

Test Aptima™ HPV Assay (systém Panther™)

Návod k použití
K diagnostickému použití *in vitro*

Pouze pro export z USA

Obecné informace	2
Určené použití	2
Souhrn a vysvětlení testu	2
Principy metody	3
Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti	4
Varování a bezpečnostní opatření	4
Požadavky na skladování reagensů a manipulaci s nimi	6
Odběr a uchování vzorku	7
Systém Panther	9
Dodávané reagensie a materiály	9
Potřebný materiál, který se dodává zvlášť	10
Volitelné materiály	11
Testovací postup systému Panther	11
Poznámky k postupům	13
Postupy kontroly kvality	15
Interpretace testu	16
Omezení	17
Očekávané výsledky testů systému Panther: Prevalence vysoce rizikové mRNA HPV	18
Účinnost testů systému Panther	21
Bibliografie	48
Kontaktní informace a historie revizí	50

Obecné informace

Určené použití

Aptima HPV Assay (Test Aptima HPV) je cílový amplifikační test sondy nukleové kyseliny pro *in vitro* kvalitativní detekci E6/E7 virové mediátorové RNA (mRNA) ze 14 vysoce rizikových typů lidského papillomaviru (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Aptima HPV Assay nerozlišuje mezi 14 vysoce rizikovými typy.

- Aptima HPV Assay je indikován k použití při screeningu pacientek s výsledkem Pap testu ASC-US (atypické dlaždicové buňky neurčeného významu) k určení, zda je potřebné kolposkopické vyšetření. Výsledky testu nejsou určeny ke zjištění nepotřebnosti kolposkopie pro ženy.
- Aptima HPV Assay lze použít jako adjuvantní vyšetření (kombinované testování „co-testing“) k cervikální cytologii pro posouzení přítomnosti nebo nepřítomnosti vysoce rizikových typů HPV. Tyto informace spolu s lékařovým posouzením historie cytologie, dalších rizikových faktorů a oborových předpisů lze použít jako vodítko při terapii pacientky.
- Aptima HPV Assay lze použít jako prvotní screeningový test, ve spojení s cervikální cytologií či bez ní, k určení žen se zvýšeným rizikem vzniku rakoviny děložního čípku nebo ohrožených jiným závažným onemocněním. Tyto informace spolu s lékařovým posouzením historie screeningu pacientky, dalších rizikových faktorů a oborových předpisů lze použít jako vodítko při terapii pacientky.

Test Aptima HPV Assay lze použít k testování následujících typů vzorků na systému Panther: cervikální vzorky odebrané do lahvíček ThinPrep™ Pap Test s roztokem PreservCyt™ před zpracováním Pap nebo po něm, cervikální vzorky odebrané pomocí soupravy pro odběr a transport cervikálních vzorků Aptima nebo cervikální vzorky uchovávané v ochranné tekutině SurePath.

Souhrn a vysvětlení testu

Rakovina děložního čípku je jedním z nejčastějších druhů rakoviny u žen na světě. HPV je patogenní agens, které je zodpovědné za více než 99% všech případů rakoviny děložního čípku.^{1, 2, 3} HPV je běžný pohlavně přenosný DNA virus skládající se z více než 100 genotypů.¹

Virový genom HPV je dvojřetězcová kruhová DNA v délce přibližně 7900 párů. Genom má osm překrývajících se otevřených čtecích rámců. Skládá se ze šesti raných genů (E), dvou pozdních genů (L) a jedné dlouhé kontrolní oblasti bez translace. Geny L1 a L2 kódují hlavní a vedlejší proteinové kapsidy. Rané geny regulují replikaci viru HPV. Geny E6 a E7 z vysoce rizikových genotypů HPV jsou známé onkogeny. Proteiny z E6/E7 polycistronické mRNA mění funkce buněčného proteinu p53 a proteinu retinoblastomu, což vede k narušení kontrolních bodů buněčného cyklu a nestabilitě genomu buňky.^{6, 5}

Čtrnáct HPV genotypů je považováno za patogenní nebo vysoce rizikové pro onemocnění děložního čípku.⁵ Spojitost genotypů 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68 s progresí onemocnění prokázaly četné studie.^{2, 6, 7} U žen s přetrvávající infekcí některým z těchto typů hrozí zvýšené riziko rozvoje závažné dysplazie nebo cervikálního karcinomu.^{5, 8}

Infekce HPV jsou velmi časté a většina žen se zbaví infekcí HPV do 6 až 12 měsíců.^{42, 12} Přítomnost nukleové kyseliny HPV ještě neznamená přítomnost cervikální dysplazie nebo rakoviny děložního čípku. Účinný přístup k detekci cervikálního onemocnění však znamená zaměřit tyto onkogenní elementy HPV, které napomáhají přetrvávající virové infekci a buněčné transformaci.³

Klinická účinnost Aptima HPV Assay při primárním screeningu rakoviny děložního čípku

Klinická účinnost testu Aptima HPV Assay při použití v primární screeningové modalitě byla zkoumána v několika studiích nezávislými výzkumníky. Nejméně 25 recenzovaných publikací¹¹⁻³⁵ z 15 samostatných klinických studií informuje o účinnosti testu Aptima HPV při primárním screeningu u žen v jedenácti zemích (Čína, Kanada, Francie, Mexiko, Anglie, Dánsko, Nizozemsko, Spojené státy, Německo, Švédsko a Thajsko). Data z těchto studií ukazují, že test Aptima HPV Assay dosahuje srovnatelné klinické účinnosti jako jiné klinicky ověřené testy HPV použité při primárním screeningu prekarcinomu a karcinomu děložního čípku.

Principy metody

Aptima HPV Assay se skládá ze tří hlavních kroků, které probíhají v jedné zkumavce: technologie záchytu cíle, amplifikace cíle pomocí transkripce mediované amplifikace (TMA),⁴² a detekce produktů amplifikace (amplikon) pomocí testu ochrany hybridizací (HPA).⁴³ Test zahrnuje vnitřní kontrolu (IC) pro sledování zachycení, amplifikaci a detekci nukleové kyseliny a rovněž chyb operátora nebo přístroje.

Vzorky jsou odebrány nebo přeneseny do zkumavky obsahující roztok pro přepravu vzorků (STM), která lyzuje buňky, uvolňuje mRNA a chrání před degradací během skladování. Při Aptima HPV Assay se ze vzorku izoluje cílová mRNA pomocí záchytových oligomerů, které jsou spojeny s magnetickými mikročásticemi. Záchytové oligomery obsahují sekvence komplementární ke konkrétní oblasti cílových molekul mRNA HPV, stejně jako řetězec deoxyadenosinových zbytků. Během kroku hybridizace se oblasti specifické pro sekvence záchytových oligomerů váží na specifické oblasti cílové molekuly mRNA HPV. Komplex záchytový oligomer:cíl je potom z roztoku vychytáván snížením teploty reakce na pokojovou teplotu. Toto snížení teploty umožňuje hybridizaci mezi deoxyadenosinovou oblastí na záchytových oligomerech a polydeoxythimidinovými molekulami, které jsou kovalentně připojeny k magnetickým částicím. Mikročástice včetně zachycených cílových molekul mRNA HPV, které jsou na ně navázané, jsou pomocí magnetů zataženy ke straně zkumavky, kde dojde k odsání supernatantu. Částice se promyjí, aby se odstranila rezidua matrice vzorku, která mohou obsahovat inhibitory amplifikace.

Po dokončení zachycení cíle je mRNA HPV amplifikována pomocí TMA (metody amplifikace nukleové kyseliny založené na transkripci), která využívá dva enzymy, reverzní MMLV transkriptázu a T7 polymerázu RNA. Reverzní transkriptáza se používá k vytvoření kopie DNA sekvence cílové mRNA obsahující sekvenci promotoru pro RNA polymerázu T7. RNA polymeráza T7 produkuje více kopií RNA amplikonu z kopie DNA templátu.

Detekce amplikonu je dosaženo metodou HPA využívající jednořetězcové sondy nukleové kyseliny s chemoluminiscenčním značením, které jsou komplementární k amplikonu. Značené sondy nukleové kyseliny hybridizují specificky k amplikonu. Selekční reagencie diferencují mezi hybridizovanými a nehybridizovanými sondami pomocí inaktivace značení na nehybridizovaných sondách. V průběhu detekce se světlo vyzařované z označených hybridů RNA:DNA měří v luminometru jako fotonové signály zvané relativní světelné jednotky (Relative Light Units – RLU). Konečné výsledky testu se interpretují na základě poměru signálu analytu ku cutoff (S/CO).

Ke každé reakci se přidává vnitřní kontrola (IC) prostřednictvím reagencie pro zachycení cíle. IC monitoruje zachycení cíle, amplifikaci a detekční kroky testu. Signál IC je při každé reakci odlišen od signálu HPV podle odlišné kinetiky emise světla ze sond s různým značením.⁴⁴ Amplikon specifický pro IC je detekován sondou s rychlou emisí světla (flasher). Amplikon specifický pro HPV je detekován pomocí sond s relativně pomalejší kinetikou emise světla (glower). Dvojitý kinetický test (DKA) je metoda používaná k rozlišení mezi signály značek flasherů a glowerů.⁴⁴

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti (Summary of Safety and Performance – SSP) je k dispozici v evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen s příslušnými identifikátory prostředku (základní UDI-DI). Souhrn SSP k testu Aptima HPV Assay vyhledáte podle základního jedinečného identifikátoru prostředku (Basic Unique Device Identifier – BUDI): **54200455DIAGAPTHPVBR**.

Varování a bezpečnostní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*.
- B. Pouze pro odborné použití.
- C. Další specifická varování a bezpečnostní opatření najdete v *příručce obsluhy k systému Panther / Panther Fusion*.

Související s laboratoří

- D. Používejte pouze dodané nebo specifikované jednorázové laboratorní materiály.
- E. Dodržujte běžná laboratorní bezpečnostní opatření. V určených pracovních prostorech nejezte, nepijte ani nekuřte. Při manipulaci se vzorky a reagensy soupravy používejte jednorázové rukavice bez talku, ochranu očí a laboratorní pláště. Po manipulaci se vzorky a s reagensy soupravy si důkladně umyjte ruce.
- F. **Varování: Dráždivé látky a žíraviny:** Zamezte styku reagensie 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 další vybavení pravidelně dekontaminujte 2,5% až 3,5% (0,35mol až 0,5mol) roztokem chlornanu sodného. Další informace najdete v části *Testovací postup systému Panther*.

Související se vzorkem


- H. Během přepravy a skladování vzorků udržujte správné teplotní podmínky, abyste zaručili neporušenost vzorků. Stabilita vzorků za přepravních a skladovacích podmínek jiných než doporučených nebyla vyhodnocena.
- I. Data expirace uvedené na soupravách a zkumavkách pro odběr/transport vzorků se vztahují na místo odběru/transportu, a nikoli na testovací zařízení. Vzorky odebrané/přenesené kdykoli před datem expirace jsou platné pro testování, pokud byly přepravovány a skladovány podle příslušné příbalové informace, a to i v případě, že uplynula uvedená doba expirace.
- J. Vzorky mohou být infekční. Při provádění tohoto testu dodržujte obecná bezpečnostní opatření. Vedoucí laboratoře stanovuje náležité metody manipulace a likvidace. Tento postup smějí provádět pouze osoby náležitě vyškolené v nakládání s infekčními materiály.
- K. Během manipulace se vzorkem zamezte zkřížené kontaminaci. Zajistěte, aby se nádoby se vzorky vzájemně nedotýkaly, a použité materiály zlikvidujte, aniž byste je přenášeli nad otevřenými nádobami. Vyměňte si rukavice, pokud se dostanou do styku se vzorky.
- L. Za určitých podmínek může začít z uzávěru zkumavky po propíchnutí vytékat tekutina. Další informace najdete v části *Testovací postup systému Panther*.

- M. Vzorky odebrané s použitím konzervačního roztoku ThinPrep nebo soupravy pro odběr a přepravu vzorků (CSCT) je nutno odmítnout, pokud byl ve zkumavce na vzorky ponechán odběrový prostředek.
- N. Vzorky odebrané s použitím konzervačního roztoku SurePath je nutno odmítnout, pokud byl v lahvičce ponechán odběrový prostředek.

Související s testem

- O. Skladujte reagenty při stanovených teplotách. Účinnost testu může být ovlivněna použitím nesprávně skladovaných reagentů.
- P. Vyhněte se mikrobiální a ribonukleázové kontaminaci reagentů.
- Q. Soupravu nepoužívejte po datu expirace.
- R. Nezaměňujte, nemíchejte ani nekombinujte reagenty nebo kalibrátory testu ze souprav s různými čísly šarží.
- S. Roztoky testu Aptima a reagenty Aptima Auto Detect nejsou součástí hlavní šarže. Může být použita kterákoli šarže.
- T. K dosažení přesných výsledků testu je nezbytné důkladné promíchání reagentů testu.
- U. Je nutno použít špičky s hydrofobními zátkami.
- V. Některé reagenty v této soupravě jsou označeny symboly rizik a symboly bezpečnosti.

Poznámka: Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikací bezpečnostních listů (SDS) EU. Informace o nebezpečích specifické pro váš region najdete v bezpečnostním listu určeném pro daný region v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na adrese www.hologicsds.com. Další informace o symbolech najdete v legendě symbolů na adrese <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informace o nebezpečí pro EU	
	<p>Selekční reagenty KYSELINA BOROVÁ 1–5%</p> <p>VAROVÁNÍ H315 – Dráždí kůži H319 – Způsobuje vážné podráždění očí</p>
–	<p>Reagenty pro záchyt cíle HEPES 5–10% EDTA 1–5% Hydroxid lithia, monohydrát, 1–5%</p> <p>– H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí P280 – Používejte ochranné brýle/ochranný štít</p>
–	<p>Amplifikační reagenty HEPES 25–30%</p> <p>– H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí P280 – Používejte ochranné brýle/obličejový štít</p>

-	-	Enzymová reagencie HEPES 1–5% H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí P280 – Používejte ochranné brýle/obličejový štít
-	-	Reagencie sondy LAURYL SULFÁT, LITHNÁ SŮL 35–40% KYSELINA JANTAROVÁ 10–15% HYDROXID LITHIA, MONOHYDRÁT, 10–15% H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí P280 – Používejte ochranné brýle/obličejový štít

Požadavky na skladování reagentů a manipulaci s nimi

Nepoužívejte reagenty po datu expirace uvedeném na lahvičkách. Níže naleznete další pokyny pro skladování.

- A. Následující reagenty jsou stabilní při uchování po přijetí při teplotě 2 až 8 °C (v chladničce):
- Amplifikační reagenty HPV
 - Enzymová reagenty HPV
 - Reagenty sondy HPV
 - Reagenty vnitřní kontroly HPV
 - Pozitivní kalibrátory a negativní kalibrátory HPV
- B. Následující reagenty jsou stabilní při uchování při teplotě 15 až 30 °C (pokojové teplotě):
- Rekonstituční roztok pro amplifikaci HPV
 - Rekonstituční roztok pro enzymy HPV
 - Rekonstituční roztok pro sondy HPV
 - Reagenty pro zachycení cíle HPV
 - Selektivní reagenty HPV
- C. Po rekonstrukci jsou následující reagenty stabilní po dobu 30 dnů, pokud jsou uchovávány při teplotě 2 až 8 °C:
- Amplifikační reagenty HPV
 - Enzymová reagenty HPV
 - Reagenty sondy HPV
- D. Pracovní reagenty zachycení cíle (wTCR) je stabilní po dobu 30 dnů, pokud je uchovávána při teplotě 15 až 30 °C. Neukládejte do chladničky.
- E. Veškeré nepoužité rekonstituované reagenty a wTCR zlikvidujte po 30 dnech nebo po uplynutí doby použitelnosti hlavní šarže, dle toho, co nastane dříve.
- F. Reagenty testu Aptima HPV Assay skladované uvnitř systému Panther jsou stabilní po kumulativní dobu 72 hodin.
- G. Reagenty sondy i rekonstituované reagenty sondy jsou fotosenzitivní. Reagenty uchovávejte chráněné před světlem.

H. Reagencie nezmrazujte.

Odběr a uchování vzorku

A. Odběr a zpracování vzorku

Vzorky v konzervačním roztoku ThinPrep

1. Cervikální vzorky pro Pap test odebírejte do lahviček ThinPrep s roztokem PreservCyt pomocí odběrových prostředků typu kartáček nebo cytobrush/spatula podle pokynů výrobce.
2. Před zpracováním procesorem ThinPrep 2000, ThinPrep 5000, ThinPrep 5000 s automatickým vkládáním nebo procesorem ThinPrep Genesis nebo po něm přeneste 1 ml cytologického vzorku v tekutém médiu ThinPrep do transferové zkumavky na vzorek Aptima podle pokynů k soupravě pro transport vzorků Aptima a příbalové informace k roztoku pro transport Aptima.

Cytologické vzorky v tekutém médiu SurePath

1. Cytologické vzorky v tekutém médiu SurePath odebírejte podle návodu k použití k SurePath Pap testu a/nebo k systému PrepStain.
2. Přeneste cytologický vzorek v tekutém médiu SurePath do transferové zkumavky na vzorek Aptima podle pokynů k soupravě pro transport vzorků Aptima a příbalové informace k roztoku pro transport Aptima.

Vzorky v soupravě pro odběr a transport cervikálních vzorků Aptima

Vzorek odeberte podle návodu k použití soupravy Aptima CSCT.

B. Přeprava a skladování před testováním

Vzorky v konzervačním roztoku ThinPrep

1. Vzorky v konzervačním roztoku ThinPrep transportujte při teplotě 2 až 30 °C.
2. Vzorky je nutno přenést do transferové zkumavky na vzorek Aptima do 105 dnů od odběru.
3. Před přenesením je nutno vzorky v konzervačním roztoku ThinPrep skladovat při teplotě 2 až 30 °C, při teplotách nad 8 °C maximálně 30 dnů.
4. Vzorky v konzervačním roztoku ThinPrep přenesené do transferové zkumavky na vzorek Aptima lze skladovat při teplotě 2 až 30 °C po dobu 60 dnů.
5. Pokud je zapotřebí delší skladování, vzorky v konzervačním roztoku ThinPrep nebo vzorky v konzervačním roztoku ThinPrep rozpuštěné v transferové zkumavce na vzorek lze skladovat při teplotě -20 °C nebo nižší po dobu 24 měsíců.

Vzorky v konzervačním roztoku SurePath

1. Vzorky v konzervačním roztoku SurePath transportujte při teplotě 2 až 25 °C.
2. Vzorky je nutno přenést do transferové zkumavky na vzorek Aptima do 7 dnů od odběru.
3. Před přenosem je nutno vzorky v konzervačním roztoku SurePath skladovat při teplotě 2 až 25 °C.
4. Vzorky v konzervačním roztoku SurePath přenesené do transferové zkumavky na vzorek Aptima lze skladovat při teplotě 2 až 25 °C po dobu 7 dnů.

Vzorky v soupravě pro odběr a transport cervikálních vzorků Aptima

1. Vzorky transportujte a skladujte při teplotě 2 až 30 °C po dobu 60 dní.
2. Pokud je zapotřebí delší skladování, vzorky v transportní soupravě lze skladovat při teplotě -20 °C nebo nižší po dobu 24 měsíců.

C. Ošetření vzorků v konzervačním roztoku SurePath

Poznámka: Před testováním pomocí Aptima HPV Assay je třeba vzorky v konzervačním roztoku SurePath ošetřit pomocí transportního roztoku Aptima.

1. Transportní roztok Aptima

Ošetřené vzorky je možné před testováním pomocí testu Aptima HPV Assay skladovat při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 17 dnů. Další podrobnosti najdete v příbalové informaci k soupravě pro transport vzorků Aptima a k roztoku pro transport Aptima.

D. Uchovávání vzorků po testování

1. Vzorky musí být po proběhnutí testu uloženy vertikálně ve stojanu.
2. Zkumavky se vzorky musí být zakryty novou čistou plastovou nebo fóliovou bariérou.
3. Pokud je třeba testované vzorky zmrazit nebo přepravit, odstraňte ze zkumavky na vzorek propichovací uzávěr a nahraďte jej novým nepropichovacím uzávěrem. Pokud je třeba vzorky přepravit k testování v jiném zařízení, musí být zachovány specifikované teploty. Před odzátkováním dříve testovaných a znovu uzavřených vzorků je třeba zkumavku na vzorek odstředovat po dobu 5 minut při relativní odstředivé síle (RCF) 420, aby veškerá kapalina stekla až na dno zkumavky.

Poznámka: Vzorky musí být přepravovány v souladu s příslušnými národními a mezinárodními předpisy o přepravě.

Systém Panther

Reagencie pro Aptima HPV Assay pro systém Panther jsou uvedeny níže. Vedle jednotlivých názvů reagentů jsou také uvedeny identifikační symboly reagentů.

Dodávané reagenty a materiály

Aptima HPV Assay, 250 testů, kat. č. 303093 (3 krabice)

Aptima HPV Assay, 100 testů, kat. č. 302929 (3 krabice)

Kalibrátory lze zakoupit samostatně. Viz katalogová čísla jednotlivých krabic níže.

Chladicí box Aptima HPV

(po přijetí skladujte při teplotě 2 až 8 °C)

Symbol	Složka	Množství
A	Amplifikační reagenty HPV <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufrovaném roztoku s obsahem < 5% objemového činidla.</i>	1 lahvička
E	Enzymová reagenty HPV <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza vysušená v HEPES pufrovaném roztoku s obsahem < 10% objemové reagenty.</i>	1 lahvička
P	Reagenty sondy HPV <i>Neinfekční chemoluminiscenční DNA sondy (< 500 ng/lahvičku) vysušené v sukcinátem pufrovaném roztoku s obsahem < 5% detergentu.</i>	1 lahvička
IC	Reagenty vnitřní kontroly HPV <i>Neinfekční transkripce RNA v pufrovaném roztoku s obsahem < 5% detergentu.</i>	1 lahvička

Box s pokojovou teplotou Aptima HPV

(po přijetí skladujte při pokojové teplotě, 15 až 30 °C)

Symbol	Složka	Množství
AR	Rekonstituční roztok pro amplifikaci HPV <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1
ER	Rekonstituční roztok pro enzymy HPV <i>Roztok pufrovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1
PR	Rekonstituční roztok pro sondy HPV <i>Sukcinátem pufrovaný roztok s obsahem < 5% detergentu.</i>	1
S	Selekční reagenty HPV <i>600 mM boritanem pufrovaného roztoku s obsahem surfaktantu.</i>	1
TCR	Reagenty pro záchyt cíle HPV <i>Pufrovaný roztok obsahující oligomery pevné fáze a záchytové oligomery (< 0,5 mg/ml).</i>	1
	Rekonstituční objímky	3
	List s čárovým kódem hlavní šarže	1 list

Krabice s kalibrátory Aptima HPV (kat. č. 302554)
(po přijetí skladujte při teplotě 2 až 8 °C)

Symbol	Složka	Množství
PCAL	Pozitivní kalibrátor HPV <i>Neinfekční HPV 16 in vitro transkript při 1000 kopiích/ml v pufrovaném roztoku s obsahem < 5% detergentu.</i>	5 lahviček
NCAL	Negativní kalibrátor HPV <i>Pufrovaný roztok s obsahem < 5% detergentu.</i>	5 lahviček

Potřebný materiál, který se dodává zvlášť

Poznámka: Materiály dostupné u Hologic mají uvedeno katalogové číslo, není-li specifikováno jinak.

Poznámka:

Materiál	Kat. č.
Systém Panther	303095
Systém Panther, kontinuální průtok a odtok (Panther Plus)	PRD-06067
Souprava pro běhy Panther	303096
<i>Souprava kapalin pro test Aptima Assay (Promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivaci kapaliny A olejová reagencie Aptima)</i>	303014
<i>Autodetekční souprava Aptima</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, 1000 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 transport vzorků Aptima	301154C
Souprava pro transport vzorků Aptima – tisknutelné	PRD-05110
Souprava pro odběr a transport cervikálních vzorků Aptima	302657
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní uzávěry pro soupravy 250 testů:	–
<i>Roztoky pro rekonstituci amplifikační reagencie a reagencie sondy</i>	CL0041
<i>Rekonstituční roztok pro enzymovou reagencii</i>	501616
<i>TCR a selekční reagencie</i>	CL0040
Náhradní uzávěry pro soupravy 100 testů:	–
<i>Roztoky pro rekonstituci amplifikační reagencie a reagencie sondy</i>	CL0041
<i>Rekonstituční roztok pro enzymovou reagencii</i>	CL0041
<i>TCR a selekční reagencie</i>	501604
Bělidlo, 5,0% až 8,25% (0,7mol až 1,16mol) roztok chlornanu sodného	–
Jednorázové rukavice	–
Souprava roztoku pro transport Aptima (pouze pro vzorky SurePath)	303658

Volitelné materiály

Materiál	Kat. č.
Přípravek do bělidla pro čištění	302101

Testovací postup systému Panther

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

A. Příprava pracovní plochy

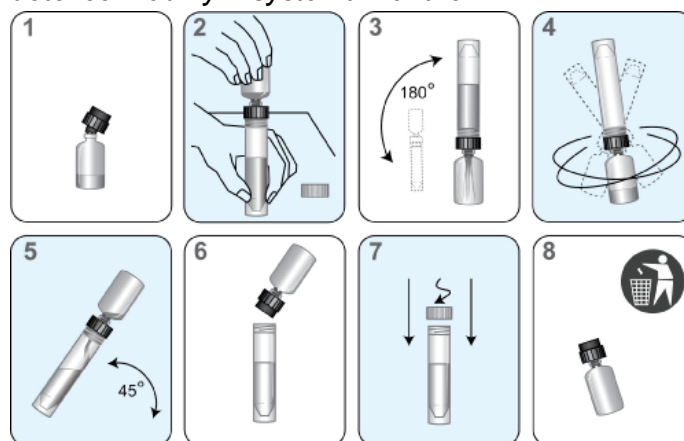
Očistěte pracovní plochy, kde bude probíhat příprava reagensů a vzorků. Pracovní plochy otřete 2,5% až 3,5% (0,35 M až 0,5 M) roztokem chlornanu sodného. Roztok chlornanu sodného nechte v kontaktu s povrchy po dobu minimálně 1 minuty a pak opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pracovní plochu, na níž bude probíhat příprava reagensů a vzorků, pokryjte čistým absorpčním laboratorním potahem na pracovní desky, který je na spodní straně potažen plastem.

B. Příprava reagensie nové soupravy

Poznámka: Rekonstituce reagensie musí být provedena před zahájením veškerých prací se systémem Panther.

1. Chcete-li rekonstituovat amplifikační reagensie, enzymatické reagensie a reagensie sondy, zkombinujte lahvičky lyofilizované reagensie s rekonstitučním roztokem. V případě uložení v chladničce nechte rekonstituované roztoky před použitím dosáhnout pokojové teploty:
 - a. Příslušný rekonstituční roztok spárujte s lyofilizovanou reagensií. Před připevněním rekonstituční objímky zkontrolujte, že rekonstituční roztok i reagensie mají shodné barevné kódy.
 - b. Zkontrolujte čísla šarží na listu s čárovým kódem hlavní šarže a zajistěte, aby byly odpovídající reagensie spárovány.
 - c. Otevřete lahvičku s lyofilizovanou reagensií a pevně zasuňte konec rekonstituční objímky s drážkou do otvoru v lahvičce (Obrázek 1, krok 1).
 - d. Otevřete odpovídající rekonstituční roztok a umístěte uzávěr na čistý zakrytý pracovní povrch.
 - e. Lahvičku s rekonstitučním roztokem držte na pracovní desce a pevně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky do láhve (Obrázek 1, krok 2).
 - f. Sestavenými lahvemi pomalu otáčejte. Nechte roztok vytéct z láhve do skleněné lahvičky (Obrázek 1, krok 3).
 - g. Jemně roztokem v lahvi zakružte, aby se promíchal. Při kroužení lahví zamezte vzniku pěny (Obrázek 1, krok 4).
 - h. Počkejte, až se lyofilizovaná reagensie rozpustí v roztoku, a pak převraťte sestavené lahve ještě jednou nakloněním v úhlu 45°, aby se minimalizoval vznik pěny (Obrázek 1, krok 5). Veškerou kapalinu nechte natéct zpět do plastové láhve.
 - i. Odstraňte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 1, krok 6).
 - j. Plastovou láhev znovu uzavřete. Zznamenejte iniciály laboranta a datum rekonstituce na všechny lahvičky s rekonstituovanou reagensií (Obrázek 1, krok 7).
 - k. Rekonstituční objímku a lahvičku zlikvidujte (Obrázek 1, krok 8).

Varování: Při provádění rekonstituce reagensů zabraňte tvorbě pěny. Pěna narušuje mechanismus detekce hladiny v systému Panther.



Obrázek 1. Rekonstituční proces v systému Panther

2. Připravte pracovní reagensii zachycení cíle (wTCR):
 - a. Spárujte odpovídající lahvičky s TCR a IC.
 - b. Zkontrolujte čísla šarží reagensie na listu s čárovým kódem hlavní šarže a zajistěte, aby byly odpovídající reagensie v soupravě spárovány.
 - c. Otevřete odpovídající lahvičku TCR a umístěte uzávěr na čistý zakrytý pracovní povrch.
 - d. Otevřete lahvičku IC a celý obsah nalijte do lahve TCR. Očekávejte, že v lahvi IC může zůstat malé množství kapaliny.
 - e. Uzavřete lahvičku TCR a roztokem jemně kružte, aby se obsah promíchal. Během tohoto kroku zamezte vzniku pěny.
 - f. Na štítek zaznamenejte iniciály laboranta a aktuální datum.
 - g. Lahvičku IC a uzávěr zlikvidujte.
 - h. Ve wTCR se mohou vytvořit precipitáty, které mohou vést k neplatným výsledkům způsobeným chybami ověřování objemu. Precipitát lze rozpustit zahříváním wTCR při teplotě 42 až 60 °C po dobu až 90 minut. Před použitím wTCR vyčkejte, dokud se jeho teplota nevyrovná s pokojovou teplotou. Nepoužívejte, pokud precipitát nezmizí.
3. Připravte selekční reagensii:
 - a. Zkontrolujte číslo šarže reagensie na listu s čárovým kódem hlavní šarže a ověřte, že patří do soupravy.
 - b. Pokud selekční reagensie obsahuje precipitát, zahřívajte selekční reagensii při teplotě 60 ± 1 °C po dobu až 45 minut, abyste usnadnili rozpuštění precipitátu. Lahvičku jemně promíchejte každých 5 až 10 minut. Před použitím selekční reagensie vyčkejte, dokud se její teplota nevyrovná s pokojovou teplotou. Nepoužívejte, pokud precipitát nebo zakalení nezmizí.

Poznámka: Všechny reagensie před založením do systému důkladně promíchejte jemným převrácením. Při převrácení reagensů zabraňte vzniku pěny.

C. Příprava reagensů pro dříve rekonstituované reagensie

1. Dříve rekonstituované amplifikační a enzymatické reagensie a reagensie sondy musí před zahájením testu dosáhnout pokojové teploty (15 až 30 °C).
2. Pokud rekonstituovaná reagensie sondy obsahuje precipitát, který se při pokojové teplotě nevrací do roztoku, zahřívajte ji při teplotě, která nepřekročí 60 °C, po dobu 1 až 2 minut. Nepoužívejte, pokud je přítomen precipitát nebo zakalení.

3. Pokud wTCR obsahuje precipitát, zahřívejte wTCR při teplotě 42 až 60 °C po dobu až 90 minut. Před použitím wTCR vyčkejte, dokud se jeho teplota nevyrovná s pokojovou teplotou. Nepoužívejte, pokud precipitát nezmizí.
4. Pokud selekční reagencie obsahuje precipitát, zahřívejte selekční reagencii při teplotě 60 ± 1 °C po dobu až 45 minut, abyste usnadnili rozpuštění precipitátu. Lahvičku jemně promíchejte každých 5 až 10 minut. Před použitím selekční reagencie vyčkejte, dokud se její teplota nevyrovná s pokojovou teplotou. Nepoužívejte, pokud precipitát nebo zakalení nezmizí.
5. Každou reagencii před založením do systému důkladně promíchejte jemným převrácením. Při převrácení reagencí zabraňte vzniku pěny.
6. Láhve s reagenciami nedoplňujte. Systém Panther rozpozná láhve, které byly doplněny, a zamítne je.

D. Manipulace se vzorky

1. Před zpracováním nechte vzorky (kalibrátory vzorky) dosáhnout pokojové teploty.
2. **Vzorky nemíchejte ve vortexu.**
3. Zkumavky na vzorky před založením do stojanů zkontrolujte. Pokud zkumavka se vzorkem obsahuje bubliny nebo má vzorek menší objem než obvykle, odstředujte zkumavku po dobu 5 minut při 420 RCF, abyste zajistili, že v uzávěru není žádná kapalina.

Poznámka: Pokud nedodržíte krok 3, může to způsobit únik tekutiny z uzávěru zkumavky se vzorkem.

E. Příprava systému

1. Systém nastavte podle pokynů v *návodu k obsluze systému Panther* a v části *Poznámky k postupům* níže. Ujistěte se, že používáte stojany na reagencie a adaptéry TCR vhodné velikosti.
2. Založte vzorky.

Poznámky k postupům

A. Kalibrátory

1. Ke správné činnosti softwaru Aptima HPV Assay v systému Panther jsou zapotřebí tři replikáty pozitivního kalibrátoru a tři replikáty negativního kalibrátoru. V systému Panther lze vložit po jedné lahvičce každého kalibrátoru do libovolné pozice v libovolné řadě v nosiči vzorků. Pipetování vzorků započne, jakmile bude splněna jedna z následujících dvou podmínek:
 - a. Systém momentálně zpracovává pozitivní a negativní kalibrátor.
 - b. V systému jsou zaregistrovány platné výsledky kalibrátorů.
2. Po dokončení pipetování zkumavek s kalibrátorem a jejich zpracování pro konkrétní soupravu reagencí lze vzorky použít s přiřazenou soupravou reagencí pro test po dobu až 24 hodin, pokud nenastane některá z následujících podmínek:
 - a. Výsledky kalibrátorů jsou neplatné.
 - b. Přiřazená souprava reagencí analýzy je vyjmuta ze systému.
 - c. Uplynula doba stability přiřazené soupravy reagencí pro test.
3. Snaha odpipetovat více než tři replikáty ze zkumavky s kalibrátorem může způsobit chyby zpracování.

B. Teplota

Pokojová teplota je definována jako 15 až 30 °C.

C. Prášek na rukavice

Podobně jako u jiných systémů reagensů může nadbytek talku z některých rukavic způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučují se rukavice bez talku.

Postupy kontroly kvality

A. Kritéria platnosti cyklu

Platnost cyklu určuje software automaticky. Software označí cyklus za neplatný, pokud nastane některá z následujících podmínek:

- Více než jeden neplatný replikát negativního kalibrátoru.
- Více než jeden neplatný replikát pozitivního kalibrátoru.

Laborant může označit cyklus za neplatný, pokud při provádění testu pozoruje a zdokumentuje technické potíže nebo potíže způsobené obsluhou či přístrojem.

Neplatný cyklus je nutno opakovat. Zrušený cyklus je nutno opakovat.

B. Kritéria pro přijetí kalibrátoru

Následující tabulka definuje kritéria RLU pro replikáty negativního a pozitivního kalibrátoru.

Negativní kalibrátor	
IC	≥ 0 a $\leq 45\ 000$ RLU
analyt	$\geq 75\ 000$ a $\leq 400\ 000$ RLU
Pozitivní kalibrátor	
IC	$\geq 480\ 000$ a $\leq 1\ 850\ 000$ RLU
analyt	$\leq 450\ 000$ RLU

C. Výpočet cutoff pro IC

Cutoff IC se určí podle signálu IC (flasher) z platných replikátů negativního kalibrátoru.

$$\text{Cutoff IC} = 0,5 \times [\text{střední RLU IC platných replikátů negativního kalibrátoru}]$$

D. Výpočet cutoff pro analyt

Cutoff analytu se určí podle signálu analytu (flasher) z platných replikátů negativního kalibrátoru a také ze signálu analytu z platných replikátů pozitivního kalibrátoru.

$$\text{Cutoff analytu} = [\text{střední RLU analytu platných replikátů negativního kalibrátoru}] + [0,09 \times \text{střední RLU analytu platných replikátů pozitivního kalibrátoru}]$$

E. Výpočet intervalu od signálu analytu ku cutoff (S/CO)

Hodnota S/CO analytu se určí z RLU analytu zkušební vzorku a cutoff analytu pro daný cyklus.

$$\text{S/CO analytu} = \frac{\text{RLU analytu zkušební vzorku}}{\text{cutoff analytu}}$$

Interpretace testu

Výsledky testu se automaticky určují pomocí softwaru testu. Výsledek testu může být negativní, pozitivní nebo neplatný, jak je určeno podle RLU IC a S/CO analytu. Výsledek testu může být také neplatný kvůli jiným parametrům (abnormální tvar kinetické křivky), které překročily normální očekávané rozsahy. Počáteční neplatné výsledky je třeba opakovat.

Vzorky soupravy Aptima CSCT lze zředit, aby se potlačily případné inhibiční látky. Zřeďte 1 díl neplatného vzorku na 8 dílů transportního roztoku vzorku (roztok ve zkumavkách soupravy CSCT); tj. 560 µl vzorku do nové zkumavky soupravy CSCT, která obsahuje 4,5 ml roztoku pro přepravu vzorku. Zředěný vzorek zamíchejte opatrným převrácením; zabraňte tvorbě pěny. Zředěný vzorek testujte podle standardního postupu testu.

Poznámka: K testu 1 alikvotu vzorku je zapotřebí minimální objem 1,7 ml. Neředte neplatný zředěný vzorek. Pokud zředěný vzorek vede k neplatnému výsledku, je třeba od pacientky získat nový vzorek.

Výsledek Aptima HPV Assay	Kritéria
Negativní	<i>S/CO analytu < 0,50 IC ≥ cutoff IC IC ≤ 2 000 000 RLU</i>
Pozitivní	<i>S/CO analytu ≥ 0,50 IC ≤ 2 000 000 RLU Analyt ≤ 13 000 000 RLU</i>
Neplatné	<i>IC > 2 000 000 RLU nebo S/CO analytu < 0,50 a IC < cutoff IC nebo analyt > 13 000 000 RLU</i>

Omezení

- A. Typy vzorků, které nejsou uvedeny v části Určené použití, nebyly hodnoceny.
- B. Účinnost Aptima HPV Assay nebyla hodnocena u osob očkovaných proti HPV.
- C. Aptima HPV Assay nebyl hodnocen v případech podezření z pohlavního zneužívání.
- D. Účinnost může ovlivnit prevalence infekce HPV v populaci. Pozitivní prediktivní hodnoty se sníží při testování populace s nízkou prevalencí nebo jednotlivců bez rizika infekce.
- E. Vzorky v konzervačním roztoku ThinPrep obsahující po přípravě sklíčka ThinPrep Pap testu méně než 1 ml se považují za nedostatečné pro Aptima HPV Assay.
- F. Po odebrání 1 ml vzorku v konzervačním roztoku SurePath před cytologickým zpracováním nebyl hodnocen dopad na výsledek cytologie.
- G. Výsledky testu mohou být ovlivněny nesprávným odběrem vzorků, skladováním nebo zpracováním vzorků.
- H. Vnitřní kontrolou se sledují kroky zachycení cíle, amplifikace a detekce; není určena ke kontrole přiměřenosti odběru cervikálních vzorků.
- I. Negativní výsledek Aptima HPV Assay nevylučuje možnost cytologických abnormalit ani budoucí či skryté CIN2, CIN3 nebo rakoviny.
- J. Účinnost testu mohou narušit osobní lubrikanty obsahující Polyquaternium 15, pokud jsou přítomné v koncentraci vyšší než 0,025% (v/v nebo w/v) testovaného vzorku.
- K. Účinnost testu mohou narušit antimykotika s obsahem tiokonazolu, pokud jsou přítomné v koncentracích vyšších než 0,075% (w/v) testovaného vzorku.
- L. Aptima HPV Assay poskytuje kvalitativní výsledky. Proto nelze vyvozovat korelaci mezi mírou signálu pozitivního testu a hladinou exprese mRNA ve vzorku.
- M. Detekce mRNA vysoce rizikového HPV je závislá na počtu kopií přítomných ve vzorku a mohou být ovlivněny metodami odběru vzorků, faktory pacientky, fáze infekce a přítomnosti interferujících látek.
- N. Infekce HPV není ukazatelem cytologické HSIL ani základem vysoce závažných CIN, ani to neznámá, že se rozvine CIN2, CIN3 nebo rakovina. U většiny žen infikovaných jedním nebo více vysoce rizikovými typy HPV se nevyvinou CIN2, CIN3 ani rakovina.
- O. Účinky jiných potenciálních okolností, jako je vaginální výtok, použití tamponů, sprchování apod., a okolnosti odběru vzorků nebyly hodnoceny.
- P. Tento produkt smí používat pouze personál vyškolený v používání Aptima HPV Assay.
- Q. Křížová kontaminace vzorků může způsobit falešně pozitivní výsledky. Míra přenosu z testu Aptima HPV Assay v systému Panther byla v neklinické studii stanovena na 0,7 %.
- R. Aptima HPV Assay je třeba interpretovat v kombinaci s jinými laboratorními a klinickými údaji, které má lékař k dispozici.
- S. U tohoto testu může dojít k falešně pozitivním výsledkům. Transkripty *in vitro* nízké rizikových genotypů HPV 26, 67, 70 a 82 vykazovaly vzájemnou reaktivitu s Aptima HPV Assay.

Očekávané výsledky testů systému Panther: Prevalence vysoce rizikové mRNA HPV

Prevalence infekce vysoce rizikovým HPV se značně liší a je ovlivněna několika faktory, z nichž nejvýznamnějším je věk.^{36, 38} Mnohé studie zkoumaly prevalenci HPV určenou pomocí detekce DNA HPV, ale pouze několik studií hlásí prevalenci založenou na detekci onkogenní mRNA HPV. Ženy z řady klinických pracovišť (n = 18) představující široké geografické rozložení a rozmanitou populaci (10 států v USA) bylo zařazeno do prospektivní klinické studie s názvem CLEAR.³⁸ Jak bylo určeno pomocí Aptima HPV Assay v systému Panther, prevalence mRNA HPV pozitivních vzorků zjištěná v klinickém hodnocení byla kvalifikována celkově, podle věkových skupin a testovacího pracoviště. Výsledky jsou uvedeny v Tabulka 1 pro ASC-US (atypické dlaždicové buňky neurčeného významu) a NILM (negativní intraepiteliální léze nebo malignity) v populaci.

Tabulka 1: Prevalence mRNA vysoce rizikového HPV podle věkových skupin, testovacího pracoviště a celkem

	% poměru pozitivivity (x/n)	
	ASC-US Populace (≥ 21 let)	NILM Populace (≥ 30 let)
Vše	42,3 (404/956)	4,7 (512/10 860)
Věková skupina (roky)		
21 až 29	60,0 (251/418)	Neuplatňuje se
30 až 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
Testovací pracoviště		
1	41,5 (134/323)	3,7 (304/8286)
2	43,1 (137/318)	9,2 (118/1285)
3	42,2 (133/315)	7,0 (90/1289)

Neuplatňuje se = Není k dispozici

Uspořádání klinické studie Aptima HPV Assay se vzorky v konzervačním roztoku ThinPrep

Aptima HPV Assay v systému Panther byl hodnocen pomocí reziduálních vzorků referenční cytologie odebraných od plnoletých žen během prospektivní, multicentrické americké klinické studie pod názvem CLEAR.³⁸

Test Aptima HPV Assay byl poprvé uveden na trh v rámci systému Tigris™ DTS v roce 2008. V roce 2011 byly indikace rozšířeny o použití testu Aptima HPV 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.

Klinická studie CLEAR – úvodní hodnocení

Klinická studie CLEAR byla provedena k určení klinické účinnosti Aptima HPV Assay v systému Tigris DTS pro detekci cervikální intraepiteliální neoplazie stupně 2 nebo závažnějšího cervikálního onemocnění (\geq CIN2). Klinická studie CLEAR zahrnovala úvodní hodnocení a následné hodnocení po 3 letech. Ženy byly zařazeny do studie ASC-US nebo studie NILM na základě výsledků cytologie z rutinního screeningu rakoviny děložního čípku. Studie ASC-US zahrnovala populaci žen 21 let a starší s výsledky cytologie ASC-US a studie NILM zahrnovala populaci žen 30 let a starší s výsledky cytologie NILM. Účelem studie NILM byla podpora nároku na doplňková vyšetření u žen ve věku od 30 let, protože ženy v této věkové skupině s výsledky cytologie závažnějším než ASC-US by měly absolvovat kolposkopii bez ohledu na svůj status HPV.³⁹

Zařazeny byly ženy z 18 klinických pracovišť, převážně gynekologických/porodních klinik, zahrnující široké geografické rozložení a pestrá populace. Tyto ženy byly rozděleny do studií ASC-US a NILM na základě jejich referenčních vzorků v konzervačním roztoku ThinPrep. Při úvodním vyšetření byly nejprve testovány zbývající referenční vzorky od žen ve studii ASC-US nebo studii NILM pomocí Aptima HPV Assay v systému Tigris DTS a komerčně dostupného testu DNA HPV. Vzorky potom byly archivovány a skladovány při teplotě -70°C , dokud nebyly následně otestovány pomocí Aptima HPV Assay v systému Panther.

Při úvodním vyšetření klinické studie CLEAR (úvodní fáze) byla u všech žen ve studii ASC-US provedena kolposkopie, bez ohledu na jejich výsledky testu HPV. Byly získány biopsie endocervikální kytetáže (ECC) a biopsie cervikálního vzorku (1 biopsie z každého ze 4 kvadrantů). Pokud byla viditelná léze, byla provedena biopsie cervikálního vzorku (řízená metoda, 1 biopsie na lézi) a v kvadrantech bez viditelné léze byla provedena biopsie skvamokolumnární junkce (náhodná metoda).

Ve studii NILM byla při úvodním vyšetření u žen s pozitivním Aptima HPV Assay v systému Tigris DTS nebo komerčně dostupným testem DNA HPV, stejně jako u náhodně vybraných žen s negativním výsledkem obou testů, provedena kolposkopie. Náhodně vybrané ženy, u kterých byly oba testy negativní, byly zahrnuty s ohledem na korekci ověření zkreslení s upraveným odhadnutým výkonem generovaným pomocí metody vícenásobného započtení. Biopsie ECC byla získána od každé ženy, která podstoupila kolposkopii. Punch biopsie byly získány pouze z viditelné léze (řízená metoda; 1 biopsie na lézi).

Status onemocnění byl určen pomocí konsenzuálního revizního histologického panelu, který byl založen na shodě nejméně 2 odborných patologů. Odborní patologové neznali status HPV u daných žen. Skryt byl také status cytologie, jakož i diagnóza histologie druhého odborníka. Pokud se všichni 3 patologové neshodli, všichni 3 patologové revidovali vzorky

pomocí více-hlavého mikroskopu, aby dosáhli konsensu. Výzkumníci, lékaři ani ženy neznali výsledky testu HPV až do skončení kolposkopie, aby se zabránilo zkreslení.

Při úvodním vyšetření byla hodnocena klinická účinnost Aptima HPV Assay pro detekci \geq CIN2 a cervikální intraepiteliální neoplazie stupně 3 nebo závažnějšího cervikálního onemocnění (\geq CIN3) vzhledem ke stavu cervikálního onemocnění určenému při úvodním vyšetření. Byla také určena klinická účinnost komerčně dostupného testu DNA HPV pro přímé srovnání s výsledky Aptima HPV Assay.

Klinická studie CLEAR – následné hodnocení

Ženy ve studii NILM ze 14 klinických pracovišť byly způsobilé k účasti v následné 3 leté fázi studie, pokud: i) při úvodním vyšetření absolvovaly kolposkopii a neměly \geq CIN2 nebo ii) při úvodním vyšetření kolposkopii neabsolvovaly. Následná fáze studie se skládala z každoročních návštěv. Při těchto návštěvách byl u každé ženy proveden odběr cervikálního vzorku pro cytologii a některé ženy byly také testovány pomocí komerčně dostupného testu HPV. U žen s ASC-US nebo závažnějšími výsledky cytologie v následném období byla provedena kolposkopie pomocí stejné biopsie a byly provedeny histologické postupy vyšetření pro hodnocení základních údajů studie NILM. Status cervikálního onemocnění při následné návštěvě byl považován za „negativní“ podle výsledků cytologie NILM, případně u žen s abnormálními výsledky cytologických testů, na základě normálních výsledků nebo výsledků konsenzuálního revizního histologického panelu CIN1. U žen, u kterých bylo v následném období zjištěno \geq CIN2, bylo následné období označeno jako ukončené; po jistění \geq CIN2 již v návštěvách nepokračovaly. U žen, u kterých nebylo v následném období zjištěno \geq CIN2, ale které se studie účastnily návštěvou v 1. následném roce, případně ve 2. následném roce a které se studie zúčastnily návštěvou ve 3. následném roce, bylo následné období označeno jako ukončené.

Cílem následné studie bylo porovnat kumulativní 3 leté riziko cervikálního onemocnění u žen s úvodními pozitivními výsledky Aptima HPV Assay s kumulativním 3letým rizikem cervikálního onemocnění u žen s úvodními negativními výsledky Aptima HPV Assay. 3letý status cervikálního onemocnění byl určen následujícím způsobem:

- Pozitivní status cervikálního onemocnění (\geq CIN2 nebo \geq CIN3) – ženy, u kterých bylo zjištěno \geq CIN2 na začátku nebo následně.
- Negativní status cervikálního onemocnění ($<$ CIN2) – ženy, které dokončily následné období bez detekce \geq CIN2 a u kterých nebyl uveden „neurčitý“ status cervikálního onemocnění.
- Neurčitý status cervikálního onemocnění – ženy, které měly abnormální výsledky cytologických testů v následném období a které neměly následný výsledek konsenzuálního revizního histologického panelu, případně ženy s neadekvátní cytologií při poslední návštěvě.
- Ztraceny v následné fázi – ženy, které nedokončily následné návštěvy a u kterých nebyl status cervikálního onemocnění označen jako „neurčitý“.

Klinická účinnost Aptima HPV Assay v systému Panther pro detekci \geq CIN2 a \geq CIN3 byla hodnocena vzhledem k 3 letému statutu cervikálního onemocnění.

Účinnost testů systému Panther

ASC-US Populace ≥ 21 let: Klinická účinnost Aptima HPV Assay

Celkem bylo do studie ASC-US zahrnuto 1 252 žen ve věku 21 let a starších s výsledky cytologie ASC-US. Z nich bylo 294 žen vyloučeno. Zbývajících 958 žen bylo způsobilých k testování v systému Panther. U dvou žen chyběly vzorky a 19 mělo status onemocnění označen jako „neurčitý“; všechny byly vyloučeny z analýzy. Zbývajících 937 hodnotitelných žen bylo ve věku 21 let a starších s výsledky cytologie ASC-US, výsledky Aptima HPV Assay v systému Panther a průkazným statutem onemocnění. Devadesát jedna (91) žen mělo ≥CIN2 a čtyřicet jedna (41) mělo ≥CIN3. Prevalence ≥CIN2 a ≥CIN3 u hodnotitelných žen s výsledky cytologie ASC-US byla 9,7% a 4,4% v uvedeném pořadí. Výsledky Aptima HPV Assay podle diagnózy konsenzuálního revizního histologického panelu jsou uvedeny v Tabulka 2.

Tabulka 2: ASC-US Populace ≥ 21 let: Výsledky Aptima HPV Assay podle diagnózy konsenzuálního revizního histologického panelu

Výsledek Aptima HPV Assay*	Test DNA HPV	Diagnóza konsenzuálního revizního histologického panelu						
		Neurčitý**	Normální	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Celkem
Pozitivní	Pozitivní	6	178	110	40	32	1	367
Pozitivní	Negativní	0	5	2	0	2	0	9
Pozitivní	Žádný výsledek***	0	15	11	0	2	0	28
Negativní	Pozitivní	0	39	15	3	3	0	60
Negativní	Negativní	10	372	53	7	1	0	443
Negativní	Žádný výsledek***	3	39	7	0	0	0	49
Celkem		19	648	198	50	40	1****	956

*Všechny vzorky měly poslední platné výsledky (po počátečním testování nebo po vyřešení počátečních neplatných výsledků podle postupu).

**19 subjektů absolvovalo návštěvu kolposkopie, ale nebylo možno určit diagnózu z následujících důvodů: < 5 bioptických vzorků získáno s výsledky histologie normální/CIN1 (n = 15), nebyla získána žádná biopsie (n = 3), ztraceny bioptické vzorky (n = 1).

***77 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo výsledky testu HPV DNA primárně v důsledku nedostatečného objemu vzorku cytologie.

****Jeden subjekt měl adenokarcinom in situ (AIS).

Odhady klinické účinnosti Aptima HPV Assay včetně citlivosti, specificity, pozitivní prediktivní hodnoty (PPV) a negativní prediktivní hodnoty (NPV) pro detekci ≥CIN2 a ≥CIN3 na základě vyhodnocení všech biopsií a včetně pouze řízených biopsií jsou uvedeny v Tabulka 3, stejně jako odhady pro komerčně dostupný test DNA HPV.

Tabulka 3: Populace ASC-US ≥ 21 let: Účinnost Aptima HPV Assay a testu DNA HPV pro detekci ≥CIN2 a ≥CIN3

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

*74 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo výsledky testu DNA HPV primárně v důsledku nedostatečného objemu vzorku cytologie.

**Výsledek konsenzuální histologie byl odvozen pouze pomocí výsledků z řízených biopsií. Ženy bez řízené biopsie reflektují normální kolposkopie a jsou v těchto analýzách zahrnuti jako bez onemocnění (<CIN2 nebo <CIN3, podle okolností). Pokud byly zahrnuti pouze řízené biopsie, nebylo vždy dosaženo konsenzu.

Při hodnocení všech biopsií byly klinické odhady citlivosti Aptima HPV Assay a komerčně dostupného testu DNA HPV, kde jsou k dispozici oba výsledky testu pro detekci \geq CIN2 a \geq CIN3, podobné (nebyly statisticky významné rozdíly v odhadech citlivosti). Pro \geq CIN2 byl rozdíl citlivosti -4,5% (95% CI: -12,2%, 2,5%). Odhady klinické specifity Aptima HPV Assay pro detekci \geq CIN2 a \geq CIN3 byly vyšší než u komerčně dostupného testu DNA HPV (rozdíly v odhadech specifity byly statisticky významné). Pro \geq CIN2 byl rozdíl specifity 6,1% (95% CI: 4,2%, 8,2%). NPV byly podobné, ale pro detekci \geq CIN2 byla PPV pro Aptima HPV Assay mírně vyšší než PPV pro komerčně dostupný test DNA HPV (19,3% vs. 18,8%).

Z 91 případů \geq CIN2 bylo 60 (65,9%) identifikováno při přímé biopsii a 31 (34,1%) bylo identifikováno z náhodných nebo ECC biopsií (tedy nikoli při přímé biopsii). Tato zjištění jsou srovnatelná s výsledky z publikovaných studií, v nichž bylo zjištěno přibližně 25% až 40% případů \geq CIN2 pouze ze vzorků náhodných, případně ECC biopsií.^{40, 41} Použití pouze přímých biopsií k určení statutu onemocnění (za předpokladu, že ženy bez řízené biopsie měly normální výsledky histologie, protože nebyly zjištěny žádné viditelné léze), dosáhly hodnoty \geq CIN2 a \geq CIN3 ve studii 6,4% a 3,1% v uvedeném pořadí. Odhady klinické citlivosti pro detekci \geq CIN2 a \geq CIN3 byly vyšší u obou testů pomocí pouze řízené biopsie než odhady vypočtené s využitím všech biopsií. Pro oba testy byla klinická specifita získaná pouze pomocí řízené biopsie podobná specifitě získané se všemi zahrnutými biopsiemi. Proto, pokud se použily pouze řízené biopsie, byla specifita Aptima HPV Assay výrazně vyšší než u komerčně dostupného testu DNA HPV.

Odhady klinické účinnosti Aptima HPV Assay a komerčně dostupného testu DNA HPV jsou zobrazeny podle věkových skupin v Tabulka 4 a Tabulka 5 (\geq CIN2 a \geq CIN3 v uvedeném pořadí, na základě vyhodnocení všech biopsií).

Tabulka 4: Populace ASC-US ≥ 21 let: Účinnost Aptima HPV Assay a testu DNA HPV pro detekci ≥CIN2 podle věkových skupin

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

*74 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo výsledky testu DNA HPV primárně v důsledku nedostatečného objemu vzorku cytologie.

Tabulka 5: Populace ASC-US ≥ 21 let: Účinnost Aptima HPV Assay a testu DNA HPV pro detekci ≥CIN3 podle věkových skupin

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

*74 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo výsledky testu DNA HPV primárně v důsledku nedostatečného objemu vzorku cytologie.

Absolutní riziko onemocnění (\geq CIN2 a \geq CIN3, na základě vyhodnocení všech biopsií) podle výsledku Aptima HPV Assay a relativní riziko onemocnění pro pozitivní vs. negativní výsledky Aptima HPV Assay jsou uvedeny v Tabulka 6, spolu s odhady pro komerčně dostupný test DNA HPV. Relativní riziko \geq CIN2 bylo 7,4 (95% CI: 4,3, 13,0), což znamená, že žena s pozitivním Aptima HPV Assay měla 7,4krát větší pravděpodobnost onemocnění \geq CIN2 než žena s negativním Aptima HPV Assay. Relativní riziko \geq CIN3 bylo 12,5 (95% CI: 4,5, 34,9).

Tabulka 6: Populace ASC-US \geq 21 let: Absolutní a relativní rizika onemocnění \geq CIN2 a \geq CIN3 pro výsledky Aptima HPV Assay a testu DNA HPV

	Výsledek testu	Aptima HPV Assay N = 937		Test DNA HPV N = 863*	
		Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)	Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)
\geq CIN2	Pozitivní	19,3 (77/398) (17,3, 21,2)	7,4 (4,3, 13,0)	18,8 (79/421) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Negativní	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prevalence (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
\geq CIN3	Pozitivní	9,3 (37/398) (8,0, 10,3)	12,5 (4,5, 34,9)	8,6 (36/421) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Negativní	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prevalence (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

*74 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo výsledky testu DNA HPV primárně v důsledku nedostatečného objemu vzorku cytologie.

Odhady absolutního a relativního rizika onemocnění (\geq CIN2 a \geq CIN3, na základě vyhodnocení všech biopsií) u Aptima HPV Assay a komerčně dostupného testu DNA HPV jsou zobrazeny podle věkových skupin v Tabulka 7.

Tabulka 7: Populace ASC-US \geq 21 let: Absolutní a relativní rizika onemocnění \geq CIN2 a \geq CIN3 pro výsledky Aptima HPV Assay a testu DNA HPV podle věkových skupin

	Věk	Výsledek testu	Aptima HPV Assay N = 937		Test DNA HPV N = 863*	
			Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)	Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)
\geq CIN2	21 až 29 let		N = 415		N = 389	
		Pozitivní	21,7 (54/249) (19,3, 23,9)	5,1 (2,4, 11,0)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)
		Negativní	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalence (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 až 39 let		N = 261		N = 238	
		Pozitivní	17,3 (17/98) (13,1, 21,1)	9,4 (2,8, 31,3)	16,2 (16/99) (11,8, 19,8)	5,6 (1,9, 16,3)
		Negativní	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalence (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	\geq 40 let		N = 261		N = 236	
Pozitivní		11,8 (6/51) (5,6, 17,7)	6,2 (1,8, 21,1)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,1)	
Negativní		1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)		
Prevalence (%)		3,8 (10/261)		4,2 (10/236)		
\geq CIN3	21 až 29 let		N = 415		N = 389	
		Pozitivní	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Nelze vypočíst
		Negativní	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalence (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 až 39 let		N = 261		N = 238	
		Pozitivní	8,2 (8/98) (5,0, 10,1)	13,3 (1,7, 105)	7,1 (7/99) (4,0, 9,2)	4,9 (1,0, 23,2)
		Negativní	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalence (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	\geq 40 let		N = 261		N = 236	
Pozitivní		5,9 (3/51) (1,6, 9,7)	6,2 (1,1, 36,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,8 (1,6, 121)	
Negativní		1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)		
Prevalence (%)		1,9 (5/261)		2,1 (5/236)		

*74 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo výsledky testu DNA HPV primárně v důsledku nedostatečného objemu vzorku cytologie.

Populace NILM ≥ 30 let: Klinická účinnost Aptima HPV Assay se vzorky v konzervačním roztoku ThinPrep při úvodním vyšetření

Celkem bylo do studie NILM zahrnuto 11 644 žen s výsledky cytologie NILM. Z nich bylo 773 žen vyloučeno. Zbývajících 10 871 žen bylo způsobilých k testování v systému Panther. U jedenácti žen chyběly vzorky, proto byly vyloučeny z hodnocení úvodního Aptima HPV Assay v systému Panther. Zbývajících 10 860 hodnotitelných žen bylo ve věku 30 let a starších s výsledky cytologie NILM a výsledky Aptima HPV Assay v systému Panther. Z 512 žen s pozitivními výsledky Aptima HPV Assay v systému Panther 284 absolvovalo kolposkopii při úvodním vyšetření. Z 10 348 žen s negativními výsledky Aptima HPV Assay 580 absolvovalo kolposkopii při úvodním vyšetření. Dvacet (20) žen mělo ≥CIN2 a jedenáct (11) mělo ≥CIN3; 798 žen mělo normální/CIN1 histologii; 46 žen měly neurčitý status onemocnění. Výsledky Aptima HPV Assay v systému Panther podle diagnózy konsenzuálního revizního histologického panelu při úvodním vyšetření jsou uvedeny v Tabulka 8.

Tabulka 8: Populace NILM ≥ 30 let: Výsledky Aptima HPV Assay a testu DNA HPV podle diagnózy konsenzuálního revizního histologického panelu při úvodním vyšetření

Výsledek Aptima HPV Assay*	Test DNA HPV	Diagnóza konsenzuálního revizního histologického panelu						
		Neurčitý**	Normální	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Celkem
Pozitivní	Pozitivní	11	211	12	4	7	2	247
Pozitivní	Negativní	2	19	0	0	0	1	22
Pozitivní	Žádný výsledek***	2	12	1	0	0	0	15
Negativní	Pozitivní	10	170	7	2	1	0	190
Negativní	Negativní	20	353	9	2	0	0	384
Negativní	Žádný výsledek***	1	4	0	1	0	0	6
Celkem		46	769	29	9	8	3****	864

*Všechny vzorky měly závěrečné platné výsledky (po úvodním testování nebo po vyřešení počátečních neplatných výsledků podle postupu).

**46 subjektů absolvovalo kolposkopii, ale diagnózu nebylo možno určit z následujících důvodů: vzorky biopsie byly označeny za nedostatečné (n = 29), nebyla odebrána žádná biopsie (n = 15) a ztráta vzorků biopsie (n = 2).

***21 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo primární výsledky testu DNA HPV v důsledku nedostatečného objemu vzorku cytologie.

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

Celkem 10 042 mělo při úvodním vyšetření neověřený (včetně neurčitého) status onemocnění (Tabulka 9). Vzhledem k tomu, že kolposkopii podstoupily pouze náhodně vybrané ženy s negativními výsledky Aptima HPV Assay v systému Tigris DTS a komerčně dostupného testu DNA HPV, podíl žen s neověřeným statutem onemocnění byl v této skupině vysoký (96,6%). K úpravě tohoto ověření zkrácení byla použita metoda vícenásobného započtení k odhadu počtu žen s onemocněním, který by byl zjištěn, pokud by všechny ženy podstoupily kolposkopii. Prezentovány jsou jak odhady účinnosti s upraveným ověřením zkrácení, tak neupravené odhady účinnosti založené na 818 ženách s ověřeným statutem onemocnění.

Tabulka 9: NILM Populace ≥ 30 let: Klasifikace hodnotitelných žen NILM podle výsledků Aptima HPV Assay a výsledků testu DNA HPV, stavu onemocnění (≥CIN2 a ≥CIN3) a stavu ověření onemocnění

Výsledek Aptima HPV Assay*		Test DNA HPV	Celkem žen	Ověřený status onemocnění: ≥CIN2		Ověřený status onemocnění: ≥CIN3		Neověřený status onemocnění
Systém Panther	Systém Tigris DTS			Ženy s onemocněním (≥CIN2)	Ženy bez onemocnění (≥CIN2)	Ženy s onemocněním (≥CIN3)	Ženy bez onemocnění (≥CIN3)	Ženy s neznámým statutem onemocnění (% neznámých)
Pozitivní	Pozitivní	Pozitivní	313	13	189	9	193	111 (35,5%)
Pozitivní	Pozitivní	Negativní	37	1	18	1	18	18 (48,6%)
Pozitivní	Pozitivní	Žádný výsledek**	22	0	13	0	13	9 (40,9%)
Pozitivní	Negativní	Pozitivní	70	0	34	0	34	36 (51,4%)
Pozitivní	Negativní	Negativní	60	0	1	0	1	59 (98,3%)
Pozitivní	Negativní	Žádný výsledek**	10	0	0	0	0	10 (100%)
Negativní	Pozitivní	Pozitivní	46	0	33	0	33	13 (28,3%)
Negativní	Pozitivní	Negativní	113	1	41	0	42	71 (62,8%)
Negativní	Pozitivní	Žádný výsledek**	8	0	4	0	4	4 (50,0%)
Negativní	Negativní	Pozitivní	236	3	144	1	146	89 (37,7%)
Negativní	Negativní	Negativní	9 354	1	321	0	322	9 032 (96,6%)
Negativní	Negativní	Žádný výsledek**	591	1	0	0	1	590 (99,8%)
Celkem			10 860	20	798	11	807	10 042 (92,5%)

*Všechny vzorky měly konečné výsledky (po počátečním testování nebo po vyřešení počátečních neplatných výsledků podle postupu).

**631 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo výsledky testu DNA HPV primárně v důsledku nedostatečného objemu vzorku cytologie.

Upravená prevalence \geq CIN2 a \geq CIN3 u žen s výsledky cytologie NILM byla 0,9% a 0,4% v uvedeném pořadí. Upravené odhady absolutního a relativního rizika pro detekci \geq CIN2 a \geq CIN3 při úvodním vyšetření jsou uvedeny v Tabulka 10. Upravené relativní riziko \geq CIN2 bylo 7,5 (95% CI: 2,1, 26,3), což znamená, že žena s pozitivním Aptima HPV Assay má 7,5 krát větší pravděpodobnost onemocnění \geq CIN2 než žena s negativním Aptima HPV Assay. Upravené relativní riziko \geq CIN3 bylo 24,9 (95% CI: 2,0, 307,0). Neupravené odhady absolutního a relativního rizika pro detekci \geq CIN2 a \geq CIN3 při úvodním vyšetření jsou uvedeny celkem v Tabulka 11 a podle věkových skupin v Tabulka 12.

Tabulka 10: NILM Populace \geq 30 let: Absolutní a relativní rizika onemocnění \geq CIN2 a \geq CIN3 pro výsledky Aptima HPV Assay a testu DNA HPV (odhady s upraveným ověřením zkraslení) při úvodním vyšetření

	Výsledek testu	Aptima HPV Assay		Test DNA HPV	
		Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)	Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)
\geq CIN2	Pozitivní	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negativní	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalence (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Pozitivní	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negativní	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalence (%)	0,4		0,4	

Tabulka 11: NILM Populace \geq 30 let: Absolutní a relativní rizika onemocnění \geq CIN2 a \geq CIN3 pro výsledky Aptima HPV Assay a testu DNA HPV (neupravené odhady) při úvodním vyšetření

	Výsledek testu	Aptima HPV Assay N = 818		Test DNA HPV N = 800*	
		Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)	Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)
\geq CIN2	Pozitivní	5,2 (14/269) (3,5, 6,6)	4,8 (1,9, 12,3)	3,8 (16/416) (2,9, 4,5)	4,9 (1,4, 16,8)
	Negativní	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalence (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
\geq CIN3	Pozitivní	3,7 (10/269) (2,5, 4,3)	20,4 (2,6, 159)	2,4 (10/416) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,8)
	Negativní	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalence (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo výsledky testu DNA HPV primárně v důsledku nedostatečného objemu vzorku cytologie.

Tabulka 12: NILM Populace ≥ 30 let: Absolutní a relativní rizika onemocnění ≥CIN2 a ≥CIN3 pro výsledky Aptima HPV Assay a testu DNA HPV podle věkových skupin (neupravené odhady) při úvodním vyšetření

	Věk	Výsledek testu	Aptima HPV Assay N = 818		Test DNA HPV N = 800*	
			Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)	Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)
≥CIN2	30 až 39 let		N = 383		N = 376	
		Pozitivní	4,6 (7/153) (2,5, 5,9)	5,3 (1,1, 25,0)	3,3 (7/215) (1,8, 4,1)	2,6 (0,6, 12,4)
		Negativní	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Prevalence (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 let		N = 435		N = 424	
		Pozitivní	6,0 (7/116) (3,2, 8,5)	4,8 (1,4, 16,1)	4,5 (9/201) (2,9, 5,3)	10,0 (1,3, 78,1)
		Negativní	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
		Prevalence (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥CIN3	30 až 39 let		N = 383		N = 376	
		Pozitivní	3,3 (5/153) (1,6, 4,1)	7,5 (0,9, 63,7)	2,3 (5/215) (1,1, 2,9)	3,7 (0,4, 31,7)
		Negativní	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
		Prevalence (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	≥ 40 let		N = 435		N = 424	
		Pozitivní	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Nelze vypočíst	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Nelze vypočíst
		Negativní	0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
		Prevalence (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*18 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo výsledky testu DNA HPV primárně v důsledku nedostatečného objemu vzorku cytologie.

Upravené odhady klinické účinnosti Aptima HPV Assay včetně citlivosti, specifity, PPV a NPV pro detekci \geq CIN2 a \geq CIN3 při úvodním vyšetření jsou uvedeny v Tabulka 13, stejně jako odhady pro komerčně dostupný test DNA HPV. Neupravené odhady klinické účinnosti jsou uvedeny v Tabulka 14. Aptima HPV Assay i komerčně dostupný test DNA HPV měly podobnou citlivost, specifita byla výrazně vyšší u Aptima HPV Assay (nepřekrývající, 95% CI). Odhady prediktivní hodnoty Aptima HPV Assay byly klinicky relevantní a podobné odhadům pro komerčně dostupný test DNA HPV. NPV byly podobné, ale pro detekci \geq CIN2 byla PPV pro Aptima HPV Assay mírně vyšší než PPV pro komerčně dostupný test DNA HPV (4,5% vs. 3,7%).

Tabulka 13: NILM Populace \geq 30 let: Účinnost Aptima HPV Assay a testu DNA HPV pro detekci \geq CIN2 a \geq CIN3 (odhady s upraveným ověřením zkruslení) při úvodním vyšetření

	Účinnost	Aptima HPV Assay		Test DNA HPV	
		Odhad	(95% CI)	Odhad	(95% CI)
\geq CIN2	Citlivost (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Specifita (%)	95,5	(95,1, 95,9)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,5	(2,7, 7,4)	3,7	(2,3, 6,1)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Prevalence (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
\geq CIN3	Citlivost (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Specifita (%)	95,4	(95,0, 95,8)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,0	(1,6, 5,5)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,3, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prevalence (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Tabulka 14: NILM Populace ≥ 30 let: Účinnost Aptima HPV Assay a testu DNA HPV pro detekci ≥CIN2 a ≥CIN3 (neupravené odhady) při úvodním vyšetření

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

*18 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo výsledky testu DNA HPV primárně v důsledku nedostatečného objemu vzorku cytologie.

Přímé porovnání Aptima HPV Assay v systému Panther a komerčně dostupného testu DNA HPV ukazuje, že Aptima HPV Assay dosahuje podobné citlivosti a statisticky významně lepší specifický testu oproti komerčně dostupnému testu DNA HPV pro detekci ≥CIN2, jak ukazuje poměr skutečně pozitivních a falešně pozitivních hodnot (Tabulka 15 a Tabulka 16 v uvedeném pořadí).

Tabulka 15: NILM Populace ≥ 30 let: Poměr skutečně pozitivních hodnot (Aptima HPV Assay/test DNA HPV) pro ženy s ≥CIN2 (neupravené odhady) při úvodním vyšetření

		Test DNA HPV		Celkem
		Pozitivní	Negativní	
Aptima HPV Assay	Pozitivní	13	1	14 (73,7%)
	Negativní	3	2	5
	Celkem	16 (84,2%)	3	19
Poměr skutečně pozitivních hodnot = 0,88 (14/16) (95% CI: 0,65, 1,10)				

Tabulka 16: NILM Populace ≥ 30 let: Poměr falešně pozitivních hodnot (Aptima HPV Assay/test DNA HPV) pro ženy s <CIN2 (neupravené odhady) při úvodním vyšetření

		Test DNA HPV		Celkem
		Pozitivní	Negativní	
Aptima HPV Assay	Pozitivní	223	19	242 (31,0%)
	Negativní	177	362	539
	Celkem	400 (51,2%)	381	781
Poměr falešně pozitivních hodnot = 0,61 (242/400) (95% CI: 0,55, 0,66)				

NILM Populace ≥ 30 let: Klinická účinnost Aptima HPV Assay v systému Panther po 3 letech sledování

Způsobilých pro další fázi studie bylo 10 843 hodnotitelných žen ve věku 30 let a starších s výsledky cytologie NILM a platnými výsledky Aptima HPV Assay v systému Panther při úvodním vyšetření. Z žen bez ≥CIN2 dokončilo následnou Pap návštěvu po 1 roce 67,0% (7 247/10 823), 60,3% (6 517/10 814) po 2 letech a 58,7% (6 339/10 807) po 3 letech. Celkově 58,8% (6 375/10 843) žen dokončilo studii (měly ≥CIN2 při úvodním vyšetření nebo při následných vyšetřeních, případně absolvovalo požadované návštěvy).

Z 10 843 hodnotitelných žen mělo 511 (4,7%) pozitivní výsledky Aptima HPV Assay v systému Panther při úvodním vyšetření. Z těchto 511 žen mělo 255 (49,9%) buď pozitivní, nebo negativní 3letý status onemocnění na základě výsledků cytologie nebo kolposkopie/ biopsie. Zbývajících 10 332 žen mělo negativní výsledky Aptima HPV Assay v systému Panther při úvodním vyšetření. Z těchto 10 332 žen mělo 5 946 (57,5%) buď pozitivní, nebo negativní 3letý status onemocnění. Z 6 201 žen s 3letým statutem onemocnění mělo 47 žen ≥CIN2 včetně 23 žen s ≥CIN3; 6 154 žen mělo normální/CIN1 podle konsenzuálního revizního histologického panelu. Výsledky Aptima HPV Assay v systému Panther a komerčně dostupného testu DNA HPV při úvodním vyšetření a 3letý status onemocnění (zahrnuje úvodní a následná vyšetření) podle konsenzuálního revizního histologického panelu jsou uvedeny v Tabulka 17.

Tabulka 17: NILM Populace ≥ 30 let: Klasifikace žen způsobilých pro další fáze podle výsledků Aptima HPV Assay při úvodním vyšetření, výsledků testu DNA HPV při úvodním vyšetření a statusu onemocnění (\geq CIN2, \geq CIN3, neověřeno) stanovená při úvodním vyšetření a v následných fázích

Výsledek Aptima HPV Assay	Test DNA HPV	Celkem žen	Ověřený status onemocnění: \geq CIN2		Ověřený status onemocnění: \geq CIN3		Neověřený status onemocnění	
			Ženy s onemocněním (\geq CIN2)	Ženy bez onemocnění (\geq CIN2)	Ženy s onemocněním (\geq CIN3)	Ženy bez onemocnění (\geq CIN3)	Ztraceny v následné fázi	Neurčitý*
Pozitivní	Pozitivní	382	23	171	16	178	167	21
Pozitivní	Negativní	97	1	48	1	48	44	4
Pozitivní	Žádný výsledek**	32	2	10	1	11	17	3
Negativní	Pozitivní	281	5	129	2	132	130	17
Negativní	Negativní	9 452	15	5 476	3	5 488	3 756	205
Negativní	Žádný výsledek**	599	1	320	0	321	264	14
Celkem		10 843	47	6 154	23	6 178	4 378	264

*Ženy, které měly abnormální výsledky cytologických testů v následném období a které neměly následný výsledek konsenzuálního revizního histologického panelu a ženy s neadekvátní cytologií při poslední návštěvě. 174 žen s neurčitým statutem onemocnění dokončilo svá následná vyšetření podle protokolu.

**631 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo výsledky testu DNA HPV primárně v důsledku nedostatečného objemu vzorku cytologie.

3 leté kumulativní riziko onemocnění (\geq CIN2 a \geq CIN3) vychází z Kaplanova-Meierova odhadu (analýza přežívání) a zahrnuje onemocnění detekované při úvodním nebo následném vyšetření. Ženy s některými známkami onemocnění (ASC-US nebo závažnější výsledky cytologie), ale bez výsledku konsenzuálního revizního histologického panelu byly zařazeny do analýzy pomocí metody vícenásobného započtení, aby bylo možno předpovědět počet žen s onemocněním, která by byla zjištěna, pokud ženy podstoupily kolposkopii.

3 leté kumulativní odhady absolutního a relativního rizika pro detekci \geq CIN2 a \geq CIN3 jsou uvedeny v Tabulka 18.

Tabulka 18: NILM Populace ≥ 30 let: 3 letá kumulativní Absolutní a relativní rizika* onemocnění \geq CIN2 a \geq CIN3 pro výsledky Aptima HPV Assay a testu DNA HPV při úvodním vyšetření

	Výsledek testu	Aptima HPV Assay		Test DNA HPV	
		Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)	Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)
\geq CIN2	Pozitivní	7,90 (5,50, 11,27)	24,45 (13,85, 43,15)	6,43 (4,50, 9,14)	22,71 (12,20, 42,30)
	Negativní	0,32 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Prevalence (%)	0,68		0,68	
\geq CIN3	Pozitivní	5,23 (3,34, 8,13)	57,11 (21,09, 154,62)	4,14 (2,62, 6,52)	51,34 (17,74, 148,58)
	Negativní	0,09 (0,04, 0,23)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Prevalence (%)	0,34		0,35	

*3letá kumulativní rizika upravená pro další možné chyby byla podobná rizikům v této tabulce. Vzhledem k očekávaným rozdílům v rizicích v 1. a 2. roce pro dvě skupiny žen v navazující studii (ženy s kolposkopií při úvodním vyšetření a ženy bez kolonoskopie při úvodním vyšetření) byla hlášena pouze 3letá kumulativní rizika pro kombinované skupiny.

3 letá kumulativní prevalence \geq CIN2 a \geq CIN3 u žen s výsledky cytologie NILM při úvodním vyšetření byla 0,68% a 0,34% v uvedeném pořadí. Relativní riziko \geq CIN2 bylo 24,45 (95% CI 13,85, 43,15), což znamená, že žena s pozitivním Aptima HPV Assay v systému Panther má 24,45 krát větší pravděpodobnost onemocnění \geq CIN2 než žena s negativním Aptima HPV Assay. Relativní riziko \geq CIN3 bylo 57,11 (95% CI: 21,09, 154,62).

Klinická účinnost Aptima HPV Assay se vzorky v konzervačním roztoku SurePath

Byly shromážděny vzorky v konzervačním roztoku SurePath od kanadských žen (n = 558), které byly pozvány na následnou schůzku z těchto důvodů: jeden nebo více abnormálních Pap testů, HPV infekce nebo jiný důvod. Alikvotní podíl (0,5 ml) každého vzorku byl přenesen do transferové zkumavky na vzorek Aptima a pak ošetřen pomocí transportního roztoku Aptima. Jeden replikát každého vzorku byl otestován pomocí Aptima HPV Assay. Samostatný alikvotní podíl (1 ml) každého vzorku byl použit k testování pomocí komerčně dostupného testu PCR HPV. Klinická citlivost pro detekci onemocnění, definovaná jako výsledek histologie \geq CIN3, byla vypočtena pro Aptima HPV Assay i pro test PCR HPV, jak je uvedeno v Tabulka 19, s pozitivními a negativními prediktivními hodnotami.

Tabulka 19: Účinnost Aptima HPV Assay a testu PCR HPV pro detekci \geq CIN3

Účinnost	Aptima HPV Assay N = 558		Test PCR HPV N = 558	
	Odhad	(95% CI)	Odhad	(95% CI)
Citlivost (%)	89,3 (25/28)	(72,8 – 96,3)	89,3 (25/28)	(72,8 – 96,3)
Specifická (%)	58,7 (311/530)	(54,4 – 62,8)	49,1 (260/530)	(44,8 – 53,3)
PPV (%)	10,2 (25/244)	(8,4 – 11,7)	8,5 (25/295)	(7,0 – 9,5)
NPV (%)	99,0 (311/314)	(97,6 – 99,8)	98,9 (260/263)	(97,2 – 99,7)
Prevalence (%)	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

Účinnost testu Aptima HPV Assay při odběru cervikálních vzorků a jejich transportu (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT)

Od 735 subjektů byly odebrány spárované cytologické vzorky v tekutém médiu ThinPrep a vzorky ze soupravy Aptima CSCT. Z každého cytologického vzorku v tekutém médiu ThinPrep byl odebrán jeden mililitr (1,0 ml) a naředěn do 2,9 ml média pro transport vzorků Aptima a v jediném triplicátu testován pomocí testu Aptima HPV na systému Tigris DTS. Také jeden replikát každého vzorku CSCT byl testován pomocí testu Aptima HPV Assay. Byla stanovena procentuální shoda v testu Aptima HPV Assay mezi cytologickým vzorkem v tekutém médiu ThinPrep a vzorkem CSCT. Tabulka 20 uvádí její výsledky.

Procentuální pozitivní shoda byla 95,9 % (95% CI: 92,6–97,8); procentuální negativní shoda byla 95,5 % (95% CI: 93,3–97,0); a celková shoda byla 95,6 % (95% CI: 93,9–96,9). Byla pozorována silná korelace mezi tekutými cytologickými vzorky a vzorky ze soupravy pro transport ($\kappa = 0,90$).

Tabulka 20: Celková shoda mezi výsledky testu Aptima HPV Assay z cytologických vzorků v tekutém médiu ThinPrep a vzorků ze soupravy pro odběr a transport cervikálních vzorků Aptima testovaných na systému Tigris DTS

		Cytologický vzorek v tekutém médiu ThinPrep		Celkem
		Pozitivní	Negativní	
Vzorek ze soupravy Aptima CSCT	Pozitivní	234	22	256
	Negativní	10	469	479
	Celkem	244	491	735

Pozitivní shoda = 95,9 % (92,6–97,8)

Negativní shoda = 95,5 % (93,3–97,0)

Celková shoda = 95,6 % (93,9–96,9)

Koeficient kappa = 0,90

Vysoce rizikové HPV pozitivní a vysoce rizikové HPV negativní klinické vzorky odebrané od screeningové (rutinní návštěva) i doporučené (vyšetření kolposkopie) populace pomocí soupravy Aptima CSCT byly testovány pomocí Aptima HPV Assay v systémech Panther a Tigris DTS pomocí dvou šarží reagentie. Shoda mezi systémy Panther a Tigris DTS pro vzorky CSCT jsou uvedeny v Tabulka 21.

U vzorků CSCT byla celková shoda mezi systémy Tigris DTS a Panther > 98%, jak je uvedeno v Tabulka 21. Z 632 testovaných klinických vzorků bylo 69 CIN2+ a 38 bylo CIN3+. Citlivost Aptima HPV Assay pro detekci CIN2+ byla 97,1% (95% CI 90,0% – 99,2%) v systému Panther a 98,6% (95% CI: 92,2 – 99,7) v systému Tigris DTS. Citlivost pro detekci CIN3+ byla 100% (CI: 90,8% – 100%) v systémech Panther a Tigris DTS.

Tabulka 21: Shoda výsledků Aptima HPV Assay se vzorky Aptima CSCT testovanými v systémech Tigris DTS a Panther

		Systém Tigris DTS		Celkem
		Pozitivní	Negativní	
Systém Panther	Pozitivní	490	3	493
	Negativní	9	130	139
	Celkem	499	133	632

Celková shoda = 98,1% (CI 96,7 – 98,9)

Pozitivní shoda = 98,2% (CI 96,6 – 99,0)

Negativní shoda = 97,7% (CI 93,6 – 99,2)

Analytická citlivost

Limit detekce (LoD) při klinickém cutoff je koncentrace RNA HPV, která poskytuje kladný výsledek (nad klinický cutoff) 95% celkového času. LoD Aptima HPV Assay byl určena testováním zředěných panelů transkriptů in vitro (IVT) pro všech 14 vysoce rizikových genotypů a 4 buněčné linie infikované HPV: SiHa, HeLa, MS751 a ME180 (ATCC, Manassas, Virginia). Pro panely IVT byl transportní roztok vzorků před testováním uměle obohacen o IVT v různých koncentracích a poté zředěn jednotlivými negativními vzorky v konzervačním roztoku ThinPrep. Pro panely buněk infikovaných HPV byly fondy HPV negativních vzorků v konzervačním roztoku ThinPrep před testováním uměle obohaceny o HPV infikované buňky v různých koncentracích a poté zředěny transportním roztokem vzorků. Třicet replikátů každé úrovně kopií bylo testováno s každou ze dvou šarží reagentie pro celkem 60 replikátů. Testování bylo prováděno v průběhu 17 dní, při 1 až 12 cyklech provedených denně a 5 replikáty daného genotypu a koncentrace testované v každém cyklu. Detekční limit 95% byl vypočten z probitové regresní analýzy výsledků positivity pro každý panel ředění.

Výsledky probitové regresní analýzy v Tabulka 22 ukazují, že HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 a 68 měly 95% detekční limity při méně než 100 kopiích/reakci a typy 52, 58 a 66 měly 95% detekční limity při 100 až 500 kopiích/reakci. Čtyři testované buněčné linie měly 95% detekční limity menší než 1 buňka/reakci.

Tabulka 22: Limit detekce v klinickém cutoff Aptima HPV Assay

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

*počet kopií na reakci u transkriptů in vitro a buněk na reakci u buněčných linií

Přesnost testu

Přesnost Aptima HPV Assay byla hodnocena ve dvou studiích pomocí stejného 20členného panelu. 1. studie byla provedena na 3 pracovištích, 2 externích a 1 interním, a 2. studie byla provedena interně. Panel obsahoval 13 členů HPV pozitivních s koncentracemi na nebo nad limitem detekce testu (očekávaná pozitivita: $\geq 95\%$), 3 členy HPV pozitivní s koncentracemi pod limitem detekce testu (očekávaná pozitivita: $> 0\%$ až $< 25\%$) a 4 členů HPV negativních. HPV pozitivní členy panelu byly připraveny obohacením transkriptů RNA in vitro (IVT) do roztoku PreservCyt rozředěného transportním roztokem vzorků (STM) nebo HPV infikovaných kultivovaných buněk (SiHa, HeLa a MS751; ATCC, Manassas, Virginia) ve směsných negativních vzorcích v konzervačním roztoku ThinPrep zředěných v STM. HPV negativní členy panelu byly připraveny pomocí roztoku PreservCyt nebo směsných negativních vzorků v konzervačním roztoku ThinPrep zředěných v STM.

V rámci 1. studie 2 laboranti na každém ze 3 testovacích pracovišť (1 přístroj na pracoviště) provedli 2 pracovní seznamy Aptima HPV Assay denně (1 pro každou šarži reagensů) po 3 dny. Každý pracovní seznam obsahoval 3 replikáty každého z členů panelu reprodukovatelnosti. Sto osm (108) jednotlivých zkumavek se vzorky bylo testováno pro každý člen panelu (3 pracoviště \times 1 přístroj \times 2 laboranti \times 2 šarže \times 3 pracovní seznamy \times 3 replikáty). Ve 2. studii bylo provedeno testování interně po dobu 13 dní s celkem 162 reakcemi testovanými pro každý člen panelu (1 místo \times 3 přístroje \times 3 laborant \times 3 šarže \times 2 pracovní seznamy \times 3 replikáty).

Členy panelu jsou popsány v Tabulka 23a (panel členů s očekávanými pozitivními výsledky) a Tabulka 23b (panel členů s očekávanými negativními výsledky), spolu se shrnutím shody s očekávanými výsledky a hodnotami S/CO analytu v 2,5., 50. a 97,5. percentilech distribuce S/CO. Variabilita S/CO analytu pro členy panelu s očekávanými pozitivními výsledky je uvedena v Tabulka 24 pro 1. studii a v Tabulka 25 pro 2. studii.

Tabulka 23a: 1. a 2. studie přesnosti Aptima HPV Assay: Popis panelu, pozitivní shoda a distribuce percentilů hodnot analytu S/CO pro členy panelu s očekávanými pozitivními výsledky

Popis panelu (kopii nebo buněk/reakce)	Studie 1 (3 testovací místa)			Studie 2 (1 testovací místo)				
	% pozitivní shoda (95% CI)	Percentil analytu S/CO			% pozitivní shoda (95% CI)	Percentil analytu S/CO		
		2,5.	50.	97,5.		2,5.	50.	97,5.
HPV vysoce pozitivní klinický vzorek 1	100 (107/107) (96,5, 100)	21,16	29,64	33,63	100 (161/161) (97,7, 100)	22,50	26,84	30,67
HPV vysoce pozitivní klinický vzorek 2	100 (107/107) (96,5, 100)	25,98	29,77	36,03	100 (162/162) (97,7, 100)	25,00	28,61	33,99
HPV 16 IVT (1830 kopií)	100 (107/107) (96,5, 100)	10,45	11,18	12,40	100 (161/161) (97,1, 100)	10,40	11,07	11,75
HPV 18 IVT (1550 kopií)	100 (107/107) (96,5, 100)	13,09	14,55	18,08	100 (162/162) (97,7, 100)	11,26	13,47	15,63
HPV slabě pozitivní klinický vzorek 1	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	0,00	9,93	11,03	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)	0,00	9,53	10,95
HPV slabě pozitivní klinický vzorek 2	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	0,00	7,30	16,63	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)	0,00	7,56	19,67
HPV slabě pozitivní klinický vzorek 3	100 (108/108) (96,6, 100)	2,80	10,19	17,08	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)	1,14	9,53	15,38
HPV slabě pozitivní klinický vzorek 4	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	0,00	4,48	11,16	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)	0,00	4,66	12,00
HPV 16 IVT (183 kopií)	100 (102/102) (96,4, 100)	10,03	11,14	11,97	100 (162/162) (97,7, 100)	10,24	11,05	11,85
HPV 18 IVT (155 kopií)	100 (108/108) (96,6, 100)	4,87	12,01	15,21	100 (159/159) (97,6, 100)	7,82	11,59	13,84
Buňky MS751 (0,63 buňky)	100 (108/108) (96,6, 100)	5,90	10,99	14,00	100 (162/162) (97,7, 100)	5,61	10,14	12,26
Buňky HeLa (0,35 buňky)	100 (108/108) (96,6, 100)	1,43	6,19	13,28	100 (162/162) (97,7, 100)	3,24	7,88	12,58
Buňky SiHa (0,90 buňky)*	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	0,00	9,80	11,04	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)	0,00	9,19	10,94

IVT = transkript in vitro

*Očekávané % pozitivní shody ~95 %; pozorováno bylo nižší, zřejmě kvůli variabilitě vzorků panelu při výrobě.

Tabulka 23b: 1. a 2. studie přesnosti Aptima HPV Assay: Popis panelu, negativní shoda a distribuce percentilů hodnot analytu S/CO pro členy panelu s očekávanými negativními výsledky

Popis panelu (kopii nebo buněk/reakce)	Studie 1 (3 testovací místa)			Studie 2 (1 testovací místo)				
	% negativní shoda (95% CI)	Percentil analytu S/CO			% negativní shoda (95% CI)	Percentil analytu S/CO		
		2,5.	50.	97,5.		2,5.	50.	97,5.
Buňky MS751 (0,005 buňky)	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	0,00	0,00	4,37	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	0,00	0,00	2,25
Buňky SiHa (0,008 buňky)	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	0,00	0,00	1,53	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)	0,00	0,00	7,56
Buňky HeLa (0,02 buňky)	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	0,00	0,00	3,95	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)	0,00	0,12	6,35
HPV negativní klinický vzorek 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,33	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,07
HPV negativní klinický vzorek 2	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	0,00	0,00	1,21	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,05
Roztok PreservCyt 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,15	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,06
Roztok PreservCyt 2	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,22	100 (161/161) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,09

Tabulka 24: 1. studie přesnosti Aptima HPV Assay: Variabilita signálu pro členy panelu s očekávanými pozitivními výsledky

Popis panelu (kopie nebo buňky/reakci)	n	Střední S/CO	Mezi přístroji		Mezi laboranty		Mezi šaržemi		Mezi pracovními seznamy		V pracovních seznamech		Celkem	
			SO	KV (%)	SO	KV (%)	SO	KV (%)	SO	KV (%)	SO	KV (%)	SO	KV (%)
HPV vysoce pozitivní klinický vzorek 1	107*	29,34	0,00	0,0	0,00	0,0	1,43	4,9	1,87	6,4	1,49	5,1	2,79	9,5
HPV vysoce pozitivní klinický vzorek 2	107*	30,09	0,55	1,8	0,00	0,0	1,06	3,5	0,73	2,4	2,21	7,3	2,61	8,7
HPV 16 IVT (1830 kopií)	107*	11,20	0,09	0,8	0,16	1,4	0,03	0,3	0,14	1,3	0,46	4,1	0,52	4,6
HPV 18 IVT (1550 kopií)	107*	14,89	0,18	1,2	0,00	0,0	0,20	1,3	0,14	0,9	1,53	10,3	1,56	10,5
HPV níže pozitivní klinický vzorek 1	107*	8,24	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,23	39,2	3,23	39,2
HPV níže pozitivní klinický vzorek 2	108	7,07	0,00	0,0	0,41	5,8	0,00	0,0	0,00	0,0	4,57	64,7	4,59	65,0
HPV níže pozitivní klinický vzorek 3	108	10,23	0,26	2,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,32	12,9	3,23	31,6	3,49	34,2
HPV níže pozitivní klinický vzorek 4	108	4,68	0,50	10,7	0,20	4,2	0,00	0,0	0,99	21,1	3,02	64,6	3,22	68,9
HPV 16 IVT (183 kopií)	102*	11,09	0,08	0,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	2,3	0,54	4,9	0,61	5,5
HPV 18 IVT (155 kopií)	108	11,78	0,00	0,0	0,43	3,7	0,00	0,0	1,12	9,5	1,97	16,7	2,30	19,6
Buňky MS751 (0,63 buňky)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
Buňky HeLa (0,35 buňky)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
Buňky SiHa (0,90 buňky)	107*	7,74	0,37	4,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,85	49,8	3,87	50,1

CV = variační koeficient; IVT = transkript in vitro; SD = směrodatná odchylka

*Dvanáct vzorků mělo neplatné výsledky Aptima HPV Assay (1 pro HPV vysoce pozitivní klinický vzorek 1, 1 pro HPV vysoce pozitivní klinický vzorek 2, 1 pro HPV 16 IVT (1 830 kopií), 1 pro HPV 18 IVT (1 550 kopií), 1 pro HPV níže pozitivní klinický vzorek 1, 6 pro HPV 16 IVT (183 kopií) a 1 pro buňky SiHa (0,90 buňky)).

Poznámka: Variabilita některých faktorů může být číselně záporná. K tomu může dojít, pokud je variabilita vzhledem k těmto faktorům velmi malá. V těchto případech jsou SO a KV zobrazeny jako nula.

Tabulka 25: 2. studie přesnosti Aptima HPV Assay: Variabilita signálu pro členy panelu s očekávanými pozitivními výsledky

Popis panelu (kopie nebo buňky/reakci)	n	Střední S/CO	Mezi přístroji		Mezi laboranty		Mezi šaržemi		Mezi pracovními seznamy		V pracovních seznamech		Celkem	
			SO	KV (%)	SO	KV (%)	SO	KV (%)	SO	KV (%)	SO	KV (%)	SO	KV (%)
HPV vysoce pozitivní klinický vzorek 1	161*	26,81	0,75	2,8	0,00	0,0	0,91	3,4	0,48	1,8	1,84	6,9	2,24	8,3
HPV vysoce pozitivní klinický vzorek 2	162	28,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,96	3,3	0,65	2,3	2,35	8,2	2,62	9,1
HPV 16 IVT (1830 kopií)	161*	11,07	0,14	1,2	0,00	0,0	0,05	0,5	0,16	1,4	0,32	2,9	0,39	3,5
HPV 18 IVT (1550 kopií)	162	13,34	0,14	1,1	0,12	0,9	1,00	7,5	0,31	2,3	0,75	5,6	1,31	9,8
HPV nížce pozitivní klinický vzorek 1	162	7,57	0,56	7,5	0,55	7,3	0,63	8,3	0,00	0,0	3,61	47,7	3,75	49,5
HPV nížce pozitivní klinický vzorek 2	162	7,59	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	5,25	69,2	5,25	69,2
HPV nížce pozitivní klinický vzorek 3	161*	8,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	3,0	0,00	0,0	3,48	39,4	3,49	39,5
HPV nížce pozitivní klinický vzorek 4	162	4,95	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	15,2	0,00	0,0	3,35	67,6	3,43	69,3
HPV 16 IVT (183 kopií)	162	11,02	0,13	1,2	0,11	1,0	0,12	1,1	0,13	1,2	0,54	4,9	0,59	5,4
HPV 18 IVT (155 kopií)	159*	11,40	0,16	1,4	0,17	1,5	1,21	10,6	0,23	2,0	1,17	10,3	1,72	15,0
Buňky MS751 (0,63 buňky)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
Buňky HeLa (0,35 buňky)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
Buňky SiHa (0,90 buňky)	162	7,30	0,32	4,3	0,00	0,0	0,93	12,7	1,04	14,3	3,49	47,8	3,77	51,7

CV = variační koeficient; IVT = transkript in vitro; SD = směrodatná odchylka

*Šest vzorků mělo neplatné výsledky Aptima HPV Assay (1 pro HPV vysoce pozitivní klinický vzorek 1, 1 pro HPV 16 IVT (1 830 kopií), 1 pro HPV nížce pozitivní klinický vzorek 3, 3 pro HPV 18 IVT (155 kopií)).

Poznámka: Variabilita některých faktorů může být číselně záporná. K tomu může dojít, pokud je variabilita vzhledem k těmto faktorům velmi malá. V těchto případech jsou SO a KV zobrazeny jako nula.

Zkřížená reaktivita

Poznámka: Testování s potenciálně zkříženě reagujícími organismy s testem Aptima HPV Assay bylo provedeno s použitím systému Tigris DTS. Test Aptima HPV Assay byl poprvé uveden na trh v rámci systému Tigris DTS v roce 2008. V roce 2011 byly indikace rozšířeny o použití testu Aptima HPV 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 Assay byla hodnocena pomocí média PreservCyt naředěného v poměru 1 : 2,9 v médiu STM a obohaceného kultivovanými bakteriemi, kvasinkami nebo houbami, kultivovaným virem nebo transkripty nížce rizikového typu HPV

in vitro. Tabulka 26 uvádí dané mikroorganismy a testované koncentrace. Kritéria studie posouzení vlivu přítomnosti mikroorganismů na specifitu testu byla založena na pozitivitě. U níže rizikových genotypů HPV 26, 67, 70 a 82 byla pozorována zkřížená reaktivita, ale u jiných testovaných mikroorganismů ne.

Tabulka 26: Analytický panel specifity: organismy a koncentrace bez zkřížené reaktivity

Organismus	Testovaná koncentrace bez zkřížené reaktivity	Organismus	Testovaná koncentrace bez zkřížené reaktivity
Bakterie			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Micrococcus luteus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2 x 10 ⁷ CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	5 x 10 ⁷ CFU/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Bacillus cereus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5 x 10 ⁷ CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	5 x 10 ⁷ CFU/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> a <i>Chlamydia trachomatis</i>	2,5 x 10 ⁷ CFU/ml 2,3 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3,2 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	6 x 10 ⁷ CFU/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Providencia stuartii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Ruminococcus productus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Fingoldia magna</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Serratia marcescens</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml		
Kvasinky/houby			
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 x 10 ⁷ buněk/ml
Viry			
Adenovirus 2	1 x 10 ⁷ vp/ml	Herpes simplex virus 1	2,5 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml

Tabulka 26: Analytický panel specifcity: organismy a koncentrace bez zkřížené reaktivity

Organismus	Testovaná koncentrace bez zkřížené reaktivity	Organismus	Testovaná koncentrace bez zkřížené reaktivity
Cytomegalovirus	5,6 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	Herpes simplex virus 2	5 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Epstein-Barr virus	4,3 x 10 ⁶ vp/ml	SV40	1,2 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
HIV-1	1,0 x 10 ⁶ kopií/ml		
Necílené HPV genotypy			
HPV 6	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml	HPV 61	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml
HPV 11	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml	HPV 67	1 kopie/ml
HPV 26	2,5 kopie/ml	HPV 69	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml
HPV 30	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml	HPV 70	1 kopie/ml
HPV 34	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml	HPV 71	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml
HPV 42	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml	HPV 73	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml
HPV 43	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml	HPV 81	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml
HPV 44	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml	HPV 82	1 kopie/ml
HPV 53	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml	HPV 85	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml
HPV 54	2,5 x 10 ⁶ kopií/ml		

vp = virové částice; CFU = jednotky tvořící kolonie; TCID₅₀ = infekční dávka 50 pro tkáňové kultury

Poznámka: Tučně jsou označeny typy, kde byla pozorována zkřížená reaktivita (> 5% pozitivita) při testování ve vyšších koncentracích, než jsou uvedené v tabulce.

Analytická citlivost testu Aptima HPV Assay v přítomnosti mikroorganismů byla hodnocena stejným panelem, jaký popisuje Tabulka 26, k němuž byly také přidány nízké koncentrace HPV infikovaných buněk SiHa (1 buňka na reakci). Kritéria studie posouzení vlivu přítomnosti mikroorganismů na senzitivitu testu byla založena na pozitivitě. Citlivost testu Aptima HPV Assay nebyla ovlivněna žádným z testovaných mikroorganismů.

Interference

Poznámka: Testování potenciálně interferujících látek pro test Aptima HPV Assay bylo provedeno s použitím systému Tigris DTS. Test Aptima HPV Assay byl poprvé uveden na trh v rámci systému Tigris DTS v roce 2008. V roce 2011 byly indikace rozšířeny o použití testu Aptima HPV 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.

Tabulka 27 uvádí látky, které byly jednotlivě přidávány do roztoku PreservCyt v koncentraci 1 % a 10 % obj./obj. Nebo hmot./obj., naředěny médiem STM a poté testovány testem Aptima HPV Assay. Všechny látky byly testovány v přítomnosti i nepřítomnosti kultivovaných buněk infikovaných HPV (SiHa, 3 buňky/reakce). Interference byla zaznamenána u dvou ze sedmi lubrikantů obsahujících Polyquaternium 15 a u jednoho z pěti antimykotik obsahujících tiokonazol. U žádné jiné testované látky interference pozorována nebyla.

Tabulka 27: Látky testované na případnou interferenci s testem Aptima HPV Assay

Kategorie produktu	Značka nebo typ produktu	Nejvyšší testovaná koncentrace*, která neinterferovala s funkčností testu
Lubrikant	KY Sensual Mist	10 % obj./obj.
	KY Warming Jelly	10 % hmot./obj.
	KY Warming Liquid	10 % obj./obj.
	Osobní lubrikant značky CVS	10 % hmot./obj.
	Hřejivý masážní krém a osobní lubrikant značky Target	10 % obj./obj.
	Osobní lubrikant Astroglide	0,3 % hmot./obj. (testovaný vzorek 0,075 % hmot./obj.)
	Lubrikační tekutina značky Target	0,1 % obj./obj. (testovaný vzorek 0,025 % obj./obj.)
Spermicid	Vaginální antikoncepce Gynol II Original Formula	10 % hmot./obj.
	Vaginální antikoncepce Gynol II Extra Strength	10 % hmot./obj.
	Vaginální antikoncepční pěna Delfen	10 % hmot./obj.
	Vaginální antikoncepce Encare	10 % hmot./obj.
	Vaginální antikoncepce Conceptrol	10 % hmot./obj.
Antimykotika/ léky proti svědění	Vagisil Maximum Strength	10 % hmot./obj.
	Monistat Soothing Care	10 % hmot./obj.
	Monistat 3 Combination Pack	10 % hmot./obj.
	Tioconazole 1 značky Target	0,3 % hmot./obj. (testovaný vzorek 0,075 % hmot./obj.)
	Miconazole 3 značky Target	10 % hmot./obj.
Ledová kyselina octová	EMD M/N AX0073-11	10 % obj./obj.
Plná krev	Plná krev	10 % obj./obj.

*Osobní lubrikanty, které obsahují Polyquaternium 15.

Cytologické vzorky v tekutém médiu ThinPrep hodnocené před zpracováním v procesoru ThinPrep 2000 a po něm

Bylo provedeno testování, aby se prokázala rovnocennost klinických Pap vzorků v tekutém médiu ThinPrep s alikvoty odebranými před zpracováním v procesoru ThinPrep 2000 a po něm. Padesát (50) předem a následně zpracovaných vzorků bylo testováno v páru s každou ze tří šarží reagentů, celkem tedy vzniklo 150 sad vzorků. Celková shoda mezi předem a následně zpracovanými vzorky byla 96,0 % (CI 95%: 91,6 % – 98,2 %). Pozitivní shoda (jako reference byly použity následně zpracované vzorky) byla 95,6 % (CI 95%: 89,2 % – 98,3 %) a negativní shoda byla 96,6 % (CI 95%: 88,5 % – 99,1 %). Koeficient kappa byl 0,92.

Cytologické vzorky v tekutém médiu ThinPrep hodnocené před zpracováním v procesoru ThinPrep 5000 a po něm

Testováním se stanovila shoda cytologických vzorků v tekutém médiu ThinPrep v roztoku PreservCyt testovaných testem Aptima HPV Assay před zpracováním v procesoru ThinPrep 5000 a po něm. Celkem bylo testem Aptima HPV Assay před zpracováním v procesoru ThinPrep 5000 a po něm vyhodnoceno 200 připravených cytologických vzorků v tekutém médiu ThinPrep (100 HPV-pozitivních, 100 HPV-negativních). Studie prokázala srovnatelnou funkčnost mezi cytologickými vzorky odebranými před zpracováním a po něm, a to ve všech testovaných koncentracích (Tabulka 28).

Tabulka 28: Výsledky cytologických vzorků před zpracováním a po něm

		Před cytologií				
		Pozitivní vzorky (nad C95)		Negativní vzorky (pod C95)		
		Obohacené buňkami HeLa na ~10x LoD (95% CI)	Obohacené buňkami HeLa na 1,5–3x LoD (95% CI)	Obohacené buňkami HeLa na 0,05x LoD (95% CI)	Neobohacené (95% CI)	
Po cytologii	Pozitivní procentuální shoda	100,0	98,7	0,0	Nehodí se	
		(83,9, 100,0)	(93,2, 99,8)	(0,0, 79,3)		
		20/20	78/79	0/1		
	Negativní procentuální shoda	Nehodí se		0,0	97,4	100,0
				(0,0, 79,3)	(86,8, 99,5)	(94,0, 100,0)
				0/1	38/39	60/60
Celkem		20	80	40	60	

CI = interval spolehlivosti

Cytologické vzorky v tekutém médiu ThinPrep hodnocené před zpracováním v procesoru Genesis a po něm

Bylo provedeno testování, aby se prokázala rovnocennost klinických Pap vzorků v tekutém médiu ThinPrep s alikvoty odebranými před zpracováním v procesoru Genesis a po něm. Z každého vzorku byly před zpracováním testovány dva jedinečné alikvoty. Pro vzorky, kde byly výsledky obou alikvotů před zpracováním shodné, byl vytvořen složený referenční výsledek, z něhož se poté vypočetla shoda s alikvotem po zpracování vytvořeným ze stejného vzorku. U 2068 vzorků se složeným referenčním výsledkem byla celková shoda mezi výsledky před zpracováním a po něm 98,2 % (95% CI: 97,5–98,7 %). Pozitivní shoda byla 97,9 % (95% CI: 94,7–99,2 %) a negativní shoda byla 98,2 % (95% CI: 97,5–98,7 %).

Bibliografie

1. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *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, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer*. **108(3)**:329-33. Erratum in: *Int J Cancer*. **108(6)**:945.
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. *J Pathol*. **189**:12-19.
4. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **90(12)**:5583-7.
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, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ*. **325(7364)**: 572-579.
6. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*. **16(1)**:1-17.
7. **Li N., S. Franceschi, R. Howell-Jones, P. J. Snijders, G. M. Clifford.** 2010. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*, n/a. doi: 10.1002/ijc.25396.
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. *J. Med. Virol.* **73(1)**: 65-70.
9. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol*. **32 Suppl 1**:S16-24.
10. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer*. **64(3)**:211-5.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2010; **20(8)**:1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011; **49(2)**:557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer*. 2011;**129**:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology*. 2012;**125**:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2013;**23(3)**:513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer*. 2013;**108**:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, Lyng E.** Prevalence of human papillomavirus infection in unselected SurePath samples using the APTIMA HPV mRNA assay. *The Journal of Molecular Diagnostics*:2013;**15(5)**:670-7.
18. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lyng E.** A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer*. 2015;**51**:1456-66.
19. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lyng E.** Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above. *PLoS One*. 2016 Jan 20;**11(1)**:e0147326.
20. **Preisler S, Rebolj M, Ejegod DM, Lyng E, Rygaard C, Bonde J.** Cross-reactivity profiles of hybrid capture II, cobas, and APTIMA human papillomavirus assays: split-sample study. *BMC Cancer*. 2016;**16**:510.
21. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lyng E.** Differential Detection of Human Papillomavirus Genotypes and Cervical Intraepithelial Neoplasia by Four Commercial Assays. *Journal of Clinical Microbiology*. 2016;**54(11)**:2669-2675.
22. **Rebolj M, Njor S, Lyng E, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Bonde J.** Referral population studies underestimate differences between human papillomavirus assays in primary cervical screening. *Cytopathology*. 2017;**28(5)**:419-428.
23. **Heideman DAM, Hesselink AT, van Kemenade FJ, Iftner T, Berkhof J, Topal F, et al.** The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013;**51(11)**:3653-7.
24. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlaberg R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods*. 2015;**221**:95-9.
25. **Iftner T, Becker S, Neis KJ, Castanon A, Iftner A, Holz B, et al.** Head-to-Head Comparison of the RNA368 Based Aptima Human Papillomavirus (HPV) Assay and the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in a Routine Screening Population of Women Aged 30 to 60 Years in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015;**53**:2509-16.

26. **Iftner T, Neis KJ, Castanon A, Landy R, Holz B, Woll-Herrmann A, et al.** Longitudinal Clinical Performance of the RNA-Based Aptima Human Papillomavirus (AHPV) Assay in Comparison to the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in Two Consecutive Screening Rounds with a 6-Year Interval in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*. 2019;57(1):e01177-18.
27. **Maggino T, Sciarrone R, Murer B, Dei Rossi MR, Fedato C, Maran M, et al.** Screening women for cervical cancer carcinoma with a HPV mRNA test: first results from the Venice pilot program. *British Journal of Cancer* volume 115, pages 525-532(2016).
28. **Zorzi M, Del Mistro A, Giorgi Rossi P, Laurino L, Battagello J, Lorio M, et al.** Risk of CIN2 or more severe lesions after negative HPVmRNA E6/E7 overexpression assay and after negative HPV-DNA test: Concurrent cohorts with a 5-year follow-up. *International Journal of Cancer*. 2020 Jun 1;146(11):3114-3123.
29. **Cook DA, Smith LW, Law J, Mei W, van Niekerk DJ, Ceballos K, et al.** Aptima HPV Assay versus Hybrid Capture® 2 HPV test for primary cervical cancer screening in the HPV FOCAL trial. *Journal of clinical virology* 2017;87:23-29.
30. **Cook DA, Smith LW, Law JH, Mei W, Gondara L, van Niekerk DJ, et al.** Comparative performance of human papillomavirus messenger RNA versus DNA screening tests at baseline and 48 months in the HPV FOCAL trial. *Journal of Clinical Virology*. 2018;108:32-37.
31. **Huijsmans CJ, Geurts-Giele WR, Leeijen C, Hazenberg HL, van Beek J, de Wild C, et al.** HPV Prevalence in the Dutch cervical cancer screening population (DuSC study): HPV testing using automated HC2, cobas and Aptima workflows. *BMC Cancer*. 2016;16(1):922.
32. **Loonen AJM, Huijsmans CJJ, Geurts-Giele WRR, Leeijen C, van der Linden JC, van den Brule, AJC.** Performance analysis of high-throughput HPV testing on three automated workflows. *APMIS* 2020; 128: 497- 505.
33. **Lindroth Y, Borgfeldt C, Thorn G, Bodelsson G, Forslund O.** Population-based primary HPV mRNA cervical screening compared with cytology screening. *Preventative Medicine*. 2019;124:61-66.
34. **Forslund O, Miriam Elfström K, Lamin H, Dillner J.** HPV-mRNA and HPV-DNA detection in samples taken up to seven years before severe dysplasia of cervix uteri. *International Journal of Cancer*. 2019 Mar 1;144(5):1073-1081.
35. **Sangrajrang S, Laowahutanont P, Wongsena M, Muwonge R, Imsamran W, Ploysawang P, Basu P.** Human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA primary cervical cancer screening: Evaluation and triaging options for HPV-positive women. *Journal of Medical Screening*. 2019 Dec;26(4):212-218.
36. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. *Annals Int Med*. **148**:493.
37. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet*. **366**, 991.
38. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** 2013. Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. **208(2)**:144-145.
39. **Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D.** 2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests. 2007. *Am J Obstet Gynecol* 197 (4); 346-355.
40. **Pretorius R.G., W. H. Zhang, J. L. Belinson, et al.** Colposcopically directed biopsy, random cervical biopsy, and endocervical curettage in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia II or worse. 2004. *Am J Obstet Gynecol*. **191**:430-434.
41. **Pretorius R.G., R. J. Kim, J. L. Belinson, P. Elson, Y-L Qiao.** Inflation of sensitivity of cervical cancer screening tests secondary to correlated error in colposcopy. 2006. *J Low Genit Tract Dis*. **10(1)**:5-9.
42. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
43. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem*. **35**: 1588-1594.
44. **Nelson, N. C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem*. **35**:8429-8438.

Kontaktní informace a historie revizí



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

E-mailovou adresu a telefonní číslo oddělení technické podpory a zákaznických služeb požadované země najdete na adrese www.hologic.com/support.

Závažné incidenty, ke kterým v souvislosti s prostředkem došlo v Evropské unii, je nutné nahlásit výrobci a příslušnému úřadu členského státu, kde sídlí uživatel nebo pacient.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris a související loga jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc. nebo jejích dceřiných společností v USA nebo v jiných zemích.

SurePath a PrepStain jsou ochranné známky společnosti TriPath Imaging, Inc.

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

Tento produkt může být krytý jedním či více patenty USA uvedenými na webové stránce www.hologic.com/patents.

©2016–2023 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-22202-2601 Rev. 001

2023-03

Historie revizí	Datum	Popis
AW-22202 Rev. 001	březen 2023	<ul style="list-style-type: none"> Vytvořen návod k použití k testu Aptima™ HPV Assay (systém Panther™) AW-22202 Rev. 001 na základě dokumentu AW-14517 Rev. 007 pro shodu s předpisy IVDR. Upravena část Určené použití, odebrána reference o použití v systému Tigris DTS. Přidán Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti. Upraveny informace o nebezpečí pro EU. Upraveny části Varování a bezpečnostní opatření, Požadavky na skladování a manipulaci s reagensiemi, Odběr a skladování vzorku, Dodávané reagensie a materiály, Potřebné materiály dodávané samostatně, Postup testu na systému Panther, Omezení, tabulky Přesnost testu, Zkřížená reaktivita, Interference a Literatura. Upraveny kontaktní údaje včetně: zástupce pro ES, označení CE, informací o zástupci v Austrálii a oddělení technické podpory. Různé úpravy týkající se stylu a formátování.