

# Aptima™ HPV 16 18/45 Genotype Assay (Panther™ System)

Návod k použití  
Pro diagnostické použití *in vitro*  
Pouze pro export z USA

<b>Obecné informace</b> .....	<b>2</b>
Určené použití .....	2
Shrnutí a vysvětlení testu .....	2
Principy postupu .....	3
Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci .....	3
Varování a bezpečnostní opatření .....	4
Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi .....	6
Odběr a skladování vzorků .....	6
<b>Systém Panther</b> .....	<b>8</b>
Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky .....	8
Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně .....	10
Postup testu na systému Panther .....	11
Poznámky k postupu .....	13
<b>Postupy kontroly kvality</b> .....	<b>14</b>
<b>Interpretace testu</b> .....	<b>16</b>
<b>Omezení</b> .....	<b>17</b>
<b>Očekávané výsledky na systému Panther: Prevalence mRNA vysoce rizikových typů HPV</b> .....	<b>18</b>
<b>Výsledky testování na systému Panther</b> .....	<b>19</b>
<b>Literatura</b> .....	<b>49</b>
<b>Kontaktní informace a historie revizí</b> .....	<b>50</b>

## Obecné informace

### Určené použití

Aptima™ HPV 16 18/45 Genotype Assay je amplifikační test nukleových kyselin pro *in vitro* kvalitativní detekci E6/E7 virové messengerové RNA (mRNA) lidského papilomaviru (HPV) 16, 18 a 45 v cervikálních vzorcích od žen s pozitivními výsledky testu Aptima HPV Assay. Test Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay dokáže rozlišit HPV 16 od HPV 18 nebo HPV 45, ale nedokáže rozlišit mezi HPV 18 a HPV 45.

Test Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay lze použít k testování následujících typů vzorků na systému Panther: cervikální vzorky odebrané do lahviček ThinPrep™ Pap Test s roztokem PreservCyt™ před nebo po zpracování Pap, cervikální vzorky odebrané pomocí sady pro odběr a přepravu Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit, nebo cervikální vzorky uchovávané v ochranné tekutině SurePath Preservative Fluid.

Test Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay je určen k použití při rutinním screeningu na karcinom děložního čípku. Ženy, kterým vyjde pozitivní nebo negativní výsledek na typy HPV 16, 18 nebo 45, mají být protříděny a následně sledovány s ohledem na zdravotnické předpisy, vyhodnocení screeningu poskytovatele zdravotní péče, zdravotní anamnézu a další rizikové faktory tak, aby bylo stanoveno riziko cervikální dysplazie a karcinomu.

### Shrnutí a vysvětlení testu

Rakovina děložního čípku je jedno z nejčastějších nádorových onemocnění žen na světě. HPV je etiologickým původcem odpovědným za více než 99 % všech případů rakoviny děložního čípku.<sup>1,2,3</sup> HPV je častý sexuálně přenosný DNA virus zahrnující více než 100 genotypů.<sup>1</sup>

Virový genom HPV tvoří dvouvláknová kruhová DNA o délce přibližně 7900 párů bází. Genom má osm překrývajících se otevřených čtecích rámců. Existuje zde šest časných (E) genů, dva pozdní geny (L), a jedna nekódující kontrolní oblast bez translace. Geny L1 a L2 kódují hlavní a vedlejší kapsidové proteiny. Časné geny HPV regulují replikaci viru. Geny E6 a E7 vysoce rizikového HPV genotypu jsou známými onkogeny. Proteiny exprimované z polycistronické mRNA genů E6/E7 pozměňují buněčné funkce p53 a retinoblastomového proteinu, což vede k narušení kontrolních bodů buněčného cyklu a k nestabilitě buněčného genomu.<sup>1,4</sup>

Za patogenní nebo vysoce rizikové pro progresi onemocnění děložního čípku se považuje čtrnáct HPV genotypů.<sup>5</sup> Spojitost genotypů 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68 s progresí onemocnění prokázaly četné studie.<sup>2,6,7</sup> Ženy s přetrvávající infekcí jedním z těchto typů mají zvýšené riziko rozvoje těžké cervikální dysplazie nebo karcinomu děložního čípku.<sup>5,8</sup>

Studie ukázaly, že různé typy vysoce rizikových HPV vytvářejí různé úrovně rizika rozvoje těžké dysplazie nebo rakoviny děložního čípku. HPV typy 16, 18 a 45 jsou celosvětově zodpovědné za přibližně 80 % všech invazivních karcinomů děložního čípku.<sup>7,10</sup> Tyto tři typy nacházíme u 75 % všech dlaždicových karcinomů, 85 % většinu tvoří infekce typem 16. U adenokarcinomů se typy 16, 18 a 45 HPV vyskytují v 80–94 % případů, přičemž typy 18 a 45 tvoří téměř polovinu těchto infekcí.<sup>7,10</sup> Uvádí se, že přítomnost typu 18 HPV v časném stadiu karcinomu děložního čípku je spojena se špatnou prognózou.<sup>11</sup> Typy 18 a 45 HPV jsou u prekancerózních lézí hlášeny v nedostatečné míře, což může být způsobeno přítomností okultních lézí v cervikálním kanálu nepřístupných kolposkopickému vyšetření.<sup>12</sup> U žen infikovaných typy 16 a/nebo 18 HPV je kumulativní riziko onemocnění děložního čípku 10krát vyšší v porovnání k riziku rozvoje onemocnění kvůli jiným vysoce rizikovým typům.<sup>13,14,15</sup>

## Principy postupu

Test Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay zahrnuje tři hlavní kroky, které se provádějí v jedné zkumavce: záchyt cíle; amplifikace cíle pomocí transkripční mediované amplifikace (Transcription-Mediated Amplification – TMA);<sup>16</sup> a detekce produktů amplifikace (amplikonu) pomocí testu hybridizační ochrany (Hybridization Protection Assay – HPA).<sup>17</sup> Test zahrnuje vnitřní kontrolu, která monitoruje zachycení nukleové kyseliny, amplifikaci a detekci a rovněž chyby operátora nebo přístroje.

Vzorky se odebírají nebo jsou přeneseny do zkumavky obsahující transportní roztok (Specimen Transport Media – STM), který lyzuje buňky, uvolňuje mRNA a v průběhu uchování ji chrání před degradací. Když se provádí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, cílová mRNA je ze vzorku izolována pomocí záchytových oligomerů, které jsou vázány na magnetické mikročástice. Záchytové oligomery obsahují sekvence, které jsou komplementární ke specifickým oblastem HPV mRNA cílových molekul, stejně jako řetězec deoxyadenosinových zbytků. Během hybridizačního kroku se sekvencně specifické oblasti záchytových oligomerů váží na specifické oblasti cílové molekuly HPV mRNA. Komplex záchytového oligomeru a cíle je poté vychytáván z roztoku snížením teploty reakce na pokojovou teplotu. Díky tomuto snížení teploty může proběhnout hybridizace mezi deoxyadenosinovou oblastí záchytového oligomeru a polydeoxythymidinovými molekulami, které jsou kovalentně navázané na magnetické částice. Mikročástice, a to včetně zachycených cílových molekul HPV mRNA, které jsou na ně navázané, jsou pomocí magnetů zataženy ke straně reakční zkumavky a supernatant se odsaje. Částice se promyjí, aby se odstranila zbývající matrix vzorku, která může obsahovat inhibitory amplifikace.

Po dokončení zachycení cíle je HPV mRNA amplifikována pomocí TMA, což je metoda amplifikace nukleové kyseliny založená na transkripci, která využívá dva enzymy, reverzní transkriptázu MMLV a polymerázu T7 RNA. Reverzní transkriptáza vytváří kopii DNA z cílové sekvence mRNA, která obsahuje promotorovou sekvenci pro RNA-polymerázu T7. RNA polymeráza T7 vytváří vícečetné kopie amplikonu RNA z templátu kopie DNA.

Detekce amplikonu je dosaženo metodou HPA využívající jednořetězcové sondy nukleové kyseliny s chemiluminiscenčními značkami, které jsou komplementární k amplikonu. Značené sondy nukleové kyseliny hybridizují specificky s amplikonem. Selektivní reagencie rozlišuje hybridizované sondy od nehybridizovaných deaktivací značení na nehybridizovaných sondách. Během detekčního kroku je světlo vyzařované ze značených hybridů RNA-DNA měřeno jako fotonové signály v luminometru a intenzita je označována jako relativní světelné jednotky (Relative Light Units - RLU). Konečné výsledky testu jsou interpretovány na základě poměru signálu analytu k hodnotě cut-off (S/CO).

Ke každé reakci se prostřednictvím reagencie pro záchyt cíle (Target Capture Reagent - TCR) přidává vnitřní kontrola. Ta monitoruje technologii záchytu cíle, amplifikaci a detekční kroky testu. Dvojitá kinetická analýza (Dual Kinetic Assay – DKA) je metoda používaná k rozlišení HPV signálů a signálu vnitřní kontroly.<sup>18</sup> Vnitřní kontrola a HPV 16 amplikon jsou detekovány sondami s rychlou kinetikou emise světla (flasher). Signál vnitřní kontroly v každé reakci je rozlišován od signálu HPV 16 pomocí velikosti signálu vyzařování světla. Amplikony specifické pro HPV 18 a 45 jsou detekovány pomocí sond s relativně pomalejší kinetikou emise světla (glower).

## Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci (Summary of Safety and Performance – SSP) je k dispozici v evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen s příslušnými identifikátory prostředku (Basic UDI-DI). Chcete-li najít souhrn SSP pro test Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, hledejte jej podle základního jedinečného identifikátoru prostředku (Basic Unique Device Identifier – BUDI): **54200455DIAGAPTHPVGTVK**.

## Varování a bezpečnostní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*.
- B. Pro profesionální použití.
- C. Další specifická varování a bezpečnostní opatření v souvislosti s přístrojovým vybavením jsou uvedena v *příručce obsluhy systému Panther System / Panther Fusion System*.

## Související s laboratoří

- D. Používejte pouze dodané nebo určené jednorázové laboratorní vybavení.
- E. Dodržujte běžná laboratorní bezpečnostní opatření. V laboratoři nejezte, nepijte ani nekuřte. Při manipulaci se vzorky a reagensy soupravy používejte jednorázové rukavice bez talku, ochranné brýle a laboratorní plášť. Po manipulaci se vzorky a reagensy soupravy si pečlivě omyjte ruce.
- F. **Varování: Dráždivé látky a žiraviny:** Zamezte styku reagentie Auto Detect 2 s kůží, očima a sliznicemi. Pokud se tato kapalina dostane do styku s kůží nebo očima, omyjte postiženou oblast vodou. Dojde-li k rozlití této kapaliny, zředte rozlitou kapalinu vodou a pak ji vytřete dosucha.
- G. Pracovní povrchy, pipety a jiné vybavení musí být pravidelně dekontaminováno pomocí 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztoku chlornanu sodného. Další informace naleznete v oddíle *Postup testu na systému Panther*.

## Související se vzorky


- H. Pro zajištění integrity vzorku udržujte správné teplotní podmínky při přepravě vzorků a skladování. Stabilita vzorku nebyla hodnocena za jiných než doporučených přepravních a skladovacích podmínek.
- I. Exspirace uvedená na soupravách pro odběr/ přenos vzorků a na zkumavkách se týkají místa přenosu a nikoliv testovacího zařízení. Vzorky odebrané/přenesené před těmito daty expirace jsou validní pro testování za předpokladu, že byly přepravovány a skladovány v souladu s příslušnou příbalovou informací, a to i když je po datu této expirace.
- J. Vzorky mohou být infekční. Při provádění tohoto testu dodržujte univerzální bezpečnostní opatření. Je třeba, aby vedoucí laboratoře stanovil správné postupy manipulace s jednorázovým materiálem a postupy jeho likvidace. Tuto proceduru by měl provádět pouze personál adekvátně vyškolený v manipulaci s infekčními materiály.
- K. Při manipulaci se vzorky zabraňte křížové kontaminaci. Zajistěte, aby se jednotlivé nádoby na vzorky vzájemně nedotýkaly, a použité materiály při likvidaci nepřenášejte nad otevřenými nádobami. Pokud se vzorku dotknete, vyměňte si rukavice.
- L. Za určitých podmínek může z propíchnutých uzávěrů zkumavek unikat kapalina. Další informace naleznete v oddíle *Postup testu na systému Panther*.
- M. ThinPrep cytologické vzorky na bázi tekutého média a vzorky odebrané systémem Aptima by měly být odmítnuty jestliže odběrová souprava byla ponechána ve zkumavce.
- N. SurePath cytologické vzorky na bázi tekutého média by měly být odmítnuty, jestliže v lahvičce není přítomna odběrová souprava.

## Související s testem

- O. Reagentie skladujte při uvedených teplotách. Provedení testu může být ovlivněno použitím nesprávně skladovaných reagentií.
- P. Zabraňte mikrobiální a ribonukleázové kontaminaci reagentií.

- Q. Nepoužívejte soupravu poté, co uplynula její doba použitelnosti.
- R. Nezaměňujte, nemíchejte ani nekombinujte reagentie testu nebo kalibrátory souprav s různými čísly šarží.
- S. Roztoky testu Aptima a reagentie Auto Detect nejsou součástí hlavní šarže. Může být použita kterákoli šarže.
- T. Důkladné promísení reagentií je nezbytné pro dosažení přesných výsledků testu.
- U. Je nutné používat špičky s hydrofobními zátkami.
- V. Některé reagentie v této sadě jsou označeny rizikovými a bezpečnostními symboly.

**Poznámka:** Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikacemi bezpečnostních listů (SDS) EU. Informace o nebezpečích specifické pro váš region naleznete v bezpečnostním listu specifickém pro daný region v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na adrese [www.hologic.com](http://www.hologic.com). Další informace o symbolech naleznete v legendě symbolů na [www.hologic.com/package-inserts](http://www.hologic.com/package-inserts).

<b>Informace o nebezpečí pro EU</b>	
	<p><b>Selekční reagentie</b>  <b>KYSELINA BOROVIČNÁ 1–5%</b></p> <p><b>VAROVÁNÍ</b>  H315 – Dráždí kůži</p>
–	<p><b>Reagentie pro zachycení cíle</b>  <b>HEPES 5 – 10%</b>  <b>EDTA 1–5%</b>  <b>HYDROXID LITHNÝ, MONOHYDRÁT, 1–5%</b></p> <p>–</p> <p>H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky  P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí  P280 – Používejte ochranné brýle/ochranný štít</p>
–	<p><b>Amplifikační reagentie</b>  <b>HEPES 25 – 30%</b></p> <p>–</p> <p>H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky  P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí  P280 – Používejte ochranné brýle/ochranný štít</p>
–	<p><b>Enzymatická reagentie</b>  <b>HEPES 1 – 5%</b></p> <p>–</p> <p>H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky  P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí  P280 – Používejte ochranné brýle/ochranný štít</p>
–	<p><b>Reagentie sondy</b>  <b>LAURYL-SULFÁT, LITHNÁ SŮL 35 – 40%</b>  <b>KYSELINA JANTAROVÁ 10–15%</b>  <b>HYDROXID LITHNÝ, MONOHYDRÁT, 10–15%</b></p> <p>–</p> <p>H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky  P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí  P280 – Používejte ochranné brýle/ochranný štít</p>

## Požadavky na skladování reagensií a zacházení s nimi

Nepoužívejte reagensie po datu expirace uvedeném na lahvíčkách. Další instrukce pro skladování viz níže.

- A. Následující reagensie se po přijetí uchovávají v chladničce při teplotě 2 °C až 8 °C:
- HPV 16 18/45 Amplifikační reagensie
  - HPV 16 18/45 Enzymová reagensie
  - HPV 16 18/45 Reagensie sondy
  - HPV 16 18/45 Reagensie vnitřní kontroly
  - HPV 16 18/45 Pozitivní kalibrátory a HPV 16 18/45 Negativní kalibrátory
- B. Následující reagensie se uchovávají při pokojové teplotě 15 °C až 30 °C:
- HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro amplifikaci
  - HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro enzymy
  - HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro sondy
  - HPV 16 18/45 Reagensie pro záchyt cíle
  - HPV 16 18/45 Selekční reagensie
- C. Po rekonstituci jsou následující reagensie stabilní po dobu 30 dnů, pokud jsou uchovávány při teplotě 2 °C až 8 °C:
- HPV 16 18/45 Amplifikační reagensie
  - HPV 16 18/45 Enzymová reagensie
  - HPV 16 18/45 Reagensie sondy
- D. Pracovní reagensie záchytu cíle (wTCR) je stabilní po dobu 30 dnů, pokud je uchovávána při teplotě 15 °C až 30 °C. Chraňte před chladem.
- E. Jakékoli nepoužité rekonstituované reagensie a wTCR zlikvidujte po 30 dnech nebo po uplynutí data expirace hlavní šarže, podle toho, co nastane dříve.
- F. Reagensie Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay jsou stabilní po úhrnnou dobu 72 hodin, pokud jsou uchovávány uvnitř systému Panther.
- G. Reagensie sondy i rekonstituovaná reagensie sondy jsou fotosenzitivní. Reagensie skladujte tak, aby byly chráněny před světlem.
- H. **Reagensie nezmrazujte.**

## Odběr a skladování vzorků

- A. Odběr a zpracování vzorků

### *ThinPrep cytologické vzorky na bázi tekutého média*

1. Odeberte vzorky z děložního čípku do ThinPrep Pap testovacích lahvíček obsahujících roztok PreservCyt s pomocí odběrového kartáčku typu cytobrush podle pokynů výrobce.
2. Před zpracováním nebo po zpracování pomocí systému ThinPrep 5000 Processor, ThinPrep 5000 Processor se systémem Autoloader nebo ThinPrep Genesis Processor přeneste 1 mL ThinPrep cytologického vzorku na bázi tekutého média do transferové zkumavky na vzorek Aptima podle příslušné příbalové informace soupravy pro přenos vzorků Aptima Specimen Transfer Kit.

*SurePath cytologické vzorky na bázi tekutého média*

1. Odeberte SurePath cytologické vzorky na bázi tekutého média podle návodu k použití k SurePath Pap testu a/nebo k systému PrepStain.
2. Přeneste SurePath cytologický vzorek na bázi tekutého média do transferové zkumavky na vzorek Aptima podle příslušné příbalové informace.

*Vzorky z Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit*

Odeberte vzorky podle návodu na použití příslušné soupravy.

## B. Přeprava a uchovávání před testováním

*ThinPrep cytologické vzorky na bázi tekutého média*

1. ThinPrep cytologické vzorky na bázi tekutého média přepravujte při teplotě 2 °C až 30 °C.
2. Vzorky by měly být přeneseny do transferové zkumavky na vzorek Aptima do 105 dnů od odběru.
3. ThinPrep cytologické vzorky na bázi tekutého média by měly být před přenesením uchovávány při teplotě 2 °C až 30 °C, zároveň ne více než 30 dní při teplotě vyšší než 8 °C.
4. ThinPrep cytologické vzorky na bázi tekutého média přenesené do transferových zkumavek na vzorek Aptima je možné uchovávat při teplotě 2 °C až 30 °C po dobu až 60 dnů.
5. Je-li potřeba delší uchovávání, ThinPrep cytologické vzorky na bázi tekutého média nebo ThinPrep cytologické vzorky na bázi tekutého média ředěné v transferové zkumavce na vzorek je možné uchovávat při teplotě –20 °C až –70 °C po dobu až 24 měsíců.

*SurePath cytologické vzorky na bázi tekutého média*

1. SurePath cytologické vzorky na bázi tekutého média přepravujte při teplotě 2 °C až 25 °C.
2. Vzorky by měly být přeneseny do transferové zkumavky na vzorek Aptima do 7 dnů od odběru.
3. SurePath cytologické vzorky na bázi tekutého média by měly být před přenosem uchovávány při teplotě 2 °C až 25 °C.
4. SurePath cytologické vzorky na bázi tekutého média přenesené do transferových zkumavek na vzorek Aptima je možné uchovávat při teplotě 2 °C až 25 °C po dobu až 7 dnů.
5. Přenesené SurePath cytologické vzorky musí být před testováním Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ošetřeny transferovým roztokem Aptima. Takto ošetřené vzorky je možné před testováním pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay uchovávat při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 17 dnů. Další podrobnosti viz příbalová informace k příslušné soupravě pro přenos vzorků.

*Vzorky z Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit*

1. Vzorky přepravujte a uchovávejte při teplotě 2 °C až 30 °C po dobu až 60 dnů.
2. Je-li potřeba delší uchovávání, je možné vzorky v soupravě pro přenos uchovávat při teplotě –20 °C až –70 °C po dobu až 24 měsíců.

## C. Uchovávání vzorků po testování

1. Otestované vzorky je nutné skladovat ve stojanu ve svislé poloze.
2. Zkumavky se vzorky by měly být zakryty novým čistým plastovým uzávěrem nebo fólií.
3. Pokud je třeba testované vzorky zmrazit nebo přepravovat, odstraňte ze zkumavek propichovací uzávěr a nahraďte ho novým nepropichovacím uzávěrem. Pokud je třeba vzorky odeslat na testování do jiného zařízení, musí být dodržovány specifikované teplotní podmínky. Před otevřením dříve testovaných a znova uzavřených vzorků musí být zkumavky centrifugovány po dobu 5 minut při 420 Relativní odstředivé síly (RCF), aby se veškerá kapalina dostala na dno zkumavky.

**Poznámka:** Vzorky musí být přepravovány v souladu s platnými místními, národními a mezinárodními předpisy dopravy.

## Systém Panther

## Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay**, 100 testů (3 krabice), kat. č. 303236

Kalibrátory lze zakoupit samostatně. Jednotlivá katalogová čísla viz níže.

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay chlazený box**  
(po přijetí skladujte při teplotě 2 až 8 °C)

Symbol	Součást	Množství
A	<b>HPV 16 18/45 Amplifikační reagencie</b> <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
E	<b>HPV 16 18/45 Enzymová reagencie</b> <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza vysušená v roztoku pufovaném HEPES obsahujícím &lt; 10 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
P	<b>HPV 16 18/45 Reagencie sondy</b> <i>Neinfekční chemiluminiscenční DNA sondy (&lt; 500 ng/lahvička) sušené v sukcinátem pufovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % detergentu.</i>	1 lahvička
IC	<b>HPV 16 18/45 Reagencie vnitřní kontroly</b> <i>Neinfekční RNA transkript v pufovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % detergentu.</i>	1 lahvička

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay box s pokojovou teplotou**  
(po přijetí skladujte při teplotě 15 až 30 °C)

Symbol	Součást	Množství
AR	<b>HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro amplifikaci</b> <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 lahvička
ER	<b>HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro enzymy</b> <i>Roztok pufovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 lahvička
PR	<b>HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro sondy</b> <i>Sukcinátem pufovaný roztok obsahující &lt; 5 % detergentu.</i>	1 lahvička
S	<b>HPV 16 18/45 Selekční reagencie</b> <i>600 mmol boritanem pufovaného roztoku obsahujícího surfaktant.</i>	1 lahvička
TCR	<b>HPV 16 18/45 Reagencie pro záchyt cíle</b> <i>Pufovaný roztok obsahující oligomery pevné fáze a záchytové oligomery (&lt; 0,5 mg/mL).</i>	1 lahvička
	<b>Rekonstituční objímky</b>	3
	<b>List s čárovým kódem hlavní šarže</b>	1 list



**Box Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay s kalibrátory (kat. č. 303235)**  
(po přijetí skladujte při teplotě 2 až 8 °C)

Symbol	Součást	Množství
PCAL1	<b>HPV 16 18/45 Pozitivní kalibrátor 1</b> <i>Neinfekční HPV 18 in vitro transkript v koncentraci 750 kopií na ml v pufovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % detergentu.</i>	5 lahviček
PCAL2	<b>HPV 16 18/45 Pozitivní kalibrátor 2</b> <i>Neinfekční HPV 16 in vitro transkript v koncentraci 1000 kopií na ml v pufovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % detergentu.</i>	5 lahviček
NCAL	<b>HPV 16 18/45 Negativní kalibrátor</b> <i>Pufrovaný roztok obsahující &lt; 5 % detergentu.</i>	5 lahviček

**Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně**

**Poznámka:** Materiály dostupné od společnosti Hologic mají uvedena katalogová čísla dle seznamu, pokud není uvedeno jinak.

	<b>Kat. č.</b>
Systém Panther	303095
Souprava pro běhy Panther Run Kit	303096
<i>Souprava kapalin pro test Aptima Assay Fluids Kit (promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivaci kapaliny a olejová reagentie Aptima)</i>	303014
<i>Autodetekční souprava Aptima Auto Detect Kit</i>	303013
<i>Jednotky s více zkumavkami (MTU)</i>	104772-02
<i>Souprava pytle na odpad Panther</i>	902731
<i>Kryt odpadního koše Panther</i>	504405
Špičky, 1 000 µl s filtrem, vodivé, detekující kapaliny a jednorázové.	901121 (10612513 Tecan)
<i>Ne všechny produkty jsou dostupné ve všech regionech. Informace o konkrétním regionu získáte u svého zástupce</i>	903031 (10612513 Tecan)
	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Souprava pro transfer vzorků Aptima Specimen Transfer Kit	301154C
Souprava pro přenos vzorků Aptima Specimen Transfer Kit – potiskovatelná	PRD-05110
Souprava pro odběr a transport cervikálních vzorků Aptima	302657
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní uzávěry pro soupravy 100 testů:	
<i>Rekonstituční roztoky pro amplifikační reagentie a reagentie sondy</i>	CL0041
<i>Rekonstituční roztok pro enzymatickou reagentii</i>	CL0041
<i>TCR a selekční reagentie</i>	501604
Bělidlo, 5% až 8,25% (0,7 mol až 1,16 mol) roztok chlornanu sodného	–
Jednorázové rukavice bez talku	–
Kryty laboratorních stolů s plastovou vrstvou	–
Utěrky neuvolňující vlákna	–
Pipetor	–
Souprava přepravního roztoku Aptima Transfer Solution Kit (pouze pro vzorky SurePath)	303658

**Volitelné materiály**

	<b><u>Kat. č.</u></b>
Bleach Enhancer pro čištění	302101

## Postup testu na systému Panther

**Poznámka:** Další informace o postupu testu na systému Panther naleznete v příručce obsluhy systému Panther / Panther Fusion.

### A. Příprava pracovního prostoru

Očistěte pracovní povrchy, kde budou připravovány reagensie a vzorky. Pracovní povrchy otřete 2,5%–3,5% (0,35M–0,5M) roztokem chlornanu sodného. Nechte chlornan sodný působit na povrchy alespoň 1 minutu a poté je opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte povrchy stolů, na kterých budou připravovány reagensie a vzorky, čistým laboratorním absorpčním ubrusem s gumovou vrstvou.

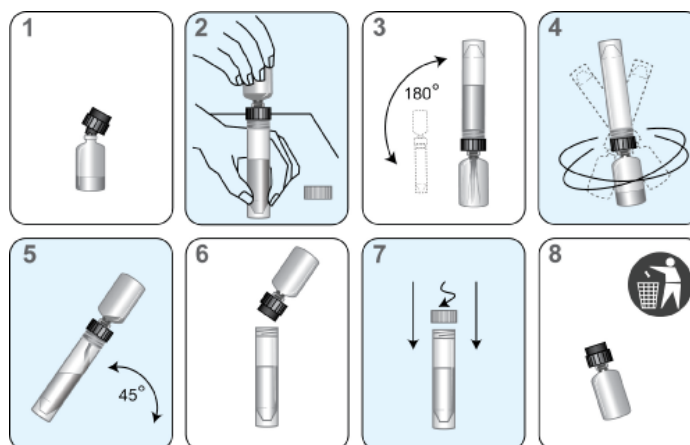
### B. Příprava reagensií nové soupravy

**Poznámka:** Rekonstituce reagensie by měla být provedena před zahájením jakékoli práce na systému Panther.

1. K rekonstituci amplifikační reagensie, enzymové reagensie a reagensie sondy smíchejte obsah lahvičky s lyofilizovanou reagensií s rekonstitučním roztokem. V případě, že rekonstituované roztoky byly uloženy v chladničce, nechte je před použitím dosáhnout pokojové teploty.
  - a. Každý rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lyofilizovanou reagensií. Před připojením rekonstituční objímky se ujistěte, že rekonstituční roztoky a reagensie mají shodné barvy štítků.
  - b. Zkontrolujte čísla šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagensií.
  - c. Otevřete lahvičku s lyofilizovanou reagensií a pevně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky do otvoru lahvičky (Obrázek 1, krok 1).
  - d. Otevřete odpovídající rekonstituční roztok a uzávěr položte na čistý zakrytý pracovní povrch.
  - e. Zatímco lahvičku s roztokem přidržujete na stole, do jejího ústí jemně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky (Obrázek 1, Krok 2).
  - f. Pomalu překlopte spojené lahvičky. Nechte roztok přetéct z lahvičky do skleněné lahvičky (Obrázek 1, krok 3).
  - g. Roztok v lahvičce krouživými pohyby dobře promíchejte. Při promíchávání lahvičky zabraňte tvorbě pěny (Obrázek 1, krok 4).
  - h. Počkejte, až se lyofilizovaná reagensie zcela rozpustí, obraťte spojené lahvičky zpět vzájemným nakloněním pod úhlem 45°, aby nedocházelo k tvorbě pěny (Obrázek 1, krok 5). Nechte veškerou tekutinu vtéci zpět do plastové lahvičky.
  - i. Odstraňte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 1, krok 6).
  - j. Znovu uzavřete plastovou lahvičku uzávěrem. Na štítek запиšte iniciály obsluhy a datum rekonstituce (Obrázek 1, krok 7).
  - k. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (Obrázek 1, Krok 8).

**Varování:** Při rekonstituci reagensií zabraňte tvorbě pěny. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.

**Poznámka:** Před založením do systému lahvičky amplifikační reagensie, enzymové reagensie, reagensie sondy a selekční reagensie jemným převrácením důkladně promíchejte. Při převrácení lahviček s reagensiemi zabraňte tvorbě pěny.



Obrázek 1. Rekonstituce v systému Panther

2. Příprava pracovní reagentie záchytu cíle (wTCR):
  - a. Spárujte odpovídající lahvičky TCR a IC.
  - b. Zkontrolujte čísla šarže reagentií na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagentií v soupravě.
  - c. Otevřete lahvičku TCR a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
  - d. Otevřete lahvičku IC a přelijte veškerý obsah do lahvičky s TCR. Malé množství roztoku zůstane v lahvičce s IC.
  - e. Uzavřete lahvičku s TCR a krouživými pohyby jemně promíchejte její obsah. Při tomto kroku zabraňte tvorbě pěny.
  - f. Na štítek запиšte iniciály obsluhy a aktuální datum.
  - g. Zlikvidujte lahvičku IC a její uzávěr.
  - h. V lahvičce s wTCR mohou vzniknout precipitáty, které mohou způsobit neplatné výsledky kvůli chybám ověření objemu reagentie. Precipitáty mohou být rozpuštěny zahřátím wTCR na teplotu 42 °C – 60 °C po dobu až 90 minut. Před použitím nechte wTCR dosáhnout pokojové teploty. Pokud precipitátů přetrvává, roztok nepoužívejte.
3. Příprava selekční reagentie
  - a. Ověřte čísla šarží reagentií na listu s čárovým kódem hlavní šarže a ujistěte se, že patří k této soupravě.
  - b. Jestliže se v selekční reagentii vytvářejí precipitáty, zahřívějte ji na teplotu 60 °C ± 1 °C po dobu až 45 minut, aby se usnadnilo jejich rozpuštění. Každých 5 – 10 minut lahvičku jemně promíchejte. Před použitím selekční reagentie ji temperujte na pokojovou teplotu. Nepoužívejte ji, jestliže obsahuje zákal nebo precipitáty.

**Poznámka:** Před vložením do systému všechny reagentie pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení lahviček s reagentiemi zabraňte tvorbě pěny.

- C. Příprava dříve rekonstituovaných reagentií
  1. Před zahájením testování musí předem rekonstituované amplifikační reagentie, enzymové reagentie a reagentie sondy dosáhnout pokojové teploty (15 °C až 30 °C).
  2. Jestliže reagentie sondy obsahuje precipitáty, které se nerozpuštějí při pokojové teplotě, tak ji na 1 až 2 minuty zahřejte na teplotu nepřekračující 60 °C. Nepoužívejte ji, jestliže obsahuje zákal nebo precipitáty.

3. Pokud wTCR obsahuje precipitát, ohřejte roztok wTCR na teplotu 42 °C až 60 °C po dobu až 90 minut. Před použitím nechte wTCR dosáhnout pokojové teploty. Pokud precipitátu přetrvává, roztok nepoužívejte.
4. Jestliže se v selekční reagenii vytvářejí precipitáty, zahřívejte ji na teplotu 60 °C ± 1 °C po dobu až 45 minut, aby se usnadnilo jejich rozpuštění. Každých 5 – 10 minut lahvičku jemně promíchejte. Před použitím selekční reagenie ji temperujte na pokojovou teplotu. Nepoužívejte ji, jestliže obsahuje zákal nebo precipitáty.
5. Před založením do systému důkladně jemným převrácením promíchejte lahvičky všech reagenií. Při převrácení lahviček s reageniemi zabraňte tvorbě pěny.
6. Láhve s reageniemi nedoplňujte. Systém Panther rozpozná láhve, které byly doplněny, a zamítne je.

#### D. Manipulace se vzorky

1. Před zpracováním nechte vzorky (kalibrátory, vzorky a všechny vzorky externí kontroly kvality poskytnuté uživatelem) dosáhnout pokojové teploty.
2. **Vzorky nepromíchávejte ve vortexu.**
3. Před vložením do stojanu zkumavky se vzorky zkontrolujte. Jestliže vzorek ve zkumavce obsahuje bubliny nebo je menšího objemu, centrifugujte zkumavku 5 minut při 420 RCF, abyste se ujistili, že v uzávěru nezůstala žádná tekutina.

**Poznámka:** Nedodržení pokynů v Kroku 3 může způsobit únik tekutin z uzávěru zkumavky se vzorkem.

#### E. Příprava systému

Systém sestavte podle pokynů uvedených v příručce obsluhy systému Panther / Panther Fusion a v části Poznámky k metodě níže. Použijte stojany na reagenie vhodné velikosti a TCR adaptéry.

## Poznámky k postupu

### A. Kalibrátory

1. Pro dodržení řádného postupu práce se softwarem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay v systému Panther jsou vyžadovány dva replikáty negativního kalibrátoru a všech pozitivních kalibrátorů. Lahvička každého z kalibrátorů se založí do kterékoli pozice ve stojanu vzorků v systému Panther. Pipetování vzorků bude zahájeno, jakmile bude splněna jedna z následujících dvou podmínek:
  - a. Pozitivní a negativní kalibrátory jsou zapojeny do systému Panther.
  - b. V systému jsou zaregistrovány platné výsledky sady kalibrátorů.
2. Od okamžiku, kdy je napipetován roztok ze zkumavky kalibrátorů a je použit pro specifickou soupravu reagenií, může být prováděno testování vzorků příslušnou soupravou reagenií až po dobu 24 hodin, pokud:
  - a. Kalibrátory nejsou neplatné.
  - b. Příslušná souprava reagenií analýzy není vyjmuta ze systému Panther.
  - c. Uplynula doba stability příslušné soupravy reagenií analýzy.
3. Snaha napipetovat více než 2 replikáty ze zkumavky s kalibrátorem může kvůli nedostatečnému objemu vést k chybám.

### B. Teplota

Pokojová teplota je definována jako 15 až 30 °C.

### C. Prášek z rukavic

Stejně jako u jiných systémů reagenií může nadbytek talku z rukavic způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučujeme používat rukavice bez talku.

## Postupy kontroly kvality

### A. Kritéria platnosti testování

Software automaticky stanoví platnost analýzy. Software určí testování jako neplatné, pokud se vyskytne kterákoli z následujících podmínek:

- Více než jeden neplatný replikát negativního kalibrátoru
- Více než jeden neplatný replikát pozitivního kalibrátoru 1.
- Více než jeden neplatný replikát pozitivního kalibrátoru 2.
- Kombinace více než jednoho neplatného replikátu kalibrátoru z šesti.

Obsluha může zrušit platnost analýzy, pokud jsou při provádění analýzy zjištěny a zdokumentovány technické problémy, problémy na straně obsluhy nebo problémy na straně přístroje.

Neplatný test je nutné zopakovat. Přerušené testování je nutné zopakovat.

### B. Kritéria přijetí kalibrátoru

V tabulce níže jsou definována RLU kritéria přijatelnosti pro replikáty negativních a pozitivních kalibrátorů.

		<b>System Panther</b>
<b>Negativní kalibrátor</b>		
18/45 RLU		$\geq 0$ a $\leq 60\ 000$ RLU
IC/16 RLU		$\geq 75\ 000$ a $\leq 300\ 000$ RLU
<b>Pozitivní kalibrátor 1</b>		
18/45 RLU		$\geq 800\ 000$ a $\leq 2\ 200\ 000$ RLU
IC/16 RLU		$\leq 475\ 000$ RLU
<b>Pozitivní kalibrátor 2</b>		
18/45 RLU		$\leq 115\ 000$ RLU
IC/16 RLU		$\geq 625\ 000$ a $\leq 4\ 000\ 000$ RLU

### C. IC Cut-off

Hodnota IC Cut-off je stanovena z hodnoty počtu signálů analytu IC/16 z platných replikátů negativního kalibrátoru.

$$\text{IC Cut-off} = 0,5 \times [\text{střední hodnota IC/16 RLU platných replikátů negativního kalibrátoru}]$$

### D. Analyt 16 Cut-off

Hodnota cut-off Analytu pro HPV 16 je stanovena z hodnoty počtu signálů IC/16 RLU z platných replikátů negativního kalibrátoru a pozitivního kalibrátoru 2.

$$\text{Analyt 16 Cut-off} = 2 \times [\text{střední hodnota IC/16 RLU platných replikátů negativního kalibrátoru}] + 0,1 \times [\text{střední hodnota IC/16 RLU platných replikátů pozitivního kalibrátoru 2}]$$

### E. Analyt 18/45 Cut-off

Hodnota cut-off analytu pro HPV 18/45 je stanovena z hodnoty počtu signálů 18/45 RLU z platných replikátů negativního kalibrátoru a pozitivního kalibrátoru 1.

$$\text{Analyt 18/45 Cut-off} = 1 \times [\text{střední hodnota 18/45 RLU platných replikátů negativního kalibrátoru}] + 0,18 \times [\text{střední hodnota 18/45 RLU platných replikátů pozitivního kalibrátoru 1}]$$

## F. Signál analytu 16 k hodnotě cut-off (S/CO)

S/CO analytu pro HPV 16 se určí ze signálu IC/16 RLU testovaného vzorku a hodnoty cut-off analytu 16 pro daný běh.

$$S/CO \text{ analytu } 16 = \frac{IC/16 \text{ RLU testovaného vzorku}}{\text{hodnota cut-off analytu } 16}$$

## G. Signál analytu 18/45 k hodnotě cut-off (S/CO)

S/CO analytu pro HPV 18/45 se určí ze signálu 18/45 RLU testovaného vzorku a hodnoty cut-off analytu 18/45 pro daný běh.

$$S/CO \text{ analytu } 18/45 = \frac{18/45 \text{ RLU testovaného vzorku}}{\text{hodnota cut-off analytu } 18/45}$$

## Interpretace testu

Výsledky testu jsou automaticky stanoveny softwarem testu. Výsledkem testu může být negativita pro HPV 16 i pro HPV 18/45, negativita pro HPV 16 a pozitivita pro HPV 18/45, pozitivita pro HPV 16 a negativita pro HPV 18/45, pozitivita pro HPV 16 i pro HPV 18/45, nebo je výsledek neplatný, jak vyplývá z poměru hodnot IC RLU a S/CO poměrů, tak jak popisuje tabulka níže. Výsledky testu mohou být také neplatné, pokud jsou jiné parametry mimo očekávaná rozmezí (např. pro abnormální tvar křivky měření). Neplatné testy by měly být zopakovány.

Vzorky soupravy CSCT mohou být naředěny, aby se zabránilo vlivu potenciálních inhibičních substancí. Naředěte 1 díl neplatného vzorku 8 díly transportního roztoku (roztok v soupravě CSCT zkumavek); např. 560 µl vzorku se naředí do zkumavky soupravy CSCT, která obsahuje 4,5 ml transportního roztoku pro vzorky. Jemným převrácením promíchejte lahvičku se vzorkem; zabraňte tvorbě pěny. Naředěný vzorek otestujte standardním způsobem.

**Poznámka:** Neplatný naředěný vzorek již dále neředte. Pokud i naředěný vzorek vykazuje neplatný výsledek, je třeba od pacienta vyžádat nový vzorek.

Výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	Kritéria
<b>Negativní – 16</b> <b>Negativní – 18/45</b>	$IC/HPV\ 16\ RLU \geq IC\ Cut-off\ a$ $HPV\ 16/\ S/CO < 1,00\ a$ $HPV\ 18/45\ S/CO < 1,00$
<b>Negativní – 16</b> <b>Pozitivní – 18/45</b>	$HPV\ 16/\ S/CO < 1,00\ a$ $HPV\ 18/45\ S/CO \geq 1,00\ a$ $HPV\ 18/45\ RLU \leq 3\ 000\ 000$
<b>Pozitivní – 16</b> <b>Negativní – 18/45</b>	$HPV\ 16/\ S/CO \geq 1,00\ a$ $IC/HPV\ 16\ RLU \leq 4\ 000\ 000\ a$ $HPV\ 18/45\ S/CO < 1,00$
<b>Pozitivní – 16</b> <b>Pozitivní – 18/45</b>	$HPV\ 16/\ S/CO \geq 1,00\ a$ $IC/HPV\ 16\ RLU \leq 4\ 000\ 000\ a$ $HPV\ 18/45\ S/CO \geq 1,00\ a$ $HPV\ 18/45\ RLU \leq 3\ 000\ 000$
<b>Neplatné</b>	$HPV\ 16/\ S/CO < 1,00\ a$ $HPV\ 18/45\ S/CO < 1,00\ a$ $IC/HPV\ 16\ RLU < IC\ Cut-off$ <i>nebo</i> $IC/HPV\ 16\ RLU > 4\ 000\ 000$ <i>nebo</i> $HPV\ 18/45\ RLU > 3\ 000\ 000$



## Omezení

- A. Jiné vzorky než ty, které jsou určeny k použití pro tuto metodu, by neměly být vyhodnocovány.
- B. Průběh testování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay nebyl vyhodnocován pro osoby očkované proti HPV.
- C. Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay nebyl vyhodnocován v případech podezření na sexuální zneužívání.
- D. Prevalence HPV infekce v populaci může ovlivnit výpovědní hodnotu testování. Pozitivní prediktivní hodnota testu klesá při testování populace s malou prevalencí nebo při testování jednotlivců s nulovým rizikem infekce.
- E. ThinPrep cytologické vzorky na bázi tekutého média obsahující méně než 1 ml po přípravě ThinPrep Pap sklíčka jsou pro testování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay nedostatečné.
- F. Výsledky testování mohou být ovlivněny nesprávným odběrem vzorku, uchováváním či manipulací se vzorky.
- G. Vnitřní kontrola monitoruje správnost technologie záchytu cíle, amplifikace a detekčních kroků testování, není určena ke kontrole adekvátnosti odběru vzorků z děložního čípku.
- H. Negativní výsledek Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay nevyklučuje možnost cytologických abnormalit, dosud neodhalených CIN2, CIN3, či jejich rozvoj v budoucnu, ani možnost rakoviny děložního čípku.
- I. Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay poskytuje kvalitativní výsledky. Proto není možná korelace mezi velikostí signálu pozitivního testu a úrovní exprese mRNA ve vzorku.
- J. J.Detekce mRNA vysoce rizikových HPV (typů 16, 18 a 45) je závislá na počtu kopií přítomných ve vzorku a může být ovlivněna metodikou odběru vzorku, stavem pacienta, stadiem infekce a přítomností interferujících látek ve vzorku.
- K. Infekce HPV není ukazatelem přítomnosti HSIL nebo dosud nezjištěných high-grade CIN, ani to neznámá, že se CIN2, CIN3 nebo rakovina vyvine. U většiny žen infikovaných jedním nebo více typy vysoce rizikového HPV se nevyvinou změny ve smyslu CIN2, CIN3 ani rakoviny.
- L. Následující substance mohou ovlivnit výsledky testu pokud jsou přítomny ve vyšších koncentracích než je uvedeno: vaginální lubrikanty (obsahující Polyquaternium 15) v koncentraci 1 %, protiplísňové krémy (obsahující tiokonazol) v koncentraci 0,03 % hmot./obj., hlen v koncentraci 0,3 % hmot./obj., hormony obsahující progesteron v 1 % hmot./obj., Trichomonas vaginalis v množství  $3 \times 10^4$  buněk/ml.
- M. Vysoké koncentrace HPV typu 45 mohou snížit schopnost Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay detekovat přítomnost nízkých hladin HPV typu 16.
- N. Účinky jiných potenciálních faktorů, jako je např. vaginální výtok, používání tamponů atd. a variabilita při odběru vzorků nebyly hodnoceny.
- O. Použití tohoto zařízení může být omezeno na personál vyškolený v používání Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.
- P. Zkřížená kontaminace vzorků může způsobit falešně pozitivní výsledky. Míra přenosu z testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systém Panther byla v neklinické studii stanovena 0,19 %.
- Q. Výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay by měly být interpretovány ve spojení s ostatními laboratorními a klinickými údaji, které jsou dostupné lékařům.

## Očekávané výsledky na systému Panther: Prevalence mRNA vysoce rizikových typů HPV

Prevalence infekce vysoce rizikovými typy HPV se značně liší a je ovlivněna několika faktory, z nichž největší podíl má věk. Mnoho studií zkoumalo prevalenci HPV stanovenou na základě detekce DNA HPV, avšak jen málo studií uvádí prevalenci na základě detekce onkogenní mRNA HPV. Ženy z různých klinických míst (n = 18), zahrnujících širokou geografickou distribuci a různorodou populaci (10 států USA) byly zařazeny do prospektivní klinické studie CLEAR pro vyhodnocení Aptima HPV Assay, který detekuje 14 vysoce rizikových typů HPV. Vzorky žen ve studii CLEAR s pozitivními nálezy v Aptima HPV Assay na systému Panther byly v samostatné klinické studii testovány na třech testovacích místech pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther v samostatné klinické studii. Prevalence HPV typů 16, 18/45, stejně jako zbývajících 11 vysoce rizikových typů HPV, byla v klinických studiích vyhodnocena na základě výsledků testování Aptima HPV a Aptima HPV 16 18/45 Genotype na systému Panther, dále roztríděna celkově, podle věkových skupin a podle místa testování. Negativní výsledek Aptima HPV Assay na systému Panther znamená, že žádný ze 14 vysoce rizikových typů HPV nebyl přítomen, a pro účely analýzy byly výsledky označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther. Výsledky jsou uvedeny v Tabulka 1 pro populaci ASC-US (s nálezem atypických dlaždicových buněk nejasného významu) a v populaci NILM (negativní pro intraepiteliální lézi či malignitu).

**Tabulka 1:** Prevalence vysoce rizikových typů HPV mRNA v populacích podle věkové skupiny, místa testování a dohromady

	Míra pozitivity % (x/n)							
	ASC-US populace (≥ 21 let)				NILM populace (≥ 30 let)			
	HPV 16 Poz	HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	11 ostatní HR* Poz	HPV 16 Poz	HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	11 ostatní HR* Poz
<b>Vše</b>	7,8 (71/911)	5,3 (48/911)	0,3 (3/911)	26,0 (237/911)	0,5 (50/10 839)	0,5 (49/10 839)	< 0,1 (1/10 839)	3,6 (391/10 839)
<b>Skupiny podle věku (roky)</b>								
<b>21 až 29</b>	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	Nehodí se	Nehodí se	Nehodí se	Nehodí se
<b>30 až 39</b>	5,5 (14/255)	6,7 (17/255)	0,4 (1/255)	23,1 (59/255)	0,7 (31/4 183)	0,7 (31/4 183)	0 (0/4 183)	5,1 (215/4 183)
<b>≥ 40</b>	1,9 (5/268)	4,1 (11/268)	0 (0/268)	11,6 (31/268)	0,3 (19/6 656)	0,3 (18/6 656)	< 0,1 (1/6 656)	2,6 (176/6 656)
<b>Testovací místo**</b>								
<b>1</b>	5,6 (17/304)	6,6 (20/304)	0,3 (1/304)	27,0 (82/304)	0,4 (16/3 610)	0,4 (16/3 610)	< 0,1 (1/3 610)	3,6 (130/3 610)
<b>2</b>	9,6 (29/303)	3,6 (11/303)	0,3 (1/303)	26,4 (80/303)	0,5 (18/3 614)	0,4 (15/3 614)	0 (0/3 614)	3,6 (130/3 614)
<b>3</b>	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3 615)	0,5 (18/3 615)	0 (0/3 615)	3,6 (131/3 615)

N/A = Neaplikovatelné, HR = Vysoce rizikové, Poz = Pozitivní

Poznámka: Ženy s negativním výsledkem testu Aptima HPV Assay na systému Panther byly pro účely analýzy označeny jako negativní v testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther.

\* HPV typy 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68

\*\* V NILM populaci nebyli všichni pacienti s negativními výsledky testu Aptima HPV Assay v systému Panther testováni pomocí testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay v systému Panther. Pro analýzu výsledků dle testovacího místa byly ženy náhodně rozděleny do jednoho ze 3 testovacích míst.

## Výsledky testování na systému Panther

Test Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byl poprvé uveden na trh v rámci systému Tigris DTS v roce 2012. V roce 2013 byly indikace rozšířeny o použití testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther. Systém Panther je menší přístrojová platforma, představující alternativu k systému Tigris DTS. Oba systémy jsou určeny k plné automatizaci testování amplifikovaných nukleových kyselin v diagnostických testech. Vybrané testování funkčních vlastností testu provedené na systému Tigris DTS bylo využito pro podporu funkčních vlastností testu na systému Panther.

### Design klinické studie testování cytologických vzorků na bázi tekutého média ThinPrep pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Vyhodnocení Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther bylo v USA provedeno testování cytologických vzorků odebraných se souhlasem žen během prospektivní, multicentrické klinické studie známé pod názvem CLEAR.

### Studie CLEAR – výchozí hodnocení

Studie CLEAR byla provedena za účelem stanovení klinické významnosti Aptima HPV Assay na systému Tigris DTS pro detekci cervikální intraepiteliální neoplazie stupně 2 nebo více závažných cervikálních onemocnění ( $\geq$ CIN2). Studie CLEAR zahrnovala výchozí hodnocení a 3leté následné hodnocení. Ženy byly zařazeny do studie ASC-US či studie NILM na základě jejich referenčního cytologického vyšetření ThinPrep na bázi tekutého média při rutinním screeningu rakoviny děložního čípku. Studie ASC-US zahrnovala populaci žen 21 let a starší s cytologickými výsledky ASC-US a studie NILM zahrnovala populaci žen 30 let a starší s cytologickými výsledky NILM.

Do studie byly zařazeny ženy z 18 klinických pracovišť, především z porodnických a gynekologických klinik o široké geografické distribuci, zahrnující různorodou populaci. Na počátku studie CLEAR byly referenční cytologické vzorky testovány jak pomocí testu Aptima HPV Assay na systému Tigris DTS, tak jiným testem DNA HPV, schváleným úřadem FDA. Tyto vzorky byly poté rozděleny do alikvotů, které byly archivovány a skladovány při teplotě  $-70$  °C, dokud nebyly testovány pomocí testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther v rámci klinické studie testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Všechny ženy ve studii ASC-US podstoupily na počátku kolposkopii, bez ohledu na výsledky testu Aptima HPV Assay na systému Tigris DTS a výsledky testů DNA HPV schválených úřadem FDA. Byly získány vzorky z endocervikální kyretáže (ECC) a z cervikální biopsie (1 vzorek z každého ze 4 kvadrantů). U viditelných lézí byl získán přímý vzorek (1 biopsie z léze), u kvadrantů bez viditelného poškození byly biopsie odebírány náhodně z oblasti squamokolumnární junkce.

Ve studii NILM podstoupily kolposkopii ženy s pozitivním Aptima HPV Assay na systému Tigris DTS a/ nebo FDA schváleným testem HPV DNA a také náhodně vybrané ženy, které byly negativní v obou testech. Vzorek z ECC byl odebrán každé ženě, která absolvovala kolposkopii. Ostatní biopsie byly získány pouze z viditelných lézí (přímá metoda; 1 biopsie z léze).

Status onemocnění byl stanoven na základě konsensu odborné komise patologů, který byl založen na shodě názorů alespoň 2 expertních patologů. Expertní patologové u vyšetřovaných žen neznali jejich výsledky vyšetření HPV, cytologického statusu ani jiných histologických diagnóz. Pokud se 3 patologové neshodli, všichni 3 patologové přezkoumali sklíčka na vícehlavém mikroskopu, aby dosáhli konsenzu. Aby se snížil vliv bias, výzkumní pracovníci, klinikové ani vyšetřované ženy před dokončením kolposkopického vyšetření neznali výsledky testů HPV.

Na počátku byla posouzena klinická významnost testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther pro detekci  $\geq$  CIN2 a cervikální intraepiteliální neoplazie stupně 3 nebo závažnějšího onemocnění děložního čípku ( $\geq$  CIN3). Toto posouzení bylo provedeno vzhledem ke stavu onemocnění děložního čípku zjištěnému na počátku studie.

## Studie CLEAR – následné hodnocení

Ženy ve studii NILM ze 14 klinických pracovišť byly způsobilé k účasti v 3leté sledovací fázi studie, pokud: i) na počátku podstoupily kolposkopii a neměly  $\geq$  CIN2, nebo ii) na počátku kolposkopii nepodstoupily. Sledovací fáze studie sestávala z ročních návštěv. Při těchto návštěvách byl každé ženě odebrán vzorek z děložního čípku a některé ženy byly také testovány pomocí testu na HPV, schváleného úřadem FDA. Ženy s nálezem ASC-US nebo se závažnějšími cytologickými výsledky v průběhu následného období sledování byly odeslány na kolposkopii za použití stejných postupů biopsie a histologického vyšetření jako při provádění výchozího hodnocení. Stav onemocnění děložního čípku při kontrolní návštěvě byl považován za „negativní“ na základě cytologie NILM, případně u žen s abnormálním výsledkem cytologického testu na základě normálního stavu nebo CIN1 vzhledem k histologické diagnóze dle konsensu odborné komise histologů. Ženy, u kterých byl během období sledování zjištěn  $\geq$  CIN2, byly považovány za ženy, které období sledování ukončily a po zjištění  $\geq$  CIN2 již návštěvy neabsolvovaly. Ženy, u kterých nebyl během období sledování zjištěn  $\geq$  CIN2, ale které se zúčastnily návštěvy v rámci studie v 1. roce sledování a/nebo v 2. roce sledování a které se zúčastnily návštěvy v rámci studie v 3. roce sledování, byly považovány za ženy, které období sledování ukončily.

Cílem následné studie sledování bylo porovnat kumulativní tříleté riziko onemocnění děložního čípku u žen s výchozími pozitivními výsledky testu Aptima HPV a výchozími pozitivními výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay s kumulativním tříletým rizikem onemocnění děložního čípku u žen s výchozími pozitivními výsledky testu Aptima HPV a výchozími negativními výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Tříletý stav onemocnění děložního čípku byl stanoven takto:

- Pozitivní stav onemocnění děložního čípku ( $\geq$  CIN2 a/nebo  $\geq$  CIN3) – ženy, u nichž byl na začátku nebo během období sledování zjištěn  $\geq$  CIN2.
- Negativní stav onemocnění děložního čípku ( $<$  CIN2) – ženy, které dokončily období sledování bez zjištění  $\geq$  CIN2 a které nebyly považovány za ženy s „neurčitým“ stavem onemocnění děložního čípku.
- Neurčitý stav onemocnění děložního čípku – ženy, které měly během období sledování abnormální výsledky cytologických testů a u nichž nebyl následně získán výsledek konsensu odborné komise histologů, anebo ženy s nedostatečnou cytologií při poslední návštěvě.
- Nemožnost dalšího sledování – ženy, které nedokončily období sledování a které nebyly považovány za ženy s „neurčitým“ stavem onemocnění děložního čípku.

Byla vyhodnocena klinická významnost testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay pro detekci  $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3 vzhledem k tříletému stavu onemocnění děložního čípku.

## Populace ASC-US $\geq$ 21 let: klinická významnost testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay u cytologických vzorků na bázi tekutého média ThinPrep

Celkově bylo testováno 404 žen ve věku 21 let a starších s cytologickými nálezy ASC-US a pozitivním výsledkem Aptima HPV Assay na systému Panther, jejichž referenční cytologické vzorky byly vhodné pro testování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther. U 45 žen z tohoto souboru nebyly k dispozici referenční cytologické vzorky pro testování a u 6 byla stanovena nejasná diagnóza; po analýze chybějících dat nebyly tyto ženy zahrnuty do vyhodnocení klinické významnosti testu. U zbyvajících 353 hodnocených žen s průkazným stavem onemocnění bylo provedeno validní testování pomocí APTIMA HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther, založené na reflexním testování pozitivních výsledků v Aptima HPV Assay na systému Panther. Šedesát sedm (67) žen mělo  $\geq$ CIN2 a 30 mělo  $\geq$ CIN3.

Z celkového počtu 353 hodnocených žen s pozitivními výsledky Aptima HPV Assay na systému Panther mělo 118 žen pozitivní výsledky pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther, naznačující přítomnost HPV 16 a/nebo HPV 18/45; 235 mělo negativní výsledky, což ukazuje na přítomnost jednoho nebo více z dalších 11 typů vysoce rizikových HPV, které jsou detekovány pomocí Aptima HPV Assay (tj HPV typů 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68). Další 539 hodnocených žen ve věku 21 let a starších s cytologickými nálezy ASC-US mělo negativní výsledky Aptima HPV Assay na systému Panther. Negativní výsledek Aptima HPV Assay znamená, že žádný z

14 vysoce rizikových typů HPV nebyl přítomen a pro účely analýzy byly výsledky označeny jako negativní v Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther. Prevalence  $\geq$ CIN2 resp.  $\geq$ CIN3 u hodnocených žen s cytologickými nálezy ASC-US činila 9,1% resp. 3,8%. Výsledky srovnání testů založených na systému Panther, tj. Aptima HPV 16 18/45 a Aptima HPV vzhledem k histologické diagnóze dle konsensu odborné komise histologů jsou prezentovány v Tabulka 2.

**Tabulka 2:** Populace ASC-US  $\geq$  21 let: výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay podle histologické diagnózy dle konsensu odborné komise histologů

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT*	Interpretace	Histologická diagnóza dle konsensu odborné komise						
			Neurčeno**	Normální	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Celkem
Pozitivní	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Poz	1	26	18	11	15	0	71
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	HPV 18/45 Poz	3	23	16	2	3	1	48
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/ 45 Poz	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	2	132	70	23	10	0	237
Celkem			6	182	104	37	29	1	359
Negativní	HPV 16/18/45 Neg***	HR HPV Neg	13	450	75	10	4	0	552
Celkem			19	632	179	47	33	1****	911

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, CIN1 = Cervikální intraepiteliální neoplazie 1. stupně, HR = vysoce rizikové, Neg = Negativní, Poz = Pozitivní

\* Všechny vzorky měly finální výsledky (po závěrečném testování nebo po vyřešení iniciálně neplatných postupů)

\*\*U 19 žen byla provedena kolposkopie, ale diagnóza nemohla být stanovena z následujících důvodů: < 5 bioptických vzorků mělo výsledky histologie v normě/CIN1 (n = 15), bioptický vzorek se nepodařilo získat (n = 3) a bioptické sklíčko se ztratilo (n = 1).

\*\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

\*\*\*\* Jedna žena měla adenokarcinom in situ (AIS).

Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3), vyhodnocené na základě výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay uvádí Tabulka 3. Riziko  $\geq$ CIN2 u žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 bylo 28,8 % v porovnání s rizikem 14,0 % u žen s jedním nebo více z ostatních 11 typů vysoce rizikových HPV a 2,6 % u žen bez průkazu vysoce rizikových typů HPV. Absolutní rizika jsou znázorněny podle věkových skupin v Tabulka 4.

**Tabulka 3:** Populace ASC-US  $\geq$  21 let: absolutní riziko onemocnění ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3) dle výsledku testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	28,8 (34/118) (22,2, 35,7)	16,9 (20/118) (12,1, 21,8)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	37,1 (26/70) (27,4, 47,4)	21,4 (15/70) (13,8, 29,5)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	13,3 (6/45) (5,5, 25,1)	8,9 (4/45) (2,9, 19,1)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	14,0 (33/235) (10,7, 17,7)	4,3 (10/235) (2,3, 6,7)
	Poz nebo Neg	HR HPV Poz	19,0 (67/353) (16,8, 21,1)	8,5 (30/353) (7,1, 9,6)
Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)	0,7 (4/539) (0,2, 1,6)
Prevalence			9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 4:** Populace ASC-US ≥ 21 let: absolutní riziko onemocnění (≥ CIN2 a ≥ CIN3) dle výsledku testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay podle věkové skupiny

	Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	≥CIN2	≥ CIN3
				Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
21 až 29 let	Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	27,4 (20/73) (19,0, 36,2)	16,4 (12/73) (10,3, 22,5)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	29,4 (15/51) (18,8, 41,1)	19,6 (10/51) (11,3, 28,5)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	15,0 (3/20) (3,6, 34,6)	5,0 (1/20) (0,2, 21,6)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	17,1 (25/146) (12,7, 21,7)	5,5 (8/146) (2,8, 8,6)
		Poz nebo Neg	HR HPV Poz	20,5 (45/219) (17,9, 23,0)	9,1 (20/219) (7,5, 10,2)
	Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	4,2 (7/166) (1,9, 7,6)	0,6 (1/166) (0,0, 2,7)
Prevalence				13,5% (52/385)	5,5% (21/385)
30 až 39 let	Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	30,0 (9/30) (16,5, 43,9)	16,7 (5/30) (6,9, 26,2)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	13,3 (2/15) (1,3, 35,2)	13,3 (2/15) (1,3, 32,1)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	12,1 (7/58) (5,7, 19,5)	3,4 (2/58) (0,5, 8,5)
		Poz nebo Neg	HR HPV Poz	18,2 (16/88) (13,4, 22,3)	8,0 (7/88) (4,6, 10,0)
	Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)
Prevalence				7,6% (19/251)	3,2% (8/251)
≥ 40 let	Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	80,0 (4/5) (36,8, 99,0)	40,0 (2/5) (6,3, 78,2)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	10,0 (1/10) (0,4, 36,6)	10,0 (1/10) (0,4, 33,1)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	3,2 (1/31) (0,1, 13,2)	0 (0/31) (0,0, 7,8)
		Poz nebo Neg	HR HPV Poz	13,0 (6/46) (6,1, 19,7)	6,5 (3/46) (1,7, 10,9)
	Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)
Prevalence				3,9% (10/256)	2,0% (5/256)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Relativní riziko onemocnění u pacientů ve srovnání pozitivního a negativního výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay uvádí Tabulka 5. U žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 byla 11,1krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$  CIN2 a 22,8krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$  CIN3 než u žen bez průkazu vysoce rizikových typů HPV. U žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 byla 2,1-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$  CIN2 a 4,0-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$  CIN3 než u žen bez průkazu jednoho nebo více z 11 vysoce rizikových typů HPV.

**Tabulka 5:** Populace ASC-US  $\geq$  21 let: relativní riziko onemocnění ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3) dle výsledku testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relativní riziko (95 % CI)	Relativní riziko (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Pozitivní vs. HR HPV Negativní	11,1 (6,2, 20,0)	22,8 (8,0, 65,6)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Pozitivní vs. jiné HR HPV Pozitivní	2,1 (1,3, 3,1)	4,0 (1,9, 8,2)
Jiné HR HPV pozitivní vs. HR HPV negativní	5,4 (2,9, 9,9)	5,7 (1,8, 18,1)
HR HPV Pozitivní vs. HR HPV Negativní	7,3 (4,2, 12,8)	11,5 (4,1, 32,2)
Prevalence	9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

CI = interval spolehlivosti, HR - Vysoce rizikové

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Stupně pravděpodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) podle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay jsou zobrazeny v Tabulka 6. U HPV typů 16, 18 a/nebo 45 je 4,1-krát vyšší pravděpodobnost přítomnosti u ženy s  $\geq$ CIN2 a 5,2-krát vyšší pravděpodobnost přítomnosti u ženy s  $\geq$ CIN3.

**Tabulka 6:** Populace ASC-US  $\geq$  21 let: Stupně pravděpodobnosti onemocnění ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3) dle výsledku testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Pozitivní	4,1 (2,9, 5,6)	5,2 (3,5, 7,0)
Jiné HR HPV Pozitivní	1,6 (1,2, 2,1)	1,1 (0,6, 1,8)
HR HPV Negativní	0,3 (0,2, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

CI = interval spolehlivosti, HR - Vysoce rizikové

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.



## Populace NILM ≥ 30 let: klinická významnost testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay u cytologických vzorků na bázi tekutého média ThinPrep na počátku

Celkově bylo testováno 512 žen ve věku 30 let a starších s cytologickými nálezy NILM a pozitivním výsledkem Aptima HPV Assay na systému Panther, jejichž referenční cytologické vzorky byly vhodné pro testování pomocí Aptima HPV Assay 16 18/45 genotype. 21 žen z tohoto souboru nemělo k dispozici referenční cytologické vzorky pro testování (11 z nich absolvovalo kolposkopické vyšetření, 10 ne); po analýze chybějících dat nebyly zahrnuty do vyhodnocení klinické významnosti testu. Zbývajících 491 hodnocených žen mělo validní výsledky testování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. U 273 z nich byla provedena kolposkopie. Čtrnáct (14) žen mělo ≥CIN2 a 10 mělo ≥CIN3; 245 žen mělo normální / CIN1 histologický nálezy; 14 žen mělo neurčený status onemocnění.

Z celkového počtu 259 hodnocených žen s průkazným stavem onemocnění a s pozitivními výsledky testu Aptima HPV Assay na systému Panther na počátku mělo 65 žen pozitivní výsledky u testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther, naznačující přítomnost HPV 16 a/nebo HPV 18/45; 194 žen mělo negativní výsledky, což ukazuje na přítomnost jednoho nebo více z dalších 11 typů vysoce rizikových typů HPV. Další 549 hodnocených žen ve věku 30 let a starších s cytologickými nálezy NILM s průkazným stavem onemocnění mělo negativní výsledky Aptima HPV Assay na systému Panther. Negativní výsledek Aptima HPV Assay znamená, že žádný z 14 vysoce rizikových typů HPV nebyl přítomen a pro účely analýzy byly výsledky označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther. Výsledky srovnání testů Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay vzhledem k histologické diagnóze dle konsensu odborné komise histologů jsou prezentovány v Tabulka 7.

**Tabulka 7:** Populace NILM ≥ 30 let: výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay podle histologické diagnózy dle konsensu odborné komise histologů na počátku

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT*	Interpretace	Histologická diagnóza dle konsensu odborné komise						
			Neurčeno**	Normální	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Celkem
Pozitivní	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Poz	2	28	0	0	3	1	34
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	HPV 18/45 Poz	1	28	1	1	0	2	33
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	0	1	0	0	0	0	1
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	11	175	12	3	4	0	205
Celkem			14	232	13	4	7	3	273
Negativní	HPV 16/18/45 Neg***	HR HPV Neg	31	527	16	5	1	0	580
Celkem			45	759	29	9	8	3****	853

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Všechny vzorky měly platné finální výsledky (při počátečním testování nebo po vyřešení iničiálně neplatných postupů)

\*\* U 45 žen byla provedena kolposkopie, ale diagnóza nemohla být stanovena z následujících důvodů: nebylo dosaženo konsenzu v důsledku neadekvátnosti vzorků (n = 29), z jiných důvodů nebylo možné odebrat biotické vzorky (n = 13), nebyla odebrána biopsie kvůli chybě (n = 3).

\*\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

\*\*\*\* Tři ženy měly adenokarcinom in situ (AIS).

Z celkového počtu 491 žen s pozitivními výsledky testů Aptima HPV na systému Panther a Aptima HPV 16 18/45 genotype na systému Panther mělo 232 žen neověřený (včetně neurčeného) status onemocnění (Tabulka 8). Z celkového počtu 10 348 žen s negativními výsledky Aptima HPV Assay z původní studie CLEAR mělo 9 799 neověřený status onemocnění. Vzhledem k tomu že studie byla designována tak, že kolposkopické vyšetření bylo provedeno jen u náhodně vybraných žen s negativními výsledky v obou testech Aptima HPV na systému Tigris DTS a testech DNA, schválených agenturou FDA, podíl žen s neověřeným statusem onemocnění byl u této skupiny vysoký (96,2 %). K úpravě tohoto verifikačního zkreslení (bias) byla použita metoda vícenásobné imputace k odhadu počtu žen s onemocněním, které by byly identifikovány, kdyby všechny ženy podstoupily kolposkopii s ohledem na výsledky testu. U této metody byl chybějící stav onemocnění přisouzen na základě výsledků testu Aptima HPV Assay na systému Panther, testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther a testu DNA HPV schváleného úřadem FDA. Jsou prezentovány jak verifikačním bias upravené, tak i neupravené odhady klinické významnosti metody, založené na testování 808 žen s ověřenými statusy onemocnění.

**Tabulka 8:** Populace NILM  $\geq$  30 let: klasifikace hodnocených žen s NILM podle výsledků testu Aptima HPV Assay, testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu DNA HPV, stavu onemocnění ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3) a stavu ověření onemocnění na počátku

Výsledek Aptima HPV Assay*	Výsledek testu AHPV-GT*	Test HPV DNA	Celkem žen	Ověřený stav onemocnění: $\geq$ CIN2		Ověřený stav onemocnění: $\geq$ CIN3		Neověřený status nemoci
				Ženy s onemocněním ( $\geq$ CIN2)	Ženy bez onemocnění (<CIN2)	Ženy s onemocněním ( $\geq$ CIN3)	Ženy bez onemocnění (< CIN3)	
Pozitivní	Pozitivní	Pozitivní	88	6	52	5	53	30 (34,1%)
	Pozitivní	Negativní	10	1	5	1	5	4 (40,0%)
	Pozitivní	Žádný výsledek**	2	0	1	0	1	1 (50,0%)
	Negativní	Pozitivní	291	7	169	4	172	115 (39,5%)
	Negativní	Negativní	85	0	14	0	14	71 (83,5%)
	Negativní	Žádný výsledek**	15	0	4	0	4	11 (73,3%)
Celkem			491	14	245	10	249	232 (47,3%)
Negativní	N/A***	Pozitivní	282	3	177	1	179	102 (36,2%)
	N/A***	Negativní	9 467	2	362	0	364	9 103 (96,2%)
	N/A***	Žádný výsledek**	599	1	4	0	5	594 (99,2%)
Celkem			10 839	20	788	11	797	10 031 (92,5%)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, N/A = Nehodnotitelné

\* Všechny vzorky měly platné finální výsledky (při počátečním testování nebo po vyřešení iniciálně neplatných postupů)

\*\* 616 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo proveden HPV DNA test především kvůli nedostatečnému objemu vzorku.

\*\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Upravená absolutní rizika onemocnění ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3) na počátku na základě výsledku testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay uvádí Tabulka 9a. Riziko  $\geq$ CIN2 u žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 bylo 9,7% v porovnání s rizikem 3,2% u žen s jedním nebo více z ostatních 11 typů vysoce rizikových HPV a 0,7% u žen bez průkazu vysoce rizikových typů HPV. Neupravená absolutní rizika onemocnění jsou uvádí celkově Tabulka 9b a podle věkových skupin Tabulka 10.

**Tabulka 9a:** Populace NILM  $\geq$  30 let: absolutní riziko onemocnění ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3) pro výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay (odhady upravené verifikačním zkreslením (bias)) na počátku

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	9,7 (4,6, 20,2)	8,5 (3,8, 19,2)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	10,4 (4,0, 27,1)	10,3 (3,9, 27,1)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	8,8 (2,9, 26,4)	6,5 (1,7, 25,1)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	0,0	0,0
	HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	3,2 (1,6, 6,3)	1,8 (0,6, 4,9)
	Poz nebo Neg	HR HPV Poz	4,6 (2,8, 7,4)	3,2 (1,7, 5,9)
Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	0,7 (0,2, 2,5)	0,2 (0,0, 4,8)
Prevalence			1,1%	0,8%

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní, N/A = nehodnotitelné

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 9b:** Populace NILM  $\geq$  30 let: absolutní riziko onemocnění ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3) pro výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay (neupravené odhady) na počátku

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	10,8 (7/65) (5,1, 17,7)	9,2 (6/65) (4,3, 14,2)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	12,5 (4/32) (3,7, 25,2)	12,5 (4/32) (3,9, 23,1)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	9,4 (3/32) (2,2, 21,8)	6,3 (2/32) (0,9, 16,8)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	0,0 (0/1) (0,0, 93,5)	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)
	HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	3,6 (7/194) (1,7, 6,0)	2,1 (4/194) (0,7, 3,9)
	Poz nebo Neg	HR HPV Poz	5,4 (14/259) (3,7, 6,8)	3,9 (10/259) (2,6, 4,5)
Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)
Prevalence			2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní, N/A = nehodnotitelné

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 10:** Populace NILM ≥ 30 let: absolutní riziko onemocnění (≥ CIN2 a ≥ CIN3) pro výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay podle věkové skupiny (neupravené odhady) na počátku

	Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	≥CIN2	≥ CIN3
				Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
30 až 39 let	Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	8,1 (3/37) (2,0, 16,4)	5,4 (2/37) (0,9, 12,3)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	15,0 (3/20) (3,9, 30,6)	10,0 (2/20) (1,0, 22,8)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	N/A (0/0)	N/A (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	3,6 (4/111) (1,2, 6,2)	2,7 (3/111) (0,7, 4,7)
		Poz nebo Neg	HR HPV Poz	4,7 (7/148) (2,6, 6,1)	3,4 (5/148) (1,6, 4,3)
	Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)
Prevalence				2,4% (9/378)	1,6% (6/378)
≥ 40 let	Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	14,3 (4/28) (4,8, 26,4)	14,3 (4/28) (5,0, 21,9)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	26,7 (4/15) (6,4, 47,9)	26,7 (4/15) (6,5, 43,1)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	0 (0/12) (0,0, 21,5)	0 (0/12) (0,0, 18,6)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)	0,0 (0/1) (0,0, 93,1)
		HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	3,6 (3/83) (1,0, 7,8)	1,2 (1/83) (0,0, 4,1)
		Poz nebo Neg	HR HPV Poz	6,3 (7/111) (3,3, 8,9)	4,5 (5/111) (2,3, 5,4)
	Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0 (0/319) (0,0, 0,8)
Prevalence				2,6% (11/430)	1,2% (5/430)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní, N/A = nehodnotitelné

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Relativní riziko onemocnění u pacientů ve srovnání pozitivního a negativního výsledku testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay uvádí Tabulka 11 (upraveno dle verifikačního zkreslení (bias)) a Tabulka 12 (neupraveno). U žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 byla 12,9-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN2 a 53,3-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN3 než u žen bez průkazu vysoce rizikových typů HPV. U žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 byla 3,0-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN2 a 4,8-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN3 než u žen bez průkazu jednoho nebo více z 11 vysoce rizikových typů HPV.

**Tabulka 11:** Populace NILM  $\geq$  30 let: relativní riziko onemocnění ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3) pro výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay (odhady upravené verifikačním zkreslením (bias)) na počátku

Interpretace výsledků testu Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relativní riziko (95 % CI)	Relativní riziko (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz vs. HR HPV Neg	12,9 (3,1, 54,6)	53,3 (1,5, >999)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz vs. jiný HR HPV Poz	3,0 (1,1, 8,8)	4,8 (1,2, 19,2)
Jiný HR HPV Poz vs. HR HPV Neg	4,3 (1,2, 15,1)	11,0 (0,4, 289,2)
HR HPV Poz vs. HR HPV Neg	6,1 (1,8, 21,0)	20,2 (0,7, 567,7)
Prevalence	1,1%	0,8%

CI = interval spolehlivosti, HR - Vysoce rizikové, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 12:** Populace NILM  $\geq$  30 let: relativní riziko onemocnění ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3) pro výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay (neupravené odhady) na počátku

Interpretace výsledků testu Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relativní riziko (95 % CI)	Relativní riziko (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz vs. HR HPV Neg	9,9 (3,4, 28,4)	50,7 (6,2, 414,4)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz vs. jiný HR HPV Poz	3,0 (1,1, 8,2)	4,5 (1,3, 15,4)
Jiný HR HPV Poz vs. HR HPV Neg	3,3 (1,1, 9,7)	11,3 (1,3, 100,7)
HR HPV Poz vs. HR HPV Neg	4,9 (1,9, 12,7)	21,2 (2,7, 164,7)
Prevalence	2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

CI = interval spolehlivosti, HR - Vysoce rizikové, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Stupně pravděpodobnosti ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3) na počátku podle výsledku testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay uvádí Tabulka 13 (upraveno verifikačním zkreslením (bias)) a Tabulka 14 (neupraveno). U HPV typů 16, 18 a/nebo 45 je 11,2krát vyšší pravděpodobnost přítomnosti u ženy s  $\geq$  CIN2 a 24,1krát vyšší pravděpodobnost přítomnosti u ženy s  $\geq$  CIN3 na počátku.

**Tabulka 13:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Stupně pravděpodobnosti onemocnění ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3) podle výsledků testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay (odhady upravené verifikačním zkreslením (bias)) na počátku

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Pozitivní	11,2 (3,3, 38,4)	24,1 (2,6, 225,9)
Jiné HR HPV Pozitivní	3,5 (1,3, 9,4)	4,7 (0,7, 29,8)
HR HPV Negativní	0,8 (0,6, 1,1)	0,4 (0,1, 2,2)

CI = interval spolehlivosti, HR - Vysoce rizikové

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 14:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Stupně pravděpodobnosti onemocnění ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3) podle výsledků testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay (neupravené odhady) na počátku

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Pozitivní	4,8 (2,1, 8,5)	7,4 (3,3, 12,0)
Jiné HR HPV Pozitivní	1,5 (0,7, 2,5)	1,5 (0,5, 2,9)
HR HPV Negativní	0,4 (0,2, 0,8)	0,1 (0,0, 0,6)

CI = interval spolehlivosti, HR - Vysoce rizikové

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

## Populace NILM ≥ 30 let: klinická významnost testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay po tříletém období sledování

Do následné fáze sledování bylo zařazeno 10 822 žen ve věku 30 let a starších s výsledky cytologie NILM a pozitivními výsledky testu Aptima HPV Assay a platnými výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay nebo negativními výsledky testu Aptima HPV na systému Panther na počátku studie, které byly způsobilé pro následnou fázi sledování. Z žen bez ≥ CIN2 absolvovalo 67,0 % (7 235 / 10 802) žen kontrolní návštěvu s vyšetřením Pap v 1. roce, 60,3 % (6 505 / 10 793) ve 2. roce a 58,7 % (6 330 / 10 786) ve 3. roce. Celkově studii dokončilo 58,8 % (6 366 / 10 822) žen (měly ≥ CIN2 na počátku studie nebo během období sledování) a/nebo absolvovaly požadované návštěvy.

Z 10 822 subjektů mělo 490 (4,5 %) žen na počátku pozitivní výsledky testu Aptima HPV Assay a platné výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Z těchto 490 žen mělo 247 (50,4 %) pozitivní nebo negativní tříletý stav onemocnění na základě výsledků cytologie nebo kolposkopie/biopsie. Dvacet pět (25) žen mělo ≥ CIN2, včetně 18 s ≥ CIN3; 222 žen mělo normální/CIN1 histologii.

Z celkového počtu 247 hodnocených žen s tříletým stavem onemocnění a pozitivními výsledky testu Aptima HPV Assay mělo 47 (19,0 %) pozitivní výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, naznačující přítomnost HPV 16 a/nebo HPV 18/45 nad klinickou hodnotou cut-off; 200 (81,0 %) mělo negativní výsledky, což ukazuje na přítomnost jednoho nebo více z dalších 11 vysoce rizikových typů HPV.

Zbývajících 10 332 žen mělo během studie CLEAR negativní výchozí výsledky testu Aptima HPV Assay. Z nich 57,6 % (5 946 / 10 322) mělo tříletý stav onemocnění. Ženy s negativním výsledkem testu Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní v testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na počátku a tříletého stavu onemocnění podle konsensu odborné komise histologů (zahrnuje počáteční a následné hodnocení) uvádí Tabulka 15.

**Tabulka 15:** Populace NILM ≥ 30 let: klasifikace žen způsobilých pro následnou fázi sledování podle výchozích výsledků testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay a stavu onemocnění zjištěného na počátku studie a v následné fázi sledování

Aptima HPV Výsledek testu	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	Tříletý stav onemocnění (včetně výchozího a následného hodnocení)							
			Nemožnost dalšího sledování	Neurčitě*	Normální	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Celkem
Pozitivní	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Poz	25	2	16	0	1	5	1	50
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	HPV 18/45 Poz	22	3	18	2	2	0	2	49
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	1	0	0	0	0	0	0	1
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	168	22	178	8	4	10	0	390
Celkem			216	27	212	10	7	15	3	490
Negativní	HPV 16/18/45 Neg**	HR HPV Neg	4 150	236	5 879	46	16	5	0	10 332
Celkem			4 366	263	6 091	56	23	20	3 <sup>^</sup>	10 822

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = vysoce rizikový, Neg = negativní, Poz = pozitivní

\*Ženy, které měly během sledování abnormální výsledky cytologických testů a u nichž nebyl následně získán výsledek konsensu odborné komise histologů, nebo ženy s nedostatečnou cytologií při poslední návštěvě

\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní v Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

<sup>^</sup>Tři ženy měly adenokarcinom in situ (AIS).

Tříletá kumulativní rizika onemocnění (≥ CIN2 a ≥ CIN3) jsou založena na Kaplanově-Meierově odhadu (analýza životních tabulek) a zahrnují onemocnění zjištěná na počátku anebo v průběhu sledování.

Ženy, které měly nějaký náznak onemocnění (ASC-US nebo závažnější výsledky cytologie), ale neměly žádný výsledek konsensu odborné komise histologů, byly zahrnuty do analýzy pomocí metody vícenásobné imputace k předpovědi počtu žen s onemocněním, které by bylo zjištěno, kdyby tyto ženy podstoupily kolposkopii.

Tříleté kumulativní absolutní riziko onemocnění ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3), vyhodnocené na základě výsledku testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, uvádí Tabulka 16. Tříleté kumulativní relativní riziko onemocnění u pacientů ve srovnání pozitivního a negativního výsledku testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay uvádí Tabulka 17.

**Tabulka 16:** Populace NILM  $\geq$  30 let: tříleté kumulativní absolutní riziko onemocnění\* ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3) pro výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay na počátku

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	16,5 (9,4, 28,1)	11,9 (6,0, 22,8)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	21,4 (10,8, 39,7)	18,6 (8,7, 37,3)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	12,2 (4,7, 29,6)	5,4 (1,3, 21,1)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	Nehodí se	Nehodí se
	HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	5,7 (3,4, 9,5)	3,8 (2,0, 7,2)
	Poz nebo Neg	HR HPV Poz	7,9 (5,4, 11,3)	5,4 (3,5, 8,5)
Negativní	HPV 16/18/45 Neg**	HR HPV Neg	0,3 (0,2, 0,5)	0,1 (0,0, 0,2)
Prevalence			0,7%	0,3%

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = vysoce rizikový, N/A = nehodnotitelné, Neg = negativní, Poz = pozitivní

\*Tříletá kumulativní rizika upravená o další možná zkreslení (bias) byla podobná rizikům v této tabulce. Vzhledem k předpokládaným rozdílům v riziku v 1. a 2. roce u dvou skupin žen v následné studii sledování (ženy s kolposkopií na počátku studie a ženy bez kolposkopie na počátku studie) bylo uvedeno pouze tříleté kumulativní riziko pro kombinované skupiny.

\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní v Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 17:** Populace NILM  $\geq$  30 let: tříleté kumulativní relativní riziko onemocnění\* ( $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3) pro výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a testu Aptima HPV Assay na počátku

Interpretace výsledků testu Aptima Assay**	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relativní riziko (95 % CI)	Relativní riziko (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz vs. HR HPV Neg	51,2 (25,9, 101,0)	129,6 (42,7, 393,5)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz vs. jiný HR HPV Poz	2,9 (1,4, 6,2)	3,1 (1,2, 7,9)
Jiný HR HPV Poz vs. HR HPV Neg	17,6 (8,9, 34,9)	42,0 (14,2, 124,0)
HR HPV Poz vs. HR HPV Neg	24,3 (13,7, 43,2)	59,5 (22,0, 161,0)
Prevalence	0,7%	0,3%

CI = interval spolehlivosti, HR = vysoce rizikové, Neg = negativní, Poz = pozitivní

\*Tříletá kumulativní rizika upravená o další možná zkreslení (bias) byla podobná rizikům v této tabulce. Vzhledem k předpokládaným rozdílům v riziku v 1. a 2. roce u dvou skupin žen v následné studii sledování (ženy s kolposkopií na počátku studie a ženy bez kolposkopie na počátku studie) bylo uvedeno pouze tříleté kumulativní riziko pro kombinované skupiny.

\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní v Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.



Tříletá kumulativní prevalence  $\geq$  CIN2 a  $\geq$  CIN3 u žen s výsledky cytologie NILM na počátku studie byla 0,7 %, resp. 0,3 %. Relativní riziko detekce  $\geq$  CIN2 u žen s pozitivními výsledky HPV 16 a/nebo 18/45 oproti pozitivním výsledkům jiných HR HPV bylo 2,9 (95% CI: 1,4, 6,2), což znamená, že  $\geq$  CIN2 byl detekován u žen s pozitivními výsledky HPV 16 a/nebo 18/45 2,9krát častěji než u žen s pozitivními výsledky jiných HR HPV. Relativní riziko  $\geq$  CIN3 bylo 3,1 (95% CI: 1,2, 7,9). Relativní riziko detekce  $\geq$  CIN2 u žen s pozitivními výsledky jiných HR HPV oproti negativním výsledkům HR HPV bylo 17,6 (95% CI: 8,9, 34,9), což znamená, že  $\geq$  CIN2 byl detekován u žen s pozitivními výsledky jiných HR HPV 17,6krát častěji než u žen s negativními výsledky HR HPV. Relativní riziko  $\geq$  CIN3 bylo 42,0 (95% CI: 14,2, 124,0).

### Klinická významnost testování cytologických vzorků na bázi tekutého média SurePath pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

SurePath cytologické vzorky na bázi tekutého média byly odebrány kanadským ženám, které byly odeslány na sledování v souvislosti s nálezem jednoho nebo více abnormálních Pap testů, HPV infekce nebo z nějakého jiného důvodu. Alikvotní podíl (0,5 ml) z každého vzorku byl přenesen do transferové zkumavky na vzorek Aptima a potom ošetřen pomocí transferového roztoku Aptima. Jeden replikát každého vzorku byl testován pomocí Aptima HPV Assay (n = 500). Pozitivní vzorky byly následně testovány pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay, výsledky jsou uvedeny v Tabulka 18. Podobné výsledky jsou uvedeny pro komerčně dostupný test HPV PCR, který rozlišuje typ HPV 16 a typ HPV 18, ale ne HPV 45, odděleně od ostatních vysoce rizikových genotypů. Relativní riziko onemocnění u pacientů ve srovnání pozitivního a negativního výsledku genotypu je ukázáno v Tabulka 19 pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a pro HPV PCR test.

**Tabulka 18:** Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a komerčně dostupného testu HPV PCR

Výsledek HR HPV	Výsledek genotypu	Interpretace	Aptima Absolutní Riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)	HPV PCR Absolutní Riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)
Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45* Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45* Poz	13,9 (10,8-17,0)	13,9 (11,4-16,4)
	HPV 16 Poz a HPV 18/45* Neg	Pouze HPV 16 Poz	16,8 (12,4-21,3)	16,2 (12,8-19,5)
	HPV 16 Neg a/nebo HPV 18/45* Poz	Pouze HPV 18/45* Poz	6,1 (2,0-12,9)	6,6 (2,1-13,9)
	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45* Poz	HPV 16 a HPV 18/45* Poz	25,0 (2,9-59,8)	12,5 (1,3-34,5)
	HPV 16 Neg a/nebo HPV 18/45* Neg	Jiné HR HPV Poz	2,1 (1,4-2,8)	2,0 (1,4-2,7)
	Poz nebo Neg	HR HPV Poz	11,5 (10,3-12,4)	10,7 (9,8-11,4)
Negativní**	HPV 16 Neg a/nebo HPV 18/45* Neg	HR HPV Neg	1,1 (0,5-2,0)	0,6 (0,2-1,4)
Prevalence (%)			4,2%	4,6%

HR - Vysoce rizikové, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* HPV test polymerázové řetězové reakce rozlišuje pouze HPV 16 a HPV 18 z ostatních 12 vysoce rizikových genotypů, včetně HPV 45.

\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní v Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 19:** Relativní riziko onemocnění ( $\geq$  CIN3) dle výsledku testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a komerčně dostupného testu HPV PCR

Výsledek Aptima Assay		Výsledek testu HPV PCR	
Interpretace testu	Relativní riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)	Interpretace testu	Relativní riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 pozitivní vs. HR HPV negativní	12,6 (5,9-27,0)	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 pozitivní vs. HR HPV negativní	23,3 (8,4-64,3)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 pozitivní vs. jiné HR HPV pozitivní	3,0 (1,6-5,5)	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 pozitivní vs. jiné HR HPV pozitivní	3,1 (1,8-5,3)
Jiné HR HPV pozitivní v s. HR HPV negativní	4,2 (1,8-10,1)	Jiné HR HPV pozitivní vs. HR HPV negativní	7,6 (2,6-22,4)
HR HPV pozitivní vs. HR HPV negativní	8,3 (4,0-17,3)	HR HPV pozitivní vs. HR HPV negativní	14,4 (5,3-39,5)
Prevalence	4,2%	Prevalence	4,6%

### Klinická významnost testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay pomocí odběru a transportu cervikálních vzorků

CSCT vzorky byly odebírány ženám při rutinním screeningu nebo při následném sledování a testovány pomocí Aptima HPV Assay. Reziduální vzorky CSCT (n = 378) s pozitivním výsledkem Aptima HPV Assay byly testovány s pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému TIGRIS DTS. HPV genotyp každého vzorku byl stanoven za použití testu pro DNA genotypizaci. Vzorky s diskordantními nálezy testů genotypizace DNA a Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byly otestovány validovanou reverzní transkriptázou pomocí metody PCR a stanoven jejich HPV 16, HPV 18 a HPV 45 status. Byla stanovena klinická shoda (pozitivní i negativní) s Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay pro detekci vysoce rizikových typů HPV 16, 18 a 45. Výsledky uvádí Tabulka 20.

**Tabulka 20:** Klinická shoda Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay prováděného na systému Tigris DTS pro detekci vysoce rizikových typů HPV 16, 18 a 45 v CSCT vzorcích

		Referenční metoda				Celkem
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	
Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	125	0	1	0	126
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	0	43	0	1	44
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	0	0	8	1	9
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	1	1	0	197	199
	<b>Celkem</b>	126	44	9	199	378

Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

Pozitivní shoda: 98,3 % (176/179) (95% CI: 95,2, 99,4)

Negativní shoda: 99,0 % (197/199) (95% CI: 96,4, 99,7)

## Klinická významnost testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay pomocí odběru a transportu cervikálních vzorků

Klinická významnost Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byla vyhodnocena s použitím CSCT vzorků získaných od žen, které byly sledovány kvůli abnormálním cytologickým výsledkům Pap. Vzorky byly nejprve testovány pomocí Aptima HPV Assay (n = 651). Vzorky s pozitivním výsledkem Aptima HPV Assay (n = 414) pak byly testovány Aptima HPV Assay 16 18/45 genotype, jak na systému Tigris DTS, tak na systému Panther.

Klinické shoda Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay pro detekci vysoce rizikových typů HPV 16, 18 a 45 pro systém Panther byla stanovena na základě výsledků testování na systému Tigris DTS jako referenční metody. Bylo vypočítáno procento pozitivní a negativní shody a související 95% interval spolehlivosti. Výsledky uvádí Tabulka 21.

**Tabulka 21:** Klinická shoda testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay prováděného na systému Panther pro detekci vysoce rizikových typů HPV 16, 18 a 45 v CSCT vzorcích

		Výsledky systému Tigris DTS				Celkem
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	
Výsledky systému Panther	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	194	0	1	3	198
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	0	34	0	0	34
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	0	0	7	0	7
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	1	1	0	173	175
	<b>Celkem</b>	195	35	8	176	414

Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

Pozitivní shoda: 98,7 % (235/238) (95% CI: 96,4, 99,6)

Negativní shoda: 98,3 % (173/176) (95% CI: 95,1, 99,4)

## Srovnání výsledků testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther pro klinické vzorky před cytologickým vyšetřením ThinPrep a po něm

Byla provedena studie s cílem posoudit shodu výsledků testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther u cervikálních vzorků testovaných před cytologickým zpracováním v systému ThinPrep 5000 Processor (Pre-cytology) nebo po něm (Post-cytology).

Vzorky byly získány od žen, kterým byly v rámci standardního screeningu rakoviny děložního čípku odebrány vzorky děložního čípku a ponořeny do testovacích lahvíček ThinPrep Pap.

U každého subjektu byly dva 1mL alikvoty vzorku z děložního čípku uloženy v testovací lahvíčce ThinPrep Pap ručně přeneseny do transferové zkumavky na vzorek (vzorek A a vzorek B „Pre-cytology“). Po zpracování pomocí systému ThinPrep 5000 byl jeden 1 mL zbytkového vzorku ThinPrep přenesen do transferové zkumavky na vzorek (vzorek C „Post-cytology“).

Pomocí testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bylo vyhodnoceno celkem 214 vzorků s pozitivními výsledky testu Aptima HPV Assay. Četnost HPV 16 a/nebo HPV 18/45 zjištěná testem uvádí Tabulka 22 pro celkovou populaci, Tabulka 23 pro populaci NILM ( $\geq 30$  let) a Tabulka 24 pro populaci ASC-US ( $\geq 21$  let). Do analýzy byly zahrnuty pouze vzorky s pozitivním výsledkem testu Aptima HPV Assay pro vzorek A nebo vzorek B a pozitivním pro vzorek C.

**Tabulka 22:** Celková populace<sup>1</sup>: Četnost genotypů HPV 16 a/nebo 18/45 zjištěných testem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ve vzorcích Pre-cytology a Post-cytology

		Vzorky A a B Pre-cytology			
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Jiné HR HPV <sup>3</sup> Poz, HPV 16/18/45 Neg	Neurčeno <sup>4</sup>
<b>Vzorek C Post-cytology<sup>2</sup></b>	<b>HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg</b>	18	0	0	2
	<b>HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz</b>	0	9	2	4
	<b>HPV 16 Poz a HPV 18/45 Poz</b>	0	0	0	1
	<b>Jiné HR HPV<sup>3</sup> Poz, HPV 16/18/45 Neg</b>	0	0	175	3

HR = vysoké riziko, Neg = negativní, Poz = pozitivní.

<sup>1</sup> Celková populace zahrnuje > ASC-US, NILM, ASC-US.

<sup>2</sup> U všech vzorků je k dispozici kompletní sada výsledků pro vzorek v testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

<sup>3</sup> Genotypy HPV: 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a/nebo 68.

<sup>4</sup> Zahrnuje vzorky, u nichž je alespoň jeden precytologický vzorek (A nebo B) HPV 16 a/nebo HPV 18/45 negativní.

**Tabulka 23:** Populace NILM ≥ 30 let: Četnost genotypů HPV 16 a/nebo 18/45 zjištěných testem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ve vzorcích Pre-cytology a Post-cytology

		Vzorky A a B Pre-cytology			
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Jiné HR HPV <sup>2</sup> Poz, HPV 16/18/45 Neg	Neurčeno <sup>3</sup>
<b>Vzorek C Post-cytology<sup>1</sup></b>	<b>HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg</b>	5	0	0	2
	<b>HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz</b>	0	1	0	1
	<b>Jiné HR HPV<sup>2</sup> Poz, HPV 16/18/45 Neg</b>	0	0	71	2

HR = vysoké riziko, Neg = negativní, Poz = pozitivní.

<sup>1</sup> U všech vzorků je k dispozici kompletní sada výsledků pro vzorek v testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

<sup>2</sup> Genotypy HPV: 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a/nebo 68.

<sup>3</sup> Zahrnuje vzorky, u nichž je alespoň jeden precytologický vzorek (A nebo B) HPV 16 a/nebo HPV 18/45 negativní.

**Tabulka 24:** Populace ASC-US ≥21 let: Četnost genotypů HPV 16 a/nebo 18/45 zjištěných testem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ve vzorcích Pre-cytology a Post-cytology

		Vzorky A a B Pre-cytology			
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Jiné HR HPV <sup>2</sup> Poz, HPV 16/18/ 45 Neg	Neurčeno <sup>3</sup>
<b>Vzorek C Post- cytology<sup>1</sup></b>	<b>HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg</b>	3	0	0	0
	<b>HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz</b>	0	3	1	1
	<b>Jiné HR HPV<sup>2</sup> Poz, HPV 16/18/45 Neg</b>	0	0	48	0

HR = vysoké riziko, Neg = negativní, Poz = pozitivní.

<sup>1</sup> U všech vzorků je k dispozici kompletní sada výsledků pro vzorek v testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

<sup>2</sup> Genotypy HPV: 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a/nebo 68.

<sup>3</sup> Zahrnuje vzorky, u nichž je alespoň jeden precytologický vzorek (A nebo B) HPV 16 a/nebo HPV 18/45 negativní.

## Analytická citlivost

Mez detekce (LoD) u klinické hodnoty cut-off je taková koncentrace, která je pozitivní (nad klinickou hodnotou cut-off) v 95 % případů. Hodnota LoD testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byla odhadnuta na základě testování jednotlivých nebo poolovaných negativních cytologických vzorků na bázi tekutého média ThinPrep s přidavkem HPV *in vitro* transkriptů nebo HPV infikovaných buněčných kultur (SiHa, HeLa a MS751; ATCC, Manassas, Virginia) v různých koncentracích. Pro panel *in vitro* transkriptů bylo s každou ze 2 šarží reagensů testováno 60 replikátů na každé úrovni koncentrace do celkového počtu 120 replikátů. Pro panel buněčných linií bylo s každou ze 2 šarží reagensů testováno 30 replikátů na každé úrovni koncentrace do celkového počtu 60 replikátů. Testování bylo prováděno po dobu osmi dní, přičemž každý den byly provedeny minimálně tři cykly testování a v každém cyklu bylo vyšetřeno pět replikátů daného genotypu. Detekční limit 95 % (Tabulka 25) byl vypočten probitovou regresní analýzou pozitivních výsledků pro každý panel ředění.

**Tabulka 25:** Stanovení meze detekce u klinické hodnoty cut-off testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Cíl	Limit detekce* (95 % CI)
HPV 16	23,7 (19,1, 30,9)
HPV 18	26,1 (21,2, 33,9)
HPV 45	34,5 (28,5, 43,6)
SiHa	0,4 (0,3, 0,7)
HeLa	0,7 (0,4, 1,4)
MS751	0,2 (0,1, 0,3)

\* kopíí na reakci pro transkripty *in vitro* a buněk na reakci pro buněčné linie

## Reprodukovatelnost testu

Reprodukovatelnost testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byla hodnocena ve dvou studiích za pomoci stejného 24 členného panelu. Studie 1 byla provedena na 3 externích testovacích místech pro stanovení reprodukovatelnosti testu. Studie 2 byla pro stanovení laboratorní reprodukovatelnosti byla provedena na jednom místě. Panel zahrnoval 17 členů pozitivních na HPV 16 a/nebo 18/45 s koncentracemi na mezi detekce testu nebo nad ní (očekávaná pozitivita:  $\geq 95\%$ ), 3 členy pozitivní na HPV 16 a/nebo 18/45 s koncentracemi pod mezí detekce testu (očekávaná pozitivita:  $> 0\%$  až  $< 25\%$ ) a 4 členy negativní na HPV. Členy panelu pozitivní na HPV 16 a/nebo 18/45 byly připraveny přidavkem *in vitro* transkriptů nebo HPV infikovaných kultivovaných buněk (SiHa, HeLa a MS751; ATCC, Manassas, Virginia) do poolovaných cytologických vzorků na bázi tekutého média ThinPrep nebo naředěním klinických vzorků HPV 16, 18 a/nebo 45 do poolovaných zbytkových cytologických vzorků na bázi tekutého média ThinPrep ředěných pomocí STM. Členy panelu negativní na HPV byly připraveny pomocí poolovaných cytologických vzorků na bázi tekutého média ThinPrep nebo byl použit roztok PreservCyt naředěný pomocí STM.

Ve studii 1 prováděli dva operátoři na každém ze 3 testovacích míst (s 1 přístrojem na místě) 2 řady testování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay denně, a to po dobu 3 dnů. Testování bylo prováděno za použití 2 šarží reagensií. Každá testovací řada obsahovala 3 replikáty z každého vzorku panelu reprodukovatelnosti. Na každý vzorek z panelu (3 testovací místa x 1 přístroj x 2 operátoři x 2 šarže x 3 dny x 3 replikáty) bylo použito sto osm (108) jednotlivých zkumavek se vzorky. Ve studii 2 bylo in-house testování prováděno po dobu 13 dnů s celkem 162 testy reakcí každého vzorku z panelu (1 testovací místo x 3 přístroje x 3 operátoři x 3 šarže x 2 řady testování x 3 replikáty).

Členy panelu popisují Tabulka 26a a Tabulka 26b, v nichž je také uvedeno shrnutí shody s očekávanými výsledky pro HPV 16, resp. HPV 18/45. Tabulka 27 uvádí hodnoty S/CO analytu HPV 16 a HPV 18/45 na 2,5., 50. a 97,5. percentilu rozdělení S/CO. Variabilita S/CO analytu HPV 16 uvádí Tabulka 28 pro studii 1 a Tabulka 29 pro studii 2 u členů panelu s očekávaným pozitivním výsledkem pro HPV 16. Variabilita S/CO analytu HPV 18/45 uvádí Tabulka 30 pro studii 1 a Tabulka 31 pro studii 2 u členů panelu s očekávaným pozitivním výsledkem pro HPV 18/45.

**Tabulka 26a:** Studie 1 a 2 preciznosti testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: popis panelu a procentuální shoda s očekávanými výsledky pro HPV 16

Popis panelu (kopií nebo buněk/reakce)	HPV 16 Očekávaný výsledek	Procento shody (95 % CI)	
		Studie 1 (3 testovací místa)	Studie 2 (1 testovací místo)
HPV 16 IVT (240 kopií) Silně pozitivní	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (260 kopií) Silně pozitivní	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (350 kopií) Silně pozitivní	Negativní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV 16 klinický vzorek 1 Silně pozitivní	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinický vzorek 1 Silně pozitivní	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa buňky (4 buňky) – silně pozitivní a HeLa buňky (0,7 buňky) – slabě pozitivní	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa buňky (0,4 buňky) – slabě pozitivní a HeLa buňky (7 buněk) – silně pozitivní	Pozitivní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
SiHa buňky (0,4 buňky) Slabě pozitivní	Pozitivní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
HeLa buňky (0,7 buňky) Slabě pozitivní	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

Tabulka 26a: Studie 1 a 2 preciznosti testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: popis panelu a procentuální shoda s očekávanými výsledky pro HPV 16 (pokračování)

Popis panelu (kopií nebo buněk/reakce)	HPV 16 Očekávaný výsledek	Procento shody (95 % CI)	
		Studie 1 (3 testovací místa)	Studie 2 (1 testovací místo)
		MS751 buňky (0,2 buňky) Slabě pozitivní	Negativní
HPV 16 IVT (24 kopií) Slabě pozitivní	Pozitivní	100 (107/107) (96,5, 100)	96,9 (157/162) (93,2, 98,7)
HPV 18 IVT (26 kopií) Slabě pozitivní	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (35 kopií) Slabě pozitivní	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinický vzorek 2 Slabě pozitivní	Pozitivní	98,1 (105/107) (93,4, 99,5)	98,8 (160/162) (95,7, 99,7)
HPV 16 klinický vzorek 3 Slabě pozitivní	Pozitivní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
HPV 18/45 klinický vzorek 2 Slabě pozitivní	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinický vzorek 3 Slabě pozitivní	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa buňky (0,001 buňky) Silně negativní	Negativní	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (158/161) (94,8, 99,4)
HeLa buňky (0,001 buňky) Silně negativní	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751 buňky (0,006 buňky) Silně negativní	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní klinický vzorek 1	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní klinický vzorek 2	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní PreservCyt 1	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní PreservCyt 2	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = interval spolehlivosti

**Poznámka:** Procentuální shoda může být ovlivněna změnami v přidávání, ředění a/nebo alikvotech.

Tabulka 26b: Studie 1 a 2 preciznosti testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: popis panelu a procentuální shoda s očekávanými výsledky pro HPV 18/45

Popis panelu (kopií nebo buněk/reakce)	Očekávané výsledky HPV 18/45	Procento shody (95 % CI)	
		Studie 1 (3 testovací místa)	Studie 2 (1 testovací místo)
HPV 16 IVT (240 kopií) Silně pozitivní	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (260 kopií) Silně pozitivní	Pozitivní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (350 kopií) Silně pozitivní	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinický vzorek 1 Silně pozitivní	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinický vzorek 1 Silně pozitivní	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa buňky (4 buňky) – silně pozitivní a HeLa buňky (0,7 buňky) – slabě pozitivní	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

Tabulka 26b: Studie 1 a 2 preciznosti testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: popis panelu a procentuální shoda s očekávanými výsledky pro HPV 18/45 (pokračování)

SiHa buňky (0,4 buňky) – slabě pozitivní a HeLa buňky (7 buněk) – silně pozitivní	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa buňky (0,4 buňky) Slabě pozitivní	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Popis panelu (kopii nebo buněk/reakce)	Procento shody (95 % CI)		
	Očekávané výsledky HPV 18/45	Studie 1 (3 testovací místa)	Studie 2 (1 testovací místo)
HeLa buňky (0,7 buňky) Slabě pozitivní	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751 buňky (0,2 buňky) Slabě pozitivní	Pozitivní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	88,7 (141/159) (84,5, 93,5)
HPV 16 IVT (24 kopií) Slabě pozitivní	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (26 kopií) Slabě pozitivní	Pozitivní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (35 kopií) Slabě pozitivní	Pozitivní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
HPV 16 klinický vzorek 2 Slabě pozitivní	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinický vzorek 3 Slabě pozitivní	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinický vzorek 2 Slabě pozitivní	Pozitivní	100 (107/107) (96,5, 100)	95,7 (155/162) (91,7, 98,0)
HPV 18/45 klinický vzorek 3 Slabě pozitivní	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa buňky (0,001 buňky) Silně negativní	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
HeLa buňky (0,001 buňky) Silně negativní	Negativní	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
MS751 buňky (0,006 buňky) Silně negativní	Negativní	75,0 (81/108) (66,1, 82,2)	88,3 (143/162) (84,2, 93,2)
HPV-negativní klinický vzorek 1	Negativní	99,1 (106/107) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní klinický vzorek 2	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní PreservCyt 1	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní PreservCyt 2	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = interval spolehlivosti

**Poznámka:** Procentuální shoda může být ovlivněna změnami v přidávání, ředění a/nebo alikvotech.



**Tabulka 27:** Studie 1 a 2 preciznosti testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: percentilové rozložení hodnot S/CO analytu HPV 16 a HPV 18/45

Popis panelu (kopíí nebo buněk/reakce)	Percentil S/CO u analytu HPV 16						Percentil S/CO u analytu HPV 18/45					
	Studie 1 (3 testovací místa)			Studie 2 (1 testovací místo)			Studie 1 (3 testovací místa)			Studie 2 (1 testovací místo)		
	2,5.	50.	97,5.	2,5.	50.	97,5.	2,5.	50.	97,5.	2,5.	50.	97,5.
HPV 16 IVT (240 kopíí) Silně pozitivní	2,86	3,26	3,53	2,92	3,30	3,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
HPV 18 IVT (260 kopíí) Silně pozitivní	0,00	0,30	0,59	0,13	0,34	0,51	5,22	5,66	8,86	5,24	5,53	6,17
HPV 45 IVT (350 kopíí) Silně pozitivní	0,00	0,22	0,43	0,08	0,24	0,41	4,37	4,92	8,78	4,40	5,05	5,99
HPV 16 klinický vzorek 1 Silně pozitivní	2,49	3,12	3,34	2,67	3,10	3,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
HPV 18/45 klinický vzorek 1 Silně pozitivní	0,00	0,30	0,56	0,15	0,33	0,50	4,95	6,67	8,95	4,49	6,22	8,27
SiHa buňky (4 buňky) – silně pozitivní a HeLa buňky (0,7 buňky) – slabě pozitivní	2,48	3,26	3,60	2,83	3,29	3,62	3,76	4,64	6,16	4,12	4,58	5,28
SiHa buňky (0,4 buňky) – slabě pozitivní a HeLa buňky (7 buněk) – silně pozitivní	1,14	2,77	3,40	1,25	2,95	3,47	4,01	4,87	6,73	4,36	4,70	5,34
SiHa buňky (0,4 buňky) Slabě pozitivní	1,60	2,81	3,24	1,13	2,70	3,26	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00
HeLa buňky (0,7 buňky) Slabě pozitivní	0,00	0,31	0,56	0,17	0,33	0,52	3,63	5,11	7,17	4,15	5,15	5,66
MS751 buňky (0,2 buňky) Slabě pozitivní	0,00	0,26	0,41	0,12	0,28	0,38	1,33	4,23	6,28	0,34	3,34	5,38
HPV 16 IVT (24 kopíí) Slabě pozitivní	1,56	3,16	3,43	0,99	3,16	3,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
HPV 18 IVT (26 kopíí) Slabě pozitivní	0,00	0,30	0,52	0,14	0,30	0,51	4,76	5,48	8,01	4,47	5,42	5,86
HPV 45 IVT (35 kopíí) Slabě pozitivní	0,00	0,24	0,43	0,12	0,24	0,39	1,57	4,81	8,91	2,04	4,80	5,85
HPV 16 klinický vzorek 2 Slabě pozitivní	1,37	2,95	3,51	1,25	2,90	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
HPV 16 klinický vzorek 3 Slabě pozitivní	1,80	2,96	3,58	1,15	2,84	3,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
HPV 18/45 klinický vzorek 2 Slabě pozitivní	0,03	0,28	0,46	0,16	0,33	0,46	2,50	4,20	7,04	0,69	3,60	4,85
HPV 18/45 klinický vzorek 3 Slabě pozitivní	0,00	0,32	0,54	0,14	0,32	0,48	2,37	4,83	8,07	1,68	4,08	7,21
SiHa buňky (0,001 buňky) Silně negativní	0,28	0,32	1,12	0,28	0,31	0,43	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,02
HeLa buňky (0,001 buňky) Silně negativní	0,28	0,33	0,43	0,29	0,32	0,36	0,00	0,00	1,28	0,00	0,00	0,87
MS751 buňky (0,006 buňky) Silně negativní	0,17	0,32	0,35	0,27	0,32	0,36	0,00	0,01	4,32	0,00	0,01	2,03
HPV-negativní klinický vzorek 1	0,24	0,32	0,35	0,28	0,31	0,35	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,02
HPV-negativní klinický vzorek 2	0,27	0,32	0,35	0,29	0,32	0,34	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,03
HPV-negativní PreservCyt 1	0,27	0,33	0,37	0,30	0,33	0,36	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02
HPV-negativní PreservCyt 2	0,29	0,33	0,37	0,30	0,33	0,35	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,01

**Tabulka 28:** Studie 1 preciznosti testu Aptima HPV 16 18/45 Genotyp Assay: variabilita signálu analytu HPV 16 pro členy panelu s očekávaným pozitivním výsledkem pro HPV 16

Popis panelu (kopii nebo buněk/reakce)	N	Průměr S/CO	Mezi Pracovišti		Mezi uživateli		Mezi šaržemi		Mezi pracovními seznamy		V rámci pracovních seznamů		Celkem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV 16 IVT (240 kopií) Silně pozitivní	108	3,23	0,06	2,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,09	2,9	0,14	4,2	0,18	5,5
HPV 16, klinický vzorek 1 – silně pozitivní	108	3,07	0,07	2,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,11	3,6	0,16	5,2	0,21	6,8
SiHa buňky (4 buňky) – silně pozitivní a HeLa buňky (0,7 buňky) – slabě pozitivní	108	3,22	0,10	3,2	0,02	0,6	0,00	0,0	0,08	2,4	0,21	6,5	0,25	7,6
SiHa buňky (0,4 buňky) – slabě pozitivní a HeLa buňky (7 buněk) – silně pozitivní	108	2,63	0,05	1,8	0,00	0,0	0,00	0,0	< 0,0 1	0,0	0,58	22,3	0,59	22,3
SiHa buňky (0,4 buňky) Slabě pozitivní	108	2,65	0,00	0,0	0,00	0,0	0,12	4,6	0,00	0,0	0,44	16,6	0,46	17,3
HPV 16 IVT (24 kopii) Slabě pozitivní	107*	3,01	0,06	2,1	0,05	1,5	0,05	1,6	0,00	0,0	0,44	14,6	0,45	14,9
HPV 16 klinický vzorek 2 Slabě pozitivní	107*	2,88	0,08	2,8	0,00	0,0	0,08	2,9	0,17	5,9	0,39	13,7	0,44	15,4
HPV 16 klinický vzorek 3 Slabě pozitivní	108	2,89	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,14	4,8	0,39	13,5	0,41	14,4

CV = koeficient variability, SD = směrodatná odchylka

\*U dvou vzorků byly výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay neplatné a nebyly do analýz zahrnuté.

Poznámka: Variabilita některých faktorů může dosahovat záporných číselných hodnot. K tomu dochází v případě, že je variabilita u těchto faktorů velmi nízká. V těchto případech je hodnota SD a CV uvedena jako nula.

**Tabulka 29:** Studie 2 preciznosti testu Aptima HPV 16 18/45 Genotyp Assay: variabilita signálu analytu HPV 16 pro členy panelu s očekávaným pozitivním výsledkem pro HPV 16

Popis panelu (kopíí nebo buněk/reakce)	N	Průměr S/CO	Mezi přístroji		Mezi uživateli		Mezi šaržemi		Mezi pracovními seznamy		V rámci pracovních seznamů		Celkem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV 16 IVT (240 kopíí) Silně pozitivní	162	3,28	0,05	1,5	0,02	0,5	0,12	3,8	0,17	5,3	0,13	3,8	0,25	7,7
HPV 16 klinický vzorek 1 Silně pozitivní	162	3,08	0,04	1,2	0,00	0,0	0,08	2,6	0,07	2,3	0,19	6,2	0,22	7,2
SiHa buňky (4 buňky) – silně pozitivní a HeLa buňky (0,7 buňky) – slabě pozitivní	162	3,27	0,05	1,6	0,00	0,0	0,05	1,4	0,13	4,0	0,18	5,5	0,23	7,2
SiHa buňky (0,4 buňky) – slabě pozitivní a HeLa buňky (7 buněk) – silně pozitivní	162	2,78	0,08	2,8	0,04	1,3	0,28	10,2	0,20	7,1	0,53	18,9	0,64	22,8
SiHa buňky (0,4 buňky) Slabě pozitivní	162	2,54	0,16	6,2	0,05	2,0	0,29	11,4	0,25	9,9	0,47	18,6	0,63	24,8
HPV 16 IVT (24 kopíí) Slabě pozitivní	162	3,04	0,03	1,0	0,05	1,5	0,20	6,5	0,34	11,3	0,36	11,8	0,54	17,7
HPV 16 klinický vzorek 2 Slabě pozitivní	162	2,77	0,08	2,9	0,00	0,0	0,23	8,3	0,21	7,5	0,37	13,3	0,49	17,7
HPV 16 klinický vzorek 3 Slabě pozitivní	162	2,67	0,03	1,1	0,04	1,6	0,22	8,1	0,25	9,2	0,49	18,2	0,59	22,0

CV = koeficient variability, SD = směrodatná odchylka

**Poznámka:** Variabilita některých faktorů může dosahovat záporných číselných hodnot. K tomu dochází v případě, že je variabilita u těchto faktorů velmi nízká. V těchto případech je hodnota SD a CV uvedena jako nula.

**Tabulka 30:** Studie 1 preciznosti testu Aptima HPV 16 18/45 Genotyp Assay: variabilita signálu analytu HPV 18/45 pro členy panelu s očekávaným pozitivním výsledkem pro HPV 18/45

Popis panelu (kopií nebo buněk/reakce)	N	Průměr S/CO	Mezi Pracovišti		Mezi uživateli		Mezi šaržemi		Mezi pracovními seznamy		V rámci pracovních seznamů		Celkem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV 18 IVT (260 kopií) Silně pozitivní	107*	5,88	0,33	5,5	0,52	8,9	0,00	0,0	0,43	7,4	0,17	2,8	0,77	13,1
HPV 45 IVT (350 kopií) Silně pozitivní	108	5,12	0,43	8,4	0,47	9,2	0,31	6,1	0,58	11,3	0,18	3,6	0,93	18,2
HPV 18/45 klinický vzorek 1 Silně pozitivní	108	6,71	0,66	9,8	0,58	8,7	0,50	7,5	0,42	6,2	0,94	14,0	1,44	21,5
SiHa buňky (4 buňky) – silně pozitivní a HeLa buňky (0,7 buňky) – slabě pozitivní	108	4,69	0,22	4,7	0,10	2,1	0,08	1,7	0,10	2,2	0,54	11,4	0,60	12,8
SiHa buňky (0,4 buňky) – slabě pozitivní a HeLa buňky (7 buněk) – silně pozitivní	108	4,94	0,28	5,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,38	7,7	0,42	8,4	0,63	12,7
HeLa buňky (0,7 buňky) Slabě pozitivní	108	5,17	0,38	7,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,40	7,6	0,56	10,8	0,78	15,1
MS751 buňky (0,2 buňky) Slabě pozitivní	108	4,00	0,62	15,4	0,00	0,0	0,38	9,5	0,47	11,8	0,94	23,5	1,28	31,9
HPV 18 IVT (26 kopií) Slabě pozitivní	108	5,52	0,21	3,8	0,15	2,7	0,00	0,0	0,37	6,7	0,60	10,9	0,75	13,7
HPV 45 IVT (35 kopií) Slabě pozitivní	108	4,71	0,34	7,1	0,41	8,6	0,15	3,1	0,69	14,6	0,88	18,6	1,24	26,3
HPV 18/45 klinický vzorek 2 Slabě pozitivní	107*	4,29	0,17	4,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,38	8,9	1,05	24,6	1,13	26,5
HPV 18/45 klinický vzorek 3 Slabě pozitivní	108	5,12	0,38	7,5	0,00	0,0	0,38	7,4	0,00	0,0	1,37	26,8	1,47	28,8

CV = koeficient variability, SD = směrodatná odchylka

\*U dvou vzorků byly výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay neplatné a nebyly do analýz zahrnuty.

**Poznámka:** Variabilita některých faktorů může dosahovat záporných číselných hodnot. K tomu dochází v případě, že je variabilita u těchto faktorů velmi nízká. V těchto případech je hodnota SD a CV uvedena jako nula.

**Tabulka 31:** Studie 2 preciznosti testu Aptima HPV 16 18/45 Genotyp Assay: variabilita signálu analytu HPV 18/45 pro členy panelu s očekávaným pozitivním výsledkem pro HPV 18/45

Popis panelu (kopíí nebo buněk/reakce)	N	Průměr S/CO	Mezi přístroji		Mezi uživateli		Mezi šaržemi		Mezi pracovními seznamy		V rámci pracovních seznamů		Celkem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV 18 IVT (260 kopíí) Silně pozitivní	162	5,56	0,08	1,5	0,06	1,1	0,05	0,9	0,13	2,4	0,14	2,6	0,23	4,1
HPV 45 IVT (350 kopíí) Silně pozitivní	162	5,09	0,16	3,1	0,00	0,0	0,54	10,6	0,46	9,1	0,12	2,3	0,74	14,5
HPV 18/45 klinický vzorek 1 Silně pozitivní	161*	6,22	0,10	1,7	0,00	0,0	0,26	4,2	0,00	0,0	1,06	17,1	1,10	17,7
SiHa buňky (4 buňky) – silně pozitivní a HeLa buňky (0,7 buňky) – slabě pozitivní	162	4,59	0,00	0,0	0,07	1,5	0,07	1,4	0,20	4,3	0,23	5,0	0,32	6,9
SiHa buňky (0,4 buňky) – slabě pozitivní a HeLa buňky (7 buněk) – silně pozitivní	162	4,78	0,00	0,0	0,08	1,7	0,00	0,0	0,30	6,3	0,24	5,0	0,39	8,2
HeLa buňky (0,7 buňky) Slabě pozitivní	162	5,08	0,08	1,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,15	3,0	0,31	6,1	0,35	7,0
MS751 buňky (0,2 buňky) Slabě pozitivní	159*	3,19	0,18	5,7	0,36	11,2	0,71	22,4	0,15	4,7	1,36	42,6	1,59	50,0
HPV 18 IVT (26 kopíí) Slabě pozitivní	162	5,38	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,23	4,4	0,25	4,7	0,35	6,4
HPV 45 IVT (35 kopíí) Slabě pozitivní	162	4,79	0,31	6,4	0,11	2,3	0,55	11,4	0,62	13,0	0,50	10,5	1,02	21,4
HPV 18/45 klinický vzorek 2 Slabě pozitivní	162	3,21	0,00	0,0	0,02	0,8	0,36	11,1	0,00	0,0	1,14	35,5	1,20	37,2
HPV 18/45 klinický vzorek 3 Slabě pozitivní	162	4,09	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,15	3,6	1,33	32,6	1,34	32,8

CV = koeficient variability, SD = směrodatná odchylka

\*U dvou vzorků byly výsledky testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay neplatné a nebyly do analýz zahrnuty.

**Poznámka:** Variabilita některých faktorů může dosahovat záporných číselných hodnot. K tomu dochází v případě, že je variabilita u těchto faktorů velmi nízká. V těchto případech je hodnota SD a CV uvedena jako nula.

## Zkřížená reaktivita

**Poznámka:** Testování s potenciálně zkříženě reagujícími organismy pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bylo provedeno s použitím systému Tigris DTS. Test Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byl poprvé uveden na trh v rámci systému Tigris DTS v roce 2012. V roce 2013 byly indikace rozšířeny o použití testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther. Systém Panther je menší přístrojová platforma, představující alternativu k systému Tigris DTS. Oba systémy jsou určeny k plné automatizaci testování amplifikovaných nukleových kyselin v diagnostických testech. Vybrané testování funkčních vlastností testu provedené na systému Tigris DTS bylo využito pro podporu funkčních vlastností testu na systému Panther.

Analytická specifita testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byla hodnocena se poolovanými zbytkovými vzorky na bázi tekutého média ThinPrep ředěnými v poměru 1 : 2,9 do média STM (v porovnání se vzorky přenesenými do transferové zkumavky na vzorek). K nim byla přidána kultura bakterií, kvasinek nebo hub, kultura virů, nebo necílené HPV *in vitro* transkripty. Testované koncentrace a konkrétní organismy, u kterých nebyla pozorována zkřížená reaktivita, uvádí Tabulka 32. Kritéria studie posouzení vlivu přítomnosti mikroorganismů na specifitu testu byly založeny na pozitivitě.

**Tabulka 32:** Panel analytické specifčnosti: Organismy a koncentrace bez zkřížené reaktivity

Organismus	Testovaná koncentrace bez zkřížené reaktivity	Organismus	Testovaná koncentrace bez zkřížené reaktivity
<b>Bakterie</b>			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium*</i>	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 x 10 <sup>5</sup> IFU/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Prevotaella bivia</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml		
<b>Necílené vysoce rizikové HPV genotypy*</b>			
HPV 31	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 56	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 33	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 58	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 35	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 59	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 39	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 66	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 51	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 68	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml

Tabulka 32: Panel analytické specifčnosti: Organismy a koncentrace bez zkřížené reaktivity (pokračování)

Organismus	Testovaná koncentrace bez zkřížené reaktivity	Organismus	Testovaná koncentrace bez zkřížené reaktivity
HPV 52	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml		
<b>Kvasinky/houby</b>			
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i> **	1×10 <sup>5</sup> buněk/ml
<b>Viry</b>			
Adenovirus	5,25×10 <sup>7</sup> PFU/mL	HIV-1	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
Cytomegalovirus	1,58×10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	Herpes simplex virus 1	3,39×10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Epstein-Barr virus	1,59×10 <sup>5</sup> TD <sub>50</sub> /mL	Herpes simplex virus 2	2,29×10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
<b>Necílené ostatní HPV genotypy*</b>			
HPV 6	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 53	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 11	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 67	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 26	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 69	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 30	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 70	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 34	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 73	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 42	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 82	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 43	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 85	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 44	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml		

CFU = kolonie formující jednotka, PFU = plaky formující jednotka, TD<sub>50</sub> = 50 % transformační dávka, TCID<sub>50</sub> = 50 % infekční tkáňová dávka

\*Testovaný *in vitro* transkript.

\*\*Ačkoli u *Trichomonas vaginalis* nebyla prokázána zkřížená reaktivita, byly pozorovány interference (viz níže).

Analytická senzitivita testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay v přítomnosti mikroorganismů byla hodnocena stejným panelem, jaký popisuje Tabulka 32, k němuž byly také přidány nízké koncentrace HPV infikovaných buněk SiHa (1,6 buňky na reakci) a HPV infikovaných HeLa buněk (0,3 buňky na reakci). Kritéria studie posouzení vlivu přítomnosti mikroorganismů na senzitivitu testu byly založeny na pozitivě. Přítomnost mikroorganismů neinterferuje s Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay s výjimkou *Trichomonas vaginalis* (TV). Interference byla pozorována s *Trichomonas vaginalis*, pokud je ten přítomen v koncentraci vyšší než 3 × 10<sup>4</sup> buněk/ml.

## Interference

**Poznámka:** Testování potenciálně interferujících substancí pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bylo provedeno s použitím systému Tigris DTS. Test Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byl poprvé uveden na trh v rámci systému Tigris DTS v roce 2012. V roce 2013 byly indikace rozšířeny o použití testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther. Systém Panther je menší přístrojová platforma, představující alternativu k systému Tigris DTS. Oba systémy jsou určeny k plné automatizaci testování amplifikovaných nukleových kyselin v diagnostických testech. Vybrané testování funkčních vlastností testu provedené na systému Tigris DTS bylo využito pro podporu funkčních vlastností testu na systému Panther.

Látky popsané v Tabulka 33 byly jednotlivě přidány do směsných cytologických vzorků na bázi tekutého média ThinPrep naředěných 1:2,9 v STM v koncentracích uvedených v tabulce. Všechny látky byly testovány pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay v přítomnosti i nepřítomnosti HPV infikovaných kultivovaných buněk (SiHa, 1,6 buňky/reakci a HeLa, 0,3 buňky/reakci). Interference byla pozorována u následujících substancí, pokud jsou přítomny ve vyšších koncentracích než je uvedeno: vaginální lubrikanty (obsahující Polyquaternium 15) v 1 % hmot./obj., protiplísňové krémy (obsahující tiokonazol) v koncentraci 0,03 % hmot./obj., hlen v koncentraci 0,3 % hmot./obj., hormony obsahující progesteron v 1 % hmot./obj..

**Tabulka 33:** Substance testované na případnou interferenci s Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Kategorie produktu	Značka nebo typ produktu	Nejvyšší testovaná koncentrace, která neinterferovala s testem*
Vaginální lubrikans	KY natural feeling liquid	10 % obj./obj.
	up & up (cílová značka) osobní tekutý librikant	
	Astroglide**	1 % hmot./obj.
Spermicidní/kontracepční gely	Vaginální antikoncepční pěna (VCF)	10 % hmot./obj.
	Kontracepční gel Options Conceptrol Vaginal	
Protiplísňové krémy	up & up (cílová značka) miconazole 3	10 % hmot./obj.
	Monistat 3 Kombinovaný balíček	
	up & up (cílová značka) Tioiconazole 1	0,03 % hmot./obj.
Přípravky používané k výplachům pochvy	Summer's Eve Douche	10 % obj./obj.
	up & up (cílová značka) feminine douche	
Deodoranty	Summer's Eve Feminine Deodorant Spray	10 % hmot./obj.
	FDS Feminine Deodorant Spray	
Hlen	Prasečí mucin	0,3 % hmot./obj.
Intravaginální hormony	Vaginální krém Estrace (estrogen)	10 % hmot./obj.
	Krém Crinone (progesteron)	1 % hmot./obj.
Plná krev***	plná krev	5 % obj./obj.
Leukocyty	leukocyty	1×10 <sup>7</sup> buněk/ml
Promývací roztok ledové kyseliny octové	Ledová kyselina octová + roztok CytoLyt	2,6 % obj./obj.

\*Koncentrace v testovaném vzorku; cytologické vzorky na bázi tekutého média ThinPrep ředěné v poměru 1 : 2,9 do STM (v porovnání se vzorky přenesenými do transferové zkumavky na vzorek)

\*\* Lubrikant, který obsahuje Polyquaternium 15.

\*\*\* plná krev interferuje s testováním, pokud je přítomna v 10 % obj./obj. koncentraci

^Promývací roztok ledové kyseliny octové se připraví smícháním 1 dílu ledové kyseliny octové a 9 dílů roztoku Cytolyt, jak je popsáno v příručce obsluhy systémů ThinPrep.



## Literatura

1. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. (Molekulární biologie infekce lidským papilomavirem a rakoviny děložního čípku.) *Clin Sci (Lond)*. 110(5):525-41.
2. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan a C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. (Kontrola rakoviny děložního čípku, priority a nové směry.) *Int J Cancer*. 108(3):329-33. Erratum in: *Int J Cancer*. 108(6):945.
3. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. (Lidský papilomavirus představuje nezbytnou příčinu invazivního karcinomu děložního čípku na celém světě.) *J Pathol*. 189:12-19.
4. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson a A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. (Epidermální karcinom spojený s expresí onkogenů E6 a E7 lidského papilomaviru typu 16 v kůži transgenických myší.) *Proc Natl Acad Sci U S A*. 90(12):5583-7.
5. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll a C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. (Typově specifická perzistence vysoce rizikových lidských papilomavirů (HPV) jako indikátor vysokého stupně cervikálních intraepiteliálních lézí u mladých žen: populační prospektivní sledovací studie.) *BMJ*. 325(7364): 572–579.
6. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. (Lidský papilomavirus a rakovina děložního čípku.) *Clin Microbiol Rev*. 16(1):1–17.
7. **Li N., Franceschi S., Howell-Jones R., Snijders P.J.F., Clifford G.M.** Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. (Rozložení typů lidského papilomaviru u 30 848 invazivních karcinomů děložního čípku na celém světě: variance podle zeměpisné oblasti, histologického typu a roku publikace.) *Int J Cancer*. 2011;128: 927-935. doi 10.1002/ijc.25396.
8. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. (Přetrvávání DNA a RNA specifické pro lidský papilomavirus – důsledky pro progresi a sledování onemocnění děložního čípku.) *J. Med. Virol*. 73(1): 65–70.
9. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely a G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? (Může test na E6/E7 transkripty lidského papilomaviru typu 16 sloužit jako diagnostický nástroj k detekci mikrometastáz u rakoviny děložního čípku?) *Int J Cancer*. 64(3):211-5.
10. **De Sanjose S., et al.** 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. (Genotypová atribuce lidského papilomaviru u invazivního karcinomu děložního čípku: retrospektivní průřezová celosvětová studie.) *The Lancet*. DOI 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
11. **Burger R.A., B. J. Monk, T. Kurosaki, H. Anton-Culver, S. Vasilv, M. L. Berman a S.P. Wilczynski.** 1996. Human Papillomavirus Type 18: Association with poor prognosis in early stage cervical cancer. (Lidský papilomavirus typu 18: souvislost se špatnou prognózou u časných stadií karcinomu děložního čípku.) *J. Nat. Cancer institute*. 88(19): 1361–1368.
12. **Safaeian M., M. Schiffman, J. Gage, D. Solomon, C. Wheeler a P. Castle.** 2009. Detection of Precancerous Cervical Lesions Is Differential by Human Papillomavirus Type. (Detekce prekancerózní děložního čípku je diferencovaná podle typu lidského papilomaviru.) *Cancer Res*. 69(8): 3262–3266.
13. **Khan, M.J., P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder, M. Sherman, D.R. Scott, B.B. Rush, A.G. Glass a M. Schiffman.** 2005. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. (Zvýšené desetileté riziko prekancerózy a karcinomu děložního čípku u žen s lidským papilomavirem (HPV) typu 16 nebo 18 a možná užitečnost testování HPV specifického pro daný typ v klinické praxi.) *J. Natl. Cancer Inst*. 97(14): 1072–1079.
14. **ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology (Americká společnost pro kolposkopii a cervikální patologii).** HPV Genotyping Clinical Update. (Klinické aktualizace genotypizace HPV.) 2009. [http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical\\_update\\_20090408.pdf](http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical_update_20090408.pdf). Přístup čtvrtek 22. března 2012.
15. **Wright T.C., S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E.J. Wilkinson a D. Solomon.** 2007. 2006 Consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. (Konsenzuální pokyny pro léčbu žen s abnormálními výsledky cervikálních screeningových testů.) *Journal of Lower Genital Tract Disease*. 11(4):201-222.
16. **Kacian, D.L. a T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. (Metody amplifikace sekvence nukleových kyselin.) Patent USA 5 399 491.
17. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese a N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. (Formáty testů zahrnující sondy DNA značené akridiniumesterem.) *Clin Chem*. 35: 1588–1594.
18. **Nelson, N.C., A. BenCheikh, E. Matsuda a M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. (Současná detekce více cílů v podobě nukleových kyselin v homogenním formátu.) *Biochem*. 35: 8429–8438.

## Kontaktní informace a historie revizí



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



Adresa zadavatele v Austrálii:  
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd  
Macquarie Park NSW 2113



**Hologic BV**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

E-mailovou adresu a telefonní číslo oddělení technické podpory a zákaznických služeb ve vaší zemi naleznete na adrese [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

Tento produkt je určen pouze pro použití v humánní *in vitro* diagnostice.

Závažné události, ke kterým dojde v souvislosti s prostředkem v Evropské unii, by měly být hlášeny výrobci a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém je uživatel a/nebo pacient usazen.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, PreservCyt, ThinPrep a Tigris jsou ochranné známky a/nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc., a/nebo jejích dceřiných společností na území USA a/nebo jiných zemí.

SUREPATH a PREPSTAIN jsou ochranné známky TriPath Imaging, Inc.

Veškeré ostatní ochranné známky, které se mohou vyskytnout v této příbalové informaci, jsou majetkem příslušných vlastníků.

Tento produkt může být krytý jedním či více patenty USA uvedenými na webové stránce [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2007-2022 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.  
AW-22203-2601 Rev. 001  
2022-09

Historie revizí	Datum	Popis
AW-22203 Rev. 001	Září 2022	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vytvořen návod k použití testu Aptima HPV-GT AW-22203, rev. 001, na základě AW-11504, rev. 010, pro splnění požadavků nařízení IVDR.</li> <li>Aktualizovány informace o nebezpečnosti, platné pro EU</li> <li>Aktualizované části Obecné informace o zamýšleném použití, Varování a bezpečnostní opatření, Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi, Postup kontroly kvality, Odběr a skladování vzorků, Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky, Požadované materiály dostupné samostatně a Charakteristiky testování v systému Panther.</li> <li>Aktualizované tabulka 18 a tabulka 19 v části Klinická významnost testování SurePath cytologických vzorků na bázi tekutého média pomocí testu Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.</li> <li>Aktualizace kontaktních údajů včetně: informací o zástupci v ES, označení CE, australském zástupci a technické podpoře.</li> </ul>