

Aptima HPV Assay

Za *in vitro* dijagnostiku.

Samo za izvoz u SAD.

Općenite informacije	2
Namjena	2
Sažetak i objašnjenje testa	2
Načela postupka	3
Upozorenja i mjere opreza	4
Zahtjevi za pohranu reagensa i njihovo rukovanje	6
Prikupljanje i pohrana uzoraka	7
Postupci kontrole kvalitete	21
Tumačenje testa	22
Ograničenja	23
Očekivani rezultati za sustav Tigris DTS: prevalencija mRNK visokorizičnog HPV-a	25
Dizajn kliničke studije ispitivanja Aptima HPV Assay s uzorcima tekućinske citologije ThinPrep	26
Radni učinak sustava Tigris DTS	28
Očekivani rezultati za sustav Panther: prevalencija mRNK visokorizičnog HPV-a	57
Dizajn kliničke studije ispitivanja Aptima HPV Assay s uzorcima tekućinske citologije ThinPrep	58
Radni učinak sustava Panther	60
Bibliografija	84

Sustav Tigris™ DTS

Sustav Tigris DTS	9
Isporučeni reagensi i materijali	9
Potrebni materijali koji su dostupni odvojeno	10
Opcionalni materijali	11
Postupak testa na sustavu Tigris DTS	11
Napomene o postupku	14

Sustav Panther™

Sustav Panther	15
Isporučeni reagensi i materijali	15
Potrebni materijali koji su dostupni odvojeno	16
Opcionalni materijali	16
Postupak testa na sustavu Panther	17
Napomene o postupku	19

Općenite informacije

Namjena

Ispitivanje Aptima HPV Assay je test na temelju amplifikacije ciljne sekvence probe nukleinske kiseline za *in vitro* kvalitativno otkrivanje glasničke RNK (mRNK) iz virusnih proteina E6/E7 iz 14 visokorizičnih vrsta humanog papiloma virusa (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Ispitivanje Aptima HPV Assay ne razlikuje 14 visokorizičnih vrsta.

- Ispitivanje Aptima HPV Assay indicirano je za uporabu u probiru pacijentica s rezultatima papa testa ASC-US (s atipičnim skvamoznim stanicama neodređenog značenja) za utvrđivanje potrebe za upućivanjem na kolposkopiju. Rezultati ovog testa nisu namijenjeni za sprječavanje žena da nastave s kolposkopijom.
- Ispitivanje Aptima HPV Assay može se upotrebljavati s citologijom vrata maternice u svrhu dodatnog probira (kotestiranje) za procjenu prisutnosti ili odsutnosti visokorizičnih vrsta HPV-a. Te se informacije, zajedno s liječnikovom procjenom prethodnih citoloških nalaza, ostalih čimbenika rizika i profesionalnih smjernica, mogu upotrebljavati za vođenje liječenja pacijentica.
- Ispitivanje Aptima HPV Assay može se upotrebljavati kao prva linija primarnog testa probira, u kombinaciji s citologijom vrata maternice ili bez nje, kako bi se otkrile žene s povećanim rizikom od razvoja raka vrata maternice ili prisutnost bolesti visokog stupnja. Te se informacije, zajedno s liječnikovom procjenom prethodnih probira pacijentice, ostalih čimbenika rizika i profesionalnih smjernica, mogu upotrebljavati za vođenje liječenja pacijentica.

Cervikalni uzorci prikupljeni u bočice za papa test ThinPrep™ koje sadržavaju otopinu PreservCyt™ Solution mogu se testirati ispitivanjem Aptima HPV Assay prije ili nakon obrade papa testa, kao i cervikalni uzorci prikupljeni kompletom Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit. Ispitivanje se može upotrebljavati za testiranje navedenih vrsta uzoraka na sustavu Tigris DTS ili sustavu Panther. Cervikalni uzorci prikupljeni u tekućinu SurePath Preservative Fluid mogu se testirati ispitivanjem Aptima HPV Assay na sustavu Tigris DTS i sustavu Panther.

Sažetak i objašnjenje testa

Rak vrata maternice jedan je od najčešćih oblika raka među ženama u svijetu. HPV je etiološki agens zaslužan za više od 99 % svih rakova vrata maternice.^{1,2,3} HPV je uobičajeni spolno prenosivi DNK virus kojeg čini više od 100 genotipova.⁴

Genom virusa HPV-a jest dvolančana kružna molekula DNK duljine od približno 7900 baznih parova. Spomenuti genom ima osam preklapajućih otvorenih okvira čitanja. Sastoji se od šest ranih (eng. early, E) i dva kasna (eng. late, L) gena te jedne duge netranslatirane kontrolne regije. Geni L1 i L2 kodiraju velike i male proteine kapsida. Rani geni reguliraju replikacijom virusa HPV. Geni E6 i E7 visokorizičnih genotipova HPV-a poznati su onkogeni. Proteini eksprimirani iz policistronske mRNK gena E6/E7 mijenjaju stanični p53 i funkcije proteina retinoblastoma, što dovodi do disrupcije kontrolnih točaka staničnog ciklusa i nestabilnosti staničnog genoma.^{5,6}

Četrnaest genotipova HPV-a smatraju se patogenim ili visokorizičnim za bolest vrata maternice.⁷ Više studija povezano je genotipove 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 i 68 s napredovanjem bolesti.^{2,5,8} Pacijentice s trajnom infekcijom jednom od navedenih vrsta imaju povećan rizik od razvijanja teške displazije ili karcinoma vrata maternice.^{7,9}

Infekcije HPV-om vrlo su uobičajene i većina žena infekcije HPV-om preboljet će u razdoblju od 6 do 12 mjeseci.^{8, 10} Prisutnost nukleinske kiseline HPV-a ne ukazuje na sigurnu prisutnost cervikalne displazije ili raka vrata maternice. Međutim, učinkovit pristup otkrivanju bolesti vrata maternice jest ciljanje onih onkogenih elemenata HPV-a koji potiču trajnu virusnu infekciju i staničnu transformaciju.³

Klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay u primarnom probiru za rak vrata maternice

Neovisni znanstvenici u više su studija istražili klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay kada se ono upotrebljava u modalitetu primarnog probira. Trinaest publikacija istorazinske procjene^{11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23} iz deset zasebnih kliničkih studija izvještava radni učinak ispitivanja Aptima HPV u primarnom probiru žena koje su u studije uključene u devet zemalja (Kina, Kanada, Francuska, Meksiko, Engleska, Danska, Nizozemska, Sjedinjene Američke Države i Njemačka). Podaci iz tih studija ukazuju na to da Aptima HPV ima klinički radni učinak sličan onima drugih klinički validiranih testova na HPV kada se upotrebljava za primarni probir za pretkancerozno stanje i rak vrata maternice.

Načela postupka

Ispitivanje Aptima HPV Assay obuhvaća tri glavna koraka koja se odvijaju u jednoj epruveti: hvatanje ciljne sekvence, amplifikacija ciljne sekvence s pomoću amplifikacije posredovane transkripcijom (eng. Transcription-Mediated Amplification, TMA)²⁴ i otkrivanje produkata amplifikacije (amplikon) s pomoću testa zaštite hibridizacije (eng. Hybridization Protection Assay, HPA).²⁵ Ispitivanje uključuje internu kontrolu (eng. Internal Control, IC) za praćenje hvatanja, amplifikacije i otkrivanja nukleinskih kiselina, kao i za pogreške korisnika ili instrumenta.

Uzorci se prikupljaju ili prenose u epruvetu koja sadržava transportni medij za uzorke (eng. specimen transport media, STM) koji lizira stanice, otpušta mRNK i štiti je od degradacije tijekom pohrane. Tijekom provedbe ispitivanja Aptima HPV Assay, ciljna mRNK izolira se od uzorka s pomoću oligomera za hvatanje koji su vezani za magnetske mikročestice. Oligomeri za hvatanje sadržavaju sekvence komplementarne specifičnim regijama ciljnih molekula mRNK HPV-a, kao i niz ostataka deoksiadenozina. Tijekom koraka hibridizacije, regije specifične za sekvencu oligomera za hvatanje vežu se na specifične regije ciljne molekule mRNK HPV-a. Kompleks oligomera za hvatanje i ciljne sekvence zatim se izdvaja iz otopine tako što se temperatura reakcije smanjuje na sobnu temperaturu. To smanjenje temperature omogućava hibridizaciju između regije deoksiadenozina na oligomeru za hvatanje i molekula polideoksitimidina koje su kovalentno vezane na magnetske čestice. Mikročestice, uključujući uhvaćene ciljne molekule mRNK HPV-a koje su na njih vezane, povlače se na stijenke reakcijske epruvete primjenom magneta i supernatant se aspirira. Čestice se ispiru kako bi se uklonila preostala matrica uzorka koja može sadržavati inhibitore amplifikacije.

Kada hvatanje ciljne sekvence završi, mRNK HPV-a se amplificira s pomoću TMA, metode amplifikacije nukleinske kiseline temeljene na transkripciji u kojoj se primjenjuju dva enzima, MMLV reverzna transkriptaza i T7 RNK polimeraza. Reverznom transkriptazom generira se kopija DNK ciljne sekvence mRNK koja sadržava promotorsku sekvencu za T7 RNK polimerazu. T7 RNK polimeraza proizvodi više kopija amplikona RNK iz DNK predloška za kopiranje.

Otkrivanje amplikona postiže se s pomoću HPA primjenom proba jednolančane nukleinske kiseline s kemiluminiscentnim oznakama komplementarnim amplikonu. Označene probe nukleinske kiseline hibridiziraju se specifično na amplikon. Seleksijski reagens razlikuje hibridizirane od nehibridiziranih proba deaktivacijom oznake na nehibridiziranim probama.

Tijekom koraka otkrivanja, svjetlo koje se emitira iz označenih hibrida RNK:DNK mjeri se luminometrom u obliku signala fotona koji se nazivaju relativne svjetlosne jedinice (eng. Relative Light Unit, RLU). Konačni rezultati ispitivanja tumače se na temelju omjera signala i granične vrijednosti (S/CO) analita.

IC se dodaje u svaku od reakcija putem reagensa za hvatanje ciljne sekvence. IC prati korake hvatanja, amplifikacije i otkrivanja ciljne sekvence ispitivanja. Signal za IC iz svake od reakcija razdvaja se od signala HPV-a diferencijalnom kinetikom emisije svjetlosti s proba s različitim oznakama.²⁶ Amplikon specifičan za IC otkriva se s pomoću probe s brzom emisijom svjetlosti (flasher). Amplikon specifičan za HPV otkriva se s pomoću probe s relativno sporijom kinetikom emisije svjetlosti (glower). Dvostruki kinetički test (DKA) metoda je koja se upotrebljava za razlikovanje signala od oznaka brze emisije svjetlosti (eng. flasher) i sporije emisije svjetlosti (eng. glower).²⁶

Upozorenja i mjere opreza

- A. Za *in vitro* dijagnostiku.
- B. Za profesionalnu uporabu.
- C. Dodatna specifična upozorenja i mjere opreza potražite u korisničkim priručnicima sustava Tigris DTS i sustava Panther.

U vezi s laboratorijem

- D. Upotrebljavajte samo isporučene ili određene jednokratne laboratorijske proizvode.
- E. Pridržavajte se rutinskih laboratorijskih mjera opreza. Nemojte jesti, piti ili pušiti u odgovarajućim radnim područjima. Prilikom rukovanja uzorcima i reagensima iz kompleta nosite jednokratne rukavice bez pudera, zaštitne naočale i laboratorijsku kutu. Nakon rukovanja uzorcima i reagensima iz kompleta temeljito operite ruke.
- F. **Upozorenje: nadražujuće i korozivno:** izbjegavajte kontakt komponente Auto Detect 2 s kožom, očima i sluznicama. Ako navedena tekućina dođe u kontakt s kožom ili očima, zahvaćeno područje isperite vodom. Ako se prolije, prolivenu tekućinu prije brisanja razrijedite vodom.
- G. Radne površine, pipete i drugu opremu potrebno je redovito dekontaminirati otopinom natrijeva hipoklorita od 2,5 % do 3,5 % (0,35 M do 0,5 M). Više informacija potražite u *Postupak testa na sustavu Tigris DTS* ili *Postupak testa na sustavu Panther DTS*.

U vezi s uzorkom



- H. Tijekom transporta i pohrane uzoraka održavajte odgovarajuće temperaturne uvjete kako biste osigurali cjelovitost uzorka. Stabilnost uzorka nije procijenjena u uvjetima transporta i pohrane osim onih preporučenih.
- I. Datumi isteka roka trajanja navedeni na kompletima za prikupljanje/prijenos uzoraka i epruветama odnose se na lokaciju prikupljanja/prijenosa, a ne na ustanovu za testiranje. Uzorci prikupljeni/preneseni u bilo kojem trenutku prije datuma isteka roka trajanja valjani su za testiranje pod uvjetom da su prevezeni i pohranjeni u skladu s odgovarajućim uputama za uporabu proizvoda, čak i ako su ti datumi roka trajanja istekli.

- J. Uzorci mogu biti infektivni. Prilikom izvođenja ispitivanja pridržavajte se univerzalnih mjera opreza. Metode propisnog rukovanja i odlaganja treba utvrditi voditelj laboratorija. Ovaj postupak smije izvoditi samo osoblje prikladno osposobljeno za rukovanje infektivnim materijalom.
- K. Izbjegavajte unakrsnu kontaminaciju prilikom izvođenja koraka rukovanja uzorcima. Pobrinite se da se spremnici uzoraka međusobno ne dodiruju, a iskorišteni materijal odložite pazeći da ga ne prenosite preko otvorenih spremnika. Zamijenite rukavice ako dođu u kontakt s uzorkom.
- L. Nakon probijanja, iz čepova epruveta pod određenim uvjetima može istjecati tekućina. Više informacija potražite u *Postupak testa na sustavu Tigris DTS* ili *Postupak testa na sustavu Panther DTS*.
- M. Uzorci tekućinske citologije ThinPrep i komplet Cervical Specimen Collection and Transport (CSCT) trebaju se odbaciti ako je proizvod za uzimanje uzoraka ostao u epruveti.
- N. Uzorci tekućinske citologije SurePath trebaju se odbaciti ako se proizvod za uzimanje uzoraka ne nalazi u bočici.

U vezi s ispitivanjem

- O. Reagense pohranjujte pri navedenim temperaturama. Nepravilno pohranjeni reagensi mogu utjecati na radni učinak ispitivanja.
- P. Izbjegavajte kontaminaciju reagensa mikroorganizmima i ribonukleazama.
- Q. Ne upotrebljavajte komplet nakon isteka njegova roka trajanja.
- R. Nemojte zamjenjivati, miješati ili kombinirati reagense ispitivanja ili kalibratore iz kompleta s drugim brojevima serije.
- S. Tekućine Aptima Assay Fluids, reagensi Aptima Auto Detect Reagents, konzervans Aptima System Fluid Preservative (samo sustav Tigris DTS) i kontrole Aptima HPV Assay Controls (samo sustav Tigris DTS) nisu dio osnovne serije; možete upotrebljavati bilo koju seriju.
- T. Za postizanje točnih rezultata ispitivanja potrebno je temeljito miješanje reagensa ispitivanja.
- U. Upotrebljavajte nastavke s hidrofobnim umecima.
- V. Neki reagensi u ovom kompletu označeni su simbolima koji označavaju rizike i sigurnosti.

Napomena: *Informiranje o opasnostima odražava klasifikaciju sigurnosno-tehničkih listova (eng. Safety Data Sheets, SDS) u EU. Informacije o opasnostima specifične za vašu regiju potražite u SDS-u specifičnom za vašu regiju u Biblioteci sigurnosno-tehničkih listova (eng. Safety Data Sheet Library) na www.hologiccsds.com.*

Informacije o opasnostima u EU	
	<p>Selekcijski reagens BORNA KISELINA 1 – 5 % <i>Natrijev hidroksid < 1 %</i> UPOZORENJE H315 – Uzrokuje nadraživanje kože H319 – Uzrokuje jako nadraživanje oka</p>
	<p>Reagens za hvatanje ciljne sekvence EDTA 1 – 5 % H411 – Otroavno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš P280 – Nositi zaštitu za oči / zaštitu za lice</p>

Zahtjevi za pohranu reagensa i njihovo rukovanje

Nemojte upotrebljavati reagense nakon isteka roka trajanja naznačenog na bočicama. Dodatne upute za pohranu potražite u nastavku.

A. Sljedeći se reagensi nakon primitka čuvaju na temperaturi od 2 °C do 8 °C (u hladnjaku):

HPV Amplification Reagent
 HPV Enzyme Reagent
 HPV Probe Reagent
 HPV Internal Control Reagent
 HPV Positive Calibrators i Negative Calibrators
 HPV Positive Controls i Negative Controls (samo sustav Tigris DTS)

B. Sljedeći se reagensi čuvaju na temperaturi od 15 °C do 30 °C (na sobnoj temperaturi):

HPV Amplification Reconstitution Solution
 HPV Enzyme Reconstitution Solution
 HPV Probe Reconstitution Solution
 HPV Target Capture Reagent
 HPV Selection Reagent
 Wash Solution
 Oil Reagent
 Buffer for Deactivation Fluid
 Auto Detect Reagent 1
 Auto Detect Reagent 2
 Aptima System Fluid Preservative (samo sustav Tigris DTS)

C. Nakon rekonstitucije, sljedeći su reagensi stabilni 30 dana kada se čuvaju na temperaturi od 2 °C do 8 °C:

HPV Amplification Reagent
 HPV Enzyme Reagent
 HPV Probe Reagent

- D. Radni reagens za hvatanje ciljne sekvence (eng. Working Target Capture Reagent, wTCR) stabilan je 30 dana kada se čuva na temperaturi od 15 °C do 30 °C. Nemojte čuvati u hladnjaku.
- E. Neiskorištene rekonstituirane reagensne i wTCR odložite u roku od 30 dana ili nakon isteka roka valjanosti osnovne serije, ovisno o tome što je prije.
- F. Reagensi ispitivanja Aptima HPV Assay stabilni su kumulativnih 48 sati kada se čuvaju na sustavu Tigris DTS.
- G. Reagensi ispitivanja Aptima HPV Assay stabilni su kumulativna 72 sata kada se čuvaju na sustavu Panther.
- H. Reagens probe i rekonstituirani reagens probe fotosenzitivni su. Reagensne pohranite na mjesto zaštićeno od svjetlosti.
- I. Reagensne nemojte zamrzavati.

Prikupljanje i pohrana uzoraka

A. Prikupljanje i obrada uzoraka

Uzorci tekućinske citologije ThinPrep

1. Cervikalne uzorke prikupite u bočice za papa test ThinPrep koji sadržavaju otopinu PreservCyt Solution, a služite se proizvodom za prikupljanje nalik metlici ili citološkom četkicom/špatulom sukladno uputama proizvođača.
2. Prije ili nakon obrade na sustavu ThinPrep 2000, sustavu ThinPrep 3000, sustavu za obradu ThinPrep 5000, sustavu za obradu ThinPrep 5000 s instrumentom za automatsko postavljanje ili sustavu za obradu ThinPrep Genesis, 1 mL uzorka tekućinske citologije ThinPrep prenesite u epruvetu za prijenos uzorka Aptima u skladu s uputama za uporabu kompleta Aptima Specimen Transfer Kit.

Uzorci tekućinske citologije SurePath

1. Uzorke tekućinske citologije SurePath prikupite u skladu s uputama za uporabu papa testa SurePath i/ili sustava PrepStain.
2. Uzorke tekućinske citologije SurePath prenesite u epruvetu za prijenos uzorka Aptima u skladu s uputama za uporabu kompleta Aptima Specimen Transfer Kit.

Uzorci kompleta Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit

Uzorak prikupite u skladu s uputama za uporabu kompleta Aptima CSCT Kit.

B. Transport i pohrana prije testiranja

Uzorci tekućinske citologije ThinPrep

1. Uzorke tekućinske citologije ThinPrep prevozite na temperaturi od 2 °C do 30 °C.
2. Uzorke treba prenijeti u epruvetu za prijenos uzorka Aptima u razdoblju od 105 dana od prikupljanja.
3. Prije prijenosa, uzorci tekućinske citologije ThinPrep trebaju se čuvati na temperaturi od 2 °C do 30 °C i najdulje 30 dana na temperaturi iznad 8 °C.
4. Uzorci tekućinske citologije ThinPrep koje ste prenijeli u epruvetu za prijenos uzorka Aptima mogu se čuvati na temperaturi od 2 °C do 30 °C najviše 60 dana.
5. Ako je potrebna dulja pohrana, uzorak tekućinske citologije ThinPrep ili uzorak tekućinske citologije ThinPrep razrijeđen u epruveti za prijenos uzorka može se čuvati na temperaturi od -20 °C ili nižoj najviše 24 mjeseca.

Uzorci tekućinske citologije SurePath

1. Uzorke tekućinske citologije SurePath prevozite na temperaturi od 2 °C do 25 °C.
2. Uzorke treba prenijeti u epruvetu za prijenos uzorka Aptima u razdoblju od 7 dana od prikupljanja.
3. Prije prijenosa, uzorci tekućinske citologije SurePath trebaju se čuvati na temperaturi od 2 °C do 25 °C.
4. Uzorci tekućinske citologije SurePath koje ste prenijeli u epruvetu za prijenos uzorka Aptima mogu se čuvati na temperaturi od 2 °C do 25 °C najviše 7 dana.

Uzorci kompleta Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit

1. Uzorke prevozite i čuvajte na temperaturi od 2 °C do 30 °C najviše 60 dana.
2. Ako je potrebna dulja pohrana, uzorci kompleta za transport mogu se čuvati na temperaturi od -20 °C ili nižoj najviše 24 mjeseca.

C. Obrada uzoraka tekućinske citologiju SurePath

Napomena: *Prije testiranja ispitivanjem Aptima HPV Assay, uzorke tekućinske citologije SurePath potrebno je obraditi otopinom Aptima Transfer Solution.*

1. Aptima Transfer Solution

Obradeni uzorci mogu se čuvati na temperaturi od 2 °C do 8 °C najviše 17 dana prije testiranja ispitivanjem Aptima HPV Assay. Dodatne pojedinosti potražite u uputama za uporabu kompleta Aptima Specimen Transfer Kit.

D. Pohrana uzoraka nakon testiranja

1. Ispitane uzorke pohranjujte na nosaču u uspravnom položaju.
2. Epruvete s uzorkom trebaju se zatvoriti novom i čistom plastičnom barijerom ili folijom.
3. Ako ispitane uzorke treba zamrznuti ili transportirati, uklonite probojni čep i na epruvete s uzorcima stavite nove, neprobojne čepove. Ako se uzorci trebaju transportirati na testiranje u drugu ustanovu, potrebno je održavati određene temperature. Prije otvaranja prethodno testiranih uzoraka kojima je ponovno stavljen čep, epruvete s uzorcima potrebno je centrifugirati 5 minuta pri 420 relativne centrifugalne sile (eng. Relative Centrifugal Force, RCF) kako bi se sva tekućina spustila na dno epruvete.

Napomena: *Uzorci se trebaju transportirati u skladu s primjenjivim nacionalnim i međunarodnim propisima o transportu.*

Sustav Tigris DTS

Reagensi za ispitivanje Aptima HPV Assay na sustavu Tigris DTS navedeni su u nastavku. Pored naziva reagensa navedeni su i identifikacijski simboli reagensa.

Isporučeni reagensi i materijali

Komplet ispitivanja Aptima HPV Assay, 250 testova, kat. br. 302611 (4 kutije)

Kalibratori i kontrole mogu se kupiti zasebno. Kataloške brojeve pojedinih kutija pogledajte potražite u nastavku.

Kutija ispitivanja Aptima HPV koja se čuva u hladnjaku
(nakon primitka čuvajte na 2 °C do 8 °C)

Simbol	Komponenta	Količina
A	HPV Amplification Reagent <i>Neinfektivne nukleinske kiseline osušene u puferiranoj otopini koja sadržava < 5 % sredstva za povećanje volumena.</i>	1 bočica
E	HPV Enzyme Reagent <i>Reverzna transkriptaza i RNK polimeraza osušene u puferiranoj otopini HEPES koja sadržava < 10 % reagensa za povećanje volumena.</i>	1 bočica
P	HPV Probe Reagent <i>Neinfektivne kemiluminiscentne DNK probe (< 500 ng/bočica) osušene u puferiranoj otopini sukcinata koja sadržava < 5 % deterdženta.</i>	1 bočica
IC	HPV Internal Control Reagent <i>Neinfektivni transkript RNK u puferiranoj otopini koja sadržava < 5 % sredstva deterdženta.</i>	1 bočica

Kutija ispitivanja Aptima HPV koja se čuva na sobnoj temperaturi
(nakon primitka čuvajte na 15°C do 30°C)

Simbol	Komponenta	Količina
AR	HPV Amplification Reconstitution Solution <i>Vodena otopina koja sadržava konzervanse.</i>	1 bočica
ER	HPV Enzyme Reconstitution Solution <i>Puferirana otopina HEPES koja sadržava površinski aktivnu tvar i glicerol.</i>	1 bočica
PR	HPV Probe Reconstitution Solution <i>Puferirana otopina sukcinata koja sadržava < 5 % deterdženta.</i>	1 bočica
S	HPV Selection Reagent <i>600 mM boratom puferirane otopine koja sadržava površinski aktivnu tvar.</i>	1 bočica
TCR	HPV Target Capture Reagent <i>Neinfektivna nukleinska kiselina u puferiranoj otopini koja sadržava krutu fazu (< 0,5 mg/mL).</i>	1 bočica
	Prstenovi za rekonstituciju	3
	List crtičnih kodova osnovne serije	1 list

Kutija kalibratora Aptima HPV Calibrators (kat. br. 302554)
(nakon primitka čuvajte na 2 °C do 8 °C)

Simbol	Komponenta	Količina
PCAL	Kalibrator HPV Positive Calibrator <i>Neinfektivni in vitro transkript HPV 16 u 1000 kopija po mL u puferiranoj otopini koja sadržava < 5 % deterdženta.</i>	5 bočica
NCAL	Kalibrator HPV Negative Calibrator <i>Puferirana otopina koja sadržava < 5 % deterdženta.</i>	5 bočica

Kutija kontrola Aptima HPV Controls (kat. br. 302556)
(nakon primitka čuvajte na 2 °C do 8 °C)

Simbol	Komponenta	Količina
PC	HPV Positive Control <i>Lizirane, deaktivirane uzgojene stanice negativne na HPV i pozitivne na HPV s 25 stanica po mL u puferiranoj otopini koja sadržava < 5 % deterdženta.</i>	5 bočica
NC	HPV Negative Control <i>Lizirane, deaktivirane uzgojene stanice negativne na HPV u puferiranoj otopini koja sadržava < 5 % deterdženta.</i>	5 bočica

Potrebni materijali koji su dostupni odvojeno

Napomena: Materijali dostupni kod tvrtke Hologic imaju navedene kataloške brojeve, osim ako je drugačije naznačeno.

	<u>Kat. br.</u>
Sustav Tigris DTS	105118
Aptima Assay Fluids Kit	302382
<i>(Aptima Wash Solution, Aptima Buffer for Deactivation Fluid i Aptima Oil Reagent)</i>	
Aptima Auto Detect Kit	301048
Aptima System Fluid Preservative Kit	302380
Nastavci, provodni, volumena 1000 µL, s mogućnosti mjerenja razine tekućine	10612513 (Tecan)
Tigris DTS System Run Kit	301191
<i>Jedinice za više epruveta (eng. Multi-tube Units, MTU)</i>	<i>104772-02</i>
<i>Vreća za odlaganje vršaka MTU-a</i>	<i>900907</i>
<i>Deflektori otpada MTU-a</i>	<i>900931</i>
<i>Poklopci za otpad MTU-a</i>	<i>105523</i>

Aptima Specimen Transfer Kit	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit — moguće ispisati	PRD-05110
Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit	302657
Probojni čepovi Aptima	105668
Zamjenski neprobojni čepovi	103036A
Rezervni čepovi za otopine za rekonstituciju reagensa za amplifikaciju i reagensa probe	CL0041
Rezervni čepovi za otopinu za rekonstituciju enzimskog reagensa	501616
Rezervni čepovi za TCR i selekcijski reagens	CL0040
Izbjeljivač, otopina natrijeva hipoklorita od barem 5 % ili 0,7 M	—
Voda za sustav Tigris DTS	—
<i>specifikacije potražite u korisničkom priručniku sustava Tigris DTS</i>	
Jednokratne rukavice	—
Aptima Transfer Solution Kit (samo za uzorke SurePath)	303658

Opcionalni materijali

	<u>Kat. br.</u>
Pojačivač izbjeljivača za čišćenje	302101

Postupak testa na sustavu Tigris DTS

Napomena: *Dodatne informacije o postupku na sustavu Tigris DTS potražite u korisničkom priručniku sustava Tigris DTS.*

A. Priprema radnog prostora

Očistite radne površine na kojima će se pripremati reagensi i uzorci. Prebrišite radne površine otopinom natrijeva hipoklorita od 2,5 % do 3,5 % (0,35 M do 0,5 M). Ostavite otopinu natrijevog hipoklorita na površinama najmanje 1 minutu, a zatim je isperite vodom. Nemojte ostaviti otopinu natrijeva hipoklorita da se osuši. Površinu radnog stola na kojoj će se pripremati reagensi i uzorci prekriti čistim apsorpcijskim pokrovima s plastičnom poledinom za radne površine u laboratoriju.

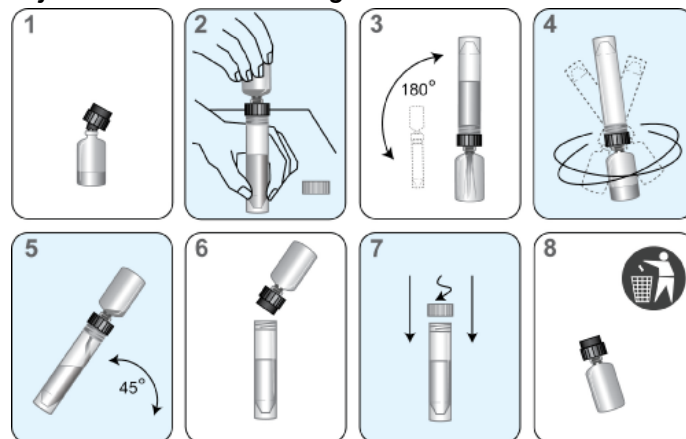
B. Priprema reagensa novog kompleta

Napomena: *Rekonstituciju reagensa potrebno je provesti prije početka rada na sustavu Tigris DTS.*

1. Za rekonstituciju reagensa za amplifikaciju, enzimskog reagensa i reagensa probe kombinirajte boce liofiliziranog reagensa i otopine za rekonstituciju. Ako su rashlađene, prije upotrebe pričekajte da otopine za rekonstituciju dosegnu sobnu temperaturu.
 - a. Svaku otopinu za rekonstituciju uparite s njenim liofiliziranim reagensom. Prije pričvršćivanja prstena za rekonstituciju provjerite podudaraju li se boje oznaka na otopini za rekonstituciju i liofiliziranom reagensu.
 - b. Provjerite brojeve serija na listu crtičnih kodova osnovne serije kako biste se uvjerali da ste uparili odgovarajuće reagense.
 - c. Otvorite bočicu liofiliziranog reagensa i kraj prstena za rekonstituciju s urezima čvrsto umetnite u otvor bočice (Slika 1, korak 1).
 - d. Otvorite odgovarajuću otopinu za rekonstituciju i čep stavite na čistu, prekrivenu radnu površinu.

- e. Dok bocu s otopinom držite na radnom stolu, drugi kraj prstena za rekonstituciju čvrsto umetnite u otvor boce (Slika 1, korak 2).
- f. Polako preokrenite sastavljene boce. Ostavite otopinu da se iscijedi iz boce u staklenu bočicu (Slika 1, korak 3).
- g. Otopinu u boci nježno protresite kružnim pokretima kako biste je temeljito promiješali. Izbjegavajte stvaranje pjene dok bocu tresete kružnim pokretima (Slika 1, korak 4).
- h. Pričekajte da liofilizirani reagens uđe u otopinu, a zatim ponovno preokrenite sastavljene boce uz nagib pod kutom od 45° kako biste smanjili stvaranje pjene (Slika 1, korak 5). Pričekajte da se sva tekućina iscijedi natrag u plastičnu bocu.
- i. Uklonite prsten za rekonstituciju i staklenu bočicu (Slika 1, korak 6).
- j. Vratite čep na plastičnu bocu. Zabilježite inicijale korisnika i datum rekonstitucije na sve bočice rekonstituiranih reagensa (Slika 1, korak 7).
- k. Odložite prsten za rekonstituciju i staklenu bočicu u otpad (Slika 1, korak 8).

Upozorenje: Izbjegavajte stvaranje pjene prilikom rekonstitucije reagensa. Pjena ugrožava mjerenje razine u sustavu Tigris DTS.



Slika 1. Postupak rekonstitucije na sustavu Tigris DTS

2. Pripremite radni reagens za hvatanje ciljne sekvence (wTCR):
 - a. Uparite odgovarajuće boce TCR-a i IC-a.
 - b. Provjerite brojeve serija reagensa na listu crtičnih kodova osnovne serije kako biste se uvjerali da ste uparili odgovarajuće reagense u kompletu.
 - c. Otvorite bocu TCR-a i čep stavite na čistu, prekrivenu radnu površinu.
 - d. Otvorite bocu IC-a i cijeli njen sadržaj ulijte u bocu TCR-a. Očekujte da će vam u boci IC-a ostati mala količina tekućine.
 - e. Začepite bocu TCR-a i otopinu nježno protresite kružnim pokretima kako biste promiješali sadržaj. Izbjegavajte stvaranje pjene tijekom ovog koraka.
 - f. Na oznaku zabilježite inicijale korisnika i aktualni datum.
 - g. Bocu IC-a i čep odložite u otpad.
 - h. U wTCR-u se može formirati talog koji može dati nevažne rezultate zbog pogrešaka potvrde volumena. Talog se može otopiti zagrijavanjem wTCR-a na temperaturu od 42 °C do 60 °C u trajanju od 90 minuta. Prije uporabe wTCR ostavite da dosegne sobnu temperaturu. Nemojte upotrebljavati ako je talog i dalje prisutan.

3. Pripremite selekcijski reagens
 - a. Provjerite broj serije reagensa na listu crtičnih kodova osnovne serije kako biste se uvjerali da pripada kompletu.
 - b. Ako selekcijski reagens sadržava talog, zagrijte ga do $60\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ na 45 minuta kako biste olakšali otapanje taloga. Bocu nježno promiješajte svakih 5 do 10 minuta. Prije uporabe selekcijski reagens ostavite da dosegne sobnu temperaturu. Nemojte upotrebljavati ako su talog ili zamućenje i dalje prisutni.

Napomena: Prije postavljanja na sustav sve reagense temeljito promiješajte nježnim preokretanjem. Izbjegavajte stvaranje pjene tijekom preokretanja reagensa.

C. Priprema reagensa za prethodno rekonstituirane reagense

1. Prije početka ispitivanja prethodno rekonstituirani reagens za amplifikaciju, enzimski reagens i reagens probe trebaju dosegnuti sobnu temperaturu (15 °C do 30 °C).
2. Ako rekonstituirani reagens probe sadržava talog koji se ne otapa na sobnoj temperaturi, zagrijte ga na temperaturu koja ne premašuje 60 °C u trajanju od 1 do 2 minute. Nemojte upotrebljavati ako je prisutan talog ili zamućenje.
3. Ako wTCR sadržava talog, zagrijte ga na temperaturu od 42 °C do 60 °C u trajanju od 90 minuta. Prije uporabe wTCR ostavite da dosegne sobnu temperaturu. Nemojte upotrebljavati ako je talog i dalje prisutan.
4. Ako selekcijski reagens sadržava talog, zagrijte ga do $60\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ na 45 minuta kako biste olakšali otapanje taloga. Bocu nježno promiješajte svakih 5 do 10 minuta. Prije uporabe selekcijski reagens ostavite da dosegne sobnu temperaturu. Nemojte upotrebljavati ako su talog ili zamućenje i dalje prisutni.
5. Prije postavljanja na sustav svaki reagens temeljito promiješajte nježnim preokretanjem. Izbjegavajte stvaranje pjene tijekom preokretanja reagensa.
6. Bočice s reagensom nemojte puniti do vrha. Sustav Tigris DTS prepoznat će i odbiti boce koje su napunjene do vrha.

D. Rukovanje uzorcima

1. Prije obrade, uzorke (kalibratore, kontrole i uzorke) ostavite da dosegnu sobnu temperaturu.
2. **Uzorke ne miješajte vorteks miješalicom.**
3. Prije testiranja ispitivanjem Aptima HPV Assay, uzorke tekućinske citologije SurePath potrebno je obraditi proteinazom K u skladu s uputama pod *Prikupljanje i pohrana uzoraka* u odjeljku C.
4. Epruvete s uzorcima pregledajte prije nego što ih postavite nosač. Ako epruveta s uzorkom sadržava mjehuriće ili ima volumen niži od onog koji se obično bilježi, epruvetu centrifugirajte 5 minuta pri 420 RCF kako biste se pobrinuli da se tekućina nije zadržala u čepu.

Napomena: Nepridržavanje koraka 4 može dovesti do istjecanja tekućine iz čepa epruvete s uzorkom.

E. Priprema sustava

Instrument i radni popis postavite u skladu s uputama u *korisničkom priručniku sustava Tigris DTS* i odjeljku *Napomene o postupku* u nastavku.

Napomene o postupku

A. Kalibratori

1. Svaki radni popis treba sadržavati 3 replikata negativnog kalibratora i pozitivnog kalibratora. Kako bi ispravno radio sa softverom ispitivanja Aptima HPV Assay, negativni kalibrator mora biti u položaju prve epruvete prvog nosača radnog popisa, a pozitivni kalibrator mora biti u položaju druge epruvete prvog nosača radnog popisa.
2. Pokušaji pipetiranja više od tri replikata iz epruvete s kalibratorom mogu dovesti do pogrešaka uslijed nedostatnog volumena.

B. Kontrole

1. Softver za ispitivanje Aptima HPV Assay zahtijeva početak i kraj kontrola postupka. Negativna kontrola mora biti u položaju treće epruvete prvog nosača i položaju predzadnje epruvete posljednjeg nosača radnog popisa. Pozitivna kontrola mora biti u položaju četvrte epruvete prvog nosača i položaju zadnje epruvete posljednjeg nosača radnog popisa.
2. Pokušaji pipetiranja više od jednog puta iz epruvete s kontrolom mogu dovesti do pogrešaka uslijed nedostatnog volumena.

C. Temperatura

Sobna temperatura definirana je kao temperatura od 15 °C do 30 °C.

D. Puder iz rukavica

Kao i kod svakog drugog sustava reagensa, višak pudera na nekim rukavicama može uzrokovati kontaminaciju otvorenih epruveta. Preporučuje se uporaba rukavica bez pudera.

Sustav Panther

Reagensi za ispitivanje Aptima HPV Assay na sustavu Panther navedeni su u nastavku. Pored naziva reagensa navedeni su i identifikacijski simboli reagensa.

Isporučeni reagensi i materijali

Ispitivanje Aptima HPV Assay, 250 testova, kat. br. 303093 (3 kutije)

Ispitivanje Aptima HPV Assay, 100 testova, kat. br. 302929 (3 kutije)

Kalibratori se mogu kupiti zasebno. Pojedinačne kataloške brojeve potražite u nastavku.

Kutija ispitivanja Aptima HPV koja se čuva u hladnjaku (nakon primitka čuvajte na 2 °C do 8 °C)

Simbol	Komponenta	Količina
A	HPV Amplification Reagent <i>Neinfektivne nukleinske kiseline osušene u puferiranoj otopini koja sadržava < 5 % sredstva za povećanje volumena.</i>	1 bočica
E	HPV Enzyme Reagent <i>Reverzna transkriptaza i RNK polimeraza osušene u puferiranoj otopini HEPES koja sadržava < 10 % reagensa za povećanje volumena.</i>	1 bočica
P	HPV Probe Reagent <i>Neinfektivne kemiluminiscentne DNK probe (< 500 ng/bočica) osušene u puferiranoj otopini sukcinata koja sadržava < 5 % deterdženta.</i>	1 bočica
IC	HPV Internal Control Reagent <i>Neinfektivni transkript RNK u puferiranoj otopini koja sadržava < 5 % sredstva deterdženta.</i>	1 bočica

Kutija ispitivanja Aptima HPV koja se čuva na sobnoj temperaturi (pohranite na sobnoj temperaturi, na 15 °C do 30 °C nakon primitka)

Simbol	Komponenta	Količina
AR	HPV Amplification Reconstitution Solution <i>Vodena otopina koja sadržava konzervanse.</i>	1
ER	HPV Enzyme Reconstitution Solution <i>Puferirana otopina HEPES koja sadržava površinski aktivnu tvar i glicerol.</i>	1
PR	HPV Probe Reconstitution Solution <i>Puferirana otopina sukcinata koja sadržava < 5 % deterdženta.</i>	1
S	HPV Selection Reagent <i>600 mM boratom puferirane otopine koja sadržava površinski aktivnu tvar.</i>	1
TCR	HPV Target Capture Reagent <i>Neinfektivna nukleinska kiselina u puferiranoj otopini koja sadržava krutu fazu (< 0,5 mg/mL).</i>	1
	Prstenovi za rekonstituciju	3
	List crtičnih kodova osnovne serije	1 list

Kutija kalibratora Aptima HPV Calibrators (kat. br. 302554)
(nakon primitka čuvajte na 2 °C do 8 °C)

Simbol	Komponenta	Količina
PCAL	Kalibrator HPV Positive Calibrator <i>Neinfektivni in vitro transkript HPV 16 u 1000 kopija po mL u puferiranoj otopini koja sadržava < 5 % deterdženta.</i>	5 bočica
NCAL	Kalibrator HPV Negative Calibrator <i>Puferirana otopina koja sadržava < 5 % deterdženta.</i>	5 bočica

Potrebni materijali koji su dostupni odvojeno

Napomena: Materijali dostupni kod tvrtke Hologic imaju navedene kataloške brojeve, osim ako je drugačije naznačeno.

	<u>Kat. br.</u>
Sustav Panther	303095
Panther Run Kit	303096
<i>Aptima Assay Fluids Kit</i>	303014
<i>(Aptima Wash Solution, Aptima Buffer for Deactivation Fluid, i Aptima Oil Reagent)</i>	
<i>Aptima Auto Detect Kit</i>	303013
<i>Jedinice za više epruveta (eng. Multi-tube Units, MTUs)</i>	104772-02
<i>Komplet vreća za odlaganje Panther</i>	902731
<i>Poklopac koša za otpad Panther</i>	504405
Nastavci, provodni, volumena 1000 µL, s mogućnosti mjerenja razine tekućine	10612513 (Tecan)
Aptima Specimen Transfer Kit	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit — moguće ispisati	PRD-05110
Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit	302657
Probojni čepovi Aptima	105668
Zamjenski neprobojni čepovi	103036A
Rezervni čepovi za 250 kompleta testova:	
<i>Otopine za rekonstituciju reagensa za amplifikaciju i reagensa probe</i>	CL0041
<i>Otopina za rekonstituciju enzimskog reagensa</i>	501616
<i>TCR i selekcijski reagens</i>	CL0040
Rezervni čepovi za 100 kompleta testova:	
<i>Otopine za rekonstituciju reagensa za amplifikaciju i reagensa probe</i>	CL0041
<i>Otopina za rekonstituciju enzimskog reagensa</i>	CL0041
<i>TCR i selekcijski reagens</i>	501604
Izbjeljivač, otopina natrijeva hipoklorita od barem 5 % ili 0,7 M	—
Jednokratne rukavice	—
Aptima Transfer Solution Kit (samo za uzorke SurePath)	303658

Opcionalni materijali

	<u>Kat. br.</u>
Pojačivač izbjeljivača za čišćenje	302101

Postupak testa na sustavu Panther

Napomena: *Dodatne informacije o postupku na sustavu Panther potražite u korisničkom priručniku sustava Panther.*

A. Priprema radnog prostora

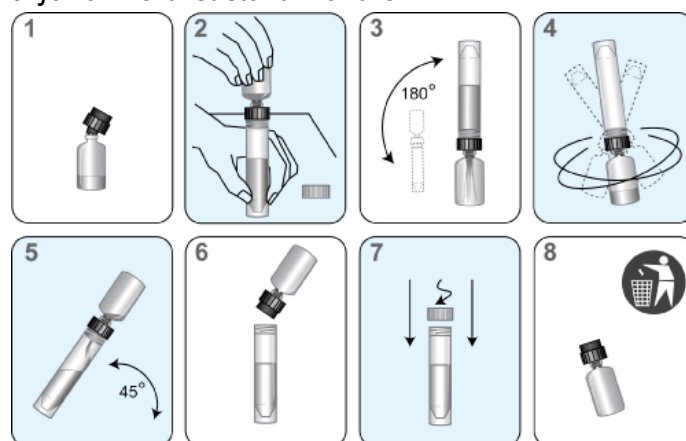
Očistite radne površine na kojima će se pripremati reagensi i uzorci. Prebrišite radne površine otopinom natrijeva hipoklorita od 2,5 % do 3,5 % (0,35 M do 0,5 M). Ostavite otopinu natrijevog hipoklorita na površinama najmanje 1 minutu, a zatim je isperite vodom. Nemojte ostaviti otopinu natrijeva hipoklorita da se osuši. Površinu radnog stola na kojoj će se pripremati reagensi i uzorci prekrijte čistim apsorpcijskim pokrovima s plastičnom poledinom za radne površine u laboratoriju.

B. Priprema reagensa novog kompleta

Napomena: *Rekonstituciju reagensa potrebno je provesti prije početka rada na sustavu Panther.*

1. Za rekonstituciju reagensa za amplifikaciju, enzimskog reagensa i reagensa probe kombinirajte boce liofiliziranog reagensa i otopine za rekonstituciju. Ako su rashlađene, prije upotrebe pričekajte da otopine za rekonstituciju dosegnu sobnu temperaturu.
 - a. Svaku otopinu za rekonstituciju uparite s njenim liofiliziranim reagensom. Prije pričvršćivanja prstena za rekonstituciju provjerite podudaraju li se boje oznaka na otopini za rekonstituciju i reagensu.
 - b. Provjerite brojeve serija na listu crtičnih kodova osnovne serije kako biste se uvjerali da ste uparili odgovarajuće reagense.
 - c. Otvorite bočicu liofiliziranog reagensa i kraj prstena za rekonstituciju s urezima čvrsto umetnite u otvor bočice (Slika 2, korak 1).
 - d. Otvorite odgovarajuću otopinu za rekonstituciju i čep stavite na čistu, prekrivenu radnu površinu.
 - e. Dok bocu s otopinom držite na radnom stolu, drugi kraj prstena za rekonstituciju čvrsto umetnite u bocu (Slika 2, korak 2).
 - f. Polako preokrenite sastavljene boce. Ostavite otopinu da se iscijedi iz boce u staklenu bočicu (Slika 2, korak 3).
 - g. Otopinu u boci nježno protresite kružnim pokretima kako biste je temeljito promiješali. Izbjegavajte stvaranje pjene dok bocu tresete kružnim pokretima (Slika 2, korak 4).
 - h. Pričekajte da liofilizirani reagens uđe u otopinu, a zatim ponovno preokrenite sastavljene boce uz nagib pod kutom od 45° kako biste smanjili stvaranje pjene (Slika 2, korak 5). Pričekajte da se sva tekućina iscijedi natrag u plastičnu bocu.
 - i. Uklonite prsten za rekonstituciju i staklenu bočicu (Slika 2, korak 6).
 - j. Vratite čep na plastičnu bocu. Zabilježite inicijale korisnika i datum rekonstitucije na sve bočice rekonstituiranih reagensa (Slika 2, korak 7).
 - k. Odložite prsten za rekonstituciju i bočicu u otpad (Slika 2, korak 8).

Upozorenje: Izbjegavajte stvaranje pjene prilikom rekonstitucije reagensa. Pjena ugrožava mjerenje razine u sustavu Panther.



Slika 2. Postupak rekonstitucije na sustavu Panther

2. Pripremite radni reagens za hvatanje ciljne sekvence (wTCR):
 - a. Uparite odgovarajuće boce TCR-a i IC-a.
 - b. Provjerite brojeve serija reagensa na listu crtičnih kodova osnovne serije kako biste se uvjerali da ste uparili odgovarajuće reagense u kompletu.
 - c. Otvorite bocu TCR-a i čep stavite na čistu, prekrivenu radnu površinu.
 - d. Otvorite bocu IC-a i cijeli njen sadržaj ulijte u bocu TCR-a. Očekujte da će vam u boci IC-a ostati mala količina tekućine.
 - e. Začepite bocu TCR-a i otopinu nježno protresite kružnim pokretima kako biste promiješali sadržaj. Izbjegavajte stvaranje pjene tijekom ovog koraka.
 - f. Na oznaku zabilježite inicijale korisnika i aktualni datum.
 - g. Bocu IC-a i čep odložite u otpad.
 - h. U wTCR-u se može formirati talog koji može dati nevažne rezultate zbog pogrešaka potvrde volumena. Talog se može otopiti zagrijavanjem wTCR-a na temperaturu od 42 °C do 60 °C u trajanju od 90 minuta. Prije uporabe wTCR ostavite da dosegne sobnu temperaturu. Nemojte upotrebljavati ako je talog i dalje prisutan.
3. Pripremite selekcijski reagens
 - a. Provjerite broj serije reagensa na listu crtičnih kodova osnovne serije kako biste se uvjerali da pripada kompletu.
 - b. Ako selekcijski reagens sadržava talog, zagrijte ga do 60 °C ± 1 °C na 45 minuta kako biste olakšali otapanje taloga. Bocu nježno promiješajte svakih 5 do 10 minuta. Prije uporabe selekcijski reagens ostavite da dosegne sobnu temperaturu. Nemojte upotrebljavati ako su talog ili zamućenje i dalje prisutni.

Napomena: Prije postavljanja na sustav sve reagense temeljito promiješajte nježnim preokretanjem. Izbjegavajte stvaranje pjene tijekom preokretanja reagensa.

C. Priprema reagensa za prethodno rekonstituirane reagens

1. Prije početka ispitivanja prethodno rekonstituirani reagens za amplifikaciju, enzimski reagens i reagens probe trebaju dosegnuti sobnu temperaturu (15 °C do 30 °C).
2. Ako rekonstituirani reagens probe sadržava talog koji se ne otapa na sobnoj temperaturi, zagrijte ga na temperaturu koja ne premašuje 60 °C u trajanju od 1 do 2 minute. Nemojte upotrebljavati ako je prisutan talog ili zamućenje.
3. Ako wTCR sadržava talog, zagrijte ga na temperaturu od 42 °C do 60 °C u trajanju od 90 minuta. Prije uporabe wTCR ostavite da dosegne sobnu temperaturu. Nemojte upotrebljavati ako je talog i dalje prisutan.
4. Ako selekcijski reagens sadržava talog, zagrijte ga do 60 °C ± 1 °C na 45 minuta kako biste olakšali otapanje taloga. Bocu nježno promiješajte svakih 5 do 10 minuta. Prije uporabe selekcijski reagens ostavite da dosegne sobnu temperaturu. Nemojte upotrebljavati ako su talog ili zamućenje i dalje prisutni.
5. Prije postavljanja na sustav svaki reagens temeljito promiješajte nježnim preokretanjem. Izbjegavajte stvaranje pjene tijekom preokretanja reagensa.
6. Bočice s reagensom nemojte puniti do vrha. Sustav Panther prepoznat će i odbiti boce koje su napunjene do vrha.

D. Rukovanje uzorcima

1. Prije obrade, uzorke (kalibratore i uzorke) ostavite da dosegnu sobnu temperaturu.
2. **Uzorke ne miješajte vorteks miješalicom.**
3. Epruvete s uzorcima pregledajte prije nego što ih postavite nosač. Ako epruveta s uzorkom sadržava mjehuriće ili ima volumen niži od onog koji se obično bilježi, epruvetu centrifugirajte 5 minuta pri 420 RCF kako biste se pobrinuli da se tekućina nije zadržala u čepu.

Napomena: *Nepriдрžavanje koraka 3 može dovesti do istjecanja tekućine iz čepa epruvete s uzorkom.*

E. Priprema sustava

1. Sustav postavite u skladu s uputama u *korisničkom priručniku sustava Panther* i odjeljku *Napomene o postupku* u nastavku. Pobrinite se da se upotrebljavaju nosači reagensa i adapteri za TCR odgovarajuće veličine.
2. Postavite uzorke.

Napomene o postupku

A. Kalibratori

1. Za pravilan rad sa softverom ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Panther potrebna su tri replikata pozitivnog kalibratora i tri replikata negativnog kalibratora. Po jedna bočica svakog kalibratora može se postaviti u bilo koji položaj na nosaču na bilo kojoj traci odjeljka za uzorke na sustavu Panther. Pipetiranje uzoraka započeto će kada je zadovoljen jedan od sljedećih dvaju uvjeta:
 - a. Sustav trenutno obrađuje pozitivni i negativni kalibrator.
 - b. U sustav su registrirani važeći rezultati za kalibratore.

2. Kada se epruvete s kalibratorom pipetiraju i obrade za određeni komplet reagensa, uzorci se mogu obraditi s pomoću pridruženog kompleta reagensa ispitivanja do 24 sata, osim u sljedećim slučajevima:
 - a. Kalibrator nije važeći.
 - b. Pridruženi komplet reagensa ispitivanja uklanja se iz sustava.
 - c. Pridruženi komplet reagensa ispitivanja premašio je granice stabilnosti.
 3. Pokušaji pipetiranja više od tri replikata iz epruvete s kalibratorom mogu dovesti do pogrešaka pri obradi.
- B. Temperatura
Sobna temperatura definirana je kao temperatura od 15 °C do 30 °C.
- C. Puder iz rukavica
Kao i kod svakog drugog sustava reagensa, višak pudera na nekim rukavicama može uzrokovati kontaminaciju otvorenih epruveta. Preporučuje se uporaba rukavica bez pudera.

Postupci kontrole kvalitete

A. Kriteriji valjanosti obrade

Softver automatski određuje valjanost obrade. Softver će poništiti obradu ako se dogodi bilo koji od sljedećih uvjeta:

- Više od jednog nevažećeg replikata negativnog kalibratora.
- Više od jednog nevažećeg replikata pozitivnog kalibratora.
- Nevažeća negativna kontrola (samo sustav Tigris DTS).
- Nevažeća pozitivna kontrola (samo sustav Tigris DTS).

Obradu može poništiti korisnik ako tijekom provođenja ispitivanja uoči i zabilježi tehničke poteškoće, poteškoće pri rukovanju ili poteškoće vezane uz instrument.

Nevažeća obrada mora se ponoviti. Prekinute obrade moraju se ponoviti.

B. Kriteriji prihvatljivosti kalibratora

U tablici u nastavku definirani su kriteriji RLU-ova za replikate negativnih i pozitivnih kalibratora.

Negativni kalibrator	
Analit	≥ 0 i ≤ 45.000 RLU-ova
IC	≥ 75.000 i ≤ 400.000 RLU-ova
Pozitivni kalibrator	
Analit	≥ 480.000 i $\leq 1.850.000$ RLU-ova
IC	≤ 450.000 RLU-ova

C. Izračun granične vrijednosti za IC

Granična vrijednost za IC utvrđuje se na temelju signala IC-a (brza emisija svjetlosti, eng. flasher) iz važećih replikata negativnog kalibratora.

$$\text{Granična vrijednost za IC} = 0,5 \times [\text{srednja vrijednost RLU-ova IC-a važećih replikata negativnog kalibratora}]$$

D. Izračun granične vrijednosti analita

Granična vrijednost analita utvrđuje se na temelju signala analita (sporija emisija svjetlosti, eng. glower) iz važećih replikata negativnog kalibratora, kao i signala analita iz važećih replikata pozitivnog kalibratora.

$$\text{Granična vrijednost analita} = [\text{srednja vrijednost RLU-ova analita važećih replikata negativnog kalibratora}] + [0,09 \times \text{srednja vrijednost RLU-ova analita važećih replikata pozitivnog kalibratora}]$$

E. Izračun omjera signala i granične vrijednosti (S/CO) analita

S/CO analita utvrđuje se na temelju RLU-ova analita testnog uzorka i granične vrijednosti analita za obradu.

$$\text{S/CO analita} = \frac{\text{RLU analita testnog uzorka}}{\text{granična vrijednost analita}}$$

F. Kriteriji prihvatljivosti kontrole (samo sustav Tigris DTS)

Negativna kontrola mora imati važeći negativan rezultat (RLU IC-a \geq granična vrijednost IC-a i S/CO analita $< 0,50$). Pozitivna kontrola mora imati važeći pozitivan rezultat (S/CO analita $\geq 0,50$).

Tumačenje testa

Softver ispitivanja automatski određuje rezultate testa ispitivanja. Rezultat testa može biti negativan, pozitivan ili nevažeci, što se utvrđuje RLU-om IC-a i S/CO-om analita. Rezultat testa može biti nevažeci i zbog drugih parametara (abnormalan oblik kinetičke krivulje) koji su izvan uobičajenih očekivanih raspona. Početno nevažeci rezultate testa potrebno je ponoviti.

Uzorke kompleta Aptima CSCT Kit moguće je razrijediti kako bi se uklonile potencijalno inhibirajuće tvari. Razrijedite 1 dio nevažecog uzorka u 8 dijelova transportnog medija za uzorke (otopina u epruvetama kompleta CSCT Kit); npr. 560 µL uzorka u novu epruvetu kompleta CSCT Kit koja sadržava 4,5 mL transportnog medija za uzorke. Razrijeđeni uzorak promiješajte nježnim preokretanjem; izbjegavajte stvaranje pjene. Razrijeđeni uzorak testirajte u skladu sa standardnim postupkom ispitivanja.

Napomena: Minimalni volumen od 1,7 mL potreban je za testiranje 1 alikvota uzorka. Nemojte razrjeđivati nevažeci razrijeđeni uzorak. Ako razrijeđeni uzorak daje nevažeci rezultat, potrebno je od pacijentice uzeti novi uzorak.

Rezultat ispitivanja Aptima HPV Assay	Kriteriji
Negativan	<i>S/CO analita < 0,50 IC ≥ granična vrijednost za IC IC ≤ 2.000.000 RLU-ova</i>
Pozitivan	<i>S/CO analita ≥ 0,50 IC ≤ 2.000.000 RLU-ova Analit ≤ 13.000.000 RLU-ova</i>
Nevažeci	<i>IC > 2.000.000 RLU-ova ili S/CO analita < 0,50 i IC < granična vrijednost za IC ili Analit > 13.000.000 RLU-ova</i>

Ograničenja

- A. Vrste uzoraka osim onih navedenih za namjenu nisu procijenjene.
- B. Radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay nije procijenjen za pojedince cijepljene protiv HPV-a.
- C. Ispitivanje Aptima HPV Assay nije procijenjeno u slučajevima u kojima se sumnja na seksualno zlostavljanje.
- D. Prevalencija infekcije HPV-om u populaciji može utjecati na radni učinak. Pozitivne prediktivne vrijednosti smanjuju se prilikom testiranja populacija s niskom prevalencijom ili pojedinaca bez rizika od infekcije.
- E. Uzorci tekućinske citologije ThinPrep koji sadržavaju volumen manji od 1 mL nakon pripreme stakalca za papa test ThinPrep smatraju se neodgovarajućima za ispitivanje Aptima HPV Assay.
- F. Za uklanjanje 1 mL uzorka tekućinske citologije SurePath prije citološke obrade nije procijenjen utjecaj na citološki nalaz.
- G. Na rezultate testa mogu utjecati nepropisno prikupljanje, pohrana i obrada uzoraka.
- H. Interna kontrola prati korake hvatanja, amplifikacije i otkrivanja ciljne sekvence ispitivanja. Nije namijenjena za kontrolu adekvatnosti cervikalnog uzorkovanja.
- I. Negativan rezultat ispitivanja Aptima HPV Assay ne isključuje mogućnost citoloških abnormalnosti te budućih ili prikrivenih displazija CIN2, CIN3 ili raka.
- J. Intimni lubrikanti koji sadrže polikvaternij-15 mogu interferirati s radnim učinkom ispitivanja kada su prisutni u koncentracijama većim od 0,025 % (v/v ili w/v) testnog uzorka.
- K. Lijekovi protiv gljivica koji sadrže tiokonazol mogu interferirati s radnim učinkom ispitivanja kada su prisutni u koncentracijama većim od 0,075 % (w/v) testnog uzorka.
- L. Ispitivanje Aptima HPV Assay daje kvalitativne rezultate. Stoga se ne može utvrditi korelacija između opsega pozitivnog signala ispitivanja i razine ekspresije mRNK u uzorku.
- M. Otkrivanje mRNK visokorizičnog HPV-a ovisi o broju kopija prisutnih u uzorku i na njega mogu utjecati metode prikupljanja uzorka, čimbenici vezani uz pacijenticu, stadij infekcije te prisutnost interferirajućih tvari.
- N. Infekcija HPV-om nije pokazatelj citološke skvamozne intraepitelne lezije visokog stupnja (eng. high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL) ili prikrivene cervikalne intraepitelne neoplazije (eng. cervical intraepithelial neoplasia, CIN) niti ukazuje na to da će se razviti displazija CIN2, CIN3 ili rak vrata maternice. Kod većina žena s infekcijom jednom ili više visokorizičnih vrsta HPV-a ne razvije se displazija CIN2, CIN3 ili rak vrata maternice.
- O. Učinak drugih potencijalnih varijabli, poput vaginalnog iscjetka, uporabe tampona, irigacije itd. te varijabli prikupljanja uzoraka nije procijenjen.
- P. Uporaba ovog proizvoda ograničena je na osoblje obučeno za uporabu ispitivanja Aptima HPV Assay.

- Q. Unakrsna kontaminacija uzoraka može uzrokovati lažno pozitivne rezultate. Utvrđeno je da stopa prijenosa ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Tigris DTS u nekliničkoj studiji iznosi 0,3 %.
- R. Ispitivanje Aptima HPV Assay treba se tumačiti u kombinaciji s drugim laboratorijskim i kliničkim podacima dostupnima liječniku.
- S. Ovaj test može dati lažno pozitivne rezultate. *In vitro* transkripti niskorizičnih genotipova HPV-a 26, 67, 70 i 82 ukazali su na unakrsnu reaktivnost s ispitivanjem Aptima HPV Assay.
- T. Materijal pozitivne kontrole nije namijenjen za praćenje radnog učinka granične vrijednosti ispitivanja.

Očekivani rezultati za sustav Tigris DTS: prevalencija mRNK visokorizičnog HPV-a

Prevalencija infekcije visokorizičnim HPV-om uvelike varira i na nju utječe nekoliko čimbenika, od kojih najveći doprinos ima dob.^{32,33} Mnoge su studije istraživale prevalenciju HPV-a utvrđenu otkrivanjem DNK HPV-a, no malo studija izvještava o prevalenciji na temelju otkrivanja onkogene mRNK HPV-a. Žene s različitih kliničkih lokacija (n = 18) koje predstavljaju široku geografsku rasprostranjenost i raznoliku populaciju (10 država u Sjedinjenim Američkim Državama) bile su uključene u prospektivnu kliničku studiju poznatu i kao ispitivanje CLEAR.³⁴ Prevalencija uzoraka pozitivnih na mRNK HPV-a zabilježenih u kliničkom ispitivanju sveukupno je kategorizirana prema dobnoj skupini i prema lokaciji testiranja. Rezultati za populacije ASC-US (atipične skvamozne stanice neodređenog značenja) i NILM (negativno na intraepitelnu leziju ili malignitet) prikazani su u Tablica1.

Tablica 1: Prevalencija mRNK visokorizičnog HPV-a prema dobnoj skupini, lokaciji testiranja i kombinirano

	% stope pozitivnosti (x/n)	
	Populacija ASC-US (≥ 21 godina)	Populacija NILM (≥ 30 godina)
Svi	41,8 (400/958)	5,0 (540/10.871)
Dobna skupina (godine)		
21 do 29	60,3 (252/418)	N/P
30 do 39	36,8 (98/266)	6,9 (289/4199)
≥ 40	18,2 (50/274)	3,8 (251/6672)
Lokacija testiranja		
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/P = nije primjenjivo

Dizajn kliničke studije ispitivanja Aptima HPV Assay s uzorcima tekućinske citologije ThinPrep

Prospektivna, multicentrična američka klinička studija poznata i kao ispitivanje CLEAR provedena je u svrhu utvrđivanja kliničkog radnog učinka ispitivanja Aptima HPV Assay u otkrivanju skvamozne intraepitelne lezije 2. stupnja ili ozbiljnije bolesti vrata maternice (\geq CIN2). Ispitivanje CLEAR obuhvaćalo je početnu procjenu i kontrolnu procjenu u trajanju od 3 godine.³⁴

Ispitivanje CLEAR – početna procjena

Na početku ispitivanja CLEAR (početna faza) žene su uključene u studiju ASC-US ili studiju NILM ovisno o citološkim nalazima rutinskog probira raka vrata maternice. Populacija studije ASC-US obuhvaćala je žene u dobi od 21 godine i starije s citološkim nalazima ASC-US, a populacija studije NILM obuhvaćala je žene u dobi od 30 godina i starije s citološkim nalazima NILM. Studija NILM osmišljena je za podržavanje dodatne tvrdnje probira za žene u dobi od 30 godina i starije jer bi žene tog dobnog raspona s citološkim nalazima višim od ASC-US trebale nastaviti s kolposkopijom neovisno o njihovom statusu HPV-a.³⁵

U studiju su uključene žene s 18 kliničkih lokacija, prvenstveno iz opstetričkih/ginekoloških klinika, koje su obuhvatile široku geografsku rasprostranjenost i raznoliku populaciju. Žene koje su zadovoljavale uvjete dodijeljene su studiji ASC-US ili studiji NILM ovisno o njihovom referalnom uzorku tekućinske citologije ThinPrep. Na početku su preostali referalni uzorci žena iz studije ASC-US i iz studije NILM testirani s pomoću ispitivanja Aptima HPV Assay i komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a.

Na početku su sve žene iz studije ASC-US upućene na kolposkopiju, neovisno o njihovim rezultatima testa HPV-a. Prikupljeni su uzorci endocervikalne kiretaže (eng. endocervical curettage, ECC) i ubodne biopsije vrata maternice (1 biopsija na svakom od 4 kvadranta). Ako je bila vidljiva lezija, prikupljeni su uzorci ubodne biopsije (usmjerena metoda; 1 biopsija po leziji), a kod kvadranta bez vidljive lezije provedena je biopsija na skvamokolumnarnoj granici (nasumična metoda).

U studiji NILM, žene pozitivne na ispitivanju Aptima HPV Assay i/ili komercijalno dostupnom testu DNK HPV-a, kao i nasumično odabrane žene koje su bile negativne primjenom oba ispitivanja, upućene su na kolposkopiju u svrhu početne evaluacije. Nasumično odabrane žene koje su bile negativne na oba ispitivanja uključene su radi ispravka zbog pristranosti potvrde s prilagođenim procjenama radnog učinka generiranim s pomoću metode višestruke imputacije. Uzorak biopsije ECC-om prikupljen je od svake žene koja je bila podvrgnuta kolposkopiji. Uzorci ubodne biopsije prikupljeni su samo iz vidljivih lezija (usmjerena metoda; 1 biopsija po leziji).

Status bolesti utvrđen je konsenzusnim panelom za procjenu histoloških nalaza, koji je temeljen na sporazumu najmanje 2 stručna patologa. Stručnim patolozima status HPV-a žena bio je skriven. Skriven im je bio i citološki status, kao i njihove međusobne histološke dijagnoze. Ako se 3 patologa nisu slagala, sva 3 patologa morala su pregledati stakalca pod mikroskopom s više glava kako bi se dobio konsenzusni rezultat. Znanstvenicima, liječnicima i ženama rezultati testa na HPV skriveni su do završetka pregleda kolposkopije kako bi se izbjegla pristranost.

Početni klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay u otkrivanju \geq CIN2 i skvamozne intraepitelne lezije 3. stupnja ili ozbiljnije bolesti vrata maternice (\geq CIN3) procijenjen je u odnosu na status cervikalne bolesti utvrđen na početku studije. Radi izravne usporedbe rezultata ispitivanja Aptima HPV Assay utvrđen je i klinički radni učinak komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a.

Ispitivanje CLEAR – kontrolna procjena

Žene iz studije NILM s 14 kliničkih lokacija zadovoljile su uvjete za sudjelovanje u kontrolnoj fazi studije u trajanju od 3 godine ako: i) su na početku studije bile podvrgnute pregledu kolposkopije i nisu imale \geq CIN2, ili ii) na početku studije nisu bile podvrgnute pregledu kolposkopije. Kontrolna faza studije sastojala se od godišnjih pregleda. Na tim je pregledima za svaku ženu provedeno uzorkovanje vrata maternice za citologiju, a neke su žene testirane komercijalno dostupnim testom na HPV. Žene s dijagnozom ASC-US ili ozbiljnijim citološkim nalazima tijekom kontrolnog su razdoblja upućene na kolposkopiju u sklopu koje se provode jednaki postupci biopsije i histološkog pregleda koji su provedeni u početnoj procjeni studije NILM. Status bolesti vrata maternice na kontrolnom se pregledu smatrao „negativnim” na temelju citološkog nalaza NILM ili na temelju normalnih rezultata odnosno rezultata CIN1 konsenzusnog panela za procjenu histoloških nalaza, što je bio slučaj kod žena s abnormalnim rezultatima citološkog testa. Za žene kod kojih je tijekom kontrolnog razdoblja utvrđen rezultat \geq CIN2 smatralo se da su završile kontrolu te nakon otkrivanja rezultata \geq CIN2 nisu bile podvrgnute daljnjim pregledima. Za žene kod kojih tijekom kontrolnog razdoblja nije utvrđen rezultat \geq CIN2, ali su bile podvrgnute pregledu tijekom 1. kontrolne godine i/ili 2. kontrolne godine te pregledu tijekom 3. kontrolne godine smatralo se da su završile kontrolu.

Cilj kontrolne studije bila je usporedba trogodišnjeg kumulativnog rizika od bolesti vrata maternice kod žena s početnim pozitivnim rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay s trogodišnjim kumulativnim rizikom od bolesti vrata maternice kod žena s početnim negativnim rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay. Status bolesti vrata maternice u razdoblju od 3 godine utvrđen je na sljedeći način:

- Pozitivan status bolesti vrata maternice (\geq CIN2 i/ili \geq CIN3) – žene s utvrđenim rezultatom \geq CIN2 na početku studije ili tijekom kontrolnog razdoblja.
- Negativan status bolesti vrata maternice ($<$ CIN2) – žene sa završenom kontrolom bez utvrđenog rezultata \geq CIN2 za koje se smatralo da nemaju „neodređeni” status bolesti vrata maternice.
- Neodređeni status bolesti vrata maternice – žene s abnormalnim rezultatima citološkog testa tijekom kontrole koje nisu imale naknadni rezultat koji je utvrdio konsenzusni panel za procjenu histoloških nalaza ili žene koje su na posljednjem pregledu imale neodgovarajući citološki nalaz.
- „Izgubljeni u kontroli” (eng. lost to follow-up) – žene koje nisu završile kontrolu i za koje se ne smatra da imaju „neodređeni” status bolesti vrata maternice.

Klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay za otkrivanje \geq CIN2 i \geq CIN3 procijenjen je u odnosu na status bolesti vrata maternice u razdoblju od 3 godine.

Radni učinak sustava Tigris DTS

Populacija ASC-US ≥ 21 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay s uzorcima tekućinske citologije ThinPrep

Sveukupno su u studiju ASC-US bile uključene 1252 žene u dobi od 21 godine i starije s citološkim nalazima ASC-US. Od navedenih, 294 žene povučene su iz studije, a njih 19 imalo je neodređenu dijagnozu bolesti. Sve su isključene iz analize. Preostalih 939 žena koje su se mogle procijeniti bilo je u dobi od 21 godine i starijoj, s citološkim nalazima ASC-US, rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay i nedvojbenim statusom bolesti. Devedeset i jedna (91) žena imala je rezultat ≥ CIN2, a četrdeset i jedna (41) žena imala je rezultat ≥ CIN3. Prevalencija rezultata ≥ CIN2 i ≥ CIN3 u žena koje su se mogle procijeniti i s citološkim nalazima ASC-US bila je 9,7 % odnosno 4,4 %. Rezultati ispitivanja Aptima HPV Assay utvrđeni dijagnozama konsenzusnog panela za procjenu histoloških nalaza prikazani su u Tablica 2.

Tablica 2: Populacija ASC-US ≥ 21 godina: rezultati ispitivanja Aptima HPV Assay utvrđeni dijagnozom konsenzusnog panela za procjenu histoloških nalaza

Rezultat ispitivanja Aptima HPV Assay*	Test DNK HPV-a	Dijagnoza konsenzusnog panela za procjenu histoloških nalaza						
		Neodređeno**	Normalno	CIN1	CIN2	CIN3	Karcinom	Ukupno
Pozitivan	Pozitivan	6	170	113	41	32	1	363
Pozitivan	Negativan	0	7	0	1	2	0	10
Pozitivan	Bez rezultata***	0	14	11	0	2	0	27
Negativan	Pozitivan	0	47	13	2	3	0	65
Negativan	Negativan	10	371	55	6	1	0	443
Negativan	Bez rezultata***	3	40	7	0	0	0	50
Ukupno		19	649	199	50	40	1****	958

*Svi uzorci imali su važeće konačne rezultate (nakon početnog testiranja ili nakon razrješenja nevažećih rezultata po postupku).

**19 ispitanica podvrgnuto je pregledu kolposkopije, ali dijagnoza nije mogla biti postavljena iz sljedećih razloga: < 5 prikupljenih uzoraka biopsije s normalnim/CIN1 histološkim rezultatima (n = 15), uzorci biopsije nisu prikupljeni (n = 3) i stakalca s uzorcima biopsije su izgubljena (n = 1).

***77 žena s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

****Jedna ispitanica imala je adenokarcinom in situ (AIS).

Procjene kliničkog radnog učinka ispitivanja Aptima HPV Assay, uključujući osjetljivost, specifičnost, pozitivnu prediktivnu vrijednost (PPV) i negativnu prediktivnu vrijednost (NPV), u otkrivanju ≥ CIN2 i ≥ CIN3, temeljene na procjeni svih biopsija i uključivanju samo usmjerenih uzoraka biopsije, kao i procjene komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a prikazane su u Tablica 3.

Tablica 3: Populacija ASC-US ≥ 21 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a u otkrivanju ≥ CIN2 i ≥ CIN3

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

*74 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

**Konsenzusni rezultat histološkog uzorka izveden je isključivo s pomoću rezultata iz usmjerenih biopsija. Žene bez uzoraka usmjerenih biopsija odraz su normalne kolposkopije te su u ove analize uključene kao ispitanice bez oboljenja (< CIN2 ili < CIN3, prema potrebi). Konsenzus se nije uvijek postigao kada su bile uključene samo usmjerene biopsije.

Kod procjenjivanja svih biopsija, procjene kliničke osjetljivosti ispitivanja Aptima HPV Assay i komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a, gdje su za otkrivanje \geq CIN2 i \geq CIN3 dostupni rezultati oba ispitivanja, bile su slične (razlike u procjenama osjetljivosti nisu bile statistički značajne: razlika u osjetljivosti = -2,3 % [95 %-tni CI: -9,5 %, 4,8 %]). Procjene kliničke specifičnosti ispitivanja Aptima HPV Assay za otkrivanje \geq CIN2 i \geq CIN3 bile su više od onih na komercijalno dostupnom testu DNK HPV-a (razlike u procjenama specifičnosti bile su statistički značajne). Za \geq CIN2 razlika u specifičnosti iznosila je 6,8 % (95 %-tni CI: 4,9 %, 9,0 %). PPV ispitivanja Aptima HPV Assay je u otkrivanju \geq CIN2 bio blago viši od PPV-a komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a (20,1 % u odnosu na 18,7 %), dok su im NPV-ovi bili slični.

Od 91 slučaja s rezultatom \geq CIN2, njih 60 (65,9 %) identificirano je putem usmjerenih biopsija, dok je 31 (34,1 %) identificiran putem nasumične biopsije i/ili biopsije ECC-om (tj. biopsijama koje nisu bile usmjerene). Ti nalazi usporedivi su s rezultatima objavljenih studija u kojima je otprilike 25 % do 40 % slučajeva s rezultatima \geq CIN2 identificirano samo u uzorcima nasumične biopsije i/ili biopsije ECC-om.^{36,37} Kada su se za utvrđivanje statusa bolesti upotrebljavale samo usmjerene biopsije (pod pretpostavkom da su žene bez usmjerenih biopsija imale normalne histološke rezultate jer nisu imale vidljive lezije), prevalencija rezultata \geq CIN2 i \geq CIN3 u studiji iznosila je 6,4 % odnosno 3,1 %. Procjene kliničke osjetljivosti za otkrivanje \geq CIN2 i \geq CIN3 bile su više za oba testa koja su upotrebljavala samo usmjerene biopsije u odnosu na procjene izračunate primjenom svih biopsija. Za oba je ispitivanja klinička specifičnost izračunata primjenom samo usmjerenih biopsija bila slična specifičnosti dobivenoj kada su bile uključene sve biopsije. Sukladno tome, kada su se upotrebljavale samo usmjerene biopsije, specifičnost ispitivanja Aptima HPV Assay bila je znatno veća od specifičnosti komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a.

Procjene kliničkog radnog učinka ispitivanja Aptima HPV Assay i komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a prikazane su u Tablica 4 i Tablica 5 (\geq CIN2 odnosno \geq CIN3 na temelju procjena svih biopsija) prema dobnoj skupini.

Tablica 4: Populacija ASC-US ≥ 21 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a u otkrivanju ≥ CIN2 prema dobnoj skupini

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

*74 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Tablica 5: Populacija ASC-US ≥ 21 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a u otkrivanju ≥ CIN3 prema dobnoj skupini

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

*74 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Apsolutni rizik od bolesti (\geq CIN2 i \geq CIN3 na temelju procjena svih biopsija) prema rezultatu ispitivanja Aptima HPV Assay i relativni rizik od bolesti utvrđen za pozitivne rezultate ispitivanja Aptima HPV Assay u odnosu na negativne, kao i procjene komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a prikazani su u Tablica 6. Relativni rizik za \geq CIN2 iznosio je 9,1 (95 %-tni CI: 5,0, 16,5), što ukazuje na to da je žena koja je bila pozitivna na ispitivanju Aptima HPV Assay imala 9,1 puta veću vjerojatnost da će imati rezultat \geq CIN2 od žene koja je bila negativna na ispitivanju Aptima HPV Assay. Relativni rizik za \geq CIN3 iznosio je 12,8 (95 %-tni CI: 4,6, 35,6).

Tablica 6: Populacija ASC-US \geq 21 godina: apsolutni i relativni rizici za \geq CIN2 i \geq CIN3 na rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a

	Rezultat ispitivanja	Ispitivanje Aptima HPV Assay N = 939		Test DNK HPV-a N = 865*	
		Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)	Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)
\geq CIN2	Pozitivan	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)
	Negativan	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)		2,3 (10/443) (1,2, 3,8)	
	Prevalencija (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
\geq CIN3	Pozitivan	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)
	Negativan	0,7 (4/545) (0,2, 1,7)		0,7 (3/443) (0,2, 1,7)	
	Prevalencija (%)	4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	

*74 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Procjene apsolutnog i relativnog rizika od bolesti (\geq CIN2 i \geq CIN3 na temelju procjena svih biopsija) za ispitivanje Aptima HPV Assay i komercijalno dostupan test DNK HPV-a prikazane su u Tablica 7 prema dobnoj skupini.

Tablica 7: Populacija ASC-US \geq 21 godina: apsolutni i relativni rizici za \geq CIN2 i \geq CIN3 na rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a prema dobnoj skupini

	Dob	Rezultat ispitivanja	Ispitivanje Aptima HPV Assay N = 939		Test DNK HPV-a N = 865*	
			Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)	Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)
\geq CIN2	21 do 29 godina		N = 415		N = 389	
		Pozitivan	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)
		Negativan	3,6 (6/165) (1,5, 7,0)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalencija (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 do 39 godina		N = 262		N = 239	
		Pozitivan	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)
		Negativan	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalencija (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
	\geq 40 godina		N = 262		N = 237	
		Pozitivan	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)
		Negativan	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)		1,6 (3/184) (0,4, 3,4)	
		Prevalencija (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)	
\geq CIN3	21 do 29 godina		N = 415		N = 389	
		Pozitivan	10,4 (26/250) (8,9, 11,4)	17,2 (2,4, 125)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Ne može se izračunati
		Negativan	0,6 (1/165) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalencija (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 do 39 godina		N = 262		N = 239	
		Pozitivan	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)
		Negativan	0,6 (1/167) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalencija (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
	\geq 40 godina		N = 262		N = 237	
		Pozitivan	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)
		Negativan	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)		0,5 (1/184) (0,0, 1,8)	
		Prevalencija (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)	

*74 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Populacija NILM \geq 30 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay s uzorcima tekućinske citologije ThinPrep na početku studije

Sveukupno su u studiju NILM bile uključene 11.644 žene s citološkim nalazima NILM. Od navedenih, 773 žene povučene su iz studije i isključene iz početne procjene. 10.871 preostala žena koja se mogla procijeniti bila je u dobi od 30 godina i starijoj, s citološkim nalazima NILM i rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay. Od 540 žena s pozitivnim rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay, njih 335 je kolposkopiji podvrgnuto na početku studije. Od 10.331 žena s negativnim rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay, njih 530 je kolposkopiji podvrgnuto na početku studije. Dvadeset (20) žena imalo je rezultat \geq CIN2 i jedanaest (11) žena imalo je rezultat \geq CIN3; 799 žena imalo je normalan/CIN1 histološki rezultat; 46 žena imalo je neodređen status bolesti. Rezultati ispitivanja Aptima HPV Assay utvrđeni dijagnozom konsenzusnog panela za procjenu histoloških nalaza na početku studije prikazani su u Tablica 8.

Tablica 8: Populacija NILM \geq 30 godina: početni rezultati ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a utvrđeni dijagnozom konsenzusnog panela za procjenu histoloških nalaza

Rezultat ispitivanja Aptima HPV Assay*	Test DNK HPV-a	Dijagnoza konsenzusnog panela za procjenu histoloških nalaza						
		Neodređeno	Normalno	CIN1	CIN2	CIN3	Karcinom	Ukupno
Pozitivan	Pozitivan	11	212	11	4	7	2	247
Pozitivan	Negativan	7	59	0	1	0	1	68
Pozitivan	Bez rezultata**	3	16	1	0	0	0	20
Negativan	Pozitivan	10	170	8	2	1	0	191
Negativan	Negativan	15	313	9	1	0	0	338
Negativan	Bez rezultata**	0	0	0	1	0	0	1
Ukupno		46	770	29	9	8	3***	865

*Svi uzorci imali su važeće konačne rezultate (nakon početnog testiranja ili nakon razrješenja nevažećih rezultata po postupku).

**21 žena s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imala rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

***Tri žene imale su adenokarcinom in situ (AIS).

Na početku studije sveukupno 10.052 žene su imale nepotvrđeni (uključujući i neodređeni) status bolesti (Tablica 9). Budući da su samo nasumično odabrane žene s negativnim rezultatima na ispitivanju Aptima HPV Assay i komercijalno dostupnom testu DNK HPV-a upućene na kolposkopiju, udio žena s nepotvrđenim statusom bolesti u ovoj je skupini bio visok (96,6 %). Radi prilagođavanja zbog ove pristranosti potvrde, za procjenu broja žena s bolesti koja bi se identificirala da su bile podvrgnute kolposkopiji upotrebljavala se metoda višestruke imputacije. Prikazane su procjene radnog učinka prilagođene za pristranost potvrde i neprilagođene procjene radnog učinka temeljene na 819 žena s potvrđenim statusom bolesti.

Tablica 9: Populacija NILM \geq 30 godina: klasifikacija žena koje su se mogle procijeniti s rezultatima NILM na ispitivanju Aptima HPV Assay i testu DNK HPV-a, status bolesti (\geq CIN2 i \geq CIN3) i status potvrde bolesti na početku studije

Rezultat ispitivanja Aptima HPV Assay*	Test DNK HPV-a	Ukupno žena	Potvrđeni status bolesti: \geq CIN2		Potvrđeni status bolesti: \geq CIN3		Nepotvrđeni status bolesti
			Oboljele žene (\geq CIN2)	Neoboljele žene ($<$ CIN2)	Oboljele žene (\geq CIN3)	Neoboljele žene ($<$ CIN3)	Žene s nepoznatim statusom bolesti (% nepoznatih)
Pozitivan	Pozitivan	360	13	223	9	227	124 (34,4 %)
Pozitivan	Negativan	150	2	59	1	60	89 (59,3%)
Pozitivan	Bez rezultata**	30	0	17	0	17	13 (43,3%)
Negativan	Pozitivan	306	3	178	1	180	125 (40,8%)
Negativan	Negativan	9420	1	322	0	323	9097 (96,6%)
Negativan	Bez rezultata**	605	1	0	0	1	604 (99,8%)
Ukupno		10.871	20	799	11	808	10.052 (92,5%)

*Svi uzorci imali su konačne rezultate (nakon početnog testiranja ili nakon razrješenja nevažećih rezultata po postupku).

**635 žena s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imala rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Prilagođena prevalencija rezultata \geq CIN2 i \geq CIN3 u žena s citološkim nalazima NILM bila je 0,9 % odnosno 0,4 %. Prilagođene procjene apsolutnog i relativnog rizika za početno otkrivanje \geq CIN2 i \geq CIN3 prikazane su u Tablica 10. Prilagođeni relativni rizik za \geq CIN2 iznosio je 8,1 (95 %-tni CI: 2,3, 28,1), što ukazuje na to da žena koja je pozitivna na ispitivanju Aptima HPV Assay ima 8,1 puta veću vjerojatnost da će imati rezultat \geq CIN2 od žene koja je negativna na ispitivanju Aptima HPV Assay. Prilagođeni relativni rizik za \geq CIN3 iznosio je 34,5 (95 %-tni CI: 2,7, 443,3). Sveukupne neprilagođene procjene apsolutnog i relativnog rizika za početno otkrivanje \geq CIN2 i \geq CIN3 prikazane su u Tablica 11, a procjene prema dobnj skupini prikazane su u Tablica 12.

Tablica 10: Populacija NILM \geq 30 godina: apsolutni i relativni rizici za \geq CIN2 i \geq CIN3 na rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a (procjene prilagođene za pristranost potvrde) na početku studije

Rezultat ispitivanja		Ispitivanje Aptima HPV Assay		Test DNK HPV-a	
		Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)	Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)
\geq CIN2	Pozitivan	4,7 (2,9, 7,6)	8,1 (2,3, 28,1)	3,7 (2,3, 6,0)	7,3 (1,6, 33,4)
	Negativan	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalencija (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Pozitivan	3,3 (1,4, 7,6)	34,5 (2,7, 443,3)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,4)
	Negativan	0,1 (0,0, 1,6)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalencija (%)	0,4		0,4	

Tablica 11: Populacija NILM \geq 30 godina: apsolutni i relativni rizici za \geq CIN2 i \geq CIN3 na rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a (neprilagođene procjene) na početku studije

Rezultat ispitivanja		Ispitivanje Aptima HPV Assay N = 819		Test DNK HPV-a N = 801*	
		Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)	Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)
\geq CIN2	Pozitivan	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)
	Negativan	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalencija (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
\geq CIN3	Pozitivan	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)
	Negativan	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalencija (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

*18 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Tablica 12: Populacija NILM ≥ 30 godina: apsolutni i relativni rizici za ≥ CIN2 i ≥ CIN3 na rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a prema dobnoj skupini (neprilagođene procjene) na početku studije

	Dob	Rezultat ispitivanja	Ispitivanje Aptima HPV Assay N = 819		Test DNK HPV-a N = 801*	
			Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)	Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)
≥ CIN2	30 do 39 godina		N = 384		N = 377	
		Pozitivan	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)
		Negativan	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		1,2 (2/161) (0,2, 4,4)	
		Prevalencija (%)	2,3 (9/384)		2,4 (9/377)	
	≥ 40 godina		N = 435		N = 424	
		Pozitivan	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)
		Negativan	1,4 (4/288) (0,4, 3,5)		0,4 (1/223) (0,0, 2,5)	
		Prevalencija (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥ CIN3	30 do 39 godina		N = 384		N = 377	
		Pozitivan	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)
		Negativan	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		0,6 (1/161) (0,0, 3,4)	
		Prevalencija (%)	1,6 (6/384)		1,6 (6/377)	
	≥ 40 godina		N = 435		N = 424	
		Pozitivan	3,4 (5/147) (1,1, 7,8)	Ne može se izračunati	2,5 (5/201) (0,8, 5,7)	Ne može se izračunati
		Negativan	0,0 (0/288) (0,0, 1,3)		0,0 (0/223) (0,0, 1,6)	
		Prevalencija (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*18 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Prilagođene procjene kliničkog radnog učinka ispitivanja Aptima HPV Assay, uključujući osjetljivost, specifičnost, PPV i NPV, u otkrivanju \geq CIN2 i \geq CIN3, kao i procjene komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a prikazane su u Tablica 13. Neprilagođene procjene kliničkog radnog učinka prikazane su u Tablica 14. Ispitivanje Aptima HPV Assay i komercijalno dostupan test DNK HPV-a imali su sličnu osjetljivost, dok je ispitivanje Aptima HPV Assay imalo znatno veću specifičnost (nepreklapajući 95 %-tni CI-jevi). Procjene prediktivne vrijednosti ispitivanja Aptima HPV Assay bile su klinički značajne i sličile su procjenama komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a. PPV ispitivanja Aptima HPV Assay je u otkrivanju \geq CIN2 bio blago viši od PPV-a komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a (4,7% u odnosu na 3,7%), dok su im NPV-ovi bili slični.

Tablica 13: Populacija NILM \geq 30 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a u otkrivanju \geq CIN2 i \geq CIN3 (procjene prilagođene za pristranost potvrde) na početku studije

	Radni učinak	Ispitivanje Aptima HPV Assay		Test DNK HPV-a	
		Procjena	(95 %-tni CI)	Procjena	(95 %-tni CI)
\geq CIN2	Osjetljivost (%)	31,0	(5,9, 56,1)	35,4	(3,8, 66,9)
	Specifičnost (%)	95,2	(94,8, 95,6)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,7	(2,9, 7,6)	3,7	(2,3, 6,0)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Prevalencija (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Osjetljivost (%)	61,5	(14,0, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Specifičnost (%)	95,2	(94,8, 95,6)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,3	(1,4, 7,6)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,4, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prevalencija (%)	0,4		0,4	

Tablica 14: Populacija NILM ≥ 30 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a u otkrivanju ≥ CIN2 i ≥ CIN3 (neprilagođene procjene) na početku studije

	Radni učinak	Ispitivanje Aptima HPV Assay N = 819		Test DNK HPV-a N = 801*	
		Procjena	(95 %-tni CI)	Procjena	(95 %-tni CI)
≥ CIN2	Osjetljivost (%)	75,0 (15/20)	(53,1, 88,8)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Specifičnost (%)	62,6 (500/799)	(59,2, 65,9)	48,7 (381/782)	(45,2, 52,2)
	PPV (%)	4,8 (15/314)	(3,4, 5,8)	3,8 (16/417)	(2,9, 4,4)
	NPV (%)	99,0 (500/505)	(98,1, 99,6)	99,2 (381/384)	(98,1, 99,8)
	Prevalencija (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
≥ CIN3	Osjetljivost (%)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Specifičnost (%)	62,4 (504/808)	(59,0, 65,7)	48,5 (383/790)	(45,0, 52,0)
	PPV (%)	3,2 (10/314)	(2,2, 3,7)	2,4 (10/417)	(1,6, 2,7)
	NPV (%)	99,8 (504/505)	(99,1, 100)	99,7 (383/384)	(98,9, 100)
	Prevalencija (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

*18 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Izravna usporedba ispitivanja Aptima HPV Assay i komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a ukazuje na međusobno sličnu osjetljivost te statistički značajno poboljšanu specifičnost ispitivanja Aptima HPV Assay u odnosu na komercijalno dostupni test DNK HPV-a pri otkrivanju \geq CIN2, kako je prikazano omjerima istinski pozitivnih i lažno pozitivnih stopa (Tablica15 odnosno Tablica16).

Tablica 15: Populacija NILM \geq 30 godina: omjer istinski pozitivnih stopa (ispitivanje Aptima HPV Assay / test DNK HPV-a) za žene s \geq CIN2 (neprilagođene procjene) na početku studije

		Test DNK HPV-a		Ukupno
		Pozitivan	Negativan	
Ispitivanje Aptima HPV Assay	Pozitivan	13	2	15 (78,9%)
	Negativan	3	1	4
	Ukupno	16 (84,2%)	3	19
Omjer istinski pozitivnih stopa = 0,94 (15/16) (95 %-tni CI: 0,67, 1,20)				

Tablica 16: Populacija NILM \geq 30 godina: omjer lažno pozitivnih stopa (ispitivanje Aptima HPV Assay / test DNK HPV-a) za žene s $<$ CIN2 (neprilagođene procjene) na početku studije

		Test DNK HPV-a		Ukupno
		Pozitivan	Negativan	
Ispitivanje Aptima HPV Assay	Pozitivan	223	59	282 (36,1%)
	Negativan	178	322	500
	Ukupno	401 (51,3%)	381	782
Omjer lažno pozitivnih stopa = 0,70 (282/401) (95 %-tni CI: 0,64, 0,77)				

Populacija NILM \geq 30 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay nakon 3 godine kontrole

Na početku studije uvjete za kontrolnu fazu zadovoljile su 10.854 žene koje su se mogle procijeniti, u dobi od 30 godina i starijoj, s citološkim nalazima NILM i važećim rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay. Od žena koje nisu imale rezultat \geq CIN2, 66,9 % (7251/10.834) žena završilo je 1. godinu kontrolnog pregleda s papa testom, 60,2 % (6522/10.825) 2. godinu te 58,6 % (6344/10.818) 3. godinu. Sveukupno je 58,8 % (6380/10.854) žena završilo studiju (imalo su rezultat \geq CIN2 na početku studije ili tijekom kontrolnog razdoblja i/ili su završile s potrebnim pregledima).

Od 10.854 žena, njih 540 (5,0 %) je na početku studije imalo pozitivne rezultate ispitivanja Aptima HPV Assay. Od navedenih 540 žena, njih 263 (48,7 %) imale su pozitivan ili negativan status bolesti u razdoblju od 3 godine na citološkim nalazima ili nalazima kolposkopije/biopsije. Preostalih 10.314 žena je na početku studije imalo negativne rezultate ispitivanja Aptima HPV Assay. Od navedenih 10.314 žena, njih 5943 (57,6 %) imale su pozitivan ili negativan status bolesti u razdoblju od 3 godine. Od 6206 žena sa statusom bolesti u razdoblju od 3 godine, njih 47 imalo je rezultat \geq CIN2, uključujući 23 žene s rezultatom \geq CIN3. 6159 žena imalo je normalan/CIN1 rezultat koji je utvrdio konsenzusni panel za procjenu histoloških nalaza. Početni rezultati ispitivanja Aptima HPV Assay i komercijalno dostupnog ispitivanja DNK HPV-a te status bolesti u razdoblju od 3 godine (uključuje početnu i kontrolnu procjenu) koje je utvrdio konsenzusni panel za procjenu histoloških nalaza prikazani su u Tablica 17.

Tablica 17: Populacija NILM \geq 30 godina: klasifikacija žena koje su prema početnim rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay, početnim rezultatima testa DNK HPV-a i statusu bolesti (\geq CIN2, \geq CIN3, nepotvrđeni status) utvrđenom u početnoj i kontrolnoj fazi zadovoljile uvjete za kontrolnu fazu

Rezultat ispitivanja Aptima HPV Assay	Test DNK HPV-a	Ukupno žena	Potvrđeni status bolesti: \geq CIN2		Potvrđeni status bolesti: \geq CIN3		Nepotvrđeni status bolesti	
			Oboljele žene (\geq CIN2)	Neoboljele žene ($<$ CIN2)	Oboljele žene (\geq CIN3)	Neoboljele žene ($<$ CIN3)	Izgubljeni u kontroli	Neodređeno*
Pozitivan	Pozitivan	360	22	154	15	161	165	19
Pozitivan	Negativan	150	2	72	1	73	68	8
Pozitivan	Bez rezultata**	30	2	11	1	12	14	3
Negativan	Pozitivan	304	6	146	3	149	133	19
Negativan	Negativan	9.405	14	5.455	3	5.466	3.735	201
Negativan	Bez rezultata**	605	1	321	0	322	269	14
Ukupno		10.854	47	6.159	23	6.183	4.384	264

*Žene s abnormalnim rezultatima citološkog testa tijekom kontrole koje nisu imale naknadni rezultat koji je utvrdio konsenzusni panel za procjenu histoloških nalaza i žene koje su na posljednjem pregledu imale neodgovarajući citološki nalaz. 174 žena s neodređenim statusom bolesti završilo je kontrolne preglede u skladu s protokolom.

**635 žena s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Trogodišnji kumulativni rizik od bolesti (\geq CIN2 i \geq CIN3) temeljen je na Kaplan-Meierovoj procjeni (analiza tablice mortaliteta) i obuhvaća bolest otkrivenu na početku studije ili tijekom kontrolnog razdoblja. Žene koje su imale neke indikacije bolesti (ASC-US ili ozbiljniji citološki nalazi), ali nisu imale rezultat koji je utvrdio konsenzusni panel za procjenu histoloških nalaza, u analizu su uključene primjenom metode višestruke imputacije kako bi se predvidio broj žena s bolesti koja bi se identificirala da su bile podvrgnute kolposkopiji.

Procjene trogodišnjeg kumulativnog apsolutnog i relativnog rizika za otkrivanje \geq CIN2 i \geq CIN3 prikazane su u Tablica 18.

Tablica 18: Populacija NILM \geq 30 godina: trogodišnji kumulativni apsolutni i relativni rizici* za \geq CIN2 i \geq CIN3 na rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a na početku studije

	Rezultat ispitivanja	Ispitivanje Aptima HPV Assay		Test DNK HPV-a	
		Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)	Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)
\geq CIN2	Pozitivan	7,39 (5,12, 10,59)	22,55 (12,68, 40,10)	6,42 (4,50, 9,13)	22,71 (12,19, 42,29)
	Negativan	0,33 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Prevalencija (%)	0,68		0,68	
\geq CIN3	Pozitivan	4,66 (2,94, 7,36)	44,12 (16,91, 115,10)	4,14 (2,62, 6,52)	51,33 (17,74, 148,55)
	Negativan	0,11 (0,04, 0,25)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Prevalencija (%)	0,34		0,35	

*Trogodišnji kumulativni rizici prilagođeni za druge moguće pristranosti bili su slični rizicima u ovoj tablici. Zbog očekivanih razlika u rizicima u 1. i 2. godini za dvije skupine žena u kontrolnoj studiji (one koje su podvrgnute kolposkopiji na početku studije i one koje nisu podvrgnute kolposkopiji na početku studije), prijavljen je samo trogodišnji kumulativni rizik za kombinirane skupine.

Trogodišnja kumulativna prevalencija rezultata \geq CIN2 i \geq CIN3 u žena s citološkim nalazima NILM na početku studije bila je 0,68 % odnosno 0,34 %. Relativni rizik za \geq CIN2 iznosio je 22,55 (95 %-tni CI: 12,68, 40,10), što ukazuje na to da žena koja je pozitivna na ispitivanju Aptima HPV Assay ima 22,55 puta veću vjerojatnost da će imati rezultat \geq CIN2 od žene koja je negativna na ispitivanju Aptima HPV Assay. Relativni rizik za \geq CIN3 iznosio je 44,12 (95 %-tni CI: 16,91, 115,10).

Klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay s uzorcima tekućinske citologije SurePath

Uzorci SurePath obrađeni otopinom Aptima Transfer Solution

Uzorci tekućinske citologije SurePath prikupljeni su od žena u Kanadi (n = 558) koje su upućene na kontrolni pregled zbog jednog abnormalnog papa testa ili više njih, infekcije HPV-om ili iz nekog drugog razloga. Alikvot (0,5 mL) svakog uzorka prenesen je u epruvetu za prijenos uzorka Aptima i zatim obrađen otopinom Aptima Transfer Solution. Po jedan replikat svakog uzorka testiran je s pomoću ispitivanja Aptima HPV Assay. Zasebni alikvot (1 mL) svakog uzorka uklonjen je radi procjene s pomoću komercijalno dostupnog PCR testa za HPV. Klinička osjetljivost za otkrivanje bolesti, definirana kao histološki rezultat \geq CIN3, izračunata je za ispitivanje Aptima HPV Assay i PCR test za HPV i prikazana u Tablica 19 s pozitivnim i negativnim prediktivnim vrijednostima.

Tablica 19: Klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay i PCR testa za HPV u otkrivanju \geq CIN3

Radni učinak	Ispitivanje Aptima HPV Assay N = 558		PCR test za HPV N = 558	
	Procjena	(95 %-tni CI)	Procjena	(95 %-tni CI)
Osjetljivost (%)	89,3 (25/28)	(72,8 – 96,3)	89,3 (25/28)	(72,8 – 96,3)
Specifičnost (%)	56,8 (301/530)	(52,5 – 60,9)	49,1 (260/530)	(44,8 – 53,3)
PPV (%)	9,8 (25/254)	(8,1 – 11,2)	8,5 (25/295)	(7,0 – 9,5)
NPV (%)	99,0 (301/304)	(97,6 – 99,8)	98,9 (260/263)	(97,2 – 99,7)
Prevalencija (%)	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

Tablica 20: Osjetljivost ispitivanja Aptima HPV Assay s uzorcima tekućinske citologije SurePath i ThinPrep

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

Radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay s uzorcima prikupljenima kompletom Cervical Specimen Collection and Transport Kit

Upareni uzorci tekućinske citologije ThinPrep i uzorci prikupljeni kompletom Aptima CSCT Kit prikupljeni su od 735 ispitanica. Jedan mililitar (1,0 mL) svakog uzorka tekućinske citologije ThinPrep razrijeđena je u 2,9 mL transportnog medija za uzorke Aptima i jedan replikat testiran je s pomoću ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Tigris DTS. Po jedan replikat svakog uzorka prikupljenog kompletom CSCT također je testiran s pomoću ispitivanja Aptima HPV Assay. Utvrđen je postotak slaganja uzorka tekućinske citologije ThinPrep i uzorka prikupljenog kompletom CSCT za ispitivanje Aptima HPV Assay i rezultati su prikazani u Tablica 21.

Postotak pozitivnog slaganja iznosio je 95,9 % (95 %-tni CI: 92,6 – 97,8); postotak negativnog slaganja iznosio je 95,5 % (95 %-tni CI: 93,3 – 97,0); a sveukupno slaganje iznosilo je 95,6 % (95 %-tni CI: 93,9 – 96,9). Zabilježena je snažna korelacija između uzoraka tekućinske citologije i uzoraka prikupljenih kompletom za transport ($\kappa = 0,90$).

Tablica 21: Sveukupno slaganje rezultata ispitivanja Aptima HPV Assay za uzorke tekućinske citologije ThinPrep i uzorke prikupljene kompletom Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit testirano na sustavu Tigris DTS

		Uzorak tekućinske citologije ThinPrep		Ukupno
		Pozitivan	Negativan	
Uzorak kompleta Aptima CSCT Kit	Pozitivan	234	22	256
	Negativan	10	469	479
	Ukupno	244	491	735

Pozitivno slaganje = 95,9 % (92,6 – 97,8)
 Negativno slaganje = 95,5 % (93,3 – 97,0)
 Sveukupno slaganje = 95,6 % (93,9 – 96,9)
 Koeficijent kapa = 0,90

Analitička osjetljivost

Granica detekcije (LoD) pri kliničkoj graničnoj vrijednosti jest koncentracija RNK HPV-a koja daje pozitivan rezultat (iznad kliničke granične vrijednosti) u 95 % slučajeva. Granica detekcije (eng. Limit of Detection, LoD) ispitivanja Aptima HPV Assay utvrđena je testiranjem panela razrijeđenja *in vitro* transkripata (IVT) za svih 14 visokorizičnih genotipova i 4 stanične linije zaražene HPV-om: SiHa, HeLa, MS751 i ME180 (ATCC, Manassas, Virginija). Kod panela IVT-a, u transportni medij za uzorke dodan je IVT u različitim koncentracijama, a zatim razrijeđen pojedinačnim negativnim uzorcima tekućinske citologije ThinPrep prije testiranja. Kod panela stanica zaraženih HPV-om, u poolove uzoraka tekućinske citologije ThinPrep negativnih na HPV dodane su stanice zaražene HPV-om pri različitim koncentracijama i poolovi su zatim prije testiranja razrijeđeni transportnim medijem za uzorke. Trideset replikata svake razine kopije testirano je objema serijama reagensa kako bi se dobilo ukupno 60 replikata. Testiranje je provedeno u razdoblju od 14 dana, s 1 do 12 obrada na dan, a u svakoj je obradi testirano 5 replikata određenog genotipa i koncentracije. 95 %-tna granica detekcije izračunata je iz Probit regresijske analize rezultata pozitivnosti za svaki panel razrijeđenja.

Rezultati Probit analize, Tablica 22, prikazuju da su genotipovi HPV 16, 18, 31, 33, 35, 38, 45, 58, 59 i 68 imali 95 %-tne granice detekcije niže od 100 kopija/reakcija, a genotipovi 51, 52, 56 i 66 imali su 95 %-tne granice detekcije između 100 i 300 kopija/reakcija. Četiri testirane stanične linije imale su 95 %-tne granice detekcije manje od 1 stanice/reakciji.

Tablica 22: Granica detekcije pri kliničkoj graničnoj vrijednosti ispitivanja Aptima HPV Assay

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

*kopije po reakciji za *in vitro* transkripte i stanice po reakciji za stanične linije

Preciznost ispitivanja

Preciznost ispitivanja Aptima HPV Assay procijenjena je u dvije studije primjenom istog panela od 20 sastavnica. Studija 1 provedena je na 3 eksterne lokacije testiranja kako bi se utvrdila obnovljivost ispitivanja. Studija 2 provedena je unutar ustanove kako bi se izmjerila ponovljivost ispitivanja. Panel je obuhvaćao 10 sastavnica pozitivnih na HPV s koncentracijama pri granici detekcije ispitivanja ili iznad nje (očekivana pozitivnost: $\geq 95\%$), 4 sastavnice pozitivne na HPV s koncentracijama ispod granice detekcije ispitivanja (očekivana pozitivnost: $> 0\%$ do $< 25\%$) i 6 sastavnica negativnih na HPV. Sastavnice panela pozitivne na HPV pripremljene su dodavanjem *in vitro* transkripata (IVT) RNK u transportni medij za uzorke (STM) ili uzgojenih stanica zaraženih HPV-om (SiHa, HeLa, ME180 i MS751; ATCC, Manassas, Virginija) u otopinu PreservCyt Solution. Sastavnice panela negativne na HPV pripremljene su s pomoću STM-a ili poola preostalih uzoraka tekućinske citologije ThinPrep.

U studiji 1, 2 korisnika na svakoj od 3 lokacije testiranja (1 instrument po lokaciji) izvela su 1 radni popis ispitivanja Aptima HPV Assay na dan tijekom 3 dana za svaku od 3 serije reagensa. Svaki radni popis sadržavao je 3 replikata svake sastavnice panela obnovljivosti. Sto šezdeset i dvije (162) pojedinačne epruvete s uzorcima testirane su za svaku sastavnicu panela (3 lokacije x 1 instrument x 2 korisnika x 3 serije x 3 radna popisa x 3 replikata). U studiji 2 testiranje je provedeno unutar ustanove tijekom 20 dana s ukupno 162 reakcije testirane za svaku sastavnicu panela (1 lokacija x 3 instrumenta x 3 korisnika x 3 serije x 2 radna popisa x 3 replikata).

Sastavnice panela opisane su u Tablica 23a (sastavnice panela s očekivanim pozitivnim rezultatima) i Tablica 23b (sastavnice panela s očekivanim negativnim rezultatima), uz sažetak slaganja s očekivanim rezultatima i vrijednostima za S/CO analita pri 2,5., 50. i 97,5. percentilu raspodjele S/CO. Varijabilnost S/CO analita za sastavnice panela s očekivanim pozitivnim rezultatima prikazana je u Tablica 24 za studiju 1 i u Tablica 25 za studiju 2.

Pozitivno slaganje za sastavnice panela pozitivne na HPV s koncentracijama pri granici detekcije ispitivanja ili iznad nje bilo je u rasponu od 95,1 % do 100 % u studiji 1 te u rasponu od 93,2 % do 100 % u studiji 2 za 9 od 10 sastavnica panela. Preostala sastavnica panela pozitivna na HPV imala je slaganje od 77,2 % u studiji 1 te slaganje od 79,0 % u studiji 2, što je bilo niže od očekivanog, ali dosljedno za obje studije. Negativno slaganje za sastavnice panela visoko negativne na HPV s koncentracijama ispod granice detekcije ispitivanja bilo je u rasponu od 78,8 % do 93,8 % u studiji 1 te u rasponu od 82,1 % do 95,7 % u studiji 2. Slaganje s očekivanim rezultatima za sastavnice panela negativne na HPV bilo je u rasponu od 96,9 % do 100 % u studiji 1 te u rasponu od 96,3 % do 100 % u studiji 2.

Tablica 23a: Studije 1 i 2 obnovljivosti ispitivanja Aptima HPV Assay: opis panela, pozitivno slaganje i percentil raspodjele vrijednosti za S/CO analita za sastavnice panela s očekivanim pozitivnim rezultatima

Opis panela (kopije ili stanice/reakcija)	Studija 1 (3 lokacije testiranja)	Studija 2 (1 lokacija testiranja)
	% pozitivnog slaganja (95 %-tni CI)	% pozitivnog slaganja (95 %-tni CI)
HPV 16 i HPV 18 IVT (100 kopija)	100 (161/161) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa stanice (3 stanice) i HeLa stanice (7,5 stanica)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (100 kopija)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (160/160) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (100 kopija)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751 stanice (1 stanica)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)
ME180 stanice (0,3 stanice)	95,1 (154/162) (90,6, 97,5)	93,2 (151/162) (88,3, 96,2)
HPV 18 IVT (30 kopija)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (30 kopija)	100 (162/162) (97,7, 100)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
HeLa stanice (2,5 stanice)	100 (162/162) (97,7, 100)	95,6 (152/159) (91,2, 97,9)
SiHa stanice (1 stanica)*	77,2 (125/162) (70,1, 83,0)	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)

IVT = *in vitro* transkript. IVT je dodan u STM, a stanice su dodane u otopinu PreservCyt Solution.

*Očekivani % pozitivnog slaganja ~95 %; zabilježen niži zbog moguće varijabilnosti u proizvodnji sastavnice panela.

Tablica 23b: Studije 1 i 2 obnovljivosti ispitivanja Aptima HPV Assay: opis panela, negativno slaganje i percentil raspodjele vrijednosti za S/CO analita za sastavnice panela s očekivanim negativnim rezultatima

Opis panela (kopije ili stanice/reakcija)	Studija 1 (3 lokacije testiranja)	Studija 2 (1 lokacija testiranja)
	% negativnog slaganja (95 %-tni CI)	% negativnog slaganja (95 %-tni CI)
HPV 18 IVT (1 kopija)*	78,8 (126/160) (71,8, 84,4)	83,3 (135/162) (76,8, 88,3)
HPV 16 IVT (1 kopija)*	80,9 (131/162) (74,1, 86,2)	88,3 (143/162) (82,4, 92,4)
HeLa stanice (0,05 stanica)*	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)	82,1 (133/162) (75,5, 87,2)
SiHa stanice (0,03 stanica)*	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
STM serije 1	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM serije 2	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM serije 3	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Pool uzoraka ThinPrep 1	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
Pool uzoraka ThinPrep 2	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)	96,3 (156/162) (92,2, 98,3)
Pool uzoraka ThinPrep 3	100 (162/162) (97,7, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

STM = transportni medij za uzorke; IVT = *in vitro* transkript. IVT je dodan u STM, a stanice su dodane u otopinu PreservCyt Solution.

*Očekivani % negativnog slaganja > 75 % i < 100 %.

Tablica 24: Studija 1 obnovljivosti ispitivanja Aptima HPV Assay: varijabilnost signala za sastavnice panela s očekivanim pozitivnim rezultatima

Opis panela (kopije ili stanice/reakcija)	n	Srednja vrijed- nost za S/CO	Između lokacija		Između korisnika		Između serija		Između radnih popisa		Unutar radnih popisa		Ukupno	
			SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)
HPV 16 i HPV 18 IVT (100 kopija)	161 [^]	23,4	0,1	0,4	0,1	0,4	0,9	4,0	0	0	1,6	7,0	1,9	8,1
SiHa stanice (3 stanice) i HeLa stanice (7,5 stanica)	162	17,9	0	0	1,4	8,1	0	0	0,6	3,1	5,1	28,6	5,3	29,9
HPV 18 IVT (100 kopija)	162	11,8	0	0	0	0	0,8	6,4	0,1	0,9	1,2	10,1	1,4	12,0
HPV 16 IVT (100 kopija)	162	10,8	0,2	1,5	0	0	0,1	1,1	0,3	2,6	0,3	3,1	0,5	4,5
MS751 stanice (1 stanica)	162	13,3	0,3	2,1	0	0	1,0	7,8	0,9	7,1	2,2	16,2	2,6	19,4
ME180 stanice (0,3 stanica)	162	6,5	0,2	3,2	0	0	0,6	8,6	0,4	5,5	2,4	36,2	2,5	37,7
HPV 18 IVT (30 kopija)	162	9,0	0,7	7,3	0	0	0,7	7,2	0,8	8,3	2,3	25,3	2,6	28,5
HPV 16 IVT (30 kopija)	162	10,8	0,1	0,8	0	0	0,1	1,3	0,4	3,8	0,9	8,4	1,0	9,3
HeLa stanice (2,5 stanica)	162	12,4	0	0	0,4	3,3	0,4	3,1	0	0	2,3	18,4	2,4	19,0
SiHa stanice (1 stanica)	162	7,5	0,3	3,7	1,0	13,0	0	0	0	0	4,8	63,6	4,9	65,0

SD = standardna devijacija; KV = koeficijent varijacije; IVT = *in vitro* transkript; S/CO = omjer signala i granične vrijednosti
[^]Jedan uzorak imao je nevažeći rezultat na ispitivanju Aptima HPV Assay i nije bio uključen u analize.

Napomena: Varijabilnost proizašla iz nekih čimbenika može biti brojčano negativna. To se može dogoditi ako je varijabilnost zbog tih čimbenika vrlo mala. U tim se slučajevima SD i KV prikazuju kao 0.

Tablica 25: Studija 2 obnovljivosti ispitivanja Aptima HPV Assay: varijabilnost signala za sastavnice panela s očekivanim pozitivnim rezultatima

Opis panela (kopije ili stanice/reakcija)	n	Srednja vrijednost za S/CO	Između instrumenata		Između korisnika		Između serija		Između radnih popisa		Unutar radnih popisa		Ukupno	
			SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)
HPV 16 i HPV 18 IVT (100 kopija)	162	23,2	0,4	1,5	0,6	2,3	0,8	3,4	0,8	3,4	1,5	6,3	2,0	8,4
SiHa stanice (3 stanice) i HeLa stanice (7,5 stanica)	162	18,6	0	0	1,7	9,3	0	0	3,5	18,6	3,7	20,0	5,4	28,9
HPV 18 IVT (100 kopija)	160 [^]	11,9	0,1	0,6	0,2	1,6	0,8	7,0	0,4	3,6	1,3	11,3	1,7	13,8
HPV 16 IVT (100 kopija)	162	10,8	0	0	0,1	1,3	0	0	0,2	2,2	0,7	6,1	0,7	6,6
MS751 stanice (1 stanica)	162	13,6	0	0	0,6	4,3	0	0	2,5	18,4	2,1	15,2	3,3	24,2
ME180 stanice (0,3 stanica)	162	5,8	0	0	0,6	10,8	0,5	9,4	2,2	36,9	1,7	29,7	2,9	49,5
HPV 18 IVT (30 kopija)	162	8,8	0,4	4,4	0,5	6,0	0,7	7,9	1,0	11,5	1,9	21,4	2,4	26,6
HPV 16 IVT (30 kopija)	162	10,5	0	0	0,1	1,3	0,2	2,0	1,6	14,9	1,2	11,2	2,0	18,8
HeLa stanice (2,5 stanica)	159 [^]	12,0	0,6	5,1	1,0	8,5	0	0	2,8	23,8	2,0	16,6	3,7	30,6
SiHa stanice (1 stanica)	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 = standardna devijacija; KV = koeficijent varijacije; IVT = *in vitro* transkript; S/CO = omjer signala i granične vrijednosti
[^]Pet uzoraka imalo je nevažeće rezultate na ispitivanju Aptima HPV Assay (2 za HPV 18 IVT (100 kopija), 3 za HeLa stanice (2,5 stanice)) i nije bilo uključeno u analize.

Napomena: Varijabilnost proizašla iz nekih čimbenika može biti brojčano negativna. To se može dogoditi ako je varijabilnost zbog tih čimbenika vrlo mala. U tim se slučajevima SD i KV prikazuju kao 0.

Provedena je i treća studija kako bi se utvrdila obnovljivost ispitivanja testiranjem panela sa 6 sastavnica poola kliničkih uzoraka tekućinske citologije ThinPrep. Šest jedinstvenih poolova preostalih uzoraka tekućinske citologije ThinPrep negativnih na HPV pripremljeno je kao matrica, od kojih su dvije testirane kao sastavnice panela negativnog na HPV. Četiri jedinstvena poola uzoraka tekućinske citologije ThinPrep pozitivna na HPV upotrijebljena su za pripremu sastavnica panela nisko (n = 2) i visoko (n = 2) pozitivnih na HPV. Nisko pozitivne sastavnice panela imale su koncentracije na granici detekcije ispitivanja (očekivana pozitivnost: $\geq 95\%$ utvrđeno za svaki pojedinačni pool pozitivan na HPV na testiranju serijskih razrjeđenja poolova). Visoko pozitivne sastavnice panela imale su koncentracije od 1 – 2 log iznad procijenjene granice detekcije za svaki pojedinačni pool pozitivan na HPV (očekivana pozitivnost: 100 %-tna pozitivnost). Svaka sastavnica panela je na dan testiranja prenesena (1 mL) u epruvetu za prijenos uzorka Aptima koja sadržava STM. Testiranje su unutar ustanove provela 2 korisnika primjenom 1 serije reagensa na 3 instrumenta, u 2 obrade na dan tijekom razdoblja od 6 dana (3 dana za svakog korisnika) u kojima je panel testiran u duplikatu.

Sastavnice panela opisane su u Tablica 26, uz sažetak slaganja s očekivanim rezultatima i vrijednostima za S/CO analita pri 2,5., 50. i 97,5. percentilu raspodjele signala. Varijabilnost S/CO analita za sastavnice panela s očekivanim pozitivnim rezultatima prikazana je u Tablica 27.

Slaganje je iznosilo 100 % za sastavnice panela visoko pozitivne na HPV, $\geq 98,6$ % za sastavnice panela nisko pozitivne na HPV te $\geq 94,4$ % za sastavnice panela negativne na HPV.

Tablica 26: Studija 3 obnovljivosti ispitivanja Aptima HPV Assay: opis panela, postotak slaganja

Opis panela	% slaganja (95 %-tni CI)
Nisko pozitivan 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Nisko pozitivan 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Visoko pozitivan 1	100 (72/72) (94,9, 100)
Visoko pozitivan 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Negativan 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Negativan 2	94,4 (68/72) (86,6, 97,8)

Tablica 27: Studija 3 obnovljivosti ispitivanja Aptima HPV Assay: analiza signala za sastavnice panela s očekivanim pozitivnim rezultatima

Opis panela	n	Srednja vrijednost za S/CO	Između instrumenata		Između korisnika		Između serija		Između radnih popisa		Unutar radnih popisa		Ukupno	
			SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)
Nisko pozitivan 1	72	9,8	0	0	0	0	0	0	2,2	22,8	3,0	30,4	3,7	38,0
Nisko pozitivan 2	72	10,5	0	0	2,2	21,0	0,9	9,0	3,7	35,3	2,7	26,1	5,2	49,5
Visoko pozitivan 1	72	22,7	1,3	5,6	0	0	0,1	0,5	3,0	13,3	3,7	16,4	5,0	21,9
Visoko pozitivan 2	72	23,9	0	0	0	0	0	0	2,9	12,3	3,0	12,4	4,2	17,4

SD = standardna devijacija; KV = koeficijent varijacije; S/CO = omjer signala i granične vrijednosti

Napomena: Varijabilnost proizašla iz nekih čimbenika može biti brojčano negativna. To se može dogoditi ako je varijabilnost zbog tih čimbenika vrlo mala. U tim se slučajevima SD i KV prikazuju kao 0.

Unakrsna reaktivnost

Analićka specifičnost ispitivanja Aptima HPV Assay procijenjena je s pomoću medija PreservCyt Solution razrijeđenog u omjeru 1:2,9 u STM, u koji je zatim dodana uzgojena bakterija, kvasac ili gljivica, uzgojeni virus ili *in vitro* transkripti niskorizičnog HPV-a. Organizmi i testne koncentracije navedeni su u Tablica 28. Kriteriji studije za procjenu učinka prisutnosti mikroorganizma na specifičnost ispitivanja temeljeni su na pozitivnosti. Zabilježena je unakrsna reaktivnost s niskorizičnim genotipovima HPV-a 26, 67, 70 i 82, ali ne i s bilo kojim drugim testiranim organizmom.

Tablica 28: Panel analitičke specifičnosti: organizmi i koncentracija bez unakrsne reaktivnosti

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

Tablica 28: Panel analitičke specifičnosti: organizmi i koncentracija bez unakrsne reaktivnosti (continued)

Organizam	Test koncentracija bez unakrsne reaktivnosti	Organizam	Test koncentracija bez unakrsne reaktivnosti
Kvasci/protozoe			
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 ⁸ CFU/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 x 10 ⁷ cells/mL
Virusi			
Adenovirus 2	1 x 10 ⁷ vp/mL	Herpes simplex virus 1	2,5 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
Citomegalovirus	5,6 x 10 ² TCID ₅₀ /mL	Herpes simplex virus 2	5 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /mL
Epstein-Barrov virus	4,3 x 10 ⁶ vp/mL	SV40	1,2 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /mL
HIV-1	1,0 x 10 ⁶ kopija/mL		
Neciljani genotipovi HPV-a			
HPV 6	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL	HPV 61	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL
HPV 11	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL	HPV 67	1 kopija/mL
HPV 26	2,5 kopija/mL	HPV 69	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL
HPV 30	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL	HPV 70	1 kopija/mL
HPV 34	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL	HPV 71	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL
HPV 42	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL	HPV 73	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL
HPV 43	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL	HPV 81	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL
HPV 44	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL	HPV 82	1 kopija/mL
HPV 53	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL	HPV 85	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL
HPV 54	2,5 x 10 ⁶ kopija/mL		

vp = virusne čestice (eng. viral particles) CFU = jedinice koje formiraju kolonije (eng. colony forming units) TCID₅₀ = infektivna doza za 50 % kulture tkiva

Napomena: Podebljana slova označavaju da je zabilježena unakrsna reaktivnost (> 5 % pozitivnosti) kod testiranja pri koncentracijama većim od onih navedenih u tablici.

Analitička osjetljivost ispitivanja Aptima HPV Assay u prisutnosti mikroorganizama procijenjena je jednakim panelom opisanim u Tablica 28, u koji je također dodana niska koncentracija SiHa stanica (1 stanica po reakciji) zaraženih HPV-om. Kriteriji studije za procjenu učinka prisutnosti mikroorganizma na osjetljivost ispitivanja temeljeni su na pozitivnosti. Nijedan testirani organizam nije utjecao na osjetljivost ispitivanja Aptima HPV Assay.

Interferencija

Tvari opisane u Tablica 29 pojedinačno su dodane u otopinu PreservCyt Solution pri 1 % i 10 % v/v ili w/v, a zatim razrijeđene STM-om i testirane ispitivanjem Aptima HPV Assay. Sve tvari testirane su u prisutnosti i odsutnosti uzgojenih stanica (SiHa, 3 stanice/reakcija) zaraženih HPV-om. Interferencija je zabilježena kod dva od sedam lubrikanata koji su sadržavali polikvaternij-15 te kod jednog od pet lijekova protiv gljivica koji su sadržavali tiokonazol. Nije zabilježena interferencija s drugim testiranim tvarima.

Tablica 29: Tvari testirane zbog moguće interferencije s ispitivanjem Aptima HPV Assay

Kategorija proizvoda	Robna marka ili vrsta proizvoda	Najviša testirana koncentracija* koja nije interferirala s radnim učinkom ispitivanja
Lubrikant	Sensual Mist	10 % v/v
	KY Warming Jelly	10 % w/v
	KY Warming Liquid	10 % v/v
	Intimni lubrikant robne marke CVS	10 % w/v
	Zagrijavajući losion za masažu i intimni lubrikant robne marke Target	10 % v/v
	Intimni lubrikant Astroglide	0,3% w/v (0,075 % w/v testnog uzorka)
	Tekući lubrikant robne marke Target	0,1% v/v (0,025 % v/v testnog uzorka)
Spermicid	Vaginalna kontracepcija Gynol II, originalna formula	10 % w/v
	Vaginalna kontracepcija Gynol II, ekstra jaka	10 % w/v
	Vaginalna kontraceptivna pjena Delfen	10 % w/v
	Vaginalna kontracepcija Encare	10 % w/v
	Vaginalna kontracepcija Conceptrol	10 % w/v
Lijek protiv gljivica / za ublažavanje svrbeža	Vagisil Maximum Strength	10 % w/v
	Monistat Soothing Care	10 % w/v
	Monistat 3 Combination Pack	10 % w/v
	Tiokonazol 1 robne marke Target	0,3% w/v (0,075 % w/v testnog uzorka)
	Mikonazol 3 robne marke Target	10 % w/v
Ledena octena kiselina	EMD M/N AX0073-11	10 % v/v
Puna krv	puna krv	10 % v/v

*Intimni lubrikanti koji sadržavaju polikvaternij-15.

Očekivani rezultati za sustav Panther: prevalencija mRNK visokorizičnog HPV-a

Prevalencija infekcije visokorizičnim HPV-om uvelike varira i na nju utječe nekoliko čimbenika, od kojih najveći doprinos ima dob.^{32,33} Mnoge su studije istraživale prevalenciju HPV-a utvrđenu otkrivanjem DNK HPV-a, no malo studija izvještava o prevalenciji na temelju otkrivanja onkogene mRNK HPV-a. Žene s različitih kliničkih lokacija (n = 18) koje predstavljaju široku geografsku rasprostranjenost i raznoliku populaciju (10 država u Sjedinjenim Američkim Državama) bile su uključene u prospektivnu kliničku studiju poznatu i kao ispitivanje CLEAR.³⁴ Kako je utvrđeno ispitivanjem Aptima HPV Assay na sustavu Panther, prevalencija uzoraka pozitivnih na mRNK HPV-a zabilježena u kliničkom ispitivanju sveukupno je kategorizirana prema dobnoj skupini i prema lokaciji testiranja. Rezultati za populacije ASC-US (atipične skvamozne stanice neodređenog značenja) i NILM (negativno na intraepitelnu leziju ili malignitet) prikazani su u Tablica30.

Tablica 30: Prevalencija mRNK visokorizičnog HPV-a prema dobnoj skupini, lokaciji testiranja i kombinirano

	% stope pozitivnosti (x/n)	
	Populacija ASC-US (≥ 21 godina)	Populacija NILM (≥ 30 godina)
Svi	42,3 (404/956)	4,7 (512/10.860)
Dobna skupina (godine)		
21 do 29	60,0 (251/418)	N/P
30 do 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
Lokacija testiranja		
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/P = nije primjenjivo

Dizajn kliničke studije ispitivanja Aptima HPV Assay s uzorcima tekućinske citologije ThinPrep

Ispitivanje Aptima HPV Assay na sustavu Panther procijenjeno je s pomoću preostalih referalnih uzoraka citologije prikupljenih od žena koje su za to dale privolu tijekom prospektivne, multicentrične američke kliničke studije poznate i kao ispitivanje CLEAR.³⁴

Ispitivanje CLEAR – početna procjena

Ispitivanje CLEAR provedeno je u svrhu utvrđivanja kliničkog radnog učinka ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Tigris DTS u otkrivanju skvamozne intraepitelne lezije 2. stupnja ili ozbiljnije bolesti vrata maternice (\geq CIN2). Ispitivanje CLEAR obuhvaćalo je početnu procjenu i kontrolnu procjenu u trajanju od 3 godine. Žene su uključene u studiju ASC-US ili studiju NILM ovisno o citološkim nalazima rutinskog probira raka vrata maternice. Populacija studije ASC-US obuhvaćala je žene u dobi od 21 godine i starije s citološkim nalazima ASC-US, a populacija studije NILM obuhvaćala je žene u dobi od 30 godina i starije s citološkim nalazima NILM. Studija NILM osmišljena je za održavanje dodatne tvrdnje probira za žene u dobi od 30 godina i starije jer bi žene tog dobnog raspona s citološkim nalazima višim od ASC-US trebale nastaviti s kolposkopijom neovisno o njihovom statusu HPV-a.³⁵

U studiju su uključene žene s 18 kliničkih lokacija, prvenstveno iz opstetričkih/ginekoloških klinika, koje su obuhvatile široku geografsku rasprostranjenost i raznoliku populaciju. Žene koje su zadovoljavale uvjete dodijeljene su studiji ASC-US ili studiji NILM ovisno o njihovom referalnom uzorku tekućinske citologije ThinPrep. Na početku su preostali referalni uzorci žena iz studije ASC-US i iz studije NILM testirani s pomoću ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Tigris DTS i komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a. Uzorci su tada arhivirani i pohranjeni na temperaturi od -70 °C do testiranja s pomoću ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Panther.

Na početku ispitivanja CLEAR (početna faza) sve su žene iz studije ASC-US upućene na kolposkopiju, neovisno o njihovim rezultatima testa HPV-a. Prikupljeni su uzorci endocervikalne kiretaže (eng. endocervical curettage, ECC) i ubodne biopsije vrata maternice (1 biopsija na svakom od 4 kvadranta). Ako je bila vidljiva lezija, prikupljeni su uzorci ubodne biopsije (usmjerena metoda; 1 biopsija po leziji), a kod kvadranta bez vidljive lezije provedena je biopsija na skvamokolumnarnoj granici (nasumična metoda).

U studiji NILM, žene pozitivne na ispitivanju Aptima HPV Assay na sustavu Tigris DTS i/ili komercijalno dostupnom testu DNK HPV-a, kao i nasumično odabrane žene koje su bile negativne primjenom oba ispitivanja, upućene su na kolposkopiju u svrhu početne evaluacije. Nasumično odabrane žene koje su bile negativne na oba ispitivanja uključene su radi ispravka zbog pristranosti potvrde s prilagođenim procjenama radnog učinka generiranima s pomoću metode višestruke imputacije. Uzorak biopsije ECC-om prikupljen je od svake žene koja je bila podvrgnuta kolposkopiji. Uzorci ubodne biopsije prikupljeni su samo iz vidljivih lezija (usmjerena metoda; 1 biopsija po leziji).

Status bolesti utvrđen je konsenzusnim panelom za procjenu histoloških nalaza, koji je temeljen na sporazumu najmanje 2 stručna patologa. Stručnim patolozima status HPV-a žena bio je skriven. Skriven im je bio i citološki status, kao i njihove međusobne histološke dijagnoze. Ako se sva 3 patologa nisu slagala, sva 3 patologa morala su pregledati stakalca pod mikroskopom s više glava kako bi se dobio konsenzusni rezultat. Znanstvenicima, liječnicima i ženama rezultati testa na HPV skriveni su do završetka pregleda kolposkopije kako bi se izbjegla pristranost.

Početni klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay u otkrivanju \geq CIN2 i skvamozne intraepitelne lezije 3. stupnja ili ozbiljnije bolesti vrata maternice (\geq CIN3) procijenjen je u odnosu na status cervikalne bolesti utvrđen na početku studije. Radi izravne usporedbe rezultata ispitivanja Aptima HPV Assay utvrđen je i klinički radni učinak komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a.

Ispitivanje CLEAR – kontrolna procjena

Žene iz studije NILM s 14 kliničkih lokacija zadovoljile su uvjete za sudjelovanje u kontrolnoj fazi studije u trajanju od 3 godine ako: i) su na početku studije bile podvrgnute pregledu kolposkopije i nisu imale \geq CIN2, ili ii) na početku studije nisu bile podvrgnute pregledu kolposkopije. Kontrolna faza studije sastojala se od godišnjih pregleda. Na tim je pregledima za svaku ženu provedeno uzorkovanje vrata maternice za citologiju, a neke su žene također testirane komercijalno dostupnim testom na HPV. Žene s dijagnozom ASC-US ili ozbiljnijim citološkim nalazima tijekom kontrolnog su razdoblja upućene na kolposkopiju u sklopu koje se provode jednaki postupci biopsije i histološkog pregleda koji su provedeni u početnoj procjeni studije NILM. Status bolesti vrata maternice na kontrolnom se pregledu smatrao „negativnim” na temelju citološkog nalaza NILM ili na temelju normalnih rezultata odnosno rezultata CIN1 konsenzusnog panela za procjenu histoloških nalaza, što je bio slučaj kod žena s abnormalnim rezultatima citološkog testa. Za žene kod kojih je tijekom kontrolnog razdoblja utvrđen rezultat \geq CIN2 smatralo se da su završile kontrolu te nakon otkrivanja rezultata \geq CIN2 nisu bile podvrgnute daljnjim pregledima. Za žene kod kojih tijekom kontrolnog razdoblja nije utvrđen rezultat \geq CIN2, ali su bile podvrgnute pregledu tijekom 1. kontrolne godine i/ili 2. kontrolne godine te pregledu tijekom 3. kontrolne godine smatralo se da su završile kontrolu.

Cilj kontrolne studije bila je usporedba trogodišnjeg kumulativnog rizika od bolesti vrata maternice kod žena s početnim pozitivnim rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay s trogodišnjim kumulativnim rizikom od bolesti vrata maternice kod žena s početnim negativnim rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay. Status bolesti vrata maternice u razdoblju od 3 godine utvrđen je na sljedeći način:

- Pozitivan status bolesti vrata maternice (\geq CIN2 i/ili \geq CIN3) – žene s utvrđenim rezultatom \geq CIN2 na početku studije ili tijekom kontrolnog razdoblja.
- Negativan status bolesti vrata maternice ($<$ CIN2) – žene sa završenom kontrolom bez utvrđenog rezultata \geq CIN2 za koje se smatralo da nemaju „neodređeni” status bolesti vrata maternice.
- Neodređeni status bolesti vrata maternice – žene s abnormalnim rezultatima citološkog testa tijekom kontrole koje nisu imale naknadni rezultat koji je utvrdio konsenzusni panel za procjenu histoloških nalaza ili žene koje su na posljednjem pregledu imale neodgovarajući citološki nalaz.
- „Izgubljeni u kontroli” (eng. lost to follow-up) – žene koje nisu završile kontrolu i za koje se ne smatra da imaju „neodređeni” status bolesti vrata maternice.

Klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Panther u otkrivanju \geq CIN2 i \geq CIN3 procijenjen je u odnosu na status bolesti vrata maternice u razdoblju od 3 godine.

Radni učinak sustava Panther

Populacija ASC-US ≥ 21 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay

Sveukupno su u studiju ASC-US bile uključene 1252 žene u dobi od 21 godine i starije s citološkim nalazima ASC-US, a njih 294 povučeno je iz studije. Preostalih 958 žena zadovoljilo je uvjete za testiranje na sustavu Panther. Za dvije žene nedostajali su uzorci, a njih 19 imalo je neodređenu dijagnozu bolesti. Sve su isključene iz analize. Preostalih 937 žena koje su se mogle procijeniti bile su u dobi od 21 godine i starije, s citološkim nalazima ASC-US, rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Panther i nedvojbenim statusom bolesti. Devedeset i jedna (91) žena imala je rezultat ≥ CIN2, a četrdeset i jedna (41) žena imala je rezultat ≥ CIN3. Prevalencija rezultata ≥ CIN2 i ≥ CIN3 u žena koje su se mogle procijeniti i s citološkim nalazima ASC-US bila je 9,7 % odnosno 4,4 %. Rezultati ispitivanja Aptima HPV Assay utvrđeni dijagnozama konsenzusnog panela za procjenu histoloških nalaza prikazani su u Tablica 31.

Tablica 31: Populacija ASC-US ≥ 21 godina: rezultati ispitivanja Aptima HPV Assay utvrđeni dijagnozom konsenzusnog panela za procjenu histoloških nalaza

Rezultat ispitivanja Aptima HPV*	Test DNK HPV-a	Dijagnoza konsenzusnog panela za procjenu histoloških nalaza						
		Neodređeno**	Normalno	CIN1	CIN2	CIN3	Karcinom	Ukupno
Pozitivan	Pozitivan	6	178	110	40	32	1	367
Pozitivan	Negativan	0	5	2	0	2	0	9
Pozitivan	Bez rezultata***	0	15	11	0	2	0	28
Negativan	Pozitivan	0	39	15	3	3	0	60
Negativan	Negativan	10	372	53	7	1	0	443
Negativan	Bez rezultata***	3	39	7	0	0	0	49
Ukupno		19	648	198	50	40	1****	956

*Svi uzorci imali su važeće konačne rezultate (nakon početnog testiranja ili nakon razrješenja nevažećih rezultata po postupku).

**19 ispitanica podvrgnuto je pregledu kolposkopije, ali dijagnoza nije mogla biti postavljena iz sljedećih razloga: < 5 prikupljenih uzoraka biopsije s normalnim/CIN1 histološkim rezultatima (n = 15), uzorci biopsije nisu prikupljeni (n = 3) i stakalca s uzorcima biopsije su izgubljena (n = 1).

***77 žena s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

****Jedna ispitanica imala je adenokarcinom in situ (AIS).

Procjene kliničkog radnog učinka ispitivanja Aptima HPV Assay, uključujući osjetljivost, specifičnost, pozitivnu prediktivnu vrijednost (PPV) i negativnu prediktivnu vrijednost (NPV), u otkrivanju ≥ CIN2 i ≥ CIN3, temeljene na procjeni svih biopsija i uključivanju samo usmjerenih uzoraka biopsije, kao i procjene komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a prikazane su u Tablica 32.

Tablica 32: Populacija ASC-US ≥ 21 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a u otkrivanju ≥ CIN2 i ≥ CIN3

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

*74 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

**Konsenzusni rezultat histološkog uzorka izveden je isključivo s pomoću rezultata iz usmjerenih biopsija. Žene bez uzoraka usmjerenih biopsija odraz su normalne kolposkopije te su u ove analize uključene kao ispitanice bez oboljenja (< CIN2 ili < CIN3, prema potrebi). Konsenzus se nije uvijek postigao kada su bile uključene samo usmjerene biopsije.

Kod procjenjivanja svih biopsija, procjene kliničke osjetljivosti ispitivanja Aptima HPV Assay i komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a u otkrivanju \geq CIN2 i \geq CIN3, gdje su dostupni rezultati oba ispitivanja, bile su slične (razlike u procjenama osjetljivosti nisu bile statistički značajne). Za \geq CIN2 razlika u osjetljivosti iznosila je -4,5 % (95 %-tni CI: -12,2 %, 2,5 %). Procjene kliničke specifičnosti ispitivanja Aptima HPV Assay za otkrivanje \geq CIN2 i \geq CIN3 bile su više od onih na komercijalno dostupnom testu DNK HPV-a (razlike u procjenama specifičnosti bile su statistički značajne). Za \geq CIN2 razlika u specifičnosti iznosila je 6,1% (95 %-tni CI: 4,2%, 8,2%). PPV ispitivanja Aptima HPV Assay je u otkrivanju \geq CIN2 bio blago viši od PPV-a komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a (19,3% u odnosu na 18,8%), dok su im NPV-ovi bili slični.

Od 91 slučaja s rezultatom \geq CIN2, njih 60 (65,9 %) identificirano je putem usmjerenih biopsija, dok je 31 (34,1 %) identificiran putem nasumične biopsije i/ili biopsije ECC-om (tj. biopsijama koje nisu bile usmjerene). Ti nalazi usporedivi su s rezultatima objavljenih studija u kojima je otprilike 25 % do 40 % slučajeva s rezultatima \geq CIN2 identificirano samo u uzorcima nasumične biopsije i/ili biopsije ECC-om.^{36,37} Kada su se za utvrđivanje statusa bolesti upotrebljavale samo usmjerene biopsije (pod pretpostavkom da su žene bez usmjerenih biopsija imale normalne histološke rezultate jer nisu imale vidljive lezije), prevalencija rezultata \geq CIN2 i \geq CIN3 u studiji iznosila je 6,4 % odnosno 3,1 %. Procjene kliničke osjetljivosti za otkrivanje \geq CIN2 i \geq CIN3 bile su više za oba testa koja su upotrebljavala samo usmjerene biopsije u odnosu na procjene izračunate primjenom svih biopsija. Za oba je ispitivanja klinička specifičnost izračunata primjenom samo usmjerenih biopsija bila slična specifičnosti dobivenoj kada su bile uključene sve biopsije. Sukladno tome, kada su se upotrebljavale samo usmjerene biopsije, specifičnost ispitivanja Aptima HPV Assay bila je znatno veća od specifičnosti komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a.

Procjene kliničkog radnog učinka ispitivanja Aptima HPV Assay i komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a prikazane su u Tablica 33 i Tablica 34 (\geq CIN2 odnosno \geq CIN3 na temelju procjena svih biopsija) prema dobnoj skupini.

Tablica 33: Populacija ASC-US ≥ 21 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a u otkrivanju ≥ CIN2 prema dobnj skupini

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

*74 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Tablica 34: Populacija ASC-US ≥ 21 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a u otkrivanju ≥ CIN3 prema dobnoj skupini

	Radni učinak	Ispitivanje Aptima HPV Assay N = 937		Test DNK HPV-a N = 863*	
		Procjena	(95 %-tni CI)	Procjena	(95 %-tni CI)
21 do 29 godina		N = 415		N = 389	
	Osjetljivost (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Specifičnost (%)	42,5 (165/388)	(37,7, 47,5)	33,0 (120/364)	(28,3, 38,0)
	PPV (%)	10,4 (26/249)	(9,0, 11,5)	9,3 (25/269)	(8,2, 10,0)
	NPV (%)	99,4 (165/166)	(97,2, 100)	100 (120/120)	(97,5, 100)
	Prevalencija (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
30 do 39 godina		N = 261		N = 238	
	Osjetljivost (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Specifičnost (%)	64,3 (162/252)	(58,2, 69,9)	59,8 (137/229)	(53,4, 66,0)
	PPV (%)	8,2 (8/98)	(5,0, 10,1)	7,1 (7/99)	(4,0, 9,2)
	NPV (%)	99,4 (162/163)	(97,6, 100)	98,6 (137/139)	(96,4, 99,8)
	Prevalencija (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
≥ 40 godina		N = 261		N = 236	
	Osjetljivost (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Specifičnost (%)	81,3 (208/256)	(76,0, 85,6)	78,8 (182/231)	(73,1, 83,6)
	PPV (%)	5,9 (3/51)	(1,6, 9,7)	7,5 (4/53)	(2,9, 10,7)
	NPV (%)	99,0 (208/210)	(98,0, 99,9)	99,5 (182/183)	(98,2, 100)
	Prevalencija (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Apsolutni rizik od bolesti (\geq CIN2 i \geq CIN3 na temelju procjena svih biopsija) prema rezultatu ispitivanja Aptima HPV Assay i relativni rizik od bolesti utvrđen za pozitivne rezultate ispitivanja Aptima HPV Assay u odnosu na negativne, kao i procjene komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a prikazani su u Tablica 35. Relativni rizik za \geq CIN2 iznosio je 7,4 (95 %-tni CI: 4,3, 13,0), što ukazuje na to da je žena koja je bila pozitivna na ispitivanju Aptima HPV Assay imala 7,4 puta veću vjerojatnost da će imati rezultat \geq CIN2 od žene koja je bila negativna na ispitivanju Aptima HPV Assay. Relativni rizik za \geq CIN3 iznosio je 12,5 (95 %-tni CI: 4,5, 34,9).

Tablica 35: Populacija ASC-US \geq 21 godina: apsolutni i relativni rizici za \geq CIN2 i \geq CIN3 na rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a

	Rezultat ispitivanja	Ispitivanje Aptima HPV Assay N = 937		Test DNK HPV-a N = 863*	
		Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)	Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)
\geq CIN2	Pozitivan	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)
	Negativan	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prevalencija (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
\geq CIN3	Pozitivan	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)
	Negativan	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prevalencija (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

*74 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Procjene apsolutnog i relativnog rizika od bolesti (\geq CIN2 i \geq CIN3 na temelju procjena svih biopsija) za ispitivanje Aptima HPV Assay i komercijalno dostupan test DNK HPV-a prikazane su u Tablica 36 prema dobnoj skupini.

Tablica 36: Populacija ASC-US \geq 21 godina: apsolutni i relativni rizici za \geq CIN2 i \geq CIN3 na rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a prema dobnoj skupini

	Dob	Rezultat ispitivanja	Ispitivanje Aptima HPV Assay N = 937		Test DNK HPV-a N = 863*	
			Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)	Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)
\geq CIN2	21 do 29 godina		N = 415		N = 389	
		Pozitivan	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)
		Negativan	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalencija (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 do 39 godina		N = 261		N = 238	
		Pozitivan	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)
		Negativan	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalencija (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	\geq 40 godina		N = 261		N = 236	
		Pozitivan	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)
		Negativan	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)	
		Prevalencija (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	
\geq CIN3	21 do 29 godina		N = 415		N = 389	
		Pozitivan	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Ne može se izračunati
		Negativan	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalencija (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 do 39 godina		N = 261		N = 238	
		Pozitivan	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)
		Negativan	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalencija (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	\geq 40 godina		N = 261		N = 236	
		Pozitivan	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)
		Negativan	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)	
		Prevalencija (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Populacija NILM \geq 30 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay s uzorcima tekućinske citologije ThinPrep na početku studije

Sveukupno su u studiju NILM bile uključene 11.644 žene s citološkim nalazima NILM, a njih 773 povučeno je iz studije. Preostalih 10.871 žena zadovoljilo je uvjete za testiranje na sustavu Panther. Za jedanaest žena nedostajali su uzorci te su isključene iz početne procjene ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Panther. 10.860 preostalih žena koje su se mogle procijeniti bile su u dobi od 30 godina i starije, s citološkim nalazima NILM i rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Panther. Od 512 žena s pozitivnim rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Panther, njih 284 je kolposkopiji podvrgnuto na početku studije. Od 10.348 žena s negativnim rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay, njih 580 je kolposkopiji podvrgnuto na početku studije. Dvadeset (20) žena imalo je rezultat \geq CIN2 i jedanaest (11) žena imalo je rezultat \geq CIN3; 798 žena imalo je normalan/CIN1 histološki rezultat; 46 žena imalo je neodređen status bolesti. Rezultati ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Panther utvrđeni dijagnozom konsenzusnog panela za procjenu histoloških nalaza na početku studije prikazani su u Tablica 37.

Tablica 37: Populacija NILM \geq 30 godina: početni rezultati ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a utvrđeni dijagnozom konsenzusnog panela za procjenu histoloških nalaza

Rezultat ispitivanja Aptima HPV Assay*	Test DNK HPV-a	Dijagnoza konsenzusnog panela za procjenu histoloških nalaza						
		Neodređeno**	Normalno	CIN1	CIN2	CIN3	Karcinom	Ukupno
Pozitivan	Pozitivan	11	211	12	4	7	2	247
Pozitivan	Negativan	2	19	0	0	0	1	22
Pozitivan	Bez rezultata***	2	12	1	0	0	0	15
Negativan	Pozitivan	10	170	7	2	1	0	190
Negativan	Negativan	20	353	9	2	0	0	384
Negativan	Bez rezultata***	1	4	0	1	0	0	6
Ukupno		46	769	29	9	8	3****	864

*Svi uzorci imali su važeće konačne rezultate (nakon početnog testiranja ili nakon razrješenja nevažećih rezultata po postupku).

**46 ispitanica podvrgnuto je pregledu kolposkopije, ali dijagnoza nije mogla biti postavljena iz sljedećih razloga: utvrđeno je da su uzorci biopsije neodgovarajući (n = 29), uzorci biopsije nisu prikupljeni (n = 15) i stakalca s uzorcima biopsije su izgubljena (n = 2).

***21 žena s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

****Tri žene imale su adenokarcinom in situ (AIS).

Na početku studije sveukupno 10.042 žene su imale nepotvrđeni (uključujući i neodređeni) status bolesti (Tablica 38). Budući da su samo nasumično odabrane žene s negativnim rezultatima na ispitivanju Aptima HPV Assay na sustavu Tigris DTS i komercijalno dostupnom testu DNK HPV-a upućene na kolposkopiju, udio žena s nepotvrđenim statusom bolesti u ovoj je skupini bio visok (96,6 %). Radi prilagođavanja zbog ove pristranosti potvrde, za procjenu broja žena s bolesti koja bi se identificirala da su bile podvrgnute kolposkopiji upotrebljavala se metoda višestruke imputacije. Prikazane su procjene radnog učinka prilagođene za pristranost potvrde i neprilagođene procjene radnog učinka temeljene na 818 žena s potvrđenim statusom bolesti.

Tablica 38: Populacija NILM \geq 30 godina: klasifikacija žena koje su se mogle procijeniti s rezultatima NILM na ispitivanju Aptima HPV Assay i testu DNK HPV-a, status bolesti (\geq CIN2 i \geq CIN3) i status potvrde bolesti

Rezultat ispitivanja Aptima HPV*		Test DNK HPV-a	Ukupno žena	Potvrđeni status bolesti: \geq CIN2		Potvrđeni status bolesti: \geq CIN3		Nepotvrđeni status bolesti
Sustav Panther	Sustav Tigris DTS			Oboljele žene (\geq CIN2)	Neoboljele žene (< CIN2)	Oboljele žene (\geq CIN3)	Neoboljele žene (< CIN3)	Žene s nepoznatim statusom bolesti (% nepoznatih)
Pozitivan	Pozitivan	Pozitivan	313	13	189	9	193	111 (35,5%)
Pozitivan	Pozitivan	Negativan	37	1	18	1	18	18 (48,6%)
Pozitivan	Pozitivan	Bez rezultata**	22	0	13	0	13	9 (40,9%)
Pozitivan	Negativan	Pozitivan	70	0	34	0	34	36 (51,4%)
Pozitivan	Negativan	Negativan	60	0	1	0	1	59 (98,3%)
Pozitivan	Negativan	Bez rezultata**	10	0	0	0	0	10 (100%)
Negativan	Pozitivan	Pozitivan	46	0	33	0	33	13 (28,3%)
Negativan	Pozitivan	Negativan	113	1	41	0	42	71 (62,8%)
Negativan	Pozitivan	Bez rezultata**	8	0	4	0	4	4 (50,0%)
Negativan	Negativan	Pozitivan	236	3	144	1	146	89 (37,7%)
Negativan	Negativan	Negativan	9.354	1	321	0	322	9.032 (96,6%)
Negativan	Negativan	Bez rezultata**	591	1	0	0	1	590 (99,8%)
Ukupno			10.860	20	798	11	807	10.042 (92,5%)

*Svi uzorci imali su konačne rezultate (nakon početnog testiranja ili nakon razrješenja nevažećih rezultata po postupku).

**631 žena s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imala rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Prilagođena prevalencija rezultata \geq CIN2 i \geq CIN3 u žena s citološkim nalazima NILM bila je 0,9 % odnosno 0,4 %. Prilagođene procjene apsolutnog i relativnog rizika za početno otkrivanje \geq CIN2 i \geq CIN3 prikazane su u Tablica 39. Prilagođeni relativni rizik za \geq CIN2 iznosio je 7,5 (95 %-tni CI: 2,1, 26,3), što ukazuje na to da žena koja je pozitivna na ispitivanju Aptima HPV Assay ima 7,5 puta veću vjerojatnost da će imati rezultat \geq CIN2 od žene koja je negativna na ispitivanju Aptima HPV Assay. Prilagođeni relativni rizik za \geq CIN3 iznosio je 24,9 (95 %-tni CI: 2,0, 307,0). Sveukupne neprilagođene procjene apsolutnog i relativnog rizika za početno otkrivanje \geq CIN2 i \geq CIN3 prikazane su u Tablica 40, a procjene prema dobnj skupini prikazane su u Tablica 41.

Tablica 39: Populacija NILM \geq 30 godina: apsolutni i relativni rizici za \geq CIN2 i \geq CIN3 na rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a (procjene prilagođene za pristranost potvrde) na početku studije

	Rezultat ispitivanja	Ispitivanje Aptima HPV Assay		Test DNK HPV-a	
		Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)	Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)
\geq CIN2	Pozitivan	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negativan	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalencija (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Pozitivan	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negativan	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalencija (%)	0,4		0,4	

Tablica 40: Populacija NILM \geq 30 godina: apsolutni i relativni rizici za \geq CIN2 i \geq CIN3 na rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a (neprilagođene procjene) na početku studije

	Rezultat ispitivanja	Ispitivanje Aptima HPV Assay N = 818		Test DNK HPV-a N = 800*	
		Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)	Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)
\geq CIN2	Pozitivan	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)
	Negativan	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalencija (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
\geq CIN3	Pozitivan	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)
	Negativan	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalencija (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Tablica 41: Populacija NILM ≥ 30 godina: apsolutni i relativni rizici za ≥ CIN2 i ≥ CIN3 na rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a prema dobnoj skupini (neprilagođene procjene) na početku studije

	Dob	Rezultat ispitivanja	Ispitivanje Aptima HPV Assay N = 818		Test DNK HPV-a N = 800*	
			Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)	Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)
≥ CIN2	30 do 39 godina		N = 383		N = 376	
		Pozitivan	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)
		Negativan	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Prevalencija (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 godina		N = 435		N = 424	
		Pozitivan	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)
		Negativan	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
		Prevalencija (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥ CIN3	30 do 39 godina		N = 383		N = 376	
		Pozitivan	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)
		Negativan	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
		Prevalencija (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	≥ 40 godina		N = 435		N = 424	
		Pozitivan	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Ne može se izračunati	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Ne može se izračunati
		Negativan	0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
		Prevalencija (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*18 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Prilagođene procjene kliničkog radnog učinka ispitivanja Aptima HPV Assay, uključujući osjetljivost, specifičnost, PPV i NPV, u otkrivanju \geq CIN2 i \geq CIN3 na početku studije, kao i procjene komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a prikazane su u Tablica 42. Neprilagođene procjene kliničkog radnog učinka prikazane su u Tablica 43. Ispitivanje Aptima HPV Assay i komercijalno dostupan test DNK HPV-a imali su sličnu osjetljivost, dok je ispitivanje Aptima HPV Assay imalo znatno veću specifičnost (nepreklapajući 95 %-tni CI-jevi). Procjene prediktivne vrijednosti ispitivanja Aptima HPV Assay bile su klinički značajne i sličile su procjenama komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a. PPV ispitivanja Aptima HPV Assay je u otkrivanju \geq CIN2 bio blago viši od PPV-a komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a (4,5% u odnosu na 3,7%), dok su im NPV-ovi bili slični.

Tablica 42: Populacija NILM \geq 30 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a u otkrivanju \geq CIN2 i \geq CIN3 (procjene prilagođene za pristranost potvrde) na početku studije

	Radni učinak	Ispitivanje Aptima HPV Assay		Test DNK HPV-a	
		Procjena	(95 %-tni CI)	Procjena	(95 %-tni CI)
\geq CIN2	Osjetljivost (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Specifičnost (%)	95,5	(95,1, 95,9)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,5	(2,7, 7,4)	3,7	(2,3, 6,1)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Prevalencija (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
\geq CIN3	Osjetljivost (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Specifičnost (%)	95,4	(95,0, 95,8)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,0	(1,6, 5,5)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,3, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prevalencija (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Tablica 43: Populacija NILM ≥ 30 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a u otkrivanju ≥ CIN2 i ≥ CIN3 (neprilagođene procjene) na početku studije

	Radni učinak	Ispitivanje Aptima HPV Assay N = 818		Test DNK HPV-a N = 800*	
		Procjena	(95 %-tni CI)	Procjena	(95 %-tni CI)
≥ CIN2	Osjetljivost (%)	70,0 (14/20)	(48,1, 85,5)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Specifičnost (%)	68,0 (543/798)	(64,7, 71,2)	48,8 (381/781)	(45,3, 52,3)
	PPV (%)	5,2 (14/269)	(3,5, 6,6)	3,8 (16/416)	(2,9, 4,5)
	NPV (%)	98,9 (543/549)	(98,1, 99,5)	99,2 (381/384)	(98,1, 99,8)
	Prevalencija (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
≥ CIN3	Osjetljivost (%)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Specifičnost (%)	67,9 (548/807)	(64,6, 71,0)	48,5 (383/789)	(45,1, 52,0)
	PPV (%)	3,7 (10/269)	(2,5, 4,3)	2,4 (10/416)	(1,6, 2,7)
	NPV (%)	99,8 (548/549)	(99,2, 100)	99,7 (383/384)	(98,9, 100)
	Prevalencija (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 žene s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imalo rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Izravna usporedba ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Panther i komercijalno dostupnog testa DNK HPV-a ukazuje na međusobno sličnu osjetljivost te statistički značajno poboljšanu specifičnost ispitivanja Aptima HPV Assay u odnosu na komercijalno dostupni test DNK HPV-a pri otkrivanju \geq CIN2, kako je prikazano omjerima istinski pozitivnih i lažno pozitivnih stopa (Tablica44 odnosno Tablica45).

Tablica 44: Populacija NILM \geq 30 godina: omjer istinski pozitivnih stopa (ispitivanje Aptima HPV Assay / test DNK HPV-a) za žene s \geq CIN2 (neprilagođene procjene) na početku studije

		Test DNK HPV-a		Ukupno
		Pozitivan	Negativan	
Ispitivanje Aptima HPV Assay	Pozitivan	13	1	14 (73,7%)
	Negativan	3	2	5
	Ukupno	16 (84,2%)	3	19
Omjer istinski pozitivnih stopa = 0,88 (14/16) (95 %-tni CI: 0,65, 1,10)				

Tablica 45: Populacija NILM \geq 30 godina: omjer lažno pozitivnih stopa (ispitivanje Aptima HPV Assay / test DNK HPV-a) za žene s $<$ CIN2 (neprilagođene procjene) na početku studije

		Test DNK HPV-a		Ukupno
		Pozitivan	Negativan	
Ispitivanje Aptima HPV Assay	Pozitivan	223	19	242 (31,0%)
	Negativan	177	362	539
	Ukupno	400 (51,2%)	381	781
Omjer lažno pozitivnih stopa = 0,61 (242/400) (95 %-tni CI: 0,55, 0,66)				

Populacija NILM \geq 30 godina: klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Panther nakon 3 godine kontrole

Na početku studije uvjete za kontrolnu fazu zadovoljile su 10.843 žene u dobi od 30 godina i starijoj, s citološkim nalazima NILM i važećim rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Panther. Od žena koje nisu imale rezultat \geq CIN2, 67,0 % (7247/10.823) žena završilo je 1. godinu kontrolnog pregleda s papa testom, 60,3 % (6517/10.814) 2. godinu te 58,7 % (6339/10.807) 3. godinu. Sveukupno je 58,8 % (6.375/10.843) žena završilo studiju (imalo su rezultat \geq CIN2 na početku studije ili tijekom kontrolnog razdoblja i/ili su završile s potrebnim pregledima).

Od 10.843 žena koje je bilo moguće procijeniti, njih 511 (4,7 %) je na početku studije imalo pozitivne rezultate ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Panther. Od navedenih 511 žena, njih 255 (49,9%) imale su pozitivan ili negativan status bolesti u razdoblju od 3 godine na citološkim nalazima ili nalazima kolposkopije/biopsije. Preostale 10.332 žene su na početku studije imale negativne rezultate ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Panther. Od navedenih 10.332 žena, njih 5.946 (57,5%) imale su pozitivan ili negativan status bolesti u razdoblju od 3 godine. Od 6.201 žena sa statusom bolesti u razdoblju od 3 godine, njih

47 imalo je rezultat \geq CIN2, uključujući 23 žene s rezultatom \geq CIN3. 6.154 žena imalo je normalan/CIN1 rezultat koji je utvrdio konsenzusni panel za procjenu histoloških nalaza. Početni rezultati ispitivanja Aptima HPV Assay na sustavu Panther i komercijalno dostupnog ispitivanja DNK HPV-a te status bolesti u razdoblju od 3 godine (uključuje početnu i kontrolnu procjenu) koje je utvrdio konsenzusni panel za procjenu histoloških nalaza prikazani su u Tablica 46.

Tablica 46: Populacija NILM \geq 30 godina: klasifikacija žena koje su prema početnim rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay, početnim rezultatima testa DNK HPV-a i statusu bolesti (\geq CIN2, \geq CIN3, nepotvrđeni status) utvrđenom u početnoj i kontrolnoj fazi zadovoljile uvjete za kontrolnu fazu

Rezultat ispitivanja Aptima HPV Assay	Test DNK HPV-a	Ukupno žena	Potvrđeni status bolesti: \geq CIN2		Potvrđeni status bolesti: \geq CIN3		Nepotvrđeni status bolesti	
			Oboljele žene (\geq CIN2)	Neoboljele žene ($<$ CIN2)	Oboljele žene (\geq CIN3)	Neoboljele žene ($<$ CIN3)	Izgubljeni u kontroli	Neodređeno*
Pozitivan	Pozitivan	382	23	171	16	178	167	21
Pozitivan	Negativan	97	1	48	1	48	44	4
Pozitivan	Bez rezultata**	32	2	10	1	11	17	3
Negativan	Pozitivan	281	5	129	2	132	130	17
Negativan	Negativan	9.452	15	5.476	3	5.488	3.756	205
Negativan	Bez rezultata**	599	1	320	0	321	264	14
Ukupno		10.843	47	6.154	23	6.178	4.378	264

*Žene s abnormalnim rezultatima citološkog testa tijekom kontrole koje nisu imale naknadni rezultat koji je utvrdio konsenzusni panel za procjenu histoloških nalaza i žene koje su na posljednjem pregledu imale neodgovarajući citološki nalaz. 174 žene s neodređenim statusom bolesti završilo je svoje kontrolne preglede u skladu s protokolom.

**631 žena s rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay nije imala rezultate testa DNK HPV-a prvenstveno zbog nedostatnog volumena citološkog uzorka.

Trogodišnji kumulativni rizik od bolesti (\geq CIN2 i \geq CIN3) temeljen je na Kaplan-Meierovoj procjeni (analiza tablice mortaliteta) i obuhvaća bolest otkrivenu na početku studije ili tijekom kontrolnog razdoblja. Žene koje su imale neke indikacije bolesti (ASC-US ili ozbiljniji citološki nalazi), ali nisu imale rezultat koji je utvrdio konsenzusni panel za procjenu histoloških nalaza, u analizu su uključene primjenom metode višestruke imputacije kako bi se predvidio broj žena s bolesti koja bi se identificirala da su bile podvrgnute kolposkopiji.

Procjene trogodišnjeg kumulativnog apsolutnog i relativnog rizika za otkrivanje \geq CIN2 i \geq CIN3 prikazane su u Tablica 47.

Tablica 47: Populacija NILM \geq 30 godina: trogodišnji kumulativni apsolutni i relativni rizici* za \geq CIN2 i \geq CIN3 na rezultatima ispitivanja Aptima HPV Assay i testa DNK HPV-a na početku studije

	Rezultat ispitivanja	Ispitivanje Aptima HPV Assay		Test DNK HPV-a	
		Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)	Apsolutni rizik (95 %-tni CI)	Relativni rizik (95 %-tni CI)
\geq CIN2	Pozitivan	7,90 (5,50, 11,27)	24,45 (13,85, 43,15)	6,43 (4,50, 9,14)	22,71 (12,20, 42,30)
	Negativan	0,32 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Prevalencija (%)	0,68		0,68	
\geq CIN3	Pozitivan	5,23 (3,34, 8,13)	57,11 (21,09, 154,62)	4,14 (2,62, 6,52)	51,34 (17,74, 148,58)
	Negativan	0,09 (0,04, 0,23)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Prevalencija (%)	0,34		0,35	

*Trogodišnji kumulativni rizici prilagođeni za druge moguće pristranosti bili su slični rizicima u ovoj tablici. Zbog očekivanih razlika u rizicima u 1. i 2. godini za dvije skupine žena u kontrolnoj studiji (one koje su podvrgnute kolposkopiji na početku studije i one koje nisu podvrgnute kolposkopiji na početku studije), prijavljen je samo trogodišnji kumulativni rizik za kombinirane skupine.

Trogodišnja kumulativna prevalencija rezultata \geq CIN2 i \geq CIN3 u žena koje se mogu procijeniti i s citološkim nalazima NILM na početku studije bila je 0,68 % odnosno 0,34 %. Relativni rizik za \geq CIN2 iznosio je 24,45 (95 %-tni CI: 13,85, 43,15), što ukazuje na to da je žena koja je bila pozitivna na ispitivanju Aptima HPV Assay na sustavu Panther imala 24,45 puta veću vjerojatnost da će imati rezultat \geq CIN2 od žene koja je bila negativna na ispitivanju Aptima HPV Assay. Relativni rizik za \geq CIN3 iznosio je 57,11 (95 %-tni CI: 21,09, 154,62).

Klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay s uzorcima tekućinske citologije SurePath

Uzorci tekućinske citologije SurePath prikupljeni su od žena u Kanadi (n = 558) koje su upućene na kontrolni pregled zbog jednog abnormalnog papa testa ili više njih, infekcije HPV-om ili iz nekog drugog razloga. Alikvot (0,5 mL) svakog uzorka prenesen je u epruvetu za prijenos uzorka Aptima i zatim obrađen otopinom Aptima Transfer Solution. Po jedan replikat svakog uzorka testiran je s pomoću ispitivanja Aptima HPV Assay. Zasebni alikvot (1 mL) svakog uzorka uklonjen je radi procjene s pomoću komercijalno dostupnog PCR testa za HPV. Klinička osjetljivost za otkrivanje bolesti, definirana kao histološki rezultat \geq CIN3, izračunata je za ispitivanje Aptima HPV Assay i PCR test za HPV i prikazana u Tablica 48 s pozitivnim i negativnim prediktivnim vrijednostima.

Tablica 48: Klinički radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay i PCR testa za HPV u otkrivanju \geq CIN3

Radni učinak	Ispitivanje Aptima HPV Assay N = 558		PCR test za HPV N = 558	
	Procjena	(95 %-tni CI)	Procjena	(95 %-tni CI)
Osjetljivost (%)	89,3 (25/28)	(72,8 – 96,3)	89,3 (25/28)	(72,8 – 96,3)
Specifičnost (%)	58,7 (311/530)	(54,4 – 62,8)	49,1 (260/530)	(44,8 – 53,3)
PPV (%)	10,2 (25/244)	(8,4 – 11,7)	8,5 (25/295)	(7,0 – 9,5)
NPV (%)	99,0 (311/314)	(97,6 – 99,8)	98,9 (260/263)	(97,2 – 99,7)
Prevalencija (%)	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

Radni učinak ispitivanja Aptima HPV Assay s uzorcima prikupljenima kompletom Cervical Specimen Collection and Transport Kit

Klinički uzorci pozitivni na visokorizični HPV i negativni na visokorizični HPV prikupljeni od populacije probira (rutinski pregled) i referalne populacije (pregled kolposkopijom) s pomoću kompleta Aptima CSCT Kit testirani su ispitivanjem Aptima HPV Assay na sustavu Panther i na sustavu Tigris DTS primjenom dvije serije reagensa. Slaganje između sustava Panther i sustava Tigris DTS za uzorke prikupljene kompletom CSCT prikazano je u Tablica49.

Za uzorke prikupljene kompletom CSCT, sveukupno slaganje između sustava Panther i sustava Tigris DTS iznosilo je > 98 %, kako je prikazano u Tablica49. Od 632 testirana klinička uzorka, njih 69 bilo je pozitivno na CIN2, a 38 je bilo pozitivno na CIN3. Osjetljivost ispitivanja Aptima HPV Assay u otkrivanju rezultata pozitivnog na CIN2 iznosila je 97,1 % (95 %-tni CI: 90,0 % – 99,2 %) na sustavu Panther i 98,6 % (95 %-tni CI: 92,2 % – 99,7 %) na sustavu Tigris DTS. Osjetljivost u otkrivanju rezultata pozitivnog na CIN3 iznosila je 100 % (CI: 90,8 % – 100 %) na sustavu Panther i na sustavu Tigris DTS.

Tablica 49: Slaganje rezultata ispitivanja Aptima HPV Assay za uzorke prikupljene kompletom Aptima CSCT i testirane na sustavu Tigris DTS i sustavu Panther

		Sustav Tigris DTS		Ukupno
		Pozitivan	Negativan	
Sustav Panther	Pozitivan	490	3	493
	Negativan	9	130	139
	Ukupno	499	133	632

Sveukupno slaganje = 98,1 % (CI 96,7 – 98,9)

Pozitivno slaganje = 98,2 % (CI 96,6 – 99,0)

Negativno slaganje = 97,7 % (CI 93,6 – 99,2)

Analitička osjetljivost

Granica detekcije (LoD) pri kliničkoj graničnoj vrijednosti jest koncentracija RNK HPV-a koja daje pozitivan rezultat (iznad kliničke granične vrijednosti) u 95 % slučajeva. Granica detekcije (eng. Limit of Detection, LoD) ispitivanja Aptima HPV Assay utvrđena je testiranjem panela razrjeđenja *in vitro* transkripata (IVT) za svih 14 visokorizičnih genotipova i 4 stanične linije zaražene HPV-om: SiHa, HeLa, MS751 i ME180 (ATCC, Manassas, Virginija). Kod panela IVT-a, u transportni medij za uzorke dodan je IVT u različitim koncentracijama, a zatim razrijeđen pojedinačnim negativnim uzorcima tekućinske citologije ThinPrep prije testiranja. Kod panela stanica zaraženih HPV-om, u poolove uzoraka tekućinske citologije ThinPrep negativnih na HPV dodane su stanice zaražene HPV-om pri različitim koncentracijama i poolovi su zatim prije testiranja razrijeđeni transportnim medijem za uzorke. Trideset replikata svake razine kopije testirano je objema serijama reagensa kako bi se dobilo ukupno 60 replikata. Testiranje je provedeno u razdoblju od 17 dana, s 1 do 12 obrada na dan, a u svakoj je obradi testirano 5 replikata određenog genotipa i koncentracije. 95 %-tna granica detekcije izračunata je iz Probit regresijske analize rezultata pozitivnosti za svaki panel razrjeđenja.

Rezultati Probit analize u Tablica50 prikazuju da su genotipovi HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 i 68 imali 95 %-tne granice detekcije niže od 100 kopija/reakcija, a genotipovi 52, 58 i 66 imali su 95 %-tne granice detekcije između 100 i 500 kopija/reakcija. Četiri testirane stanične linije imale su 95 %-tne granice detekcije manje od 1 stanice/reakciji.

Tablica 50: Granica detekcije pri kliničkoj graničnoj vrijednosti ispitivanja Aptima HPV Assay

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

*Kopije po reakciji za in vitro transkripte i stanice po reakciji za stanične linije

Preciznost ispitivanja

Preciznost ispitivanja Aptima HPV Assay procijenjena je u dvije studije primjenom istog panela od 20 sastavnica. Studija 1 provedena je na 3 lokacije, 2 eksterne i 1 internoj, a studija 2 provedena je unutar ustanove. Panel je obuhvaćao 13 sastavnica pozitivnih na HPV s koncentracijama pri granici detekcije ispitivanja ili iznad nje (očekivana pozitivnost: $\geq 95\%$), 3 sastavnice pozitivne na HPV s koncentracijama ispod granice detekcije ispitivanja (očekivana pozitivnost: $> 0\%$ do $< 25\%$) i 4 sastavnica negativnih na HPV. Sastavnice panela pozitivne na HPV pripremljene su dodavanjem in vitro transkripata (IVT) RNK u otopinu PreservCyt Solution razrijeđenu transportnim medijem za uzorke (STM) ili uzgojenih stanica zaraženih HPV-om (SiHa, HeLa i MS751; ATCC, Manassas, Virginija) u pool negativnih uzoraka tekućinske citologije ThinPrep razrijeđen medijem STM. Sastavnice panela negativne na HPV pripremljene su s pomoću otopine PreservCyt Solution ili poola negativnih uzoraka tekućinske citologije ThinPrep razrijeđenog medijem STM.

U studiji 1, 2 korisnika na svakoj od 3 lokacije testiranja (1 instrument po lokaciji) izvela su 2 radna popisa ispitivanja Aptima HPV Assay na dan (1 sa svakom serijom reagensa) tijekom 3 dana. Svaki radni popis sadržavao je 3 replikata svake sastavnice panela obnovljivosti. Sto i osam (108) pojedinačnih epruveta s uzorcima testirano je za svaku sastavnicu panela (3 lokacije x 1 instrument x 2 korisnika x 2 serije x 3 radna popisa x 3 replikata). U studiji 2 testiranje je provedeno unutar ustanove tijekom 13 dana s ukupno 162 reakcije testirane za svaku sastavnicu panela (1 lokacija x 3 instrumenta x 3 korisnika x 3 serije x 2 radna popisa x 3 replikata).

Sastavnice panela opisane su u Tablica 51a (sastavnice panela s očekivanim pozitivnim rezultatima) i Tablica 51b (sastavnice panela s očekivanim negativnim rezultatima), uz sažetak slaganja s očekivanim rezultatima i vrijednostima za S/CO analita pri 2,5., 50. i 97,5. percentilu raspodjele S/CO. Varijabilnost S/CO analita za sastavnice panela s očekivanim pozitivnim rezultatima prikazana je u Tablica 52 za studiju 1 i u Tablica 53 za studiju 2.

Tablica 51a: Studije 1 i 2 preciznosti ispitivanja Aptima HPV Assay: opis panela, pozitivno slaganje i percentil raspodjele vrijednosti za S/CO analita za sastavnice panela s očekivanim pozitivnim rezultatima

Opis panela (kopije ili stanice/reakcija)	Studija 1 (3 lokacije testiranja)	Studija 2 (1 lokacija testiranja)
	% pozitivnog slaganja (95 %-tni CI)	% pozitivnog slaganja (95 %-tni CI)
Klinički uzorak 1 visoko pozitivan na HPV	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Klinički uzorak 2 visoko pozitivan na HPV	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (1830 kopija)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,1, 100)
HPV 18 IVT (1550 kopija)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Klinički uzorak 1 nisko pozitivan na HPV	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)
Klinički uzorak 2 nisko pozitivan na HPV	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
Klinički uzorak 3 nisko pozitivan na HPV	100 (108/108) (96,6, 100)	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)
Klinički uzorak 4 nisko pozitivan na HPV	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 16 IVT (183 kopija)	100 (102/102) (96,4, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (155 kopija)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (159/159) (97,6, 100)
MS751 stanice (0,63 stanice)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa stanice (0,35 stanice)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa stanice (0,90 stanice)	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)

IVT = in vitro transkript

*Očekivani % pozitivnog slaganja ~95 %; zabilježen niži zbog moguće varijabilnosti u proizvodnji sastavnice panela.

Tablica 51b: Studije 1 i 2 preciznosti ispitivanja Aptima HPV Assay: opis panela, negativno slaganje i percentil raspodjele vrijednosti za S/CO analita za sastavnice panela s očekivanim negativnim rezultatima

Opis panela (kopije ili stanice/reakcija)	Studija 1 (3 lokacije testiranja)	Studija 2 (1 lokacija testiranja)
	% negativnog slaganja (95 %-tni CI)	% negativnog slaganja (95 %-tni CI)
MS751 stanice (0,005 stanice)	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)
SiHa stanice (0,008 stanice)	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
HeLa stanice (0,02 stanice)	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)
Klinički uzorak 1 negativan na HPV	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
Klinički uzorak 2 negativan na HPV	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	100 (162/162) (97,7, 100)
Otopina PreservCyt Solution 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
Otopina PreservCyt Solution 2	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (161/161) (97,7, 100)

IVT = in vitro transkript.

*Očekivani % negativnog slaganja > 75 % i < 100 %.

Tablica 52: Studija 1 preciznosti ispitivanja Aptima HPV Assay: varijabilnost signala za sastavnice panela s očekivanim pozitivnim rezultatima

Opis panela (kopije ili stanice/reakcija)	n	Srednja vrijednost za S/CO	Između instrumenata		Između korisnika		Između serija		Između radnih popisa		Unutar radnih popisa		Ukupno	
			SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)
Visoko pozitivan na HPV klinički uzorak 1	107*	29,34	0,00	0,0	0,00	0,0	1,43	4,9	1,87	6,4	1,49	5,1	2,79	9,5
Visoko pozitivan na HPV klinički uzorak 2	107*	30,09	0,55	1,8	0,00	0,0	1,06	3,5	0,73	2,4	2,21	7,3	2,61	8,7
HPV 16 IVT (1830 kopija)	107*	11,20	0,09	0,8	0,16	1,4	0,03	0,3	0,14	1,3	0,46	4,1	0,52	4,6
HPV 18 IVT (1550 kopija)	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
Nisko pozitivan na HPV klinički uzorak 1	107*	8,24	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,23	39,2	3,23	39,2
Nisko pozitivan na HPV klinički uzorak 2	108	7,07	0,00	0,0	0,41	5,8	0,00	0,0	0,00	0,0	4,57	64,7	4,59	65,0
Nisko pozitivan na HPV klinički uzorak 3	108	10,23	0,26	2,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,32	12,9	3,23	31,6	3,49	34,2
Nisko pozitivan na HPV klinički uzorak 4	108	4,68	0,50	10,7	0,20	4,2	0,00	0,0	0,99	21,1	3,02	64,6	3,22	68,9
HPV 16 IVT (183 kopija)	102*	11,09	0,08	0,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	2,3	0,54	4,9	0,61	5,5
HPV 18 IVT (155 kopija)	108	11,78	0,00	0,0	0,43	3,7	0,00	0,0	1,12	9,5	1,97	16,7	2,30	19,6
MS751 stanice (0,63 stanice)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
HeLa stanice (0,35 stanice)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
SiHa stanice (0,90 stanice)	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

*Dvanaest uzoraka imalo je nevažne rezultate ispitivanja Aptima HPV Assay (1 za klinički uzorak 1 visoko pozitivan na HPV, 1 za klinički uzorak 2 visoko pozitivan na HPV, 1 za HPV 16 IVT (1830 kopija), 1 za HPV 18 IVT (1550 kopija), 1 za klinički uzorak 1 nisko pozitivan na HPV, 6 za HPV 16 IVT (183 kopije) i 1 za SiHa stanice (0,90 stanica)).
KV = koeficijent varijacije; IVT = in vitro transkript; SD = standardna devijacija

Napomena: Varijabilnost proizašla iz nekih čimbenika može biti brojčano negativna. To se može dogoditi ako je varijabilnost zbog tih čimbenika vrlo mala. U tim se slučajevima SD i KV prikazuju kao nula.

Tablica 53: Studija 2 preciznosti ispitivanja Aptima HPV Assay: varijabilnost signala za sastavnice panela s očekivanim pozitivnim rezultatima

Opis panela (kopije ili stanice/reakcija)	n	Srednja vrijed- nost za S/CO	Između instrumenata		Između korisnika		Između serija		Između radnih popisa		Unutar radnih popisa		Ukupno	
			SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)	SD	KV (%)
Visoko pozitivan na HPV klinički uzorak 1	161*	26,81	0,75	2,8	0,00	0,0	0,91	3,4	0,48	1,8	1,84	6,9	2,24	8,3
Visoko pozitivan na HPV klinički uzorak 2	162	28,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,96	3,3	0,65	2,3	2,35	8,2	2,62	9,1
HPV 16 IVT (1830 kopija)	161*	11,07	0,14	1,2	0,00	0,0	0,05	0,5	0,16	1,4	0,32	2,9	0,39	3,5
HPV 18 IVT (1550 kopija)	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
Nisko pozitivan na HPV klinički uzorak 1	162	7,57	0,56	7,5	0,55	7,3	0,63	8,3	0,00	0,0	3,61	47,7	3,75	49,5
Nisko pozitivan na HPV klinički uzorak 2	162	7,59	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	5,25	69,2	5,25	69,2
Nisko pozitivan na HPV klinički uzorak 3	161*	8,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	3,0	0,00	0,0	3,48	39,4	3,49	39,5
Nisko pozitivan na HPV klinički uzorak 4	162	4,95	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	15,2	0,00	0,0	3,35	67,6	3,43	69,3
HPV 16 IVT (183 kopija)	162	11,02	0,13	1,2	0,11	1,0	0,12	1,1	0,13	1,2	0,54	4,9	0,59	5,4
HPV 18 IVT (155 kopija)	159*	11,40	0,16	1,4	0,17	1,5	1,21	10,6	0,23	2,0	1,17	10,3	1,72	15,0
MS751 stanice (0,63 stanice)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
HeLa stanice (0,35 stanice)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
SiHa stanice (0,90 stanice)	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

*Šest uzoraka imalo je nevažne rezultate ispitivanja Aptima HPV Assay (1 za klinički uzorak 1 visoko pozitivan na HPV, 1 za HPV 16 IVT (1830 kopija), 1 za klinički uzorak 3 nisko pozitivan na HPV, 3 za HPV 18 IVT (155 kopija)).

KV = koeficijent varijacije; IVT = in vitro transkript; SD = standardna devijacija

Napomena: Varijabilnost proizašla iz nekih čimbenika može biti brojčano negativna. To se može dogoditi ako je varijabilnost zbog tih čimbenika vrlo mala. U tim se slučajevima SD i KV prikazuju kao nula.

Unakrsna reaktivnost

Provedeno je testiranje s potencijalno unakrsno reaktivnim organizmima za ispitivanje Aptima HPV Assay na sustavu Tigris DTS. Rezultate potražite u *Unakrsna reaktivnost* (Tablica 28) u odjeljku sustava Tigris DTS.

Interferencija

Provedeno je testiranje s potencijalno interferirajućim tvarima za ispitivanje Aptima HPV Assay na sustavu Tigris DTS. Rezultate potražite u *Interferencija* (Tablica 29) u odjeljku sustava Tigris DTS.

Bibliografija

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. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* **325(7364)**: 572-579.
8. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer.* **108(3)**:329-33. Erratum in: *Int J Cancer.* **108(6)**:945.
9. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol.* **73(1)**: 65-70.
10. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol.* **32 Suppl 1**:S16-24.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2010; 20(8):1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology.* 2011; 49(2):557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer.* 2011;129:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology.* 2012;125:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2013;23(3):513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer.* 2013;108:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, Lynge E.** Prevalence of human papillomavirus infection in unselected SurePath samples using the APTIMA HPV mRNA assay. *The Journal of Molecular Diagnostics.*2013;15(5):670-7.
18. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lynge E.** A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer.* 2015;51:1456-66.
19. **Heideman DAM, Hesselink AT, van Kemenade FJ, Iftner T, Berkhof J, Topal F, et al.** The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *Journal of Clinical Microbiology.* 2013;51(11):3653-7.
20. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlaberg R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods.* 2015;221:95-9.
21. **Iftner T, Becker S, Neis KJ, Castanon A, Iftner A, Holz B, et al.** Head-to-Head Comparison of the RNA368 Based Aptima Human Papillomavirus (HPV) Assay and the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in a Routine Screening Population of Women Aged 30 to 60 Years in Germany. *Journal of Clinical Microbiology.* 2015;53:2509-16.
22. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lynge E.** Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above. *PLoS One.* 2016 Jan 20;11(1):e0147326.
23. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lynge E.** A daunting challenge: Human Papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30years. *Eur J Cancer.* 2015 Jul;51(11):1456-66.
24. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
25. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem.* **35**: 1588-1594.
26. **Nelson, N. C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* **35**:8429-8438.

27. **Clad, A., M. Reuschenbach, J. Weinschenk, R. Grote, J. Rahmsdorf, and N. Freudenberg.** Performance of the Aptima high-risk HPV mRNA assay in a referral population in comparison with Hybrid Capture 2 and cytology. 2010. *J Clin Microbiol*, n/a. doi: 10.1128/JCM.01674-10.
28. **Ratnam S., F. Coutless, D. Fontaine, J. Bentley, N. Escott, P. Ghatage, G. Holloway, E. Bartellas, N. Kum, and A. Lear.** 2008. Clinical Correlations of Aptima HPV E6/E7 mRNA Test in Cervical Cancer Screening: Preliminary Results from a Multicentre Canadian Study. Presented at EUROGIN 2008, November 12-15, 2008, Scientific Communication SS **8-6**.
29. **Szarewski A., L. Ambroisine, L. Cadman, J. Austin, L. Ho, G. Terry, S. Little, R. Dina, J. McCarthy, H. Buckley, C. Bergeron, P. Soutter, D. Lyons, and J. Cuzick.** 2008. Comparison of predictors for High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia in Women with Abnormal Smears. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **17(11)**, November.
30. **Castle P.E., J. Dockter, C. Giachetti, F.A.R. Garcia, M. McCormick, A.L. Mitchell, E.B. Holladay, and D.P. Kolk.** 2007. A Cross-sectional Study of a Prototype Carcinogenic Human Papillomavirus E6/E7 Messenger RNA Assay for Detection of Cervical Pre-cancer and Cancer. *Clin Cancer Res.* **13(9)**. 2599.
31. **Monsonogo J., M.G. Hudgens, L. Zerat, J.C. Zerat, K. Syrjänen, P. Halfon, F. Ruiz, and J.S. Smith.** 2010. Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid based cytology in primary cervical cancer screening (The FASE study). *Int J Cancer*. n/a. doi 10.1002/ijc.25726.
32. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. *Annals Int Med.* **148**:493.
33. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet.* **366**, 991.
34. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** 2013. Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* **208(2)**:144-145.
35. **Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D.** 2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests. 2007. *Am J Obstet Gynecol* **197** (4); 346-355.
36. **Pretorius R.G., W. H. Zhang, J. L. Belinson, et al.** Colposcopically directed biopsy, random cervical biopsy, and endocervical curettage in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia II or worse. 2004. *Am J Obstet Gynecol.* **191**:430-434.
37. **Pretorius R.G., R. J. Kim, J. L. Belinson, P. Elson, Y-L Qiao.** Inflation of sensitivity of cervical cancer screening tests secondary to correlated error in colposcopy. 2006. *J Low Genit Tract Dis.* **10(1)**:5-9.



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

Korisnička podrška: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Tehnička podrška: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

EC REP
Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Više kontaktnih podataka potražite na web-mjestu
www.hologic.com.

Ovaj proizvod namijenjen je za uporabu samo u polju humane *in vitro* dijagnostike.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep, i Tigris zaštitni su znakovi i/ili registrirani zaštitni znakovi tvrtke Hologic, Inc. i/ili njezinih podružnica u Sjedinjenim Američkim Državama i/ili drugim državama.

ependorf (stilizirano) i REPEATER zaštitni su znakovi tvrtke Eppendorf AG.

RAININ je zaštitni znak tvrtke Rainin Instruments, LLC.

TECAN i FREEDOM EVO zaštitni su znakovi tvrtke Tecan Group AG.

SUREPATH i PREPSTAIN zaštitni su znakovi tvrtke TriPath Imaging, Inc.

Svi ostali zaštitni znakovi koji se možda javljaju u ovim uputama za uporabu proizvoda pripadaju svojim odgovarajućim vlasnicima.

Ovaj proizvod može biti obuhvaćen jednim ili više patenata u SAD-u koji su identificirani na www.hologic.com/patents.

© 2007. – 2019. Hologic, Inc. Sva prava pridržana.
AW-14517-2501 Rev. 007 (HR)

2019-07