



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Σύγκριση των διαθέσιμων HPV-DNA test για την κλινική εφαρμογή τους σε πληθυσμιακό έλεγχο και σε παρακολούθηση προκαρκινικών αλλοιώσεων»

ΔΗΜΗΤΡΗΣ ΚΑΤΕΡΗΣ
ΕΙΔΝΟΣ ΒΙΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

ΛΑΡΙΣΑ
Οκτώβριος 2016

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ
ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων : Μαρία Σαμαρά, Επίκουρη Καθηγήτρια
Μέλος : Αλέξανδρος Δαπόντε, Αναπληρωτής Καθηγητής
Μέλος : Μαρία Σάτρα, ΕΔΙΠ

Περίληψη

Η παρούσα εργασία ασχολείται με τα διαθέσιμα HPV-DNA test τα οποία χρησιμοποιούνται στα πλαίσια της πρόληψης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, αλλά και στην παρακολούθηση των προκαρκινικών αλλοιώσεων. Η παρουσία του ιού HPV κατέχει πρωταγωνιστικό ρόλο στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας καθώς είναι ο κύριος αιτιολογικός παράγοντας ανάπτυξής του. Ιδιαίτερα δε, κάποιοι τύποι του που είναι ογκογόνοι και ανήκουν στην ομάδα υψηλού κινδύνου (π.χ.16,18) ευθύνονται για το >70% των περιπτώσεων του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Η πρώτη επιτυχημένη προσπάθεια για τη διάγνωση προκαρκινικών αλλοιώσεων έγινε από τον Γ. Παπανικολάου με το ομώνυμο test (PAP test) το οποίο και χρησιμοποιείται μέχρι και σήμερα και ως μέθοδος μαζικού προληπτικού ελέγχου. Η εμφάνιση όμως ψευδώς θετικών και αρνητικών αποτελεσμάτων σε αρκετά μεγάλο ποσοστό (περίπου 30%) έκαναν αναγκαία τη χρησιμοποίηση και άλλων μεθόδων για την πρόληψη και τη διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Προς αυτή την κατεύθυνση έγιναν αρκετές προσπάθειες να αντικατασταθεί το PAP test με κάποιο άλλο με καλύτερη ευαισθησία, ειδικότητα και μικρότερο ποσοστό ψευδών αποτελεσμάτων. Και αυτό γιατί ένα ψευδώς θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα συνεπάγεται και λανθασμένη αντιμετώπιση και άρα περαιτέρω εξετάσεις που δε χρειάζονται ή και μη διάγνωση της λοίμωξης από τον ιό HPV με την πιθανότητα του καρκίνου που τη συνοδεύει αντίστοιχα. Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει σημαντικές προσπάθειες με την είσοδο του HPV-DNA test και αρκετές εταιρείες προσπαθούν να εισάγουν στην αγορά test αξιόπιστα και ικανά να υποστηρίξουν το έργο των κλινικών γιατρών. Το συμπέρασμα που προκύπτει από την παρούσα εργασία μέσω της σύγκρισης αυτών των test είτε μεταξύ τους είτε με το PAP test είναι ότι ο ρόλος τους είναι επικουρικός και ότι ακόμα δεν έχει έρθει η στιγμή που το PAP test θα αναφέρεται απλά ως ιστορική αναδρομή. Η πρόληψη και η διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας είναι υπόθεση πολλών συνιστωσών, του PAP test, του HPV-DNA test, του κλινικού γιατρού και της ιστολογικής εξέτασης. Βεβαίως σημαντικός είναι και ο ρόλος του εμβολίου, ιδιαίτερα όταν ο εμβολιασμός γίνεται έγκαιρα, αφού

με αυτόν τον τρόπο μειώνεται η πιθανότητα εμφάνισης στο μέλλον του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Abstract

The present assignment aims to provide an insight of the HPV-DNA tests that are available in market. The specific tests are used as a means of preventing cervical cancer, as well as a way of screening pre-cancerous lesions. It is acknowledged that HPV presence plays a pivotal role in cervical cancer growth. Furthermore, some HPV types, which are defined as oncogenic and are considered to belong to a high risk group (e.g. 16, 18), are responsible for over 70 per cent of cervical cancer cases.

The first successful attempt in diagnosing pre-cancerous lesions has been attributed to G. Papanikolaou, who has invented the so called PAP test that is still used as a means of screening nowadays. Yet, a considerable number of questionable findings (30 per cent) that are falsely presented as either positive or negative, has led to the need of using additional methods in order to prevent and effectively diagnose cervical cancer. In the light of the above, efforts have been made towards replacing PAP test with more sensitive, more specific and more accurate diagnostic procedures that would reduce the amount of questionable findings. Such an attempt is of primary importance, as falsely presented test results entail high risks, such as lack of appropriate treatment, additional and thus redundant testing procedures and most of all, failure in diagnosing cervical cancer. In an attempt to promote a more trustworthy screening procedure, assisting thus clinical doctors, HPV-DNA tests have been recently introduced in the market by many companies. However, the role of the aforementioned tests is still assistive and by no means can such tests replace PAP test. And this is exactly what the specific assignment aims to decipher by means of comparing these tests. Therefore, all parameters including PAP test, HPV-DNA test, clinical doctor's diagnosis as well as histologic examination, need to be taken into account in an attempt to both prevent and diagnose cervical cancer. Finally, what ought to be mentioned at this point is the significance of HPV vaccines that, if administered in time, could effectively prevent infection by certain types of human papillomavirus.

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στη Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος «Βιολογία της Αναπαραγωγής».

Για την πραγματοποίησή της καθοριστικός ήταν ο ρόλος της επιβλέπουσας Επίκουρης Καθηγήτριας κας Μαρίας Σαμαρά, την οποία και ευχαριστώ θερμά, όχι μόνο για την επιστημονική της συμβολή αλλά και για τη συμπαράστασή της στα προσωπικά προβλήματα που ενέκυψαν κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τους συναδέλφους μου στο Γενικό Νοσοκομείο Βόλου «Αχιλλοπούλειο» και τις Διευθύντριές μου για την υποστήριξή τους. Ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου, γιατί χωρίς αυτούς δε θα μπορούσα να συνεχίσω να θέτω και να επιτυγχάνω νέους στόχους. Πάνω απ' όλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη σύζυγό μου Αναστασία που μαζί της όλο αυτό το διάστημα βίωσα και σε οικογενειακό επίπεδο την αξία της συντροφικότητας και της συμπαράστασης στις δύσκολες στιγμές.

Θέμα της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η σύγκριση των εμπορικώς διαθέσιμων HPV-DNA τεστ με σκοπό την κλινική εφαρμογή τους ως μέθοδος μαζικού πληθυσμιακού ελέγχου στην παρακολούθηση των προκαρκινικών αλλοιώσεων. Σκοπός της εργασίας είναι η σύγκριση και διατύπωση συμπερασμάτων αναφορικά με την αποτελεσματικότητά τους, ώστε να διαπιστωθεί εάν θα μπορούσαν μόνα τους ή σε συνδυασμό με την κυτταρολογική εξέταση (τεστ Παπανικολάου) να συμβάλλουν στην πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Η δομή της εργασίας συνοψίζεται στις εξής ενότητες: Στο γενικό μέρος, στο πρώτο κεφάλαιο περιγράφονται τα κύρια χαρακτηριστικά του HPV ιού, η δομή και ο κύκλος ζωής του, καθώς επίσης και ο ρόλος του στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Στο δεύτερο κεφάλαιο του γενικού μέρους γίνεται αναφορά στην πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, τις κατευθυντήριες οδηγίες για τη χρήση των εμπορικώς διαθέσιμων HPV-DNA τεστ και του τεστ Παπανικολάου και αναλύεται ο ρόλος του εμβολιασμού στα πλαίσια της πρόληψης. Στο ειδικό μέρος της εργασίας περιγράφονται τα

εμπορικώς διαθέσιμα HPV-DNA τεστ και παρατίθενται μελέτες και συγκριτικά στοιχεία, που αφορούν στην αποτελεσματικότητά τους ως μέθοδος μαζικού πληθυσμιακού ελέγχου (screening) και ως εργαλείο στην παρακολούθηση των προκαρκινικών αλλοιώσεων.

Περιεχόμενα

Περίληψη	7
Abstract.....	9
Πρόλογος.....	11
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	20
1.1 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ	20
1.2 ΔΟΜΗ HPV ΙΟΥ	23
1.3 ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ ΤΟΥ HPV ΙΟΥ.....	24
1.4 ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ	28
2 ΠΡΟΛΗΨΗ.....	33
3 ΚΥΡΙΟ ΜΕΡΟΣ.....	38
3.1 ΓΕΝΙΚΑ.....	38
3.2 ΣΥΣΤΗΜΑ Hybrid Capture II HPV DNA ΤΕΣΤ	40
3.3 REAL TIME HIGH-RISK HPV	42
3.4 CERVISTA HPV HR ΤΕΣΤ	45
3.5 APTIMA HPV	49
3.6 AMPLICOR HPV / LINEAR ARRAY HPV Genotyping / Cobas HPV 52	
3.7 HPV DIRECT FLOW CHIP	61
3.8 XpertHPV.....	63
3.9 SPF10 LiPA25 /INNO-LiPA HPV Genotyping	64
3.10 PapilloCheck HPV-Screening	65
3.11 BD HPV Onclarity Assay	68
3.12 CLARTHPV2	70
3.13 HPV 4A ACE Screening kit/Anyplex II HPV28.....	73
3.14 Genoflow HPV Array	76
3.15 PreTect HPV-Proofer.....	78
3.16 NucliSENS easy Q	80

3.17	PapType	82
4	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:	85

Πίνακες

Πίνακας 1: Κατάταξη HPV ιών. Οι υψηλού κινδύνου εμπλέκονται στην καρκινογένεση των οργάνων που προσβάλλουν, ενώ οι χαμηλού κινδύνου HPV ιοί προκαλούν κονδυλώματα.	21
Πίνακας 2: Ρόλος και λειτουργία γονιδίων του HPV ιού	24
Πίνακας 3: Σταδιοποίηση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας κατά FIGO.	30
Πίνακας 4: Ταξινόμηση κατά Bethesda	32
Πίνακας 5: Συστάσεις για μαζικό προληπτικό έλεγχο κατά ASCCP (American Society for Colposcopy and Cervical Pathology).	35
Πίνακας 6: Ποσοστά κάλυψης με εμβολιασμό σε Ευρωπαϊκές χώρες.	38
Πίνακας 7: Εμπορικά διαθέσιμα HPV DNA τεστ βάσει του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας.	40
Πίνακας 8: Σύγκριση RealTime με Hybrid Capture II σε ιστολογικά επιβεβαιωμένους καρκίνους στη Σλοβενία.....	43
Πίνακας 9: Σύγκριση RealTime με Hybrid Capture II σε ιστολογικά επιβεβαιωμένες περιπτώσεις CIN3 στη Σλοβενία	43
Πίνακας 10: Αποτελέσματα ανίχνευσης hrHPV από το RealTime και το Hybrid Capture II σε ιστολογικά επιβεβαιωμένες περιπτώσεις CIN2+ και CIN3+ στην Ιταλία.....	44
Πίνακας 11: Ευαισθησία και ειδικότητα του RealTime και του Hybrid Capture II στην ανίχνευση CIN2+ και <CIN2 περιπτώσεων στην Σλοβενία.....	45
Πίνακας 12: Σύγκριση Cervista με Hybrid Capture II στην ανίχνευση <CIN2 και CIN2+ περιπτώσεων στην Ισπανία.	47
Πίνακας 13: Σύγκριση των αποτελεσμάτων ανάμεσα σε Cervista και Hybrid Capture II σε 1741 δείγματα.....	48
Πίνακας 14: Ευαισθησία και ειδικότητα του Cervista και του Hybrid Capture II στην ανίχνευση CIN3+ περιπτώσεων στη Γερμανία.	48
Πίνακας 15: Ανίχνευση HPV16/18 από το Cervista και το EasyChip σε περιπτώσεις επανελέγχου μετά από Pap τεστ στο Τέξας.	49
Πίνακας 16: Ευαισθησία και ειδικότητα του APTIMA, του Hybrid Capture II και του cobas στην ανίχνευση hrHPV σε ιστολογικά επιβεβαιωμένες περιπτώσεις ≥CIN2 στις ΗΠΑ.	50

Πίνακας 17: Ευαισθησία και ειδικότητα του APTIMA και του Hybrid Capture II σε περιπτώσεις καρκίνου του ενδομητρίου.	50
Πίνακας 18: Ευαισθησία και ειδικότητα του APTIMA και του hc2 σε CIN2/3 περιπτώσεις. Ανασκοπική μελέτη από 62 μελέτες στη Γερμανία.	52
Πίνακας 19: Σύγκριση αποτελεσμάτων cobas και Hybrid Capture II σε περιπτώσεις με ASCUS, cotesting και αρχικού προληπτικού ελέγχου στις ΗΠΑ.	53
Πίνακας 20: Ευαισθησία και ειδικότητα του Hybrid Capture II στην ανίχνευση CIN2+ περιπτώσεων.	54
Πίνακας 21: Ευαισθησία και ειδικότητα του cobas στην ανίχνευση CIN2+ περιπτώσεων.	54
Πίνακας 22: Συμφωνία αποτελεσμάτων μεταξύ Cobas και AMPLICOR+LA σε σχέση με το Pap τεστ.	55
Πίνακας 23: Ευαισθησία και ειδικότητα του Cobas και του Hybrid Capture II στην ανίχνευση hrHPV.	55
Πίνακας 24: Σύγκριση του Cobas με την LA σε 197 δείγματα θετικά στο Cobas.	56
Πίνακας 25: Ευαισθησία και ειδικότητα του Cobas και του Hybrid Capture II στην ανίχνευση περιπτώσεων CIN2 σε γυναίκες με ASCUS.	56
Πίνακας 26: Σύγκριση του Cobas με το Hybrid Capture II στην ανίχνευση hrHPV στην Ισπανία, Γαλλία, Ιταλία.	57
Πίνακας 27: Ευαισθησία και ειδικότητα του Amplicor και του Hybrid Capture II στην Ιταλία.	59
Πίνακας 28: Αποτελέσματα Amplicor και Hybrid Capture II σε σχέση με την κυτταρολογική εξέταση.	59
Πίνακας 29: Σύγκριση αποτελεσμάτων Amplicor και Hybrid Capture II σε σχέση με την κυτταρολογική εξέταση.	60
Πίνακας 30: Σύγκριση LA με Pap τεστ στην Αίγυπτο.	61
Πίνακας 31: Σύγκριση αποτελεσμάτων HPV Direct Flow CHIP με την CLART και το Hybrid Capture II σε περιστατικά με κυτταρολογική εξέταση.	62
Πίνακας 32: Συμφωνία αποτελεσμάτων μεταξύ XpertHPV και Hybrid Capture II σε περιπτώσεις γυναικών με ASCUS κύτταρα στην κυτταρολογική εξέταση.	63

Πίνακας 33: Ευαισθησία και ειδικότητα του XpertHPV και των cobas και Hybrid Capture II σε ιστολογικά επιβεβαιωμένες περιπτώσεις CIN2+.	64
Πίνακας 34: Ευαισθησία PapilloCheck και Hybrid Capture II σε CIN2 ΚΑΙ CIN3 περιπτώσεις.....	67
Πίνακας 35: Αποτελέσματα PapilloCheck σε σχέση με την κυτταρολογική εξέταση σε 994 γυναίκες	68
Πίνακας 36: Ευαισθησία και ειδικότητα του BD Onclarity και του Hybrid Capture II σε γυναίκες με <CIN2 και ≥CIN2.	69
Πίνακας 37: Ευαισθησία και ειδικότητα του Onclarity σε CIN2+ περιπτώσεις	70
Πίνακας 38: Ευαισθησία και ειδικότητα του CLART και του Hybrid Capture II σε <CIN1 και ≥CIN2 περιπτώσεις στην Πορτογαλία	71
Πίνακας 39: Ευαισθησία και ειδικότητα του CLART σε 425 περιπτώσεις.....	71
Πίνακας 40: Ποσοστά συμφωνίας ανάμεσα στο CLART και την LA σε 401 δείγματα με παθολογική κυτταρολογική εξέταση.....	72
Πίνακας 41: Ποσοστά συμφωνίας του CLART και της LA με το Hybrid Capture II.....	72
Πίνακας 42: Ευαισθησία και ειδικότητα του CLART, LA και Hybrid Capture II σε ≥CIN2 και ≥CIN3 περιπτώσεις.	73
Πίνακας 43: Ανίχνευση HPV από το HPV 4A ACE σε δείγματα με γνωστή κυτταρολογική εξέταση.....	74
Πίνακας 44: HPV 4A ACE, Cobas και Hybrid Capture II σε σύγκριση μεταξύ τους.....	75
Πίνακας 45: Σύγκριση αποτελεσμάτων Anyplex II HPV28 και Hybrid Capture II σε κυτταρολογικά επιβεβαιωμένες περιπτώσεις.	76
Πίνακας 46: Σύγκριση μεταξύ Genoflow HPV Array και LA σε γνωστά κυτταρολογικά αποτελέσματα	77
Πίνακας 47: Σύγκριση Genoflow HPV Array και LA σε θετικά αποτελέσματα	78
Πίνακας 48: Σύγκριση HPV-Proofer με το Hybrid Capture II σε δείγματα με γνωστή ιστολογική εξέταση	79
Πίνακας 49: Ευαισθησία και η ειδικότητα των HPV-Proofer, ProExC και hc2 στην ανίχνευση του HPV ιού σε ασθενείς με CIN2+ αλλοιώσεις	80
Πίνακας 50: Σύγκριση μεταξύ NucliSENS easy Q, LA και Hybrid Capture II σε 139 δείγματα.....	81

Πίνακας 51: Ευαισθησία και ειδικότητα των NucliSENS easy Q, LA και Hybrid Capture II σε γνωστά περιστατικά από κυτταρολογική ή ιστολογική εξέταση.81

Πίνακας 52: Σύγκριση Amplicor, PapType, LA και Hybrid Capture II84

Εικόνες

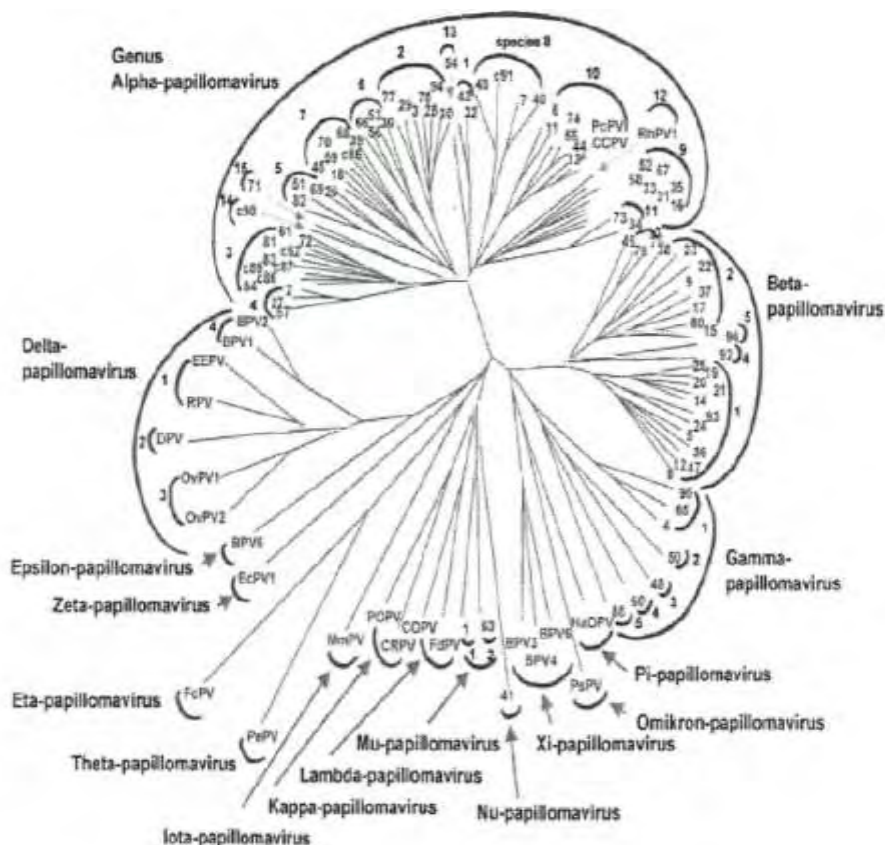
Εικόνα 1: Φυλογενετικό δέντρο των HPV ιών με βάση την αλληλουχία του L1 γονιδίου.....	20
Εικόνα 2: Οργάνωση του γονιδιώματος του HPV16 ιού.....	24
Εικόνα 3: Είσοδος του HPV ιού στη ζώνη μετάπτωσης του τραχηλικού επιθηλίου και ο ρόλος των ιικών πρωτεϊνών.	25

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Οι ιοί των ανθρωπίνων θηλωμάτων (Human Papilloma Viruses, HPVs) ανήκουν στην οικογένεια των *Papillomaviridae*. Στην ίδια οικογένεια ανήκουν και οι ιοί που ταυτοποιήθηκαν σε θηλαστικά, πτηνά και ερπετά. Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί πάνω από 200 HPV ιοί και αναμένεται στο μέλλον η ταυτοποίηση και άλλων. ([Bernard HU et al., Classification of papillomaviruses \(PVs\) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. Virology 2010;401\(1\):70–9.](#))

Με βάση την ανάλυση του γενετικού τους υλικού οι HPV ιοί, ταξινομούνται σε 5 γένη, όπως φαίνεται στο φυλογενετικό δέντρο που ακολουθεί (Εικ. 1).



Εικόνα 1: Φυλογενετικό δέντρο των HPV ιών με βάση την αλληλουχία του L1 γονιδίου.

Ιδιαίτερο κλινικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι ιοί που ανήκουν στο α-γένος, καθώς οι συγκεκριμένοι ιοί προσβάλλουν το βλεννογόνο των γεννητικών οργάνων, της στοματικής κοιλότητας και του λάρυγγα. Χαρακτηρίζονται ως χαμηλού και υψηλού κινδύνου HPV ιοί με βάση την εμπλοκή τους στην καρκινογένεση. Οι χαμηλού κινδύνου HPV ιοί είναι υπεύθυνοι για τα κονδυλώματα (Πίνακας 1).

HIGH RISK		LOW RISK	
HPV Type	GenBank Accession No.	HPV Type	GenBank Accession No.
16	NC_001526	6	FR751336
18	AY262282	11	EU918768
31	HQ537687	42	GQ472847
33	HQ537707	44	HPU31788
35	HQ537729	53	GQ472849
39	M62849	54	NC_001676
45	EF202166	61	HPU31793
52	HQ537751	72	X94164
56	EF177180	81	AJ620209
58	HQ537777		
59	X77858		
68b	FR751039		

Πίνακας 1: Κατάταξη HPV ιών. Οι υψηλού κινδύνου εμπλέκονται στην καρκινογένεση των οργάνων που προσβάλλουν, ενώ οι χαμηλού κινδύνου HPV ιοί προκαλούν κονδυλώματα.

Στο β-γένος ανήκουν ιοί που σχετίζονται με την ανάπτυξη διαφορετικού τύπου καρκίνου του δέρματος από αυτόν που αναπτύσσεται στα μελανώματα. Ωστόσο, ιοί του γένους αυτού έχουν βρεθεί σε αφθονία και σε υγιή άτομα.

Αναφορικά με τα υπόλοιπα γένη (genera, gamma, mu και du), αυτά περιλαμβάνουν HPV τύπους με τροπισμό στο δέρμα. Οι συγκεκριμένοι HPV τύπου προκαλούν καλοήθεις δερματικές βλάβες και δεν υπάρχουν στοιχεία που να αποδεικνύουν την πιθανή εμπλοκή τους στην καρκινογένεση.

([Middleton K](#) et al., *Organization of human papillomavirus productive cycle during neoplastic progression provides a basis for selection of diagnostic markers. J Virol*2003;77(19):10186–201.)

1.2 ΔΟΜΗ HPV ΙΟΥ

Ο HPV ιός είναι ένας σχετικά μικρός ιός, οργανωμένος σε καψίδια που σχηματίζονται από τα καψομερίδια. Πρόκειται για 72 πενταμερείς δομές, διαμέτρου περίπου 55nm. Στο εσωτερικό του καψιδίου υπάρχει το γενετικό υλικό (DNA) του ιού. Το καψίδιο δομείται από δύο καψιδικές πρωτεΐνες, τη μείζονα καψιδική πρωτεΐνη L1 και την ελάσσονα καψιδική πρωτεΐνη L2. Το γενετικό του ιού είναι ένα δίκλωνο κυκλικό μόριο DNA με μήκος περίπου 8.000 ζεύγη βάσεων, που κωδικοποιεί την έκφραση 8-10 λειτουργικών γονιδίων (ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης-Open Reading Frames, ORFs).

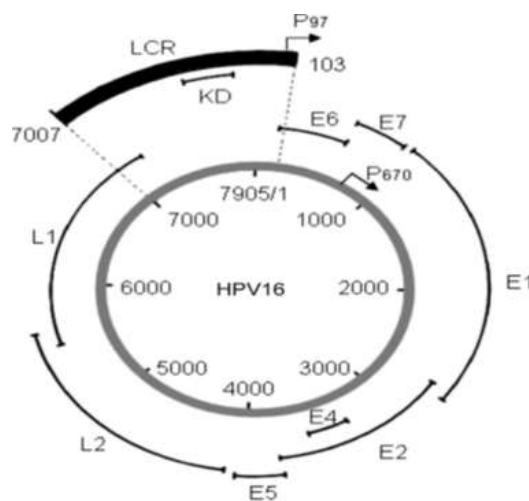
Στο γενετικό υλικό διακρίνονται 3 λειτουργικές περιοχές:

- 1) Μη κωδικοποιούσα ή ρυθμιστική περιοχή (Long Control Region-LCR/Upper Regulatory Region-URR)
- 2) Πρώιμη περιοχή (Early region)
- 3) Όψιμη περιοχή (Late region)

και 2 κύριοι υποκινητές:

- 1) Πρώιμος (P₉₇)
- 2) Όψιμος (P₆₇₀)

Στην πρώιμη περιοχή βρίσκονται τα γονίδια E1, E2, E4, E5, E6 και E7, ενώ στην όψιμη περιοχή εδράζονται τα γονίδια που κωδικοποιούν τις L1 και L2 καψιδικές πρωτεΐνες. Σε ότι αφορά τους υποκινητές, ο πρώιμος (P₉₇) ξεκινάει τη μεταγραφή πριν το E6 ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης και ο όψιμος υποκινητής (P₆₇₀) εντοπίζεται στο E7 ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης και ενεργοποιείται κατά τη φάση ανάπτυξης του ιού. ([Schiffman M, et al., Human papillomavirus and cervical cancer. Lancet 2007;370\(9590\):890–907.](#))



Εικόνα 2: Οργάνωση του γονιδιώματος του HPV16 ιού.

Ο ρόλος των γονιδίων και η λειτουργία τους φαίνεται συνοπτικά παρακάτω (Πίνακας 2).

Γονίδια	Ρόλος
E1	Αντιγραφή ιικού γονιδιώματος
E2	Αντιγραφή ιικού γονιδιώματος και έλεγχος μεταγραφής
E3	Άγνωστη λειτουργία
E4	Μόλυνση και έξοδος του ιού
E5	Πολλαπλασιασμός και καθυστέρηση διαφοροποίησης του κυττάρου ξενιστή
E6	Κύριες ογκοπρωτεΐνες
E7	
E8	Έλεγχος μεταγραφής ιικού γονιδιώματος
L1	Καψιδικές πρωτεΐνες
L2	

Πίνακας 2: Ρόλος και λειτουργία γονιδίων του HPV ιού

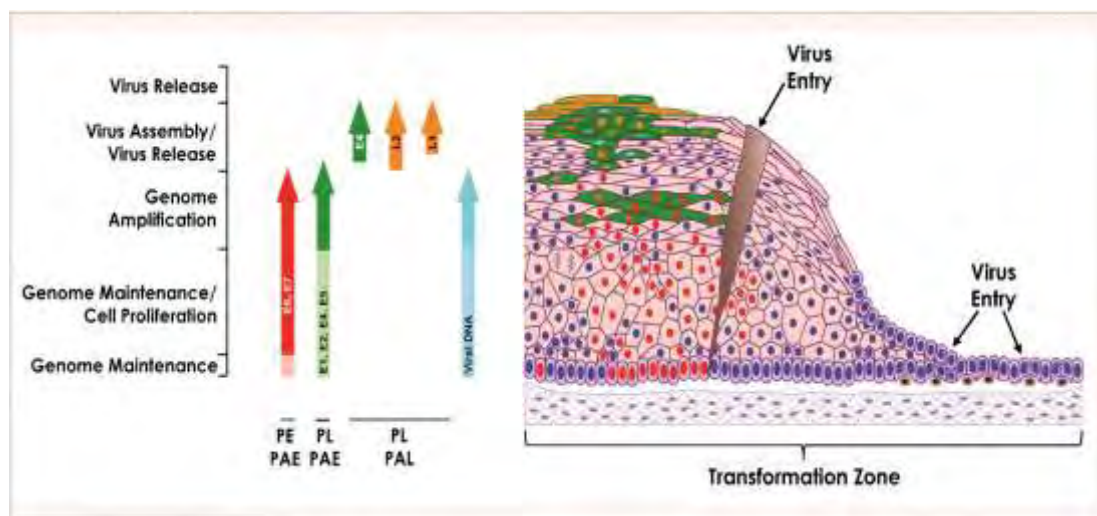
1.3 ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ ΤΟΥ HPV ΙΟΥ

Ανεξάρτητα από την εξελικτική τους προέλευση, όλοι οι HPV ιοί πρέπει να ολοκληρώσουν τον κύκλο ζωής τους στον επιθηλιακό ιστό που μολύνουν και να παράγουν λοιμώδη σωματίδια, που τελικά εκκρίνονται από την επιφάνεια του επιθηλίου. Για να επιτευχθεί κάτι τέτοιο, είναι αναγκαία η συντονισμένη έκφραση των διαφόρων γονιδιακών παραγώγων του ιού. ([Doorbar J et al., The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. Vaccine 30S \(2012\) F55– F70](#)). Ο κυτταρικός κύκλος ζωής του HPV υποδιαιρείται σε στάδια, που αναλύονται παρακάτω (Εικ. 3).

1^ο ΣΤΑΔΙΟ: Είσοδος του ιού στο κύτταρο ξενιστή και έκδυση του ιού.

Ο ιός HPV κατά την είσοδό του στον οργανισμό (λοίμωξη) προσβάλλει τα κύτταρα της βασικής στιβάδας του επιθηλίου. Σε πολλές περιπτώσεις μάλιστα, απαιτείται ένα είδος «τραυματισμού» της βασικής στιβάδας, ώστε να επιτραπεί η είσοδος του ιού και η ενσωμάτωση του γενετικού του υλικού στον πυρήνα του κυττάρου. Ειδικότερα, η ευπάθεια της ζώνης μετάπτωσης του επιθηλίου του τραχήλου στην καρκινογένεση έχει συσχετιστεί με την υψηλή

προσβασιμότητα και τον αυξημένο πολλαπλασιασμό των κυττάρων της βασικής στιβάδας, ιδιαίτερα κατά την εφηβεία και την έναρξη της σεξουαλικής ζωής.



Εικόνα 3: Είσοδος του HPV ιού στη ζώνη μετάπτωσης του τραχηλικού επιθηλίου και ο ρόλος των ιικών πρωτεϊνών.

Στο στάδιο αυτό της ζωής του HPV ιού χρειάζεται η παρουσία του ιικού DNA και των 2 καψιδικών πρωτεϊνών L1 και L2. Σημαντικό ρόλο παίζουν επίσης ορμόνες, κυτοκίνες και η θειική ηπαρίνη. ([De Jong A et al., Human papillomavirus type 16-positive cervical cancer is associated with impaired CD4+ T-cell immunity against early antigens E2 and E6. Cancer Res 2004;64\(15\):5449–55.](#))

2^ο ΣΤΑΔΙΟ: Διατήρηση και ενίσχυση του γενετικού υλικού του ιού.

Μετά την προσβολή των κυττάρων του επιθηλίου ακολουθεί αρχικά μια φάση ενίσχυσης του ιικού γονιδιώματος και στη συνέχεια η διατήρησή του με τη μορφή επισώματος σε μικρό αριθμό αντιγράφων (περίπου 200 αντίγραφα/κύτταρο). Οι E1 και E2 πρωτεΐνες έχουν καθοριστικό ρόλο σε αυτό το στάδιο, τουλάχιστον μέχρι να εδραιωθεί ο παραπάνω αριθμός αντιγράφων. Η E2 πρωτεΐνη ελέγχει τη μεταγραφή και έχει θέσεις πρόσδεσης στην LCR περιοχή, ενώ η E1 πρωτεΐνη επιτρέπει την ανεξάρτητη αντιγραφή του ιικού DNA.

Ο ρόλος των E6 και E7 πρωτεϊνών σ' αυτό το στάδιο είναι ξεκάθαρος. Προκαλούν το γρήγορο πολλαπλασιασμό των κυττάρων της βασικής και παραβασικής στιβάδας και συγχρόνως συμβάλουν στην ενίσχυση του

γενετικού υλικού του ιού στα κύτταρα των στοιβάδων αυτών. Επιπλέον, η έκφραση των E6 και E7 πρωτεϊνών στα ανώτερα στρώματα του επιθηλίου επιτρέπει το προσβεβλημένο κύτταρο να επανέλθει στη φάση S και να πολλαπλασιαστεί το ιικό DNA, τροποποιώντας έτσι το φυσιολογικό κύκλο ζωής των κυττάρων του επιθηλίου του τραχήλου. Οι E4 και E5 πρωτεΐνες συμμετέχουν έμμεσα στην ενίσχυση του γενετικού υλικού τροποποιώντας το περιβάλλον του κυττάρου ([Pyeon D et al., Establishment of human papillomavirus infection requires cell cycle progression. PLoS Pathog 2009;5\(2\):e1000318.](#)).

3^ο ΣΤΑΔΙΟ: Πακετάρισμα του ιικού γονιδιώματος και έξοδος του ιού.

Η ολοκλήρωση του κύκλου της ζωής του HPV ιού περιλαμβάνει την έκφραση της L2 πρωτεΐνης, την έξοδο του κυττάρου από τον κυτταρικό κύκλο και την έκφραση της L1 πρωτεΐνης, ώστε να επιτευχθεί το πακετάρισμα του ιικού γονιδιώματος. Σ' αυτό το στάδιο καθοριστικό ρόλο παίζει η E2 πρωτεΐνη και παρουσιάζει υψηλά επίπεδα έκφρασης. Η ωρίμανση του ιού επιτυγχάνεται στα ανώτερα κερατινοκύτταρα, τα οποία χάνουν την οξειδωτική φωσφορυλίωση των μιτοχονδρίων τους και δημιουργούν έτσι ένα αναγωγικό περιβάλλον λίγο πριν την απελευθέρωση του ιού. Αυτό επιτρέπει τη συσσώρευση δισουλφιδικών δεσμών μεταξύ των L1 πρωτεϊνών οδηγώντας στην παραγωγή εξαιρετικά σταθερών μολυσματικών ιικών αντιγράφων. Αν και ακόμα δεν έχει πλήρως καθοριστεί, η αφθονία της E4 πρωτεΐνης φαίνεται να συνεισφέρει στην απελευθέρωση του ιού και στη λοίμωξη των ανώτερων στιβάδων του επιθηλίου, καθώς συγκεντρώνεται στις αμυλοειδείς ίνες, που διασπούν τη δομή της κερατίνης διακινδυνεύοντας έτσι την φυσιολογική απελευθέρωση του κερατινοποιημένου φακέλου ([Mcintosh PB. et al., Structural analysis reveals an amyloid form of the human papillomavirus type 16 E1-E4 protein and provides a molecular basis for its accumulation. J. Virol. 2008. 82; 8196-203.](#)).

4^ο ΣΤΑΔΙΟ: Κυτταρική εξαλλαγή και καρκινογένεση.

Κατά την καρκινογένεση, η έκφραση του γενετικού υλικού του ιού διαταράσσεται, όπως φαίνεται από τα επίπεδα έκφρασης των E6 και E7 πρωτεϊνών, τα οποία αυξάνουν σταδιακά καθώς προχωράμε από το στάδιο 1 στο στάδιο 3 στον καρκίνο του τραχήλου.

Σε τραχηλικές ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις πρώτου βαθμού (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN 1) στην πλειοψηφία των περιπτώσεων το κύτταρο θεραπεύεται από τον ιό. Σε περιπτώσεις λοίμωξης από υψηλού κινδύνου HPV ιούς, η αυξημένη έκφραση των E6 και E7 πρωτεϊνών οδηγεί σε CIN2+ αλλοιώσεις καθώς το προσβεβλημένο κύτταρο γίνεται ευάλωτο στη συσσώρευση γενετικών αλλαγών που οδηγούν στην καρκινογένεση.

Η απελευθέρωση του ιού, που παρατηρείται στις περιπτώσεις CIN2/3+, πιστεύεται ότι διευκολύνει την ενσωμάτωση του ιικού επισώματος στο γενετικό υλικό του κυττάρου ξενιστή, γεγονός που με τη σειρά του μπορεί να επιτείνει την έκφραση των E6 και E7 γονιδίων τα οποία είναι καθοριστικά στην ογκογένεση.

Αν και δεν είναι ακόμη ξεκάθαρο πώς η έκφραση του ιικού επισώματος μπορεί να προκαλέσει αρχόμενο καρκίνο, δεδομένα από εμβολιασμούς έχουν δείξει ότι CIN2+ αλλοιώσεις μπορεί να εμφανιστούν σε νέες γυναίκες σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη λοίμωξη από τον ιό. Σ' αυτές τις περιπτώσεις, η ογκογένεση φαίνεται να σχετίζεται με ορμονικές διαταραχές ή επιγενετικές τροποποιήσεις και μεταλλάξεις που μπορεί να παρατηρηθούν στα προσβεβλημένα από τον HPV ιό κύτταρα του επιθηλίου. Για παράδειγμα, η LCR περιοχή του HPV16 ιού, περιέχει ορμονοεξαρτώμενα στοιχεία τα οποία μπορούν να διεγερθούν από οιστρογόνα, γεγονός που αποδεικνύει συνεργασία ανάμεσα στα οιστρογόνα και στον HPV ιό τόσο στον άνθρωπο, όσο και σε άλλα μοντελικά συστήματα. Επίσης, σε CIN αλλοιώσεις έχει αναφερθεί ότι η μεθυλίωση της LCR περιοχής διαφέρει ανάλογα με τη σοβαρότητα της λοίμωξης, γεγονός που υποδηλώνει ότι επιγενετικές αλλαγές μπορούν να μεταβάλλουν την έκφραση του γονιδιώματος (υπάρχει η άποψη, τουλάχιστον για τον HPV16 ιό, ότι η E7 πρωτεΐνη μπορεί να προκαλέσει επιγενετικές αλλαγές που με τη σειρά τους μπορούν να προκαλέσουν μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων).

Συνήθως, η ενσωμάτωση του ιού γίνεται στις κοινές εύθραυστες περιοχές (Common Fragile Sites, CFS) του γενετικού υλικού του κυττάρου ξενιστή. Βέβαια, σε γενικές γραμμές η ενσωμάτωση του HPV ιού είναι ένα τυχαίο γεγονός, που μερικές φορές μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχή των ιικών γονιδίων τα οποία ρυθμίζουν τη μεταγραφή της LCR περιοχής του ιικού γονιδιώματος.

Ρόλο κλειδί έχει η E2 πρωτεΐνη, η οποία δρα ως μεταγραφικός παράγοντας που ελέγχει και ρυθμίζει τις E6 και E7 πρωτεΐνες μέσω της πρόσδεσής της στην LCR ρυθμιστική περιοχή του γονιδιώματος του ιού. Η πλειονότητα των περιπτώσεων του καρκίνου του τραχήλου περιλαμβάνει ένα ή περισσότερα αντίγραφα του HPV ιικού γονιδιώματος, που ενσωματώνονται λίγο ως πολύ τυχαία στο γενετικό υλικό του κυττάρου ξενιστή. Η περιοχή ενσωμάτωσης περιλαμβάνει τμήμα των γονιδίων E1 ή E2. Η ενσωμάτωση οδηγεί σε απώλεια ρύθμισης των E6 και E7 πρωτεϊνικών επιπέδων, οδηγώντας σε διαρκή και υψηλή έκφραση των γονιδίων αυτών και συσσώρευση γενετικών λαθών καταλήγοντας σε καρκινογένεση.

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει διαφορά απόψεων για το αν η πρώιμη ενσωμάτωση και τα γεγονότα στις CIN1 αλλοιώσεις εξελίσσονται μέσω CIN2 και CIN3 αλλοιώσεων σε καρκίνο ή αν κάποιος βαθμός διαταραχής στην έκφραση του ιικού DNA υποκρύπτεται στα αρχικά στάδια των CIN2/CIN3 αλλοιώσεων και προκαλεί χρωμοσωμική αστάθεια. Ωστόσο, είναι γενικά αποδεκτό ότι η ενσωμάτωση του ιού παρατηρείται στις υψηλόβαθμες αλλοιώσεις (CIN 2, CIN 3) και ότι από την στιγμή που θα συμβεί, η ήδη διαταραγμένη έκφραση των E6 και E7 πρωτεϊνών μπορεί να επιδεινωθεί ή να παραμείνει σε σταθερά επίπεδα. (*Jeon S et al., Integration of human papillomavirus type 16 DNA into the human genome leads to increased stability of E6 and E7 mRNAs: implications for cervical carcinogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A 1995;92(5):1654–8.*).

1.4 ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας είναι ένας κατά κύριο λόγο πρωτοπαθής καρκίνος, ο οποίος λόγω της ευρείας χρήσης μεθόδων μαζικού πληθυσμιακού ελέγχου, εμφανίζει τα τελευταία χρόνια σημαντική μείωση. Παρ' όλα αυτά, είναι ένας πολύ κοινός καρκίνος στις γυναίκες, καθώς είναι ο τέταρτος πιο κοινός καρκίνος στις γυναίκες με 528.000 νέα περιστατικά κάθε χρόνο και 266.000 θανάτους ετησίως. (*Ferlay J et al., Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int J Cancer. 2015.136:E359-86.*).

Πρόκειται για έναν καρκίνο του οποίου τα αίτια δεν είναι γνωστά, αλλά φαίνεται να συσχετίζεται με παράγοντες όπως η μικρή ηλικία έναρξης της

σεξουαλικής ζωής, ο μεγάλος αριθμός σεξουαλικών συντρόφων, το κάπνισμα, η πολυτοκία και η λοίμωξη από τον HPV ιό, ιδιαίτερα από στελέχη που ανήκουν στην ομάδα υψηλού κινδύνου. (Appleby P et al., *Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. Int J Cancer. 2006; 118:1481–95.*).

Τα συμπτώματα της νόσου μπορεί να μην εκδηλώνονται στα αρχικά στάδια και η διάγνωση τις περισσότερες φορές τίθεται από το testPap, την κολποσκόπηση και την κωνοειδή εκτομή. Συμπτώματα όπως η κολπική αιμόρροια, η κολπική υπερέκκριση, ιδιαίτερα όταν αυτή είναι δύσοσμη, το πυελικό άλγος, είναι παράγοντες που πρέπει να αξιολογούνται στη διαφορική διάγνωση για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.

Αν και η κλινική εξέταση αποτελεί τη βασική μέθοδο για τη σταδιοποίηση, ωστόσο, ορισμένες εξετάσεις όπως η κολποσκόπηση, η ενδοτραχηλική απόξεση, η υστεροσκόπηση, η κυστεοσκόπηση, η ορθοσιγμοειδοσκόπηση, η πρωκτοσκόπηση, η ενδοφλέβια πυελογραφία και η ακτινογραφία πνευμόνων και σκελετού είναι αναγκαίες. Για την ταξινόμηση, χρησιμοποιείται αυτή που έχει προταθεί από την FIGO (Federation International of Gynecology and Obstetrics) το 1988:

Στάδιο 0	Καρκίνος in situ - καταλαμβάνεται μόνο το επιφανειακό στρώμα των κυττάρων που επενδύουν τον τράχηλο χωρίς να εισβάλει στους ιστούς
Στάδιο I	Ο καρκίνος περιορίζεται στον τράχηλο (επέκταση στο σώμα της μήτρας δεν λαμβάνεται υπ' όψη) Ia: Μικροσκοπική διήθηση Ia1: ≤3mm (βάθος διήθησης) x 7mm (οριζόντια διασπορά) Ia2: ≤5mm (βάθος διήθησης) x 7mm (οριζόντια διασπορά) Ib: Διαστάσεις μεγαλύτερες του Ia2 ή ορατή κλινική εικόνα Ib1: Μέγεθος ≤4cm στη μεγαλύτερη διάμετρο Ib2: Μέγεθος ≥4cm στη μεγαλύτερη διάμετρο
Στάδιο II	Επέκταση καρκίνου

	<p>IIa: Διήθηση μέχρι τα δύο άνω τριτημόρια του κόλπου, χωρίς τα παραμήτρια</p> <p>IIb: Διήθηση των παραμητρίων, χωρίς να φτάνει το πυελικό τοίχωμα</p>
Στάδιο III	<p>IIIa: Διήθηση του κάτω τριτημορίου του κόλπου</p> <p>IIIb: Διήθηση των παραμητρίων μέχρι το πλάγιο πυελικό τοίχωμα ή υδρονέφρωση ή νεφρός που δεν λειτουργεί ή και τα δύο</p>
Στάδιο IV	<p>IVa: Διήθηση του βλεννογόνου της ουροδόχου κύστης ή/και του ορθού</p> <p>IVb: Απομακρυσμένες μεταστάσεις</p>

Πίνακας 3: Σταδιοποίηση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας κατά FIGO.

Η θεραπεία του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας εξαρτάται από το στάδιο της νόσου. Έτσι, η χειρουργική θεραπεία εφαρμόζεται μέχρι το στάδιο IIa, ενώ για τα υπόλοιπα στάδια η χειρουργική θεραπεία αποφεύγεται και εφαρμόζεται η ακτινοθεραπεία ή και σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία.

Η πρόγνωση στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας είναι εξαιρετικά καλή, αν η διάγνωση γίνει νωρίς (η πιθανότητα θανάτου σε στάδιο Ia1 είναι 0.2%) και γι' αυτόν ακριβώς το λόγο η πρόληψη και η ανάπτυξη μεθόδων μαζικού ελέγχου (screening) είναι πολύ σημαντικές. Προς αυτή την κατεύθυνση έχουν γίνει αρκετά βήματα με την αρχή να γίνεται με το τεστ Παπανικολάου (test Pap) ο οποίος εισήγαγε το τεστ το 1949 και έκτοτε η συμβολή του στη μείωση των περιπτώσεων καρκίνου του τραχήλου είναι θεαματική. Το τεστ Pap βασίζεται στην κυτταρολογική εξέταση των κυττάρων της ζώνης μετάπτωσης, περιοχή στην οποία κατά κύριο λόγο εμφανίζεται ο καρκίνος του τραχήλου και παρουσιάζει μεγάλη ειδικότητα (specificity). Σήμερα χρησιμοποιείται η ταξινόμηση κατά Bethesda (Nayar R et al., *The Pap test and Bethesda 2014 Cancer Cytopathol. 2015 May;123(5):271-81.*), σύμφωνα με την οποία μετά την κυτταρολογική εξέταση τα αποτελέσματα ταξινομούνται στις εξής κατηγορίες:

- Normal
- ASCUS (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance)
- LSIL/LGSIL (Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion)
- HSIL/HGSIL (High Grade Squamous Intraepithelial Lesion)

Τα ASCUS κύτταρα με τη σειρά τους μπορούν να χαρακτηριστούν ανάλογα με την βαρύτητα της βλάβης σε ASCUS καλοήθεις αλλοιώσεις και σε ASC-H (Atypical Squamous Cells with possible HSIL)

Η παρουσία των μη φυσιολογικών κυττάρων στο τραχηλικό επίχρισμα συνεπάγεται προκαρκινικές αλλοιώσεις σε ιστολογικό επίπεδο, οι οποίες αναφέρονταν παλαιότερα ως «δυσπλασίες» και οι οποίες ταξινομούνται ως εξής:

- CIN1 (Βλάβες που εντοπίζονται στο κάτω τριτημόριο του επιθηλίου)
- CIN2 (Βλάβες που εντοπίζονται στα 2/3 του επιθηλίου)
- CIN3 (Βλάβες που εντοπίζονται σε ολόκληρο το πάχος του επιθηλίου-Ca in situ)

Η σχέση ανάμεσα στην κυτταρολογική και την ιστολογική εξέταση καθώς και η ταξινόμηση κατά Bethesda φαίνεται πιο κάτω (πίνακας 4):

TABLE 1. THE 2014 BETHESDA SYSTEM**SPECIMEN TYPE***Indicate conventional smear (Pap smear), liquid-based preparation (Pap test) vs other***SPECIMEN ADEQUACY**

- ⊖ Satisfactory for evaluation (describe presence or absence of endocervical/transformation zone component and any other quality indicators, eg, partially obscuring blood, inflammation, etc)
- ⊖ Unsatisfactory for evaluation (specify reason)
 - ⊖ Specimen rejected/not processed (specify reason)
 - ⊖ Specimen processed and examined, but unsatisfactory for evaluation of epithelial abnormality because of (specify reason)

GENERAL CATEGORIZATION (optional)

- ⊖ Negative for intraepithelial lesion or malignancy
- ⊖ Other: see Interpretation/Result (eg, endometrial cells in a woman aged ≥ 45 years)
- ⊖ Epithelial cell abnormality: see Interpretation/Result (specify "squamous" or "glandular," as appropriate)

INTERPRETATION/RESULT**Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy***(When there is no cellular evidence of neoplasia, state this in the General Categorization above and/or in the Interpretation/Result section of the report—whether or not there are organisms or other non-neoplastic findings)***Non-Neoplastic Findings (optional to report)**

- ⊖ Non-neoplastic cellular variations
 - Squamous metaplasia
 - Keratotic changes
 - Tubal metaplasia
 - Atrophy
 - Pregnancy-associated changes
- ⊖ Reactive cellular changes associated with:
 - Inflammation (includes typical repair)
 - Lymphocytic (follicular) cervicitis
 - Radiation
 - Intrauterine contraceptive device (IUD)
- ⊖ Glandular cells status posthysterectomy

Organisms

- ⊖ *Trichomonas vaginalis*
- ⊖ Fungal organisms morphologically consistent with *Candida* spp.
- ⊖ Shift in flora suggestive of bacterial vaginosis
- ⊖ Bacteria morphologically consistent with *Actinomyces* spp.
- ⊖ Cellular changes consistent with herpes simplex virus
- ⊖ Cellular changes consistent with cytomegalovirus

Other

- Endometrial cells (in a woman aged ≥ 45 years)
- (Also specify if "negative for squamous intraepithelial lesion")*

Epithelial Cell Abnormalities**Squamous Cell**

- Atypical squamous cells
 - Of undetermined significance (ASC-US)
 - Cannot exclude HSIL (ASC-H)
- Low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL)
 - (Encompassing: HPV/mild dysplasia/CIN-1)*
- High-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL)
 - (Encompassing: moderate and severe dysplasia, CIS; CIN-2 and CIN-3)*
 - With features suspicious for invasion (if invasion is suspected)
- Squamous cell carcinoma

Glandular Cell

- Atypical
 - Endocervical cells (NOS or specify in comments)
 - Endometrial cells (NOS or specify in comments)
 - Glandular cells (NOS or specify in comments)
- Atypical
 - Endocervical cells, favor neoplastic
 - Glandular cells, favor neoplastic
- Endocervical adenocarcinoma in situ
- Adenocarcinoma
 - Endocervical
 - Endometrial
 - Extrauterine
 - Not otherwise specified (NOS)

Other Malignant Neoplasms (specify)**ADJUNCTIVE TESTING***Provide a brief description of the test method(s) and report the result so that it is easily understood by the clinician***COMPUTER-ASSISTED INTERPRETATION OF CERVICAL CYTOLOGY***If case examined by an automated device, specify the device and result***EDUCATIONAL NOTES AND COMMENTS APPENDED TO CYTOLOGY REPORTS (optional)***Suggestions should be concise and consistent with clinical follow-up guidelines published by professional organizations (references to relevant publications may be included)*

Abbreviation: CIN, cervical intraepithelial neoplasia; CIS, carcinoma in situ; HPV, human papillomavirus; NOS, not otherwise specified; Pap, Papanicolaou.

Πίνακας 4: Ταξινόμηση κατά Bethesda

Παρά τη μεγάλη χρησιμότητά του, αλλά και τη διαχρονικότητά του, καθώς πραγματοποιείται ακόμη και σήμερα ως μέθοδος μαζικού πληθυσμιακού

ελέγχου (screening), έχει κάποιους περιορισμούς αφού εμφανίζει μεγάλο ποσοστό ψευδώς θετικών και αρνητικών αποτελεσμάτων (20-30%). Για το λόγο αυτό έχουν γίνει προσπάθειες να βρεθούν τρόποι ανίχνευσης του HPV ιού , αντί έμμεσων μεθόδων ανίχνευσης όπως το τεστ Pap. Αυτές οι προσπάθειες οδήγησαν στην ανάπτυξη μιας δοκιμασίας που λέγεται HPV-DNA τεστ. Αν και μέχρι σήμερα φαίνεται ότι το HPV DNA τεστ εμφανίζει μεγαλύτερη ευαισθησία από το τεστ Pap, ως προς την ανίχνευση σοβαρών αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας, εντούτοις δεν τεκμηριώνεται η χρήση του ως μέθοδος μαζικού πληθυσμιακού ελέγχου ασυμπτωματικών γυναικών.

Πολλές εταιρείες, που δραστηριοποιούνται στο χώρο αυτό, έχουν επιδοθεί σε μια συνεχή προσπάθεια να δημιουργήσουν HPV-DNA τεστ ικανά να αντικαταστήσουν το τεστ Pap. Στο κύριο μέρος της συγκεκριμένης εργασίας παρουσιάζονται τα HPV DNA τεστ και περιγράφονται τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματά τους τόσο μεταξύ τους όσο και συγκριτικά με το τεστ Pap.

2 ΠΡΟΛΗΨΗ

Σύμφωνα με τις Ευρωπαϊκές οδηγίες (ECCG 2015), η ηλικία έναρξης προληπτικού ελέγχου είναι τα 35 έτη και σίγουρα όχι κάτω των 30 ετών, καθώς στο χρονικό μεσοδιάστημα 30-34 έτη δεν υπάρχουν σαφείς αποδείξεις για τη χρησιμότητα και αποτελεσματικότητα του μαζικού προληπτικού ελέγχου. Πιστεύεται ότι θα πρέπει να γίνεται μόνο ένα είδος τεστ (κυτταρολογική εξέταση ή HPV DNA τεστ για ογκογόνα στελέχη του HPV ιού) σε όλες ανεξαρτήτως τις ηλικίες, ενώ η ηλικία τερματισμού των προληπτικών εξετάσεων προτείνεται να είναι τα 60-65 έτη με την προϋπόθεση ότι υπάρχει πρόσφατο αρνητικό αποτέλεσμα είτε στον κυτταρολογικό έλεγχο (τεστ Pap) είτε στο HPV DNA τεστ.

Αν ως μέθοδος μαζικού προληπτικού ελέγχου χρησιμοποιείται το HPV DNA τεστ , τότε αυτό μπορεί να επαναλαμβάνεται κάθε 5 χρόνια ή ακόμη και κάθε 10 χρόνια ανάλογα με την ηλικία και το ιστορικό κάθε γυναίκας. Εφόσον χρησιμοποιείται το τεστ Pap για μαζικό προληπτικό έλεγχο, προτείνεται να επαναλαμβάνεται κάθε 1-3 χρόνια.

Εφόσον το HPV DNA τεστ βγει θετικό προτείνεται να συνδυαστεί και με κυτταρολογική εξέταση (τεστ Pap). Αν η κυτταρολογική εξέταση είναι αρνητική θα πρέπει να γίνει επανέλεγχος με HPV DNA τεστ μετά από τουλάχιστον 12 μήνες μόνο ή σε συνδυασμό με νέα κυτταρολογική εξέταση. Εφόσον στην κυτταρολογική εξέταση βρεθούν ASCUS κύτταρα ή χειρότερη παθολογία τότε θα πρέπει να γίνει κολποσκόπηση. Σε περίπτωση που ο επανέλεγχος με το HPV DNA τεστ δώσει θετικό αποτέλεσμα ενώ η κυτταρολογική εξέταση είναι αρνητική τότε είναι δυνατές 3 επιλογές: α) να γίνει εκ νέου έλεγχος μετά από 12 μήνες, β) να γίνει κολποσκόπηση, γ) επιστροφή σε έλεγχο ρουτίνας. Αν δεν υπάρχει κυτταρολογική εξέταση σε επαναληπτικό έλεγχο με HPV DNA τεστ θετικό, τότε η κολποσκόπηση είναι η μόνη λύση.

Στην Αμερική αντίθετα, οι κατευθυντήριες οδηγίες για την πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας (ACS-ASCCP-ASCP 2012) λαμβάνουν περισσότερο υπόψη την ηλικία κάθε γυναίκας και ανάλογα με αυτή καθορίζεται και το είδος της εξέτασης. Ενώ στην Ευρώπη δεν τίθεται το ζήτημα προληπτικού ελέγχου για ηλικίες <30 ετών, εδώ προτείνεται ως καλύτερη λύση η κυτταρολογική εξέταση κάθε 3 χρόνια για τις ηλικίες από 21 έως 29 ετών, ενώ το HPV DNA τεστ δεν προτείνεται σε αυτές τις ηλικίες μόνο του ή σε συνδυασμό με το τεστ Pap. Η χρήση του ως μέθοδος μαζικού προληπτικού ελέγχου εισάγεται για πρώτη φορά στις ηλικίες 30-65 ετών, αλλά όχι μόνο του παρά σε συνδυασμό με την κυτταρολογική εξέταση με τον όρο «co-testing» κάθε 5 χρόνια. Αν το HPV DNA τεστ είναι θετικό και συγχρόνως η κυτταρολογική εξέταση αρνητική υπάρχουν 2 επιλογές: α) επανεξέταση με co-testing σε ένα χρόνο, β) περαιτέρω έλεγχος για ταυτοποίηση των υψηλού κινδύνου HPV16/18 ιών, ώστε αν προκύψει θετικό αποτέλεσμα τότε πρέπει να ακολουθήσει κολποσκόπηση, ενώ αν βγει αρνητική γίνεται επανέλεγχος με co-testing σε ένα χρόνο. Εναλλακτικά, γυναίκα ηλικίας 30-65 ετών θα μπορούσε να υποβάλλεται σε έλεγχο με κυτταρολογική εξέταση κάθε 3 χρόνια χωρίς HPV DNA τεστ, όμως η επιλογή αυτή δεν προτείνεται ως κύρια μέθοδος μαζικού προληπτικού ελέγχου. Μετά τα 65 δεν προτείνεται κάποια εξέταση ως μέθοδος μαζικού προληπτικού ελέγχου, παρά μόνο σε περιπτώσεις γυναικών με ιστορικό CIN2 ή CIN2+, οπότε σ' αυτή την περίπτωση ο έλεγχος παρατείνεται για τουλάχιστον 20 χρόνια.

TABLE 1. Summary of Recommendations

POPULATION	PAGE NUMBER	RECOMMENDED SCREENING METHOD ^a	MANAGEMENT OF SCREEN RESULTS	COMMENTS
Aged < 21 y	153	No screening		HPV testing should not be used for screening or management of ASC-US in this age group
Aged 21-29 y	154-155	Cytology alone every 3 y	HPV-positive ASC-US ^b or cytology of LSIL or more severe: Refer to ASCCP guidelines ²	HPV testing should not be used for screening in this age group
			Cytology negative or HPV-negative ASC-US ^b : Rescreen with cytology in 3 y	
Aged 30-65 y	155-162	HPV and cytology "cotesting" every 5 y (preferred)	HPV-positive ASC-US or cytology of LSIL or more severe: Refer to ASCCP guidelines ²	Screening by HPV testing alone is not recommended for most clinical settings
			HPV positive, cytology negative: Option 1: 12-mo follow-up with cotesting Option 2: Test for HPV16 or HPV16/18 genotypes • If HPV16 or HPV16/18 positive: refer to colposcopy • If HPV16 or HPV16/18 negative: 12-mo follow-up with cotesting	
			Cotest negative or HPV-negative ASC-US: Rescreen with cotesting in 5 y	
			Cytology alone every 3 y (acceptable)	
Aged > 65 y	162-163	No screening following adequate negative prior screening	HPV-positive ASC-US ^b or cytology of LSIL or more severe: Refer to ASCCP guidelines ²	Women with a history of CIN2 or a more severe diagnosis should continue routine screening for at least 20 y
			Cytology negative or HPV-negative ASC-US ^b : Rescreen with cytology in 3 y	
After hysterectomy	163-164	No screening		Applies to women without a cervix and without a history of CIN2 or a more severe diagnosis in the past 20 y or cervical cancer ever
HPV vaccinated	164-165	Follow age-specific recommendations (same as unvaccinated women)		

ASCCP indicates American Society for Colposcopy and Cervical Pathology; ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance; CIN2, cervical intra-epithelial neoplasia grade 2; HPV, human papillomavirus; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion.

^aWomen should not be screened annually at any age by any method.

^bASC-US cytology with secondary HPV testing for management decisions.

Πίνακας 5: Συστάσεις για μαζικό προληπτικό έλεγχο κατά ASCCP (American Society for Colposcopy and Cervical Pathology).

Σημαντικός είναι και ο ρόλος του εμβολίου στην πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, τόσο στη διδύναμη (HPV 16, 18) όσο και στην τετραδύναμη μορφή του (HPV 6, 11, 16, 18), καθώς περιέχει τα στελέχη που απαντούν σε μεγαλύτερη συχνότητα παγκοσμίως και ενοχοποιούνται σε ποσοστό >70% για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Ωστόσο, δεν παρέχεται 100% κάλυψη καθώς υπάρχουν και άλλοι HPV τύποι με ογκογόνο δράση και επομένως δεν μπορεί ο εμβολιασμός να χρησιμοποιηθεί ως μέσο μαζικού προληπτικού ελέγχου.

Σύμφωνα με το Εθνικό Πρόγραμμα Εμβολιασμών, ο εμβολιασμός συνιστάται σε κορίτσια ηλικίας 12-15 ετών σε δύο δόσεις, αλλά και σε κορίτσια και γυναίκες ηλικίας 15-26 ετών σε τρεις δόσεις, εάν δεν έχουν εμβολιαστεί στη συνιστώμενη ηλικία. Τα τελευταία χρόνια μάλιστα τίθεται υπό συζήτηση το αν θα έπρεπε και τα αγόρια των ίδιων ηλικιών να εμβολιάζονται κατά του HPV ιού. Σε κάθε περίπτωση καθίσταται σαφές ότι, ο μαζικός προληπτικός έλεγχος

με κυτταρολογική εξέταση (PAP τεστ) ή σε συνδυασμό με κάποιο HPV DNA τεστ πρέπει να γίνεται ανεξάρτητα από τον εμβολιασμό. Ο εμβολιασμός μειώνει την πιθανότητα λοίμωξης από τον HPV ιό μόνο για τους τύπους 16 και 18. Στην Ευρώπη, τα ποσοστά κάλυψης του πληθυσμού με εμβολιασμό ποικίλουν από 30% σε χώρες όπως η Γαλλία και το Λουξεμβούργο μέχρι 80% σε χώρες όπως η Δανία και η Σουηδία. Ποσοστό κάλυψης της τάξης του 70% θεωρείται ικανοποιητικό ώστε να θεωρηθεί ένα πρόγραμμα εμβολιασμού επιτυχημένο. (*Lawrence von Karsa et al., European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Summary of the supplements on HPV screening and vaccination. Papillomavirus Research*1(2015)22–31.)

Table 3.1: Overview of implementation of HPV vaccination in countries of the European Union, Iceland, and Norway

Country	Start date of routine HPV vaccination (No: no campaign)	Campaign: organized/ opportunistic	Target age for routine vaccination	Age range for catch-up vaccination	Cost: free (F)/ % cost reimbursed for routine and catch-up group	Coverage monitoring system in place? (Y/N)	Coverage of routine population (3 doses) (reporting year) C: birth cohort	Coverage of catch-up population (3 doses) (reporting year) C: birth cohort	Source
Austria	2006	Opportunistic	>9 ^a	-	0%	N	-	-	-
Belgium	2007	Opportunistic/organized (school-based) ^b	12–13	14–18	90%	Y	Opportunistic: (2009) C1995: 37% School-based (2011) C1998: 83%	Opportunistic: (2009) C1992: 69%	(Lefevre et al. 2011) ((ZG) Vlaams Agentschap Zorg en Gezondheid 2013) (Arbyn et al. 2012)
Bulgaria	2012	Organized (through health centres or primary-care providers)	12	-	F for routine; catch-up is opportunistic and not free of charge	-	-	-	(Poljak et al. 2013; Seme et al. 2013)
Croatia	No	-	-	-	-	-	-	-	(Seme et al. 2013)
Cyprus	No	-	-	-	-	-	-	-	-
Czech Republic	2012	Organized (through health centres, paediatricians)	12–14 13–14	-	Covered by general health insurance for routine	Y	-	-	(Poljak et al. 2013; Seme et al. 2013)

Country	Start date of routine HPV vaccination (No: no campaign)	Campaign: organized/ opportunistic	Target age for routine vaccination	Age range for catch-up vaccination	Cost: free (F)/ % cost reimbursed for routine and catch-up group	Coverage monitoring system in place? (Y/N)	Coverage of routine population (3 doses) (reporting year) C: birth cohort	Coverage of catch-up population (3 doses) (reporting year) C: birth cohort	Source
Denmark	2009	Organized (through general practitioners)	12	13–17	F	Y	(2009) C1996: 79%	(2009) 81%	(Sander et al. 2012) (SSI - Statens Serum Institut 2013)
Estonia	No	-	-	-	-	-	-	-	-
Finland	2013	Organized (school-based)	11–12	13–15	F	Y	-	-	(Mannonen & Waller 2013)
France	2007	Opportunistic	11–14	15–20	65%	Y	(2008) C1994: 29%	-	(Fagot et al. 2011)
Germany	2007	Opportunistic	12–17	-	F	N	-	-	-
Greece	2008	Opportunistic/organized	12–15	-	F	N	-	-	-
Hungary	No	-	-	-	-	-	-	-	-
Iceland	2011	Organized (school-based)	12	13	F	Y	-	-	-
Ireland	2010	Organized (school-based)	12–13	-	F	Y	-	-	-
Italy	2007–2008	Organized (through public health centres)	11	14/15/16/17/24 ^c	F	Y	(2011) C1997: 66%	-	(Giambi 2012)

Country	Start date of routine HPV vaccination (No: no campaign)	Campaign: organized/ opportunistic	Target age for routine vaccination	Age range for catch-up vaccination	Cost: free (F)/ % cost reimbursed for routine and catch-up group	Coverage monitoring system in place? (Y/N)	Coverage of routine population (3 doses) (reporting year) C: birth cohort	Coverage of catch-up population (3 doses) (reporting year) C: birth cohort	Source
Latvia	2010	Organized (through public health centres)	12	-	F	Y	(2012) 53%	-	(Seme et al. 2013)
Lithuania	No	-	-	-	-	-	-	-	-
Luxembourg	2008	Opportunistic	12-13	14-18	F	Y	(2009) 17% ^d	(2009) 29% ^d	(Dorleans et al. 2010)
Malta	2013	Organized (through health centres)	12	-	F	Y	(2013) 88%	-	(Farrugia Sant'Angelo, 2014)
Netherlands	2009	Organized (through public health centres)	12	13-16	F	Y	(2012) C1997: 56%	(2012) 58%	(van Lier et al. 2012)
Norway	2009	Organized (school-based)	12	-	F	Y	(2011) C1997: 63%	N/A	(Sander et al. 2012)
Poland	No	-	-	-	-	-	-	-	-
Portugal	2008	Organized (through health centres)	13	17	F	Y	(2009) 81% ^d	(2009) 56% ^d	(Dorleans et al. 2010)
Romania	2009	Organized (school-based)	12	13-24	F	Y	-	-	-
Slovakia	No	-	-	-	-	-	-	-	-
Country	Start date of routine HPV vaccination (No: no campaign)	Campaign: organized/ opportunistic	Target age for routine vaccination	Age range for catch-up vaccination	Cost: free (F)/ % cost reimbursed for routine and catch-up group	Coverage monitoring system in place? (Y/N)	Coverage of routine population (3 doses) (reporting year) C: birth cohort	Coverage of catch-up population (3 doses) (reporting year) C: birth cohort	Source
Slovenia	2009	Organized (school-based)	11-12	-	F	Y	(2011) ^a 55%	-	(ECDC 2012)
Spain	2008	Organized (through public health centres/school-based)	11-14 ^f	-	F	Y	(2009) ^a 77%	-	(Limia & Pachon 2011)
Sweden	2012	Organized (school-based)	10-12	13-18 ^b	F	Y	(2013) ^f C2000-C2001: 82%	57%	(Folkhälsomyndigheten 2014)
United Kingdom	2008	Organized (school-based)	12-13	14-17	F	Y	80% ^d	32% ^d	(Dorleans et al. 2010)

Πίνακας 6: Ποσοστά κάλυψης με εμβολιασμό σε Ευρωπαϊκές χώρες.

3 ΚΥΡΙΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 ΓΕΝΙΚΑ

Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται τα εμπορικά διαθέσιμα HPV DNA ΤΕΣΤ.

HPV Test name	Company name	Regulatory Status
Cervista HPV HR	Hologic GEN-PROBE	FDA approved
Cervista HPV 16/18	Hologic GEN-PROBE	FDA approved
APTIMA HPV	Hologic GEN-PROBE	FDA-approved for ThinPrep
AMPLICOR HPV test	Roche	CE marked (not available in US)
LINEAR ARRAY HPV Genotyping Test	Roche	NA RUO
Cobas HPV test	Roche	FDA approved CE marked
Xpert HPV	Cepheid	CE marked
BD HPV Onclarity Assay	BD	CE marked
Digene HC2 (Hybrid Capture 2) HPV DNA test	Qiagen	FDA approved
HPV genotyping RH and LX kit	Qiagen	
careHPV test	Qiagen	Application submitted for WHO prequalification
OncoE6 Cervical Test	Arbor Vita Corporation	CE marked
Real TimeHigh-Risk HPV	Abott Molecular	CE marked
INNO-LiPA HPV Genotyping Extra*	Innogenetics	RUO
HPV DIRECT FLOW CHIP + E-BRID system	Master Diagnostic (TaKaRa Shuzo Co. Ltd.)	
PapilloCheck HPV-Screening	Greiner Bio-One	CE marked
PapilloCheck High-risk	Greiner Bio-One	CE marked

HPV4A ACE Screening kit	Seegene	CE marked
Anyplex II HPV28	Seegene	CE marked
Multimetrix Multiplex HPV Genotyping Kit	MIKROGEN (Germany) also Progen/Multimetrix	
CLART HPV 2	Genomica (Spain)	?CE marked
GenoFlow HPV Array	DiagCor (Hong Kong)	
fHPV Typing	molGENTIX (Spain)	CE marked
Trovagene Urine-based HPV test	Trovagene & Strand Life Sciences (India)-kit under development, test currently performed by Trovagene laboratory	
13 High-risk HPV Real-Time PCR kit	HybriBio	
PreTect HPV-Proofer	NorChip AS	
CERVIMAX IHC/WB/FC/IC	VALDOSPAN GmbH	
NucliSENS easyQ	Biomerieux	CE-IVD
PapType	Genera Biosystems	



Πίνακας 7: Εμπορικώς διαθέσιμα HPV DNA τεστ βάσει του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας.

Οι περισσότερες μελέτες περιλαμβάνουν σύγκριση των διαθέσιμων HPV DNA τεστ με το Hybrid Capture II σύστημα (QIAGEN), το οποίο είναι το πλέον χρησιμοποιούμενο σύστημα, μέχρι σήμερα, για την ανίχνευση του HPV ιού και θεωρείται το “gold standard”.

3.2 ΣΥΣΤΗΜΑ Hybrid Capture II HPV DNA ΤΕΣΤ

Πρόκειται για μια μη ραδιενεργό μέθοδο ανίχνευσης σήματος, βασιζόμενη στον υβριδισμό συνθετικών, σημασμένων RNA ανιχνευτών με το HPV DNA στόχο. Η μέθοδος χρησιμοποιεί ένα σύνολο RNA ανιχνευτών, οι οποίοι είναι

συμπληρωματικοί ως προς τις αλληλουχίες του γονιδιώματος 13 υψηλού κινδύνου και 5 χαμηλού κινδύνου HPV τύπων. Έχει αναπτυχθεί και διατίθεται από την εταιρία QIAGEN.

Η αρχή λειτουργίας της μεθόδου περιλαμβάνει τη συλλογή και λύση των κυττάρων που λαμβάνονται από τον τράχηλο, ώστε να ελευθερωθεί το DNA, συμπεριλαμβανόμενου και του ιικού DNA το οποίο μπορεί να υπάρχει. Το DNA αποδιατάσσεται και το μονόκλωνο ιικό DNA-στόχος επωάζεται με τους RNA ανιχνευτές υπό συνθήκες που επιτρέπουν το σχηματισμό υβριδικών RNA-DNA μορίων. Πρωτογενή αντισώματα, συνδεδεμένα στο τοίχωμα των “πηγαδιών” της μικροπλάκας, αναγνωρίζουν εξειδικευμένα την τρισδιάστατη δομή των υβριδικών RNA-DNA μορίων και προσδένονται σε αυτά.

Στη συνέχεια, ακολουθεί δεύτερη αντίδραση με δευτερογενή αντισώματα, συνδεδεμένα με αλκαλική φωσφατάση, που βρίσκονται στο διάλυμα και αναγνωρίζουν και προσδένονται στο σύμπλοκο των πρωτογενών αντισωμάτων. Η περίσσεια των αντισωμάτων και των μη υβριδοποιημένων ανιχνευτών απομακρύνονται με το πλύσιμο και τα ακινητοποιημένα υβριδικά μόρια ανιχνεύονται με προσθήκη κατάλληλου υποστρώματος, που αντιδρά με το ένζυμο της αλκαλικής φωσφατάσης με αποτέλεσμα την παραγωγή φωτός. Το παραγόμενο φως μετράται με χημειοφωταύγεια και εκφράζεται σε μονάδες φωτός.

Η μέθοδος είναι ευρέως χρησιμοποιούμενη στην καθημερινή πράξη, καθώς παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Σημαντικό μειονέκτημα της συγκεκριμένης μεθόδου αποτελεί η εμφάνιση διασταυρούμενης αντίδρασης ανάμεσα στο μίγμα των ανιχνευτών με στελέχη του HPV ιού που δεν ανήκουν στους 18 τύπους για τους οποίους είναι σχεδιασμένη η μέθοδος. Μελέτη των M.Schiffman και συνεργατών (2015) προσδιόρισε σε 3.179 δείγματα ότι το ποσοστό της διασταυρούμενης αντίδρασης και επομένως των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων ήταν 7,8%. (*Schiffman et al., The Role of Human Papillomavirus Genotyping in Cervical Cancer Screening: A Large-Scale Evaluation of the cobas HPV Test. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2015 Sep;24(9):1304-10.*)

Αυτό το μειονέκτημα αποτέλεσε την αιτία που οι εταιρείες που δραστηριοποιούνται στο χώρο εισήγαγαν τεχνικές που βασίζονται στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR). Η

PCR είναι μία μέθοδος ανίχνευσης του γενετικού στόχου, που χρησιμοποιεί ένα θερμικό κυκλοποιητή και εξειδικευμένους ολιγονουκλεοτιδικούς εκκινητές συμπληρωματικούς εκατέρωθεν της περιοχής που θέλουμε να ενισχύσουμε, παρουσία του ενζύμου DNA πολυμεράση. Το προϊόν ενίσχυσης της PCR ανιχνεύεται με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης ή με άλλες μεθόδους που αυξάνουν την ευαισθησία και την ειδικότητα (π.χ. PCR-RFLP, υβριδισμός και ανάστροφος υβριδισμός των προϊόντων).

3.3 REAL TIME HIGH-RISK HPV

Η συγκεκριμένη μέθοδος ανιχνεύει ποιοτικά 14 υψηλού κινδύνου τύπους του HPV ιού (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) και ξεχωριστά τους 2 πιο ογκογόνους τύπους (16,18) βάση μιας παραλλαγής της PCR που επιτρέπει την παρακολούθηση της αντίδρασης σε πραγματικό χρόνο (Real Time PCR). Διατίθεται από την εταιρία Abbott Molecular Diagnostics.

Μία μελέτη στη Σλοβενία (*Poljak M et al., The Abbott RealTime High Risk HPV test: comparative evaluation of analytical specificity and clinical sensitivity for cervical carcinoma and CIN 3 lesions with the Hybrid Capture 2 HPV DNA test. Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat. 2009 Sep;18(3):94-103, J Clin Virol. 2012 Feb;53(2):121-4.*) σύγκρινε το HPV τεστ της εταιρίας Abbott με το Hybrid Capture II HPV DNA τεστ (hc2). Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 95 και 267 δείγματα με ιστολογική διάγνωση καρκίνου του ενδομητρίου και CIN3 αντίστοιχα. Διαπιστώθηκε συμφωνία των αποτελεσμάτων σε ποσοστό 93,6% για τις CIN3 περιπτώσεις και 94,7% για τις περιπτώσεις καρκίνου του ενδομητρίου.

Η ευαισθησία της RT-PCR στα δείγματα με καρκίνο του ενδομητρίου, που περιείχαν τουλάχιστον έναν HPV τύπο, ήταν 98,8%, ενώ της hc2 ήταν μικρότερη (95,3%). Ανάλογη ήταν και η διαφορά στα περιστατικά με CIN3 (96,4/92,5% αντίστοιχα για RT-PCR και hc2). Στη μελέτη αυτή συμπεριλήφθηκαν 37 δείγματα που είχαν χαρακτηριστεί ψευδώς θετικά με την hc2 μέθοδο, ενώ όταν εξετάστηκαν με τα Amplicor HPV τεστ, INNO-LiPA HPV Genotyping Extra τεστ και Linear Array HPV Genotyping τεστ δεν ανιχνεύτηκε η παρουσία κανενός από τους 14 HPV στόχους, οπότε ήταν σε πλήρη

συμφωνία με την RT-PCR μέθοδο. Τα αποτελέσματα της μελέτης στις περιπτώσεις καρκίνου του ενδομητρίου και CIN3 φαίνονται παρακάτω.

Table 1. Results of comparative evaluation of RealTime and hc2 on 95 archived routine cervical specimens collected from the same number of women with histologically confirmed cervical carcinoma.

	hc2 hr-HPV-positive	hc2 hr-HPV-negative	Total
RealTime hr-HPV-positive	81	3*	84
RealTime hr-HPV-negative	2**	9***	11
Total	83	12	95

*All three samples tested hr-HPV-positive by the INNO-LiPA HPV Genotyping Extra Test method.

**Both samples tested hr-HPV-negative using six additional PCR-based HPV methods.

***8 out of 9 samples tested hr-HPV-negative using six additional PCR-based HPV methods. The presence of HPV-16 in very low quantity was confirmed in one sample.

Πίνακας 8: Σύγκριση RealTime με Hybrid Capture II σε ιστολογικά επιβεβαιωμένους καρκίνους στη Σλοβενία.

Table 2. Results of comparative evaluation of RealTime and hc2 on 267 archived routine cervical specimens collected from women with histologically confirmed CIN3 lesions.

	hc2 hr-HPV-positive	hc2 hr-HPV-negative	Total
RealTime hr-HPV-positive	233	12*	245
RealTime hr-HPV-negative	5**	17***	22
Total	238	29	267

*All 12 samples tested positive by the INNO-LiPA HPV Genotyping Extra Test method.

**2 samples hr-HPV-positive and 3 samples hr-HPV-negative in discordant testing.

***10 out of 17 samples tested HPV-negative using six additional PCR-based HPV methods and the presence of at least one targeted hr-HPV genotype was detected in 7 samples.

Πίνακας 9: Σύγκριση RealTime με Hybrid Capture II σε ιστολογικά επιβεβαιωμένες περιπτώσεις CIN3 στη Σλοβενία

Σε μία άλλη μελέτη στην Μπολόνια των Venturoli S και συνεργατών (2012), (Venturoli S et al., *Comparison of Abbott RealTime High Risk HPV and Hybrid Capture 2 for the detection of high-risk HPV DNA in a referral population setting. J Clin Virol. 2012 Feb;53(2):121-4.*) μελετήθηκαν 412 δείγματα. 301 δείγματα είχαν ελεγχθεί με τη hc2 μέθοδο, χωρίς να υπάρχουν κλινικές πληροφορίες, ενώ 111 είχαν ιστολογική διάγνωση CIN3+ και ελεγχθεί με τις INNO-LiPA HPV Genotyping Extra και hc2 μεθόδους. Σύγκριση των δύο τεχνικών έδειξε συμφωνία των αποτελεσμάτων σε ποσοστό 91,03%. Τα 27 δείγματα που δεν έδειξαν συμφωνία στα αποτελέσματα αναλύθηκαν

περαιτέρω με το INNO-LiPA HPV Genotyping Extra τεστ . Σε 111 δείγματα, η συμφωνία των αποτελεσμάτων ανάμεσα στο Real Time High-Risk HPV και στο hc2 ήταν 90,99%. Και σε αυτή την περίπτωση, τα δείγματα στα οποία δεν υπήρξε συμφωνία αποτελέσματος εξετάστηκαν στη συνέχεια με το INNO-LiPA HPV Genotyping Extra τεστ. Η ανάλυση των δειγμάτων αυτών έδειξε 12 περιπτώσεις διασταυρούμενης αντίδρασης με την hc2 και 2 περιπτώσεις με την Real Time High-Risk HPV μέθοδο. Η απόδοση των hc2 και Real Time High-Risk HPV μεθόδων στην ανίχνευση HPV σε περιπτώσεις CIN2+ και CIN3+ φαίνεται στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας 10).

Table 2
Comparison of results obtained with the ART and HC2 tests for the 111 specimens with CIN2+ and for 101 samples with CIN3+ histological diagnosis.

		HC2		Total
		pos	neg	
CIN2+				
ART	pos	92	6	98
	neg	4	9	13
Total		96	15	111
Concordance		90,99%		
k		0,59 (95% CI: 0,350-0,833)		
CIN3+				
ART	pos	90	4	94
	neg	2	5	7
Total		92	9	101
Concordance		94,06%		
k		0,59 (95% CI: 0,278-0,909)		

Πίνακας 10: Αποτελέσματα ανίχνευσης hrHPV από το RealTime και το Hybrid Capture II σε ιστολογικά επιβεβαιωμένες περιπτώσεις CIN2+ και CIN3+ στην Ιταλία.

Στη Σλοβενία, τριετής αναδρομική μελέτη περιέλαβε 4.432 δείγματα γυναικών, ηλικίας 20-64 έτη, που συμμετείχαν στον εθνικό προγραμματισμό πρόληψης για τον καρκίνο του ενδομητρίου. (Poljak M et al., *Three-year longitudinal data on the clinical performance of the Abbott RealTime High Risk HPVtest in a cervical cancer screening setting. Clin Virol. 2016 Mar;76Suppl 1:S29-39.*) Ο έλεγχος έγινε σε δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο ελέγχθηκαν όλες οι γυναίκες και σε δεύτερη φάση (3 χρόνια μετά), αποκλείστηκαν όσες είχαν ήδη διαγνωστεί με CIN2+ από την πρώτη φορά, όλες οι εγκυμονούσες και όλες εκείνες οι περιπτώσεις στις οποίες ήταν αδύνατη η λήψη τραχηλικού δείγματος. Το RealTime High-Risk HPV τεστ που χρησιμοποιήθηκε ταυτοποίησε την παρουσία HPV ιού σε ποσοστό 11,6% των περιπτώσεων του πρώτου σταδίου και σε ποσοστό 8,8% των περιπτώσεων στο δεύτερο στάδιο ελέγχου.

Στο σύνολο των θετικών δειγμάτων η ταυτοποίηση του HPV ιού έγινε σε ποσοστό 99,3% (274/276) των περιπτώσεων για τουλάχιστον ένα από τα στελέχη στόχους του HPV ιού. Δύο περιπτώσεις εμφάνισαν ψευδώς θετικό αποτέλεσμα. Στη μία περίπτωση ανιχνεύτηκε ο τύπος HPV43, ενώ στην άλλη περίπτωση δεν ταυτοποιήθηκε κάποιος HPV τύπος με το Linear Array HPV ΤΕΣΤ.

Σύγκριση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι το Real Time High-Risk HPV τεστ πλεονεκτεί στα πλαίσια της διασταυρούμενης αντίδρασης έναντι της hc2 μεθόδου. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε 14/68 θετικά δείγματα (20,6%) διαγνώστηκε CIN2+ σε γυναίκες με φυσιολογικά αποτελέσματα κυτταρολογικής εξέτασης. Συνοπτικά, τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 11).

Table 1
Final results of baseline screening round: cross-sectional clinical sensitivity for detecting cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or worse (CIN2+), clinical specificity for detecting lesions less than CIN2, positive predictive value, and negative predictive value of the Abbott RealTime High Risk HPV test (RealTime) and Qiagen Hybrid Capture 2 HPV DNA test (hc2) at relative light unit per cutoff (RLU/CO) ratio values of 1.00 and 2.50 in women >30 years old and in the total study population with corresponding 95% confidence intervals (95 CI). The final data presented are an update of results originally presented in Table 2 in the reference Poljak et al., 2011 [48].

Study group and HPV test	Clinical sensitivity (%)	Clinical specificity (%)	Positive predictive value (%)	Negative predictive value (%)
Women >30 years				
RealTime	100.0 (44/44; 95 CI, 90.0–100.0)	93.5 (2,885/3,085; 95 CI, 92.6–94.3)	18.0 (44/244; 95 CI, 13.5–23.6)	100.0 (2,885/2,885; 95 CI, 99.8–100.0)
hc2				
RLU/CO ratio of 1.00	95.5 (42/44; 95 CI, 83.3–99.2)	91.9 (2,836/3,085; 95 CI, 90.9–92.9)	14.4 (42/291; 95 CI, 10.7–19.1)	99.9 (2,836/2,838; 95 CI, 99.7–100.0)
RLU/CO ratio of 2.50	90.9 (40/44; 95 CI, 77.4–97.0)	93.1 (2,871/3,085; 95 CI, 92.1–93.9)	15.4 (39/254; 95 CI, 11.3–20.5)	99.9 (2,871/2,875; 95 CI, 99.6–100.0)
Total study population				
RealTime	88.5 (67/68; 95 CI, 91.0–99.9)	89.7 (3,915/4,364; 95 CI, 88.8–90.6)	13.0 (67/516; 95 CI, 10.3–16.3)	100.0 (3,915/3,916; 95 CI, 99.9–100.0)
hc2				
RLU/CO ratio of 1.00	94.1 (64/68; 95 CI, 84.9–98.1)	87.9 (3,838/4,364; 95 CI, 86.0–89.9)	10.8 (64/590; 95 CI, 8.5–13.7)	99.9 (3,838/3,842; 95 CI, 99.7–100.0)
RLU/CO ratio of 2.50	89.7 (61/68; 95 CI, 79.3–95.4)	89.3 (3,899/4,364; 95 CI, 88.4–90.2)	11.6 (61/526; 95 CI, 9.1–14.7)	99.8 (3,899/3,906; 95 CI, 99.6–99.9)

Πίνακας 11: Ευαισθησία και ειδικότητα του RealTime και του Hybrid Capture II στην ανίχνευση CIN2+ και <CIN2 περιπτώσεων στην Σλοβενία.

3.4 CERVISTA HPV HR ΤΕΣΤ

Πρόκειται για ένα τεστ της εταιρίας Hologic GEN-PROBE, το οποίο στηρίζεται σε δύο αντιδράσεις. Στην πρώτη αντίδραση ανιχνεύεται η παρουσία ή μη μιας αλληλουχίας βάσεων DNA που μας ενδιαφέρει και στη δεύτερη πραγματοποιείται ενίσχυση του σήματος ώστε να καταστεί δυνατή η ανάγνωσή του. Τα θετικά δείγματα για τον HPV ιό ταυτοποιούνται για τα HPV16/18 στελέχη.

Μελέτη των Alameda και συνεργατών στην Ισπανία και συγκεκριμένα στην περιοχή της Καταλονίας, συνέκρινε το συγκεκριμένο τεστ με την hc2 μέθοδο σε 875 γυναίκες. (Alameda F et al., *Cervista HPV HR test for cervical cancer screening: a comparative study in the Catalanian population. Arch Pathol Lab Med. 2015 Feb;139(2):241-4.*). 64 γυναίκες είχαν διαγνωστεί με CIN2+ μετά από βιοψία και οι υπόλοιπες 811 ήταν αρνητικές για CIN2+. Ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε συνολικά ευαισθησία 100% και ειδικότητα 86,4% για το hc2, ενώ αντίστοιχα για το Cervista τεστ η ευαισθησία και η ειδικότητα ήταν 98,4% και 85,2% αντίστοιχα. Συμφωνία των αποτελεσμάτων ήταν σε ποσοστό 91,7%. Σε 72 γυναίκες που δεν υπήρξε συμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων έγινε περαιτέρω έλεγχος με το Linear Array Test Genotyping τεστ. 32 δείγματα ήταν θετικά με hc2 τεχνική και αρνητικά στο Cervista, ενώ 41 δείγματα ήταν αρνητικά με hc2 και θετικά με Cervista τεστ. Τελική επεξεργασία αυτών των περιστατικών έδειξε διασταυρούμενη αντίδραση σε περισσότερα δείγματα με την hc2 μέθοδο και μεγαλύτερο αριθμό περιπτώσεων που δεν διαγνώστηκαν ή είχαν λανθασμένη διάγνωση με την hc2 μέθοδο. Τα αποτελέσματα ανάμεσα στα HC2 και Cervista τεστ, καθώς και η διαγνωστική τους αξία σε <CIN2 και ≥CIN2 περιπτώσεις παρατίθεται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 12).

Table 1. Results of the Hybrid Capture 2 (HC2) and Cervista HPV HR Tests ^a			
HC2	Cervista HPV HR Test		
	+	-	Total
Cases <CIN 2			
+	79	31	110
-	41	660	701
Total	120	691	811
Cases ≥CIN 2			
+	63	1	64
-	0	0	0
Total	63	1	64

Abbreviations: CIN, cervical intraepithelial neoplasia; +, positive result; -, negative result.

^a HC2: sensitivity, 100%; specificity, 86.4% (95% confidence interval [95% CI], 84.2%–88.7%). Cervista HPV HR test: sensitivity, 98.4% (95% CI, 97.6%–99.3%); specificity, 85.2% (95% CI: 82.9%–87.6%). Noninferiority test: relative sensitivity of 90%, $T=2.85$, $P=.002$; and relative specificity of 98%, $T=2.75$, $P=.003$. Agreement test: 91.7% with a κ value of 0.743 (95% CI, 0.688–0.798).

Πίνακας 12: Σύγκριση Cervista με Hybrid Capture II στην ανίχνευση <CIN2 και CIN2+ περιπτώσεων στην Ισπανία.

Ωστόσο, τα αποτελέσματα μιας άλλης μελέτης, που διεξήχθη στη Γερμανία από τους Boehmer και συνεργάτες (2014) δεν έδωσε ανάλογα αποτελέσματα στις CIN3+ περιπτώσεις που εξετάστηκαν (Boehmer et al., *A population-based observational study comparing Cervista and Hybrid Capture 2 methods: improved relative specificity of the Cervista assay by increasing its cut-off. BMC Infect Dis. 2014 Dec 9;14:674.*) . Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν 1741 περιπτώσεις και υποβλήθηκαν σε έλεγχο με τα hc2 και Cervista τεστ. Οι 1208 είχαν αρνητικό τεστ Παπανικολάου, ενώ οι 468 είχαν θετικό τεστ Παπανικολάου. Σύγκριση των αποτελεσμάτων έδειξε ασυμφωνία σε 133 δείγματα. Τα δείγματα αυτά εξετάστηκαν περαιτέρω με το INNO-LiPA HPV Genotyping Extra τεστ. Διαπιστώθηκε υψηλός αριθμός ψευδώς θετικών δειγμάτων με το Cervista τεστ, το οποίο όμως μπορεί να περιοριστεί με αλλαγή των cut-off ορίων της συγκεκριμένης τεχνικής. Τα συγκριτικά αποτελέσματα των CIN3+ περιπτώσεων που αναλύθηκαν με τα hc2 και Cervista τεστ φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακες 13, 14).

Table 2 Comparison of Cervista HPV HR test and HC2 results

	HR HC2		
	Positive (N/%)	Negative (N/%)	Total (N/%)
Positive	395/22.7%	89/5.1%	484/27.8%
NEGATIVE	44/2.5%	1,213/69.7%	1,257/72.2%
Total	439/25.2%	1,302/74.8%	1,741/100%

The overall agreement between Cervista (CER) and HC2 test results was $\kappa = 0.8$ (95% CI: 0.77-0.84).

Πίνακας 13: Σύγκριση των αποτελεσμάτων ανάμεσα σε Cervista και Hybrid Capture II σε 1741 δείγματα.

Table 6 Relative sensitivity, relative specificity, PPV and NPV of the Cervista HPV HR test and HC2 for detecting CIN3+ within various cytology groups

CIN 3+	CERVISTA							
	Relative sensitivity		Relative specificity		PPV		NPV	
	%	95% CI	%	95% CI	%	95% CI	%	95% CI
ASC-H, AGUS (Pap III)	80.0%	(29.9-98.9)	100.0%	(54.6-100)	100.0%	(39.6-100)	50.0%	(26.7-97.3)
LSIL, HSIL (Pap III/D)	100.0%	(80.0-100)	17.5%	(7.9-33.4)	37.7%	(25.1-52.1)	100.0%	(56.1-100)
HSIL, CIS (Pap IVa)	96.6%	(87.0-99.4)	NA		84.8%	(73.4-92.1)	NA	
HSIL, CIS, Micro (IVb)	100.0%	(19.8-100)	NA		100%	(19.8-100)	NA	
Microinvasive (Pap V)	100.0%	(30.1-100)	NA		100%	(30.1-100)	NA	
AGUS+ (≥Pap III)	96.6%	(89.7-99.1)	15.7%	(7.5-29.1)	66.4%	(57.5-74.4)	72.7%	(39.3-92.7)
HSIL+ (≥Pap IVa)	96.8%	(88.0-99.4)	NA		85.9%	(75.2-92.7)	NA	
CIN 3+	HR HC2							
	Relative sensitivity		Relative specificity		PPV		NPV	
	%	95% CI	%	95% CI	%	95% CI	%	95% CI
ASC-H, AGUS (Pap III)	80.0%	(29.9-98.9)	100.0%	(54.6-100)	100.0%	(39.6-100)	50.0%	(26.7-97.3)
LSIL, HSIL (Pap III/D)	100.0%	(80.0-100)	10.0%	(3.3-24.6)	35.7%	(23.7-49.7)	100.0%	(39.6-100)
HSIL, CIS (Pap IVa)	100.0%	(92.3-100)	NA		85.3%	(74.2-92.3)	NA	
HSIL, CIS, Micro (IVb)	100.0%	(19.8-100)	NA		100%	(19.8-100)	NA	
Microinvasive (Pap V)	100.0%	(30.1-100)	NA		100%	(30.1-100)	NA	
AGUS+ (≥Pap III)	98.9%	(92.9-99.9)	9.8%	(3.7-22.2)	65.4%	(56.6-73.3)	83.3%	(36.5-99.1)
HSIL+ (≥Pap IVa)	100.0%	(92.8-100)	NA		86.3%	(75.8-92.9)	NA	

+: and higher.

Πίνακας 14: Ευαισθησία και ειδικότητα του Cervista και του Hybrid Capture II στην ανίχνευση CIN3+ περιπτώσεων στη Γερμανία.

Σε μία άλλη συγκριτική μελέτη που διεξήχθη στο Τέξας (Guo et al., *Analytical performance of cervista HPV 16/18 in SurePath pap specimens. Diagn Cytopathol. 2015 Apr;43(4):301-6.*), μελετήθηκαν συνολικά 79 άτομα. 42 άτομα είχαν αρνητική κυτταρολογική εξέταση και 37 είχαν θετική κυτταρολογική εξέταση (ASCUS, υψηλής και χαμηλής διαφοροποίησης). Σύγκριση των αποτελεσμάτων έδειξε συμφωνία σε ποσοστό 85% μεταξύ των Cervista και EasyChip genotyping τεστ που χρησιμοποιήθηκαν. Ωστόσο, 4 δείγματα θετικά για τον HPV16 ιό στο Cervista δεν επιβεβαιώθηκαν στο

EasyChip, ενώ αντίθετα, σε 8 δείγματα αρνητικά για τον HPV ιό στο Cervista ανιχνεύθηκε ο HPV ιός με το EasyChip τεστ. Στα πλαίσια παρακολούθησης, 65/79 ασθενείς υπεβλήθησαν σε κυτταρολογική εξέταση ή βιοψία. Διαπιστώθηκε ότι το Cervista τεστ είχε ελαφρώς καλύτερη προγνωστική αξία για CIN2+ ασθενείς με φυσιολογικό τεστ Παπανικολάου, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 15).

Table VI. Distribution of HPV16/18 by Cervista HPV 16/18 and EasyChip Assays and CIN2+ Follow-up Results by Pap Cytology Classification (n = 65)

	<i>NILM</i>	<i>ASC-US</i>	<i>ASC-H</i>	<i>LSIL</i>	<i>HSIL</i>	<i>Total</i>
Cervista HPV16/18+ (%)	13 (41)	7 (41)	1 (50)	5 (50)	3 (75)	30
CIN2+/HPV16/18-	0	0	0	2	1	3
CIN2+/HPV16/18+	2	1	1	3	3	10
EasyChip HPV16/18+ (%)	12 (38)	8 (47)	2 (50)	5 (50)	3 (75)	30
CIN2+/HPV16/18-	1	0	0	2	1	4
CIN2+/HPV16/18+	1	1	1	3	3	9
Total	32	17	2	10	4	65

CIN2+, Cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or higher; NILM, Negative for intraepithelial lesion or malignancy; ASC-US, Atypical squamous cells of undetermined significance; ASC-H, Atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesion.

Πίνακας 15: Ανίχνευση HPV16/18 από το Cervista και το EasyChip σε περιπτώσεις επανελέγχου μετά από Pap τεστ στο Τέξας.

3.5 APTIMA HPV

Το συγκεκριμένο τεστ, σε αντίθεση με άλλα, ανιχνεύει το mRNA των E6 και E7 ογκοπρωτεϊνών από 14 τύπους HPV υψηλού κινδύνου. Οι ίδιοι τύποι, με εξαίρεση τον HPV66 ανιχνεύονται και με το hc2 τεστ. Το πλεονέκτημα αυτού του τεστ έγκειται στην ανίχνευση των mRNA μεταγράφων των E6 και E7 ογκοπρωτεϊνών, γεγονός που προσδιορίζει εάν ο HPV ιός είναι μεταγραφικά ενεργός. Η παρουσία ενεργού μορφής του ιού αυξάνει την πιθανότητα ανάπτυξης βλαβών υψηλής διαφοροποίησης.

Σε μία μελέτη που έγινε στις ΗΠΑ από τους Binnicker και συνεργάτες (*Binnicker MJ, Pritt BS, Duresko BJ, Espy MJ, Grys TE, Zarka MA, Kerr SE, Henry MR. Comparative evaluation of three commercial systems for detection of high-risk human papillomavirus in cervical and vaginal ThinPrep PreservCyt samples and correlation with biopsy results. J Clin Microbiol. 2014 Oct;52(10):3763-8.*), έγινε σύγκριση της αποτελεσματικότητας του APTIMA σε σχέση με τα hc2 και cobas HPV τεστ. Στη μελέτη συμμετείχαν 793 ασθενείς και οι 350 είχαν υποβληθεί σε βιοψία. Σε 82 ασθενείς με διάγνωση >CIN2, η ευαισθησία για το APTIMA και το cobas HPV τεστ ήταν 91,4%, ενώ η

ευαισθησία για το hc2 ήταν μεγαλύτερη (97,5%). Τα συγκριτικά αποτελέσματα φαίνονται στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας 16).

TABLE 2 Comparison of three commercially available HR HPV tests to a reference standard of \geq CIN2 on the basis of 350 samples

HPV test and result	No. of samples with tissue diagnosis of \geq CIN2		% Agreement (95% CI)	% Sensitivity (95% CI)	% Specificity (95% CI)	% PPV (95% CI)	% NPV (95% CI)
	Positive	Negative					
APTIMA							
Positive	74	156	53.4 (48.2–58.6)	91.4 (82.9–96.0)	42.0 (36.3–48.0)	32.1 (26.5–38.5)	94.2 (88.2–97.4)
Negative	7	113					
HC2							
Positive	79	196	43.4 (38.3–48.7)	97.5 (90.9–99.9)	27.1 (22.2–32.8)	28.7 (23.7–34.4)	97.3 (90.2–99.8)
Negative	2	73					
cobas HPV pool ^a							
Positive	74	185	45.1 (40.0–50.4)	91.4 (82.9–96.0)	31.2 (26.0–37.0)	28.6 (23.4–34.4)	92.3 (84.7–96.5)
Negative	7	84					
cobas HPV-16/18							
Positive	42 ^b	36 ^c	78.6 (74.0–82.6)	51.9 (41.1–62.4)	86.6 (82.0–90.2)	53.9 (42.9–64.5)	85.7 (81.0–89.4)
Negative	39 ^d	233					

^a Includes HPV genotypes 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, and 68.

^b Of these samples, 41 were also positive for HR HPV mRNA by the Gen-Probe APTIMA test (16/18 genotyping not performed).

^c Of these samples, 31 were also positive for HR HPV mRNA by the Gen-Probe APTIMA test (16/18 genotyping not performed).

^d Of these samples, 32 were positive for other HR HPV (non-genotype 16/18) by the Roche cobas assay. In addition, 33 of these samples were positive for HR HPV mRNA by the Gen-Probe APTIMA test.

Πίνακας 16: Ευαισθησία και ειδικότητα του APTIMA, του Hybrid Capture II και του cobas στην ανίχνευση hrHPV σε ιστολογικά επιβεβαιωμένες περιπτώσεις \geq CIN2 στις ΗΠΑ.

Σε μια άλλη μελέτη που αφορούσε γυναικείο πληθυσμό στην Ινδία (Basu et al., Sensitivity of APTIMA HPV E6/E7 mRNA test in comparison with hybrid capture 2 HPV DNA test for detection of high risk oncogenic human papillomavirus in 396 biopsy confirmed cervical cancers. *J Med Virol.* 2016 Jul;88(7):1271-8.) μελετήθηκαν 396 ασθενείς με ιστολογική διάγνωση καρκίνου του ενδομητρίου. Σκοπός της μελέτης ήταν η σύγκριση των APTIMA και hc2 τεχνικών. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε συμφωνία μεταξύ των δύο μεθόδων σε ποσοστό 97,2%. Η ευαισθησία για το APTIMA και το hc2 ήταν 95,2% και 94,9% αντίστοιχα. Σε 11 περιπτώσεις υπήρξε διαφωνία και αυτές αναλύθηκαν περαιτέρω με το Linear Array τεστ. Τα συγκριτικά αποτελέσματα παρατίθενται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 17).

TABLE II. Sensitivity and Agreement of Aptima and HC2 for Detection of Invasive Cervical Cancer (N = 396)

Test	Hybrid capture 2 (HC2) HPV assay		Total
	Positive	Negative	
Aptima HPV assay			
Positive	371	6	377
Negative	5	14	19
Total	376	20	396

Aptima sensitivity: 377/396 = 95.2% (95%CI: 93.1–97.3); HC2 sensitivity: 376/396 = 94.9% (95%CI: 92.7–97.1); Agreement: 385/396 = 97.2%; kappa 0.7 (95%CI: 0.54–0.87).

Πίνακας 17: Ευαισθησία και ειδικότητα του APTIMA και του Hybrid Capture II σε περιπτώσεις καρκίνου του ενδομητρίου.

Οι μελέτες που περιγράφηκαν στην πλειοψηφία τους υποδεικνύουν την παρουσία διασταυρούμενης αντίδρασης, παρά το γεγονός ότι οι εταιρείες υποστηρίζουν το αντίθετο στα πλαίσια της διαφημιστικής τους εκστρατείας. Προς αυτή την κατεύθυνση έγινε μία μελέτη στη Δανία, από τους Preisler και συνεργάτες (2016), με σκοπό την ποσοτικοποίηση του φαινομένου της διασταυρούμενης αντίδρασης με χαμηλού κινδύνου HPV στελέχη (*Preisler et al., Cross-reactivity profiles of hybrid capture II, cobas, and APTIMA human papillomavirus assays: split-sample study. BMC Cancer. 2016 Jul 20;16(1):510.*). Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν 5022 δείγματα και για την ορθότερη ερμηνεία των αποτελεσμάτων εισήχθησαν δύο όροι: 1) Απόλυτη τιμή διασταυρούμενης αντίδρασης και 2) σχετική τιμή διασταυρούμενης αντίδρασης. Η απόλυτη τιμή αναφέρεται σε σχέση με το σύνολο των δειγμάτων και η σχετική σε σχέση με το σύνολο των θετικών δειγμάτων. Στα δείγματα που ελέγχθηκαν, 1333 (27%) είχαν έναν από τους 13 υψηλού κινδύνου HPV τύπους και ανιχνεύτηκαν από το CLARTHPV τεστ, 1024 (20%) ήταν θετικά στο hc2, 1345 (27%) ήταν θετικά στο cobas και 838 (17%) ήταν θετικά στο APTIMA τεστ. Δεδομένου ότι με την hc2 τεχνική ανιχνεύεται επιπλέον ένας τύπος (HPV66) σε σχέση με τα άλλα τεστ, οι απόλυτες τιμές διασταυρούμενης αντίδρασης ήταν 2,2%, 1,2% και 0,7% για τα hc2, cobas και APTIMA αντίστοιχα. Σε ό,τι αφορά τις σχετικές τιμές της διασταυρούμενης αντίδρασης, στο hc2 ήταν σημαντικά υψηλότερες σε σχέση με τα άλλα δύο τεστ, των οποίων οι τιμές ήταν σχεδόν ίδιες. Επίσης, από τη μελέτη των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι οι τύποι που κυρίως εμπλέκονται στο φαινόμενο της διασταυρούμενης αντίδρασης είναι οι HPV 53, 61, 62, 70, 82 και ο 66 για το hc2 τεστ. Τέλος, 1/6 δείγματα με διασταυρούμενη αντίδραση και ιστολογικά επιβεβαιωμένο καρκίνο του ενδομητρίου, ανιχνεύτηκε και με τις 3 τεχνικές. Από τα υπόλοιπα 5, 1 ανιχνεύτηκε από το hc2 και το APTIMA, 2 από το hc2 και το cobas και 2 μόνο από το hc2.

Σε μία ανασκοπική μελέτη στη Γερμανία (*Haedicke J et al., A review of the clinical performance of the Aptima HPV assay. J Clin Virol. 2016 Mar;76 Suppl 1:S40-8.*), αναλύθηκαν τα αποτελέσματα 62 μελετών που συγκρίναν διάφορα HPV τεστ σε ασθενείς με ιστολογική διάγνωση CIN2+ και CIN3+. Η μεταανάλυση έδειξε παρόμοιες τιμές ευαισθησίας ανάμεσα στο APTIMA και το hc2. Επιπλέον, φάνηκε αποτελεσματικότητα του APTIMA τεστ

στη μακροπρόθεσμη πρόγνωση του καρκίνου του ενδομητρίου, γεγονός που θα μπορούσε να το εδραιώσει ως ένα αξιόπιστο τεστ μαζικού πληθυσμιακού ελέγχου σε βάθος τριετίας. Η ευαισθησία και ειδικότητα των δύο συγκρινόμενων τεστ φαίνεται παρακάτω (Πίνακας 18)

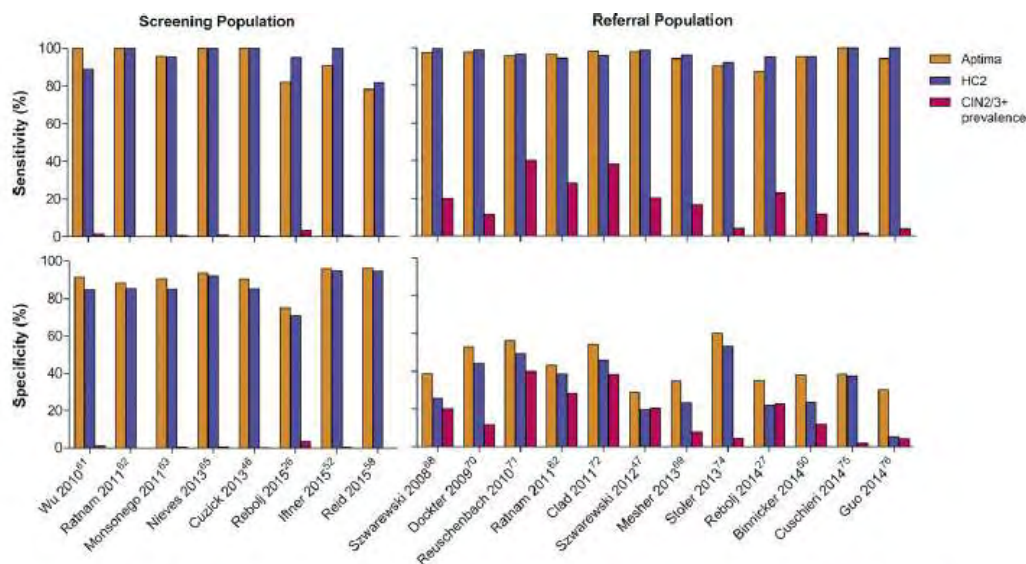


Fig. 1. Clinical sensitivities and specificities for CIN2/3+ detection of the AHPV (orange bars) and HC2 (purple bars) HPV tests from previously published studies on screening and referral populations. CIN2/3 prevalence of the respective study population is shown by magenta-colored bars.

Πίνακας 18: Ευαισθησία και ειδικότητα του APTIMA και του hc2 σε CIN2/3 περιπτώσεις.
Ανασκοπική μελέτη από 62 μελέτες στη Γερμανία.

3.6 AMPLICOR HPV / LINEAR ARRAY HPV Genotyping / Cobas HPV

Το Cobas HPV τεστ είναι σχεδιασμένο να ανιχνεύει τα δύο πιο συχνά υψηλού κινδύνου στελέχη HPV16/18 και άλλα 12 υψηλού κινδύνου στελέχη. Το Linear Array (LA) ανιχνεύει όλους εκείνους τους τύπους που ανιχνεύονται στο Cobas και επιπλέον άλλους 21. Τέλος, το AMPLICOR τεστ έχει σχεδιαστεί για την ανίχνευση 13 HPV τύπων ανάμεσα στους οποίους συγκαταλέγονται και οι πιο συχνοί HPV 16/18. Τα συγκεκριμένα τεστ διατίθενται από την εταιρία ROCHE DIAGNOSTICS.

Πρόσφατη μελέτη, που διεξήχθη στις ΗΠΑ από τους Schiffman και συνεργάτες (2015), χρησιμοποιώντας δεδομένα από την NCI-KPNC μελέτη, εξέτασε την αποτελεσματικότητα των LA και Cobas τεστ. (Schiffman et al., *The Role of Human Papillomavirus Genotyping in Cervical Cancer Screening: A Large-Scale Evaluation of the cobas HPV Test. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2015 Sep;24(9):1304-10.) Τα αποτελέσματα έδειξαν καλό ποσοστό

συμφωνίας, το οποίο αυξανόταν σε περιπτώσεις όπου το ιϊκό φορτίο ήταν μεγάλο (π.χ. θετικό hc2 τεστ, παθολογική κυτταρολογική εξέταση, περιπτώσεις CIN3+) και μάλιστα, στις περιπτώσεις όπου υπήρχε διάγνωση καρκίνου το ποσοστό συμφωνίας ήταν 100%.

Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στις περιπτώσεις με θετικό αποτέλεσμα στο LA τεστ και αρνητικό αποτέλεσμα στην ανάλυση με το Cobas. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το Cobas υπερέχει έναντι του LA τεστ στην ανίχνευση της μονήρους λοίμωξης (ένας HPV τύπος). Η διερεύνηση των περιπτώσεων που είχαν θετικό αποτέλεσμα με το Cobas τεστ και αρνητικό αποτέλεσμα με το LA τεστ δεν ανέδειξε στοιχεία διασταυρούμενης αντίδρασης στο Cobas. Τα συγκριτικά στοιχεία φαίνονται παρακάτω (Πίνακας 19).

Table 1. Sampling and testing methods for three subcohorts for which 3-year cumulative risks of CIN3+ and CIN2+ were estimated; HC2+ enrollment specimens were tested for HPV16, else HPV18, else 12 other high-risk types

Case-control status	Total N in subcohort	Tested by cobas		Tested by MY09/MY11 PCR or cobas	
		N	% of Total	N	% of Total
A. ASC-US Triage: Sample size of women with HC2+ ASC-US, ages 21 years and older (median 33), tested by cobas or MY09/MY11 PCR					
Control	11,966	1,244	10.4%	1,670	14.0%
Prevalent CIN2+	1,300	528	40.6%	1,171	90.1%
Incident CIN2+	624	426	68.3%	450	72.1%
B. Cotesting: sample size of women with HC2+/negative cytology, ages 30 years or older (median 40), tested by cobas or MY09/MY11 PCR					
Control	17,425	2,773	15.9%	3,490	20.0%
Prevalent CIN2+	204	25	12.3%	194	95.1%
Incident CIN2+	1,176	897	76.3%	970	82.5%
C. Primary HPV testing: sample size of women with HC2+, ages 25 years or older (median 38), tested by cobas or MY09/MY11 PCR					
Control	35,134	4,708	13.4%	6,047	17.2%
Prevalent CIN2+	3,290	761	23.1%	2,989	90.9%
Incident CIN2+	2,315	1,683	72.7%	1,827	78.9%

NOTE: A control was Hybrid Capture 2 (HC2) positive at enrollment but, during observation, never developed CIN2+. A prevalent case of CIN2+ (or CIN3+) was diagnosed after enrollment (HC2+) screening, prior to a second screen. An incident case of CIN2+ (or CIN3+) was HC2+ at enrollment, but diagnosed after at least the second screen. The table demonstrates that cobas data were supplemented by MY09/MY11 PCR data mainly for prevalent cases of CIN2+. Combining both testing methods, a high percentage of cases of CIN2+ were typed, permitting reasonably precise estimation of cumulative risk. A smaller fraction of HC2+ controls was tested.

Πίνακας 19: Σύγκριση αποτελεσμάτων cobas και Hybrid Capture II σε περιπτώσεις με ASCUS, cotesting και αρχικού προληπτικού ελέγχου στις ΗΠΑ.

Μία άλλη μελέτη (Rao et al., *Comparison of hybrid capture 2 High-Risk HPV results in the low positive range with cobas® HPV Test results from the ATHENA study. J Clin Virol. 2013 Sep;58(1):161-7.*), χρησιμοποίησε δεδομένα από τη μελέτη ATHENA για την αποτελεσματικότητα του Cobas, συγκρίνοντάς το με τα hc2 και LA διαγνωστικά τεστ. Αξίζει να σημειωθεί ότι το Cobas τεστ είχε συγκρίσιμα αποτελέσματα με το hc2 τεστ και επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων. Σύγκριση των δύο τεχνικών σε ασθενείς με ιστολογική διάγνωση CIN2+, έδειξε υπεροχή του Cobas τεστ, καθώς ανιχνεύτηκαν περισσότερες περιπτώσεις με \geq CIN2 και \geq CIN3. Δεν διαπιστώθηκε ύπαρξη διασταυρούμενης αντίδρασης με κανέναν από τους 21 χαμηλού κινδύνου HPV. Η ευαισθησία και η ειδικότητα των Cobas και hc2 τεστ στην ανίχνευση CIN2+ περιπτώσεων φαίνεται παρακάτω (Πίνακες 20,21).

Table 5B

Performance of the hc2 High Risk HPV DNA Test in the low RLU/CO range for detection of \geq CIN2.

	RLU/CO 1.0–5.0 range	RLU/CO 1.0–2.5 range
Sensitivity% (n/N) (95% CI)	96.8% (30/31) ^a (83.8–99.4)	91.7% (11/12) (64.6–98.5)
Specificity% (n/N) (95% CI)	1.6% (4/251) (0.6–4.0)	2.6% (4/154) (1.0–6.5)

RLU, relative light unit; CO, cutoff; CIN2, grade 2 cervical intraepithelial neoplasia.

^a hc2 negative case: hc2 result indeterminate, HPV 82+ by LA (Linear Array HPV Genotyping Test), pathology result CIN2; 1 hc2 positive case was HPV 82+ due to cross-reactivity with a low risk genotype.

Πίνακας 20: Ευαισθησία και ειδικότητα του Hybrid Capture II στην ανίχνευση CIN2+ περιπτώσεων.

Table 5C

Performance of the cobas HPV Test for detection of \geq CIN2.

	RLU/CO 1.0–5.0 range	RLU/CO 1.0–2.5 range
Sensitivity% (n/N) (95% CI)	90.3% (28/31) ^a (75.1–96.7)	83.3 (10/12) (55.2–95.3)
Specificity% (n/N) (95% CI)	24.3% (61/251) (19.4–30.0)	30.5 (47/154) (23.8–38.2)
cobas HPV Test (adjusted) ^b		
Sensitivity% (n/N) (95% CI)	96.6% (28/29) (82.8–99.4)	90.9% (10/11) (62.3–98.4)

RLU, relative light unit; CO, cutoff; CIN2, grade 2 cervical intraepithelial neoplasia.

^a cobas negative cases; 2 were HPV 82+ by LA (1 was hc2+), 1 negative by LA; all were CIN2.

^b Adjusted sensitivity: 2 cases HPV 82+ by LA not included in calculation.

Πίνακας 21: Ευαισθησία και ειδικότητα του cobas στην ανίχνευση CIN2+ περιπτώσεων.

Οι Martínez και συνεργάτες, σε μία μελέτη τους στην Ισπανία, ανέλυσαν την παρουσία των υψηλού κινδύνου HPV τύπων 16/18 με τη χρήση των Cobas και AMPLICOR διαγνωστικών τεστ. (Martínez et al., *Comparison of the Cobas 4800 Human Papillomavirus test against a combination of the Amplicor Human Papillomavirus and the Linear Array tests for detection of HPV types 16 and 18 in cervical samples. J Virol Methods. 2012 Mar;180(1-2):7-10.*) Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε συμφωνία ανάμεσα στο Cobas και το AMPLICOR σε ποσοστό 92,9% και 94,1% σε συνδυασμό με το αποτέλεσμα της κυτταρολογικής εξέτασης συνολικά. Πιο συγκεκριμένα, από 11/341 δείγματα είχαν θετικό αποτέλεσμα με στο AMPLICOR τεστ, ενώ ήταν αρνητικά στο Cobas τεστ. Σε 5/11 δείγματα ήταν δυνατή η ταυτοποίηση του HPV γονότυπου με το LA τεστ, ενώ στα υπόλοιπα 6/11 δεν ανιχνεύτηκε ο HPV ιός. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να ερμηνευθεί ως ψευδώς θετικά αποτελέσματα ή μεγαλύτερη ευαισθησία του AMPLICOR τεστ σε σχέση με τα

Cobas και LA τεστ. Τα συγκριτικά αποτελέσματα φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 22).

Table 6

Agreement results between 4800 HPV test and Amplicor+LA combination with respect to cytology results.

Cytology	% total agreement	% positive agreement	κ value
Negative (n= 176)	96,8	74	0,803
ASCUS (n= 62)	94,9	87,5	0,893
HSIL (n= 24)	95,8	94,1	0,903
LSIL (n= 46)	89,1	82,3	0,760

Πίνακας 22: Συμφωνία αποτελεσμάτων μεταξύ Cobas και AMPLICOR+LA σε σχέση με το Pap τεστ.

Σε πρόσφατη μελέτη στις ΗΠΑ, έγινε σύγκριση των Cobas και hc2 τεστ (Levi et al., *A Comparison of the Roche Cobas HPV Test With the Hybrid Capture 2 Test for the Detection of High-Risk Human Papillomavirus Genotypes. Arch Pathol Lab Med. 2016 Feb; 140(2):153-7*) σε 1371 δείγματα. Από αυτά, η παρουσία του HPV ιού ανιχνεύθηκε σε 156 (11,38%) και 184 (13,42%) με hc2 και Cobas τεστ αντίστοιχα. Σε 57/82 δείγματα (σε 25 δεν υπήρχε επαρκές υλικό) έγινε περαιτέρω ανάλυση με το LA τεστ. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων έδειξε συμφωνία των δύο τεχνικών σε ποσοστό 94%. Τα συγκριτικά στοιχεία παρατίθενται παρακάτω (Πίνακας 23)

Type of LBP	Assay Method	Sensitivity, % (95% CI)	Specificity, % (95% CI)	PPV, % (95% CI)	NPV, % (95% CI)
SurePath	Cobas	93.3 (87.4–96.7)	99.9 (99.3–99.9)	99.2 (95.0–100.0)	99.0 (98.2–99.5)
	HC2	86.7 (79.0–92.0)	98.6 (97.5–99.2)	88.1 (80.6–93.1)	98.4 (97.3–99.0)
ThinPrep	Cobas	93.5 (77.1–98.9)	99.5 (97.0–100.0)	96.7 (80.9–99.8)	99.1 (96.3–99.8)
	HC2	93.1 (75.8–98.8)	98.6 (95.7–99.6)	90.0 (72.3–97.4)	99.0 (96.3–99.8)
Total	Cobas	93.4 (88.2–96.5)	99.8 (99.3–99.9)	98.7 (95.0–99.8)	99.1 (98.3–99.5)
	HC2	87.9 (81.3–92.5)	97.8 (96.8–98.5)	83.4 (76.5–88.7)	98.4 (97.6–99.1)

Πίνακας 23: Ευαισθησία και ειδικότητα του Cobas και του Hybrid Capture II στην ανίχνευση hrHPV

Ανάλογη μελέτη στις ΗΠΑ (Pyne et al., *Testing and genotyping of high-risk human papillomavirus by the cobas HPV Test and the Hybrid Capture 2 high-risk HPV DNA test using cervical and vaginal samples. J Clin Microbiol. 2014 May;52(5):1720-3.*), είχε παρόμοια αποτελέσματα. Πιο συγκεκριμένα, σε 693 δείγματα που αναλύθηκαν η συμφωνία των αποτελεσμάτων ανάμεσα στα hc2 και Cobas τεστ συγκριτικά με την κυτταρολογική εξέταση ήταν 94,4% και

88,9% αντίστοιχα. Η μεγαλύτερη συμφωνία αποτελεσμάτων παρατηρήθηκε ανάμεσα στο Cobas και την LA μέθοδο, γεγονός που εξηγείται από την ύπαρξη διασταυρούμενης αντίδρασης στο hc2 τεστ, και από το γεγονός ότι ο HPV66 τύπος ανιχνεύεται απευθείας μόνο στο Cobas τεστ (Πίνακας 24).

TABLE 2 One hundred ninety-seven cervical samples that were positive by the cobas test versus the Linear Array test for HPV16 and HPV18^a

Results of Linear Array vs cobas tests	Positive	Negative	Total	Agreement (%)	κ	Positivity rate (%) for:		P
						cobas	Linear Array	
HPV16				98,5	0,96	21,8	22,3	1,0
Positive	42 (21,3)	2 (1,0)	44 (22,3)					
Negative	1 (0,5)	152 (77,2)	153 (77,7)					
Total	43 (21,8)	154 (78,2)	197 (100)					
HPV18				99,5	0,97	8,1	7,6	1,0
Positive	15 (7,6)	0 (0)	15 (7,6)					
Negative	1 (0,5)	181 (91,9)	182 (92,4)					
Total	16 (8,1)	181 (91,9)	197 (100)					

^a Unless indicated otherwise, the values are the number (%) of isolates with the given results. The percentages do not always total 100% due to rounding.

Πίνακας 24: Σύγκριση του Cobas με την LA σε 197 δείγματα θετικά στο Cobas.

Η αποτελεσματικότητα των HPV DNA τεστ σε ασθενείς με ιστολογική διάγνωση CIN2+, σε συνδυασμό με δεδομένα κυτταρολογικής εξέτασης εξετάστηκε από τους Lapierre και συνεργάτες το 2012 (Lapierre SG, Sauthier P, Mayrand MH, Dufresne S, Petignat P, Provencher D, Drouin P, Gauthier P, Dupuis MJ, Michon B, Ouellet S, Hadjeres R, Ferenczy A, Franco EL, Coutlée F. Human papillomavirus (HPV) DNA triage of women with atypical squamous cells of undetermined significance with cobas 4800 HPV and Hybrid Capture 2 tests for detection of high-grade lesions of the uterine cervix. *J Clin Microbiol.* 2012 Apr;50(4):1240-4.). Από τη συγκεκριμένη μελέτη προέκυψε ότι η ευαισθησία και η ειδικότητα του Cobas ήταν 89,7% και 66,7%, ενώ του hc2 ήταν 93,1% και 72,2% αντίστοιχα στην ανίχνευση περιπτώσεων με CIN2+ αλλοιώσεις (Πίνακας 25).

TABLE 4 Clinical performance of cobas 4800 HPV and HC2 tests to detect CIN2+ in women with ASC-US^a

Subject group and HR HPV test	Sensitivity (%) (95% CI) ^b	Specificity (%) (95% CI) ^c	PPV (%) (95% CI)	NPV (%) (95% CI)	Referral rate ^d
All women					
cobas 4800 HPV	89.7 (72.8–97.2)	66.7 (61.7–71.3)	17.7 (12.3–24.7)	98.8 (96.3–99.8)	37.6 (33.0–42.5)
HC2	93.1 (77.0–99.2)	72.2 (67.4–76.5)	21.1 (14.9–29.0)	99.2 (97.1–100)	32.6 (28.1–37.3)
Women ≥30 yr old					
cobas 4800 HPV	87 (67.0–96.3)	74.1 (68.5–79.0)	21.3 (14.1–30.7)	98.6 (95.6–99.7)	31.3 (26.3–36.7)
HC2	91.3 (72.0–98.8)	75.2 (69.8–79.9)	23.3 (15.7–33.1)	99.1 (96.4–100)	29.9 (25.1–35.3)

^a Four women (three at least 30 years of age) had a diagnosis of CIN that could not be graded: one was positive by HC2 and by the HPV16-specific assay with cobas 4800 HPV, and one was positive for HR HPV excluding HPV16 and -18 by cobas 4800 HPV. The denominators (n) for the calculation of sensitivity, specificity, and referral rate are indicated in footnotes b, c, and d, respectively. Abbreviations are as for Table 1.

^b For all women, n = 29; for women ≥30 years old, n = 23.

^c For all women, n = 363; for women ≥30 years old, n = 278.

^d For all women, n = 396; for women ≥30 years old, n = 304.

Πίνακας 25: Ευαισθησία και ειδικότητα του Cobas και του Hybrid Capture II στην ανίχνευση περιπτώσεων CIN2 σε γυναίκες με ASCUS.

Στην Ευρώπη η μελέτη των Lindemann και συνεργατών (2012), συνδύασε αποτελέσματα των Cobas και hc2 από 3 χώρες (Ισπανία, Γαλλία, Ιταλία) σε σύνολο 1360 δειγμάτων. (Lindemann ML, Dominguez MJ, de Antonio JC, Sandri MT, Tricca A, Sideri M, Khiri H, Ravet S, Boyle S, Aldrich C, Halfon P. Analytical comparison of the cobas HPV Test with Hybrid Capture 2 for the detection of high-risk HPV genotypes. *J Mol Diagn.* 2012 Jan;14(1):65-70.) 638/1360 δείγματα ήταν θετικά για υψηλού κινδύνου HPV τύπους και 709/1360 δείγματα ήταν αρνητικά στο hc2. Στο Cobas αντίστοιχα, ανιχνεύτηκαν 632 θετικά και 728 αρνητικά δείγματα. Υπήρξε συμφωνία των δύο τεχνικών σε ποσοστό 86,57%. Περαιτέρω ανάλυση των περιπτώσεων ασυμφωνίας μεταξύ των δύο τεχνικών ανέδειξε την παρουσία υψηλού κινδύνου HPV ιών σε 14/86 (16%) των θετικών με hc2 και αρνητικών με Cobas τεστ και σε 24/50 (48%) των αρνητικών περιπτώσεων με hc2 και θετικών με Cobas τεστ. Η hc2 τεχνική ανιχνεύει 13 τύπους υψηλού κινδύνου, ενώ η Cobas τεχνική ανιχνεύει τους ίδιους τύπους και τον HPV66 επιπλέον. Ωστόσο, η διαφορά αυτή δεν εξηγεί αναντιστοιχία των αποτελεσμάτων των δύο τεστ, καθώς μόνο 1 δείγμα ήταν αρνητικό στο hc2 και θετικό στο Cobas για τον HPV66. Συγκρίνοντας όμως τα αποτελέσματα που ήταν αρνητικά στο hc2, αλλά θετικά στο Cobas τεστ, μόνο 14% περιείχαν χαμηλού κινδύνου HPV τύπους, γεγονός που δείχνει μικρότερου βαθμού διασταυρούμενη αντίδραση στο Cobas τεστ συγκριτικά με το hc2 τεστ (Πίνακας 26).

Table 1. Comparison of the HC2 Test and the cobas HPV Test for the Detection of hrHPV Genotypes*†

	HC2			Total
	hrHPV positive	hrHPV negative	Indeterminate‡	
cobas HPV Test				
hrHPV positive	552	71	9	632
hrHPV negative	86	638	4	728
Total	638	709	13	1360

*Cohen's kappa coefficient = 0.7625 (95% CI: 0.7281–0.7969) (with the inclusion of HC2 indeterminate samples as an hrHPV-positive result).

†McNemar test, $P = 0.1588$.

‡Defined as a sample with a relative light unit/cutoff ratio of ≥ 1.0 but < 2.5 .

HC2, hybrid capture 2; hr, high risk.

Πίνακας 26: Σύγκριση του Cobas με το Hybrid Capture II στην ανίχνευση hrHPV στην Ισπανία, Γαλλία, Ιταλία.

Η εταιρία Roche Diagnostics, εκτός από το Cobas HPV test και το LA HPV Genotyping test έχει εισάγει και το AmpliCor HPV test, το οποίο ανιχνεύει την παρουσία των ίδιων ακριβώς 13 τύπων HPV με το hc2 τεστ. Συγκριτική μελέτη των Sandri και συνεργατών (2006) στην Ιταλία, έδειξε συμφωνία σε ποσοστό 83% στα 168 δείγματα που αναλύθηκαν. (Sandri et al., *Comparison of the Digene HC2 assay and the Roche AMPLICOR human papillomavirus (HPV) test for detection of high-risk HPV genotypes in cervical samples. J Clin Microbiol. 2006 Jun;44(6):2141-6.*) 28 δείγματα είχαν διαφορετικά αποτελέσματα στα δύο τεστ και αναλύθηκαν περαιτέρω με το LA τεστ. Σε κανένα από τα 8 θετικά δείγματα στο hc2 και αρνητικά στο AmpliCor δεν ανιχνεύτηκε υψηλού κινδύνου HPV τύπος . Από τα 20 θετικά δείγματα που ανιχνεύθηκαν με το AmpliCor τεστ και ήταν αρνητικά στο hc2 τεστ, ανιχνεύτηκε 1 δείγμα που ανήκε σε υψηλού κινδύνου HPV τύπο, 5 χαμηλού κινδύνου HPV τύποι και σε 7 δείγματα δεν ανιχνεύθηκε η παρουσία του HPV ιού. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί είτε λόγω μικρού ιικού φορτίου (το AmpliCor έχει μεγαλύτερη ευαισθησία από το hc2) είτε λόγω επιμόλυνσης. Το AmpliCor τεστ έδειξε μεγαλύτερη ευαισθησία γεγονός που προκύπτει και από το μεγαλύτερο ποσοστό θετικών δειγμάτων που ανιχνεύθηκαν σε γυναίκες με φυσιολογικά επιχρίσματα στη συγκεκριμένη μελέτη. 33 περιπτώσεις είχαν και ιστολογική διάγνωση. Μία ασθενής με CIN2 ήταν αρνητική στο AmpliCor τεστ, αλλά θετική στο hc2 και δύο ασθενείς με CIN3 αλλοιώσεις ήταν αρνητικές στο hc2, αλλά θετικές στο AmpliCor τεστ (Πίνακες 27,28,29).

TABLE 3. HC2 assay and AMPLICOR HPV test performance

Test and result	Both tests negative or LR genotype (n)	Both tests positive or HR genotype (n)	% Sensitivity or specificity (95% CI) ^a
AMPLICOR^b			
Negative	101	0	100 (96–100)
Positive	5	54	95 (89–98)
HC2^b			
Negative	99	8	85 (73–93)
Positive	7	46	93 (86–97)
AMPLICOR^c			
Negative	102	0	100 (96–100)
Positive	12	54	89 (83–94)
HC2^c			
Negative	106	8	85 (73–92)
Positive	8	46	93 (87–96)

^a Sensitivity corresponds to negative test results; specificity corresponds to positive test results. 95% CI, 95% confidence interval.

^b Excluding data from 8 patients with no genotype determined.

^c Including data from 8 patients with no genotyping, assuming that all non-typed specimens had false positives with the AMPLICOR HPV test.

Πίνακας 27: Ευαισθησία και ειδικότητα του AmpliCor και του Hybrid Capture II στην Ιταλία.

TABLE 4. Results of cervical cytology related to HPV DNA detection with HC2 assay and AMPLICOR HPV test

Pap smear result	No. of samples	No. of samples with AMPLICOR result				% Concordant	McNemar P value
		Negative		Positive			
		HC2 negative	HC2 positive	HC2 negative	HC2 positive		
Negative	96	69	1	13	13	85	0.0018
Abnormal ^a	66	22	7	7	30	79	1.00
ASCUS	24	13	3	3	5	75	1.00
LSIL	26	7	3	1	15	85	0.63
HSIL	16	2	1	3	10	75	0.63
Not available	6	3	0	0	3	100	
Total	168	94	8	20	46		0.036

^a ASCUS, atypical squamous cells of undetermined significance; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesion.

Πίνακας 28: Αποτελέσματα AmpliCor και Hybrid Capture II σε σχέση με την κυτταρολογική εξέταση.

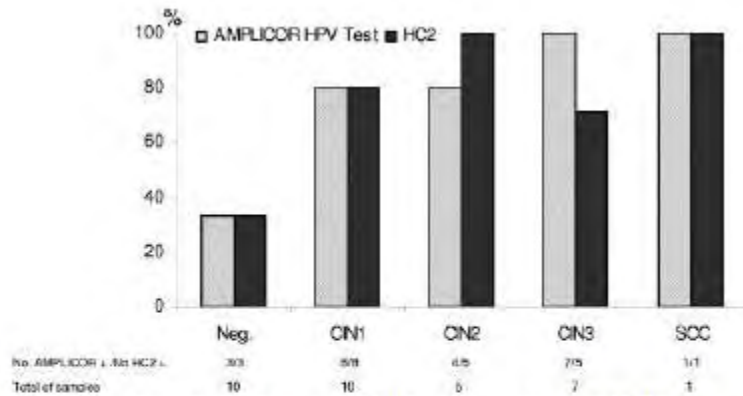


FIG. 1. Association between histological results and HPV testing. Both the HC2 assay and the AMPLICOR HPV test identified the patient with SCC, the AMPLICOR HPV test missed 1/5 CIN2 patients, and the HC2 assay missed 2/7 CIN3 subjects. On the figure, the percentages of HPV test positivity are reported according to histological result. Neg., negative.

Πίνακας 29: Σύγκριση αποτελεσμάτων Amplicor και Hybrid Capture II σε σχέση με την κυτταρολογική εξέταση.

Πρόσφατη μελέτη στην Αίγυπτο μελέτησε το βαθμός συσχέτισης ανάμεσα στο LA τεστ και στην κυτταρολογική εξέταση (Youssef *et al.*, *Prevalence of human papilloma virus (HPV) and its genotypes in cervical specimens of Egyptian women by linear array HPV genotyping test. Infect Agent Cancer. 2016 Feb 17;11:6.*) σε σύνολο 152 δειγμάτων τα οποία είχαν ομαδοποιηθεί ως εξής: 1) Φυσιολογικά, 2)LSIL (χαμηλής διαφοροποίησης), 3)HSIL (υψηλής διαφοροποίησης) και 4)SCC (διηθητικός καρκίνος). Όλα τα περιστατικά στα οποία δεν ανιχνεύθηκε η παρουσία του HPV ιού με τοLA τεστ είχαν φυσιολογική κυτταρολογική εξέταση(100%). Ποσοστό 82,3% των περιπτώσεων με θετικό LA τεστ είχαν ταυτόχρονα και κυτταρολογικές αλλοιώσεις. Ποσοστό 10,9% των περιπτώσεων που είχαν φυσιολογικό τεστ Παπανικολάου έδειξαν παρουσία του HPV ιού κατά την ανάλυση με το LA τεστ, ενώ όλες οι περιπτώσεις με παθολογικές αλλοιώσεις στην κυτταρολογική εξέταση και στη βιοψία ήταν θετικές με LA ανάλυση (Πίνακας 30).

Pap smear & biopsy results	
Normal	101 (67.1 %)
LSIL ^d	35 (21.7 %)
HSIL ^e	2 (2.0 %)
Invasive SCC ^f	14 (9.2 %)
HPV DNA	
Negative	90 (59.2 %)
Positive	62 (40.8 %)

^aIUCD intra uterine contraception device; ^bCOCPs Combined oral contraceptive pills; ^cPOPS Progesterone only pills; ^dLSIL low grade squamous intra-epithelial lesion; ^eHSIL high grade squamous intra-epithelial lesion; ^fSCC squamous cell carcinoma

Πίνακας 30: Σύγκριση LA με Pap τεστ στην Αίγυπτο.

Η ανάλυση των παραπάνω δεδομένων αποδεικνύει την αξία του LA τεστ κυρίως στην ανίχνευση σιωπηλών φορέων του HPV ιού, που θα μπορούσαν εν δυνάμει στο μέλλον να αναπτύξουν καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.

3.7 HPV DIRECT FLOW CHIP

Το συγκεκριμένο τεστ ανιχνεύει 36 τύπους HPV με PCR είτε μετά από απομόνωση του DNA αρχικά (κλασική μέθοδος), είτε απευθείας από το δείγμα (ευθεία μέθοδος). Οι δύο παραλλαγές δεν διαφέρουν ως προς τη διαγνωστική τους αξία. Πρόσφατη μελέτη σε 99 γυναίκες στην Ισπανία (*Herraez-Hernandez et al., Detection and Genotyping of Human Papillomavirus DNA in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Specimens with the HPV Direct Flow CHIP System. Open Virol J. 2013 Oct 18;7:91-5.*), έδειξε συμφωνία των αποτελεσμάτων σε ποσοστό 98,98%. Οι ελάχιστες διαφορές αφορούσαν στην ειδικότητα ανίχνευσης συγκεκριμένων HPV τύπων.

Ανάλογη μελέτη των Herraez-Hernandez και συνεργατών στην Ισπανία (2013) εξέτασε το HPV Direct Flow CHIP τεστ με συγκριτικά με τα LA, hc2 και CLART τεστ. (*Herraez-Hernandez et al., HPV Direct Flow CHIP: a new human papillomavirus genotyping method based on direct PCR from crude-cell extracts. J Virol Methods. 2013 Oct;193(1):9-17.*) Μελετήθηκαν 947 γυναίκες, είτε στα πλαίσια της πρόληψης, είτε στα πλαίσια επαναληπτικού ελέγχου λόγω παθολογικού τεστ Παπανικολάου. Από αυτά τα δείγματα 108 ελέγχθηκαν με την LA μέθοδο, 82 με την CLART και 101 με την hc2 μέθοδο. Τα συγκριτικά αποτελέσματα της μελέτης ανέδειξαν συμφωνία μεταξύ των

HPV Direct Flow CHIP τεστ και του LA σε ποσοστό 91,5%. Η μεγαλύτερη διαφωνία προέκυψε στις περιπτώσεις με φυσιολογικό τεστ Παπανικολάου ή με ASCUS, δηλαδή στις περιπτώσεις όπου παρατηρήθηκαν κύτταρα με ακαθόριστη σημασία. Στις ίδιες περιπτώσεις υπήρξε διαφωνία στα αποτελέσματα μεταξύ των HPV Direct Flow CHIP και τεστ. Σύγκριση του HPV Direct Flow CHIP τεστ με το hc2 παρουσίασε διαφορετικά αποτελέσματα σε 20 ανάλογες περιπτώσεις. Όλες οι περιπτώσεις ήταν αρνητικές στο hc2 τεστ, αλλά θετικές στο HPV Direct Flow CHIP τεστ και μάλιστα 7 είχαν ιστορικό αλλοιώσεων του επιθηλίου. Οι υπόλοιπες περιπτώσεις διαφωνίας οφείλονταν στο ότι με την hc2 τεχνική χαρακτηρίστηκαν θετικές μόνο οι περιπτώσεις στις οποίες ανιχνεύθηκαν υψηλού κινδύνου στελέχη, ενώ με την HPV Direct Flow CHIP τεχνική χαρακτηρίστηκαν θετικές και οι περιπτώσεις στις οποίες ανιχνεύθηκαν χαμηλού κινδύνου ιοί. Η σύγκριση των περιπτώσεων που εμφάνισαν πολλαπλές λοιμώξεις ανέδειξε ότι το HPV Direct Flow CHIP παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με την LA και την CLART. Τεχνική ως προς την ανίχνευση περισσότερων του ενός HPV ιών. Συνοπτικά, η συγκεκριμένη μελέτη έδειξε ότι το HPV Direct Flow CHIP τεστ είναι περισσότερο αποτελεσματικό σε περιπτώσεις ανίχνευσης HPV ιού με μικρό ιικό φορτίο. Τα συγκριτικά αποτελέσματα του HPV Direct Flow CHIP τεστ με τα άλλα τεστ φαίνονται στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας 31).

Table 2

Comparison of HPV positivity for each sub-set. Samples were classified by cytological diagnosis and HPV positivity, percentage of overall and solely positive agreement, Kappa index, and McNemar test. LA, Linear Array HPV Genotyping Test; CLART, GENOMICA CLART HPV2; HC2, Hybrid Capture 2. Cytology category (Bethesda): NILM (negative for intraepithelial lesion or malignancy); ASCUS (atypical squamous cells of undetermined significance); LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesion); HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesion); CxCa (cervical carcinoma).

	n	HPV Direct Flow CHIP vs other systems				Agreement (%)	Positive agreement (%)	Kappa	McNemar p-value
		+/+	+/-	-/+	-/-				
HPV Direct Flow CHIP vs. LA									
NILM	61	28	7	1	25	86,9	77,8	0,74	0,07
ASCUS	3	1	0	0	2	100	100	1	1
LSIL	30	29	1	0	0	96,7	96,7	-	-
HSIL	12	12	0	0	0	100	100	-	-
CxCa	0	0	0	0	0	-	-	-	-
Total	106	70	8	1	27	91,5	88,6	0,798	0,039
HPV Direct Flow CHIP vs. CLART									
NILM	46	21	2	1	22	93,5	87,5	0,870	1
ASCUS	16	8	3	0	5	81,3	72,7	0,625	0,25
LSIL	16	15	1	0	0	93,8	93,8	-	-
HSIL	4	4	0	0	0	100	100	-	-
CxCa	0	0	0	0	0	-	-	-	-
Total	82	48	6	1	27	91,5	87,3	0,818	0,125
HPV Direct Flow CHIP vs. HC2									
NILM	73	17	19	0	37	74	47,2	0,48	<0,001
ASCUS	8	6	1	0	1	87,5	85,7	0,6	1
LSIL	14	14	0	0	0	100	100	-	-
HSIL	5	5	0	0	0	100	100	-	-
CxCa	1	1	0	0	0	100	100	-	-
Total	101	43	20	0	38	80,2	68,2	0,618	<0,001

Note: In the "HPV Direct Flow CHIP vs. LA" set, 2 samples were excluded from the comparison because the internal amplification control was not positive in the LA test.

Πίνακας 31: Σύγκριση αποτελεσμάτων HPV Direct Flow CHIP με την CLART και το Hybrid Capture II σε περιστατικά με κυτταρολογική εξέταση

3.8 XpertHPV

Το τεστ ανιχνεύει 14 τύπους HPV (13 υψηλού κινδύνου και έναν, οHPV 66, πιθανά υψηλού κινδύνου) με PCR μέθοδο.

Η πρόσφατη συγκριτική μελέτη μεταξύ των XpertHPV και hc2 στις ΗΠΑ (*Rabaan et al., Comparison of Xpert[®] HPV and Hybrid Capture[®] 2 DNA Test[™] for detection of high-risk HPV infection in cervical atypical squamous cells of undetermined significance. J Infect Public Health. 2016 Jun 21. pii: S1876-0341(16)30065-X.*) περιλάμβανε 168 γυναίκες από τη Σαουδική Αραβία με ASCUS κύτταρα στο τεστ Παπανικολάου. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι τα δύο τεστ είχαν συμφωνία στα αποτελέσματα σε ποσοστό 98,2%. Οι περιπτώσεις που είχαν διαφορετικά αποτελέσματα ερμηνεύτηκαν ως ψευδώς θετικά στο hc2 τεστ, λόγω της διασταυρούμενης αντίδρασης. Τα συγκριτικά αποτελέσματα της ανίχνευσης του HPV ιού σε περιπτώσεις με ASCUS κύτταρα φαίνονται παρακάτω (Πίνακας 32).

	hc2		Total
	Positive	Negative	
Xpert [®] HPV			
Positive	30	0	30
Negative	3	135	138
Total	33	135	168

Positive concordance rate 30/33 = 91% (95% CI = 81–100%).
Overall concordance rate 165/168 = 98.2% (95% CI = 96–100%).
McNemar Chi-square statistic 3.0 (p-value is 0.083).

Πίνακας 32: Συμφωνία αποτελεσμάτων μεταξύ XpertHPV και Hybrid Capture II σε περιπτώσεις γυναικών με ASCUS κύτταρα στην κυτταρολογική εξέταση

Σε μία άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε στις ΗΠΑ (*Castle et al., Reliability of the Xpert HPV assay to detect high-risk human papillomavirus DNA in a colposcopy referral population. Am J ClinPathol. 2015 Jan;143(1):126-33.*) μελετήθηκαν 708 γυναίκες από τις οποίες λήφθηκαν δύο δείγματα από την καθεμία και δημιουργήθηκαν δύο ομάδες. Στην ομάδα A συμπεριλήφθηκαν τα δείγματα με κυτταρολογική εξέταση και εξέταση στο

ΧpertHPV και στην ομάδα Β συμπεριλήφθηκαν τα δείγματα που εξετάστηκαν από τα HC2, Cobas και ΧpertHPV τεστ. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε συμφωνία των θετικών αποτελεσμάτων για το ΧpertHPV τεστ στα δείγματα της Α και Β ομάδας σε ποσοστό 94,5%, ενώ η ευαισθησία ανίχνευσης του HPVιού σε CIN2+ αλλοιώσεις ήταν 89% και 90,4% αντίστοιχα. Για τα τεστ hc2 και Cobas ήταν 81,6% και 90,4% αντίστοιχα (Β ομάδα) (Πίνακας 33).

Clinical Performance of Xpert Results on Paired Specimens (A and B) and the Results of cobas and hc2 for Detection of CIN2 or More Severe Diagnoses (CIN2+)

	Xpert % (95% CI)		Specimen B, % (95% CI)	
	Specimen A	Specimen B	cobas	hc2
Sensitivity	89.0 (82.5-93.7)	90.4 (84.2-94.8)	90.4 (84.2-94.8)	81.6 (74.1-87.7)
Specificity	41.9 (37.6-46.3)	43.1 (38.8-47.5)	39.0 (34.8-43.4)	46.5 (42.2-50.9)
PPV	28.6 (24.3-33.2)	29.4 (25.0-34.0)	28.0 (23.8-32.4)	28.5 (24.1-33.3)
NPV	93.6 (89.6-96.4)	94.5 (90.8-97.0)	94.0 (89.9-96.8)	90.6 (86.5-93.8)

CI, confidence interval; CIN2, cervical intraepithelial neoplasia grade 2; NPV, negative predictive value; PPV, positive predictive value.

Πίνακας 33: Ευαισθησία και ειδικότητα του ΧpertHPV και των cobas και Hybrid Capture II σε ιστολογικά επιβεβαιωμένες περιπτώσεις CIN2+.

3.9 SPF10 LiPA25 /INNO-LiPA HPV Genotyping

Πρόκειται για δύο τεστ, των οποίων η χρήση προορίζεται κυρίως για ερευνητικούς και επιδημιολογικούς σκοπούς. Το SPF₁₀LiPA₂₅ εμφανίστηκε στην αγορά περίπου το 2000 και στηρίζει την διαγνωστική του αξία στην ανίχνευση περιοχής του γονιδίου που κωδικοποιεί την L1 πρωτεΐνη μέσω PCR αντίδρασης. Περιέχει ανιχνευτές για την ενίσχυση του σήματος, ενδονουκλεάσες για την συνολική ανίχνευση > 69 HPV τύπων και το SPF₁₀LiPA₂₅ για την εκτέλεση του υβριδισμού με στόχο την ανίχνευση 25 τύπων HPV ειδικότερα. Το INNO-LiPA αντίθετα, ενώ ανιχνεύει την ίδια γονιδιακή περιοχή που κωδικοποιεί την L1 πρωτεΐνη διαθέτει ένζυμα που απομακρύνουν περιοχές του γενετικού υλικού που δεν χρειάζονται για την εκτέλεση της PCR και πιθανόν επιμολύνουν το δείγμα, καθώς και εσωτερικό έλεγχο των αποτελεσμάτων.

Σε πρόσφατη μελέτη, που διεξήχθη στην Ολλανδία (*Geraets et al., The original SPF10 LiPA25 algorithm is more sensitive and suitable for epidemiologic HPV research than the SPF10 INNO-LiPA Extra. J Virol Methods. 2015 Apr;215-216:22-9.*) έγινε σύγκριση των δύο τεστ και εξετάστηκε η αποτελεσματικότητά τους η σε σχέση με σχέση την κυτταρολογική εξέταση και τη βιοψία. Στα 365 δείγματα που εστάλησαν παράλληλα και για κυτταρολογική εξέταση, το SPF₁₀LiPA₂₅ ανίχνευσε 542 HPV τύπους, αριθμός σημαντικά μεγαλύτερος σε σχέση με το INNO-LiPA, το οποίο ανίχνευσε 449. Από τα 181 αποτελέσματα που δεν συμφωνούσαν 137 ανιχνεύτηκαν από το SPF₁₀LiPA₂₅ και μόλις 44 από το INNO-LiPA. Ανάλογα αποτελέσματα προέκυψαν και σε δείγματα που εστάλησαν για βιοψία, αλλά λόγω του μικρού αριθμού τους (42) δεν ήταν αξιολογήσιμα. Οι παραπάνω ενδείξεις υποδεικνύουν ότι το SPF₁₀LiPA₂₅ τεστ έχει μεγαλύτερη ευαισθησία είναι αποτελεσματικό σε ερευνητικές και επιδημιολογικές μελέτες.

Ωστόσο, μία άλλη μελέτη στην Ιταλία (*Alberizzi et al., Evaluation of the HPV typing INNO-LiPA EXTRA assay on formalin-fixed paraffin-embedded cervical biopsy samples. J Clin Virol. 2014 Dec;61(4):535-9.*), παρουσίασε διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς το ποσοστό συμφωνίας σε ότι αφορά την παρουσία ή μη του HPV ιού στα δείγματα ήταν 100%, ενώ το ποσοστό ήταν υψηλό (92,55% - 100%) και στην ανίχνευση των τύπων HPV ξεχωριστά. Είναι σαφές ότι χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για να τεκμηριωθεί η σχέση ανάμεσα στα δύο test.

3.10 PapilloCheck HPV-Screening

Το PapilloCheck είναι ένα τεστ που ανιχνεύει μεPCR το E1 γονίδιο σε 24 HPV τύπους, μεταξύ των οποίων και οι 13 που ανιχνεύει το hc2 τεστ. Μία πρόσφατη μελέτη στην Αγγλία (*Crosbie et al., The PapilloCheck Assay for Detection of High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia. J Clin Microbiol. 2015 Nov;53(11):3553-9.*) σύγκρινε τα PapilloCheck και hc2 σε γυναίκες με CIN2+ αλλοιώσεις, χρησιμοποιώντας δεδομένα από τη μελέτη ARTISTIC. 236 δείγματα με παθολογική κυτταρολογική εξέταση ήταν θετικά στην ανίχνευση υψηλού κινδύνου HPV ιών. Από αυτά, 163 (69,1%) και 128 (54,2%)

ανιχνεύθηκαν από τα hc2 και PapilloCheck τεστ αντίστοιχα. Η μεταξύ τους σύγκριση σε σχέση και με την κυτταρολογική εξέταση έδειξε συμφωνία σε ποσοστό 94,5%. Στο σύνολο των περιπτώσεων με παθολογική κυτταρολογική εξέταση υπήρχαν 18 περιπτώσεις με CIN2+ αλλοιώσεις. Από αυτές, 17 ήταν HPV θετικές για υψηλού κινδύνου στέλεχος του ιού και ανιχνεύθηκαν και με τα δύο τεστ. Η μελέτη της ευαισθησίας των δύο τεστ έδειξε υψηλότερη ευαισθησία στην hc2 μέθοδο. Συγκεκριμένα, η ανίχνευση του HPV ιού σε CIN2+ αλλοιώσεις έφτασε το 93,5% για την hc2 μέθοδο, ενώ το PapilloCheck τεστ είχε ευαισθησία ανίχνευσης σε ποσοστό 89,0%.

Αντιστρόφως ανάλογα είναι τα αποτελέσματα που αφορούν την ειδικότητα των δύο τεστ, καθώς αυτή εκτιμάται στο 88,2% για το HC2 και στο 92,4% για το PapilloCheck τεστ. Το γεγονός ότι 36% των δειγμάτων, που ήταν θετικά στο hc2 τεστ και αρνητικά στο PapilloCheck και στο LA τεστ, υποδεικνύει ότι το PapilloCheck θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τον βασικό προληπτικό έλεγχο περιπτώσεων που η παρουσία CIN2+ αλλοιώσεων είναι εξαιρετικά απίθανη, μειώνοντας έτσι το κόστος για περαιτέρω εξετάσεις. Η ευαισθησία των hc2 και PapilloCheck στην ανίχνευση του HPV ιού σε περιπτώσεις με CIN2+ και CIN3+ αλλοιώσεις φαίνεται στον επόμενο πίνακα (Πίνακας 34).

TABLE 2 Sensitivity of HC2 and PapilloCheck HPV tests in 672 abnormal cytology samples preceding a diagnosis of CIN2+ and CIN3+

Age at test (yr) and cytology	Histology	n	HC2 ⁺ (no.)		HC2 ⁻ (no.)		Sensitivity (%)		Relative sensitivity (95% CI)
			HR PC ⁺	HR PC ⁻	HR PC ⁺	HR PC ⁻	HC2	HR PC	
20–29									
All abnormal	CIN2+	330	303	12	0	15	95.5	91.8	0.96 (0.94, 0.98)
Borderline		60	49	1	0	10	83.3	81.7	0.98 (0.94, 1.02)
Mild		98	90	6	0	2	98.0	91.8	0.94 (0.89, 0.99)
Moderate+		172	164	5	0	3	98.3	93.3	0.97 (0.95, 1.00)
30–60									
All abnormal	CIN2+	342	291	22	4	25	91.5	86.3	0.94 (0.91, 0.97)
Borderline		65	44	5	1	15	75.4	69.2	0.92 (0.83, 1.02)
Mild		78	71	3	0	4	94.9	91.0	0.96 (0.92, 1.00)
Moderate+		199	176	14	3	6	95.5	89.9	0.94 (0.90, 0.98)
All women									
All abnormal	CIN2+	672	594	34 ^a	4 ^b	40 ^c	93.5	89.0	0.95 (0.93, 0.97)
20–29									
All abnormal	CIN3+	172	162	7	0	3	98.3	94.2	0.96 (0.93, 0.99)
Borderline		27	25	1	0	1	96.3	92.6	0.96 (0.89, 1.04)
Mild		46	43	2	0	1	97.8	93.5	0.96 (0.90, 1.02)
Moderate+		99	94	4	0	1	99.6	94.9	0.96 (0.92, 1.00)
30–60									
All abnormal	CIN3+	186	165	13	4	4	95.7	90.9	0.95 (0.91, 1.00)
Borderline		25	19	2	1	3	84.0	80.0	0.95 (0.81, 1.12)
Mild		24	24	0	0	0	100.0	100.0	1.00
Moderate+		137	122	11	3	1	97.1	91.2	0.94 (0.89, 1.00)
All women									
All abnormal	CIN3+	358	327	20	4	7	96.7	92.5	0.95 (0.93, 0.98)

^a Five out of 14 (36%) CIN2 and 14/20 (70%) CIN3+ samples were HR-RLB positive. Those negative for HR types were mostly positive for LR types (14/15). The five CIN2 samples were positive for types 16, 18 (n = 2), 45, and 58, and the 14 CIN3+ samples were positive for types 18 (n = 6), 31, 45 (n = 5), 51, and 68.

^b Three out of 4 (75%) of these were HR-RLB positive with the same types as the PapilloCheck result (HPV 16, 31, and 45).

^c Fifteen out of 33 of the CIN2 samples were tested with RLB, and all were found HR negative. Two out of 7 CIN3+ samples were positive for HR types by RLB (both for type 16).

Πίνακας 34: Ευαισθησία PapilloCheck και Hybrid Capture II σε CIN2 ΚΑΙ CIN3 περιπτώσεις

Μία άλλη μελέτη στη Βραζιλία (Maia et al., *Hybrid capture II and PapilloCheck® tests for detection of anal high-risk human papillomavirus*. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014 Mar-Apr;47(2):227-30), έδειξε τη χρησιμότητα των hc2 και PapilloCheck τεστ στην ανίχνευση HPV ιού σε πρωκτικά επιχρίσματα ασθενών με HIV+ ιό. 42 άτομα (30 άντρες και 12 γυναίκες) χωρίς εμφανείς δερματικές αλλοιώσεις πήραν μέρος στη μελέτη. Το ποσοστό συμφωνίας ανάμεσα στα δύο τεστ ήταν 80,9%. Υπήρξε διαφωνία σε 8 δείγματα. Από αυτά, 4 ήταν θετικά στο PapilloCheck και αρνητικά στο hc2 τεστ και αφορούσαν HPV τύπους που ανιχνεύονται και στα δύο τεστ. Τα άλλα 4 δείγματα ήταν θετικά στο hc2 και αρνητικά στο PapilloCheck τεστ. Σε ένα από αυτά βρέθηκε ο τύπος HPV82, που ανιχνεύεται από το PapilloCheck αλλά όχι από το hc2. Επειδή στόχος των εταιριών, που δραστηριοποιούνται στην ανίχνευση του HPV ιού, είναι αν όχι να αντικαταστήσουν πλήρως το τεστ Παπανικολάου, να συμπεριλάβουν το HPV DNA τεστ στον μαζικό προληπτικό έλεγχο, μία μελέτη στην Πορτογαλία (Vieira et al., *The cytology and DNA detection by the PapilloCheck(®) test in the diagnosis of human*

papillomavirus infection. Eur J Microbiol Immunol (Bp). 2013 Mar;3(1):61-7. συνέκρινε την αποτελεσματικότητά τους στα πλαίσια πρόληψης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Συνολικά εξετάστηκαν 994 γυναίκες και ποσοστό 28% αυτών ήταν θετικές στον HPV ιό. Επίσης, τα περισσότερα δείγματα που είχαν παθολογική κυτταρολογική εξέταση ήταν θετικά στην παρουσία κάποιου HPV τύπου.

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων ανέδειξε και περιπτώσεις που δεν συμφωνούσαν μεταξύ τους, όπως το 27,13% των περιπτώσεων με παρουσία υψηλού κινδύνου HPV στελεχών, που όμως είχαν φυσιολογικό τεστ Παπανικολάου και 2% των περιπτώσεων με παθολογική κυτταρολογική εξέταση αλλά αρνητικό HPV τεστ. Ερμηνεύοντας τα δεδομένα αυτά θα λέγαμε ότι κάθε εξέταση μεμονωμένα είναι αξιόπιστη για τη διενέργεια μαζικού προληπτικού ελέγχου, ωστόσο ο συνδυασμός τους περιορίζει τις μη διαγνωσμένες περιπτώσεις (Πίνακας 35).

Table 5. Cytological results in negative and positive samples for HPV DNA in the 994 samples

Cytological results	Negative HPV	Positive HPV	High-risk/probable high-risk HPV	Low-risk HPV
Normal	385 (54.92%)	79 (27.72%)	70 (27.13%)	13 (20.63%)
<i>Candida spp.</i>	18 (2.57%)	2 (0.70%)	1 (0.39%)	1 (1.59%)
Inflammation	185 (26.39%)	49 (17.19%)	46 (17.82%)	8 (12.70%)
ICD	4 (0.57%)	3 (1.05%)	2 (0.78%)	1 (1.59%)
Atrophy	25 (3.57%)	2 (0.70%)	2 (0.78%)	0
ASC-US	61 (8.70%)	51 (17.89%)	48 (18.60%)	14 (22.22%)
ASC-H	1 (0.14%)	4 (1.40%)	4 (1.55%)	1 (1.59%)
LSIL	9 (1.28%)	71 (24.91%)	61 (23.64%)	22 (34.92%)
HSIL	1 (0.14%)	18 (6.32%)	18 (6.98%)	1 (1.59%)
Squamous cell carcinoma	0	1 (0.35%)	1 (0.39%)	0
Unsatisfactory	12 (1.71%)	5 (1.75%)	5 (1.94%)	2 (3.17%)

Πίνακας 35: Αποτελέσματα PapilloCheck σε σχέση με την κυτταρολογική εξέταση σε 994 γυναίκες

3.11 BD HPV Onclarity Assay

Το συγκεκριμένο τεστ ανιχνεύει με PCR αντίδραση τα γονίδια E6 και E7 από τους 13 HPV τύπους που ανήκουν στην ομάδα υψηλού κινδύνου και του HPV66. Η αποτελεσματικότητά του διερευνήθηκε σε σχέση με το hc2, σε πρόσφατη μελέτη που έλαβε χώρα στη Δανία (*Ejegod et al ., The BD*

Onclarity HPV assay on SurePath collected samples meets the International Guidelines for Human Papillomavirus Test Requirements for Cervical Screening. J Clin Microbiol. 2016 Jun 15. pii: JCM.00508-16.). Στη μελέτη αυτή εξετάστηκαν γυναίκες που είχαν υποβληθεί σε προληπτικό ή σε επαναληπτικό έλεγχο και είχαν ιστολογική διάγνωση CIN2+. 401 περιπτώσεις με CIN2+ αλλοιώσεις αναλύθηκαν μελετήθηκαν με τα hc2 και Onclarity τεστ. Τόσο η ευαισθησία όσο και η ειδικότητα των δύο τεστ δε διέφεραν μεταξύ τους σημαντικά (Πίνακας 36).

TABLE 2 Clinical specificity and sensitivity for BD Onclarity HPV and HC2 assays

Specificity or sensitivity (CIN status)	Specificity and sensitivity (range)	
	Onclarity	HC2
Specificity (<CIN2)	0.90 (0.88–0.91)	0.90 (0.88–0.92)
Relative specificity (<CIN2)	1.0 (0.97–1.02)	1.0
Sensitivity (\geq CIN2)	0.97 (0.87–1.0)	0.98 (0.91–1.0)
Relative sensitivity (\geq CIN2)	0.98 (0.93–1.04)	1.0

Πίνακας 36: Ευαισθησία και ειδικότητα του BD Onclarity και του Hybrid Capture II σε γυναίκες με <CIN2 και \geq CIN2.

Σε δύο δείγματα θετικά με hc2 τεστ και αρνητικά με το Onclarity τεστ ταυτοποιήθηκαν τα στελέχη HPV70 και HPV82. Τα δείγματα αυτά έφεραν CIN2 και CIN3 αλλοιώσεις ιστολογικά. Ωστόσο, δεδομένου ότι οι συγκεκριμένοι θεωρούνται παράγοντες διασταυρούμενης αντίδρασης, τα αποτελέσματα θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν ως ψευδώς θετικά. Σε μία άλλη μελέτη στις ΗΠΑ (*Wright et al., Clinical performance of the BD Onclarity HPV assay using an adjudicated cohort of BD SurePath liquid-based cytology specimens. Am J Clin Pathol. 2014 Jul;142(1):43-50.*) μελετήθηκαν 541 γυναίκες. Από αυτές, 104 είχαν CIN2 αλλοιώσεις, 79 διαγνώστηκαν ιστολογικά με CIN2 αλλοιώσεις μετά από βιοψία και 358 είχαν αρνητική κυτταρολογική εξέταση και <CIN2 κατά τη βιοψία. Από το σύνολο των 541 γυναικών, 20 είχαν διαφορετικά αποτελέσματα κατά την ανίχνευση της παρουσίας του HPV ιού. με τα hc2 και Onclarity τεστ. 20 γυναίκες είχαν HPV ιό κατά την ανάλυση με hc2 ενώ δεν ανιχνεύθηκε ο ιός με το Onclarity τεστ. Αντίστοιχα, 21 γυναίκες είχαν HPV ιό κατά την ανάλυση με Onclarity, ενώ δεν ανιχνεύθηκε ο ιός με το hc2 τεστ. Ανάλογα αποτελέσματα προέκυψαν και στις

επιμέρους ομάδες, γεγονός που υποδηλώνει παρόμοια αποτελεσματικότητα των δύο τεστ (Πίνακας 37).

Clinical Performance of the BD Onclarity HPV Assay Using BD SurePath Media and HC2 Assay Using STM

Performance Measure	BD HPV Test (95% CI)	HC2 (95% CI)
All women (n = 541)		
hrHPV positivity rate, %	36.0 (32-40)	35.9 (32-40)
Sensitivity for CIN 2+ (n = 104), %	90.4 (83-95)	93.3 (87-97)
Specificity for CIN 2+, %	76.9 (73-81)	77.8 (74-82)
Positive predictive value, %	48.2 (41-56)	50.0 (43-57)
Negative predictive value, %	97.1 (95-99)	98.0 (96-99)

Πίνακας 37: Ευαισθησία και ειδικότητα του Onclarity σε CIN2+ περιπτώσεις

3.12 CLARTHPV2

Το τεστ ανιχνεύει την παρουσία γονιδιακής περιοχής που κωδικοποιεί την L1 πρωτεΐνη με PCR αντίδραση σε 13 υψηλού κινδύνου και 22 χαμηλού κινδύνου HPV τύπους. Μία μελέτη στην Πορτογαλία (*Pista et al., Clinical performance of the CLART human papillomavirus 2 assay compared with the hybrid capture2 test. J Med Virol. 2011 Feb;83(2):272-6.*) σύγκρινε το συγκεκριμένο τεστ με το hc2. Για το σκοπό αυτό εξετάστηκαν 425 γυναίκες που είχαν παράλληλα ιστολογική εξέταση ή και βιοψία. 268 (63,1%) και 274 (64,5%) δείγματα ανιχνεύτηκαν θετικά στην παρουσία κάποιου από τους υψηλού κινδύνου HPV τύπους με το CLART και το hc2 τεστ αντίστοιχα, παρουσιάζοντας συμφωνία σε ποσοστό 98,6%. Διαφορετικά αποτελέσματα προέκυψαν σε 6 περιπτώσεις. Τα δείγματα αυτά αναλύθηκαν περαιτέρω με το PapilloCheck, το οποίο συμφώνησε απόλυτα στα αποτελέσματα με το CLART τεστ, όταν προστέθηκαν άλλοι 4 HPV τύποι υψηλού κινδύνου. Σε αυτά τα 6 δείγματα, η κυτταρολογική εξέταση ή η βιοψία αποκάλυψε 3 δείγματα με CIN1 αλλοιώσεις, 2 δείγματα ASCUS και 1 δείγμα φυσιολογικό. Η ευαισθησία και η ειδικότητα των δύο test στα 425 δείγματα φαίνεται παρακάτω (Πίνακας 38).

TABLE II. Clinical Performance for \geq CIN2 Based in Pap Smear and Biopsy Diagnosis of 405 Samples

	Clinical diagnosis		Sensitivity (%) (95% CI)	Specificity (%) (95% CI)	PPV (%) (95% CI)	NPV (%) (95% CI)
	\leq CIN1 (n = 178)	\geq CIN2 (n = 227)				
CLART-13 HR						
P	47	218	96.0 (92.6–97.9)	73.6 (66.7–79.5)	82.2 (79.4–82.7)	93.6 (93.0–94.2)
N	131	9				
Positivity (%)	26.4	96.0				
CLART-17 HR						
P	50	220	96.9 (93.8–98.5)	71.9 (64.9–78.0)	81.5 (79.9–83.1)	94.8 (94.3–95.3)
N	128	7				
Positivity (%)	28.1	96.9				
HC2						
P	51	218	96.0 (92.6–97.9)	71.4 (64.3–77.5)	81.0 (79.4–82.7)	93.4 (92.8–94.0)
N	127	9				
Positivity (%)	28.7	96.0				

\leq CIN1, cervical intraepithelial neoplasia grade 1 or less; \geq CIN2, cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or worse; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; CI, confidence interval; P, HPV positive; N, HPV negative.

Πίνακας 38: Ευαισθησία και ειδικότητα του CLART και του Hybrid Capture II σε $<$ CIN1 και \geq CIN2 περιπτώσεις στην Πορτογαλία

Αντίστοιχα, η ευαισθησία και η ειδικότητα για τις (425) περιπτώσεις $<$ CIN1 και \geq CIN2 φαίνονται στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας 39).

TABLE III. Analytical Performance of CLART and HC2 in 425 Samples

	HC2		Concordance % \pm SD	κ (95% CI)	Sensitivity (%) (95% CI)	Specificity (%) (95% CI)	PPV (%) (95% CI)	NPV (%) (95% CI)
	P	N						
CLART-13 HR								
P	268	0	98.6 \pm 1.2	0.969 (0.941–0.969)	97.8 (96.8–97.8)	100 (98.1–100)	100 (98.9–100)	96.2 (94.4–96.2)
N	6	151						
CLART-17 HR								
P	272	3	98.8 \pm 1.1	0.974 (0.941–0.988)	99.3 (98.1–99.8)	98.0 (95.9–98.9)	98.9 (97.7–99.4)	98.7 (96.5–99.6)
N	2	148						

PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; κ , agreement; CI, confidence interval; SD, standard deviation; P, HPV positive; N, HPV negative.

Πίνακας 39: Ευαισθησία και ειδικότητα του CLART σε 425 περιπτώσεις

Στη μελέτη των Ejegod και συνεργατών (2015) μελετήθηκαν 401 δείγματα, από τα οποία 311 (78%) και 326 (81%) ήταν θετικά σε κάποιον τύπο υψηλού κινδύνου στο CLART τεστ και την LA μέθοδο αντίστοιχα. (Ejegod et al., *Comparison of analytical and clinical performance of CLART HPV2 genotyping assay to Linear Array and Hybrid Capture 2: a split-sample study. BMC Cancer. 2015 Apr 2;15:216.*) Το HC2 ήταν καλύτερο σε περιπτώσεις με \geq CIN2 αλλοιώσεις, καθώς ανίχνευσε την παρουσία του HPV ιού σε 123 περιπτώσεις, συγκριτικά με τις 116 και 120 που ανίχνευσαν τα LA και hc2 τεστ αντίστοιχα. Ανάλογα ήταν και τα αποτελέσματα σε περιπτώσεις με \geq CIN3 αλλοιώσεις. Οι παρακάτω πίνακες δείχνουν τη σχέση των CLART και LA τεστ στην ανίχνευση του HPV ιού, σε περιπτώσεις μη φυσιολογικής κυτταρολογικής εξέτασης, καθώς και τη σχέση των δύο αυτών τεστ με το hc2

σε περιπτώσεις με μη φυσιολογική κυτταρολογική εξέταση ή \geq CIN2+ (Πίνακες 40,41,42).

Table 5 Agreement between CLART and LA in 401 women with abnormal cytology

LA	CLART			Total
	High-risk genotypes	Low-risk genotypes	No genotypes ^a	
High-risk genotypes	306	12	8	326 (81%)
Low-risk genotypes	5	41	8	54 (13%)
No genotypes ^a	0	1	20	21 (5%)
Total	311 (78%)	54 (13%)	36 (9%)	401 (100%)

^aOr genotypes not detectable by both CLART and LA (CLART: 43, 44, 85, 89; LA: 55, 64, 67, 69, 1539, CP6108).

Πίνακας 40: Ποσοστά συμφωνίας ανάμεσα στο CLART και την LA σε 401 δείγματα με παθολογική κυτταρολογική εξέταση

Table 6 CLART and LA: agreement with HC2

Genotyping assay	Assay+/HC2+	Assay+/HC2-	Assay-/HC2+	Assay-/HC2-
401 women with abnormal cytology				
CLART	301 (75%)	10 (2%)	54 (13%)	36 (9%)
LA	315 (79%)	11 (3%)	40 (10%)	35 (9%)
125 women with \geq CIN2				
CLART	116 (93%)	0 (0%)	7 (6%)	2 (2%)
LA	120 (96%)	0 (0%)	3 (2%)	2 (2%)

Πίνακας 41: Ποσοστά συμφωνίας του CLART και της LA με το Hybrid Capture II

Η ευαισθησία και ειδικότητα των τριών τεστ συγκριτικά φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 42).

Table 7 CLART, LA, and HC2: sensitivity and specificity for \geq CIN2 and \geq CIN3

	CLART	LA	HC2
Endpoint \geqCIN2			
Sensitivity (95% CI)	0.93 (0.87-0.97)	0.96 (0.91-0.99)	0.98 (0.94-1.00)
Relative sensitivity vs. LA	0.97 (0.91-1.03)	1.0 (ref)	1.03 (0.98-1.07)
Relative sensitivity vs. HC2	0.94 (0.89-1.00)	0.98 (0.94-1.02)	1.0 (ref)
Specificity	0.30 (0.25-0.36)	0.26 (0.21-0.32)	0.17 (0.12-0.22)
Relative Specificity vs. LA	1.16 (0.88-1.54)	1.0 (ref)	0.64 (0.46-0.90)
Relative Specificity vs. HC2	1.81 (1.30-2.52)	1.56 (1.11-2.19)	1.0 (ref)
Endpoint \geq CIN3			
Sensitivity (95% CI)	0.93 (0.86-0.98)	0.97 (0.91-0.99)	0.99 (0.94-1.00)
Relative sensitivity vs. LA	0.97 (0.90-1.03)	1.0 (ref)	1.02 (0.98-1.07)
Relative sensitivity vs. HC2	0.94 (0.89-1.00)	0.98 (0.94-1.02)	1.0 (ref)
Specificity	0.28 (0.23-0.33)	0.23 (0.19-0.29)	0.15 (0.11-0.20)
Relative Specificity vs. LA	1.17 (0.89-1.55)	1.0 (ref)	0.64 (0.45-0.90)
Relative Specificity vs. HC2	1.84 (1.32-2.56)	1.57 (1.11-2.21)	1.0 (ref)

Πίνακας 42: Ευαισθησία και ειδικότητα του CLART, LA και Hybrid Capture II σε \geq CIN2 και \geq CIN3 περιπτώσεις.

3.13 HPV 4A ACE Screening kit/Anyplex II HPV28

Το HPV 4A ACE Screening kit έχει σχεδιαστεί για την ανίχνευση μέσω PCR αντίδρασης των υψηλού κινδύνου HPV τύπων, καθώς και των τύπων 6 και 11 που ανήκουν στην ομάδα χαμηλού κινδύνου και ευθύνονται για κονδυλώματα. Σε μελέτη 929 γυναικών, που έγινε στο Μεξικό από τους López και συνεργάτες (2012), βρέθηκε ότι 43% των δειγμάτων ήταν θετικά σε κάποιον από τους υψηλού κινδύνου τύπους HPV, ενώ μόλις το 15,3% των δειγμάτων αυτών είχε παθολογική κυτταρολογική εξέταση. (Πίνακας 43). (López *et al.*, *Prevalence of human papillomavirus in women from Mexico City. Infect Dis Obstet Gynecol.* 2012;2012:384758.)

TABLE 2: Prevalence of HPV genotypes.

Cytological diagnosis	HPV genotypes					
	HPV-HR*	HPV-18	HPV-16	HPV-HR/HPV-18**	HPV-HR/HPV-16***	HPV- 6 and HPV-11
	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)
Total (<i>n</i> = 85)	37 (43)	30 (35)	8 (10)	6 (7)	3 (4)	1 (1)
Normal	28 (33)	30 (35)	7 (9)	5 (6)	2 (3)	0
ASC-US	1 (1)	0	0	1 (1)	0	0
LSIL	7 (8)	0	1 (1)	0	1 (1)	1 (1)
HSIL	0	0	0	0	0	0
CC	1 (1)	0	0	0	0	0

ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesions; CC, squamous cell carcinoma; HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesions.

*HR (16 high-risk HPV types): 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, and 82.

**Detection of multiple infections for HPV 18 and HR.

***Detection of multiple infections for HPV 16 and HR.

Πίνακας 43: Ανίχνευση HPV από το HPV 4A ACE σε δείγματα με γνωστή κυτταρολογική εξέταση

Μία μελέτη στην Κορέα από τους Κι και συνεργάτες (2012), σύγκρινε το HPV 4A ACE Screening kit με τα hc2 και Cobas. Βρέθηκε ότι το Cobas συμφωνούσε σε ποσοστό 82,88% των δειγμάτων με το hc2 τεστ, ενώ αντίστοιχα το HPV 4A ACE Screening kit συμφωνούσε σε 84,94%. (Κι *et al.*, *HPV test and the Seeplex HPV4A ACE with the hybrid capture 2 test. Int J Med Sci. 2013;10(2):119-23.*) Μεγαλύτερο ποσοστό συμφωνίας βρέθηκε ανάμεσα στο Cobas και το HPV 4A ACE Screening kit (89,59%) και το ποσοστό αυτό ήταν υψηλότερο όταν η λοίμωξη αφορούσε τον τύπο HPV16 (98,63%) ή τον HPV18 (100%) του ιού. Οι παρακάτω πίνακες δίνουν συγκεντρωτικές πληροφορίες για τη σχέση ανάμεσα στα HPV 4A ACE Screening kit, Cobas και το hc2 εμπορικά διαθέσιμα kit (Πίνακες 44, 45, 46).

Table 3. Concordance rates between the results of the HC2 test and the other 2 tests.

		HC 2		Concordance Rate (%)	Kappa Coefficient	95% CI
		Positive (n=71)	Negative(n=75)			
Cobas4800	Positive	50	4	82.88	0.66	0.54-0.77
	Negative	21	71			
Seeplex	Positive	54	5	84.94	0.70	0.58-0.81
	Negative	17	70			

Table 4. Concordance rates between the results of the Seeplex HPV4A ACE and the Cobas 4800 HPV test.

		Cobas 4800		Concordance Rate (%)	Kappa Coefficient	95% CI
		Positive (all)	negative			
Seeplex	Positive	49	10	89.59	0.78	0.68-0.89
	Negative	5	80			
Seeplex	Positive	Positive for HPV16	Negative for HPV16	98.63	0.87	0.69 - 1.00
	Negative	7	0			
Seeplex	Positive	2	137	100.00	1.00	1.00-1.00
	Negative	Positive for HPV18	Negative for HPV16			
		3	0			
		0	143			

Table 5. Sensitivities and specificities of HPV detection tests for high-risk genotypes in \geq LSIL.

Test	HPV genotype	Sensitivity(%)	95% CI (%)	Specificity(%)	95% CI (%)
HC 2	All HR	88.9	83.4-91.1	67.9	61.3-69.8
Cobas 4800	All HR	71.1	65.2-75.8	76.4	71.0-77.8
Seeplex	All HR	80.0	71.9-87.3	74.5	64.3-76.3

Πίνακας 44: HPV 4A ACE, Cobas και Hybrid Capture II σε σύγκριση μεταξύ τους

Το Anyplex II HPV28 σχεδιάστηκε για να ανιχνεύσει την παρουσία HPV τύπων υψηλού ή χαμηλού κινδύνου και ταυτόχρονα να προσδιορίσει 28 HPV στελέχη του ιού. Η πρώτη μελέτη που αφορά στη σύγκρισή του με το hc2 και έγινε στην Κορέα (*Kwon et al., Comparison of the Anyplex II HPV28 assay with the Hybrid Capture 2 assay for the detection of HPV infection. J Clin Virol. 2014 Apr;59(4):246-9.*) περιελάμβανε 1114 δείγματα. Το hc2 ανίχνευσε τον HPV ιό σε 72 περιπτώσεις με λοίμωξη από τύπο υψηλού κινδύνου HPV (6,5%), ενώ το Anyplex ανίχνευσε 138 (12,4%) περιπτώσεις. Η συμφωνία των αποτελεσμάτων για τα δύο τεστ ήταν της τάξης του 91,4%. Η περαιτέρω ανάλυση των δειγμάτων που έφεραν αντικρουόμενα αποτελέσματα, αποκάλυψε την παρουσία 11 ψευδώς θετικών και 67 ψευδώς αρνητικών στο HC2, ενώ βρέθηκαν 2 ψευδώς θετικά δείγματα στο Anyplex. Στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 46) φαίνεται η συμφωνία των αποτελεσμάτων στην

ανίχνευση του HPV και σε σχέση με αποτελέσματα από τον κυτταρολογικό έλεγχο.

Table 1
HC2 and Anyplex II HPV28 comparison according to cytological findings.

Cytology	HC2		Anyplex II HPV28		Total
	Positive	Negative	Positive	Negative	
HSIL	2	0	2	0	2
LSIL	3	0	3	0	3
ASCUS	5	4	6	3	9
Normal	56	1034	124	966	1090
Total	66	1038	135	969	1104

Πίνακας 45: Σύγκριση αποτελεσμάτων Anyplex II HPV28 και Hybrid Capture II σε κυτταρολογικά επιβεβαιωμένες περιπτώσεις.

Σε πολύ πρόσφατη μελέτη στο Λουξεμβούργο, έγινε σύγκριση του Anyplex με το EuroarrayHPV (Latsuzbaia et al., *Analytical performance evaluation of Anyplex II HPV28 and Euroarray HPV for genotyping of cervical samples. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016 Jul;85(3):318-22.*) προκειμένου να διαπιστωθεί η χρησιμότητά τους στη διαχείριση της πολιτικής εμβολιασμού. Στα 150 δείγματα που μελετήθηκαν, η συμφωνία μεταξύ Anyplex/Aptima (88%) και Euroarray /Aptima (90,7%) ήταν παρόμοια και υψηλότερη, ιδιαίτερα στους τύπους που περιέχονται στα εμβόλια.

3.14 Genoflow HPV Array

Το συγκεκριμένο τεστ ανιχνεύει την παρουσία 33 τύπων HPV. Βασίζεται στην ανίχνευση της παρουσίας της L1 πρωτεΐνης με υβριδισμό και χρησιμοποιείται είτε ως μέσο προληπτικού ελέγχου, είτε ως επιπλέον εξέταση σε περιπτώσεις όπου τα αποτελέσματα της κυτταρολογικής εξέτασης είναι ασαφή. Το πλεονέκτημά του σε σχέση με τα hc2 και AmpliCor τεστ είναι το γεγονός ότι εκτός από ανίχνευση, παράλληλα ταυτοποιεί 33 τύπους HPV.

Μελέτη που διεξήχθη στην Κίνα το 2012 από τους Wong και συνεργάτες ανέλυσε 400 γυναίκες. Προέκυψε υψηλό ποσοστό συμφωνίας (93,69%), ιδιαίτερα σε περιπτώσεις λοίμωξης με κάποιον υψηλού κινδύνου HPV τύπο. Ακόμη μεγαλύτερα ποσοστά παρατηρήσαν για τους HPV 16 και HPV 18 τύπους (96,72% και 99,49% αντίστοιχα). Η μεγαλύτερη διαφωνία προέκυψε

στην ταυτοποίηση των 39 και 52 HPV τύπων, αλλά και του HPV11 που είναι χαμηλού κινδύνου ιός. Συγκριτικά με το τεστ Παπανικολάου και τα δύο τεστ παρουσίασαν κατά κανόνα συμφωνία στις περιπτώσεις με ασαφή αποτελέσματα. Και τα δύο τεστ θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στα πλαίσια μαζικού προληπτικού ελέγχου, με εξαίρεση περιοχές με αυξημένη συχνότητα των HPV39 και HPV52 (π.χ. Κίνα). (Wong et al., Comparison of the GenoFlow human papillomavirus (HPV) test and the Linear Array assay for HPV screening in an Asian population. *J Clin Microbiol.* 2012 May;50(5):1691-7.) Στους παρακάτω πίνακες φαίνεται η σχέση μεταξύ Genoflow HPV Array και LA στην ανίχνευση του HPV ιού, καθώς και η αποτελεσματικότητά τους σε σχέση και με την κυτταρολογική εξέταση (Πίνακες 47,48).

TABLE 2 Concordant/compatible HPV detection (assay-common genotypes) in relation to cytological classification between GF and LA assays

Cytology finding	No. (%) of samples with the indicated result between GF and LA assays			Total no. of samples
	Concordant	Compatible	Discordant	
Normal	13 (65.00)	6 (30.00)	1 (5.00)	20
ASC-H	20 (50.00)	19 (47.50)	1 (2.50)	40
ASC-US	59 (50.43)	48 (41.03)	10 (8.55)	117
AGC	16 (53.33)	9 (30.00)	5 (16.67)	30
LSIL	38 (38.00)	54 (54.00)	8 (8.00)	100
HSIL	43 (72.88)	16 (27.12)	0 (0.00)	59
SCC	21 (70.00)	9 (30.00)	0 (0.00)	30
Total	210 (52.78)	161 (40.66)	25 (6.57)	396

Πίνακας 46: Σύγκριση μεταξύ Genoflow HPV Array και LA σε γνωστά κυτταρολογικά αποτελέσματα

TABLE 3 HPV positivity agreement of GF and LA assays^a

GF assay result	No. of samples with LA assay result					
	Assay-common genotypes ^b			Oncogenic genotypes ^c		
	Positive	Negative	Total	Positive	Negative	Total
Positive	336	7	343	299	13	324
Negative	11	42	53	12	72	84
Total	347	49	396	311	85	396

^a The absolute agreement levels between assays for assay-common genotypes and oncogenic genotypes were 95.45% and 93.69%, respectively. Cohen's κ values for assay-common genotypes and oncogenic genotypes were 0.797 and 0.812, respectively. *P* values determined by the McNemar test for assay-common genotypes and oncogenic genotypes were 0.4795 and 1.0000, respectively.

^b Assay-common genotypes are HPV genotypes detectable by both assays.

^c Oncogenic genotypes are types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, and 82.

Πίνακας 47: Σύγκριση Genoflow HPV Array και LA σε θετικά αποτελέσματα

3.15 PreTect HPV-Proofer

Σε αντίθεση με τα περισσότερα διαγνωστικά τεστ, που κυκλοφορούν για την πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου, το συγκεκριμένο, όπως και το ProExC, στηρίζουν τη λειτουργία τους στην ανίχνευση βιοδεικτών που συμμετέχουν στην έκφραση των E6 και E7 ογκοπρωτεϊνών καθώς αυτές φαίνεται να υπερεκφράζονται σε περιπτώσεις δυσπλασίας και καρκίνου. Τέτοιοι βιοδείκτες είναι η MCM πρωτεΐνη 2 (Mini-Chromosome Maintenance protein) 2) η τοποϊσομεράση TOP2α (topoisomerase 2 alpha). Το HPV-Proofer ανιχνεύει μέσω ανοσοϊστοχημείας τους βιοδείκτες αυτούς με τη βοήθεια μονοκλωνικών αντισωμάτων.

Η ύπαρξη του HPV-Proofer τεστ στην αγορά στηρίζεται στο γεγονός ότι αφού η υπερέκφραση των ογκοπρωτεϊνών E6 και E7 σχετίζεται με την αυξημένη πιθανότητα καρκινογένεσης ένα τέτοιο τεστ θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στα πλαίσια της πρόληψης, ιδιαίτερα αν αναλογιστεί κανείς ότι τα HPV DNA τεστ δεν είναι ικανά να διακρίνουν ανάμεσα στην εμμένουσα και την παροδική λοίμωξη. Το βασικό μειονέκτημα είναι η αναγνώριση 5 μόνο υψηλού κινδύνου HPV τύπων, μεταξύ των οποίων βρίσκονται οι πιο συχνοί ογκογόνοι ιοί HPV 16 και HPV 18.

Το 2009 δημοσιεύτηκε μία συγκριτική μελέτη (Keegan *et al*, *Comparison of HPV detection technologies: Hybrid capture 2, PreTect HPV-Proofer and*

analysis of HPV DNA viral load in HPV16, HPV18 and HPV33 E6/E7 mRNA positive specimens. *J Virol Methods*. 2009 Jan;155(1):61-6.) για τα HPV-Proofers και hc2 τεστ. Εξετάσθηκαν 299 δείγματα που είχαν ελεγχθεί και κυτταρολογικά. 205 γυναίκες (69%) ήταν θετικές με το hc2 τεστ και 112 (38%) ήταν θετικές με το HPV-Proofers τεστ. Σε περιπτώσεις με CIN2 και CIN3 αλλοιώσεις, η συμφωνία μεταξύ των δύο τεστ ήταν 67% και 83% αντίστοιχα για τα hc2 και HPV-Proofers αντίστοιχα, Η ευαισθησία και η ειδικότητα στις CIN2+ περιπτώσεις ήταν 71,4% και 75,8% για το HPV-Proofers τεστ, ενώ για το hc2 τεστ ήταν 100% και 43,7% αντίστοιχα. Παρακάτω παρατίθεται ο πίνακας που παρουσιάζει την ανίχνευση του HPV ιού με τα HC2 και HPV-Proofers σε δείγματα με γνωστή κυτταρολογική εξέταση (Πίνακας 49).

Table 3

Comparison of HPV detection technologies for the detection of HPV in cytology specimens (n = 299).

Cytology	HC2		PreTect™ HPV-Proofers		Concordance
	+	-	+	-	
Normal (n = 60)	5/60	55/60	2/60	58/60	88%
BNA ^a (n = 34)	16/34	18/34	5/34	29/34	19%
CIN1 ^b (n = 121)	100/121	21/121	45/121	76/121	40%
CIN2 (n = 60)	60/60	-	40/60	20/60	67%
CIN3 (n = 24)	24/24	-	20/24	4/24	83%

^a Borderline nuclear abnormality.

^b Cervical intraepithelial neoplasia.

Πίνακας 48: Σύγκριση HPV-Proofers με το Hybrid Capture II σε δείγματα με γνωστή ιστολογική εξέταση

Σε πρόσφατη μελέτη στον Καναδά (*Alaghehbandan et al., Performance of ProEx C and PreTect HPV-Proofers E6/E7 mRNA tests in comparison with the hybrid capture 2 HPV DNA test for triaging ASCUS and LSIL cytology. DiagnCytopathol. 2013 Sep;41(9):767-75.*), μελετήθηκαν συνολικά 1360 γυναίκες από τις οποίες 380 είχαν κατηγοριοποιηθεί ως CIN2+ και είχαν ελεγχθεί με το hc2, το HPV-Proofers και το ProExC τεστ. Τα HPV-Proofers και ProExC τεστ έδειξαν σημαντικά υψηλή ειδικότητα αλλά χαμηλότερη ευαισθησία σε σχέση με το hc2 στην ανίχνευση περιπτώσεων με CIN2+ αλλοιώσεις. Το γεγονός αυτό αποτελεί σημαντικό μειονέκτημα στα πλαίσια της διάγνωσης. Ωστόσο, θα μπορούσαν τα δύο αυτά τεστ να χρησιμοποιηθούν, ώστε να μειωθεί το ποσοστό των γυναικών προς κολποσκόπηση και περαιτέρω έλεγχο καθώς η προγνωστική τους αξία είναι σημαντική. Στον

παρακάτω πίνακα φαίνεται η ευαισθησία και η ειδικότητα των HPV-Proofer, ProExC και hc2 στην ανίχνευση του HPV ιού σε ασθενείς με CIN2+ αλλοιώσεις (Πίνακας 50).

Table I. Comparison of ProEx C, Proofer, and HC2 Tests for Detection of CIN 2+^a; n = 1,360

Diagnostic index	Histological category	ProEx C	Proofer	HC2
Sensitivity	CIN 2+ (n = 380)	73.9% (95% CI: 72.8, 75.1)	76.1% (95% CI: 74.9, 77.2)	95.5% (95% CI: 95.0, 96.1)
	CIN 2 (n = 93)	66.7% (95% CI: 57.1, 76.2)	59.1% (95% CI: 49.1, 69.1)	91.4% (95% CI: 85.7, 97.1)
	≥CIN 3 (n = 287)	76.3% (95% CI: 71.4, 81.2)	81.9% (95% CI: 77.4, 86.3)	96.9% (95% CI: 94.8, 98.9)
Specificity	<CIN 1 (n = 980)	71.6% (95% CI: 70.4, 72.9)	76.0% (95% CI: 74.9, 77.2)	38.2% (95% CI: 36.8, 39.5)
	CIN 1 (n = 345)	60.6% (95% CI: 55.4, 65.7)	68.7% (95% CI: 63.8, 73.6)	22.0% (95% CI: 17.7, 26.4)
	Negative (n = 635)	77.6% (95% CI: 74.4, 80.9)	80.0% (95% CI: 76.9, 83.1)	46.9% (95% CI: 43.1, 50.8)
Positive predictive value	CIN 2+ (n = 380)	50.3% (95% CI: 48.9, 51.6)	55.0% (95% CI: 53.7, 56.4)	37.3% (95% CI: 36.1, 38.8)
Negative predictive value	<CIN 1 (n = 980)	87.6% (95% CI: 86.7, 88.5)	89.1% (95% CI: 88.3, 89.9)	95.7% (95% CI: 95.1, 95.2)

^aCIN 2+ = cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or worse (CIN 2, CIN 3, squamous cell carcinoma, endocervical adenocarcinoma in situ, and endocervical adenocarcinoma).

Πίνακας 49: Ευαισθησία και η ειδικότητα των HPV-Proofer, ProExC και hc2 στην ανίχνευση του HPV ιού σε ασθενείς με CIN2+ αλλοιώσεις

3.16 NucliSENS easy Q

Το συγκεκριμένο τεστ έχει την ίδια αρχή λειτουργίας με το HPV-Proofer τεστ, καθώς ανιχνεύει το mRNA που είναι υπεύθυνο για την έκφραση των E6 και E7 ογκοπρωτεϊνών. Ερευνώντας την αποτελεσματικότητα του NucliSENS easy Q μία μελέτη στη Γαλλία (*Halfon P et al., Relevance of HPV mRNA detection in a population of ASCUS plus women using the NucliSENSEasyQ HPV assay. J Clin Virol. 2010 Feb;47(2):177-81.*) ανέλυσε 140 δείγματα που εξετάστηκαν με τα hc2, την LA και το NucliSENS easyQ. Τα δείγματα αυτά είχαν ληφθεί από γυναίκες με ιστολογική διάγνωση CIN2+. Οι παρακάτω πίνακες δείχνουν τη σχέση ανάμεσα σ' αυτά τα τεστ στην ανίχνευση του HPV (Πίνακες 51,52).

Table 4

Concordance between HCII assay and NucliSENS EasyQ HPV test, and between HCII assay and LA HPV test.

HCII results	NucliSENS EasyQ HPV results				Total
	Positive	Negative	Positive	Negative	
Positive	57	28	83	2	85
Negative	8	46	6	48	54
Total	65	74	89	50	139

Table 5

Concordance between NucliSENS EasyQ HPV and LA HPV test on the 139 cases for which both tests were assessed.

LA results	NucliSENS EasyQ HPV results		Total
	Positive	Negative	
Positive	61	28	89
Negative	4	46	50
Total	65	74	139

Πίνακας 50: Σύγκριση μεταξύ NucliSENS easy Q, LA και Hybrid Capture II σε 139 δείγματα

Η ευαισθησία και η εξειδίκευση των τριών τεστ στην ανίχνευση του HPV ιού, σε περιπτώσεις με βιοψία και κυτταρολογική εξέταση, απεικονίζεται στη συνέχεια (Πίνακας 53).

Test performance for "CIN2+ and HSIL" histology detection.

	Clinical Diagnosis "biopsy + Papsmear"		Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	AUC
	Negative	Positive					
NucliSENS EasyQ HPV							
Negative	47	9	76	63	50	84	0.69 [0.60-0.78]
Positive	28	28					
Linear array							
Negative	34	3	92	45	45	92	0.69 [0.59-0.77]
Positive	41	34					
Hybrid capture 2							
Negative	37	2	95	49	48	95	0.72 [0.63-0.80]
Positive	38	35					

Πίνακας 51: Ευαισθησία και ειδικότητα των NucliSENS easy Q, LA και Hybrid Capture II σε γνωστά περιστατικά από κυτταρολογική ή ιστολογική εξέταση.

Στην ίδια μελέτη προτάθηκε ένα είδος αλγόριθμου σύμφωνα με το οποίο μια εξέταση που βασίζεται στην ανίχνευση του mRNA χρησιμοποιηθεί συμπληρωματικά στα πλαίσια της πρόληψης του καρκίνου του τραχήλου.

Συγκεκριμένα, αν και τα δύο τεστ (DNA, mRNA) βγουν θετικά θα πρέπει να γίνει άμεσα βιοψία, αλλά αν μόνο το HPV DNA test βγει θετικό θα

μπορούσε κανείς να περιμένει 6-12 μήνες, ώστε να γίνει επαναληπτικός έλεγχος για να διαπιστωθεί αν η λοίμωξη είναι εμμένουσα και χρειάζεται να γίνει βιοψία.

Παρόμοια συμπεράσματα αναφέρονται και σε μία πιο πρόσφατη μελέτη στην Κορέα (*Munkhdelger et al, Comparison of the performance of the NucliSENS EasyQ HPV E6/E7 mRNA assay and HPV DNA chip for testing squamous cell lesions of the uterine cervix. DiagnMicrobiol Infect Dis. 2014 Aug;79(4):422-7.*). Στο μέλλον, εφόσον το συγκεκριμένο τεστ βελτιωθεί και ανιχνεύει περισσότερα στελέχη του ιού HPV, θα μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο εργαλείο τόσο στην πρόγνωση, όσο και στη διάγνωση ασθενών με καρκινωματώδεις αλλοιώσεις.

3.17 PapType

Πρόκειται για ένα HPV DNA τεστ που ανιχνεύει με PCR αντίδραση 14 τύπους υψηλού κινδύνου και 2 τύπους χαμηλού κινδύνου. Μία μελέτη στην Αυστραλία (*Tabrizi et al., Comparison of PapType to Digene Hybrid Capture 2, Roche linear array, and AmpliCor for detection of high-risk human papillomavirus genotypes in women with previous abnormal pap smears. J ClinMicrobiol. 2012 Aug;50(8):2796-8.*) σύγκρινε το συγκεκριμένο τεστ με άλλα τρία ευρέως χρησιμοποιούμενα τεστ για την ανίχνευση του HPV (hc2, AmpliCor και LA). Μελετήθηκαν 884 γυναίκες που είχαν παράλληλα και αποτέλεσμα κυτταρολογικής εξέτασης. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε ότι το PapType ανίχνευσε HPV υψηλού κινδύνου σε ποσοστό 73% του συνόλου των περιπτώσεων, ενώ τα HC2, AmpliCor και LA τεστ ανίχνευαν την παρουσία υψηλού κινδύνου του HPV ιού σε ποσοστά 65,2%, 75,5% και 74,1% αντίστοιχα.

Σε ό,τι αφορά στην παρουσία ή μη κάποιου HPV τύπου υψηλού κινδύνου, η συμφωνία κυμαίνονταν σε ποσοστό 84,5% μεταξύ του PapType τεστ και της hc2 μεθόδου. Σε πολύ καλά επίπεδα κυμαίνονταν επίσης και η συμφωνία των αποτελεσμάτων μεταξύ του PapType και του AmpliCor τεστ (94,6%) καθώς επίσης και του όπως και PapType τεστ και της LA (95,9%). Όταν στη σύγκριση των αποτελεσμάτων προστέθηκε και το αποτέλεσμα της κυτταρολογικής εξέτασης, στις γυναίκες με CIN2+ αλλοιώσεις, το PapType

τεστ είχε ευαισθησία 90,3% και ειδικότητα 52,5% για την ανίχνευση τύπων υψηλού κινδύνου σε CIN2+ περιπτώσεις, ποσοστά ανάλογα με τα άλλα τεστ εκτός από το hc2 το οποίο παρουσίασε τη χαμηλότερη ευαισθησία (79,8%). Οι παρακάτω πίνακες παρουσιάζουν τις συσχετίσεις μεταξύ των hc2, Amplicor, PapType και LA τεστ στην ανίχνευση του HPV ιού, καθώς και την ευαισθησία και ειδικότητα σε σχέση με την ιστολογική διάγνωση (Πίνακες 54,55).

TABLE 1 Concordance between HPV risk types detected using PapType, Amp, and LA HPV tests^{ae}

HR HPV result	No. (%) of specimens by PT		% absolute agreement (95% CI)	Kappa value
	HR HPV/positive	LR HPV/negative		
HC2			84.5 (82.5–86.5)	0.638
Positive	544	36 ^b		
Negative	101 ^c	203 ^d		
Amp			94.6 (93.3–95.8)	0.855
Positive	632	35 ^e		
Negative	13 ^f	204 ^g		
LA			95.9 (94.8–97.0)	0.895
HR	632	23 ^h		
LR/negative	13 ⁱ	216 ^{j,k}		
Total	645 (73.0)	239 (27.0)		

^a PT, PapType; HC2, Hybrid Capture 2; Amp, Amplicor; LA, Linear Array; HR, high risk; LR, low risk; 95% CI, 95% confidence intervals; HR HPV positive, presence of ≥ 1 of the 13 HR HPV types (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68). Agreement between tests was assessed by Cohen's kappa statistic.

^b Includes 11 PT-LR/HC2-pos (1 HPV-6, 10 HPV-66) types.

^c Includes 26 multiple types; 23 HPV-16, 11 HPV-31, and 10 HPV-18 types; and other HR types.

^d Includes 13 PT-LR/HC2-neg (6 HPV-66, 3 HPV-6, 4 HPV-11) types.

^e Includes 10 PT-LR/AMP+ (8 HPV-66, 2 HPV-6) types.

^f Includes 13 PT-LR/AMP-neg (3 HPV-52, 2 HPV-16, 2 HPV-45, 2 HPV-68, 1 HPV-18, 1 HPV-31, 1 HPV-51, 1 HPV-51/56) types.

^g Includes 14 PT-LR/AMP-neg (8 HPV-66, 4 HPV-11, 2 HPV-6) types.

^h Includes 6 PT-LR/LA+ (1 HPV-6/51 [LA] versus HPV-6 [PT], 5 multiple HR-HPV [LA] versus HPV-66 [PT]) and 17 PT-Neg/LA-HR (4 HPV-51, 3 HPV-16, 3 HPV-59, 2 HPV-52, 1 HPV-31, 1 HPV-39, 1 HPV-58, 1 HPV-18/51, 1 HPV-51/58).

ⁱ Includes 1 PT-LR (HPV-16)/LA-LR (HPV-6) and 12 PT-LR/LA-Neg (4 HPV-16, 2 HPV-31, 2 HPV-68, 1 HPV-18, 1 HPV-45, 1 HPV-51, 1 HPV-52).

^j Includes 12 matches for LR (PT versus LA) (8 HPV-66, 3 HPV-6, and 1 HPV-11) and 4 PT-neg/LA-LR (3 HPV-6, 1 HPV-66).

^k Includes 6 PT-LR/LA-neg (3 HPV-11, 3 HPV-66) and 194 negative matches.

TABLE 2 Correlation between histological diagnosis and the results for high-risk HPV obtained using the PapType, LA, Amp, and HC2 HPV tests^a

HR-HPV result	Histological diagnosis (no. of specimens)						% sensitivity or specificity (95% CI) ^c	Positive or negative predictive value (95% CI) ^c
	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer ^b	≥CIN2		
PT+	64	106	168	289	18	475	90.3 (88.4–92.3)	73.6 (70.7–76.5)
PT–	104	84	34	17	0	51	52.5 (49.2–55.8)	78.7 (76.0–81.4)
HC2+	59	101	147	259	14	420	79.8 (77.2–82.5)	72.4 (69.5–75.4)
HC2–	109	89	55	47	4	106	55.3 (52.0–58.6)	65.1 (62.0–68.3)
Amp+	65	116	175	293	18	486	92.4 (90.6–94.1)	72.9 (69.9–75.8)
Amp–	103	74	27	13	0	40	49.4 (46.1–52.7)	81.6 (79.0–84.1)
LA+	63	110	174	290	18	482	91.6 (89.8–93.5)	73.6 (70.7–76.5)
LA–	105	80	28	16	0	44	51.7 (48.4–55.0)	80.8 (78.2–83.4)
Total	168	190	202	306	18	526		

^a PT, PapType; HC2, Hybrid Capture 2; AMP, Amplicor; LA, Linear Array; 95% CI, 95% confidence intervals; HR HPV positive, presence of ≥1 of the 13 HR HPV types.

^b Cancer includes both adenocarcinoma *in situ* and squamous cell carcinoma.

^c Sensitivity and specificity were determined by comparison of detection of >CIN2 to detection of high-risk HPV on PapType, HC2, and LA HPV tests.

Πίνακας 52: Σύγκριση Amplicor, PapType, LA και Hybrid Capture II

Η μελέτη αυτή ανέδειξε την αποτελεσματικότητα του PapType τεστ στην ανίχνευση υψηλού κινδύνου HPV τύπων σε περιπτώσεις με CIN2+ αλλοιώσεις ιστολογικά και τη συγκριτική του υπεροχή έναντι του hc2.

4 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

- Alaghehbandan R, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, Lear A, Coutlee F, Ratnam S. Performance of ProEx C and PreTect HPV-Proofer E6/E7 mRNA tests in comparison with the hybrid capture 2 HPV DNA test for triaging ASCUS and LSIL cytology. *DiagnCytopathol.* 2013 Sep;41(9):767-75.
- Alberizzi P, Spinillo A, Gardella B, Cesari S, Silini EM. Evaluation of the HPV typing INNO-LiPA EXTRA assay on formalin-fixed paraffin-embedded cervical biopsy samples. *J ClinVirol.* 2014 Dec;61(4):535-9.
- Alameda F, Garrote L, Mojal S, Sousa C, Muset M, Lloveras B, Bellosillo B, Saldanha C, Carreras R, Serrano S. Cervista HPV HR test for cervical cancer screening: a comparative study in the Catalanian population. *Arch Pathol Lab Med.* 2015 Feb;139(2):241-4.
- Boehmer G, Wang L, Iftner A, Holz B, Haedicke J, von Wasielewski R, Martus P, Iftner T. A population-based observational study comparing Cervista and Hybrid Capture 2 methods: improved relative specificity of the Cervista assay by increasing its cut-off. *BMC Infect Dis.* 2014 Dec 9;14:674.
- Binnicker MJ, Pritt BS, Duresko BJ, Espy MJ, Grys TE, Zarka MA, Kerr SE, Henry MR. Comparative evaluation of three commercial systems for detection of high-risk human papillomavirus in cervical and vaginal ThinPrep PreservCyt samples and correlation with biopsy results. *J ClinMicrobiol.* 2014 Oct;52(10):3763-8.
- Basu P, Banerjee D, Mittal S, Dutta S, Ghosh I, Chowdhury N, Abraham P, Chandna P, Ratnam S. Sensitivity of APTIMA HPV E6/E7 mRNA test in comparison with hybrid capture 2 HPV DNA test for detection of high risk oncogenic human papillomavirus in 396 biopsy confirmed cervical cancers. *J Med Virol.* 2016 Jul;88(7):1271-8.
- Castle PE, Smith KM, Davis TE, Schmeler KM, Ferris DG, Savage AH, Gray JE, Stoler MH, Wright TC Jr, Ferenczy A, Einstein MH. Reliability of the Xpert HPV assay to detect high-risk human papillomavirus DNA in a colposcopy referral population. *Am J ClinPathol.* 2015 Jan;143(1):126-33.
- Crosbie EJ, Bailey A, Sargent A, Gilham C, Peto J, Kitchener HC. The PapilloCheck Assay for Detection of High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia. *J ClinMicrobiol.* 2015 Nov;53(11):3553-9. doi: 10.1128/JCM.01578-15. Epub 2015 Sep 2.
- Ejegod D, Bottari F, Pedersen H, Sandri MT, Bonde J. The BD Onclarity HPV assay on SurePath collected samples meets the International Guidelines for Human Papillomavirus Test Requirements for Cervical Screening. *J ClinMicrobiol.* 2016 Jun 15. pii: JCM.00508-16.
- Ejegod D, Rebolj M, Bonde J. Comparison of analytical and clinical performance of CLART HPV2 genotyping assay to Linear Array and Hybrid Capture 2: a split-sample study. *BMC Cancer.* 2015 Apr 2;15:216.
- Geraets DT, Struijk L, Kleter B, Molijn A, van Doorn LJ, Quint WG, Colau B. The original SPF10 LiPA25 algorithm is more sensitive and suitable for

epidemiologic HPV research than the SPF10 INNO-LiPA Extra. *J Virol Methods*. 2015 Apr;215-216:22-9.

- Guo M, Khanna A, Feng J, Patel S, Zhang W, Gong Y, Huo L, Staerkel G. Analytical performance of cervista HPV 16/18 in SurePath pap specimens. *Diagn Cytopathol*. 2015 Apr;43(4):301-6.
- Halfon P, Benmoura D, Agostini A, Khiri H, Martineau A, Penaranda G, Blanc B. Relevance of HPV mRNA detection in a population of ASCUS plus women using the NucliSENSEasyQ HPV assay. *J Clin Virol*. 2010 Feb;47(2):177-81.
- Herraiez-Hernandez E, Preda O, Alonso S, Pardo RS, Olmo A. Detection and Genotyping of Human Papillomavirus DNA in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Specimens with the HPV Direct Flow CHIP System. *Open Virol J*. 2013 Oct 18;7:91-5.
- Herraiez-Hernandez E, Alvarez-Perez M, Navarro-Bustos G, Esquivias J, Alonso S, Aneiros-Fernandez J, Lacruz-Pelea C, Sanchez-Aguera M, Santamaria JS, de Antonio JC, Rodriguez-Peralto JL. HPV Direct Flow CHIP: a new human papillomavirus genotyping method based on direct PCR from crude-cell extracts. *J Virol Methods*. 2013 Oct;193(1):9-17.
- Haedicke J, Iftner T A review of the clinical performance of the Aptima HPV assay. *J Clin Virol*. 2016 Mar;76Suppl 1:S40-8.
- Keegan H, Mc Inerney J, Pilkington L, Grønn P, Silva I, Karlsen F, Bolger N, Logan C, Furuberg L, O'Leary J, Martin C. Comparison of HPV detection technologies: Hybrid capture 2, PreTect HPV-Proofer and analysis of HPV DNA viral load in HPV16, HPV18 and HPV33 E6/E7 mRNA positive specimens. *J Virol Methods*. 2009 Jan;155(1):61-6. doi: 10.1016/j.jviromet.2008.09.027. Epub 2008 Nov 13.
- Ki EY, Kim HE, Choi YJ, Park JS, Kang CS, Lee A. Comparison of the Cobas 4800 HPV test and the Seeplex HPV4A ACE with the hybrid capture 2 test. *Int J Med Sci*. 2013;10(2):119-23. doi: 10.7150/ijms.5460. Epub 2012 Dec 30.
- Kwon MJ, Roh KH, Park H, Woo HY. Comparison of the Anyplex II HPV28 assay with the Hybrid Capture 2 assay for the detection of HPV infection. *J Clin Virol*. 2014 Apr;59(4):246-9.
- Latsuzbaia A, Tapp J, Nguyen T, Fischer M, Arbyn M, Weyers S, Mossong J. Analytical performance evaluation of Anyplex II HPV28 and Euroarray HPV for genotyping of cervical samples.
- López Rivera MG, Flores MO, VillalbaMagdaleno JD, Sánchez Monroy V. Prevalence of human papillomavirus in women from Mexico City. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2012; 2012:384758.
- Lapierre SG, Sauthier P, Mayrand MH, Dufresne S, Petignat P, Provencher D, Drouin P, Gauthier P, Dupuis MJ, Michon B, Ouellet S, Hadjeres R, Ferenczy A, Franco EL, Coutlée F. Human papillomavirus (HPV) DNA triage of women with atypical squamous cells of undetermined significance with cobas 4800 HPV and Hybrid Capture 2 tests for detection of high-grade lesions of the uterine cervix. *J Clin Microbiol*. 2012 Apr;50(4):1240-4.

- Levi AW, Bernstein JI, Hui P, Duch K, Schofield K, Chhieng DC. A Comparison of the Roche Cobas HPV Test With the Hybrid Capture 2 Test for the Detection of High-Risk Human Papillomavirus Genotypes. *Arch Pathol Lab Med.* 2016 Feb;140(2):153-7.
- Lindemann ML, Dominguez MJ, de Antonio JC, Sandri MT, Tricca A, Sideri M, Khiri H, Ravet S, Boyle S, Aldrich C, Halfon P. Analytical comparison of the cobas HPV Test with Hybrid Capture 2 for the detection of high-risk HPV genotypes. *J Mol Diagn.* 2012 Jan;14(1):65-70.
- Maia LB, Marinho LC, Bocca AL, Cavalcante Neto FF, Velasco LF, Costa PG, Carneiro FP, Oliveira PG. Hybrid capture II and PapilloCheck® tests for detection of anal high-risk human papillomavirus. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2014 Mar-Apr;47(2):227-30.
- Martínez SB, Palomares JC, Artura A, Parra M, Cabezas JL, Romo JM, Martín-Mazuelos E. Comparison of the Cobas 4800 Human Papillomavirus test against a combination of the AmpliCor Human Papillomavirus and the Linear Array tests for detection of HPV types 16 and 18 in cervical samples. *J Virol Methods.* 2012 Mar;180(1-2):7-10.
- Munkhdelger J, Choi Y, Lee D, Kim S, Kim G, Park S, Choi E, Jin H, Jeon BY, Lee H, Park KH. Comparison of the performance of the NucliSENS EasyQ HPV E6/E7 mRNA assay and HPV DNA chip for testing squamous cell lesions of the uterine cervix. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014 Aug;79(4):422-7.
- Pista A, Verdasca N, Oliveira A. Clinical performance of the CLART human papillomavirus 2 assay compared with the hybrid capture2 test. *J Med Virol.* 2011 Feb;83(2):272-6.
- Poljak M, Kovanda A, Kocjan BJ, Seme K, Jancar N, Vrtacnik-Bokal E. The Abbott RealTime High Risk HPV test: comparative evaluation of analytical specificity and clinical sensitivity for cervical carcinoma and CIN 3 lesions with the Hybrid Capture 2 HPV DNA test. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2009 Sep;18(3):94-103, *J Clin Virol.* 2012 Feb;53(2):121-4.
- Poljak M, Oštrbenk A, Seme K, Šterbenc A, Jančar N, Vrtačnik Bokal E. Three-year longitudinal data on the clinical performance of the Abbott RealTime High Risk HPV test in a cervical cancer screening setting. *Clin Virol.* 2016 Mar;76 Suppl 1:S29-39.
- Preisler S, Rebolj M, Ejegod DM, Lynge E, Rygaard C, Bonde J. Cross-reactivity profiles of hybrid capture II, cobas, and APTIMA human papillomavirus assays: split-sample study. *BMC Cancer.* 2016 Jul 20;16(1):510.
- Pyne MT, Law C, Hillyard DR, Schlaberg R. Testing and genotyping of high-risk human papillomavirus by the cobas HPV Test and the Hybrid Capture 2 high-risk HPV DNA test using cervical and vaginal samples. *J Clin Microbiol.* 2014 May;52(5):1720-3.
- Rabaan AA, Taylor DR, Dawamneh MF, Al-Tawfiq JA. Comparison of Xpert® HPV and Hybrid Capture® 2 DNA Test™ for detection of high-risk HPV infection in cervical atypical squamous cells of

undetermined significance. *J Infect Public Health*. 2016 Jun 21. pii: S1876-0341(16)30065-X.

- Rao A, Sandri MT, Sideri M, Young S, Sharma A, Behrens C. Comparison of hybrid capture 2 High-Risk HPV results in the low positive range with cobas® HPV Test results from the ATHENA study. *J Clin Virol*. 2013 Sep;58(1):161-7.
- Sandri MT, Lentati P, Benini E, Dell'Orto P, Zorzino L, Carozzi FM, Maisonneuve P, Passerini R, Salvatici M, Casadio C, Boveri S, Sideri M. Comparison of the Digene HC2 assay and the Roche AMPLICOR human papillomavirus (HPV) test for detection of high-risk HPV genotypes in cervical samples. *J Clin Microbiol*. 2006 Jun;44(6):2141-6.
- Schiffman M, Boyle S, Raine-Bennett T, Katki HA, Gage JC, Wentzensen N, Kornegay JR, Apple R, Aldrich C, Erlich HA, Tam T, Befano B, Burk RD, Castle P. The Role of Human Papillomavirus Genotyping in Cervical Cancer Screening: A Large-Scale Evaluation of the cobas HPV Test. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2015 Sep;24(9):1304-10.
- Tabrizi SN, Stevens MP, Khan ZA, Chow C, Devitt MA, Garland SM. Comparison of PapType to Digene Hybrid Capture 2, Roche linear array, and Amplicor for detection of high-risk human papillomavirus genotypes in women with previous abnormal pap smears. *J Clin Microbiol*. 2012 Aug;50(8):2796-8.
- Vieira L, Almeida A. The cytology and DNA detection by the PapilloCheck(®) test in the diagnosis of human papillomavirus infection. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*. 2013 Mar;3(1):61-7.
- Venturoli S, Leo E, Nocera M, Barbieri D, Cricca M, Costa S, Santini D, Zerbini M. Comparison of Abbott RealTime High Risk HPV and Hybrid Capture 2 for the detection of high-risk HPV DNA in a referral population setting. *J Clin Virol*. 2012 Feb;53(2):121-4.
- Wright TC Jr, Stoler MH, Agreda PM, Beitman GH, Gutierrez EC, Harris JM, Koch KR, Kuebler M, LaViers WD, Legendre BL Jr, Leitch SV, Maus CE, McMillian RA, Nussbaumer WA, Palmer ML, Porter MJ, Richart GA, Schwab RJ, Vaughan LM. Clinical performance of the BD Onclarity HPV assay using an adjudicated cohort of BD SurePath liquid-based cytology specimens. *Am J Clin Pathol*. 2014 Jul;142(1):43-50.
- Wong OG, Lo CK, Chow JN, Tsun OK, Szeto E, Liu SS, Ngan HY, Cheung AN. Comparison of the GenoFlow human papillomavirus (HPV) test and the Linear Array assay for HPV screening in an Asian population. *J Clin Microbiol*. 2012 May;50(5):1691-7.
- Youssef MA, Abdelsalam L, Harfoush RA, Talaat IM, Elkattan E, Mohey A, Abdella RM, Farhan MS, Foad HA, Elsayed AM, Elkinaai NA, Ghaith D, Rashed ME, Ghafar MA, Khamis Y, Hosni AN. Prevalence of human papilloma virus (HPV) and its genotypes in cervical specimens of Egyptian women by linear array HPV genotyping test. *Infect Agent Cancer*. 2016 Feb 17;11:6.

