

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	7
Odběr a uchovávání vzorku	7
Systém Panther	10
Dodávané reagensie a materiály	10
Potřebný materiál, který se dodává zvlášť	11
Volitelné materiály	12
Testovací postup systému Panther	12
Poznámky k postupům	15
Postupy kontroly kvality	16
Interpretace testu	17
Omezení	18
Očekávané výsledky testů systému Panther: Prevalence vysoce rizikové mRNA HPV	20
Účinnost testů systému Panther	23
Bibliografie	52
Kontaktní informace a historie revizí	54

Obecné informace

Určené použití

Test Aptima HPV Assay je test se sondou nukleové kyseliny k amplifikaci cíle a kvalitativní detekci *in vitro* virové messengerové RNA (mRNA) E6/E7 z 14 vysoce rizikových typů lidského papilomaviru (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Test 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.
- Test Aptima HPV Assay lze použít spolu s cervikální cytologií k doplňkovému screeningu (společnému testování) k posouzení přítomnosti nebo nepřítomnosti vysoce rizikových typů HPV. Tyto informace mohou být spolu s lékařským hodnocením cytologické anamnézy, dalšími rizikovými faktory a odbornými pokyny použity jako vodítko k léčbě 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 lékařským 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 lékařem do lahviček 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 odebrané do konzervačního roztoku SurePath nebo vzorky z pochvy odebrané vlastním odběrem pomocí soupravy pro odběr vzorků stěrů Aptima Multitest.

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.⁴

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.^{1, 4}

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.^{2, 9} 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.¹⁰

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

Po dokončení zachycení cíle je 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. Selektivní 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 reagentie Auto Detect 2 s kůží, očima a sliznicemi. Pokud se tato kapalina dostane do styku s kůží nebo očima, omyjte postiženou oblast vodou. Dojde-li k rozlití této kapaliny, zředte rozlitou kapalinu vodou a pak ji vytřete dosucha.
- G. Pracovní povrchy, pipety a 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*.
- H. Postupujte podle zásad správné praxe v molekulárních laboratořích včetně monitorování prostředí.

Související se vzorkem

- I. 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.
- J. 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.
- K. Dodržujte všeobecná bezpečnostní opatření a zavedené laboratorní protokoly pro bezpečnou manipulaci, likvidaci a prevenci křížové kontaminace. Se vzorky smí manipulovat pouze personál příslušně vyškolený v manipulaci s infekčními materiály.
- L. Pokud se vzorku dotknete, vyměňte si ihned rukavice. Aby se zabránilo křížové kontaminaci, použité materiály zlikvidujte a vyvarujte se přelévání do jiných nádob.

- M. Za určitých podmínek může začít z uzavěru zkumavky po propíchnutí vytékat tekutina. Postupujte podle pokynů uvedených v *Testovací postup systému Panther*, aby se tomuto jevu zabránilo.
- N. 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.
- O. Vzorky odebrané s použitím konzervačního roztoku SurePath je nutno odmítnout, pokud byl v lahvičce ponechán odběrový prostředek.
- P. Pokud se do laboratoře dostane transportní zkumavka soupravy pro odběr stěrových vzorků Aptima Multitest bez stěru, se dvěma stěry, čistícím stěrem nebo se stěrem, který nedodala společnost Hologic, je nutné takový vzorek odmítnout.

Související s testem

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

Poznámka: Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikacemi 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	
 	Selekční reagentie <i>Kyselina borová 1–5%</i> <i>Triton X-100 1–5%</i> <i>Hydroxid sodný < 1%</i> — NEBEZPEČÍ H315 – Dráždí kůži. H360FD – Může poškodit reprodukční schopnost. Může poškodit plod v těle matky. P264 – Po manipulaci důkladně omyjte tvář, ruce a exponované části kůže. P280 – Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít. P302 + P352 – PŘI STYKU S KÚŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdla. P332 + P313 – Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P362 + P364 – Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte. P201 – Před použitím si obzvláště pozorně přečtěte speciální instrukce. P202 – Nepoužívejte, dokud jste si nepřečetli všechny bezpečnostní pokyny a neporozuměli jim. P308 + P313 – PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P405 – Skladujte uzamčené. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
	Reagentie pro záchyt cíle <i>HEPES 5–10%</i> <i>EDTA 1–5%</i> <i>Hydroxid lithia, monohydrát, 1–5%</i> — — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
—	Amplifikační reagentie <i>HEPES 25–30%</i> — H402 – Škodlivý pro vodní organismy. H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
—	Enzymová reagentie <i>HEPES 1–5%</i> <i>Triton X-100 1–5%</i> — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
—	Reagentie sondy <i>LAURYL SULFÁT, LITHNÁ SŮL 35–40%</i> <i>KYSELINA JANTAROVÁ 10–15%</i> — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
—	Rekonstituční roztok pro enzymy <i>Glycerol 20–25%</i> <i>Triton X-100 5–10%</i> <i>HEPES 1–5%</i> — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.

Požadavky na skladování reagensů a manipulaci s nimi

Nepoužívejte reagensy po datu expirace uvedeném na lahvíčkách. Níže naleznete další pokyny pro skladování.

- A. Následující reagensy jsou stabilní při uchovávání po přijetí při teplotě 2 až 8 °C (v chladničce):
 - Amplifikační reagensy HPV
 - Enzymová reagensy HPV
 - Reagensy sondy HPV
 - Reagensy vnitřní kontroly HPV
 - Pozitivní kalibrátory a negativní kalibrátory HPV
- B. Následující reagensy jsou stabilní při uchovávání při teplotě 15 až 30 °C (pokožové teplotě):
 - Rekonstituční roztok pro amplifikaci HPV
 - Rekonstituční roztok pro enzymy HPV
 - Rekonstituční roztok pro sondy HPV
 - Reagensy pro zachycení cíle HPV
 - Selektivní reagensy HPV
- C. Po rekonstituci jsou následující reagensy stabilní po dobu 30 dnů, pokud jsou uchovávány při teplotě 2 až 8 °C:
 - Amplifikační reagensy HPV
 - Enzymová reagensy HPV
 - Reagensy sondy HPV
- D. Pracovní reagensy 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 reagensy a wTCR zlikvidujte po 30 dnech nebo po uplynutí doby použitelnosti hlavní šarže, dle toho, co nastane dříve.
- F. Reagensy testu Aptima HPV Assay skladované uvnitř systému Panther jsou stabilní po kumulativní dobu 72 hodin.
- G. Reagensy sondy i rekonstituované reagensy sondy jsou fotosenzitivní. Reagensy uchovávejte chráněné před světlem.
- H. **Reagensy nezmrazujte.**

Odběr a uchovávání vzorku

Poznámka: Se všemi vzorky je nutné zacházet jako s potenciálně infekčními. Přijměte univerzální bezpečnostní opatření.

- A. Odběr a zpracování vzorku

Vzorky v konzervačním roztoku ThinPrep

1. Cervikální vzorky pro Pap test odebírejte do lahvíček 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

1. Vzorek odeberte podle návodu k použití soupravy Aptima CSCT.

Vzorky odebrané pomocí soupravy k odběru vzorků stěrů Aptima Multitest

1. Odeberte vzorky podle návodu k použití soupravy pro odběr vzorků stěrů Aptima Multitest.

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 Aptima 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.

Vzorky odebrané pomocí soupravy k odběru vzorků stěrů Aptima Multitest

1. Přeprava klinických vzorků
 - a. Vzorky přepravujte při teplotě 2 °C až 30 °C.
 - b. Vzorky by měly být doručeny do laboratoře do 5 dnů od odběru.

2. Skladování vzorků před testováním
 - a. Způsob 1: Vzorky lze skladovat při teplotě od 2 °C do 8 °C po dobu až 30 dnů.
 - b. Způsob 2: Vzorky lze skladovat při teplotě od 15 °C do 30 °C po dobu až 30 dnů.
- 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 reagencie 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 reagencie HPV <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufovaném roztoku s obsahem < 5% objemového činidla.</i>	1 lahvička
E	Enzymová reagencie HPV <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza vysušená v HEPES pufovaném roztoku s obsahem < 10% objemové reagencie.</i>	1 lahvička
P	Reagencie sondy HPV <i>Neinfekční chemoluminiscenční DNA sondy (< 500 ng/lahvičku) vysušené v sukcinátem pufovaném roztoku s obsahem < 5% detergentu.</i>	1 lahvička
IC	Reagencie vnitřní kontroly HPV <i>Neinfekční transkripce RNA v pufovaném 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 pufovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1
PR	Rekonstituční roztok pro sondy HPV <i>Sukcinátem pufovaný roztok s obsahem < 5% detergentu.</i>	1
S	Selekční reagencie HPV <i>600 mM boritanem pufovaného roztoku s obsahem surfaktantu.</i>	1
TCR	Reagencie pro záchyt cíle HPV <i>Pufovaný 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.

Materiál	Kat. č.
Systém Panther	303095
Systém Panther Fusion	PRD-04172
Systém Panther, kontinuální průtok a odtok (Panther Plus)	PRD-06067
Souprava pro běhy Panther	303096
<i>Souprava kapalin pro test Aptima Assay</i>	303014
<i>(Promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivaci kapalinu A olejová reagencie Aptima)</i>	
<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
Souprava pro odběr vzorků stěrů Aptima Multitest	PRD-03546
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.
Přídavek Hologic do bělidla pro čištění	302101
Topný blok	—
Třepačka	—

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

1. Očistěte pracovní povrchy tam, kde budete připravovat reagentie. Otřete pracovní povrchy 2,5% až 3,5% (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného. Roztok chlornanu sodného nechte působit na kontaktní povrchy alespoň 1 minutu a poté je opláchněte deionizovanou vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte povrchy stolů, na kterých budou připravovány reagentie a vzorky, čistým laboratorním absorpčním ubrusem s gumovou vrstvou.
2. Očistěte vyhrazený pracovní povrch, na kterém budete vzorky připravovat. Použijte výše uvedený postup (krok A.1).
3. Vyčistěte pipetory. Použijte výše uvedený postup čištění (krok A.1).

B. Příprava reagentie nové soupravy

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

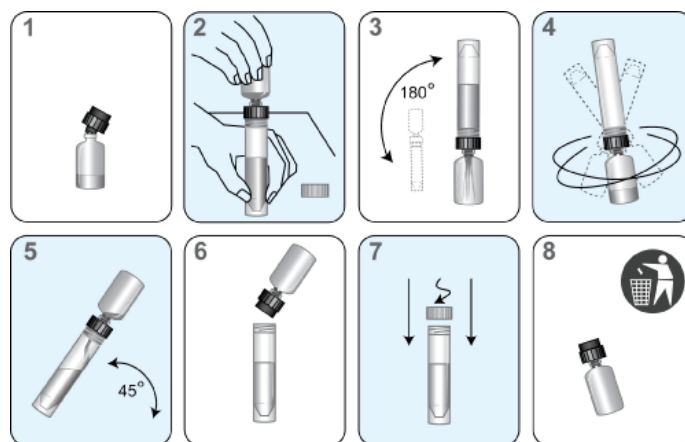
1. Před testováním musíte rekonstituovat amplifikační a enzymovou reagentii a reagentii sondy tak, že zkombinujete obsah jednotlivých lahvíček s lyofilizovanou reagentií s příslušným rekonstitučním roztokem.
 - a. Před použitím nechte lyofilizované reagentie temperovat na pokojovou teplotu (15 °C až 30 °C).
 - b. Každý rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lyofilizovanou reagentií. Před připojením rekonstituční objímky musíte zkontrolovat, zda na štítku rekonstitučního roztoku a na reagentii jsou odpovídající symboly.
 - c. Zkontrolujte čísla šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagentií. Označte uzávěry lahvíček s rekonstitučním roztokem.
 - d. Otevřete skleněnou lahvičku s lyofilizovanou reagentií a pevně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky do otvoru skleněné lahvičky (Obrázek 1, krok 1).
 - e. Otevřete odpovídající lahvičku s rekonstitučním roztokem a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
 - f. Zatímco lahvičku s roztokem přidržujete na stole, do jejího ústí jemně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky (Obrázek 1, Krok 2).
 - g. Jemně roztokem v lahvi zakružte, aby se promíchal. Při kroužení lahví zamezte vzniku pěny (Obrázek 1, krok 4).
 - h. Zvedněte spojené lahvičky a protřepejte je, aby se jejich obsah důkladně promíchal. Při promíchávání lahvičky zabraňte tvorbě pěny (Obrázek 1, krok 4).

- i. Ujistěte se, že se lyofilizovaná reagencie dostala zcela do roztoku. Lahvičky znovu míchejte a poté lehce protřepejte roztok ve skleněné lahvičce, aby se dobře promíchal.
- j. Pohledem zkontrolujte, zda je reagencie zcela rozpuštěná a zda neobsahuje prášek, shluky nebo zvlněné linie.
- k. Pomalu znovu nakloňte spojené lahvičky, aby všechen roztok stekl zpět do lahvičky s rekonstitučním roztokem (Obrázek 1, krok 5).
- l. Odstraňte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 1, krok 6).
- m. Plastovou lahvičku znovu uzavřete buď uloženým, označeným uzávěrem, který odpovídá dané reagencii, nebo novým uzávěrem. Uzávěry nesmějí být zaměňovány. Na štítek zapište iniciály obsluhy a datum rekonstituce (Obrázek 1, krok 7).
- n. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (Obrázek 1, krok 8).
- o. Před založením do systému Panther důkladně jemným převrácením promíchejte lahvičky všech reagencí.

Volitelně: Další míchání amplifikačních a enzymových reagencí a reagencí sondy je možné umístěním znovu uzavřených plastových lahviček na třepačku nastavenou na mírnou rychlost a naklopení po dobu minimálně 5 minut. Ujistěte se, že jsou reagencie důkladně promíchány.

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

Varování: Dostatečné promísení reagencí je nezbytné pro dosažení požadovaných výsledků testu.



Obrázek 1. Rekonstituční proces v systému Panther

2. Připravte pracovní reagencii zachycení cíle (wTCR):
 - a. Spárujte odpovídající lahvičky s TCR a IC.
 - b. Zkontrolujte čísla šarží reagencie na listu s čárovým kódem hlavní šarže a zajistěte, aby byly odpovídající reagencie 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 reagentii:
- a. Zkontrolujte číslo šarže reagentie na listu s čárovým kódem hlavní šarže a ověřte, že patří do soupravy.
 - b. Pokud selekční reagentie obsahuje precipitát, zahřívejte selekční reagentii 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 reagentie vyčkejte, dokud se její teplota nevyrovná s pokojovou teplotou. Nepoužívejte, pokud precipitát nebo zakalení nezmizí.

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

C. Příprava reagentií pro dříve rekonstituované reagentie

1. Dříve rekonstituované amplifikační a enzymatické reagentie a reagentie sondy musí před zahájením testu dosáhnout pokojové teploty (15 až 30 °C).

Volitelně: Rekonstituované plastové lahvičky s amplifikačních a enzymových reagentií a reagentií sondy s uzávěrem lze umístit na třepačku nastavenou na mírnou rychlost a naklopení na minimálně 25 minut, aby reagentie dosáhly pokojové teploty a důkladně se promíchaly.

- 2. Pokud rekonstituovaná reagentie sondy obsahuje precipitát, který se při pokojové teplotě nevrací do roztoku, zahřívejte 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 reagentie obsahuje precipitát, zahřívejte selekční reagentii 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 reagentie vyčkejte, dokud se její teplota nevyrovná s pokojovou teplotou. Nepoužívejte, pokud precipitát nebo zakalení nezmizí.
- 5. Každou reagentii před založením do systému důkladně promíchejte jemným převrácením. Při převrácení reagentií zabraňte vzniku pěny.
- 6. Láhve s reagentiemi nedoplňujte. Systém Panther rozpozná láhve, které byly doplněny, a zamítne je.

D. Manipulace se vzorky

- 1. U každého vzorku odebraného pomocí soupravy pro odběr vzorků stěrů Aptima Multitest proveďte následující kroky:
 - a. Pohledem zkontrolujte, zda se v odběrové zkumavce nachází jeden růžový tampón Aptima Multitest.
 - b. Před testováním vzorky stěrů Aptima Multitest zahřívejte 75 minut na teplotu 90 °C. Vzorky by během tohoto procesu měly zůstat uzavřeny.
- 2. Před zpracováním nechte vzorky (kalibrátory vzorky) dosáhnout pokojové teploty.
- 3. **Vzorky nemíchejte ve vortexu.**

4. Zkumavky na vzorky před založením do stojanů zkontrolujte. Pokud zkumavka se vzorkem obsahuje bubliny nebo má vzorek menší objem než obvykle, odstředějte zkumavku po dobu 5 minut při 420 RCF, abyste zajistili, že v uzávěru není žádná kapalina.

Poznámka: Nedodržení kroku 4 může vést k úniku kapaliny z víčka 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 reagenty 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 zpracovávání pro konkrétní soupravu reagentů lze vzorky použít s přiřazenou soupravou reagentů pro test po dobu až 24 hodin, pokud nenastane některá z následujících podmínek:
 - a. Výsledky kalibrátorů jsou neplatné.
 - b. Přiřazená souprava reagentů analýzy je vyjmuta ze systému.
 - c. Uplynula doba stability přiřazené soupravy reagentů pro test.
3. Snaha odpipetovat více než tři replikáty ze zkumavky s kalibrátorem může způsobit chyby zpracování.

B. Teplota

Pokožková teplota je definována jako 15 až 30 °C.

C. Prášek na rukavice

Podobně jako u jiných systémů reagentů 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 běh je nutné zopakovat.

B. Kritéria pro přijetí kalibrátoru

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

Negativní kalibrátor

IC	$\geq 0 \text{ a } \leq 45\,000 \text{ RLU}$
analyt	$\geq 75\,000 \text{ a } \leq 400\,000 \text{ RLU}$

Pozitivní kalibrátor

IC	$\geq 480\,000 \text{ a } \leq 1\,850\,000 \text{ RLU}$
analyt	$\leq 450\,000 \text{ RLU}$

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.

$$\text{Cutoff analytu} = \frac{[\text{střední RLU analytu platných replikátů negativního kalibrátoru}] + [0,09 \times \text{střední RLU analytu platných replikátů pozitivního kalibrátoru}]}{2}$$

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 jsou automaticky stanoveny softwarem testu. Výsledek testu může být negativní, pozitivní nebo neplatný, jak je určeno hodnotami IC RLU a S/CO pro analyt. První platný výsledek je výsledek, který by měl být zaznamenán. Výsledek testu může být také neplatný, pokud jsou jiné parametry mimo očekávaná rozmezí (abnormální tvar kinetické křivky). Neplatné testy by měly být zopakovány. Pokud je výsledek po opakovaném testu neplatný, měl by být odebrán nový vzorek.

Vzorky soupravy Aptima CSCT lze zředit, aby se potlačily případné inhibiční látky. Zředte 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	$S/CO \text{ analytu} < 0,50$ $IC \geq \text{cutoff } IC$ $IC \leq 2\,000\,000 \text{ RLU}$
Pozitivní	$S/CO \text{ analytu} \geq 0,50$ $IC \leq 2\,000\,000 \text{ RLU}$ $Analyt \leq 13\,000\,000 \text{ RLU}$
Neplatné	$IC > 2\,000\,000 \text{ RLU}$ nebo $S/CO \text{ analytu} < 0,50$ a $IC < \text{cutoff } IC$ nebo $analyt > 13\,000\,000 \text{ RLU}$

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. Opalovací krém obsahující oxid zinečnatý může interferovat s funkcí testu, pokud se v testovaném vzorku nachází v koncentracích vyšších než 2,5 % (hmot./obj.).
- M. Krém na hemoroidy obsahující oxid zinečnatý, oxid bismutitý a peruánský balzám může interferovat s funkcí testu, pokud se v testovaném vzorku nachází v koncentracích vyšších než 1 % (hmot./obj.).
- N. Hlen mohou interferovat s funkcí testu, pokud se v testovaném vzorku nachází v koncentracích vyšších než 2,5 % (hmot./obj.).
- O. Aptima HPV Assay poskytuje kvalitativní výsledky. Proto nelze vyvozovat korelaci mezi mírou signálu pozitivního testu a hladinou exprese mRNA ve vzorku.
- P. 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 přítomností interferujících látek.
- Q. Infekce HPV není ukazatelem cytologické HSIL ani základem vysoce závažných CIN, ani to neznamená, že se rozvine CIN2, CIN3 nebo rakovina. U většiny žen infikovaných jedním nebo více vysoce rizikovými typy HPV se nevyvinou CIN2, CIN3 ani rakovina.
- R. Účinky jiných potenciálních okolností, jako je vaginální výtok, použití tamponů, sprchování apod., a okolnosti odběru vzorků nebyly hodnoceny.

- S. Tento produkt smí používat pouze personál vyškolený v používání Aptima HPV Assay.
- T. 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 %.
- U. Aptima HPV Assay je třeba interpretovat v kombinaci s jinými laboratorními a klinickými údaji, které má lékař k dispozici.
- V. U tohoto testu může dojít k falešné pozitivním výsledkům. Transkripty *in vitro* nízké rizikových genotypů HPV 26, 67, 70 a 82 vykazovaly vzájemnou reaktivitu s Aptima HPV Assay.
- W. U vaginálních vzorků odebraných vlastním odběrem lze pozorovat rozdíly ve výkonu v porovnání se vzorky z děložního čípku odebranými lékařem. Pacientky s pozitivními výsledky u vaginálních vzorků odebraných vlastním odběrem by měly být odeslány k lékaři k následnému vyšetření.

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, 37} 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. 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 Tabulce 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 pozitivitu (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 systému Tigris DTS v roce 2008. V roce 2011 byly indikace rozšířeny pro 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 pestrout populaci. 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 kyretáže (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 byly ženy s pozitivním výsledkem testu Aptima HPV Assay na systému Tigris DTS a/nebo komerčně dostupného testu DNA HPV, stejně jako náhodně vybrané ženy s negativním výsledkem obou testů, odeslány ke kolposkopii pro základní vyšetření. 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 konsensuálního 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 konsensuálního 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 konsensuálního 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 statusem onemocnění. Devadesát jedna (91) žen mělo $\geq$ CIN2 a čtyřicet jedna (41) mělo $\geq$ CIN3. Prevalence $\geq$ CIN2 a $\geq$ 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, specifity, pozitivní prediktivní hodnoty (PPV) a negativní prediktivní hodnoty (NPV) pro detekci $\geq$ CIN2 a $\geq$ 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

		Aptima HPV Assay N = 937		Test DNA HPV N = 863*		
Účinnost		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 zahrnuty jako bez onemocnění (<CIN2 nebo <CIN3, podle okolností). Pokud byly zahrnuty 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 $\geq$ 21 let: Účinnost Aptima HPV Assay a testu DNA HPV pro detekci $\geq$ CIN2 podle věkových skupin

		Aptima HPV Assay N = 937		Test DNA HPV N = 863*	
Účinnost		Odhad	(95% CI)	Odhad	(95% CI)
		N = 415		N = 389	
21 až 29 let	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)	
		N = 261		N = 238	
30 až 39 let	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)	
		N = 261		N = 236	
≥ 40 let	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 $\geq$ 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)
≥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)
≥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

		Aptima HPV Assay N = 937		Test DNA HPV N = 863*	
Věk	Výsledek testu	Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)	Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)
		N = 415		N = 389	
21 až 29 let	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)
		N = 261		N = 238	
≥CIN2 30 až 39 let	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)
		N = 261		N = 236	
≥ 40 let	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)
		N = 415		N = 389	
21 až 29 let	Pozitivní	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Nelze vypočíst (0,0, 2,5)
	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)
		N = 261		N = 238	
≥CIN3 30 až 39 let	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)
		N = 261		N = 236	
≥ 40 let	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 Tabulce 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 primárně 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 statusem 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 statusem 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*			Celkem žen	Ověřený status onemocnění: ≥CIN2		Ověřený status onemocnění: ≥CIN3		Neověřený status onemocnění
Systém Panther	Systém Tigris DTS	Test DNA HPV		Ženy s onemocněním (≥CIN2)	Ženy bez onemocnění (≥CIN2)	Ženy s onemocněním (≥CIN3)	Ženy bez onemocnění (≥CIN3)	Ženy s neznámým statusem 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 zkreslení) 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)
≥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	
≥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

		Aptima HPV Assay N = 818		Test DNA HPV N = 800*	
Výsledek testu		Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)	Absolutní riziko (95% CI)	Relativní riziko (95% CI)
≥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)
≥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

		Aptima HPV Assay N = 818		Test DNA HPV N = 800*		
Věk	Výsledek testu	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)
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 zkrácení) 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 $\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3 (neupravené odhady) při úvodním vyšetření

	Aptima HPV Assay N = 818		Test DNA HPV N = 800*	
	Účinnost	Odhad (95% CI)	Odhad (95% CI)	
$\geq$ CIN2	Citlivost (%)	70,0 (14/20)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Specifická (%)	68,0 (543/798)	48,8 (381/781)	(45,3, 52,3)
	PPV (%)	5,2 (14/269)	3,8 (16/416)	(2,9, 4,5)
	NPV (%)	98,9 (543/549)	99,2 (381/384)	(98,1, 99,8)
	Prevalence (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)
$\geq$ CIN3	Citlivost (%)	90,9 (10/11)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Specifická (%)	67,9 (548/807)	48,5 (383/789)	(45,1, 52,0)
	PPV (%)	3,7 (10/269)	2,4 (10/416)	(1,6, 2,7)
	NPV (%)	99,8 (548/549)	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 specifické testu oproti komerčně dostupnému testu DNA HPV pro detekci $\geq$ 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 $\geq$ CIN2 (neupravené odhady) při úvodním vyšetření

	Test DNA HPV		Celkem
	Pozitivní	Negativní	
Aptima HPV Assay	Pozitivní	13	14 (73,7%)
	Negativní	3	5
	Celkem	16 (84,2%)	3
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 $\geq CIN2$ 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 $\geq CIN2$ 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 $\geq CIN2$ včetně 23 žen s $\geq CIN3$; 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)	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)	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 = 1350), 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 = 1326		Test PCR HPV N = 1351	
	Odhad	(95% CI)	Odhad	(95% CI)
Citlivost (%)	89,6 (69/77)	(80,8 - 94,6)	94,8 (73/77)	(87,4 - 98,0)
Specifická (%)	57,3 (716/1249)	(54,6 - 60,0)	52,0 (663/1274)	(49,3 - 54,8)
PPV (%)	11,5 (69/602)	(10,3 - 12,4)	10,7 (73/684)	(9,8 - 11,4)
NPV (%)	98,9 (716/724)	(98,0 - 99,5)	99,4 (663/667)	(98,6 - 99,8)
Prevalence (%)	5,8 (77/1326)		5,7 (77/1351)	

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		
		Pozitivní	Negativní	Celkem
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		
		Pozitivní	Negativní	Celkem
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)

Klinická funkčnost testu Aptima HPV Assay se vzorky stěrů Aptima Multitest

Klinická funkčnost u vaginálních vzorků odebraných pomocí soupravy pro odběr vzorků stěrů Aptima Multitest byla prokázána ve studii provedené u žen ve věku 24–64 let v Anglii.⁴⁵ Mezi způsobilé ženy (které splňovaly kritéria pro zařazení a měly platné výsledky testů na HPV odebrané lékařem i vlastním odběrem) patřily ženy odeslané na kolposkopii k dalšímu vyšetření po pozitivním nebo nepřiměřeném výsledku testu na HPV odebraného lékařem v rámci primárního screeningu nebo v rámci včasného opakovaného vyšetření nejpozději 8 týdnů (≤ 56 dní) před kolposkopií ($n = 78$) a ženy ve věku 24–64 let, u nichž se blížil termín rutinního screeningu rakoviny děložního čípku anebo u nichž už tento termín uplynul ($n = 903$).

Od každého účastníka studie byl odebrán vzorek odebraný vlastním odběrem a vzorek odebraný lékařem. Vaginální vzorky odebrané pomocí soupravy pro odběr vzorků stěrů Aptima Multitest byly před zpracováním na systému Panther 75 minut předeřívány na teplotu 90 °C a poté nechány vychladnout.

Podmíněná relativní citlivost pro vzorky odebrané vlastním odběrem byla definována jako podíl případů CIN2+ detekovaných prostřednictvím pozitivního vzorku odebraného lékařem, který také vrátil pozitivní výsledek testu na HPV u vzorku odebraného vlastním odběrem, získaného během rutinní kolposkopie.

V případě podmíněné relativní specifity u žen bez CIN2+ byl porovnán počet žen v rámci primárního screeningu, u nichž byl při rutinní screeningové prohlídce zaznamenán negativní výsledek testu vzorku odebraného vlastním odběrem, s počtem žen, u nichž byl negativní výsledek testu u odpovídajícího vzorku odebraného lékařem.

Odhadovaná podmíněná relativní citlivost pro vysokostupňovou cervikální intraepiteliální neoplazii (CIN2+) činila 0,92 (0,86–0,96) a pro CIN3+ 1 (0,92–1,00). Odhad relativní specifity pro CIN2+ byl 0,87 (0,85–0,89).

Mez detekce (LoD) v cervikálních vzorcích při klinické hodnotě cut-off

Limit detekce (LoD) při klinickém cutoff je koncentrace RNA HPV, která poskytuje kladný výsledek (nad klinický cutoff) 95% celkového času. LoD testu Aptima HPV Assay byla stanovena na základě testování panelů ředění in vitro transkriptů (IVT) pro všech 14 vysoce rizikových genotypů a pro 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 reagensů 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 pozitivitu 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: Mez detekce v cervikálních vzorcích odebraných klinickým pracovníkem při klinické hraniční hodnotě.

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 pro transkripty IVT a počet buněk na reakci pro buněčné linie

Mez detekce (LoD) ve vaginálních vzorcích při klinické hodnotě cut-off

LoD testu Aptima HPV Assay byla stanovena na základě testování panelů ředění transkriptů IVT pro všech 14 vysoce rizikových genotypů a pro 4 buněčné linie infikované HPV (SiHa, HeLa, ME180 a MS751) v matrici směsných vaginálních vzorků negativních na HPV, odebraných vlastním odběrem. Každý negativní soubor vzorků vaginálních výtěrů byl obohacen o cílové koncentrace pod mezí detekce (LoD), na její úrovni nebo nad touto mezí. Dvacet replikátů každé koncentrace bylo testováno s každou ze 2 šarží reagensií za použití 2 systémů Panther / Panther Fusion. LoD u klinické hodnoty cut-off byla definována jako koncentrace RNA HPV, která poskytla pozitivní výsledek alespoň v 95 % případů.

Tabulka 23 uvádí mez LoD stanovenou ze šarže reagensie, která produkuje nejkonzervativnější (nejvyšší) LoD s oboustranným 95% intervalem spolehlivosti. HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 66 a 68 měly 95% meze detekce nižší než 100 kopií/reakce; HPV 52, 56, 58 a 59 měly 95% meze detekce mezi 100 a 600 kopiemi/reakce. 4 buněčné linie mají 95% mez detekce 1 nebo méně než 1 buňka/reakce.

Tabulka 23: Mez detekce u vaginálních vzorků odebraných vlastním odběrem při klinické hodnotě cut-off

Cíl	Mez detekce*	95% CI
HPV 16	50	76,4 % – 99,1 %
HPV 18	75	83,9 % – 100 %
HPV 31	30	76,4 % – 99,1 %
HPV 33	30	76,4 % – 99,1 %
HPV 35	5	76,4 % – 99,1 %
HPV 39	5	83,9 % – 100 %
HPV 45	30	76,4 % – 99,1 %
HPV 51	30	76,4 % – 99,1 %
HPV 52	600	76,4 % – 99,1 %
HPV 56	100	83,9 % – 100 %
HPV 58	100	83,9 % – 100 %
HPV 59	100	76,4 % – 99,1 %
HPV 66	50	76,4 % – 99,1 %
HPV 68	10	76,4 % – 99,1 %
SiHa	1	83,9 % – 100 %
HeLa	0,2	76,4 % – 99,1 %
ME180	0,03	83,9 % – 100 %
MS751	0,1	76,4 % – 99,1 %

* Počet kopií na reakci pro transkripty IVT a počet buněk na reakci pro buněčné linie

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 ($3 \text{ pracoviště} \times 1 \text{ přístroj} \times 2 \text{ laboranti} \times 2 \text{ šarže} \times 3 \text{ pracovní seznamy} \times 3 \text{ replikáty}$). Ve 2. studii bylo provedeno testování interně po dobu 13 dní s celkem 162 reakcemi testovanými pro každý člen panelu ($1 \text{ místo} \times 3 \text{ přístroje} \times 3 \text{ laborant} \times 3 \text{ šarže} \times 2 \text{ pracovní seznamy} \times 3 \text{ replikáty}$).

Prvky panelu popisuje Tabulka 24a (prvky panelu s očekávanými pozitivními výsledky) a Tabulka 24b (prvky panelu s očekávanými negativními výsledky) spolu se shrnutím shody s očekávanými výsledky a hodnotami S/CO analytu na 2,5., 50. a 97,5. percentilu distribuce S/CO. Variabilitu S/CO analytu pro prvky panelu s očekávanými pozitivními výsledky uvádí Tabulka 25 pro studii 1 a Tabulka 25 pro studii 2.

Tabulka 24a: 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 24b: 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 (kopíí 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 25: 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 26: 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 nízké 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 nízké 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 nízké 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 nízké 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 nízké 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 nízké rizikového typu HPV *in vitro*. Tabulka 27 uvádí dané mikroorganismy a testované koncentrace. Kritéria studie posouzení vlivu přítomnosti mikroorganismů na specifitu testu byla založena na pozitivitě. U nízké rizikových genotypů HPV 26, 67, 70 a 82 byla pozorována zkřížená reaktivita, ale u jiných testovaných mikroorganismů ne.

Tabulka 27: Analytický panel specifity: organismy a koncentrace bez zkřížené reaktivity

Organismus	Test Koncentrace Bez zkřížené reaktivity	Organismus	Test Koncentrace Bez zkřížené reaktivity
Bakterie			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Lactobacillus mucosae</i> *	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Leptotrichia buccalis</i> *	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	5 × 10 ⁷ KTJ/ml	<i>Micrococcus luteus</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Bacillus cereus</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2 × 10 ⁷ KTJ/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5 × 10 ⁷ KTJ/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	5 × 10 ⁷ KTJ/ml
<i>Bifidobacterium longum</i> *	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> a <i>Chlamydia trachomatis</i>	2,5 × 10 ⁷ KTJ/ml 2,3 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
<i>Campylobacter jejuni</i> *	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3,2 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Clostridium difficile</i>	6 × 10 ⁷ KTJ/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Prevotella bivia</i> *	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Eggerthella lenta</i> *	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Providencia stuartii</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Escherichia coli</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Ruminococcus productus</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Finegoldia magna</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Serratia marcescens</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Sneathia amnii</i> *	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml

Tabulka 27: Analytický panel specifity: organismy a koncentrace bez zkřížené reaktivity (pokračování)

Organismus	Test Koncentrace Bez zkřížené reaktivity	Organismus	Test Koncentrace Bez zkřížené reaktivity
<i>Lactobacillus gasseri</i> *	1 × 10 ⁶ KTJ/ml	<i>Ureaplasma parvum</i> *	1 × 10 ⁶ genomické kopie/ml
<i>Lactobacillus iners</i> *	1 × 10 ⁶ KTJ/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 × 10 ⁶ KTJ/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml		
Kvasinky/houby			
<i>Candida albicans</i>	1 × 10 ⁸ KTJ/ml	<i>Pichia fermentans</i> *	1 × 10 ⁶ KTJ/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i> *	1 × 10 ⁶ KTJ/ml	<i>Trichomonas tenax</i> *	1 × 10 ⁶ buněk/ml**
<i>Pentatrichomonas hominis</i> *	1 × 10 ⁶ buněk/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 × 10 ⁷ buněk/ml
Viry			
Adenovirus 2	1 × 10 ⁷ vp/ml	Herpes simplex virus 1	2,5 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
Adenovirus 40*	1 × 10 ⁵ genomických kopií/ml	Herpes simplex virus 2	5 × 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Cytomegalovirus	5,6 × 10 ² TCID ₅₀ /ml	HIV-1	1,0 × 10 ⁶ kopií/ml
Virus Epstein-Barr	4,3 × 10 ⁶ vp/ml	SV40	1,2 × 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Necílené HPV genotypy			
HPV 6	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml	HPV 61	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml
HPV 11	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml	HPV 67	1 kopie/ml
HPV 26	2,5 kopie/ml	HPV 69	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml
HPV 30	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml	HPV 70	1 kopie/ml
HPV 34	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml	HPV 71	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml
HPV 42	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml	HPV 73	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml
HPV 43	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml	HPV 81	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml
HPV 44	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml	HPV 82	1 kopie/ml
HPV 53	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml	HPV 85	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml
HPV 54	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml		

vp = virové částice; KTJ = kolonie tvořící jednotky; 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 uvedeny v tabulce.

* U dalších organismů byla u vaginálních vzorků odebraných vlastním odběrem posuzována zkřížená reaktivita a mikrobiální interference. Panel tvořený 15 organismy byl testován v médiu STM za nepřítomnosti nebo za přítomnosti buněk SiHa v 3násobku LoD. U žádného z organismů v uvedených koncentracích nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita ani mikrobiální interference.

** U *Trichomonas tenax* nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita. Zatímco 100% pozitivita na cílový HPV (buněk SiHa při 3násobku LoD) byla v přítomnosti *Trichomonas tenax* zachována, bylo pozorováno snížení hodnot S/CO, které se při opakovaném testování při koncentraci 1 × 10⁶ buněk/ml obnovily.

Analytická citlivost testu Aptima HPV Assay v přítomnosti mikroorganismů byla hodnocena stejným panelem, jaký popisuje Tabulka 27, 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 možných rušivých látek pro test Aptima HPV Assay bylo provedeno pomocí systému Tigris DTS. Test Aptima HPV Assay byl poprvé uveden na trh v systému Tigris DTS v roce 2008. V roce 2011 byly indikace rozšířeny pro použití testu Aptima HPV Assay na systému Panther. Systém Panther představuje alternativní, menší přístrojovou platformu ve srovnání se systémem 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 28 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 tioconazol. U žádné jiné testované látky interference pozorována nebyla.

Tabulka 28: 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 Kombinovaný balíček	10 % hmot./obj.
	Tioconazole 1 značky Target	0,3 % hmot./obj. (testovaný vzorek 0,075 % hmot./obj.)
	Miconazole 3 značky Target	10 % hmot./obj.
Antibiotický gel[†]	Gel metronidazol	123 µg/ml
Antivirový krém[†]	Zovirax (aciclovir) – krém	66 µg/ml
	Krém na opary Abreva	5 % hmot./obj.
Krém na hemoroidy[†]	Krém na hemoroidy Anusol ^{††}	1 % hmot./obj.
	Krém na hemoroidy Preparation H	5 % hmot./obj.

Tabulka 28: Látky testované na případnou interferenci s testem Aptima HPV Assay (pokračování)

Kategorie produktu	Značka nebo typ produktu	Nejvyšší testovaná koncentrace*, která neinterferovala s funkcí testu
Steroidní krém[†]	Krém Cortizone-10 Max Strength proti svědění	5 % hmot./obj.
Přípravky používané k výplachům pochvy[†]	Povidon-jódový antiseptický roztok Dynarex	5 obj. %
	Vaginální výplach Summer's Eve, extra čistící, na bázi octa a vody	5 obj. %
	Vaginální výplach Summer's Eve proti zápachu	5 % hmot./obj.
Intimní mycí prostředek[†]	Čistící gel na intimní partie Summer's Eve	5 obj. %
	Vagisil – suchý výplach	5 obj. %
Gel proti zápachu[†]	Gel proti zápachu RepHresh	5 obj. %
Dezinfekční prostředek na ruce[†]	Dezinfekční prostředek na ruce Germ-X	5 % hmot./obj.
Mýdlo na ruce[†]	Tekuté antibakteriální mýdlo na ruce Dial	5 % hmot./obj.
	Gelové mýdlo na ruce Method	5 % hmot./obj.
Pleťové mléko[†]	Tělové mléko NIVEA	5 % hmot./obj.
	Hydratační pleťové mléko CeraVe	5 % hmot./obj.
Opalovací krém[†]	Opalovací tělové mléko Neutrogena	5 % hmot./obj.
	Hydratační opalovací tělové mléko NIVEA	5 % hmot./obj.
	Minerální opalovací tělové mléko Coppertone Sport ^{††}	2,5 % hmot./obj.
Bezvodá kyselina octová	EMD M/N AX0073-11	10 % obj./obj.
Plná krev	Plná krev	10 % obj./obj.
Hlen[†]	Prasečí mucin ^{††}	2,5 % hmot./obj.
Intravaginální hormony[†]	Estradiol (estrogen)	7,5 pg/ml
	Progesteron	0,18 mg/ml
Seminální tekutina[†]	Seminální tekutina	5 obj. %
Leukocyty[†]	Leukocyty	1 x 10 ⁶ buněk/ml

* Koncentrace ve vzorku v roztoku PreservCyt; koncentrace testovaného vzorku činí 1/4 původní koncentrace v důsledku přenosu vzorku z roztoku PreservCyt do přenosové zkumavky obsahující médium STM.

**Osobní lubrikanty, které obsahují Polyquaternium 15.

[†]Další látky byly hodnoceny z hlediska interference ve vaginálních vzorcích odebraných vlastním odběrem. Panel sestávající z 15 látek byl testován v STM v nepřítomnosti nebo v přítomnosti buněk SiHa při 3násobku LoD.

^{††}Bylo pozorováno interferenční působení u následujících látek, pokud byly přítomny v koncentracích vyšších, než jsou uvedené: krém na hemoroidy (obsahující oxid zinečnatý, oxid bismutitý a peruánský balzám) v koncentraci 1 % hmotn./obj., opalovací krém (obsahující oxid zinečnatý) v koncentraci 2,5 % hmotn./obj. a hlen v koncentraci 2,5 % hmotn./obj.

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, Lynge E.** Prevalence of human papillomavirus infection in unselected SurePath samples using the APTIMA HPV mRNA assay. *The Journal of Molecular Diagnostics*:2013;**15(5)**:670-7.
18. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lynge E.** A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer*. 2015;**51**:1456-66.
19. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lynge E.** Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above. *PLoS One*. 2016 Jan 20;**11(1)**:e0147326.
20. **Preisler S, Rebolj M, Ejegod DM, Lynge E, Rygaard C, Bonde J.** Cross-reactivity profiles of hybrid capture II, cobas, and APTIMA human papillomavirus assays: split-sample study. *BMC Cancer*. 2016;**16**:510.
21. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lynge 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, Lynge 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, Schlager 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, Sciarone 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.
45. **Mathews, C. S., Sargent, A., Cuschieri, K., Rebolj, M., Brentnall, A. R., Mackie, A., Mills, C., Martinelli, C., Wright, A. M., Hunt, K., Bird, A., Patel, H., Smith, D., Johnson, T., Ellis, K., Hunt, M., & Denton, K.** 2025. HPVValidate-human papillomavirus testing with DNA and mRNA assays on self-collected samples in cervical screening: comparison of test characteristics on three self-sampling devices. *British journal of cancer*, 133(5), 665–673.

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 BD.

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.

©2016–2026 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-22202-2601 Rev. 003

2026-04

Historie revizí	Datum	Popis
AW-22202-2601 Rev. 001	březen 2023	- Vytvoření návodu k použití testu Aptima™ HPV Assay (Panther™ System) AW-22202 Rev. 001 na základě dokumentu AW-14517 Rev. 007 pro shodu s nařízením 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 reagenty 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.
AW-22202-2601 Rev. 002	Srpen 2024	Aktualizovaná tabulka klinických výkonů SurePath Specimens.

Historie revizí	Datum	Popis
AW-22202-2601 Rev. 003	Duben 2026	• Doplnění informací o bezpečnosti, jako jsou osvědčené standardní postupy a všeobecná bezpečnostní opatření • Aktualizace tabulky bezpečnostních listů • Aktualizace pokynů k přípravě reagentů pro novou soupravu • Aktualizace oddílu Omezení • Přidána sekce Klinická funkčnost testu Aptima HPV Assay se vzorky stěrů Aptima Multitest • Aktualizace tabulky interferencí látek a organismů/koncentrací • Odstranění oddíly Procesor ThingPrep před cytologií a po cytologii • Aktualizace informací o literatuře