocul de încălzire.
4. Apăsăți tasta corespunzătoare pentru a porni etapele de vortexare/incubare.
5. În momentul în care s-a finalizat etapa de incubare, scoateți stativul și încubați la temperatura camerei timp de 5 minute. Asigurați-vă că selectați tasta corespunzătoare pe tastatura SB100 pentru a începe perioada de incubare.
6. Când cele 5 minute au expirat, conform indicației de pe afișajul SB100, adăugați 250 µl de reactiv de selecție în fiecare tub de reacție cu ajutorul unui pipetor cu repetare. Toate amestecurile de reacție din stativ trebuie să aibă culoarea roz.
7. Acoperiți tuburile cu cartoanele de sigilare și cu cadrul SB100 și împingeți ușor stativul în blocul de încălzire. Apăsăți tasta corespunzătoare pentru a porni etapele de vortexare/incubare.
8. În momentul în care s-a finalizat incubarea, înlăturați stativul din instrumentul SB100 și continuați cu etapa de detecție.

H. Detecție

1. Etapa de detecție trebuie efectuată la temperaturi între 18 °C și 28 °C.
2. Asigurați-vă că sunt disponibile volume suficiente de Auto Detect 1 și 2 pentru a finaliza testele.
3. Pregătiți luminometrul Leader HC+ prin amplasarea unui TTU gol în poziția 1 a casetei și derularea protocolului WASH (spălare). Consultați *Manualul operatorului pentru luminometrul Leader HC+* pentru instrucțiuni specifice.
4. Încărcați TTU-urile în luminometru.
5. Conectați-vă la software-ul de testare pentru Aptima HPV. Dacă a fost creată o fișă de lucru, asigurați-vă că este activată calea adecvată astfel încât software-ul de Aptima HPV Assay să poată localiza fișa de lucru corectă.
6. Faceți click pe **NEW RUN** (Procesare nouă). Dacă nu a fost creată o fișă de lucru, introduceți numărul de tuburi (calibratori, controale și eşantioane). Faceți click pe **NEXT** pentru a începe procesarea.

Notă: *Procesarea trebuie finalizată în termen de 2 ore de la sfârșitul incubării din etapa de selecție.*

7. Pregătiți lichidul de dezactivare prin amestecarea unor volume egale de hipoclorit de sodiu soluție între 5% și 7% (între 0,7 M și 1,0 M) și soluție-tampon Aptima pentru lichidul de dezactivare într-un recipient de plastic cu capac mare. Etichetați și înscrieți data de expirare pe recipientul de plastic. Lichidul de dezactivare este stabil timp de 4 săptămâni la temperatura camerei.
8. După scoaterea TTU-urilor utilizate din luminometru, puneți TTU-urile în recipientul cu lichid de dezactivare. Lăsați TTU-urile să stea în recipient timp de 15 minute înainte de eliminare. Directorul laboratorului trebuie să stabilească metodele adecvate de manipulare și eliminare.

Note de procedură

A. Calibratori

Fiecare procesare de până la 100 de teste trebuie să conțină câte trei replicare din calibratorul negativ și respectiv calibratorul pozitiv. Pentru a funcționa corect cu software-ul Aptima HPV Assay, cele trei replicare ale calibratorului negativ urmate de cele trei replicare ale calibratorului pozitiv trebuie să se afle în primele șase poziții ale primului TTU. Amplasarea în poziția incorectă va conduce la eșuarea procesării.

B. Controale

Fiecare procesare de până la 100 de teste trebuie să conțină câte un replicat din controlul negativ și respectiv controlul pozitiv. Controlul negativ trebuie să se afle în poziția celui de-al șaptelea tub, urmat de controlul pozitiv în poziția opt. Amplasarea în pozițiile incorecte va conduce la eșuarea procesării.

C. Pipetarea probelor

1. Volumul de probă adăugată la tubul de reacție trebuie să fie de $400 \mu\text{l} \pm 100 \mu\text{l}$. Se recomandă inspecția vizuală a volumului pipetat în TTU pentru a asigura transferul de volum corect. Pentru obținerea unor rezultate precise este necesar un volum corespunzător de eșantion. Dacă nu a fost pipetat volumul corect, re-pipetați reactivul de captare a analitului de lucru și eșantionul într-un nou tub de reacție.
2. Debitați cu atenție probele în fiecare tub, evitând contactul cu marginea pentru a minimiza posibilitatea de transfer de la un tub la altul.

D. Temperatura

1. Temperatura camerei este definită între $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ și $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.
2. Detecția este sensibilă la temperatură. Temperatura laboratorului în zona de detecție trebuie să fie între $18\text{ }^{\circ}\text{C}$ și $28\text{ }^{\circ}\text{C}$.

E. Timpul

Reacțiile de captură a analitului, amplificare, hibridizare și selecție sunt toate dependente de timp. Respectați timpii specificați în *Procedura de testare cu analizoarele DTS*.

F. Pudrarea mănușilor

Ca în orice sistem de reactiv, talcul în exces pe mănuși poate conduce la contaminarea tuburilor deschise. Sunt recomandate mănușile nepudrate.

G. Decontaminarea

1. Suprafețele meselor de laborator și pipetoarele trebuie decontaminate în mod regulat cu hipoclorit de sodiu soluție între 2,5% și 3,5% (între 0,35 M și 0,5 M). Lăsați soluția să intre în contact cu suprafețele timp de cel puțin 1 minut iar apoi clătiți cu apă. Nu lăsați soluția să se usuce. Soluțiile ce conțin clor pot coroda echipamentele și metalul. Clătiți echipamentele temeinic cu apă pentru a evita corodarea.
2. Decontaminați instrumentul TECAN Freedom EVO conform instrucțiunilor din Manualul operatorului.
3. Decontaminați instrumentele SB100 conform instrucțiunilor din *Fișa de aplicare a băii cu încălzire uscată/vortex SB100 pentru Aptima HPV Assay*.
4. Decontaminați sistemul de captură a analitului conform instrucțiunilor din *Manualul operatorului sistemului de captură a analitului*.
5. Ștergeți suprafețele unității TCS și vârfurile cu tampon cu șervete de hârtie umezite cu hipoclorit de sodiu soluție între 2,5% și 3,5% (între 0,35 M și 0,5 M). Clătiți apoi cu apă, apoi uscați suprafețele complet cu șervete de hârtie.
6. Scufundați stativele TTU în hipoclorit de sodiu soluție între 2,5% și 3,5% (între 0,35 M și 0,5 M), asigurându-vă că sunt acoperite cu soluție. Lăsați stativele scufundate în soluție timp de 10 minute. O expunere mai îndelungată poate deteriora stativele. Clătiți temeinic stativele cu apă, așezați pe o lavetă curată, absorbantă, și lăsați să se usuce complet la aer. Pentru a prelunge durata de viață a stativelor, lăsați-le să se usuce în poziție verticală, nu culcate.
7. TTU-urile trebuie decontaminate cu lichid de dezactivare, conform descrierii din etapa de detecție. Nu refolosiți TTU-urile.

Analizorul Tigris DTS

Mai jos sunt enumerați reactivii pentru Aptima HPV Assay pentru Analizorul Tigris DTS. Alături de numele reactivului sunt notate și simbolurile de identificare a reactivilor.

Reactivi și materiale furnizate

Trusă Aptima HPV Assay, 250 teste, Nr. cat. 302611 (4 cutii)

Calibratorii și controalele pot fi achiziționate separat. Consultați mai jos numerele de catalog pentru fiecare cutie în parte.

Cutie frigorifică Aptima HPV
(depozitați între 2 °C și 8 °C în momentul primirii)

Simbol	Componentă	Cantitate
A	Reactiv de amplificare HPV <i>Acizi nucleici neinfecțioși uscați în soluție tamponată conținând < 5% agent de expandare.</i>	1 flacon
E	Reactiv enzimatic HPV <i>Transcriptază inversă și polimeraza ARN uscată în soluție tamponată HEPES conținând < 10% reactiv de expandare.</i>	1 flacon
P	Reactiv pentru marker HPV <i>Markeri ADN chemiluminescent ne-infecțioși (< 500 ng/flacon) uscați în succinat soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	1 flacon
IC	Reactiv de control intern HPV <i>Transcripție ARN ne-infecțioasă în soluție tamponată ce conține < 5% detergent.</i>	1 flacon

Cutie Aptima HPV la temperatura camerei
(depozitați între 15 °C și 30 °C în momentul primirii)

Simbol	Componentă	Cantitate
AR	Soluție de reconstituire pentru amplificarea HPV <i>Soluție apoasă conținând conservanți.</i>	1 flacon
ER	Soluție de reconstituire a enzimei HPV <i>Soluție tamponată HEPES conținând surfactant și glicerol.</i>	1 flacon
PR	Soluție de reconstituire a markerului HPV <i>Succinat soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	1 flacon
S	Reactiv de selecție HPV <i>Soluție tamponată borat 600 mM conținând surfactant.</i>	1 flacon
TCR	Reactiv de captură a analitului HPV <i>Acid nucleic ne-infecțios în soluție tamponată conținând faza solidă (< 0,5 mg/ml).</i>	1 flacon
	Coliere reconstituire	3
	Fișă cu coduri de bare a lotului principal	1 fișă

Cutie calibratori Aptima HPV (Nr. Cat. 302554)
(depozitați între 2 °C și 8 °C în momentul primirii)

Simbol	Componentă	Cantitate
PCAL	Calibrator pozitiv HPV <i>Transcripție in vitro HPV 16 ne-infecțioasă la 1.000 de copii per ml în soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	5 flacoane
NCAL	Calibrator negativ HPV <i>Soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	5 flacoane

Cutie controale Aptima HPV (Nr. Cat. 302556)
(depozitați între 2 °C și 8 °C în momentul primirii)

Simbol	Componentă	Cantitate
PC	Control pozitiv HPV <i>Celule de cultură lizate inactivate HPV negative și HPV pozitive la 25 de celule per ml în soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	5 flacoane
NC	Control negativ HPV <i>Celule de cultură lizate inactivate HPV negative în soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	5 flacoane

Materiale necesare dar disponibile separat

Notă: Materialele disponibile de la Hologic au numerele de catalog notate, cu excepția cazului în care se specifică în mod diferit.

	<u>Nr. Cat.</u>
Analizor Tigris DTS	105118
Trusă lichide pentru testare Aptima <i>(Soluție de spălare Aptima, Soluție-tampon Aptima pentru lichidul de dezactivare și reactiv ulei Aptima)</i>	302382
Trusă Aptima Auto Detect	301048
Trusă conservant fluid de sistem Aptima	302380
Vârfuri, 1.000 µl conductive, detectoare de lichid	10612513 (Tecan)
Trusă procesare Analizor Tigris DTS <i>Unități multi-tub (MTU)</i>	301191 104772-02
<i>Pungă de reziduuri pentru vârfuri MTU</i>	900907
<i>Deflectoare de reziduuri MTU</i>	900931
<i>Capace de reziduuri MTU</i>	105523
Trusă de transfer eşantion Aptima	301154C
Trusă de recoltare și transport al eşantioanelor cervicale Aptima	302657
Capace penetrabile Aptima	105668
Capace înlocuitoare nepenetrabile	103036A
Capace de rezervă pentru soluțiile de reconstituire a reactivului de amplificare și a reactivului pentru marker	CL0041
Capace de rezervă pentru soluția de reconstituire a reactivului enzimatic	501616
Capace de rezervă pentru TCR și reactivul de selecție	CL0040
Clor, hipoclorit de sodiu soluție de minim 5% sau 0,7 M	—
Apă pentru Analizorul Tigris DTS	—
<i>Consultați Manualul operatorului pentru Analizorul Tigris DTS pentru specificații</i>	

Mănuși de unică folosință	—
Trusă soluție de transfer Aptima (doar pentru eșantioanele SurePath)	303658

Materiale opționale

	<u>Nr. Cat.</u>
Întăritor de clor pentru curățare	302101

Procedura de testare cu analizorul Tigris DTS

Notă: Consultați Manualul operatorului pentru Analizorul Tigris DTS pentru informații de procedură suplimentare privind Analizorul Tigris DTS.

A. Pregătirea zonei de lucru

Curățați suprafețele de lucru unde vor fi pregătiți reactivii și eșantioanele. Ștergeți suprafețele de lucru cu soluție de hipoclorit de sodiu între 2,5% și 3,5% (între 0,35 M și 0,5 M). Lăsați soluția de hipoclorit de sodiu să intre în contact cu suprafețele timp de cel puțin 1 minut iar apoi clătiți cu apă. Nu lăsați soluția de hipoclorit de sodiu să se usuce. Acoperiți suprafața mesei pe care vor fi pregătiți reactivii și eșantioanele cu folii de protecție pentru masa de laborator captușite cu plastic, absorbante, curate.

B. Pregătirea reactivului unei noi truse

Notă: Reconstituirea reactivului trebuie efectuată înainte de începerea oricăror activități cu Analizorul Tigris DTS.

1. Pentru a reconstitui reactivii de amplificare, enzimatici și ai markerului, combinați recipientele de reactiv liofilizat cu soluția de reconstituire. Dacă au fost păstrate la frigider, lăsați soluțiile de reconstituire să ajungă la temperatura camerei înainte de utilizare.
 - a. Împerecheați fiecare soluție de reconstituire cu reactivul său liofilizat. Asigurați-vă că soluția de reconstituire și reactivul liofilizat au etichete de aceeași culoare înainte de a monta colierul de reconstituire.
 - b. Verificați numerele de lot de pe Fișa cu coduri de bare a lotului principal pentru a vă asigura că reactivii sunt împerecheați corect.
 - c. Deschideți flaconul de reactiv liofilizat și introduceți cu fermitate capătul crestat al colierului de reconstituire în apertura flaconului (Figura 2, Etapa 1).
 - d. Deschideți soluția de reconstituire ce îi corespunde și așezați capacul pe o suprafață de lucru curată, protejată.
 - e. Ținând recipientul de soluție pe masă, introduceți cu fermitate celălalt capăt al colierului de reconstituire în apertura recipientului (Figura 2, Etapa 2).
 - f. Întoarceți cu atenție ansamblul format din recipiente. Lăsați soluția să se scurgă din recipient în flaconul de sticlă (Figura 2, Etapa 3).
 - g. Rotiți ușor soluția în recipient pentru a se amesteca complet. Evitați crearea spumei în timpul rotirii recipientului (Figura 2, Etapa 4).
 - h. Așteptați ca reactivul liofilizat să se constituie în soluție, apoi întoarceți ansamblul format din recipiente, înclinând la un unghi de 45° pentru a minimiza crearea spumei (Figura 2, Etapa 5). Lăsați să se scurgă tot lichidul înapoi în recipientul de plastic.

- i. Scoateți colierul de reconstituire și flaconul de sticlă (Figura 2, Etapa 6).
- j. Puneți din nou capacul la recipientul de plastic. Înregistrați inițialele operatorului și data reconstituirii pe toate flacoanele de reactiv reconstituit (Figura 2, Etapa 7).
- k. Eliminați colierul de reconstituire și flaconul de sticlă (Figura 2, Etapa 8).

Avertisment: Evitați crearea spumei în timpul reconstituirii reactivilor. Spuma compromise funcția de detectare a nivelului la Analizorul Tigris DTS.

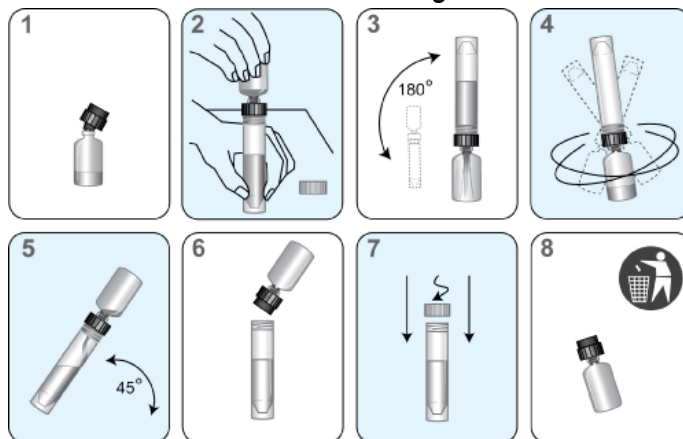


Figura 2. Procesul de reconstituire la Analizorul Tigris DTS

2. Pregătiți reactivul de captare a analitului de lucru (wTCR):
 - a. Împerecheați recipientele corespunzătoare de TCR și CI.
 - b. Verificați numerele de lot ale reactivului de pe Fișa cu coduri de bare a lotului principal pentru a vă asigura că reactivii din trusă sunt împerecheați corect.
 - c. Deschideți recipientul de TCR și așezați capacul pe o suprafață de lucru curată, protejată.
 - d. Deschideți recipientul de CI și turnați întregul conținut în sticla de TCR. Este de așteptat ca în flaconul de CI să rămână o cantitate mică de lichid.
 - e. Puneți capacul la recipientul de TCR și rotiți ușor soluția pentru a amesteca conținutul. Evitați crearea spumei pe parcursul acestei etape.
 - f. Înregistrați inițialele operatorului și data curentă pe etichetă.
 - g. Eliminați recipientul de CI și capacul.
 - h. În wTCR se poate forma precipitat, ceea ce ar putea conduce la rezultate invalide din cauza erorilor de verificare a volumului. Precipitatul poate fi dizolvat prin încălzirea wTCR la temperaturi între 42 °C și 60 °C timp de maxim 90 de minute. Lăsați wTCR să se echilibreze la temperatura camerei înainte de utilizare. Nu utilizați dacă precipitatul persistă.
3. Pregătiți reactivul de selecție
 - a. Verificați numărul de lot al reactivului de pe Fișa cu coduri de bare a lotului principal pentru a vă asigura că acesta corespunde trusei.
 - b. În cazul în care reactivul de selecție prezintă precipitat, încălziți reactivul de selecție la 60 °C ± 1 °C timp de maxim 45 de minute pentru a facilita dizolvarea precipitatului. Amestecați ușor recipientul la fiecare 5 până la 10 minute. Lăsați reactivul de selecție să se echilibreze la temperatura camerei înainte de utilizare. Nu utilizați dacă precipitatul sau aspectul turbid persistă.

Notă: Amestecați complet întorcând ușor toți reactivii înainte de încărcarea în analizor. Evitați crearea spumei pe parcursul întoarcerii reactivilor.

C. Pregătirea reactivului pentru reactivi reconstituiți anterior

1. Reactivii de amplificare, enzimatici, ai markerului reconstituiți anterior trebuie să atingă temperatura camerei (între 15 °C și 30 °C) înainte de începerea testării.
2. În cazul în care reactivul pentru marker reconstituit conține precipitat care nu se constituie în soluție la temperatura camerei, încălziți la o temperatură care să nu depășească 60 °C timp de 1 până la 2 minute. Nu utilizați dacă precipitatul sau aspectul turbure este prezent.
3. Dacă wTCR conține precipitat, încălziți wTCR la temperaturi între 42 °C și 60 °C timp de maxim 90 de minute. Lăsați wTCR să se echilibreze la temperatura camerei înainte de utilizare. Nu utilizați dacă precipitatul persistă.
4. În cazul în care reactivul de selecție prezintă precipitat, încălziți reactivul de selecție la 60 °C ± 1 °C timp de maxim 45 de minute pentru a facilita dizolvarea precipitatului. Amestecați ușor recipientul la fiecare 5 până la 10 minute. Lăsați reactivul de selecție să se echilibreze la temperatura camerei înainte de utilizare. Nu utilizați dacă precipitatul sau aspectul turbure persistă.
5. Amestecați cu atenție fiecare reactiv prin întoarcere ușoară înainte de încărcarea în analizor. Evitați crearea spumei pe parcursul întoarcerii reactivilor.
6. Nu umpleți recipientele de reactiv la supraplin. Analizorul Tigris DTS va recunoaște și respinge recipientele care au fost umplute la refuz.

D. Manipularea probelor

1. Lăsați probele (calibratori, controale și eșantioane) să atingă temperatura camerei înainte de procesare.
2. **Nu vortexați probele.**
3. Eșantioanele pentru citologie în mediu lichid SurePath trebuie tratate cu proteinază K înainte de testarea cu Aptima HPV Assay, conform instrucțiunilor din *Recoltarea și depozitarea eșantioanelor* Secțiunea C.
4. Inspectați tuburile de probă înainte de a le încărca în stativ. Dacă un tub de probă prezintă bule sau are un volum mai scăzut față de media observată, centrifugați tubul timp de 5 minute la 420 RCF pentru a vă asigura că nu există lichid în capac.

Notă: Neefectuarea pasului 4 poate avea ca rezultat vărsarea de lichid din capacul tubului pentru probe.

E. Pregătirea analizorului

Configurați instrumentul și fișa de lucru conform instrucțiunilor din *Manualul operatorului pentru Analizorul Tigris DTS* și secțiunii *Note de procedură* de mai jos.

Note de procedură

A. Calibratori

1. Fiecare fișă de lucru trebuie să conțină câte 3 replicare din calibratorul negativ și respectiv calibratorul pozitiv. Pentru a funcționa corect cu software-ul de Aptima HPV Assay, calibratorul negativ trebuie să se afle în prima poziție de tuburi din primul stativ de pe fișa de lucru iar calibratorul pozitiv trebuie să se afle în poziția a doua de tuburi din primul stativ de pe fișa de lucru.
2. Încercarea de a pipeta mai mult de trei replicare dintr-un tub pentru calibrator poate conduce la erori de volum insuficient.

B. Controale

1. Software-ul Aptima HPV Assay necesită începerea și finalizarea controalelor de procesare. Controlul negativ trebuie să se afle în poziția a treia de tuburi din primul stativ și în poziția penultimă de tuburi din ultimul stativ de pe fișa de lucru. Controlul pozitiv trebuie să se afle în poziția a patra de tuburi din primul stativ și în ultima poziție de tuburi din ultimul stativ de pe fișa de lucru.
2. Încercarea de a pipeta mai mult de o singură dată dintr-un tub pentru control poate conduce la erori de volum insuficient.

C. Temperatura

Temperatura camerei este definită între 15 °C și 30 °C.

D. Pudrarea mănușilor

Ca în orice sistem de reactiv, talcul în exces pe mănuși poate conduce la contaminarea tuburilor deschise. Sunt recomandate mănușile nepudrate.

Analizorul Panther

Mai jos sunt enumerați reactivii pentru Aptima HPV Assay pentru Analizorul Panther. Alături de numele reactivului sunt notate și simbolurile de identificare a reactivilor.

Reactivi și materiale furnizate

Trusă Aptima HPV Assay, 250 teste, Nr. Cat. 303093 (3 cutii)

Trusă Aptima HPV Assay, 100 teste, Nr. Cat. 302929 (3 cutii)

Calibratorii pot fi achiziționați separat. Consultați numerele de catalog separate de mai jos.

Cutie frigorifică Aptima HPV

(depozitați între 2 °C și 8 °C în momentul primirii)

Simbol	Componentă	Cantitate
A	Reactiv de amplificare HPV <i>Acizi nucleici neinfecțioși uscați în soluție tamponată conținând < 5% agent de expandare.</i>	1 flacon
E	Reactiv enzimatic HPV <i>Transcriptază inversă și polimeraza ARN uscată în soluție tamponată HEPES conținând < 10% reactiv de expandare.</i>	1 flacon
P	Reactiv pentru marker HPV <i>Markeri ADN chemiluminescent ne-infecțioși (< 500 ng/flacon) uscați în succinat soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	1 flacon
IC	Reactiv de control intern HPV <i>Transcripție ARN ne-infecțioasă în soluție tamponată ce conține < 5% detergent.</i>	1 flacon

Cutie Aptima HPV la temperatura camerei

(depozitați la temperatura camerei, între 15 °C și 30 °C în momentul primirii)

Simbol	Componentă	Cantitate
AR	Soluție de reconstituire pentru amplificarea HPV <i>Soluție apoasă conținând conservanți.</i>	1
ER	Soluție de reconstituire a enzimei HPV <i>Soluție tamponată HEPES conținând surfactant și glicerol.</i>	1
PR	Soluție de reconstituire a markerului HPV <i>Succinat soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	1
S	Reactiv de selecție HPV <i>Soluție tamponată borat 600 mM conținând surfactant.</i>	1
TCR	Reactiv de captură a analitului HPV <i>Acid nucleic ne-infecțios în soluție tamponată conținând faza solidă (< 0,5 mg/ml).</i>	1
	Coliere reconstituire	3
	Fișa cu coduri de bare a lotului principal	1 fișă

Cutie calibratori Aptima HPV (Nr. Cat. 302554)
(depozitați între 2 °C și 8 °C în momentul primirii)

Simbol	Componentă	Cantitate
PCAL	Calibrator pozitiv HPV <i>Transcripție in vitro HPV 16 ne-infecțioasă la 1.000 de copii per ml în soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	5 flacoane
NCAL	Calibrator negativ HPV <i>Soluție tamponată conținând < 5% detergent.</i>	5 flacoane

Materiale necesare dar disponibile separat

Notă: Materialele disponibile de la Hologic au numerele de catalog notate, cu excepția cazului în care se specifică în mod diferit.

	<u>Nr. Cat.</u>
Analizor Panther	303095
Trusă procesare Analizor Panther	303096
<i>Trusă lichide pentru testare Aptima</i>	303014
<i>(Soluție de spălare Aptima, Soluție-tampon Aptima pentru lichidul de dezactivare și reactiv ulei Aptima)</i>	
<i>Trusă Aptima Auto Detect</i>	303013
<i>Unități multi-tub (MTU)</i>	104772-02
<i>Trusă pungă de reziduuri Panther</i>	902731
<i>Capac coș reziduuri Panther</i>	504405
Vârfuri, 1.000 µl conductive, detectoare de lichid	10612513 (Tecan)
Trusă de transfer eşantion Aptima	301154C
Trusă de recoltare și transport al eşantioanelor cervicale Aptima	302657
Capace penetrabile Aptima	105668
Capace înlocuitoare nepenetrabile	103036A
Capace de rezervă pentru 250 de truse de testare:	
<i>Soluțiile de reconstituire a reactivului de amplificare și a reactivului pentru marker</i>	CL0041
<i>Soluția de reconstituire a reactivului enzimatic</i>	501616
<i>TCR și reactivul de selecție</i>	CL0040
Capace de rezervă pentru 100 de truse de testare:	
<i>Soluțiile de reconstituire a reactivului de amplificare și a reactivului pentru marker</i>	CL0041
<i>Soluția de reconstituire a reactivului enzimatic</i>	CL0041
<i>TCR și reactivul de selecție</i>	501604
Clor, hipoclorit de sodiu soluție de minim 5% sau 0,7 M	—
Mănuși de unică folosință	—
Trusă soluție de transfer Aptima (doar pentru eşantioanele SurePath)	303658

Materiale opționale

	<u>Nr. Cat.</u>
Întăritor de clor pentru curățare	302101

Procedura de testare cu analizorul Panther

Notă: Consultați Manualul operatorului pentru Analizorul Panther pentru informații de procedură suplimentare privind Analizorul Panther.

A. Pregătirea zonei de lucru

Curățați suprafețele de lucru unde vor fi pregătiți reactivii și eșantioanele. Ștergeți suprafețele de lucru cu soluție de hipoclorit de sodiu între 2,5% și 3,5% (între 0,35 M și 0,5 M). Lăsați soluția de hipoclorit de sodiu să intre în contact cu suprafețele timp de cel puțin 1 minut iar apoi clătiți cu apă. Nu lăsați soluția de hipoclorit de sodiu să se usuce. Acoperiți suprafața mesei pe care vor fi pregătiți reactivii și eșantioanele cu folii de protecție pentru masa de laborator captușite cu plastic, absorbante, curate.

B. Pregătirea reactivului unei noi truse

Notă: Reconstituirea reactivului trebuie efectuată înainte de începerea oricăror activități cu Analizorul Panther.

1. Pentru a reconstitui reactivii de amplificare, enzimatici și ai markerului, combinați recipientele de reactiv liofilizat cu soluția de reconstituire. Dacă au fost păstrate la frigider, lăsați soluțiile de reconstituire să ajungă la temperatura camerei înainte de utilizare.
 - a. Împerecheați fiecare soluție de reconstituire cu reactivul său liofilizat. Asigurați-vă că soluția de reconstituire și reactivul au etichete de aceeași culoare înainte de a monta colierul de reconstituire.
 - b. Verificați numerele de lot de pe Fișa cu coduri de bare a lotului principal pentru a vă asigura că reactivii sunt împerecheați corect.
 - c. Deschideți flaconul de reactiv liofilizat și introduceți cu fermitate capătul crestat al colierului de reconstituire în apertura flaconului (Figura 3, Etapa 1).
 - d. Deschideți soluția de reconstituire ce îi corespunde și așezați capacul pe o suprafață de lucru curată, protejată.
 - e. Ținând recipientul de soluție pe masă, introduceți cu fermitate celălalt capăt al colierului de reconstituire în recipient (Figura 3, Etapa 2).
 - f. Întoarceți cu atenție ansamblul format din recipiente. Lăsați soluția să se scurgă din recipient în flaconul de sticlă (Figura 3, Etapa 3).
 - g. Rotiți ușor soluția în recipient pentru a se amesteca complet. Evitați crearea spumei în timpul rotirii recipientului (Figura 3, Etapa 4).
 - h. Așteptați ca reactivul liofilizat să se constituie în soluție, apoi întoarceți ansamblul format din recipiente, înclinând la un unghi de 45° pentru a minimiza crearea spumei (Figura 3, Etapa 5). Lăsați să se scurgă tot lichidul înapoi în recipientul de plastic.
 - i. Scoateți colierul de reconstituire și flaconul de sticlă (Figura 3, Etapa 6).
 - j. Puneți din nou capacul la recipientul de plastic. Înregistrați inițialele operatorului și data reconstituirii pe toate flacoanele de reactiv reconstituit (Figura 3, Etapa 7).
 - k. Eliminați colierul de reconstituire și flaconul (Figura 3, Etapa 8).

Avertisment: Evitați crearea spumei în timpul reconstituirii reactivilor. Spuma compromise funcția de detectare a nivelului la Analizorul Panther.

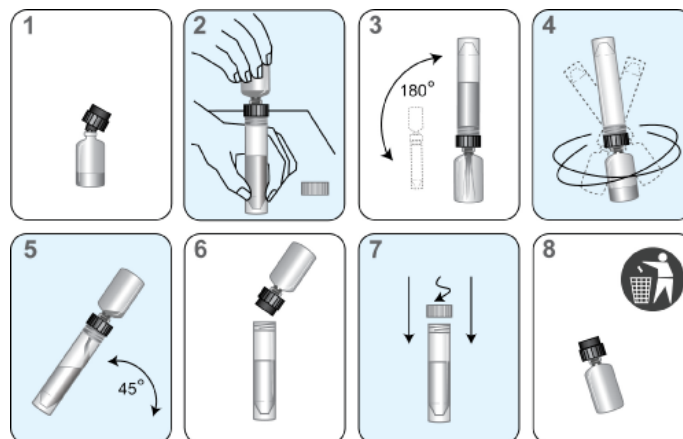


Figura 3. Procesul de reconstituire la Analizorul Panther

2. Pregătiți reactivul de captare a analitului de lucru (wTCR):
 - a. Împerecheați recipientele corespunzătoare de TCR și CI.
 - b. Verificați numerele de lot ale reactivului de pe Fișa cu coduri de bare a lotului principal pentru a vă asigura că reactivii din trusă sunt împerecheați corect.
 - c. Deschideți recipientul de TCR și așezați capacul pe o suprafață de lucru curată, protejată.
 - d. Deschideți recipientul de CI și turnați întregul conținut în sticla de TCR. Este de așteptat ca în flaconul de CI să rămână o cantitate mică de lichid.
 - e. Puneți capacul la recipientul de TCR și rotiți ușor soluția pentru a amesteca conținutul. Evitați crearea spumei pe parcursul acestei etape.
 - f. Înregistrați inițialele operatorului și data curentă pe etichetă.
 - g. Eliminați recipientul de CI și capacul.
 - h. În wTCR se poate forma precipitat, ceea ce ar putea conduce la rezultate invalide din cauza erorilor de verificare a volumului. Precipitatul poate fi dizolvat prin încălzirea wTCR la temperaturi între 42 °C și 60 °C timp de maxim 90 de minute. Lăsați wTCR să se echilibreze la temperatura camerei înainte de utilizare. Nu utilizați dacă precipitatul persistă.
3. Pregătiți reactivul de selecție
 - a. Verificați numărul de lot al reactivului de pe Fișa cu coduri de bare a lotului principal pentru a vă asigura că acesta corespunde trusei.
 - b. În cazul în care reactivul de selecție prezintă precipitat, încălziți reactivul de selecție la 60 °C ± 1 °C timp de maxim 45 de minute pentru a facilita dizolvarea precipitatului. Amestecați ușor recipientul la fiecare 5 până la 10 minute. Lăsați reactivul de selecție să se echilibreze la temperatura camerei înainte de utilizare. Nu utilizați dacă precipitatul sau aspectul tulbure persistă.

Notă: Amestecați complet întorcând ușor toți reactivii înainte de încărcarea în analizor. Evitați crearea spumei pe parcursul întoarcerii reactivilor.

C. Pregătirea reactivului pentru reactivi reconstituiți anterior

1. Reactivii de amplificare, enzimatici, ai markerului reconstituiți anterior trebuie să atingă temperatura camerei (între 15 °C și 30 °C) înainte de începerea testării.
2. În cazul în care reactivul pentru marker reconstituit conține precipitat care nu se constituie în soluție la temperatura camerei, încălziți la o temperatură care să nu depășească 60 °C timp de 1 până la 2 minute. Nu utilizați dacă precipitatul sau aspectul turbure este prezent.
3. Dacă wTCR conține precipitat, încălziți wTCR la temperaturi între 42 °C și 60 °C timp de maxim 90 de minute. Lăsați wTCR să se echilibreze la temperatura camerei înainte de utilizare. Nu utilizați dacă precipitatul persistă.
4. În cazul în care reactivul de selecție prezintă precipitat, încălziți reactivul de selecție la 60 °C ± 1 °C timp de maxim 45 de minute pentru a facilita dizolvarea precipitatului. Amestecați ușor recipientul la fiecare 5 până la 10 minute. Lăsați reactivul de selecție să se echilibreze la temperatura camerei înainte de utilizare. Nu utilizați dacă precipitatul sau aspectul turbure persistă.
5. Amestecați cu atenție fiecare reactiv prin întoarcere ușoară înainte de încărcarea în analizor. Evitați crearea spumei pe parcursul întoarcerii reactivilor.
6. Nu umpleți recipientele de reactiv la supraplin. Analizorul Panther va recunoaște și respinge recipientele care au fost umplute la refuz.

D. Manipularea probelor

1. Lăsați probele (calibratori și eșantioane) să atingă temperatura camerei înainte de procesare.
2. **Nu vortexați eșantioanele.**
3. Inspectați tuburile de probă înainte de a le încărca în stativ. Dacă un tub de probă prezintă bule sau are un volum mai scăzut față de media observată, centrifugați tubul timp de 5 minute la 420 RCF pentru a vă asigura că nu există lichid în capac.

Notă: Neefectuarea pasului 3 poate avea ca rezultat vărsarea de lichid din capacul tubului pentru probe.

E. Pregătirea analizorului

1. Configurați analizorul conform instrucțiunilor din *Manualul operatorului pentru Analizorul Panther* și secțiunii *Note de procedură* de mai jos. Asigurați-vă că sunt folosite stative de reactivi și adaptoare TCR de dimensiunile adecvate.
2. Încărcați probele.

Note de procedură

A. Calibratori

1. Pentru a funcționa corect cu software-ul Aptima HPV Assay la Analizorul Panther, sunt necesare trei replicare ale calibratorului pozitiv și trei replicare ale calibratorului negativ. Câte un flacon din fiecare calibrator poate fi încărcat în orice poziție din stativ de pe oricare compartiment de turbiprobe în cadrul Analizorului Panther. Pipetarea eșantionului va începe în momentul în care este îndeplinită una din cele două condiții de mai jos:
 - a. Analizorul se află în curs de procesare a unui calibrator pozitiv și a unui calibrator negativ.
 - b. Analizorul înregistrează rezultate valide pentru calibratori.

2. În momentul în care tuburile pentru calibrator au fost pipetate și sunt în curs de procesare pentru o anumită trusă de reactivi, eșantioanele pot fi procesate cu trusa de reactivi de dozare asociată timp de maxim 24 de ore, cu excepția cazului în care:
 - a. Calibratorii sunt invalizi.
 - b. Trusa de reactivi de dozare asociată este scoasă din analizor.
 - c. Trusa de reactivi de dozare asociată a depășit limitele de stabilitate.
 3. Încercarea de a pipeta mai mult de trei replicare dintr-un tub pentru calibrator poate conduce la erori de procesare.
- B. Temperatura
Temperatura camerei este definită între 15 °C și 30 °C.
- C. Pudrarea mănușilor
Ca în orice sistem de reactiv, talcul în exces pe mănuși poate conduce la contaminarea tuburilor deschise. Sunt recomandate mănușile nepudrate.

Proceduri de control al calității

A. Criterii de validitate a procesării

Software-ul determină în mod automat validitatea procesării. Software-ul va invalida o procesare în oricare din următoarele condiții:

- Mai mult de un replicat de calibrator negativ invalid.
- Mai mult de un replicat de calibrator pozitiv invalid.
- Un control negativ invalid (doar pentru Analizoare DTS și Analizor Tigris DTS).
- Un control pozitiv invalid (doar pentru Analizoare DTS și Analizor Tigris DTS).

Procesarea poate fi invalidată de către operator dacă sunt observate și raportate dificultăți de ordin tehnic, legate de operator sau instrument pe parcursul derulării testării.

Procesarea invalidă trebuie repetată. Procesările întrerupte trebuie repetate.

B. Criterii de acceptabilitate a calibratorului

Tabelul de mai jos precizează criteriile RLU pentru replicatele calibratorului negativ și pozitiv.

Calibrator negativ	Analit	≥ 0 și ≤ 45.000 RLU
	CI	≥ 75.000 și ≤ 400.000 RLU
Calibrator pozitiv	Analit	≥ 480.000 și $\leq 1.850.000$ RLU
	CI	≤ 450.000 RLU

C. Calculul pragului pentru CI

Pragul pentru CI este determinat în baza semnalului CI (intermitent) de la replicatele valide ale calibratorului negativ.

$$\text{Pragul pentru CI} = 0,5 \times [\text{media RLU CI de la replicatele valide ale calibratorului negativ}]$$

D. Calculul pragului pentru analit

Pragul pentru analit este determinat în baza semnalului pentru analit (stabil) de la replicatele valide ale calibratorului negativ, precum și a semnalului pentru analit de la replicatele valide ale calibratorului pozitiv.

$$\text{Pragul pentru analit} = [0,09 \times \text{media RLU analit de la replicatele valide ale calibratorului pozitiv}] + [\text{media RLU analit de la replicatele valide ale calibratorului negativ}]$$

E. Calcularea raportului semnal/prag (S/P) al analitului

S/CO al analitului este determinat din RLU analit al probei de testare și pragul pentru analit pentru procesarea în cauză.

$$\text{S/CO pentru analit} = \frac{\text{RLU analit probă de testare}}{\text{prag pentru analit}}$$

F. Criterii de acceptabilitate a controlului (doar pentru Analizoare DTS și Analizor Tigris DTS)

Controlul negativ trebuie să aibă un rezultat negativ valid (RLU CI \geq prag CI și S/CO analit $< 0,50$). Controlul pozitiv trebuie să aibă un rezultat pozitiv valid (S/CO analit $\geq 0,50$).

Interpretarea testului

Rezultatele testării sunt determinate automat de către software-ul de testare. Un rezultat poate fi negativ, pozitiv sau invalid, în funcție de RLU al CI și S/CO pentru analit. Un rezultat poate fi invalid și din cauza altor parametri (formă anormală a curbei cinetice) care sunt în afara intervalelor normale așteptate. Un test cu rezultat invalid inițial trebuie repetat.

Eșantioanele trusei CSCT Aptima pot fi diluate pentru a devansa substanțele cu potențial inhibitor. Diluați 1 parte de eșantion invalid în 8 părți de mediu de transport al eșantionului (soluția din tuburile trusei CSCT) - de exemplu, 560 μl de eșantion într-un nou tub din trusa CSCT care conține 4,5 ml de mediu de transport al eșantionului. Întoarceți ușor eșantionul diluat pentru a se amesteca; evitați crearea spumei. Testați eșantionul diluat conform procedurii standard de testare.

Notă: Este necesar un volum minim de 1,7 ml pentru a testa 1 alicot din probă. Nu diluați un eșantion diluat invalid. În cazul în care un eșantion diluat produce un rezultat invalid, trebuie obținut un eșantion nou de la pacient.

Rezultatul Aptima HPV Assay	Criterii
Negativ	<i>S/CO analit < 0,50 CI ≥ Prag CI CI ≤ 2.000.000 RLU</i>
Pozitiv	<i>S/CO analit ≥ 0,50 CI ≤ 2.000.000 RLU Analit ≤ 13.000.000 RLU</i>
Invalid	<i>CI > 2.000.000 RLU sau S/CO analit < 0,50 și CI < Prag CI sau Analit > 13.000.000 RLU</i>

Limitări

- A. Nu au fost evaluate alte tipuri de eșantioane în afara celor identificate în cadrul destinației de utilizare.
- B. Performanța Aptima HPV Assay nu a fost evaluată în cazul pacienților vaccinați anti-HPV.
- C. Aptima HPV Assay nu a fost evaluat în cazuri de suspiciuni de abuz sexual.
- D. Prevalența infecției cu HPV în cadrul unei populații poate afecta performanța. Valorile predictive pozitive scad în cazul testării populațiilor cu prevalență scăzută sau la subiecții care nu prezintă risc de infectare.
- E. Eșantioanele pentru citologie în mediu lichid ThinPrep ce conțin mai puțin de 1 ml după pregătirea lamei pentru testul Papanicolau ThinPrep sunt considerate inadecvate pentru Aptima HPV Assay.
- F. Scoaterea a 1 ml dintr-un eșantion pentru citologie în mediu lichid SurePath înainte de procesarea citologică nu a fost evaluată pentru a determina impactul asupra rezultatului citologiei.
- G. Rezultatele testării pot fi afectate de o recoltare, depozitare sau procesare incorectă a eșantionului.
- H. Controlul intern monitorizează etapele de captură a analitului, de amplificare și de detecție ale testului, nu are menirea de a controla conformitatea recoltării cervicale.
- I. Un rezultat Aptima HPV assay negativ nu exclude posibilitatea existenței unor anormalități citologice sau a CIN2, CIN3 (neoplazie intraepitelială cervicală) sau a cancerului în forme ascunse.
- J. Lubrifianții de uz intim ce conțin Polyquaternium 15 pot afecta performanța testului atunci când sunt prezenți în concentrații mai mari de 0,025% (v/v sau w/v) într-o probă de testare.
- K. Medicamentele antifungice ce conțin tioconazol pot afecta performanța testului atunci când sunt prezenți în concentrații mai mari de 0,075% (w/v) într-o probă de testare.
- L. Aptima HPV Assay asigură rezultate calitative. Prin urmare, nu poate fi obținută o corelație între amplitudinea unui semnal de testare pozitiv și expresia nivelului de mRNA într-un eșantion.
- M. Detectarea de mRNA HPV de risc înalt depinde de numărul de copii prezente în eșantion și poate fi afectată de metodele de recoltare a eșantionului, factori ce țin de pacient, stadiul infectării și prezența substanțelor perturbatoare.
- N. Infectarea cu HPV nu este un indicator de HSIL (leziune intraepitelială scuamoasă de grad înalt) citologic sau de CIN de grad ridicat, și nici nu semnalează dezvoltarea viitoare de CIN2, CIN3 sau cancer. Majoritatea femeilor infectate cu unul sau mai multe tipuri de HPV de risc ridicat nu dezvoltă CIN2, CIN3 sau cancer.
- O. Nu au fost evaluate efectele altor variabile potențiale cum ar fi scurgeri vaginale, utilizarea tamponelor, spălături vaginale etc. și variabile ce țin de recoltarea eșantioanelor.
- P. Utilizarea acestui produs trebuie limitată la personalul instruit în utilizarea Aptima HPV assay.

- Q. Contaminarea încrucișată a probelor poate conduce la apariția unor rezultate fals pozitive. Rata de transfer a Aptima HPV Assay în Analizorul Tigris DTS a fost stabilită în cadrul unui studiu non-clinic la 0,3%.
- R. Aptima HPV Assay trebuie interpretat împreună cu alte date clinice și de laborator aflate la dispoziția medicului.
- S. Acest test poate produce rezultate fals pozitive. Transcripțiile *in vitro* de la genotipurile HPV de risc scăzut 26, 67, 70 și 82 au demonstrat o reactivitate încrucișată cu Aptima HPV Assay.
- T. Materialul de control pozitiv nu are menirea de a monitoriza performanța la pragul de testare.

Performanța testului cu Analizoarele DTS

Aptima HPV Assay Performanța clinică cu eșantioanele pentru citologie în mediu lichid ThinPrep

Au fost recoltate peste 700 de eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep de la femei din Europa care au primit recomandare de urmărire din următoarele motive: unul sau mai multe teste Papanicolau anormale, o infecție HPV sau altele. Un mililitru (1,0 ml) din fiecare eșantion a fost diluat în 2,9 ml de mediu de transport al eșantioanelor Aptima și un singur replicat a fost testat cu Aptima HPV Assay. Pentru majoritatea eșantioanelor au fost disponibile rezultate citologice, histologice și ale unui test ADN HPV disponibil pe piață (HPV ADN). Statutul de HPV de risc înalt al fiecărui eșantion a fost stabilit prin concordanța între testul Aptima și cel HPV DNA disponibil pe piață și prin analiza suplimentară a eșantioanelor cu rezultate discordante aplicând un test de genotipare a DNA amplificat. A fost stabilită sensibilitatea și specificitatea la detectarea acidului nucleic HPV. Au fost de asemenea calculate sensibilitatea și specificitatea clinică pentru detectarea bolii, definită ca neoplazie intraepitelială cervicală (CIN) 2 sau un rezultat histologic mai accentuat, pentru întreaga populație de eșantioane precum și subseturile specifice în baza rezultatelor citologice.

Sensibilitatea și specificitatea Aptima HPV Assay pentru detecția HPV de risc înalt este ilustrată în Tabel 1 pentru cele 781 de eșantioane testate în Analizoarele DTS. Sensibilitatea testului a fost de 92,6%, specificitatea a fost de 98,5%, iar valorile predictive pozitive și negative pentru detecția HPV de risc înalt au fost de 98,8% și respectiv 90,9%.

Tabel 1: Sensibilitatea și specificitatea Aptima HPV Assay pe Analizoarele DTS pentru detecția HPV de risc înalt

		HPV de risc înalt		Total
		+	-	
Aptima HPV	+	412	5	417
	-	33	331	364
	Total	445	336	781

Sensibilitate (CI de 95%) = 92,6% (89,8 - 94,7)
 Specificitate (CI de 95%) = 98,5% (96,6 - 99,4)
 Valoare predictivă pozitivă = 98,8%
 Valoare predictivă negativă = 90,9%

Sensibilitatea și specificitatea Aptima HPV Assay pentru detecția \geq CIN2 este ilustrată în Tabel 2a pentru cele 753 de eșantioane cu rezultate de histologie testate în Analizoarele DTS. Sensibilitatea clinică a testului a fost de 90,8%, specificitatea a fost de 55,7%, iar valorile predictive pozitive și negative pentru detecția \geq CIN2 au fost de 32,1% și respectiv 96,3%. Sensibilitatea Aptima HPV Assay a fost similară cu cea a HPV-DNA, care a fost de 95,0% (Tabel 2b), dar specificitatea Aptima HPV assay a înregistrat valori semnificativ mai ridicate față de cele ale HPV-DNA, care au fost de 47,4% la această populație pentru detecția leziunilor \geq CIN2. Din cele 753 de eșantioane cu rezultate de histologie, 159 au prezentat un rezultat citologic ASCUS. Sensibilitatea și specificitatea Aptima HPV Assay la această populație a fost de 92,3% și respectiv 41,4% pentru detecția \geq CIN2.

Analize similare au fost efectuate pentru criteriul final clinic \geq CIN3. Sensibilitatea și specificitatea clinică a Aptima HPV Assay pentru detecția \geq CIN3 este ilustrată în Tabel 3a pentru cele 753 de eșantioane cu rezultate de histologie testate în Analizoarele DTS. Sensibilitatea clinică a testului a fost de 97,7%, specificitatea a fost de 52,9%, iar valorile predictive pozitive și negative pentru detecția \geq CIN3 au fost de 21,3% și respectiv 99,4%.

Din nou, sensibilitatea Aptima HPV Assay a fost similară cu cea a HPV-DNA, la care sensibilitatea la detecția \geq CIN3 a fost de 98,9% (Tabel 3b), iar specificitatea Aptima HPV Assay a înregistrat valori semnificativ mai ridicate față de cele ale HPV-DNA, care au fost de 44,4% la această populație pentru detecția leziunilor \geq CIN3. Din cele 753 de eșantioane cu rezultate de histologie, 159 au prezentat un rezultat citologic ASCUS. Sensibilitatea și specificitatea Aptima HPV Assay la această populație a fost de 100% și respectiv 40,1% pentru detecția \geq CIN3.

Aceste rezultate, care au demonstrat o sensibilitate similară și specificitate semnificativ mai ridicată pentru Aptima HPV Assay comparativ cu detecția ADN de risc înalt, sunt similare cu rezultatele obținute în cadrul altor studii.^{27, 28, 29, 30, 31}

Tabel 2a: Sensibilitatea și specificitatea Aptima HPV Assay pe Analizoarele DTS pentru detecția bolii (\geq CIN2)

		\geq CIN2	<CIN2	Total
Aptima HPV	+	128	271	399
	-	13	341	354
	Total	141	612	753

Sensibilitate (CI de 95%) = 90,8% (84,9 - 94,5)

Specificitate (CI de 95%) = 55,7% (51,8 - 59,6)

Valoare predictivă pozitivă = 32,1%

Valoare predictivă negativă = 96,3%

Tabel 2b: Sensibilitatea și specificitatea testului HPV-DNA pentru detecția bolii (\geq CIN2)

		\geq CIN2	<CIN2	Total
HPV-DNA	+	134	322	456
	-	7	290	297
	Total	141	612	753

Sensibilitate (CI de 95%) = 95,0% (90,1 - 97,6)

Specificitate (CI de 95%) = 47,4% (43,5 - 51,4)

Valoare predictivă pozitivă = 29,4%

Valoare predictivă negativă = 97,6%

Tabel 3a: Sensibilitatea și specificitatea Aptima HPV Assay pe Analizoarele DTS pentru detecția bolii (\geq CIN3)

		\geq CIN3	<CIN3	Total
Aptima HPV	+	85	314	399
	-	2	352	354
	Total	87	666	753

Sensibilitate (CI de 95%) = 97,7% (92,0 - 99,4)

Specificitate (CI de 95%) = 52,9% (49,1 - 56,6)

Valoare predictivă pozitivă = 21,3%

Valoare predictivă negativă = 99,4%

Tabel 3b: Sensibilitatea și specificitatea testului HPV-DNA pentru detecția bolii (≥CIN3)

		≥CIN3	<CIN3	Total
HPV-DNA	+	86	370	456
	-	1	296	297
	Total	87	666	753

Sensibilitate (CI de 95%) = 98,9% (93,8 - 99,8)

Specificitate (CI de 95%) = 44,4% (40,7 - 48,2)

Valoare predictivă pozitivă = 18,9%

Valoare predictivă negativă = 99,7%

Performanța clinică a Aptima HPV Assay cu eșantioanele de recoltare cervicală și transport

Au fost recoltate eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep și eșantioane din trusa CSCT Aptima împerecheate de la 728 de subiecți. Un mililitru (1,0 ml) din fiecare eșantion pentru citologie în mediu lichid ThinPrep a fost diluat în 2,9 ml de mediu de transport al eșantioanelor Aptima și un singur replicat a fost testat cu Aptima HPV Assay pe Analizoarele DTS. Un singur replicat din fiecare eșantion CSCT a fost de asemenea testat cu Aptima HPV Assay. A fost stabilit acordul procentual al Aptima HPV Assay între eșantioanele pentru citologie în mediu lichid ThinPrep și eșantioanele CSCT, și acesta este ilustrat în Tabel 4.

Acordul procentual pozitiv a fost de 95,1% (CI de 95%: 91,6 - 97,2); acordul procentual negativ a fost de 95,9% (CI de 95%: 93,7 - 97,3); iar acordul global a fost de 95,6% (CI de 95%: 93,9 - 96,9). A fost observată o puternică legătură între eșantioanele pentru testul Papanicolau în mediu lichid și cele din trusa de transport (kappa = 0,90).

Tabel 4: Acordul global al rezultatelor Aptima HPV Assay între eșantioanele pentru citologie în mediu lichid ThinPrep și eșantioanele CSCT Aptima testate pe Analizoarele DTS

		Eșantion pentru citologie în mediu lichid ThinPrep		Total
		+	-	
Eșantion trusă CSCT Aptima	+	233	20	253
	-	12	463	475
	Total	245	483	728

Acord pozitiv = 95,1% (91,6 - 97,2)

Acord negativ = 95,9% (93,7 - 97,3)

Acord global = 95,6% (93,9 - 96,9)

Coefficient Kappa = 0,90

Sensibilitatea analitică

Sensibilitatea analitică a Aptima HPV Assay pentru detecția HPV de risc înalt a fost stabilită prin testarea eșantioanelor individuale pentru citologie în mediu lichid ThinPrep clinic negative însămânțate cu transcripții HPV *in vitro* sau celule infectate cu concentrații variate. Treizeci de replicare din fiecare nivel de copie au fost testate cu fiecare din cele două loturi de reactivi, în total 60 de replicare. A fost efectuată analiza de regresie cu model probit și a fost stabilită limita de detecție de 95% previzionată pentru fiecare tip de HPV (Tabel 5).

Analiza regresiei de model probit indică faptul că HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 56, 58, 59, 66 și 68 a stabilit limite de detecție previzionate de 95% pe mai puțin de 100 copii/reacție, iar tipurile 51 și 52 au stabilit limite de detecție previzionate de 95% între 100 și 300 copii/reacție.

Tabel 5: Limita de detecție previzionată de 95% a Aptima HPV Assay prin analiza probit a datelor pe Analizoarele DTS

Analit	Limită de detecție de 95%* (limite de încredere 95%)
HPV 16	74 (54 - 113)
HPV 18	52 (39 - 76)
HPV 31	19 (14 - 27)
HPV 33	24 (18 - 37)
HPV 35	27 (22 - 38)
HPV 39	32 (23 - 49)
HPV 45	28 (17 - 90)
HPV 51	198 (147 - 289)
HPV 52	239 (187 - 324)
HPV 56	48 (36 - 71)
HPV 58	99 (74 - 146)
HPV 59	89 (68 - 127)
HPV 68	27 (20 - 40)
HPV 66	68 (50 - 105)

*copii per reacție pentru transcripții *in vitro* și celule per reacție pentru linii celulare

Reproductibilitatea testului

Reproductibilitatea Aptima HPV Assay a fost stabilită prin testarea a 16 membri ai panoului în trei exemplare în cadrul a 2 procesări cu 2 loturi de reactivi, pe 3 instrumente, efectuate de 3 operatori. Testarea a fost efectuată într-un interval de 20 de zile într-o unitate de testare. Membrii panoului sunt descriși în Tabel 6. Șase membri ai panoului au fost HPV-negativi (3 cu medii de transport al eșantionului Aptima și 3 cu eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep comasate), patru cu rezultat HPV pozitiv scăzut (limită de detecție ~95%), iar șase cu rezultat HPV pozitiv moderat ($\geq \sim 3x$ limita de detecție de 95%). Membrii panoului cu rezultat pozitiv scăzut și moderat au fost incluși fie în transcripție *in vitro* (IVT), fie cu celule de cultură infectate cu HPV în mediile de transport al eșantionului Aptima.

Tabel 6: Panoul de reproductibilitate a Aptima HPV Assay

Membru al panoului	Descriere	Concentrație	Rezultat HPV anticipat
1	Lot STM 1	Nu este cazul	Negativ
2	Pozitiv scăzut SiHa	1 celulă/reacție	Pozitiv
3	Pozitiv scăzut HeLa	0,15 celule/reacție	Pozitiv
4	Lot probe clinice 1	Nu este cazul	Negativ
5	Pozitiv moderat ME180	1 celulă/reacție	Pozitiv
6	Pozitiv moderat MS751	1 celulă/reacție	Pozitiv
7	Pozitiv moderat SiHa & HeLa	10 celule/reacție & 1 celulă/reacție	Pozitiv
8	Lot STM 2	Nu este cazul	Negativ
9	Lot probe clinice 2	Nu este cazul	Negativ
10	Pozitiv scăzut IVT HPV 16	30 copii/reacție	Pozitiv
11	Pozitiv scăzut IVT HPV 18	30 copii/reacție	Pozitiv
12	Lot STM 3	Nu este cazul	Negativ
13	Pozitiv moderat IVT HPV 16	100 copii/reacție	Pozitiv
14	Pozitiv moderat IVT HPV 18	100 copii/reacție	Pozitiv
15	Pozitiv moderat HPV 16 & HPV 18	100/100 copii/reacție	Pozitiv
16	Lot probe clinice 3	Nu este cazul	Negativ

Au fost analizate o mie opt puncte de date pentru fiecare membru al panoului de reproductibilitate la Analizoarele DTS; rezultatele acestora sunt rezumate în Tabel 7. Rezultatul pozitiv procentual pentru panourile negative s-a înscris între 0 și 3,7, pozitiv scăzut s-a încadrat la ≥ 98 iar pozitiv moderat a fost 100. Acordul cu rezultatul anticipat a fost $> 96\%$ pentru toți membrii panoului.

A fost stabilit raportul S/CO mediu al CI pentru cei 6 membri ai panoului cu teste negative (1, 4, 8, 9, 12 și 16); a fost calculată variabilitatea între instrumente, între operatori, între loturi și între procesări, precum și variabilitatea în cadrul procesării. Raportul S/CO mediu al CI pentru membrii panoului cu teste negative s-a încadrat între 1,76 și 1,92. Coeficientul de variație (CV) pentru valorile S/CO ale CI a fost destul de scăzut, $< 10\%$ pentru toți parametrii evaluați. Variabilitatea valorilor S/CO ale analitului pentru membrii panoului cu teste negative nu a fost analizată pentru membrii panoului cu teste negative din cauza variabilității inerente arunci când sunt observate valori de zero.

A fost stabilit raportul S/CO mediu al analitului pentru cei 10 membri ai panoului cu teste pozitive (2 - 3, 5 - 7, 10 - 11 și 13 - 15); a fost calculată variabilitatea între instrumente, între operatori, între loturi și între procesări, precum și variabilitatea în cadrul procesării. Valorile S/CO medii ale analitului s-au încadrat între 9,00 și 10,70 pentru panourile cu teste pozitiv scăzute și între 8,84 și 15,75 pentru panourile cu teste pozitiv moderate. Cei doi membri ai panoului cu 2 tipuri de HPV de risc înalt, panoul 7 și 15, au prezentat valori S/CO medii ale

analitului de 22,90 și respectiv 23,37. Coeficienții de variație pentru membrii panoului cu test pozitiv scăzut și pozitiv moderat au fost < 35% și respectiv < 15%, cu variabilitatea cea mai ridicată în cadrul unei procesări. Valorile S/CO ale CI nu au fost evaluate pentru membrii panoului cu teste pozitive deoarece RLU CI nu oferă indicii cu privire la performanța unei anumite reacții în cadrul unei probe pozitive de analit.

Tabel 7: Reproducibilitatea Aptima HPV Assay pe Analizoarele DTS

					S/CO mediu		Analiza variabilității S/CO*											
							Între instrumente		Între operatori		Între loturi		Între procesări		În cadrul procesării		Total	
Membru al panoului	Descriere	N	% Pozitiv	Acord	CI	Analit	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
1	Neg	108	0,0	100%	1,92	0,00	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	1,9	0,0	0,7	0,1	5,8	0,1	6,3
2	Poz. scăzut	108	99,1	98,1%	N/A	10,68	0,3	2,6	0,0	0,0	0,4	4,1	0,0	0,0	2,0	19,0	2,1	19,6
3	Poz. scăzut	108	100	99,1%	N/A	10,65	0,5	4,7	0,0	0,0	0,3	2,5	0,3	3,0	2,4	22,3	2,5	23,1
4	Neg	108	0,0	100%	1,80	0,00	0,0	2,1	0,0	1,8	0,0	0,2	0,0	0,7	0,1	6,6	0,1	7,2
5	Poz. moderat	107 [^]	100	100%	N/A	8,84	0,2	1,8	0,1	0,8	0,2	2,3	0,0	0,0	0,6	7,2	0,7	7,8
6	Poz. moderat	108	100	100%	N/A	15,75	0,4	2,4	0,4	2,6	1,1	7,0	0,1	0,9	0,6	3,9	1,4	8,7
7	Poz. moderat	107 [^]	100	100%	N/A	22,90	0,7	3,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,1	9,1	2,2	9,7
8	Neg	108	0,0	100%	1,85	0,00	0,0	0,0	0,0	2,2	0,0	1,1	0,0	1,5	0,1	6,1	0,1	6,8
9	Neg	108	3,7	96,3%	1,76	0,06	0,0	0,0	0,1	3,6	0,0	0,0	0,0	1,3	0,1	7,5	0,1	8,4
10	Poz. scăzut	108	99,1	99,1%	N/A	10,61	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	16,8	1,8	16,8
11	Poz. scăzut	108	98,1	98,1%	N/A	9,04	0,0	0,0	0,4	4,1	0,0	0,0	0,9	10,0	2,9	32,6	3,1	34,3
12	Neg	108	0,0	100%	1,85	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	1,0	0,1	7,6	0,1	7,8
13	Poz. moderat	108	100	100%	N/A	10,99	0,1	1,4	0,1	0,8	0,0	0,2	0,0	0,0	0,4	3,9	0,5	4,2
14	Poz. moderat	108	100	100%	N/A	12,22	0,3	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	12,8	1,6	13,0
15	Poz. moderat	108	100	100%	N/A	23,37	0,7	2,8	0,3	1,5	0,0	0,0	0,1	0,6	2,5	10,5	2,6	11,0
16	Neg	108	0,9	99,1%	1,79	0,03	0,0	2,3	0,0	1,7	0,0	0,0	0,0	1,1	0,1	7,5	0,1	8,1

*Analiza variabilității S/CO al CI pentru panourile negative (1, 4, 8, 9, 12, 16); analiza variabilității S/CO al analitului pentru panourile pozitive (2, 3, 5, 6, 7, 10, 11, 13, 14, 15)

[^]1 reacție invalidă nu a fost retestată

S/CO= raport semnal/prag

SD= deviație standard

N/A= nu este cazul

Reactivitate încrucișată

Specificitatea analitică a Aptima HPV Assay a fost evaluată cu mediul PreservCyt diluat în mediul de transport al eșantionului Aptima și însămânțat cu bacterii de cultură, drojdie sau fungi, viruși de cultură sau transcripții *in vitro* cu HPV de risc scăzut. Sensibilitatea analitică a fost evaluată cu același panou însămânțat cu o concentrație scăzută de celule SiHa infectate cu HPV (1 celulă per reacție). Organismele și concentrațiile de testare sunt descrise în Tabel 8. Nu a fost observat niciun efect asupra specificității sau sensibilității Aptima HPV Assay cu niciunul din organismele testate.

Tabel 8: Panoul pentru specificitatea analitică

Organism	Concentrația de testare	Organism	Concentrația de testare
Bacterii			
<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 și Chlamydia trachomatis</i>	5x10 ⁸ CFU/ml 1,5x10 ⁴ TCID 50/ml
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	2x10 ⁴ 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
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1x10 ⁸ CFU/ml		

Tabel 8: Panoul pentru specificitatea analitică (continuare)

Organism	Concentrația de testare	Organism	Concentrația de testare
Drojdii/protozoare			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ celule/ml
Virusi			
Adenovirus 2	1x10 ⁶ vp/ml	Virusul Herpes simplex de tip 1	2,5x10 ⁵ TCID 50/ml
Citomegalovirus	33 TCID 50/ml	Virusul Herpes simplex de tip 2	5x10 ⁴ TCID 50/ml
Virusul Epstein-Barr	4x10 ⁷ vp/ml	SV40	1,2 x10 ⁴ TCID 50/ml
HIV-1	1,0x10 ⁶ copii/ml		
Genotipuri HPV nevizate			
HPV 6	2,5x10 ⁶ copii/ml	HPV 53	2,5x10 ⁶ copii/ml
HPV 11	2,5x10 ⁶ copii/ml	HPV 61	2,5x10 ⁶ copii/ml
HPV 42	2,5x10 ⁶ copii/ml	HPV 71	2,5x10 ⁶ copii/ml
HPV 43	2,5x10 ⁶ copii/ml	HPV 81	2,5x10 ⁶ copii/ml
HPV 44	2,5x10 ⁶ copii/ml		

Interferența

Substanțele descrise în Tabel 9 au fost însămânțate individual în soluție PreservCyt și mediu de transport al eșantionului Aptima (STM) la 1% și 10% v/v sau w/v și testate cu Aptima HPV Assay. Toate substanțele au fost testate atât în prezența cât și în absența celulelor de cultură infectate cu HPV (SiHa, 3 celule/reacție). Nu a fost observată vreo interferență cu niciuna din substanțele testate, cu excepția a doi dintre cei cinci lubrifianți ce conțin Polyquaternium 15 în concentrații > 0,025% în proba de testare, și a unui medicament antifungic ce conține tioconazol în concentrații > 0,075% în proba de testare.

Tabel 9: Substanțe testate pentru identificarea eventualei interferențe cu Aptima HPV Assay

Categoria de produs	Marca sau tipul produsului
Lubrifiant	KY Sensual Mist (v/v)
	KY Warming Jelly (w/v)
	KY Warming Liquid (v/v)
	Astroglide Personal Lubricant*
	Target Brand Lubricating Liquid*
Spermicid	Gynol II Vaginal Contraceptive Original Formula (w/v)
	Gynol II Vaginal Contraceptive Extra Strength (w/v)
	Delfen Vaginal Contraceptive Foam (w/v)
	Encare Vaginal Contraceptive (w/v)
	Conceptrol Vaginal Contraceptive (w/v)
Medicamente antifungice/anti-prurit	Vagisil Maximum Strength (w/v)
	Monistat Soothing Care (w/v)
	Monistat 3 Combination Pack (w/v)
	Target Brand Tioconazole 1 (w/v)
	Target Brand Miconazole 3 (w/v)
Acid acetic glacial	EMD M/N AX0073-11 (v/v)
Sânge integral	Sânge integral (v/v)

*Lubrifianți intimi ce conțin Polyquaternium 15.

Rezultate anticipate pentru Analizorul Tigris DTS: Prevalența mRNA HPV cu risc crescut

Prevalența infectării cu HPV de risc crescut variază pe scară largă și este influențată de o serie de factori, unde vârsta are cea mai mare contribuție.^{32, 33} Au fost desfășurate multe studii pentru a investiga prevalența HPV în baza detectării HPV DNA, însă sunt puține studii care să raporteze prevalența în baza detectării mRNA HPV oncogen. Femei din diverse centre clinice (n=18) reprezentând o amplă distribuție geografică și o populație diversă (10 state din cadrul Statelor Unite ale Americii) au fost înscrise într-un studiu clinic prospectiv, cunoscut sub numele de studiul CLEAR.³⁴ Prevalența probelor cu mRNA HPV pozitiv observată în cadrul studiului a fost clasificată la nivel general, pe grupe de vârstă și pe centru de testare. Rezultatele pentru ASC-US (celule scuamoase atipice de semnificație nedeterminată) și NILM (negativ pentru leziuni intraepiteliale sau malignitate) sunt ilustrate în Tabel 10.

Tabel 10: Prevalența mRNA HPV de risc crescut pe grupe de vârstă, centru de testare și comasate

	Rata rezultatelor pozitive % (x/n)	
	Populația ASC-US (≥ 21 ani)	Populația NILM (≥ 30 ani)
Toate	41,8 (400/958)	5,0 (540/10.871)
Grupa de vârstă (ani)		
între 21 și 29	60,3 (252/418)	N/A
între 30 și 39	36,8 (98/266)	6,9 (289/4199)
≥ 40	18,2 (50/274)	3,8 (251/6672)
Centru de testare		
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 = Nu este cazul

Conceptul studiului clinic asupra Aptima HPV Assay cu eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep

A fost realizat un studiu clinic prospectiv multicentric în SUA, cunoscut sub numele de studiul CLEAR, pentru a determina performanța clinică a Aptima HPV Assay în detectarea neoplaziei cervicale intraepiteliale de grad II sau a bolii cervicale mai grave (\geq CIN2). Studiul CLEAR a constatat dintr-o evaluare inițială și o evaluare de urmărire la 3 ani.³⁴

Studiul CLEAR – evaluarea inițială

La momentul inițial al studiului CLEAR (Etapa inițială), au fost înrolate paciente fie în studiul ASC-US fie în studiul NILM în funcție de rezultatele citologice de la screening-ul de rutină ce viza cancerul cervical. Populația studiului ASC-US a inclus femei de 21 de ani și peste cu rezultate citologice ASC-US, iar populația studiului NILM a inclus femei de 30 de ani și peste cu rezultate citologice NILM. Studiul NILM a fost conceput pentru a confirma necesitatea de screening suplimentar la femeile de 30 de ani și peste, deoarece femeile din această grupă de vârstă cu rezultate citologice ce indică afecțiuni mai severe decât ASC-US trebuie să continue cu o colposcopie indiferent de starea HPV.³⁵

Au fost înscrise paciente din 18 centre clinice, în principal clinici de obstetrică/ginecologie, care acopereau o amplă distribuție geografică și o populație diversă. Pacientele eligibile au fost alocate în studiul ASC-US sau NILM în funcție de eșantionul pentru citologie în mediu lichid ThinPrep care a constituit trimiterea. La momentul inițial, restul eșantioanelor de trimitere din grupul femeilor din studiul ASC-US și studiul NILM au fost testate atât cu Aptima HPV Assay cât și cu un test HPV DNA disponibil pe piață.

La momentul inițial, toate pacientele din studiul ASC-US au fost trimise pentru efectuarea unei colposcopii, indiferent de rezultatele testului HPV. Au fost obținute o biopsie în cadrul unui chiuretaj endocervical (ECC) și biopsii cervicale prin ciupire (1 biopsie din fiecare din cele 4 cadrane). Dacă era vizibilă o leziune, a fost recoltată o biopsie prin ciupire (metoda dirijată, 1 biopsie per leziune) iar din cadranele fără leziuni vizibile au fost recoltate biopsii la joncțiunea scuamo-cilindrică (metoda aleatorie).

În cadrul studiului NILM, pacientele cu rezultate pozitive la Aptima HPV Assay și/sau testul HPV DNA disponibil pe piață, precum și paciente selectate aleatoriu cu rezultate negative la ambele teste, au fost trimise pentru colposcopie la evaluarea inițială. Pacientele selectate aleatoriu cu rezultate negative la ambele teste au fost incluse pentru a corecta deviația de verificare cu estimări de performanță ajustată generate cu ajutorul metodei de imputare multiplă. A fost obținută o biopsie ECC de la fiecare pacientă căreia i s-a efectuat o colposcopie. Biopsiile prin ciupire au fost recoltate exclusiv din leziuni vizibile (metoda dirijată, 1 biopsie per leziune).

Starea bolii a fost determinată în baza unui panou de analiză histologică în consens, care s-a bazat pe acordul între cel puțin 2 experți patologi. Experților patologi nu li s-a prezentat starea HPV a pacientei. De asemenea, nu li s-a prezentat starea citologică, precum nici diagnosticele de histologie ale celuilalt. În cazul în care cei 3 experți aveau păreri contradictorii, toți 3 patologii au analizat lamele la un microscop multi-observație, pentru a ajunge la un consens. Investigatorilor, medicilor și pacientelor nu li s-au comunicat rezultatele testului HPV până după finalizarea colposcopiei, pentru a evita influențarea.

La momentul inițial, a fost evaluată performanța clinică a Aptima HPV Assay în detectarea \geq CIN2 și a neoplaziei cervicale intraepiteliale de grad III sau a bolii cervicale mai grave (\geq CIN3), față de starea bolii cervicale stabilită la momentul inițial. A fost de asemenea

stabilită performanța clinică a testului HPV DNA disponibil pe piață, în vederea comparării directe cu rezultatele Aptima HPV Assay.

Studiul CLEAR – evaluarea de urmărire

Pacientele din studiul NILM din 14 centre clinice au fost eligibile să participe la faza de urmărire de 3 ani a studiului dacă: i) la momentul inițial, li s-a efectuat o colposcopie și nu prezentau \geq CIN2 sau ii) nu li s-a efectuat o colposcopie la momentul inițial. Faza de urmărire a studiului a constat în vizite anuale. La aceste vizite s-au recoltat de la fiecare pacientă probe cervicale pentru citologie, iar unele paciente au fost testate folosind un test HPV disponibil pe piață. Pacientele cu ASC-US sau cu rezultate citologice mai severe în perioada de urmărire au fost trimise pentru colposcopie folosind aceleași proceduri de biopsie și histologie realizate pentru evaluarea inițială din studiul NILM. Starea bolii cervicale stabilită la vizita de referință a fost considerată „negativă” în funcție de citologia NILM sau, în cazul pacientelor cu rezultate anormale la testele citologice, în funcție de rezultatele normale sau CIN1 indicate de un panou de analiză histologică în consens. S-a considerat că pacientele la care s-a detectat \geq CIN2 în perioada de urmărire au încheiat perioada de urmărire și nu s-au prezentat la vizite după detecția \geq CIN2. Perioada de urmărire a fost considerată încheiată la pacientele la care nu s-a detectat \geq CIN2 în perioada de urmărire însă s-au prezentat la o vizită de studiu în anul de urmărire 1 și/sau anul de urmărire 2 și care s-au prezentat la o vizită de studiu în anul de urmărire 3.

Obiectivul studiului de urmărire a fost să compare riscul cumulat la 3 ani asociat cu boala cervicală la paciente cu rezultate pozitive la Aptima HPV Assay la momentul inițial cu riscul cumulat la 3 ani asociat cu boala cervicală la paciente cu rezultate negative la Aptima HPV Assay la momentul inițial. Starea bolii cervicale la 3 ani a fost stabilită după cum urmează:

- Stare pozitivă a bolii cervicale (\geq CIN2 și/sau \geq CIN3) – Paciente cu \geq CIN2 detectat la momentul inițial sau pe durata urmăririi.
- Stare negativă a bolii cervicale ($<$ CIN2) – Paciente la care nu s-a detectat \geq CIN2 la încheierea urmăririi și la care nu s-a considerat că starea bolii cervicale este „nedeterminată”.
- Stare nedeterminată a bolii cervicale – Paciente cu rezultate anormale la testele citologice din perioada de urmărire și care nu au obținut un rezultat ulterior la un panou de analiză histologică în consens sau pacientele cu citologie inadecvată la ultima vizită.
- Retragere în perioada de urmărire – Paciente care nu au încheiat urmărirea și la care nu s-a considerat că starea bolii cervicale este „nedeterminată”.

A fost evaluată performanța clinică a Aptima HPV Assay în detecția \geq CIN2 și a \geq CIN3 față de starea bolii cervicale stabilită la 3 ani.

Performanța testului cu Analizorul Tigris DTS

Populația ASC-US ≥ 21 de ani: Performanța clinică a Aptima HPV Assay cu eșantioanele pentru citologie în mediu lichid ThinPrep

În total, în studiul ASC-US au fost înrolate 1252 de paciente cu vârsta peste 21 de ani, cu rezultate citologice ASC-US. Dintre acestea, 294 de paciente s-au retras și 19 paciente au primit un diagnostic nedeterminat; toate acestea au fost excluse din analiză. Restul de 939 de paciente evaluabile aveau vârsta peste 21 de ani, cu rezultate citologice ASC-US, rezultate ale Aptima HPV Assay și stare concluzivă a bolii. Nouăzeci și una (91) de paciente aveau ≥CIN2, iar patruzeci și una (41) aveau ≥CIN3. Prevalența ≥CIN2 și ≥CIN3 la paciente evaluabile cu rezultate citologice ASC-US a fost de 9,7%, respectiv 4,4%. Rezultatele obținute la Aptima HPV Assay în funcție de diagnosticul din panoul de analiză histologică în consens sunt prezentate în Tabel 11.

Tabel 11: Populația ASC-US ≥ 21 de ani: Rezultatele obținute la Aptima HPV Assay în funcție de diagnosticul din panoul de analiză histologică în consens

Rezultatul Aptima HPV Assay*	Testul HPV DNA	Diagnosticul din panoul de analiză histologică în consens						
		Nedeterminat**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Total
Pozitiv	Pozitiv	6	170	113	41	32	1	363
Pozitiv	Negativ	0	7	0	1	2	0	10
Pozitiv	Niciun rezultat***	0	14	11	0	2	0	27
Negativ	Pozitiv	0	47	13	2	3	0	65
Negativ	Negativ	10	371	55	6	1	0	443
Negativ	Niciun rezultat***	3	40	7	0	0	0	50
Total		19	649	199	50	40	1****	958

*Toate probele au obținut rezultate finale valide (la testarea inițială sau după soluționarea rezultatelor invalide inițiale din fiecare procedură).

**19 subiecți au participat la vizita colposcopică însă nu s-a putut stabili un diagnostic din următoarele motive: < 5 eșantioane de biopsie obținute, toate cu rezultate histologice Normale/CIN1 (n=15), fără biopsii recoltate (n=3), și lame de biopsie pierdute (n=1).

***77 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate la testul HPV DNA, în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

****Un subiect avea adenocarcinom in situ (AIS).

Estimările performanței clinice a Aptima HPV Assay incluzând sensibilitatea, specificitatea, valoarea predictivă pozitivă (PPV) și valoarea predictivă negativă (NPV) pentru detecția ≥CIN2 și ≥CIN3 pe baza evaluării tuturor biopsiilor și incluzând doar biopsiile dirijate sunt indicate în Tabel 12, la fel și estimările pentru testul HPV DNA disponibil pe piață.

Tabel 12: Populația ASC-US ≥ 21 de ani: Performanța Aptima HPV Assay și a unui test HPV DNA pentru detecția ≥CIN2 și a ≥CIN3

	Performanță	Aptima HPV Assay N=939		Testul HPV DNA N=865*	
		Estimare	(CI de 95%)	Estimare	(CI de 95%)
≥CIN2	Toate biopsiile				
	Sensibilitate (%)	86,8 (79/91)	(78,4, 92,3)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
	Biopsii dirijate**				
	Sensibilitate (%)	93,3 (56/60)	(84,1, 97,4)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	6,4 (60/936)		6,8 (59/863)	
	≥CIN3	Toate biopsiile			
Sensibilitate (%)		90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
Specificitate (%)		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)
Prevalență (%)		4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	
Biopsii dirijate**					
Sensibilitate (%)		93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)
Specificitate (%)		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)
Prevalență (%)		3,1 (29/937)		3,2 (28/864)	

*74 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

**Rezultatul la testul histologic în consens a fost derivat folosind doar rezultatele din biopsiile dirijate. Pacientele fără biopsii dirijate indică o colposcopie normală și sunt incluse în aceste analize ca fiind neafectate de boală (<CIN2 sau <CIN3, după caz). Nu s-a ajuns întotdeauna la un consens atunci când s-au inclus doar biopsii dirijate.

La evaluarea tuturor biopsiilor, estimările de sensibilitate clinică ale Aptima HPV Assay și ale testului HPV DNA disponibil pe piață, unde rezultatele la ambele teste sunt disponibile pentru detecția \geq CIN2 și \geq CIN3, au fost similare (diferențele de estimări de sensibilitate nu au fost semnificative statistic: diferență de sensibilitate = -2,3% [CI de 95%: -9,5%, 4,8%]). Estimările de specificitate clinică ale Aptima HPV Assay pentru detecția \geq CIN2 și \geq CIN3 au fost mai mari decât cele ale testului HPV DNA disponibil pe piață (diferențele de estimări de specificitate au fost semnificative statistic). Pentru \geq CIN2, diferența de specificitate a fost de 6,8% (CI de 95%: 4,9%, 9,0%). NPV au fost similare însă pentru detecția \geq CIN2, PPV pentru Aptima HPV Assay a fost ușor mai mare decât PPV pentru testul HPV DNA disponibil pe piață (20,1% față de 18,7%).

Dintre cele 91 de cazuri \geq CIN2, 60 (65,9%) au fost identificate în biopsii dirijate și 31 (34,1%) au fost identificate din biopsii aleatorii și/sau ECC (adică nu din biopsii dirijate). Aceste concluzii sunt comparabile cu rezultatele din studii publicate, în care aproximativ 25% până la 40% dintre cazurile \geq CIN2 au fost identificate doar din eșantioanele de biopsie aleatorie și/sau ECC.^{36, 37} Folosind doar biopsii dirijate pentru a stabili starea bolii (presupunând că femeile fără biopsii dirijate au obținut rezultate histologice normale deoarece nu erau prezente leziuni vizibile), prevalența \geq CIN2 și \geq CIN3 în studiu a fost de 6,4%, respectiv 3,1%. Estimările de sensibilitate clinică pentru detecția \geq CIN2 și \geq CIN3 au fost mai mari pentru ambele teste în care s-au folosit doar biopsii dirijate față de estimările calculate folosind toate biopsiile. Specificitatea clinică obținută folosind doar biopsii dirijate a fost similară cu specificitatea obținută folosind toate biopsiile incluse, pentru ambele teste. În mod corespunzător, atunci când s-au utilizat doar biopsii dirijate, specificitatea Aptima HPV Assay a fost semnificativ superioară celei obținute la testul HPV DNA disponibil pe piață.

Estimările performanței clinice a Aptima HPV Assay și ale testului HPV DNA disponibil pe piață sunt prezentate pe grupe de vârstă în Tabel 13 și Tabel 14 (\geq CIN2, respectiv \geq CIN3, pe baza evaluării tuturor biopsiilor).

Tabel 13: Populația ASC-US ≥ 21 de ani: Performanța Aptima HPV Assay și a unui test HPV DNA pentru detecția ≥CIN2 pe grupe de vârstă

	Performanță	Aptima HPV Assay N=939		Testul HPV DNA N=865*	
		Estimare	(CI de 95%)	Estimare	(CI de 95%)
între 21 și 29 de ani		N=415		N=389	
	Sensibilitate (%)	90,2 (55/61)	(80,2, 95,4)	94,9 (56/59)	(86,1, 98,3)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
între 30 și 39 de ani		N=262		N=239	
	Sensibilitate (%)	90,0 (18/20)	(69,9, 97,2)	80,0 (16/20)	(58,4, 91,9)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
≥ 40 de ani		N=262		N=237	
	Sensibilitate (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)	

*74 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Tabel 14: Populația ASC-US ≥ 21 de ani: Performanța Aptima HPV Assay și a unui test HPV DNA pentru detecția ≥CIN3 pe grupe de vârstă

	Performanță	Aptima HPV Assay N=939		Testul HPV DNA N=865*	
		Estimare	(CI de 95%)	Estimare	(CI de 95%)
între 21 și 29 de ani		N=415		N=389	
	Sensibilitate (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
între 30 și 39 de ani		N=262		N=239	
	Sensibilitate (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
≥ 40 de ani		N=262		N=237	
	Sensibilitate (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)	

*74 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Riscul absolut de boală (\geq CIN2 și \geq CIN3, pe baza evaluării tuturor biopsiilor) indicat de rezultatul Aptima HPV Assay și riscul relativ al bolii pentru rezultate pozitive față de negative la Aptima HPV Assay sunt indicate în Tabel 15, la fel și estimările pentru testul HPV DNA disponibil pe piață. Riscul relativ \geq CIN2 a fost 9,1 (CI de 95%: 5,0, 16,5), indicând că o pacientă cu rezultat pozitiv la Aptima HPV Assay prezenta o probabilitate de 9,1 ori mai mare de a avea \geq CIN2 față de o femeie cu rezultat negativ la Aptima HPV Assay. Riscul relativ \geq CIN3 a fost 12,8 (CI de 95%: 4,6, 35,6).

Tabel 15: Populația ASC-US \geq 21 de ani: Riscurile absolute și relative de \geq CIN2 și \geq CIN3 pentru rezultatele Aptima HPV Assay și ale unui test HPV DNA

	Rezultatul testului	Aptima HPV Assay N=939		Testul HPV DNA N=865*	
		Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)	Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)
\geq CIN2	Pozitiv	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)
	Negativ	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)		2,3 (10/443) (1,2, 3,8)	
	Prevalență (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
\geq CIN3	Pozitiv	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)
	Negativ	0,7 (4/545) (0,2, 1,7)		0,7 (3/443) (0,2, 1,7)	
	Prevalență (%)	4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	

*74 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Estimările riscului absolut și relativ (\geq CIN2 și \geq CIN3, pe baza evaluării tuturor biopsiilor) pentru Aptima HPV Assay și testul HPV DNA disponibil pe piață sunt prezentate pe grupe de vârstă în Tabel 16.

Tabel 16: Populația ASC-US \geq 21 de ani: Riscurile absolute și relative de \geq CIN2 și \geq CIN3 pentru rezultatele Aptima HPV Assay și ale unui test HPV DNA pe grupe de vârstă

	Vârstă	Aptima HPV Assay	Aptima HPV Assay N=939		Testul HPV DNA N=865*	
			Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)	Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)
\geq CIN2	între 21 și 29 de ani		N=415		N=389	
		Pozitiv	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)
		Negativ	3,6 (6/165) (1,5, 7,0)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalență (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	între 30 și 39 de ani		N=262		N=239	
		Pozitiv	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)
		Negativ	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalență (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
	\geq 40 de ani		N=262		N=237	
		Pozitiv	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)
		Negativ	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)		1,6 (3/184) (0,4, 3,4)	
		Prevalență (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)	
\geq CIN3	între 21 și 29 de ani		N=415		N=389	
		Pozitiv	10,4 (26/250) (8,9, 11,4)	17,2 (2,4, 125)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Nu se poate calcula
		Negativ	0,6 (1/165) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalență (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	între 30 și 39 de ani		N=262		N=239	
		Pozitiv	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)
		Negativ	0,6 (1/167) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalență (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
	\geq 40 de ani		N=262		N=237	
		Pozitiv	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)
		Negativ	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)		0,5 (1/184) (0,0, 1,8)	
		Prevalență (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)	

*74 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Populația NILM ≥ 30 de ani: Performanța clinică a Aptima HPV Assay cu eșantioanele pentru citologie în mediu lichid ThinPrep la momentul inițial

În total, în studiul NILM au fost înrolate 11.644 de paciente cu rezultate citologice NILM. Dintre acestea, 773 de paciente s-au retras și au fost excluse din evaluarea de la momentul inițial. Restul de 10.871 de paciente evaluabile aveau vârsta peste 30 de ani, cu rezultate citologice NILM și rezultate ale Aptima HPV Assay. Dintre cele 540 de paciente cu rezultate pozitive la Aptima HPV Assay, 335 au participat la colposcopia de la momentul inițial. Dintre cele 10.331 de paciente cu rezultate negative la Aptima HPV Assay, 530 au participat la colposcopia de la momentul inițial. Douăzeci (20) de paciente au avut ≥CIN2 și unsprezece (11) au avut ≥CIN3; 799 de paciente au avut histologie normală/CIN1; 46 de paciente au avut stare nedeterminată a bolii. Rezultatele obținute la Aptima HPV Assay în funcție de diagnosticul de la momentul inițial, din panoul de analiză histologică în consens, sunt prezentate în Tabel 17.

Tabel 17: Populația NILM ≥ 30 de ani: Rezultatele obținute la Aptima HPV Assay și un test HPV DNA în funcție de diagnosticul din panoul de analiză histologică în consens la momentul inițial

Rezultatul Aptima HPV Assay*	Testul HPV DNA	Diagnosticul din panoul de analiză histologică în consens						
		Nedeterminat	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Total
Pozitiv	Pozitiv	11	212	11	4	7	2	247
Pozitiv	Negativ	7	59	0	1	0	1	68
Pozitiv	Niciun rezultat**	3	16	1	0	0	0	20
Negativ	Pozitiv	10	170	8	2	1	0	191
Negativ	Negativ	15	313	9	1	0	0	338
Negativ	Niciun rezultat**	0	0	0	1	0	0	1
Total		46	770	29	9	8	3***	865

*Toate probele au obținut rezultate finale valide (la testarea inițială sau după soluționarea rezultatelor invalide inițiale din fiecare procedură).

**21 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate la testul HPV DNA, în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

***Trei paciente aveau adenocarcinom in situ (AIS).

În total, 10.052 de paciente au avut o stare neverificată (inclusiv nedeterminată) a bolii la momentul inițial (Tabel 18). Deoarece la colposcopie au fost trimise doar pacientele selectate aleatoriu, cu rezultate negative atât la Aptima HPV Assay cât și la testul HPV DNA disponibil pe piață, procentul de paciente cu stare neverificată a bolii a fost mare în acest grup (96,6%). În vederea ajustării la această deviație de verificare, s-a utilizat o metodă de imputare multiplă pentru a estima numărul de paciente afectate de boală care ar fi fost identificat dacă toate pacientele ar fi fost supuse la colposcopie. Sunt prezentate atât estimările de performanță ajustate la deviația de verificare, cât și estimările de performanță neadaptate obținute de la 819 paciente cu stare verificată a bolii la momentul inițial.

Tabel 18: Populația NILM ≥ 30 de ani: Clasificarea pacienților NILM evaluabile în funcție de rezultatele obținute la Aptima HPV Assay și la testul HPV DNA, starea bolii (≥CIN2 și ≥CIN3) și starea de verificare a bolii la momentul inițial.

Rezultatul Aptima HPV Assay*	Testul HPV DNA	Total paciente	Stare a bolii verificată: ≥CIN2		Stare a bolii verificată: ≥CIN3		Stare a bolii neverificată
			Femei afectate de boală (≥CIN2)	Femei neafectate de boală (≥CIN2)	Femei afectate de boală (≥CIN3)	Femei neafectate de boală (≥CIN3)	Femei cu stare necunoscută a bolii (% necunoscut)
Pozitiv	Pozitiv	360	13	223	9	227	124 (34,4%)
Pozitiv	Negativ	150	2	59	1	60	89 (59,3%)
Pozitiv	Niciun rezultat**	30	0	17	0	17	13 (43,3%)
Negativ	Pozitiv	306	3	178	1	180	125 (40,8%)
Negativ	Negativ	9.420	1	322	0	323	9.097 (96,6%)
Negativ	Niciun rezultat**	605	1	0	0	1	604 (99,8%)
Total		10.871	20	799	11	808	10.052 (92,5%)

*Toate probele au obținut rezultate finale (la testarea inițială sau după soluționarea rezultatelor invalide inițiale din fiecare procedură).

**635 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate la testul HPV DNA, în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Prevalența ajustată a \geq CIN2 și \geq CIN3 la paciente cu rezultate citologice NILM a fost de 0,9%, respectiv 0,4%. Estimările ajustate ale riscului absolut și relativ pentru detecția \geq CIN2 și \geq CIN3 la momentul inițial sunt prezentate în Tabel 19. Riscul relativ ajustat al \geq CIN2 a fost 8,1 (CI de 95%: 2,3, 28,1), indicând că o pacientă cu rezultat pozitiv la Aptima HPV Assay prezenta o probabilitate de 8,1 ori mai mare de a avea \geq CIN2 față de o femeie cu rezultat negativ la Aptima HPV Assay. Riscul relativ ajustat al \geq CIN3 a fost 34,5 (CI de 95%: 2,7, 443,3). Estimările neajustate ale riscului absolut și relativ pentru detecția \geq CIN2 și \geq CIN3 la momentul inițial sunt prezentate per total în Tabel 20 și pe grupe de vârstă în Tabel 21.

Tabel 19: Populația NILM \geq 30 de ani: Riscurile absolute și relative de \geq CIN2 și \geq CIN3 pentru rezultatele Aptima HPV Assay și ale unui test HPV DNA (estimări ajustate la deviația de verificare) la momentul inițial

Rezultatul testului		Aptima HPV Assay		Testul HPV DNA	
		Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)	Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)
\geq CIN2	Pozitiv	4,7 (2,9, 7,6)	8,1 (2,3, 28,1)	3,7 (2,3, 6,0)	7,3 (1,6, 33,4)
	Negativ	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalență (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Pozitiv	3,3 (1,4, 7,6)	34,5 (2,7, 443,3)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,4)
	Negativ	0,1 (0,0, 1,6)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalență (%)	0,4		0,4	

Tabel 20: Populația NILM \geq 30 de ani: Riscurile absolute și relative de \geq CIN2 și \geq CIN3 pentru rezultatele Aptima HPV Assay și ale unui test HPV DNA (estimări neajustate) la momentul inițial

Rezultatul testului		Testul HP Aptima N=819		Testul HPV DNA N=801*	
		Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)	Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)
\geq CIN2	Pozitiv	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)
	Negativ	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalență (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
\geq CIN3	Pozitiv	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)
	Negativ	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalență (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

*18 paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Tabel 21: Populația NILM ≥ 30 de ani: Riscurile absolute și relative de ≥CIN2 și ≥CIN3 pentru rezultatele Aptima HPV Assay și ale unui test HPV DNA pe grupe de vârstă (estimări neajustate) la momentul inițial

	Vârstă	Rezultatul testului	Testul HP Aptima N=819		Testul HPV DNA N=801*	
			Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)	Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)
≥CIN2	între 30 și 39 de ani		N=384		N=377	
		Pozitiv	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)
		Negativ	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		1,2 (2/161) (0,2, 4,4)	
		Prevalență (%)	2,3 (9/384)		2,4 (9/377)	
	≥ 40 de ani		N=435		N=424	
		Pozitiv	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)
		Negativ	1,4 (4/288) (0,4, 3,5)		0,4 (1/223) (0,0, 2,5)	
		Prevalență (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥CIN3	între 30 și 39 de ani		N=384		N=377	
		Pozitiv	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)
		Negativ	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		0,6 (1/161) (0,0, 3,4)	
		Prevalență (%)	1,6 (6/384)		1,6 (6/377)	
	≥ 40 de ani		N=435		N=424	
		Pozitiv	3,4 (5/147) (1,1, 7,8)	Nu se poate calcula	2,5 (5/201) (0,8, 5,7)	Nu se poate calcula
		Negativ	0,0 (0/288) (0,0, 1,3)		0,0 (0/223) (0,0, 1,6)	
		Prevalență (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*18 paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Estimările ajustate ale performanței clinice a Aptima HPV Assay incluzând sensibilitatea, specificitatea, PPV și NPV pentru detecția \geq CIN2 și \geq CIN3 sunt indicate în Tabel 22, la fel și estimările pentru testul HPV DNA disponibil pe piață. Estimările neajustate ale performanței clinice sunt indicate în Tabel 23. Aptima HPV Assay și testul HPV DNA disponibil pe piață au prezentat sensibilitate similară, în timp ce specificitatea a fost semnificativ superioară în cazul Aptima HPV Assay (CI de 95% fără suprapunere). Estimările valorii predictive a Aptima HPV assay au fost relevante clinic și similare cu estimările pentru testul HPV DNA disponibil pe piață. NPV au fost similare însă pentru detecția \geq CIN2, PPV pentru Aptima HPV Assay a fost ușor mai mare decât PPV pentru testul HPV DNA disponibil pe piață (4,7% față de 3,7%).

Tabel 22: Populația NILM \geq 30 de ani: Performanța Aptima HPV Assay și a unui test HPV DNA pentru detecția \geq CIN2 și a \geq CIN3 (estimări ajustate la deviația de verificare) la momentul inițial

	Performanță	Aptima HPV Assay		Testul HPV DNA	
		Estimare	(CI de 95%)	Estimare	(CI de 95%)
\geq CIN2	Sensibilitate (%)	31,0	(5,9, 56,1)	35,4	(3,8, 66,9)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Sensibilitate (%)	61,5	(14,0, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	0,4		0,4	

Tabel 23: Populația NILM ≥ 30 de ani: Performanța Aptima HPV Assay și a unui test HPV DNA pentru detecția ≥CIN2 și a ≥CIN3 (estimări neajustate) la momentul inițial

	Performanță	Aptima HPV Assay N=819		Testul HPV DNA N=801*	
		Estimare	(CI de 95%)	Estimare	(CI de 95%)
≥CIN2	Sensibilitate (%)	75,0 (15/20)	(53,1, 88,8)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
≥CIN3	Sensibilitate (%)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

*18 paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Compararea directă a Aptima HPV Assay și a testului HPV DNA disponibil pe piață demonstrează o sensibilitate similară și o specificitate îmbunătățită semnificativ statistic a Aptima HPV Assay față de a testului HPV DNA disponibil pe piață pentru detecția \geq CIN2, după cum arată raporturile între procente real pozitive și fals pozitive (Tabel 24, respectiv Tabel 25).

Tabel 24: Populația NILM \geq 30 de ani: Raportul de procente real pozitive (Aptima HPV Assay/testul HPV DNA) pentru pacientele cu \geq CIN2 (estimări neajustate) la momentul inițial

		Testul HPV DNA		Total
		Pozitiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Pozitiv	13	2	15 (78,9%)
	Negativ	3	1	4
	Total	16 (84,2%)	3	19
Raportul de procente real pozitive = 0,94 (15/16) (CI de 95%: 0,67, 1,20)				

Tabel 25: Populația NILM \geq 30 de ani: Raportul de procente fals pozitive (Aptima HPV Assay/testul HPV DNA) pentru pacientele cu $<$ CIN2 (estimări neajustate) la momentul inițial

		Testul HPV DNA		Total
		Pozitiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Pozitiv	223	59	282 (36,1%)
	Negativ	178	322	500
	Total	401 (51,3%)	381	782
Raportul de procente fals pozitive = 0,70 (282/401) (CI de 95%: 0,64, 0,77)				

Populația NILM ≥ 30 de ani: Performanța clinică a Aptima HPV Assay după 3 ani de urmărire

Pentru faza de urmărire au fost eligibile 10.854 de paciente evaluabile cu vârsta peste 30 de ani, cu rezultate citologice NILM și rezultate valide ale Aptima HPV Assay la momentul inițial. Dintre pacientele fără ≥CIN2, 66,9% (7.251/10.834) dintre paciente au participat la o vizită de urmărire la 1 an pentru testul Papanicolau, 60,2% (6.522/10.825) la vizita de 2 ani, iar 58,6% (6.344/10.818) la vizita de 3 ani. Per total, 58,8% (6.380/10.854) dintre paciente au încheiat studiul (au prezentat ≥CIN2 la momentul inițial sau pe parcursul urmăririi și/sau au participat la vizitele necesare).

Dintre cele 10.854 de paciente, 540 (5,0%) au obținut rezultate pozitive la Aptima HPV Assay la momentul inițial. Dintre aceste 540 de femei, 263 (48,7%) au avut stare pozitivă sau negativă a bolii la 3 ani, conform rezultatelor citologice sau de la colposcopie/biopsie. Restul de 10.314 de paciente au obținut rezultate negative la Aptima HPV Assay la momentul inițial. Dintre aceste 10.314 de paciente, 5.943 (57,6%) au avut stare pozitivă sau negativă a bolii la 3 ani. Dintre cele 6.206 de paciente cu stare a bolii la 3 ani, 47 de paciente au avut ≥CIN2, incluzând 23 cu ≥CIN3; 6.159 de paciente au avut rezultate normale/CIN1 pe baza panoului de analiză histologică în consens. Rezultatele obținute la momentul inițial la Aptima HPV Assay și un test HPV DNA disponibil pe piață și starea bolii la 3 ani (include evaluarea inițială și de urmărire) în funcție de diagnosticul din panoul de analiză histologică în consens sunt prezentate în Tabel 26.

Tabel 26: Populația NILM ≥ 30 de ani: Clasificarea pacientelor eligibile pentru faza de urmărire pe baza rezultatelor la Aptima HPV Assay la momentul inițial, a rezultatelor obținute la testul HPV DNA la momentul inițial și a stării bolii (≥CIN2, ≥CIN3, neverificat) identificate în fazele inițiale și de urmărire

Rezultatul Aptima HPV Assay	Testul HPV DNA	Total paciente	Stare a bolii verificată: ≥CIN2		Stare a bolii verificată: ≥CIN3		Stare a bolii neverificată	
			Femei afectate de boală (≥CIN2)	Femei neafectate de boală (≥CIN2)	Femei afectate de boală (≥CIN3)	Femei neafectate de boală (≥CIN3)	Retragere în perioada de urmărire	Nedeterminată*
Pozitiv	Pozitiv	360	22	154	15	161	165	19
Pozitiv	Negativ	150	2	72	1	73	68	8
Pozitiv	Niciun rezultat**	30	2	11	1	12	14	3
Negativ	Pozitiv	304	6	146	3	149	133	19
Negativ	Negativ	9.405	14	5.455	3	5.466	3.735	201
Negativ	Niciun rezultat**	605	1	321	0	322	269	14
Total		10.854	47	6.159	23	6.183	4.384	264

*Paciente cu rezultate anormale la testele citologice din perioada de urmărire și care nu au obținut un rezultat ulterior la un panou de analiză histologică în consens sau pacientele cu citologie inadecvată la ultima vizită. 174 de paciente cu stare nedeterminată a bolii au încheiat perioada de urmărire conform protocolului.

**635 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Riscul de boală cumulat la 3 ani (≥CIN2 și ≥CIN3) are la bază estimarea Kaplan-Meier (analiza tabelelor de viață) și include boala detectată la momentul inițial sau în perioada de urmărire. Pacientele care au prezentat semne de boală (ASC-US sau rezultate citologice mai severe) însă fără rezultat în panoul de analiză histologică în consens au fost incluse în analiză folosind o metodă de imputare multiplă pentru a anticipa numărul de paciente afectate de boală care ar fi fost identificate dacă pacientele ar fi efectuat colposcopia.

Estimările cumulate la 3 ani ale riscului absolut și relativ pentru detecția \geq CIN2 și \geq CIN3 sunt prezentate în Tabel 27.

Tabel 27: Populația NILM \geq 30 de ani: Riscurile absolute și relative cumulate* la 3 ani pentru \geq CIN2 și \geq CIN3 pentru rezultatele Aptima HPV Assay și ale unui test HPV DNA la momentul inițial

	Rezultatul testului	Aptima HPV Assay		Testul HPV DNA	
		Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)	Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)
\geq CIN2	Pozitiv	7,39 (5,12, 10,59)	22,55 (12,68, 40,10)	6,42 (4,50, 9,13)	22,71 (12,19, 42,29)
	Negativ	0,33 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Prevalență (%)	0,68		0,68	
\geq CIN3	Pozitiv	4,66 (2,94, 7,36)	44,12 (16,91, 115,10)	4,14 (2,62, 6,52)	51,33 (17,74, 148,55)
	Negativ	0,11 (0,04, 0,25)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Prevalență (%)	0,34		0,35	

*Riscurile cumulate la 3 ani ajustate pentru alte deviații posibile au fost similare cu riscurile din acest tabel. Din cauza diferențelor anticipate în ceea ce privește riscurile în anul 1 și anul 2 pentru cele două grupuri de paciente din studiul de urmărire (cele care au efectuat colposcopie la momentul inițial și cele care nu au efectuat colposcopie la momentul inițial), a fost raportat doar riscul cumulat la 3 ani pentru grupurile mixte.

Prevalența cumulată la 3 ani a \geq CIN2 și \geq CIN3 la paciente cu rezultate citologice NILM la momentul inițial a fost de 0,68%, respectiv 0,34%. Riscul relativ \geq CIN2 a fost 22,55 (CI de 95%: 12,68, 40,10), indicând că o pacientă cu rezultat pozitiv la Aptima HPV Assay prezenta o probabilitate de 22,55 ori mai mare de a avea \geq CIN2 față de o femeie cu rezultat negativ la Aptima HPV Assay. Riscul relativ \geq CIN3 a fost 44,12 (CI de 95%: 16,91, 115,10).

Performanța clinică a Aptima HPV Assay cu eșantioanele pentru citologie în mediu lichid SurePath

Eșantioane SurePath tratate cu soluție de transfer Aptima

Eșantioane pentru citologie în mediu lichid SurePath au fost recoltate de la femei din Canada (n=558) care au primit recomandare de urmărire din următoarele motive: unul sau mai multe teste Papanicolau anormale, o infecție HPV sau altele. Un alicot (0,5 ml) din fiecare eșantion a fost transferat în tubul de transfer al eșantionului Aptima apoi a fost tratat folosind soluția de transfer Aptima. Un singur replicat din fiecare eșantion a fost testat cu Aptima HPV Assay. Un alicot separat (1 ml) din fiecare eșantion a fost îndepărtat pentru evaluare folosind un test HPV PCR disponibil pe piață. Sensibilitatea clinică pentru detecția bolii, definită ca un rezultat histologic \geq CIN3, a fost calculată atât pentru Aptima HPV Assay cât și pentru testul HPV PCR, conform Tabel 28, cu valorile predictive pozitive și negative.

Tabel 28: Performanța clinică a Aptima HPV Assay și a unui test HPV PCR pentru detecția \geq CIN3

Performanță	Aptima HPV Assay N=558		Testul HPV PCR N=558	
	Estimare	(CI de 95%)	Estimare	(CI de 95%)
Sensibilitate (%)	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

Tabel 29: Sensibilitatea Aptima HPV Assay cu eșantioanele pentru citologie în mediu lichid SurePath și ThinPrep

Genotip HPV	Copii/reacție	ThinPrep	SurePath
		% pozitiv (CI de 95%)	% pozitiv (CI de 95%)
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)

Performanța Aptima HPV Assay cu eșantioanele de recoltare cervicală și transport

Au fost recoltate eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep și eșantioane din trusa CSCT Aptima împerecheate de la 735 de subiecți. Un mililitru (1,0 ml) din fiecare eșantion pentru citologie în mediu lichid ThinPrep a fost diluat în 2,9 ml de mediu de transport al eșantioanelor Aptima și un singur replicat a fost testat cu Aptima HPV Assay pe Analizorul Tigris DTS. Un singur replicat din fiecare eșantion CSCT a fost de asemenea testat cu Aptima HPV Assay. A fost stabilit acordul procentual al Aptima HPV Assay între eșantionul pentru citologie în mediu lichid ThinPrep și eșantionul CSCT, iar rezultatele sunt prezentate în Tabel 30.

Acordul procentual pozitiv a fost de 95,9% (CI de 95%: 92,6 - 97,8); acordul procentual negativ a fost de 95,5% (CI de 95%: 93,3 - 97,0); iar acordul global a fost de 95,6% (CI de 95%: 93,9 - 96,9). A fost observată o puternică legătură între eșantioanele pentru citologie în mediu lichid și cele din trusa de transport ($\kappa = 0,90$).

Tabel 30: Acordul global al rezultatelor Aptima HPV Assay între eșantioanele pentru citologie în mediu lichid ThinPrep și eșantioanele din trusa de recoltare și transport al eșantioanelor cervicale Aptima testate pe Analizorul Tigris DTS

		Eșantion pentru citologie în mediu lichid ThinPrep		Total
		Pozitiv	Negativ	
Eșantion trusă CSCT Aptima	Pozitiv	234	22	256
	Negativ	10	469	479
	Total	244	491	735

Acord pozitiv = 95,9% (92,6 - 97,8)
 Acord negativ = 95,5% (93,3 - 97,0)
 Acord global = 95,6% (93,9 - 96,9)
 Coeficient Kappa = 0,90

Sensibilitatea analitică

Limita de detecție (LOD) la pragul clinic este concentrația de HPV RNA care determină un rezultat pozitiv (peste pragul clinic) în 95% din cazuri. Valoarea LOD pentru Aptima HPV Assay a fost stabilită prin testarea panourilor de diluție ale transcripțiilor (IVT) *in vitro* pentru toate cele 14 genotipuri cu risc ridicat și 4 linii celulare infectate cu HPV: SiHa, HeLa, MS751 și ME180 (ATCC, Manassas, Virginia). Pentru panourile IVT, înainte de testare mediul de transport al eșantioanelor a fost însămânțat cu IVT în diferite concentrații apoi a fost diluat cu eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep negative individuale. Pentru panourile de celule infectate cu HPV, loturile de probe de eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep au fost însămânțate cu celule infectate cu HPV în diferite concentrații apoi au fost diluate cu mediu de transport al eșantioanelor înainte de testare. Treizeci de replicare din fiecare nivel de copie au fost testate cu fiecare din cele două loturi de reactivi, în total 60 de replicare. Testarea s-a realizat timp de 14 zile, cu 1 până la 12 procesări pe zi și 5 replicare ale unui genotip dat și testarea concentrației la fiecare procesare. Limita de detecție de 95% a fost calculată în analiză de regresie probit a rezultatelor de pozitivitate pentru fiecare panou de diluție.

Rezultatele analizei probit Tabel 31 indică faptul că HPV 16, 18, 31, 33, 35, 38, 45, 58, 59, 59, 66 și 68 a stabilit limite de detecție de 95% pe mai puțin de 100 copii/reacție, iar tipurile 51, 52, 56 și 66 au stabilit limite de detecție de 95% între 100 și 300 copii/reacție. Cele patru linii celulare testate au avut limite de detecție de 95% sub 1 celulă/reacție.

Tabel 31: Limita de detecție a pragului clinic al Aptima HPV Assay

Analit	Limită de detecție* (CI de 95%)
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)

*copii per reacție pentru transcripții *in vitro* și celule per reacție pentru linii celulare

Precizia testului

Precizia Aptima HPV Assay a fost evaluată în două studii folosind același panou cu 20 de membri. Studiul 1 s-a derulat în 3 centre de testare existente pentru a stabili reproductibilitatea testului. Studiul 2 s-a derulat intern, pentru a măsura repetabilitatea testului. Panoul a inclus 10 membri cu HPV pozitiv, având concentrații la sau peste limita de detecție a testului (pozitivitate anticipată: $\geq 95\%$), 4 membri cu HPV pozitiv, având concentrații sub limita de detecție a testului (pozitivitate anticipată: $> 0\%$ până la $< 25\%$) și 6 membri cu HPV negativ. Membrii panoului cu HPV pozitiv au fost pregătiți prin însămânțarea transcripțiilor (IVT) RNA *in vitro* în mediul de transport al eșantioanelor (STM) sau în celulele de cultură infectate cu HPV (SiHa, HeLa, ME180 and MS751; ATCC, Manassas, Virginia) în Soluție PreservCyt. Membrii panoului cu HPV negativ au fost pregătiți cu STM sau eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep reziduale în loturi de probe.

În Studiul 1, 2 operatori de la fiecare dintre cele 3 centre de testare (1 instrument per centru) au elaborat o fișă de lucru zilnică pentru Aptima HPV Assay, timp de 3 zile, pentru fiecare dintre cele 3 loturi de reactivi. Fiecare fișă de lucru conținea câte 3 replicare de la fiecare dintre membrii panoului de reproductibilitate. O sută șaiszeci și două (162) de tuburi de probă individuale au fost testate pentru fiecare membru al panoului (3 centre x 1 instrument x 2 operatori x 3 loturi x 3 fișe de lucru x 3 replicare). În Studiul 2, testarea s-a realizat intern, timp de 20 de zile, cu un total de 162 de reacții testate pentru fiecare membru al panoului (1 centru x 3 instrumente x 3 operatori x 3 loturi x 2 fișe de lucru x 3 replicare).

Membrii panoului sunt descriși în Tabel 32a (membrii panoului cu rezultate pozitive anticipate) și Tabel 32b (membrii panoului cu rezultate negative anticipate), alături de un rezumat al acordului cu rezultatele anticipate și valorile S/CO ale analitului la percentila 2,5, 50 și 97,5 din distribuția S/CO. Variabilitatea S/CO a analitului pentru membrii panoului cu rezultate pozitive anticipate este indicată în Tabel 33 pentru Studiul 1 și Tabel 34 pentru Studiul 2.

Acordul pozitiv pentru membrii panoului cu HPV pozitiv având concentrații la sau peste limita de detecție a testului a variat între 95,1% și 100% în Studiul 1 și între 93,2% și 100% în Studiul 2 pentru 9 dintre cei 10 membri ai panoului. Membrul rămas HPV pozitiv al panoului a obținut un acord de 77,2% în Studiul 1 și un acord de 79,0% în Studiul 2, valori mai mici decât cele anticipate însă consecvente în cele 2 studii. Acordul negativ pentru membrii panoului cu HPV negativ având concentrații sub limita de detecție a testului a variat între 78,8% și 93,8% în Studiul 1 și între 82,1% și 95,7% în Studiul 2. Acordul cu rezultatele anticipate pentru membrii panoului cu HPV negativ a variat între 96,9% și 100% în Studiul 1 și între 96,3% și 100% în Studiul 2.

Tabel 32a: Studiu 1 și 2 de reproductibilitate a Aptima HPV Assay: Descrierea panoului, acordul pozitiv și distribuția valorilor S/CO ale analitului în percentile pentru membrii panoului cu rezultate pozitive anticipate

Descriere panou (copii sau celule/reacție)	Studiul 1 (3 centre de testare)	Studiul 2 (1 centru de testare)
	% acord pozitiv (CI de 95%)	% acord pozitiv (CI de 95%)
HPV 16 și HPV 18 IVT (100 de copii)	100 (161/161) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Celule SiHa (3 celule) și celule HeLa (7,5 celule)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 18 (100 de copii)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (160/160) (97,7, 100)
IVT HPV 16 (100 de copii)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Celule MS751 (1 celulă)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)
Celule ME180 (0,3 celule)	95,1 (154/162) (90,6, 97,5)	93,2 (151/162) (88,3, 96,2)
IVT HPV 18 (30 de copii)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 16 (30 de copii)	100 (162/162) (97,7, 100)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
Celule HeLa (2,5 celule)	100 (162/162) (97,7, 100)	95,6 (152/159) (91,2, 97,9)
Celule SiHa (1 celulă)	77,2 (125/162) (70,1, 83,0)	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)

IVT = transcripție *in vitro*. IVT a fost însămânțat în STM iar celulele au fost însămânțate în Soluție PreservCyt.

*% acordului pozitiv anticipat ~95%; s-a observat o valoare inferioară posibil ca urmare a variabilității de producție a membrului panoului.

Tabel 32b: Studiu 1 și 2 de reproductibilitate a Aptima HPV Assay: Descrierea panoului, acordul negativ și distribuția valorilor S/CO ale analitului în percentile pentru membrii panoului cu rezultate negative anticipate

Descriere panou (copii sau celule/reacție)	Studiul 1 (3 centre de testare)	Studiul 2 (1 centru de testare)
	% acord negativ (CI de 95%)	% acord negativ (CI de 95%)
IVT HPV 18 (1 copie)*	78,8 (126/160) (71,8, 84,4)	83,3 (135/162) (76,8, 88,3)
IVT HPV 16 (1 copie)*	80,9 (131/162) (74,1, 86,2)	88,3 (143/162) (82,4, 92,4)
Celule HeLa (0,05 celule)*	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)	82,1 (133/162) (75,5, 87,2)
Celule SiHa (0,03 celule)*	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
Lot STM 1	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Lot STM 2	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
Lot STM 3	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Lot de probe ThinPrep 1	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
Lot de probe ThinPrep 2	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)	96,3 (156/162) (92,2, 98,3)
Lot de probe ThinPrep 3	100 (162/162) (97,7, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

STM = mediu de transport al eșantioanelor; IVT = transcripție *in vitro*. IVT a fost însământat în STM iar celulele au fost însământate în Soluție PreservCyt.

*% acordului negativ anticipat > 75% și < 100%.

Tabel 33: Studiu 1 de reproductibilitate a Aptima HPV Assay: Variabilitatea semnalului pentru membrii panoului cu rezultate pozitive anticipate

Descrierea panoului (copii sau celule/reacție)	n	S/CO mediu	Între centre		Între operatori		Între loturi		Între Fișe de lucru		În Fișe de lucru		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
IVT HPV 16 și HPV 18 (100 de copii)	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
Celule SiHa (3 celule) și celule HeLa (7,5 celule)	162	17,9	0	0	1,4	8,1	0	0	0,6	3,1	5,1	28,6	5,3	29,9
IVT HPV 18 (100 de copii)	162	11,8	0	0	0	0	0,8	6,4	0,1	0,9	1,2	10,1	1,4	12,0
IVT HPV 16 (100 de copii)	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
Celule MS751 (1 celulă)	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
Celule ME180 (0,3 celule)	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
IVT HPV 18 (30 de copii)	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
IVT HPV 16 (30 de copii)	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
Celule HeLa (2,5 celule)	162	12,4	0	0	0,4	3,3	0,4	3,1	0	0	2,3	18,4	2,4	19,0
Celule SiHa (1 celulă)	162	7,5	0,3	3,7	1,0	13,0	0	0	0	0	4,8	63,6	4,9	65,0

SD = deviație standard; CV = coeficient de variație; IVT = transcripție *in vitro*; S/CO = raport semnal-prag

[^]O mostră a avut rezultat invalid la Aptima HPV Assay și nu a fost inclusă în analize.

Notă: Variabilitatea față de unii factori poate fi negativă numeric. Acest lucru se poate întâmpla dacă variabilitatea cauzată de factorii respectivi este foarte mică. În aceste cazuri, SD și CV sunt indicate ca având valoarea 0.

Tabel 34: Studiu 2 de reproductibilitate a Aptima HPV Assay: Variabilitatea semnalului pentru membrii panoului cu rezultate pozitive anticipate

Descrierea panoului (copii sau celule/reacție)	n	S/CO mediu	Între instrumente		Între operatori		Între loturi		Între Fișe de lucru		În Fișe de lucru		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
IVT HPV 16 și HPV 18 (100 de copii)	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
Celule SiHa (3 celule) și celule HeLa (7,5 celule)	162	18,6	0	0	1,7	9,3	0	0	3,5	18,6	3,7	20,0	5,4	28,9
IVT HPV 18 (100 de copii)	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
IVT HPV 16 (100 de copii)	162	10,8	0	0	0,1	1,3	0	0	0,2	2,2	0,7	6,1	0,7	6,6
Celule MS751 (1 celulă)	162	13,6	0	0	0,6	4,3	0	0	2,5	18,4	2,1	15,2	3,3	24,2
Celule ME180 (0,3 celule)	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
IVT HPV 18 (30 de copii)	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
IVT HPV 16 (30 de copii)	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
Celule HeLa (2,5 celule)	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
Celule SiHa (1 celulă)	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 = deviație standard; CV = coeficient de variație; IVT = transcripție *in vitro*; S/CO = raport semnal-prag

[^]Cinci mostre au avut rezultate invalide la Aptima HPV Assay (2 pentru IVT HPV 18 (100 de copii), 3 pentru celule HeLa (2,5 celule)) și nu au fost incluse în analize.

Notă: Variabilitatea față de unii factori poate fi negativă numeric. Acest lucru se poate întâmpla dacă variabilitatea cauzată de factorii respectivi este foarte mică. În aceste cazuri, SD și CV sunt indicate ca având valoarea 0.

S-a derulat de asemenea un al treilea studiu pentru a stabili reproductibilitatea testului prin testarea unui panou de 6 membri de eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep, clinice, în lot de probe. Șase loturi de probe unice de eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep HPV negative reziduale au fost pregătite ca matrice, dintre care două au fost testate ca membri ai panoului HPV negativ. Patru loturi de probe unice de eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep HPV pozitive au fost utilizate pentru a pregăti membrii panoului cu HPV pozitiv scăzut (n=2) și înalt (n=2). Membrii panoului cu rezultate pozitive scăzute au avut concentrații la limita de detecție a testului (pozitivitate anticipată: ≥ 95% stabilită pentru fiecare lot de probe HPV pozitive individuale, din testarea diluțiilor în serie din loturile de probe). Membrii panoului cu rezultate pozitive înalte au avut concentrații la 1-2 loguri peste limita de detecție estimată pentru fiecare lot de probe HPV pozitiv individual (pozitivitate anticipată: 100% pozitivitate). În ziua testării, fiecare membru al panoului a fost transferat (1 ml) într-un tub de transfer al eșantioanelor Aptima care conținea STM. Testarea a fost realizată intern, de către 2 operatori care au folosit 1 lot de reactivi, 3 instrumente, timp de 6 zile (3 zile pentru fiecare operator), prin testarea a 2 procesări pe zi în care panoul a fost testat în duplicat.

Membrii panoului sunt descriși în Tabel 35, alături de un rezumat al acordului cu rezultatele anticipate și valorile S/CO ale analitului la percentila 2,5, 50 și 97,5 din distribuția semnalului. Variabilitatea S/CO a analitului pentru membrii panoului cu rezultate pozitive anticipate este indicată în Tabel 36.

Acordul a fost 100% pentru membrii panoului cu HPV pozitiv, $\geq 98,6\%$ pentru membrii panoului cu HPV pozitiv scăzut și $\geq 94,4\%$ pentru membrii panoului cu HPV negativ.

Tabel 35: Studiu 3 de reproductibilitate a Aptima HPV Assay: Descriere panou, acord procent

Descriere panou	% acord (CI de 95%)
Pozitiv scăzut 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Pozitiv scăzut 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Pozitiv înalt 1	100 (72/72) (94,9, 100)
Pozitiv înalt 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Negativ 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Negativ 2	94,4 (68/72) (86,6, 97,8)

Tabel 36: Studiu 3 de reproductibilitate a Aptima HPV Assay: Analiza semnalului pentru membrii panoului, cu rezultate pozitive anticipate

Descriere panou	n	S/CO mediu	Între instrumente		Între operatori		Între loturi		Între Fișe de lucru		În Fișe de lucru		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Pozitiv scăzut 1	72	9,8	0	0	0	0	0	0	2,2	22,8	3,0	30,4	3,7	38,0
Pozitiv scăzut 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
Pozitiv înalt 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
Pozitiv înalt 2	72	23,9	0	0	0	0	0	0	2,9	12,3	3,0	12,4	4,2	17,4

SD = deviație standard; CV = coeficient de variație; S/CO = raport semnal-prag

Notă: Variabilitatea față de unii factori poate fi negativă numeric. Acest lucru se poate întâmpla dacă variabilitatea cauzată de factorii respectivi este foarte mică. În aceste cazuri, SD și CV sunt indicate ca având valoarea 0.

Reactivitate încrucișată

Specificitatea analitică a Aptima HPV Assay a fost evaluată cu mediul de soluție PreservCyt diluat 1:2:9 în mediul de transport al eșantionului Aptima și înșămânțat cu bacterii de cultură, drojdie sau fungi, viruși de cultură sau transcripții *in vitro* cu HPV de risc scăzut. Organismele și concentrațiile de testare sunt descrise în Tabel 37. Criteriile impuse în studiu pentru evaluarea efectului pe care îl are prezența microorganismelor asupra specificității testului au avut la bază pozitivitatea. Reactivitatea încrucișată a fost observată la genotipurile HPV 26, 67, 70 și 82 cu risc scăzut, însă la niciunul dintre celelalte organisme testate.

Tabel 37: Panoul pentru specificitatea analitică: Organisme și concentrație fără reactivitate încrucișată

Organism	Concentrație de testare fără reactivitate încrucișată	Organism	Concentrație de testare fără reactivitate încrucișată
Bacterii			
<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 și Chlamydia trachomatis</i>	2,5x10 ⁷ CFU/ml 2,3x10 ⁵ 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>Finegoldia 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
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1x10 ⁸ CFU/ml		

Tabel 37: Panoul pentru specificitatea analitică: Organisme și concentrație fără reactivitate încrucișată (*continuare*)

Organism	Concentrație de testare fără reactivitate încrucișată	Organism	Concentrație de testare fără reactivitate încrucișată
Drojdii/protozoare			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ celule/ml
Virusi			
Adenovirus 2	1x10 ⁷ vp/ml	Virusul Herpes simplex de tip 1	2,5x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
Citomegalovirus	5,6x10 ² TCID ₅₀ /ml	Virusul Herpes simplex de tip 2	5x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Virusul Epstein-Barr	4,3x10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	SV40	1,2 x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
HIV-1	1,0x10 ⁶ copii/ml		
Genotipuri HPV nevazate			
HPV 6	2,5x10 ⁶ copii/ml	HPV 61	2,5x10 ⁶ copii/ml
HPV 11	2,5x10 ⁶ copii/ml	HPV 67	1 copie/ml
HPV 26	2,5 copii/ml	HPV 69	2,5x10 ⁶ copii/ml
HPV 30	2,5x10 ⁶ copii/ml	HPV 70	1 copie/ml
HPV 34	2,5x10 ⁶ copii/ml	HPV 71	2,5x10 ⁶ copii/ml
HPV 42	2,5x10 ⁶ copii/ml	HPV 73	2,5x10 ⁶ copii/ml
HPV 43	2,5x10 ⁶ copii/ml	HPV 81	2,5x10 ⁶ copii/ml
HPV 44	2,5x10 ⁶ copii/ml	HPV 82	1 copie/ml
HPV 53	2,5x10 ⁶ copii/ml	HPV 85	2,5x10 ⁶ copii/ml
HPV 54	2,5x10 ⁶ copii/ml		

vp = particule virale CFU = unități formatoare de colonii TCID₅₀ = doză infectantă 50 pentru culturi de țesuturi
Notă: Textul aldin indică tipurile în care s-a observat reactivitatea încrucișată (> 5% pozitivitate) la testarea la concentrații mai mari decât cele specificate în tabel.

Sensibilitatea analitică a Aptima HPV Assay în prezența microorganismelor a fost evaluată cu același panou descris în Tabel 37, însământat de asemenea cu o concentrație scăzută de celule SiHa infectate cu HPV (1 celulă per reacție). Criteriile impuse în studiu pentru evaluarea efectului pe care îl are prezența microorganismelor asupra sensibilității testului au avut la bază pozitivitatea. Sensibilitatea Aptima HPV Assay nu a fost afectată de niciunul dintre organismele testate.

Interferența

Substanțele descrise în Tabel 38 au fost însământate individual în soluție PreservCyt la 1% și 10% volum/volum sau masă/volum, diluate cu STM și testate cu Aptima HPV Assay. Toate substanțele au fost testate atât în prezența cât și în absența celulelor de cultură infectate cu HPV (SiHa, 3 celule/reacție). Interferența a fost observată la doi dintre cei șapte lubrifianți care conțineau Polyquaternium 15 și una dintre cele cinci medicații antifungice care conțineau tioconazol. Interferența nu a fost observată la niciuna dintre celelalte substanțe testate.

Tabel 38: Substanțe testate pentru identificarea eventualei interferențe cu Aptima HPV Assay

Categoria de produs	Marca sau tipul produsului	Cea mai înaltă concentrație* testată care nu a afectat realizarea testului
Lubrifiant	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 probă de testare)
	Target Brand Lubricating Liquid	0,1% v/v (0,025% v/v probă de testare)
Spermicid	Gynol II Vaginal Contraceptive Original Formula	10% w/v
	Gynol II Vaginal Contraceptive Extra Strength	10% w/v
	Delfen Vaginal Contraceptive Foam	10% w/v
	Encare Vaginal Contraceptive	10% w/v
	Conceptrol Vaginal Contraceptive	10% w/v
Medicamente antifungice/ anti-prurit	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 probă de testare)
	Target Brand Miconazole 3	10% w/v
Acid acetic glacial	EMD M/N AX0073-11	10% v/v
Sânge integral	Sânge integral	10% v/v

*Lubrifianti intimi ce conțin Polyquaternium 15.

Rezultate anticipate pentru Analizorul Panther: Prevalența mRNA HPV cu risc crescut

Prevalența infectării cu HPV de risc crescut variază pe scară largă și este influențată de o serie de factori, unde vârsta are cea mai mare contribuție.^{32, 33} Au fost desfășurate multe studii pentru a investiga prevalența HPV în baza detectării HPV DNA, însă sunt puține studii care să raporteze prevalența în baza detectării mRNA HPV oncogen. Femei din diverse centre clinice (n=18) reprezentând o amplă distribuție geografică și o populație diversă (10 state din cadrul Statelor Unite ale Americii) au fost înscrise într-un studiu clinic prospectiv, cunoscut sub numele de studiul CLEAR.³⁴ Conform Aptima HPV Assay pe Analizorul Panther, prevalența probelor cu mRNA HPV pozitiv observată în cadrul studiului a fost clasificată la nivel general, pe grupe de vârstă și pe centru de testare. Rezultatele pentru populații ASC-US (celule scuamoase atipice de semnificație nedeterminată) și NILM (negativ pentru leziuni intraepiteliale sau malignitate) sunt ilustrate în Tabel 39.

Tabel 39: Prevalența mRNA HPV de risc crescut pe grupe de vârstă, centru de testare și comasate

	Rata rezultatelor pozitive % (x/n)	
	Populația ASC-US (≥ 21 ani)	Populația NILM (≥ 30 ani)
Toate	42,3 (404/956)	4,7 (512/10,860)
Grupa de vârstă (ani)		
între 21 și 29	60,0 (251/418)	N/A
între 30 și 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
Centru de testare		
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 = Nu este cazul

Conceptul studiului clinic asupra Aptima HPV Assay cu eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep

Aptima HPV Assay pe Analizorul Panther a fost evaluat folosind eșantioane citologice reziduale de referință recoltate de la paciente care au consimțit, pe parcursul studiului clinic multicentric, prospectiv, din SUA, cunoscut ca studiul clinic CLEAR.³⁴

Studiul CLEAR – evaluarea inițială

Studiul CLEAR s-a derulat pentru a determina performanța clinică a Aptima HPV Assay pe Analizorul Tigris DTS în detectarea neoplaziei cervicale intraepiteliale de grad II sau a bolii cervicale mai grave (\geq CIN2). Studiul CLEAR a constatat dintr-o evaluare inițială și o evaluare de urmărire la 3 ani. Au fost înrolate paciente fie în studiul ASC-US fie în studiul NILM în funcție de rezultatele citologice de la screening-ul de rutină ce viza cancerul cervical. Populația studiului ASC-US a inclus femei de 21 de ani și peste cu rezultate citologice ASC-US, iar populația studiului NILM a inclus femei de 30 de ani și peste cu rezultate citologice NILM. Studiul NILM a fost conceput pentru a confirma necesitatea de screening suplimentar la femeile de 30 de ani și peste, deoarece femeile din această grupă de vârstă cu rezultate citologice ce indică afecțiuni mai severe decât ASC-US trebuie să continue cu o colposcopie indiferent de starea HPV.³⁵

Au fost înscrise paciente din 18 centre clinice, în principal clinici de obstetrică/ginecologie, care acopereau o amplă distribuție geografică și o populație diversă. Pacientele eligibile au fost alocate în studiul ASC-US sau NILM în funcție de eșantionul pentru citologie în mediu lichid ThinPrep care a constituit trimiterea. La momentul inițial, restul eșantioanelor de trimitere din grupul femeilor din studiul ASC-US și studiul NILM au fost testate inițial atât cu Aptima HPV Assay pe Analizorul Tigris DTS cât și cu un test HPV DNA disponibil pe piață. Eșantioanele au fost arhivate și păstrate la -70 °C până când au fost testate cu Aptima HPV Assay pe Analizorul Panther.

La momentul inițial al studiului CLEAR (faza inițială), toate pacientele din studiul ASC-US au fost trimise pentru efectuarea unei colposcopii, indiferent de rezultatele testului HPV. Au fost obținute o biopsie în cadrul unui chiuretaj endocervical (ECC) și biopsii cervicale prin ciupire (1 biopsie din fiecare din cele 4 cadrane). Dacă era vizibilă o leziune, a fost recoltată o biopsie prin ciupire (metoda dirijată, 1 biopsie per leziune) iar din cadranele fără leziuni vizibile au fost recoltate biopsii la joncțiunea scuamo-cilindrică (metoda aleatorie).

În cadrul studiului NILM, pacientele cu rezultate pozitive la Aptima HPV Assay pe Analizorul Tigris DTS și/sau testul HPV DNA disponibil pe piață, precum și paciente selectate aleatoriu cu rezultate negative la ambele teste, au fost trimise pentru colposcopie la evaluarea inițială. Pacientele selectate aleatoriu cu rezultate negative la ambele teste au fost incluse pentru a corecta deviația de verificare cu estimări de performanță ajustată generate cu ajutorul metodei de imputare multiplă. A fost obținută o biopsie ECC de la fiecare pacientă căreia i s-a efectuat o colposcopie. Biopsiile prin ciupire au fost recoltate exclusiv din leziuni vizibile (metoda dirijată, 1 biopsie per leziune).

Starea bolii a fost determinată în baza unui panou de analiză histologică în consens, care s-a bazat pe acordul între cel puțin 2 experți patologi. Experților patologi nu li s-a prezentat starea HPV a pacientei. De asemenea, nu li s-a prezentat starea citologică, precum nici diagnosticul de histologie ale celuilalt. În cazul în care toți cei 3 experți aveau păreri contradictorii, toți 3 patologii au analizat lamele la un microscop multi-observație, pentru a ajunge la un consens. Investigatorilor, medicilor și pacientelor nu li s-au comunicat rezultatele testului HPV până după finalizarea colposcopiei, pentru a evita influențarea.

La momentul inițial, a fost evaluată performanța clinică a Aptima HPV Assay în detecția \geq CIN2 și a neoplaziei cervicale intraepiteliale de grad III sau a bolii cervicale mai grave (\geq CIN3), față de starea bolii cervicale stabilită la momentul inițial. A fost de asemenea stabilită performanța clinică a testului HPV DNA disponibil pe piață, în vederea comparării directe cu rezultatele Aptima HPV Assay.

Studiul CLEAR – evaluarea de urmărire

Pacientele din studiul NILM din 14 centre clinice au fost eligibile să participe la faza de urmărire de 3 ani a studiului dacă: i) la momentul inițial, li s-a efectuat o colposcopie și nu prezentau \geq CIN2 sau ii) nu li s-a efectuat o colposcopie la momentul inițial. Faza de urmărire a studiului a constat în vizite anuale. La aceste vizite s-au recoltat de la fiecare pacientă probe cervicale pentru citologie, iar unele paciente au fost testate de asemenea folosind un test HPV disponibil pe piață. Pacientele cu ASC-US sau cu rezultate citologice mai severe în perioada de urmărire au fost trimise pentru colposcopie folosind aceleași proceduri de biopsie și histologie realizate pentru evaluarea inițială din studiul NILM. Starea bolii cervicale stabilită la vizita de referință a fost considerată „negativă” în funcție de citologia NILM sau, în cazul pacientelor cu rezultate anormale la testele citologice, în funcție de rezultatele normale sau CIN1 indicate de un panou de analiză histologică în consens. S-a considerat că pacientele la care s-a detectat \geq CIN2 în perioada de urmărire au încheiat perioada de urmărire și nu s-au prezentat la vizite după detecția \geq CIN2. Perioada de urmărire a fost considerată încheiată la pacientele la care nu s-a detectat \geq CIN2 în perioada de urmărire însă s-au prezentat la o vizită de studiu în anul de urmărire 1 și/sau anul de urmărire 2 și care s-au prezentat la o vizită de studiu în anul de urmărire 3.

Obiectivul studiului de urmărire a fost să compare riscul cumulat la 3 ani asociat cu boala cervicală la paciente cu rezultate pozitive la Aptima HPV Assay la momentul inițial cu riscul cumulat la 3 ani asociat cu boala cervicală la paciente cu rezultate negative la Aptima HPV Assay la momentul inițial. Starea bolii cervicale la 3 ani a fost stabilită după cum urmează:

- Stare pozitivă a bolii cervicale (\geq CIN2 și/sau \geq CIN3) – Paciente cu \geq CIN2 detectat la momentul inițial sau pe durata urmăririi.
- Stare negativă a bolii cervicale ($<$ CIN2) – Paciente la care nu s-a detectat \geq CIN2 la încheierea urmăririi și la care nu s-a considerat că starea bolii cervicale este „nedeterminată”.
- Stare nedeterminată a bolii cervicale – Paciente cu rezultate anormale la testele citologice din perioada de urmărire și care nu au obținut un rezultat ulterior la un panou de analiză histologică în consens sau pacientele cu citologie inadecvată la ultima vizită.
- Retragere în perioada de urmărire – Paciente care nu au încheiat urmărirea și la care nu s-a considerat că starea bolii cervicale este „nedeterminată”.

A fost evaluată performanța clinică a Aptima HPV Assay în Analizorul Panther pentru detecția \geq CIN2 și a \geq CIN3 față de starea bolii cervicale stabilită la 3 ani.

Performanța testului cu Analizorul Panther

Populația ASC-US ≥ 21 de ani: Performanța clinică a Aptima HPV Assay

În total, în studiul ASC-US au fost înrolate 1252 de paciente cu vârsta peste 21 de ani, cu rezultate citologice ASC-US; dintre acestea, 294 de paciente au fost retrase. Restul de 958 de paciente au fost eligibile în vederea testării cu Analizorul Panther. La două paciente lipseau probe și 19 paciente au primit un diagnostic nedeterminat; toate acestea au fost excluse din analiză. Restul de 937 de paciente evaluabile aveau vârsta peste 21 de ani, cu rezultate citologice ASC-US, rezultate ale Aptima HPV Assay la Analizorul Panther și stare concluzivă a bolii. Nouăzeci și una (91) de paciente aveau ≥CIN2, iar patruzeci și una (41) aveau ≥CIN3. Prevalența ≥CIN2 și ≥CIN3 la paciente evaluabile cu rezultate citologice ASC-US a fost de 9,7%, respectiv 4,4%. Rezultatele obținute la Aptima HPV Assay în funcție de diagnosticul din panoul de analiză histologică în consens sunt prezentate în Tabel 40.

Tabel 40: Populația ASC-US ≥ 21 de ani: Rezultatele obținute la Aptima HPV Assay în funcție de diagnosticul din panoul de analiză histologică în consens

Rezultatul testului Aptima HPV*	Testul HPV DNA	Diagnosticul din panoul de analiză histologică în consens						
		Nedeterminat**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Total
Pozitiv	Pozitiv	6	178	110	40	32	1	367
Pozitiv	Negativ	0	5	2	0	2	0	9
Pozitiv	Niciun rezultat***	0	15	11	0	2	0	28
Negativ	Pozitiv	0	39	15	3	3	0	60
Negativ	Negativ	10	372	53	7	1	0	443
Negativ	Niciun rezultat***	3	39	7	0	0	0	49
Total		19	648	198	50	40	1****	956

*Toate probele au obținut rezultate finale valide (la testarea inițială sau după soluționarea rezultatelor invalide inițiale din fiecare procedură).

**19 subiecți au participat la vizita colposcopică însă nu s-a putut stabili un diagnostic din următoarele motive: < 5 eșantioane de biopsie obținute, toate cu rezultate histologice Normale/CIN1 (n=15), fără biopsii recoltate (n=3), și lame de biopsie pierdute (n=1).

***77 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate la testul HPV DNA, în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

****Un subiect avea adenocarcinom in situ (AIS).

Estimările performanței clinice a Aptima HPV Assay incluzând sensibilitatea, specificitatea, valoarea predictivă pozitivă (PPV) și valoarea predictivă negativă (NPV) pentru detecția ≥CIN2 și ≥CIN3 pe baza evaluării tuturor biopsiilor și incluzând doar biopsiile dirijate sunt indicate în Tabel 41, la fel și estimările pentru testul HPV DNA disponibil pe piață.

Tabel 41: Populația ASC-US ≥ 21 de ani: Performanța Aptima HPV Assay și a unui test HPV DNA pentru detecția ≥CIN2 și a ≥CIN3

	Performanță	Aptima HPV Assay N=937		Testul HPV DNA N=863*		
		Estimare	(CI de 95%)	Estimare	(CI de 95%)	
≥CIN2	Toate biopsiile					
	Sensibilitate (%)	84,6 (77/91)	(75,8, 90,6)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)	
	Specificitate (%)	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)	
	Prevalență (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)		
	Biopsii dirijate**					
	Sensibilitate (%)	90,0 (54/60)	(79,9, 95,3)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)	
	Specificitate (%)	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)	
	Prevalență (%)	6,4 (60/934)		6,9 (59/861)		
	≥CIN3	Toate biopsiile				
		Sensibilitate (%)	90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
Specificitate (%)		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)	
Prevalență (%)		4,4 (41/937)		4,5 (39/863)		
Biopsii dirijate**						
Sensibilitate (%)		93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)	
Specificitate (%)		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)	
Prevalență (%)		3,1 (29/935)		3,2 (28/862)		

*74 de pacienți cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

**Rezultatul la testul histologic în consens a fost derivat folosind doar rezultatele din biopsiile dirijate. Pacienții fără biopsii dirijate indică o colposcopie normală și sunt incluse în aceste analize ca fiind neafectate de boală (<CIN2 sau <CIN3, după caz). Nu s-a ajuns întotdeauna la un consens atunci când s-au inclus doar biopsii dirijate.

La evaluarea tuturor biopsiilor, estimările de sensibilitate clinică ale Aptima HPV Assay și ale testului HPV DNA disponibil pe piață pentru detecția \geq CIN2 și \geq CIN3, atunci când au fost disponibile rezultatele ambelor teste, au fost similare (diferențele de estimări de sensibilitate nu au fost semnificative statistic). Pentru \geq CIN2, diferența de sensibilitate a fost de -4,5% (CI de 95%: -12,2%, 2,5%). Estimările de specificitate clinică ale Aptima HPV Assay pentru detecția \geq CIN2 și \geq CIN3 au fost mai mari decât cele ale testului HPV DNA disponibil pe piață (diferențele de estimări de specificitate au fost semnificative statistic). Pentru \geq CIN2, diferența de specificitate a fost de 6,1% (CI de 95%: 4,2%, 8,2%). NPV au fost similare însă pentru detecția \geq CIN2, PPV pentru Aptima HPV Assay a fost ușor mai mare decât PPV pentru testul HPV DNA disponibil pe piață (19,3% față de 18,8%).

Dintre cele 91 de cazuri \geq CIN2, 60 (65,9%) au fost identificate în biopsii dirijate și 31 (34,1%) au fost identificate din biopsii aleatorii și/sau ECC (adică nu din biopsii dirijate). Aceste concluzii sunt comparabile cu rezultatele din studii publicate, în care aproximativ 25% până la 40% dintre cazurile \geq CIN2 au fost identificate doar din eșantioanele de biopsie aleatorie și/sau ECC.^{36, 37} Folosind doar biopsii dirijate pentru a stabili starea bolii (presupunând că femeile fără biopsii dirijate au obținut rezultate histologice normale deoarece nu erau prezente leziuni vizibile), prevalența \geq CIN2 și \geq CIN3 în studiu a fost de 6,4%, respectiv 3,1%. Estimările de sensibilitate clinică pentru detecția \geq CIN2 și \geq CIN3 au fost mai mari pentru ambele teste în care s-au folosit doar biopsii dirijate față de estimările calculate folosind toate biopsiile. Specificitatea clinică obținută folosind doar biopsii dirijate a fost similară cu specificitatea obținută folosind toate biopsiile incluse, pentru ambele teste. În mod corespunzător, atunci când s-au utilizat doar biopsii dirijate, specificitatea Aptima HPV Assay a fost semnificativ superioară celei obținute la testul HPV DNA disponibil pe piață.

Estimările performanței clinice a Aptima HPV Assay și ale testului HPV DNA disponibil pe piață sunt prezentate pe grupe de vârstă în Tabel 42 și Tabel 43 (\geq CIN2, respectiv \geq CIN3, pe baza evaluării tuturor biopsiilor).

Tabel 42: Populația ASC-US ≥ 21 de ani: Performanța Aptima HPV Assay și a unui test HPV DNA pentru detecția ≥CIN2 pe grupe de vârstă

	Performanță	Aptima HPV Assay N=937		Testul HPV DNA N=863*	
		Estimare	(CI de 95%)	Estimare	(CI de 95%)
între 21 și 29 de ani		N=415		N=389	
	Sensibilitate (%)	88,5 (54/61)	(78,2, 94,3)	94,9 (56/59)	(86,1, 98,3)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
între 30 și 39 de ani		N=261		N=238	
	Sensibilitate (%)	85,0 (17/20)	(64,0, 94,8)	80,0 (16/20)	(58,4, 91,9)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
≥ 40 de ani		N=261		N=236	
	Sensibilitate (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	

*74 de pacienți cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Tabel 43: Populația ASC-US ≥ 21 de ani: Performanța Aptima HPV Assay și a unui test HPV DNA pentru detecția ≥CIN3 pe grupe de vârstă

	Performanță	Aptima HPV Assay N=937		Testul HPV DNA N=863*	
		Estimare	(CI de 95%)	Estimare	(CI de 95%)
între 21 și 29 de ani		N=415		N=389	
	Sensibilitate (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
între 30 și 39 de ani		N=261		N=238	
	Sensibilitate (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
≥ 40 de ani		N=261		N=236	
	Sensibilitate (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Riscul absolut de boală (\geq CIN2 și \geq CIN3, pe baza evaluării tuturor biopsiilor) indicat de rezultatul Aptima HPV Assay și riscul relativ al bolii pentru rezultate pozitive față de negative la Aptima HPV Assay sunt indicate în Tabel 44, la fel și estimările pentru testul HPV DNA disponibil pe piață. Riscul relativ \geq CIN2 a fost 7,4 (CI de 95%: 4,3, 13,0), indicând că o pacientă cu rezultat pozitiv la Aptima HPV Assay prezenta o probabilitate de 7,4 ori mai mare de a avea \geq CIN2 față de o femeie cu rezultat negativ la Aptima HPV Assay. Riscul relativ \geq CIN3 a fost 12,5 (CI de 95%: 4,5, 34,9).

Tabel 44: Populația ASC-US \geq 21 de ani: Riscurile absolute și relative de \geq CIN2 și \geq CIN3 pentru rezultatele Aptima HPV Assay și ale unui test HPV DNA

	Rezultatul testului	Aptima HPV Assay N=937		Testul HPV DNA N=863*	
		Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)	Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)
\geq CIN2	Pozitiv	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)
	Negativ	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prevalență (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
\geq CIN3	Pozitiv	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)
	Negativ	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prevalență (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

*74 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Estimările riscului absolut și relativ (\geq CIN2 și \geq CIN3, pe baza evaluării tuturor biopsiilor) pentru Aptima HPV Assay și testul HPV DNA disponibil pe piață sunt prezentate pe grupe de vârstă în Tabel 45.

Tabel 45: Populația ASC-US \geq 21 de ani: Riscurile absolute și relative de \geq CIN2 și \geq CIN3 pentru rezultatele Aptima HPV Assay și ale unui test HPV DNA pe grupe de vârstă

	Vârstă	Rezultatul testului	Aptima HPV Assay N=937		Testul HPV DNA N=863*	
			Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)	Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)
\geq CIN2	între 21 și 29 de ani		N=415		N=389	
		Pozitiv	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)
		Negativ	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalență (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	între 30 și 39 de ani		N=261		N=238	
		Pozitiv	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)
		Negativ	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalență (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	\geq 40 de ani		N=261		N=236	
		Pozitiv	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)
		Negativ	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)	
		Prevalență (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	
\geq CIN3	între 21 și 29 de ani		N=415		N=389	
		Pozitiv	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Nu se poate calcula
		Negativ	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalență (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	între 30 și 39 de ani		N=261		N=238	
		Pozitiv	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)
		Negativ	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalență (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	\geq 40 de ani		N=261		N=236	
		Pozitiv	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)
		Negativ	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)	
		Prevalență (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Populația NILM ≥ 30 de ani: Performanța clinică a Aptima HPV Assay cu eșantioanele pentru citologie în mediu lichid ThinPrep la momentul inițial

În total, în studiul NILM au fost înrolate 11.644 de paciente cu rezultate citologice NILM; dintre acestea, 773 de femei au fost retrase. Restul de 10.871 de paciente au fost eligibile în vederea testării cu Analizorul Panther. Unsprezece paciente au prezentat probe lipsă și au fost excluse din evaluarea inițială a Aptima HPV Assay pe Analizorul Panther. Restul de 10.860 de paciente evaluabile aveau vârsta peste 30 de ani, cu rezultate citologice NILM și rezultate Aptima HPV Assay pe Analizorul Panther. Dintre cele 512 paciente cu rezultate pozitive la Aptima HPV Assay pe Analizorul Panther, 284 au participat la colposcopia de la momentul inițial. Dintre cele 10.348 de paciente cu rezultate negative la Aptima HPV Assay, 580 au participat la colposcopia de la momentul inițial. Douăzeci (20) de paciente au avut ≥CIN2 și unsprezece (11) au avut ≥CIN3; 798 de paciente au avut histologie normală/CIN1; 46 de paciente au avut stare nedeterminată a bolii. Rezultatele obținute la Aptima HPV Assay pe Analizorul Panther în funcție de diagnosticul de la momentul inițial, din panoul de analiză histologică în consens, sunt prezentate în Tabel 46.

Tabel 46: Populația NILM ≥ 30 de ani: Rezultatele obținute la Aptima HPV Assay și un test HPV DNA în funcție de diagnosticul din panoul de analiză histologică în consens la momentul inițial

Rezultatul Aptima HPV Assay*	Testul HPV DNA	Diagnosticul din panoul de analiză histologică în consens						
		Nedeterminat**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Total
Pozitiv	Pozitiv	11	211	12	4	7	2	247
Pozitiv	Negativ	2	19	0	0	0	1	22
Pozitiv	Niciun rezultat***	2	12	1	0	0	0	15
Negativ	Pozitiv	10	170	7	2	1	0	190
Negativ	Negativ	20	353	9	2	0	0	384
Negativ	Niciun rezultat***	1	4	0	1	0	0	6
Total		46	769	29	9	8	3****	864

*Toate probele au obținut rezultate finale valide (la testarea inițială sau după soluționarea rezultatelor invalide inițiale din fiecare procedură).

**46 de subiecți au participat la vizita colposcopică însă nu s-a putut stabili un diagnostic din următoarele motive: eșantioane de biopsie determinate a fi inadecvate (n=29), fără biopsii recoltate (n=15), și lame de biopsie pierdute (n=2).

***21 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate la testul HPV DNA, în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

****Trei subiecți aveau adenocarcinom in situ (AIS).

În total, 10.042 de paciente au avut o stare neverificată (inclusiv nedeterminată) a bolii la momentul inițial (Tabel 47). Deoarece la colposcopie au fost trimise doar pacientele selectate aleatoriu, cu rezultate negative atât la Aptima HPV Assay pe Analizorul Tigris DTS cât și la testul HPV DNA disponibil pe piață, procentul de paciente cu stare neverificată a bolii a fost mare în acest grup (96,6%). În vederea ajustării la această deviație de verificare, s-a utilizat o metodă de imputare multiplă pentru a estima numărul de paciente afectate de boală care ar fi fost identificat dacă toate pacientele ar fi fost supuse la colposcopie. Sunt prezentate atât estimările de performanță ajustate la deviația de verificare, cât și estimările de performanță neadaptate obținute de la 818 paciente cu stare verificată a bolii la momentul inițial.

Tabel 47: Populația NILM ≥ 30 de ani: Clasificarea pacientelor NILM evaluabile în funcție de rezultatele obținute la Aptima HPV Assay și la testul HPV DNA, starea bolii (≥CIN2 și ≥CIN3) și starea de verificare a bolii

Rezultatul testului Aptima HPV*		Testul HPV DNA	Total paciente	Stare a bolii verificată: ≥CIN2		Stare a bolii verificată: ≥CIN3		Stare a bolii neverificată
Analizorul Panther	Analizorul Tigris DTS			Femei afectate de boală (≥CIN2)	Femei neafectate de boală (≥CIN2)	Femei afectate de boală (≥CIN3)	Femei neafectate de boală (≥CIN3)	Femei cu stare necunoscută a bolii (% necunoscut)
Pozitiv	Pozitiv	Pozitiv	313	13	189	9	193	111 (35,5%)
Pozitiv	Pozitiv	Negativ	37	1	18	1	18	18 (48,6%)
Pozitiv	Pozitiv	Niciun rezultat**	22	0	13	0	13	9 (40,9%)
Pozitiv	Negativ	Pozitiv	70	0	34	0	34	36 (51,4%)
Pozitiv	Negativ	Negativ	60	0	1	0	1	59 (98,3%)
Pozitiv	Negativ	Niciun rezultat**	10	0	0	0	0	10 (100%)
Negativ	Pozitiv	Pozitiv	46	0	33	0	33	13 (28,3%)
Negativ	Pozitiv	Negativ	113	1	41	0	42	71 (62,8%)
Negativ	Pozitiv	Niciun rezultat**	8	0	4	0	4	4 (50,0%)
Negativ	Negativ	Pozitiv	236	3	144	1	146	89 (37,7%)
Negativ	Negativ	Negativ	9.354	1	321	0	322	9.032 (96,6%)
Negativ	Negativ	Niciun rezultat**	591	1	0	0	1	590 (99,8%)
Total			10.860	20	798	11	807	10.042 (92,5%)

*Toate probele au obținut rezultate finale (la testarea inițială sau după soluționarea rezultatelor invalide inițiale din fiecare procedură).

**631 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate la testul HPV DNA, în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Prevalența ajustată a \geq CIN2 și \geq CIN3 la paciente cu rezultate citologice NILM a fost de 0,9%, respectiv 0,4%. Estimările ajustate ale riscului absolut și relativ pentru detecția \geq CIN2 și \geq CIN3 la momentul inițial sunt prezentate în Tabel 48. Riscul relativ ajustat al \geq CIN2 a fost 7,5 (CI de 95%: 2,1, 26,3), indicând că o pacientă cu rezultat pozitiv la Aptima HPV Assay prezenta o probabilitate de 7,5 ori mai mare de a avea \geq CIN2 față de o femeie cu rezultat negativ la Aptima HPV Assay. Riscul relativ ajustat al \geq CIN3 a fost 24,9 (CI de 95%: 2,0, 307,0). Estimările neajustate ale riscului absolut și relativ pentru detecția \geq CIN2 și \geq CIN3 la momentul inițial sunt prezentate per total în Tabel 49 și pe grupe de vârstă în Tabel 50.

Tabel 48: Populația NILM \geq 30 de ani: Riscurile absolute și relative de \geq CIN2 și \geq CIN3 pentru rezultatele Aptima HPV Assay și ale unui test HPV DNA (estimări ajustate la deviația de verificare) la momentul inițial

	Rezultatul testului	Aptima HPV Assay		Testul HPV DNA	
		Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)	Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)
\geq CIN2	Pozitiv	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negativ	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalență (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Pozitiv	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negativ	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalență (%)	0,4		0,4	

Tabel 49: Populația NILM \geq 30 de ani: Riscurile absolute și relative de \geq CIN2 și \geq CIN3 pentru rezultatele Aptima HPV Assay și ale unui test HPV DNA (estimări neajustate) la momentul inițial

	Rezultatul testului	Aptima HPV Assay N=818		Testul HPV DNA N=800*	
		Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)	Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)
\geq CIN2	Pozitiv	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)
	Negativ	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalență (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
\geq CIN3	Pozitiv	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)
	Negativ	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalență (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Tabel 50: Populația NILM ≥ 30 de ani: Riscurile absolute și relative de ≥CIN2 și ≥CIN3 pentru rezultatele Aptima HPV Assay și ale unui test HPV DNA pe grupe de vârstă (estimări neajustate) la momentul inițial

	Vârstă	Rezultatul testului	Aptima HPV Assay N=818		Testul HPV DNA N=800*	
			Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)	Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)
≥CIN2	între 30 și 39 de ani		N=383		N=376	
		Pozitiv	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)
		Negativ	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Prevalență (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 de ani		N=435		N=424	
		Pozitiv	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)
		Negativ	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
		Prevalență (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥CIN3	între 30 și 39 de ani		N=383		N=376	
		Pozitiv	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)
		Negativ	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
		Prevalență (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	≥ 40 de ani		N=435		N=424	
		Pozitiv	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Nu se poate calcula	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Nu se poate calcula
		Negativ	0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
		Prevalență (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*18 paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Estimările ajustate ale performanței clinice a Aptima HPV Assay incluzând sensibilitatea, specificitatea, PPV și NPV pentru detecția \geq CIN2 și \geq CIN3 la momentul inițial sunt indicate în Tabel 51, la fel și estimările pentru testul HPV DNA disponibil pe piață. Estimările neajustate ale performanței clinice sunt indicate în Tabel 52. Aptima HPV Assay și testul HPV DNA disponibil pe piață au prezentat sensibilitate similară, în timp ce specificitatea a fost semnificativ superioară în cazul Aptima HPV Assay (CI de 95% fără suprapunere). Estimările valorii predictive a testului HPV DNA disponibil pe piață au fost relevante clinic și similare cu estimările pentru testul HPV DNA disponibil pe piață. NPV au fost similare însă pentru detecția \geq CIN2, PPV pentru Aptima HPV Assay a fost ușor mai mare decât PPV pentru testul HPV DNA disponibil pe piață (4,5% față de 3,7%).

Tabel 51: Populația NILM \geq 30 de ani: Performanța Aptima HPV Assay și a unui test HPV DNA pentru detecția \geq CIN2 și a \geq CIN3 (estimări ajustate la deviația de verificare) la momentul inițial

	Performanță	Aptima HPV Assay		Testul HPV DNA	
		Estimare	(CI de 95%)	Estimare	(CI de 95%)
\geq CIN2	Sensibilitate (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
\geq CIN3	Sensibilitate (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Tabel 52: Populația NILM ≥ 30 de ani: Performanța Aptima HPV Assay și a unui test HPV DNA pentru detecția ≥CIN2 și a ≥CIN3 (estimări neajustate) la momentul inițial

	Performanță	Aptima HPV Assay N=818		Testul HPV DNA N=800*	
		Estimare	(CI de 95%)	Estimare	(CI de 95%)
≥CIN2	Sensibilitate (%)	70,0 (14/20)	(48,1, 85,5)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
≥CIN3	Sensibilitate (%)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Specificitate (%)	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)
	Prevalență (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Compararea directă a Aptima HPV Assay pe Analizorul Panther și a testului HPV DNA disponibil pe piață demonstrează o sensibilitate similară și o specificitate îmbunătățită semnificativă statistic a Aptima HPV Assay față de a testului HPV DNA disponibil pe piață pentru detecția \geq CIN2, după cum arată raporturile între procente real pozitive și fals pozitive (Tabel 53, respectiv Tabel 54).

Tabel 53: Populația NILM \geq 30 de ani: Raportul de procente real pozitive (Aptima HPV Assay/testul HPV DNA) pentru pacientele cu \geq CIN2 (estimări neajustate) la momentul inițial

		Testul HPV DNA		Total
		Pozitiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Pozitiv	13	1	14 (73,7%)
	Negativ	3	2	5
	Total	16 (84,2%)	3	19
Raportul de procente real pozitive = 0,88 (14/16) (CI de 95%: 0,65, 1,10)				

Tabel 54: Populația NILM \geq 30 de ani: Raportul de procente fals pozitive (Aptima HPV Assay/testul HPV DNA) pentru pacientele cu $<$ CIN2 (estimări neajustate) la momentul inițial

		Testul HPV DNA		Total
		Pozitiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Pozitiv	223	19	242 (31,0%)
	Negativ	177	362	539
	Total	400 (51,2%)	381	781
Raportul de procente fals pozitive = 0,61 (242/400) (CI de 95%: 0,55, 0,66)				

Populația NILM \geq 30 de ani: Performanța clinică a Aptima HPV Assay pe Analizorul Panther după 3 ani de urmărire

Pentru faza de urmărire au fost eligibile 10.843 de paciente cu vârsta peste 30 de ani, cu rezultate citologice NILM și rezultate valide ale Aptima HPV Assay la Analizorul Panther la momentul inițial. Dintre pacientele fără \geq CIN2, 67,0% (7.247/10.823) dintre paciente au participat la o vizită de urmărire la 1 an pentru testul Papanicolau, 60,3% (6.517/10.814) la vizita de 2 ani, iar 58,7% (6.339/10.807) la vizita de 3 ani. Per total, 58,8% (6.375/10.843) dintre paciente au încheiat studiul (au prezentat \geq CIN2 la momentul inițial sau pe parcursul urmăririi și/sau au participat la vizitele necesare).

Dintre cele 10.843 de paciente, 511 (4,7%) au obținut rezultate pozitive la Aptima HPV Assay pe Analizorul Panther la momentul inițial. Dintre aceste 511 de femei, 255 (49,9%) au avut stare pozitivă sau negativă a bolii la 3 ani, conform rezultatelor citologice sau de la colposcopie/biopsie. Restul de 10.332 de paciente au obținut rezultate negative la Aptima HPV Assay pe Analizorul Panther la momentul inițial. Dintre aceste 10.332 de paciente, 5.946 (57,5%) au avut stare pozitivă sau negativă a bolii la 3 ani. Dintre cele 6.201 de paciente cu stare a bolii la 3 ani, 47 de paciente au avut \geq CIN2, incluzând 23 cu \geq CIN3;

6.154 de paciente au avut rezultate normale/CIN1 pe baza panoului de analiză histologică în consens. Rezultatele obținute la momentul inițial la Aptima HPV Assay pe Analizorul Panther și un test HPV DNA disponibil pe piață și starea bolii la 3 ani (include evaluarea inițială și de urmărire) în funcție de diagnosticul din panoul de analiză histologică în consens sunt prezentate în Tabel 55.

Tabel 55: Populația NILM ≥ 30 de ani: Clasificarea pacientelor eligibile pentru faza de urmărire pe baza rezultatelor la Aptima HPV Assay la momentul inițial, a rezultatelor obținute la testul HPV DNA la momentul inițial și a stării bolii (≥CIN2, ≥CIN3, neverificat) identificate în fazele inițiale și de urmărire

Rezultatul Aptima HPV Assay	Testul HPV DNA	Total paciente	Stare a bolii verificată: ≥CIN2		Stare a bolii verificată: ≥CIN3		Stare a bolii neverificată	
			Femei afectate de boală (≥CIN2)	Femei neafectate de boală (≥CIN2)	Femei afectate de boală (≥CIN3)	Femei neafectate de boală (≥CIN3)	Retragere în perioada de urmărire	Nedeterminată*
Pozitiv	Pozitiv	382	23	171	16	178	167	21
Pozitiv	Negativ	97	1	48	1	48	44	4
Pozitiv	Niciun rezultat**	32	2	10	1	11	17	3
Negativ	Pozitiv	281	5	129	2	132	130	17
Negativ	Negativ	9.452	15	5.476	3	5.488	3.756	205
Negativ	Niciun rezultat**	599	1	320	0	321	264	14
Total		10.843	47	6.154	23	6.178	4.378	264

*Paciente cu rezultate anormale la testele citologice din perioada de urmărire și care nu au obținut un rezultat ulterior la un panou de analiză histologică în consens sau pacientele cu citologie inadecvată la ultima vizită. 174 de paciente cu stare nedeterminată a bolii au încheiat perioada de urmărire conform protocolului.

**631 de paciente cu rezultate la Aptima HPV Assay nu au obținut rezultate HPV DNA în principal din cauza volumului insuficient de eșantion citologic.

Riscul de boală cumulat la 3 ani (≥CIN2 și ≥CIN3) are la bază estimarea Kaplan-Meier (analiza tabelelor de viață) și include boala detectată la momentul inițial sau în perioada de urmărire. Pacientele care au prezentat semne de boală (ASC-US sau rezultate citologice mai severe) însă fără rezultat în panoul de analiză histologică în consens au fost incluse în analiză folosind o metodă de imputare multiplă pentru a anticipa numărul de paciente afectate de boală care ar fi fost identificate dacă pacientele ar fi efectuat colposcopia.

Estimările cumulate la 3 ani ale riscului absolut și relativ pentru detecția ≥CIN2 și ≥CIN3 sunt prezentate în Tabel 56.

Tabel 56: Populația NILM ≥ 30 de ani: Riscurile absolute și relative cumulate* la 3 ani pentru ≥CIN2 și ≥CIN3 pentru rezultatele Aptima HPV Assay și ale unui test HPV DNA la momentul inițial

	Rezultatul testului	Aptima HPV Assay		Testul HPV DNA	
		Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)	Risc absolut (CI de 95%)	Risc relativ (CI de 95%)
≥CIN2	Pozitiv	7,90 (5,50, 11,27)	24,45 (13,85, 43,15)	6,43 (4,50, 9,14)	22,71 (12,20, 42,30)
	Negativ	0,32 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Prevalență (%)	0,68		0,68	
≥CIN3	Pozitiv	5,23 (3,34, 8,13)	57,11 (21,09, 154,62)	4,14 (2,62, 6,52)	51,34 (17,74, 148,58)
	Negativ	0,09 (0,04, 0,23)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Prevalență (%)	0,34		0,35	

*Riscurile cumulate la 3 ani ajustate pentru alte deviații posibile au fost similare cu riscurile din acest tabel. Din cauza diferențelor anticipate în ceea ce privește riscurile în anul 1 și anul 2 pentru cele două grupuri de paciente din studiul de urmărire (cele care au efectuat colposcopie la momentul inițial și cele care nu au efectuat colposcopie la momentul inițial), a fost raportat doar riscul cumulat la 3 ani pentru grupurile mixte.

Prevalența cumulată la 3 ani a ≥CIN2 și ≥CIN3 la paciente cu rezultate citologice NILM la momentul inițial a fost de 0,68%, respectiv 0,34%. Riscul relativ ≥CIN2 a fost 24,45 (CI de 95% 13,85, 43,15), indicând că o pacientă cu rezultat pozitiv la Aptima HPV Assay pe Analizorul Panther prezenta o probabilitate de 24,45 ori mai mare de a avea ≥CIN2 față de o femeie cu rezultat negativ la Aptima HPV Assay. Riscul relativ ≥CIN3 a fost 57,11 (CI de 95%: 21,09, 154,62).

Performanța clinică a Aptima HPV Assay cu eșantioanele pentru citologie în mediu lichid SurePath

Eșantioane pentru citologie în mediu lichid SurePath au fost recoltate de la femei din Canada (n=558) care au primit recomandare de urmărire din următoarele motive: unul sau mai multe teste Papanicolau anormale, o infecție HPV sau altele. Un alicot (0,5 ml) din fiecare eșantion a fost transferat în tubul de transfer al eșantionului Aptima apoi a fost tratat folosind soluția de transfer Aptima. Un singur replicat din fiecare eșantion a fost testat cu Aptima HPV Assay. Un alicot separat (1 ml) din fiecare eșantion a fost îndepărtat pentru evaluare folosind un test HPV PCR disponibil pe piață. Sensibilitatea clinică pentru detecția bolii, definită ca un rezultat histologic \geq CIN3, a fost calculată atât pentru Aptima HPV Assay cât și pentru testul HPV PCR, conform Tabel 57, cu valorile predictive pozitive și negative.

Tabel 57: Performanța clinică a Aptima HPV Assay și a unui test HPV PCR pentru detecția \geq CIN3

Performanță	Aptima HPV Assay N=558		Testul HPV PCR N=558	
	Estimare	(CI de 95%)	Estimare	(CI de 95%)
Sensibilitate (%)	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

Performanța Aptima HPV Assay cu eșantioanele de recoltare cervicală și transport

Eșantioanele clinice cu HPV pozitiv cu risc ridicat și HPV negativ cu risc ridicat recoltate atât de la populațiile de screening (vizită de rutină) cât și de la cele cu trimitere (vizită de colposcopie) cu trusa Aptima CSCT au fost testate folosind Aptima HPV Assay pe Analizoarele Panther și Tigris DTS, folosind două loturi de reactivi. Acordul între Analizoarele Panther și Tigris DTS pentru eșantioane CSCT este indicat în Tabel 58.

Pentru eșantioanele CSCT, acordul general între Analizoarele Panther și Tigris DTS a fost > 98%, după cum se indică în Tabel 58. Dintre cele 632 de eșantioane clinice testate, 69 au fost CIN2+ iar 38 au fost CIN3+. Sensibilitatea Aptima HPV Assay pentru detecția CIN2+ a fost 97,1% (CI de 95% 90,0% - 99,2%) pe Analizorul Panther și 98,6% (CI de 95%: 92,2 - 99,7) pe Analizorul Tigris DTS. Sensibilitatea la detecția CIN3+ a fost 100% (CI: 90,8% - 100%) atât pe Analizorul Panther cât și Tigris DTS.

Tabel 58: Acordul rezultatelor Aptima HPV Assay pe eșantioanele Aptima CSCT testate pe Analizoarele Tigris DTS și Panther

		Analizorul Tigris DTS		Total
		Pozitiv	Negativ	
Analizorul Panther	Pozitiv	490	3	493
	Negativ	9	130	139
	Total	499	133	632

Acord general = 98,1% (CI de 96,7 - 98,9)

Acord pozitiv = 98,2% (CI de 96,6 - 99,0)

Acord negativ = 97,7% (CI de 93,6 - 99,2)

Sensibilitatea analitică

Limita de detecție (LOD) la pragul clinic este concentrația de HPV RNA care determină un rezultat pozitiv (peste pragul clinic) în 95% din cazuri. Valoarea LOD pentru Aptima HPV Assay a fost stabilită prin testarea panourilor de diluție ale transcripțiilor (IVT) in vitro pentru toate cele 14 genotipuri cu risc ridicat și 4 linii celulare infectate cu HPV: SiHa, HeLa, MS751 și ME180 (ATCC, Manassas, Virginia). Pentru panourile IVT, înainte de testare mediul de transport al eșantioanelor a fost însămânțat cu IVT în diferite concentrații apoi a fost diluat cu eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep negative individuale. Pentru panourile de celule infectate cu HPV, loturile de probe de eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep au fost însămânțate cu celule infectate cu HPV în diferite concentrații apoi au fost diluate cu mediu de transport al eșantioanelor înainte de testare. Treizeci de replicare din fiecare nivel de copie au fost testate cu fiecare din cele două loturi de reactivi, în total 60 de replicare. Testarea s-a realizat timp de 17 zile, cu 1 până la 12 procesări pe zi și 5 replicare ale unui genotip dat și concentrație testată la fiecare procesare. Limita de detecție de 95% a fost calculată în analiză de regresie probit a rezultatelor de pozitivitate pentru fiecare panou de diluție.

Rezultatele analizei probit Tabel 59 indică faptul că HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59, 66 și 68 a stabilit limite de detecție de 95% pe mai puțin de 100 copii/reacție, iar tipurile 52, 58 și 66 au stabilit limite de detecție de 95% între 100 și 500 copii/reacție. Cele patru linii celulare testate au avut limite de detecție de 95% sub 1 celulă/reacție.

Tabel 59: Limita de detecție a pragului clinic al Aptima HPV Assay

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

*Copii per reacție pentru transcripții in vitro și celule per reacție pentru linii celulare

Precizia testului

Precizia Aptima HPV Assay a fost evaluată în două studii folosind același panou cu 20 de membri. Studiul 1 s-a derulat în 3 centre, 2 externe și 1 intern, iar Studiul 2 s-a derulat intern. Panoul a inclus 13 membri cu HPV pozitiv, având concentrații la sau peste limita de detecție a testului (pozitivitate anticipată: $\geq 95\%$), 3 membri cu HPV pozitiv, având concentrații sub limita de detecție a testului (pozitivitate anticipată: $> 0\%$ până la $< 25\%$) și 4 membri cu HPV negativ. Membrii panoului cu HPV pozitiv au fost pregătiți prin însămânțarea transcripțiilor (IVT) RNA în Soluție PreservCyt diluată în mediul de transport al eșantioanelor (STM) sau în celulele de cultură infectate cu HPV (SiHa, HeLa, ME180 and MS751; ATCC, Manassas, Virginia), în eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep negative, în lot de probe, diluate cu STM. Membrii panoului cu HPV negativ au fost pregătiți cu Soluție PreservCyt sau eșantioane pentru citologie în mediu lichid ThinPrep negative, în loturi de probe, diluate cu STM.

În Studiul 1, 2 operatori de la fiecare dintre cele 3 centre de testare (1 instrument per centru) au elaborat două fișe de lucru zilnice (1 pentru fiecare lot de reactiv) pentru Aptima HPV Assay, timp de 3 zile. Fiecare fișă de lucru conținea câte 3 replicare de la fiecare dintre membrii panoului de reproductibilitate. O sută opt (108) tuburi de probă individuale au fost testate pentru fiecare membru al panoului (3 centre x 1 instrument x 2 operatori x 2 loturi x 3 fișe de lucru x 3 replicare). În Studiul 2, testarea s-a realizat intern, timp de 13 zile, cu un total de 162 de reacții testate pentru fiecare membru al panoului (1 centru x 3 instrumente x 3 operatori x 3 loturi x 2 fișe de lucru x 3 replicare).

Membrii panoului sunt descriși în Tabel 60a (membrii panoului cu rezultate pozitive anticipate) și Tabel 60b (membrii panoului cu rezultate negative anticipate), alături de un rezumat al acordului cu rezultatele anticipate și valorile S/CO ale analitului la percentila 2,5, 50 și 97,5 din distribuția S/CO. Variabilitatea S/CO a analitului pentru membrii panoului cu rezultate pozitive anticipate este indicată în Tabel 61 pentru Studiul 1 și Tabel 62 pentru Studiul 2.

Tabel 60a: Studiu 1 și 2 de precizie a Aptima HPV Assay: Descrierea panoului, acordul pozitiv și distribuția valorilor S/CO ale analitului în percentile pentru membrii panoului cu rezultate pozitive anticipate

Descriere panou (copii sau celule/reacție)	Studiul 1 (3 centre de testare)	Studiul 2 (1 centru de testare)
	% acord pozitiv (CI de 95%)	% acord pozitiv (CI de 95%)
Eșantion clinic 1 HPV pozitiv înalt	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Eșantion clinic 2 HPV pozitiv înalt	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 16 (1830 de copii)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,1, 100)
IVT HPV 18 (1550 de copii)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Eșantion clinic 1 HPV pozitiv scăzut	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)
Eșantion clinic 2 HPV pozitiv scăzut	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
Eșantion clinic 3 HPV pozitiv scăzut	100 (108/108) (96,6, 100)	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)
Eșantion clinic 4 HPV pozitiv scăzut	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
IVT HPV 16 (183 de copii)	100 (102/102) (96,4, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 18 (155 de copii)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (159/159) (97,6, 100)
Celule MS751 (0,63 celule)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Celule HeLa (0,35 celule)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Celule SiHa (0,90 celule)	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)

IVT = transcripție in vitro

*% acordului pozitiv anticipat ~95%; s-a observat o valoare inferioară posibil ca urmare a variabilității de producție a membrului panoului.

Tabel 60b: Studiu 1 și 2 de precizie a Aptima HPV Assay: Descrierea panoului, acordul negativ și distribuția valorilor S/CO ale analitului în percentile pentru membrii panoului cu rezultate negative anticipate

Descriere panou (copii sau celule/reacție)	Studiul 1 (3 centre de testare)	Studiul 2 (1 centru de testare)
	% acord negativ (CI de 95%)	% acord negativ (CI de 95%)
Celule MS751 (0,005 celule)	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)
Celule SiHa (0,008 celule)	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
Celule HeLa (0,02 celule)	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)
Eșantion clinic 1 HPV negativ	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
Eșantion clinic 2 HPV negativ	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	100 (162/162) (97,7, 100)
Soluție PreservCyt 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
Soluție PreservCyt 2	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (161/161) (97,7, 100)

IVT = transcripție in vitro.

*% acordului negativ anticipat > 75% și < 100%.

Tabel 61: Studiu 1 de precizie a Aptima HPV Assay: Variabilitatea semnalului pentru membrii panoului cu rezultate pozitive anticipate

Descrierea panoului (copii sau celule/reacție)	n	S/CO mediu	Între instrumente		Între operatori		Între loturi		Între Fișe de lucru		În Fișe de lucru		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Eșantion clinic 1 HPV pozitiv înalt	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
Eșantion clinic 2 HPV pozitiv înalt	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
IVT HPV 16 (1830 de copii)	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
IVT HPV 18 (1550 de copii)	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
Eșantion clinic 1 HPV pozitiv scăzut	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
Eșantion clinic 2 HPV pozitiv scăzut	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
Eșantion clinic 3 HPV pozitiv scăzut	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
Eșantion clinic 4 HPV pozitiv scăzut	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
IVT HPV 16 (183 de copii)	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
IVT HPV 18 (155 de copii)	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
Celule MS751 (0,63 celule)	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
Celule HeLa (0,35 celule)	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
Celule SiHa (0,90 celule)	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

*Douăsprezece probe au avut rezultate invalide la Aptima HPV Assay (1 pentru proba clinică 1 cu HPV pozitiv înalt, 1 pentru proba clinică 2 cu HPV pozitiv înalt, 1 pentru IVT HPV 16 (1830 de copii), 1 pentru IVT HPV 18 (1550 de copii), 1 pentru proba clinică 1 cu HPV pozitiv scăzut, 6 pentru IVT HPV 16 (183 de copii) și 1 pentru celulele SiHa (0,90 celule)).
CV = coeficient de variație; IVT = transcripție in vitro; SD = deviație standard

Notă: Variabilitatea față de unii factori poate fi negativă numeric. Acest lucru se poate întâmpla dacă variabilitatea cauzată de factorii respectivi este foarte mică. În aceste cazuri, SD și CV sunt indicate ca având valoarea zero.

Tabel 62: Studiu 2 de precizie a Aptima HPV Assay: Variabilitatea semnalului pentru membrii panoului cu rezultate pozitive anticipate

Descrierea panoului (copii sau celule/reacție)	n	S/CO mediu	Între instrumente		Între operatori		Între loturi		Între Fișe de lucru		În Fișe de lucru		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Eșantion clinic 1 HPV pozitiv înalt	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
Eșantion clinic 2 HPV pozitiv înalt	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
IVT HPV 16 (1830 de copii)	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
IVT HPV 18 (1550 de copii)	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
Eșantion clinic 1 HPV pozitiv scăzut	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
Eșantion clinic 2 HPV pozitiv scăzut	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
Eșantion clinic 3 HPV pozitiv scăzut	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
Eșantion clinic 4 HPV pozitiv scăzut	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
IVT HPV 16 (183 de copii)	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
IVT HPV 18 (155 de copii)	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
Celule MS751 (0,63 celule)	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
Celule HeLa (0,35 celule)	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
Celule SiHa (0,90 celule)	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

*Șase probe au avut rezultate invalide la Aptima HPV Assay (1 pentru proba clinică 1 cu HPV pozitiv înalt, 1 pentru IVT HPV 16 (1830 de copii), 1 pentru proba clinică 3 cu HPV pozitiv scăzut, 3 pentru IVT HPV 18 (155 de copii)).
CV = coeficient de variație; SD = deviație standard

Notă: Variabilitatea față de unii factori poate fi negativă numeric. Acest lucru se poate întâmpla dacă variabilitatea cauzată de factorii respectivi este foarte mică. În aceste cazuri, SD și CV sunt indicate ca având valoarea zero.

Reactivitate încrucișată

Testarea cu organisme cu potențial reactiv încrucișat pentru Aptima HPV Assay s-a realizat folosind Analizorul Tigris DTS. Pentru rezultate, consultați *Reactivitate încrucișată* (Tabel 37) din secțiunea Analizorului Tigris DTS.

Interferența

Testarea cu substanțe cu potențial de interferență pentru Aptima HPV Assay s-a realizat folosind Analizorul Tigris DTS. Pentru rezultate, consultați *Interferența* (Tabel 38) din secțiunea Analizorului Tigris DTS.

Bibliografie

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. Sunsum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* **325(7364)**: 572-579.
8. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer.* **108(3)**:329-33. Erratum in: *Int J Cancer.* **108(6)**:945.
9. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence—implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol.* **73(1)**: 65-70.
10. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol.* **32 Suppl 1**:S16-24.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2010; 20(8):1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology.* 2011; 49(2):557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer.* 2011;129:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology.* 2012;125:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2013;23(3):513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer.* 2013;108:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, 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. Weischenk, 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 Candian Study. Presented at EUROGIN 2008, November 12-15, 2008, Scientific Communication SS **8-6**.
29. **Szarewski A., L. Ambroisine, L. Cadman, J. Austin, L. Ho, G. Terry, S. Little, R. Dina, J. McCarthy, H. Buckley, C. Bergeron, P. Soutter, D. Lyons, and J. Cuzick.** 2008. Comparison of predictors for High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia in Women with Abnormal Smears. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **17(11)**, November.
30. **Castle P.E., J. Dockter, C. Giachetti, F.A.R. Garcia, M. McCormick, A.L.Mitchell, E.B. Holladay, and D.P. Kolk.** 2007. A Cross-sectional Study of a Prototype Carcinogenic Human Papillomavirus E6/E7 Messenger RNA Assay for Detection of Cervical Pre-cancer and Cancer. *Clin Cancer Res.* **13(9)**. 2599.
31. **Monsonogo J., M.G. Hudgens, L. Zerat, J.C. Zerat, K. Syrjänen, P. Halfon, F. Ruiz, and J.S. Smith.** 2010. Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid based cytology in primary cervical cancer screening (The FASE study). *Int J Cancer*. n/a. doi 10.1002/ijc.25726.
32. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. *Annals Int Med.* **148**:493.
33. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet.* **366**, 991.
34. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** 2013. Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* **208(2)**:144-145.
35. **Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D.** 2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests. 2007. *Am J Obstet Gynecol* **197** (4); 346-355.
36. **Pretorius R.G., W. H. Zhang, J. L. Belinson, et al.** Colposcopically directed biopsy, random cervical biopsy, and endocervical curettage in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia II or worse. 2004. *Am J Obstet Gynecol.* **191**:430-434.
37. **Pretorius R.G., R. J. Kim, J. L. Belinson, P. Elson, Y-L Qiao.** Inflation of sensitivity of cervical cancer screening tests secondary to correlated error in colposcopy. 2006. *J Low Genit Tract Dis.* **10(1)**:5-9.



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

Asistență clienți: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
customersupport@hologic.com

Asistență tehnică: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

Pentru mai multe informații, vizitați www.hologic.com.

Acest produs este destinat exclusiv utilizării în diagnosticarea *in vitro* la pacienți umani.

Hologic, Aptima, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep și Tigris sunt mărci comerciale și/sau mărci înregistrate ale Hologic, Inc. și/sau ale sucursalelor sale în Statele Unite și/sau alte țări.

eppendorf (stilizat) și REPEATER sunt mărci comerciale ale Eppendorf AG.

RAININ este marcă comercială a Rainin Instruments, LLC.

TECAN și FREEDOM EVO sunt mărci comerciale ale Tecan Group AG.

SUREPATH și PREPSTAIN sunt mărci comerciale ale TriPath Imaging, Inc.

Orice alte mărci comerciale care apar în acest prospect din ambalaj aparțin proprietarilor respectivi.

© 2007-2017 Hologic, Inc. Toate drepturile rezervate.
AW-14517-3101 Rev. 003

2017-04