

Test Aptima HPV (systém Panther)

Návod na použitie
Len na diagnostické použitie *in vitro*
Len na vývoz do USA

Všeobecné informácie	2
Určené použitie	2
Zhrnutie a vysvetlenie testu	2
Zásady procedúry	3
Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu	4
Upozornenia a opatrenia	4
Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentom	7
Odber vzoriek a skladovanie	8
Panther System	10
Poskytnuté reagenty a materiály	10
Potrebné materiály, ale dostupné samostatne	11
Voliteľné materiály	12
Postup testovania systému Panther	12
Poznámky k postupu	15
Postupy kontroly kvality	16
Interpretácia testu	17
Obmedzenia	18
Očakávané výsledky systému Panther: Prevalencia vysokorizikovej HPV mRNA	20
Výkon testovania systému Panther	23
Literatúra	53
Kontaktné údaje a história revízií	55

Všeobecné informácie

Určené použitie

Test Aptima HPV Assay je test založený na sonde z nukleovej kyseliny s cieľovou amplifikáciou na *in vitro* kvalitatívnu detekciu vírusovej mediátorovej RNA E6/E7 (mRNA) zo 14 vysokorizikových typov ľudského papilomavírusu (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Test Aptima HPV Assay nerozlišuje medzi 14 vysokorizikovými typmi.

- Aptima HPV assay je indikovaný na použitie pri skríningu pacientov s ASC-US (atypické skvamózne bunky s neurčeným významom), výsledkov testov Pap na stanovenie potreby na podanie do kolposkopie. Výsledky tohto testu nie sú určené na to, aby zabránili ženám pokračovať v kolposkopii.
- Test Aptima HPV Assay sa môže použiť s cervikálnou cytológiou na doplnkový skríning (kombinované testovanie) na posúdenie prítomnosti alebo neprítomnosti vysokorizikových typov HPV. Tieto informácie spolu s hodnotením histórie cytologického vyšetrenia lekárom, inými rizikovými faktormi a odbornými pokynmi sa môžu použiť na usmernenie liečby pacientov.
- Aptima HPV assay sa môže použiť ako primárny skríningový test prvej línie, s cytológiou krčka maternice alebo bez nej, na identifikáciu žien so zvýšeným rizikom vzniku rakoviny krčka maternice alebo prítomnosti ochorenia vysokého stupňa. Tieto informácie spolu s hodnotením histórie vyšetrení pacientky lekárom, inými rizikovými faktormi a odbornými pokynmi sa môžu použiť na usmernenie liečby pacientov.

Test Aptima HPV Assay možno použiť na testovanie nasledujúcich typov vzoriek v systéme Panther System: vzorky z krčka maternice odobraté lekárom do skúmaviek ThinPrep Pap Test s roztokom PreservCyt pred alebo po spracovaní Pap, vzorky z krčka maternice odobraté pomocou súpravy na odber a prepravu Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit alebo vzorky z krčka maternice uložené v konzervačnej tekutine SurePath, alebo vaginálne vzorky odobraté samoodberom do odberovej súpravy Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit.

Zhrnutie a vysvetlenie testu

Rakovina krčka maternice je jednou z najčastejších rakovín žien na svete. HPV je etiologické činidlo zodpovedné za viac ako 99 % všetkých rakovín krčka maternice.^{1, 2, 3} HPV je bežný pohlavne prenosný vírus DNA, ktorý obsahuje viac ako 100 genotypov.⁴

Vírusový genóm HPV je dvojvláknová kruhová DNA s dĺžkou približne 7900 párov báz. Genóm má osem prekrývajúcich sa otvorených čítacích rámcov. Existuje šesť skorých (E) génov, dva neskoré (L) gény a jeden netranslatovaná dlhá kontrolná oblasť. Gény L1 a L2 kódujú hlavné a minoritné kapsidové proteíny. Skoré gény regulujú replikáciu vírusu HPV. Gény E6 a E7 z vysokorizikových HPV genotypov sú známe onkogény. Proteíny exprimované z E6/E7 polycistronickej mRNA menia bunkové funkcie bunkového p53 a retinoblastómu, čo vedie k narušeniu kontrolných bodov bunkového cyklu a nestability bunkového genómu.^{1, 4}

Štrnásť genotypov HPV sa v prípade ochorenia krčka maternice považuje za patogénne alebo vysokorizikové.⁵ Viacero štúdií spája genotypy 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68 s progresiou ochorenia.^{2, 6, 7} U žien s pretrvávajúcou infekciou jedným z týchto typov je zvýšené riziko vzniku závažnej dysplázie alebo karcinómu krčka maternice.^{5, 8}

Infekcie HPV sú veľmi časté a väčšina žien odstráni infekcie HPV v priebehu 6 až 12 mesiacov.²⁻⁹ Prítomnosť nukleovej kyseliny HPV neznamena, že je prítomná dysplázia krčka maternice alebo rakovina krčka maternice. Účinným prístupom na detekciu ochorenia krčka maternice je však zameranie sa na onkogénne prvky HPV, ktoré podporujú pretrvávajúcu vírusovú infekciu a bunkovú transformáciu.¹⁰

Klinický výkon Aptima HPV Assay pri primárnom skríningu rakoviny krčka maternice

Klinický výkon testu Aptima HPV pri použití v primárnej skriningovej modalite bol skúmaný vo viacerých štúdiách nezávislými výskumníkmi. Najmenej 25 odborne recenzovaných publikácií¹¹⁻³⁵ z 15 samostatných klinických štúdií hlási výkon testu Aptima HPV pri primárnom skríningu u žien zaradených v jedenástich krajinách (Čína, Kanada, Francúzsko, Mexiko, Anglicko, Dánsko, Holandsko, Spojené štáty americké, Nemecko, Švédsko a Thajsko). Údaje z týchto štúdií ukazujú, že test Aptima HPV má podobný klinický výkon v porovnaní s inými klinicky validovanými testami HPV, keď sa používa na primárny skríning krčka maternice pred rakovinou a s rakovinou.

Zásady procedúry

Aptima HPV assay zahŕňa tri hlavné kroky, ktoré prebiehajú v jednej skúmavke: zachytenie cieľa; cieľová amplifikácia pomocou transkripčne sprostredkovanej amplifikácie (TMA),⁴² a detekcia amplifikačných produktov (amplikón) testom hybridizačnej ochrany (HPA).⁴³ Test zahŕňa internú kontrolu (IC) na monitorovanie zachytávania, amplifikácie a detekcie nukleovej kyseliny, ako aj chyby operátora alebo prístroja.

Vzorky sa zozbierajú alebo prenesú do skúmavky obsahujúcej médium na prenos vzoriek (STM), ktoré lyzuje bunky, uvoľňuje mRNA a chráni ju pred degradáciou počas skladovania. Keď sa vykoná test Aptima HPV Assay, cieľová mRNA sa izoluje zo vzorky pomocou zachytávacích oligomérov, ktoré sú spojené s magnetickými mikročasticami. Zachytávacie oligoméry obsahujú sekvencie komplementárne so špecifickými oblasťami cieľových molekúl HPV mRNA, ako aj reťazec zvyškov deoxyadenozínu. Počas kroku hybridizácie sa sekvencie špecifické pre sekvencie zachytávacích oligomérov viažu na špecifické oblasti cieľovej molekuly mRNA HPV. Zachytávací oligomér: komplex sa potom zachytí z roztoku znížením teploty reakcie na izbovú teplotu. Táto redukcia teploty umožňuje hybridizáciu medzi deoxyadenozínovou oblasťou na zachytávacom oligoméri a polydeoxytymidínovými molekulami, ktoré sú kovalentne pripojené k magnetickým časticiam. Mikročastice, vrátane zachytených cieľových molekúl HPV mRNA, ktoré sú na ne naviazané, sú ťahané na stranu reakčnej skúmavky pomocou magnetov a supernatant je odsatý. Častice sa premyjú, aby sa odstránila zvyšková matrica vzorky, ktorá môže obsahovať inhibítory amplifikácie.

Po dokončení cieleného zachytenia sa HPV mRNA amplifikuje použitím TMA, čo je spôsob amplifikácie nukleovej kyseliny založený na transkripcii, ktorý využíva dva enzýmy, MMLV reverznú transkriptázu a T7 RNA polymerázu. Reverzná transkriptáza sa používa na vytvorenie kópie DNA cieľovej mRNA sekvencie obsahujúcej promótorovú sekvenciu pre T7 RNA polymerázu. T7 RNA polymeráza produkuje viac kópií RNA amplikónu z templátu DNA kópie.

Detekcia amplikónu sa dosahuje pomocou HPA s použitím jednovláknových sond nukleovej kyseliny s chemiluminiscenčnými značkami, ktoré sú komplementárne s amplikónom. Značené sondy nukleovej kyseliny špecificky hybridizujú s amplikónom. Selektívne činidlo rozlišuje medzi hybridizovanými a nehybridizovanými sondami inaktiváciou značky na nehybridizovaných sondách. Počas detekčného kroku sa svetlo emitované z označených hybridov RNA: DNA meria v luminometri ako fotónové signály nazývané Relative Light Units (relatívne jednotky svetla) (RLU). Konečné výsledky testov sú interpretované na základe signálu po medznú hodnotu analytu (S/CO).

Ku každej reakcii sa pridáva IC pomocou reagentu na zachytávanie cieľov. IC monitoruje cieľové zachytenie, amplifikáciu a detekčné kroky testu. IC signál v každej reakcii sa odlišuje od HPV signálu diferenciálnou kinetikou vyžarovania svetla zo sond s rôznymi značkami.⁴⁴ Amplikón špecifický pre IC sa deteguje pomocou sondy s rýchlym vyžarovaním svetla (flasher). Amplikón špecifický pre HPV je detegovaný použitím sond s relatívne pomalšou kinetikou vyžarovania svetla (glower). Dual Kinetic Assay (Duálne kinetické testovanie) (DKA) je metóda používaná na rozlíšenie signálov z flasheru a gloweru.⁴⁴

Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu

Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu (Summary of Safety and Performance, SSP) je dostupný v Európskej databáze zdravotníckych pomôcok (Eudamed), kde je prepojený s identifikátormi pomôcky (Basic UDI-DI). Dokument SSP vzťahujúci sa k testu Aptima HPV nájdete podľa základného jedinečného identifikátora pomôcky (BUDI), ktoré je nasledujúce: **54200455DIAGAPTHPVBR**.

Upozornenia a opatrenia

- A. Len na diagnostické použitie *in vitro*.
- B. Pre profesionálne použitie.
- C. Ďalšie špecifické varovania a bezpečnostné opatrenia nájdete v *Príručkách pre operátora systému Panther/Panther Fusion*.

Súvisiace s laboratóriom

- D. Používajte iba dodané alebo špecifikované jednorazové laboratórne pomôcky.
- E. Použite rutinné laboratórne opatrenia. V určených pracovných priestoroch nejedzte, nepite ani nefajčite. Pri manipulácii so vzorkami a súpravami reagentov používajte jednorazové, bezprašné rukavice, ochranné okuliare a laboratórne plášte. Po manipulácii so vzorkami a súpravami reagentov si dôkladne umyte ruky.
- F. **Upozornenie: Dráždivý a žieravý:** Zabráňte kontaktu systému Auto Detect 2 s pokožkou, očami a sliznicou. Ak sa táto tekutina dostane do kontaktu s pokožkou alebo očami, postihnuté miesto umyte vodou. Ak sa táto tekutina vyleje, rozriedte ju vodou pred vysušením.
- G. Pracovné plochy, pipety a iné zariadenia sa musia pravidelne dekontaminovať 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného. Viac informácií nájdete v časti *Postup testovania systému Panther*.
- H. Riadte sa osvedčenými postupmi pre molekulárne laboratória vrátane sledovania prostredia.

Súvisiace so vzorkami

- I. Počas prepravy a skladovania vzoriek udržiavajte správne teplotné podmienky, aby ste zabezpečili integritu vzorky. Stabilita vzorky nebola hodnotená za iných podmienok, ako sú odporúčané.
- J. Dátumy expirácie uvedené na súpravách na odber/prenos vzoriek a skúmavkách sa vzťahujú na miesto odberu/premiestnenia a nie na testovacie zariadenie. Vzorky odobraté/prenesené kedykoľvek pred týmito dátumami expirácie sú platné na testovanie

za predpokladu, že boli prepravované a skladované v súlade s príslušným príbalovým letákom, a to aj v prípade, že tieto dátumy expirácie uplynuli.

- K. Dodržiavajte univerzálne bezpečnostné opatrenia a zavedené laboratórne protokoly pre bezpečnú manipuláciu, likvidáciu a prevenciu krížovej kontaminácie. So vzorkami môžu manipulovať len osoby primerane vyškolené v zaobchádzaní s infekčnými materiálmi.
- L. Ak sa rukavice dostanú do kontaktu so vzorkou, okamžite ich vymeňte. Aby sa zabránilo krížovej kontaminácii, zlikvidujte použité materiály a nepodávajte ich ponad iné nádoby.
- M. Po prepichnutí môže tekutina za určitých podmienok uniknúť z uzáverov rúrok. Postupujte podľa pokynov v časti *Postup testovania systému Panther*, aby ste tomu predišli.
- N. Vzorky tekutého cytologického preparátu ThinPrep a odber a transport cervikálnych vzoriek (CSCT) sa mali odmietnuť, ak v skúmavke na vzorky zostalo odberové zariadenie.
- O. Kvapalné cytologické vzorky SurePath by sa mali zamietnuť, ak sa v injekčnej liekovke nenachádza odberové zariadenie.
- P. Ak laboratórium dostane prepravnú skúmavku odberovej súpravy Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit bez tampónu, s dvomi tampónmi, s čistiacim tampónom alebo tampónom nedodávaným spoločnosťou Hologic, vzorka sa musí odmietnuť.

Súvisiace s testom

- Q. Dodržiavajte všeobecné bezpečnostné opatrenia.
- R. Reagenty skladujte pri špecifikovaných teplotách. Výkon testu môže byť ovplyvnený použitím nesprávne skladovaných reagentov.
- S. Zabráňte mikrobiálnej a ribonukleázovej kontaminácii reagentov.
- T. Súpravu nepoužívajte po dátume expirácie.
- U. Nepremieňajte, nemiešajte ani nekombinujte testovacie reagenty alebo kalibrátory zo súprav s rôznymi číslami šarží.
- V. Testovacie kvapaliny Aptima a reagencie Aptima Auto Detect nie sú súčasťou hlavnej šarže. Môže sa použiť akákoľvek šarža.
- W. Na dosiahnutie presných výsledkov testu je potrebné dôkladné premiešanie testovacích reagentov.
- X. Musia sa použiť hroty s hydrofóbnymi zátkami.
- Y. Niektoré reagenty tejto súpravy sú označené rizikovými a bezpečnostnými symbolmi.

Poznámka: Oznámenie o nebezpečenstve vychádza z klasifikácie kariet bezpečnostných údajov EÚ (KBÚ). Informácie týkajúce sa oznámení o nebezpečenstve, ktoré sú špecifické pre váš región, nájdete v KBÚ pre jednotlivé regióny v knižnici kariet bezpečnostných údajov na adrese www.hologicds.com. Viac informácií o symboloch nájdete v legende k symbolom na adrese <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informácie EÚ o nebezpečenstve	
 	Selekčná reagenscia <i>Kyselina boritá 1 – 5 %</i> <i>Triton X-100 1 – 5 %</i> <i>Hydroxid sodný < 1 %</i> — NEBEZPEČENSTVO H315 – Dráždi kožu. H360FD – Môže poškodiť plodnosť. Môže poškodiť nenarodené dieťa. P264 – Po manipulácii si starostlivo umyte tvár, ruky a akúkoľvek odhalenú pokožku. P280 – Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. P302 + P352 – PRI KONTAKTE S POKOŽKOU: Umyte veľkým množstvom vody a mydlom. P332 + P313 – Ak sa prejaví podráždenie pokožky: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. P362 + P364 – Kontaminovaný odev vyzlečte a pred ďalším použitím ho vyperte. P201 – Pred použitím sa oboznámte s osobitnými pokynmi. P202 – Nepoužívajte, kým si neprečítate a nepochopíte všetky bezpečnostné opatrenia. P308 + P313 – Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. P405 – Uchovávať uzamknuté. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu prostredníctvom schváleného závodu na likvidáciu odpadu.
	Reagenscia na záchyt cieľa <i>HEPES 5 – 10 %</i> <i>EDTA 1 – 5 %</i> <i>Monohydrát hydroxidu lítneho 1 – 5 %</i> — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu prostredníctvom schváleného závodu na likvidáciu odpadu.
—	Amplifikačná reagenscia <i>HEPES 25 – 30 %</i> — H402 – Škodlivý pre vodné organizmy. H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu prostredníctvom schváleného závodu na likvidáciu odpadu.
—	Enzymatická reagenscia <i>HEPES 1 – 5 %</i> <i>Triton X-100 1 – 5 %</i> — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu prostredníctvom schváleného závodu na likvidáciu odpadu.
—	Sondová reagenscia <i>LÍTNÁ SOĽ LAURYLSULFÁTU 35 – 40 %</i> <i>KYSELINA SUKCI NOVÁ 10 – 15 %</i> — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu prostredníctvom schváleného závodu na likvidáciu odpadu.

Rekonštitučný roztok na enzýmy*Glycerol 20 – 25 %**Triton X-100 5 – 10 %**HEPES 1 – 5 %*

H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.

P501 – Zneškodnite obsah/nádobu prostredníctvom schváleného závodu na likvidáciu odpadu.

Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentom

Nepoužívajte reagenty po dátume expirácie uvedenom na injekčných liekovkách.
Ďalšie inštrukcie o skladovaní nájdete nižšie.

- A. Nasledujúce reagenty sa po prijatí skladujú pri teplote 2 °C až 8 °C (v chladničke):
- HPV Amplifikačný reagent
 - HPV Enzýmový reagent
 - HPV Reagent sondy
 - HPV Reagent vnútornej kontroly
 - HPV pozitívne kalibrátory a negatívne kalibrátory
- B. Nasledujúce reagenty sa po prijatí skladujú pri teplote 15 °C až 30 °C (pri izbovej teplote):
- HPV Amplifikačný rekonštitučný roztok
 - HPV Enzýmový rekonštitučný roztok
 - HPV Rekonštitučný roztok sondy
 - HPV Reagent na zachytávanie cieľov
 - HPV Výberový reagent
- C. Po rekonštitúcii sú nasledujúce reagenty stabilné 30 dní pri skladovaní pri teplote 2 °C až 8 °C:
- HPV Amplifikačný reagent
 - HPV Enzýmový reagent
 - HPV Reagent sondy
- D. Pracovný reagent na zachytávanie cieľov (wTCR) je stabilné počas 30 dní, keď sa uchováva pri teplote 15 °C až 30 °C. Neuchováajte v chladničke.
- E. Nepoužité rekonštituované reagenty a wTCR zlikvidujte po 30 dňoch alebo po dátume expirácie šarže matrice, podľa toho, čo nastane skôr.
- F. Reagencie testu Aptima HPV sú stabilné 72 hodín, ak sú uložené v systéme Panther.
- G. Reagent sondy a reagent rekonštituovanej sondy sú fotosenzitívne. Reagenty uchováajte chránené pred svetlom.
- H. **Reagenty nezmrazujte.**

Odber vzoriek a skladovanie

Poznámka: So všetkými vzorkami zaobchádzajte tak, akoby obsahovali potenciálne infekčné agensy. Dodržiavajte všeobecné bezpečnostné opatrenia.

A. Odber vzoriek a skladovanie

Tekuté cytologické vzorky ThinPrep

1. Vzorky krčka maternice odoberte do injekčných liekoviek ThinPrep Pap obsahujúcich roztok PreservCyt prostredníctvom pomôcok na odber metličkového typu alebo cytokefiiek/špachtličiek podľa pokynov výrobcu.
2. Pred alebo po spracovaní procesorom ThinPrep 2000, procesorom ThinPrep 5000, procesorom ThinPrep 5000 s autoloaderom alebo procesorom ThinPrep Genesis preneste 1 ml tekutej cytologickej vzorky ThinPrep do skúmavky na prenos vzorky Aptima podľa pokynov v príbalovom letáku pre súpravu a roztok na prenos vzoriek Aptima.

Tekuté cytologické vzorky SurePath

1. Tekutú cytologickú vzorku SurePath odoberte podľa návodu na použitie k testu SurePath Pap a/alebo systému PrepStain.
2. Preneste tekutú cytologickú vzorku SurePath do skúmavky na prenos vzorky Aptima podľa pokynov v príbalovom letáku pre súpravu a roztok na prenos vzoriek Aptima.

Odber vzoriek z krčka maternice a súprava na transport vzoriek Aptima

1. Vzorku odoberte podľa návodu na použitie súpravy CSCT Aptima.

Vzorky z odberovej súpravy Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit

1. Vzorku odoberte podľa návodu na použitie odberovej súpravy Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit.

B. Preprava a skladovanie pred testovaním

Tekuté cytologické vzorky ThinPrep

1. Tekuté cytologické vzorky ThinPrep prepravujte pri teplote 2 °C až 30 °C.
2. Vzorky by sa mali preniesť do skúmavky Aptima na prenos vzorky do 105 dní od odberu.
3. Pred prenosom by sa mali vzorky ThinPrep tekutých cytologických vzoriek skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C, maximálne však 30 dní pri teplotách nad 8 °C.
4. Tekuté cytologické vzorky ThinPrep prenesené do skúmavky Aptima na prenos vzorky možno uchovávať pri teplote 2 °C až 30 °C maximálne 60 dní.
5. Ak je potrebné dlhšie uchovávanie, tekutý cytologický preparát ThinPrep alebo tekutý cytologický preparát ThinPrep zriedený v skúmavke na prenos vzoriek sa môže uchovávať pri teplote -20 °C a menej až do 24 mesiacov.

Tekuté cytologické vzorky SurePath

1. Tekuté cytologické vzorky SurePath prepravujte pri teplote 2 °C až 25 °C.
2. Vzorky by sa mali preniesť do skúmavky Aptima na prenos vzorky do 7 dní od odberu.
3. Pred prenosom sa musia tekuté cytologické vzorky SurePath uchovávať pri teplote 2 °C až 25 °C.
4. Tekuté cytologické vzorky SurePath prenesené do skúmavky Aptima na prenos vzorky možno uchovávať pri teplote 2 °C až 25 °C maximálne 7 dní.

Odber vzoriek z krčka maternice a súprava na transport vzoriek Aptima

1. Vzorky prepravujte a skladujte pri teplote 2 °C až 30 °C maximálne 60 dní.
2. Ak je potrebné dlhšie skladovanie, vzorky transportnej súpravy sa môžu skladovať pri teplote -20 °C a menej maximálne 24 mesiacov.

Vzorky z odberovej súpravy Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit

1. Preprava vzoriek
 - a. Vzorky prepravujte pri teplote 2 °C až 30 °C.
 - b. Vzorky sa musia doručiť do laboratória do 5 dní od odberu.
 2. Uchovávanie vzoriek pred testovaním
 - a. Možnosť 1: Vzorky je možné skladovať pri teplote 2 °C až 8 °C až 30 dní.
 - b. Možnosť 2: Vzorky je možné skladovať pri teplote 15 °C až 30 °C až 30 dní.
- C. Ošetrovanie tekutej cytologickej vzorky SurePath
- Poznámka:** Cytologické vzorky SurePath sa musia pred testovaním testom Aptima HPV ošetriť roztokom Aptima Transfer.
1. Roztok Aptima Transfer

Ošetrované vzorky sa môžu pred testovaním pomocou testu Aptima HPV skladovať 17 dní pri teplote 2 °C až 8 °C. Ďalšie podrobnosti nájdete v príbalovom letáku k súprave a roztoku na prenos vzoriek Aptima.
- D. Uchovávanie vzoriek po testovaní
1. Vzorky, ktoré boli testované, musia byť skladované vo vzpriamenej polohe v stojane.
 2. Skúmavky so vzorkami by mali byť pokryté novou, čistou plastovou alebo fóliovou bariérou.
 3. Ak sa testované vzorky musia zmraziť alebo odoslať, odstráňte priehľadný uzáver a skúmavky na vzorky opatríte novými nepreniknuteľnými uzávermi. Ak sa vzorky musia prepravovať na skúšanie v inom zariadení, musia sa dodržať stanovené teploty. Pred odobratím predtým testovaných a rekapitulovaných vzoriek sa skúmavky na vzorky musia odstreďovať 5 minút pri 420 Relative Centrifugal Force (relatívnej odstredivej sile) (RCF), aby sa všetka kvapalina dostala na dno skúmavky.
- Poznámka:** Vzorky sa musia prepravovať v súlade s platnými národnými a medzinárodnými prepravnými predpismi.

Panther System

Reagenty pre Aptima HPV assay sú uvedené pod systémom Panther. Identifikačné symboly reagentov sú uvedené aj vedľa názvu reagentov.

Poskytnuté reagenty a materiály

Aptima HPV Assay, 250 testov, kat. č. 303093 (3 boxy)

Aptima HPV Assay, 100 testov, kat. č. 302929 (3 boxy)

Kalibrátory je možné zakúpiť samostatne. Nižšie nájdete katalógové číslo jednotlivých boxov.

Aptima HPV Chladiaci box

(po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
A	HPV Amplifikačný reagent <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku obsahujúcom < 5 % objemového činidla.</i>	1 liekovka
E	HPV Enzymový reagent <i>Reverzná transkriptáza a RNA polymeráza sušené v HEPES pufrovanom roztoku obsahujúcom < 10 % objemového činidla.</i>	1 liekovka
P	HPV Reagent sondy <i>Neinfekčné chemiluminiscenčné sondy DNA (< 500 ng/liekovka) sušené v roztoku pufrovanom sukcinátom obsahujúcim < 5 % detergentu.</i>	1 liekovka
IC	HPV Reagent vnútornej kontroly <i>Neinfekčný transkript RNA v pufrovanom roztoku obsahujúcom < 5 % detergentu.</i>	1 liekovka

Aptima HPV Box izbovej teploty

(po prijatí uchovávať pri izbovej teplote 15 °C až 30 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
AR	HPV Amplifikačný rekonštitučný roztok <i>Vodný roztok obsahujúci konzervačné látky.</i>	1
ER	HPV Enzymový rekonštitučný roztok <i>Pufrovaný roztok HEPES obsahuje povrchovo aktívnu látku a glycerol.</i>	1
PR	HPV Rekonštitučný roztok sondy <i>Sukcinátový roztok obsahuje < 5 % detergentu.</i>	1
S	HPV Výberový reagent <i>600 mM boritanom pufrovaný roztok obsahuje povrchovo aktívnu látku.</i>	1
TCR	Reagencia na záchyt cieľa HPV <i>Pufrovaný roztok obsahujúci pevnú fázu a záchytné oligoméry (< 0,5 mg/ml).</i>	1
	Rekonštitučné prstence	3
	List hlavného čiarového kódu	1 list

Aptima HPV Box kalibrátorov (kat. č. 302554)
(po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
PCAL	HPV Pozitívny kalibrátor <i>Neinfekčný HPV 16 in vitro transkript v 1000 kópiách na ml v pufrovanom roztoku obsahujúcom < 5 % detergentu.</i>	5 liekoviek
NCAL	HPV Negatívny kalibrátor <i>Pufrovaný roztok obsahuje < 5 % detergentu.</i>	5 liekoviek

Potrebné materiály, ale dostupné samostatne

Poznámka: Materiály dostupné od spoločnosti Hologic majú uvedené katalógové čísla, pokiaľ nie je uvedené inak.

Poznámka:

Materiál	Kat. č.
Systém Panther	303095
Systém Panther Fusion	PRD-04172
Systém Panther, kontinuálny prietok a odtok (Panther Plus)	PRD-06067
Súprava cyklu Panther	303096
<i>Súprava s testovacími kvapalinami Aptima</i>	303014
<i>(Premývací roztok Aptima, pufer na deaktiváciu kvapaliny Aptima a olejová reagencia Aptima)</i>	
<i>Automatická detekčná súprava Aptima</i>	303013
<i>Viacskúmavkové jednotky (MTU)</i>	104772-02
<i>Súprava odpadových vriec Panther</i>	902731
<i>Kryt odpadkového koša Panther</i>	504405
Špičky, 1 000 µl, filtrované, vodivé, so snímaním kvapaliny a jednorazové	901121 (10612513 Tecan)
<i>Nie všetky produkty sú dostupné vo všetkých oblastiach. Informácie špecifické pre danú oblasť vám poskytne váš zástupca.</i>	903031 (10612513 Tecan)
	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Súprava na prenos vzoriek Aptima	301154C
Súprava na prenos vzoriek Aptima – určené na tlač	PRD-05110
Súprava na odber a prenos vzoriek krčka maternice Aptima	302657
Odberová súprava Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit	PRD-03546
Prepichovateľné uzávery Aptima	105668
Náhradné neprepichovateľné uzávery	103036A
Náhradné uzávery pre 250 testovacích súprav:	—
<i>Rekonštitučné roztoky pre amplifikačnú reagenciu a sondové reagencie</i>	CL0041
<i>Rekonštitučný roztok pre enzýmovú reagenciu</i>	501616
<i>TCR a selekčná reagencia</i>	CL0040
Náhradné uzávery pre 100 testovacích súprav:	—
<i>Rekonštitučné roztoky pre amplifikačnú reagenciu a sondové reagencie</i>	CL0041
<i>Rekonštitučný roztok pre enzýmovú reagenciu</i>	CL0041
<i>TCR a selekčná reagencia</i>	501604
Bielidlo – 5,0 % až 8,25 % (0,7 M až 1,16 M) roztok chlórnanu sodného	—
Jednorazové rukavice	—

Súprava s roztokom na prenos vzoriek Aptima (iba pre vzorky SurePath) 303658

Voliteľné materiály

Materiál	Kat. č.
Zosilňovač bielidla Hologic na čistenie	302101
Ohrievací blok	—
Trepačka skúmaviek	—

Postup testovania systému Panther

Poznámka: Ďalšie informácie o postupoch systému Panther nájdete v Príručke pre operátora systému Panther/Panther Fusion.

A. Príprava pracovného priestoru

1. Vyčistite pracovné povrchy, kde sa budú pripravovať reagenty. Pracovné plochy utrite 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného. Roztok chlórnanu sodného nechajte minimálne 1 minútu v kontakte s povrchmi a potom opláchnite deionizovanou (DI) vodou. Nedovoľte, aby roztok chlórnanu sodného vyschol. Povrch lavice, na ktorej sa pripravujú reagenty a vzorky, prikryte čistými, absorpčnými pokrývkami laboratórnych lavíc s plastovou zadnou časťou.
2. Vyčistite samostatný pracovný povrch, kde budete pripravovať vzorky. Postupujte podľa predchádzajúcich pokynov (krok A.1).
3. Vyčistite prípadné pipetory. Postupujte podľa vyššie opísaného postupu čistenia (krok A.1).

B. Príprava reagenta novej súpravy

Poznámka: Rekonštitúcia reagenta vykoná pred začiatkom akejkoľvek práce na systéme Panther.

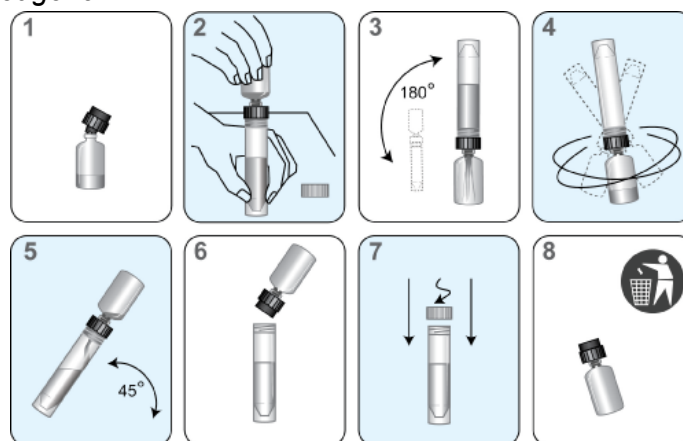
1. Amplifikačné, enzýmové a sondové reagenty sa musia pred testovaním rekonštituovať spojením obsahu fľaštičiek lyofilizovanej reagenty s príslušným rekonštitučným roztokom.
 - a. Pred použitím nechajte lyofilizované reagenty dosiahnuť izbovú teplotu (15 °C až 30 °C).
 - b. Každý rekonštitučný roztok spárujte s príslušnou lyofilizovanou reagentou. Pred nasadením rekonštitučnej objímky sa uistite, že rekonštitučný roztok a reagentia majú zhodné symboly na štítku.
 - c. Skontrolujte čísla šarží na liste čiarových kódov hlavnej šarže, aby ste sa uistili, že sú spárované príslušné reagenty. Označte uzávery fľaštičiek s rekonštitučným roztokom.
 - d. Otvorte sklenenú skúmavku s lyofilizovanou reagentou a pevne zasuňte vrúbkovaný koniec rekonštitučnej objímky do otvoru sklenenej skúmavky (Obrázok 1, krok 1).
 - e. Otvorte príslušnú fľaštičku s rekonštitučným roztokom a nasadte uzáver na čistý, zakrytý pracovný povrch.
 - f. Kým držíte fľaštičku s roztokom na lavici, pevne zasuňte druhý koniec rekonštitučnej objímky do otvoru fľaštičky (Obrázok 1, krok 2).

- g. Počkajte, kým lyofilizovaný reagent prejde do roztoku, potom znova obráťte zostavené fľaše a nakloňte ich v 45° uhle, aby sa minimalizovalo penenie (Obrázok 1, krok 5). Nechajte všetku tekutinu odtiecť späť do plastovej fľaše.
- h. Zdvihnite zostavené fľaštičky a krúživým pohybom ich dôkladne premiešajte. Pri krúžení s fľaštičkou sa vyvarujte tvorbe peny (Obrázok 1, krok 4).
- i. Lyofilizovaná reagencia sa musí úplne dostať do roztoku. Znova krúžite s fľaštičkami a potom ľahkým nakláňaním sklenenej skúmavky dopredu a dozadu dobre premiešajte roztok.
- j. Vizuálne skontrolujte, či je reagencia úplne v roztoku bez prášku, zhlukov či zvlnených línií.
- k. Pomaly znova nakloňte zostavené fľaštičky, aby všetok roztok stiekol späť do fľaštičky s rekonštitučným roztokom (obrázok 1, krok 5).
- l. Odstráňte rekonštitučnú objímku a sklenenú skúmavku (Obrázok 1, krok 6).
- m. Plastovú fľaštičku znova uzavrite buď uloženým označeným uzáverom, ktorý zodpovedá konkrétnej reagencii, alebo novým uzáverom. Uzavery nepomiešajte. Na štítku zaznamenajte údaje operátora a dátum rekonštitúcie (Obrázok 1, krok 7).
- n. Zahodzte rekonštitučnú objímku a sklenenú ampulku (Obrázok 1, krok 8).
- o. Pred zavedením do systému Panther dôkladne premiešajte každú reagenziu jemným prevrátením.

Možnosť: Dodatočné miešanie amplifikačných, enzýmových a sondových reagencií je možné umiestnením opätovne uzavretých plastových fľaštičiek na trepačku skúmaviek nastavenú na miernu rýchlosť a naklonenie na minimálne 5 minút. Uistite sa, že reagenty sú dôkladne premiešané.

Upozornenie: Pri rekonštitúcii reagentov zabráňte vzniku peny. Pena zhoršuje snímanie úrovně v systéme Panther.

Varovanie: Na dosiahnutie očakávaných výsledkov testu je potrebné adekvátne premiešanie reagencií.



Obrázok 1. Postup rekonštitúcie systému Panther

- 2. Pripravte pracovný reagent na zachytávanie cieľov (wTCR):
 - a. Spárujte vhodné fľaše TCR a IC.
 - b. Skontrolujte čísla šarží reagentov na liste čiarových kódov hlavnej šarže, aby ste sa uistili, že v súprave sú spárované príslušné reagenty.
 - c. Otvorte fľašu TCR a nasadzte uzáver na čistý, zakrytý pracovný povrch.

- d. Otvorte fľašu IC a celý obsah nalejte do fľaše TCR. Očakávajte, že v IC fľaši zostane malé množstvo tekutiny.
 - e. Uzavrite fľašu TCR a jemne rozkrúťte roztok, aby sa obsah premiešal. Počas tohto kroku zabráňte vytvoreniu peny.
 - f. Na štítku zaznamenajte iniciály operátora a aktuálny dátum.
 - g. Zahodte fľašu IC a uzáver.
 - h. Vo wTCR sa môže vytvoriť zrazenina, ktorá môže spôsobiť neplatné výsledky v dôsledku chýb overenia objemu. Zrazenina sa môže rozpustiť zahriatím wTCR pri 42 °C až 60 °C až 90 minút. Pred použitím nechajte wTCR ekvilibrovať na teplotu miestnosti. Nepoužívajte, ak zrazenina pretrváva.
3. Pripravte výberový reagent
- a. Skontrolujte číslo šarže reagenta na liste čiarových kódov hlavnej šarže, aby ste sa uistili, že patrí do súpravy.
 - b. Ak výberový reagent obsahuje zrazeninu, zahrievajte výberový reagent pri teplote 60 °C ±1 °C počas 45 minút, aby sa uľahčilo rozpúšťanie zrazeniny. Fľašu jemne premiešajte každých 5 až 10 minút. Pred použitím nechajte výberový reagent ekvilibrovať na teplotu miestnosti. Nepoužívajte, ak zrazenina alebo zahmlenie pretrváva.

Poznámka: Pred naplnením do systému dôkladne premiešajte jemným prevrátením všetkých reagentov. Počas prevrátenia reagentov nevytvárajte penu.

C. Príprava reagentov pre predtým rekonštituované reagenty

1. Predtým rekonštituované amplifikačné, enzýmové a sondové reagenty musia dosiahnuť izbovú teplotu (15 °C až 30 °C) pred začiatkom testu.

Možnosť: Uzatvorené plastové fľaštičky s rekonštituovanými amplifikačnými, enzymatickými a sondovými reagenciami sa môžu umiestniť na súpravu trepačky skúmaviek pri miernej rýchlosti a naklonení minimálne na 25 minút, aby sa zabezpečilo, že reagencie dosiahnu izbovú teplotu a dôkladne sa premiešajú.

2. Ak rekonštituovaný reagenčný roztok obsahuje zrazeninu, ktorá sa pri izbovej teplote nevráti do roztoku, počas 1 až 2 minút zahrievajte na teplotu, ktorá nepresiahne 60 °C. Nepoužívajte, ak je prítomná zrazenina alebo zahmlenie.
3. Ak wTCR obsahuje zrazeninu, zahrievajte wTCR pri teplote 42 °C až 60 °C až 90 minút. Pred použitím nechajte wTCR ekvilibrovať na teplotu miestnosti. Nepoužívajte, ak zrazenina pretrváva.
4. Ak výberový reagent obsahuje zrazeninu, zahrievajte výberový reagent pri teplote 60 °C ±1 °C počas 45 minút, aby sa uľahčilo rozpúšťanie zrazeniny. Fľašu jemne premiešajte každých 5 až 10 minút. Pred použitím nechajte výberový reagent ekvilibrovať na teplotu miestnosti. Nepoužívajte, ak zrazenina alebo zahmlenie pretrváva.
5. Pred zavedením do systému jemným prevrátením dôkladne premiešajte každý reagent. Počas prevrátenia reagentov nevytvárajte penu.
6. Fľašky reagentov nedopĺňajte. Systém Panther rozpozná a odmietne fľaše, ktoré boli doplnené.

D. Manipulácia so vzorkami

1. Pri každej vzorke odobratej pomocou odberovej súpravy Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit vykonajte tieto kroky:
 - a. Vizuálne potvrdte prítomnosť jedného ružového tampónu Aptima Multitest v skúmavke na odber.
 - b. Pred testovaním zahrejte vzorky tampónu Aptima Multitest na teplotu 90 °C počas 75 minút. Vzorky musia byť počas tohto procesu zostať uzavreté.

2. Pred spracovaním nechajte vzorky (kalibrátory a vzorky) dosiahnuť izbovú teplotu.
3. **Vzorky nevortexujte.**
4. Pred vloženíím do stojanu skúmavky so vzorkami skontrolujte. Ak skúmavka so vzorkou obsahuje bubliny alebo má nižší objem, ako sa zvyčajne pozoruje, skúmavka sa centrifuguje 5 minút pri 420 RCF, aby sa zabezpečilo, že v uzávere nebude žiadna kvapalina.

Poznámka: Nedodržanie kroku 4 môže mať za následok uvoľnenie kvapaliny z uzáveru skúmavky so vzorkou.

E. Príprava systému

1. Nastavte systém podľa pokynov uvedených v *Príručke operátora systému Panther* a nižšie uvedenej časti *Poznámky k postupu*. Uistite sa, že sú použité reagenčné stojany s vhodnou veľkosťou a adaptéry TCR.
2. Vložte vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kalibrátory

1. Na správne fungovanie so softvérom Aptima HPV assay na systéme Panther sú potrebné tri replikácie pozitívneho kalibrátora a tri replikácie negatívneho kalibrátora. Jedna liekovka z každého kalibrátora môže byť vložená do ktorejkoľvek polohy v stojane v pruhu vzorky na systéme Panther. Pipetovanie vzorky sa začne, keď je splnená jedna z nasledujúcich dvoch podmienok:
 - a. Pozitívny a negatívny kalibrátor sú v súčasnosti spracovávané systémom.
 - b. Platné výsledky pre kalibrátory sú zaregistrované v systéme.
2. Po pipetovaní skúmaviek s kalibrátorom a ich spracovaní pre špecifickú reagenčnú súpravu sa vzorky môžu spracovať s príslušnou súpravou testovacieho reagentu až 24 hodín, pokiaľ:
 - a. Výsledky kalibrátorov sú neplatné.
 - b. Súprava pridruženého testovacieho reagentu sa odstráni zo systému.
 - c. Súprava pridruženého testovacieho reagentu prekročila limity stability.
3. Pokusy o pipetovanie viac ako troch opakovaní z kalibračnej skúmavky môžu viesť k chybám spracovania.

B. Teplota

Teplota miestnosti je definovaná ako 15 °C až 30 °C.

C. Prášok rukavíc

Tak ako v každom reagenčnom systéme, prebytočný prášok na niektorých rukaviciach môže spôsobiť kontamináciu otvorených skúmaviek. Odporúčajú sa bezprašné rukavice.

Postupy kontroly kvality

A. Spustiť kritériá platnosti

Softvér automaticky určuje spustenie platnosti. Ak sa vyskytne niektorá z nasledujúcich podmienok, softvér zruší platnosť cyklu:

- Viac ako jedna neplatná replikácia negatívneho kalibrátora.
- Viac ako jedna neplatná replikácia pozitívneho kalibrátora.

Prevádzkovateľ môže zrušiť cyklus, ak sa počas vykonávania testu zistia a zdokumentujú technické problémy, problémy obsluhy alebo nástrojov.

Neplatný chod sa musí zopakovať.

B. Kritériá akceptácie kalibrátora

Nižšie uvedená tabuľka definuje kritériá RLU pre replikácie negatívnych a pozitívnych kalibrátorov.

Negatívny kalibrátor

Analyt	≥ 0 a $\leq 45\,000$ RLU
IC	$\geq 75\,000$ a $\leq 400\,000$ RLU

Pozitívny kalibrátor

Analyt	$\geq 480\,000$ a $\leq 1\,850\,000$ RLU
IC	$\leq 450\,000$ RLU

C. Výpočet medznej hodnoty IC

Medzná hodnota IC sa stanoví zo signálu analytu IC (flasher) z platných replikácií negatívneho kalibrátora.

$$\text{Medzná hodnota IC} = 0,5 \times [\text{priemer IC RLU platných replikácií negatívneho kalibrátora}]$$

D. Výpočet medznej hodnoty analytu

Medzná hodnota analytu sa stanoví zo signálu analytu (glower) z platných replikácií negatívneho kalibrátora, ako aj zo signálu analytu z platnej replikácie pozitívneho kalibrátora.

$$\text{Medzná hodnota analytu} = \frac{[\text{priemerný analyt RLU platných replikácií negatívneho kalibrátora}] + [0,09 \times \text{priemerný analyt RLU platných replikácií pozitívneho kalibrátora}]}{2}$$

E. Signál analytu na výpočet medznej hodnoty

Analyt S/CO sa stanoví z analytu RLU testovanej vzorky a medznej hodnoty analytu pre cyklus.

$$\text{Analyt S/CO} = \frac{\text{testovacia vzorka analytu RLU}}{\text{medzná hodnota analytu}}$$

Interpretácia testu

Výsledky testov sú automaticky určené testovacím softvérom. Výsledok testu môže byť negatívny, pozitívny alebo neplatný, ako je určené IC RLU a S/CO pre analyt. Prvý platný výsledok je výsledok, ktorý je nutné hlásiť. Výsledok testu môže byť tiež neplatný kvôli iným parametrom (abnormálny kinetický tvar krivky), ktoré sú mimo normálnych očakávaných rozsahov. Neplatné výsledky testu sa musia zopakovať. Ak je výsledok po opätovnom testovaní neplatný, je nutné odobrať novú vzorku.

Vzorky súpravy CSCT Aptima sa môžu riediť, aby sa prekonal potenciálne inhibičné látky. 1 časť neplatnej vzorky zriedte na 8 častí transportného média pre vzorky (roztok v skúmavkách súpravy CSCT); napr. 560 µl vzorky do novej skúmavky CSCT Kit, ktorá obsahuje 4,5 ml transportného média pre vzorky. Jemne prevráťte zriedenú vzorku, aby sa premiešala; nevytvárajte penu. Otestujte zriedenú vzorku podľa štandardného postupu.

Poznámka: Na testovanie 1 alikvotu vzorky sa vyžaduje minimálny objem 1,7 ml. Nezriedujte neplatnú zriedenú vzorku. Ak zriedená vzorka poskytne neplatný výsledok, novú vzorku je potrebné odobrať od pacienta.

Výsledky HPV Aptima assay	Kritériá
Negatívne	<i>S/CO analytu < 0,50</i> <i>IC ≥ medzná hodnota IC</i> <i>IC ≤ 2 000 000 RLU</i>
Pozitívne	<i>S/CO analytu ≥ 0,50</i> <i>IC ≤ 2 000 000 RLU</i> <i>Analytu ≤ 13 000 000 RLU</i>
Neplatný	<i>IC > 2 000 000 RLU</i> <i>alebo</i> <i>S/CO analytu < 0,50 a IC < medzná hodnota IC</i> <i>alebo</i> <i>Analyt > 13 000 000 RLU</i>

Obmedzenia

- A. Druhy vzoriek odlišné od tých, ktoré boli identifikované v zamýšľanom použití, neboli vyhodnotené.
- B. Výkonnosť Aptima HPV assay nebola hodnotená u jedincov očkovaných HPV.
- C. Aptima HPV assay nebol hodnotený v prípadoch podozrenia zo sexuálneho zneužívania.
- D. Prevalencia HPV infekcie v populácii môže ovplyvniť výkon. Pozitívne prediktívne hodnoty sa znižujú pri testovaní populácií s nízkou prevalenciou alebo u jedincov bez rizika infekcie.
- E. Tekuté cytologické vzorky ThinPrep obsahujúce menej ako 1 ml po príprave preparátu ThinPrep Pap Test sa považujú za nedostatočné na Aptima HPV assay.
- F. Odstránenie 1 ml tekutej cytologickej vzorky SurePath pred cytologickým spracovaním nebolo vyhodnotené z hľadiska vplyvu na výsledok cytologického vyšetrenia.
- G. Výsledky testov môžu byť ovplyvnené nesprávnym odberom, skladovaním alebo spracovaním vzorky.
- H. Vnútna kontrola monitoruje cieľové zachytenie, amplifikáciu a detekčné kroky testu, nie je určená na kontrolu primeranosti odberu vzoriek z krčka maternice.
- I. Negatívny výsledok Aptima HPV assay nevylučuje možnosť cytologických abnormalít alebo budúceho alebo základného CIN2, CIN3 alebo rakoviny.
- J. Osobné lubrikanty, ktoré obsahujú polyquaternium 15, môžu interferovať s výkonom testu, ak sú prítomné v koncentráciách vyšších ako 0,025 % (obj./obj. alebo hmot./obj.) testovanej vzorky.
- K. Antifungálne lieky, ktoré obsahujú ticonazole, môžu interferovať s výkonom testu, ak sú prítomné v koncentráciách vyšších ako 0,075 % (hmot./obj.) testovanej vzorky.
- L. Krém na opaľovanie obsahujúci oxid zinočnatý môže interferovať s výkonom testu, ak je prítomný v koncentráciách vyššej ako 2,5 % (hmot./obj.) testovanej vzorky.
- M. Krém na hemoroidy obsahujúci oxid zinočnatý, oxid bizmutitý a peruánsky balzam môže interferovať s výkonom testu, ak je prítomný v koncentrácii vyššej ako 1 % (hmot./obj.) testovanej vzorky.
- N. Hlien môže interferovať s výkonom testu, ak je prítomný v koncentrácii vyššej ako 2,5 % (hmot./obj.) testovanej vzorky.
- O. Výsledky Aptima HPV assay poskytujú kvalitatívne výsledky. Preto nie je možné stanoviť koreláciu medzi veľkosťou pozitívneho testovacieho signálu a úrovňou expresie mRNA vo vzorke.
- P. Detekcia vysokorizikovej HPV mRNA závisí od počtu kópií prítomných vo vzorke a môže byť ovplyvnená metódami odberu vzoriek, faktormi pacienta, štádiom infekcie a prítomnosťou interferujúcich látok.

- Q. Infekcia HPV nie je indikátorom cytologického HSIL alebo základného CIN vysokého stupňa, ani neznamená, že sa vyvinie CIN2, CIN3 alebo rakovina. U väčšiny žien infikovaných jedným alebo viacerými vysokorizikovými typmi HPV sa nevyvinie CIN2, CIN3 ani rakovina.
- R. Účinky iných potenciálnych premenných, ako je vaginálny výtok, použitie tampónov, sprchových gélov, atď. a premenné odberu vzoriek, neboli vyhodnotené.
- S. Použitie tohto produktu musí byť obmedzený na personál vyškolený na používanie Aptima HPV assay.
- T. Krížová kontaminácia vzoriek môže spôsobiť falošne pozitívne výsledky. Miera prenosu testu Aptima HPV v systéme Panther bola v neklinickej štúdii stanovená na 0,7 %.
- U. Aptima HPV assay je potrebné interpretovať v spojení s inými laboratórnymi a klinickými údajmi, ktoré má klinický lekár k dispozícii.
- V. Pri tomto teste sa môžu vyskytnúť falošne pozitívne výsledky. *In vitro* transkripty z nízkorizikových HPV genotypov 26, 67, 70 a 82 vykazovali skríženú reaktivitu s Aptima HPV assay.
- W. Rozdiely vo výkone sa môžu pozorovať pri vaginálnych vzorkách odobratých samoodberom v porovnaní s cervikálnymi vzorkami odobratými lekárom. Pacientky s pozitívnymi výsledkami z vaginálnych vzoriek odobratých samoodberom sa majú odoslať lekárovi na následné vyšetrenie.

Očakávané výsledky systému Panther: Prevalencia vysokorizikovej HPV mRNA

Prevalencia vysokorizikovej HPV infekcie sa značne líši a je ovplyvnená niekoľkými faktormi, z ktorých najväčší vplyv má vek.^{36,37} Mnohé štúdie skúmali prevalenciu HPV stanovenú detekciou HPV DNA, avšak len málo štúdií uvádza prevalenciu na základe detekcie HPV onkogénnej mRNA. Ženy z rôznych klinických lokalít (n = 18) predstavujúce širokú geografickú distribúciu a rôznorodú populáciu (10 štátov v Spojených štátoch) boli zaradené do prospektívnej klinickej štúdie známej ako štúdia CLEAR. Podľa stanovenia Aptima HPV assay na systéme Panther prevalencia HPV mRNA-pozitívnych vzoriek pozorovaná v klinickom skúšaní bola celkovo kategorizovaná podľa vekovej skupiny a podľa testovacieho miesta. Výsledky sú uvedené v Tabuľka 1 pre ASC-US (atypické skvamózne bunky s neurčeným významom) a negatívne pre populácie intraepiteliálnej lézie alebo malignity.

Tabuľka 1: Prevalencia vysokorizikovej HPV mRNA podľa vekovej skupiny, testovacieho miesta a všetkých kombinovane

	Miera pozitivity % (x/n)	
	Populácia ASC-USA (≥21 rokov)	Populácia NILM (≥30 rokov)
Všetky	42,3 (404/956)	4,7 (512/10 860)
Veková skupina (rokov)		
21 až 29	60,0 (251/418)	Nevzťahuje sa
30 až 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
≥40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
Testovacie miesto		
1	41,5 (134/323)	3,7 (304/8286)
2	43,1 (137/318)	9,2 (118/1285)
3	42,2 (133/315)	7,0 (90/1289)

N/A = nevzťahuje sa

Aptima HPV Assay Návrh klinickej štúdie s tekutými cytologickými vzorkami ThinPrep

Aptima HPV assay na systéme Panther bol hodnotený pomocou reziduálnych referenčných cytologických vzoriek získaných od súhlasných žien počas prospektívnej multicentrickej US klinickej štúdie známej ako štúdia CLEAR.³⁸

Test Aptima HPV Assay bol prvýkrát spustený v systéme Tigris DTS v roku 2008. V roku 2011 boli indikácie rozšírené na použitie testu Aptima HPV Assay v systéme Panther. Systém Panther je alternatívna menšia prístrojová platforma k systému Tigris DTS. Oba systémy sú určené na plne automatizované testovanie amplifikovaných nukleových kyselín pri diagnostických testoch. Vybrané testovanie výkonu testov dokončené v systéme Tigris DTS bolo využité na podporu výkonu testov v systéme Panther.

Štúdia CLEAR – základné hodnotenie

Štúdia CLEAR bola vykonaná s cieľom stanoviť klinický výkon testu Aptima HPV na systéme Tigris DTS na detekciu cervikálnej intraepiteliálnej neoplázie 2. stupňa alebo závažnejšieho ochorenia krčka maternice ($\geq$ CIN2). Štúdia CLEAR zahŕňala základné hodnotenie a trojročné následné hodnotenie. Ženy boli zaradené buď do štúdie ASC-US, alebo do štúdie NILM na základe výsledkov z rutinného skríningu rakoviny krčka maternice. Študijná skupina ASC-US zahŕňala ženy vo veku 21 rokov a staršie s cytologickými výsledkami ASC-US a študijná skupina NILM zahŕňala ženy vo veku 30 rokov a staršie s NILM výsledkami cytologického vyšetrenia. Štúdia NILM bola navrhnutá tak, aby podporovala doplnkové vyšetrenie u žien vo veku 30 rokov a starších, pretože ženy v tomto vekovom rozpätí s cytologickými výsledkami vyššími ako ASC-US by mali pokračovať v kolposkopii bez ohľadu na stav HPV.³⁹

Boli zaradené ženy z 18 klinických lokalít, predovšetkým kliniky pôrodnictva/gynekológie, ktoré pokrývali širokú geografickú distribúciu a rôznorodú populáciu. Vhodné ženy boli zaradené do štúdie ASC-US alebo NILM na základe ich referenčnej tekutej cytologickej vzorky ThinPrep. Na začiatku boli testované reziduálne referenčné vzorky od žien v štúdii ASC-US a v štúdii NILM s Aptima HPV assay na systéme Tigris DTS a komerčne dostupným testom HPV DNA. Vzorky sa potom archivovali a uskladnili pri teplote -70 °C, kým neboli testované Aptima HPV assay na systéme Panther.

Na začiatku štúdie CLEAR (základná fáza) boli všetky ženy v štúdii ASC-US odporučené na kolposkopiu bez ohľadu na ich výsledky testu HPV. Získali sa biopsie endocervikálnej kytetáže (ECC) a biopsie krčka maternice (1 biopsia z každého zo štyroch kvadrantov). Ak bola lézia viditeľná, bola získaná biopsia dierovania (riadená metóda; 1 biopsia na léziu) a kvadranty bez viditeľnej lézie boli biopsované v dlaždicovo-cylindrickom spoji (náhodná metóda).

V štúdii NILM boli ženy pozitívne testom Aptima HPV Assay v systéme Tigris DTS a/alebo s komerčne dostupným testom HPV DNA, rovnako ako náhodne vybrané ženy, ktoré boli negatívne pri oboch testoch, odporučené na kolposkopiu na základné hodnotenie. Náhodne vybrané ženy, ktoré boli negatívne pre obidva testy, boli zaradené tak, aby korigovali overenie odchýlky s upravenými odhadmi výkonnosti vytvorenými pomocou metódy viacnásobnej imputácie. Od každej ženy, ktorá sa zúčastnila kolposkopie, sa získala biopsia ECC. Dierovaná biopsia bola získaná len z viditeľných lézií (riadená metóda; 1 biopsia na léziu).

Stav ochorenia sa určil na základe konsenzuálneho panelu histologického prehľadu, ktorý sa zakladá na súhlase najmenej dvoch expertov patológov. Odborní patológovia neboli informovaní o stave HPV u ženy. Nevedeli ani o cytologickom stave a ani o vzájomných histologických diagnózach. Ak sa všetci 3 patológovia nezhodli, všetci traja patológovia spoločne preskúmali diapoziťvy na mikroskope pre viaceré osoby, aby dosiahli konsenzus.

Vyšetovatelia, klinickí pracovníci ani ženy neboli informovaní o výsledkoch testov HPV do skončenia návštevy kolposkopie, aby sa predišlo skresleniu.

Na začiatku bola hodnotená klinická výkonnosť Aptima HPV assay na detekciu $\geq$ CIN2 a cervikálnej intraepiteliálnej neoplázie 3. stupňa alebo závažnejšieho cervikálneho ochorenia ($\geq$ CIN3) v porovnaní so stavom cervikálneho ochorenia určeným na začiatku. Klinická výkonnosť komerčne dostupného HPV DNA testu bol tiež stanovený na priame porovnanie s výsledkami Aptima HPV assay.

Štúdia CLEAR – následné hodnotenie

Ženy v štúdii NILM zo 14 klinických lokalít boli oprávnené zúčastniť sa 3-ročnej následnej fázy štúdie, ak: i) sa zúčastnili kolposkopie na začiatku liečby a nemali $\geq$ CIN2, alebo ii) na začiatku sa nezúčastnili kolposkopie. Následná fáza štúdie pozostávala z ročných návštev. Pri týchto návštevách sa v prípade každej ženy uskutočnil odber z krčka maternice na cytológiu a niektoré ženy sa taktiež testovali komerčne dostupným HPV testom. Ženy s ASC-US alebo závažnejšími cytologickými výsledkami počas sledovaného obdobia boli odporúčané na kolposkopiu s použitím rovnakého biopsického a histologických vyšetrovacích postupov, ktoré sa vykonali pre základné hodnotenie. Stav ochorenia krčka maternice pri následnej návšteve sa považoval za „negatívny“ na základe cytologického vyšetrenia NILM alebo u žien s abnormálnymi výsledkami cytologického testu na základe výsledkov normálneho alebo CIN1 konsenzuálneho panelu histologického prehľadu. Ženy, ktoré mali $\geq$ CIN2 zistené počas následného obdobia, boli považované za ženy, ktoré ukončili následné kontroly a nezúčastnili sa návštev po zistení $\geq$ CIN2. Ženy, ktoré nemali $\geq$ CIN2 zistené počas následného obdobia, ale ktoré absolvovali študijnú návštevu v 1. následnom roku a/alebo v 2. následnom roku a ktoré absolvovali študijnú návštevu v 3. následnom roku, boli považované za pacientky, ktoré ukončili následné sledovanie.

Cieľom následnej štúdie bolo porovnať kumulatívne 3-ročné riziko cervikálneho ochorenia u žien s východiskovými pozitívnymi výsledkami Aptima HPV assay s kumulatívnym 3-ročným rizikom cervikálneho ochorenia u žien s východiskovými negatívnymi výsledkami Aptima HPV assay. Trojročný stav ochorenia krčka maternice bol stanovený nasledovne:

- Pozitívny stav ochorenia krčka maternice ($\geq$ CIN2 a/alebo $\geq$ CIN3) – Ženy, ktoré mali $\geq$ CIN2 zistené na začiatku alebo počas následného sledovania.
- Negatívny stav ochorenia krčka maternice ($<$ CIN2) – ženy, ktoré ukončili sledovanie bez zistenia $\geq$ CIN2 a ktoré sa nepovažovali za osoby s neurčitým stavom ochorenia krčka maternice.
- Neurčitý stav ochorenia krčka maternice – Ženy, ktoré mali počas sledovania abnormálne výsledky cytologického testu a ktoré nemali následný výsledok konsenzuálneho panelu histologického prehľadu, alebo ženy s neadekvátnou cytológiou pri poslednej návšteve.
- Strata následného sledovania – ženy, ktoré nedokončili sledovanie a ktoré neboli považované za osoby s neurčitým stavom ochorenia krčka maternice.

Klinický výkon Aptima HPV assay na systéme Panther na detekciu $\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3 bol hodnotený v porovnaní s trojročným stavom cervikálneho ochorenia.

Výkon testovania systému Panther

Populácia ASC-USA ≥21 rokov: Aptima HPV Assay Klinická výkonnosť

Celkovo bolo do štúdie ASC-US zaradených 1 252 žien vo veku 21 rokov a starších s cytologickými výsledkami ASC-US, z nich bolo 294 žien vyradených. Zvyšných 958 žien bolo vhodných na testovanie na systéme Panther. Dve ženy stratili vzorky a 19 malo neurčenú diagnózu ochorenia; všetky boli vylúčené z analýzy. Zvyšných 937 hodnotiteľných žien bolo vo veku 21 rokov a starších s cytologickými výsledkami ASC-US, s výsledkami Aptima HPV assay na systéme Panther a s nezvratným stavom ochorenia. Deväťdesiatjeden (91) žien malo ≥CIN2 a štyridsaťjeden (41) malo ≥CIN3. Prevalencia ≥CIN2 a ≥CIN3 u hodnotiteľných žien s cytologickými výsledkami ASC-US bola 9,7 % a 4,4 %. Výsledky testu Aptima HPV pomocou diagnostiky konsenzuálneho panelu histologického prehľadu sú uvedené v Tabuľka 2.

Tabuľka 2: Populácia ASC-USA ≥ 21 rokov: Výsledky Aptima HPV assay na základe diagnostiky konsenzuálneho panelu histologického prehľadu

Výsledky HPV Aptima Assay*	HPV DNA Test	Diagnostika konsenzuálneho panelu histologického prehľadu						
		Neurčené**	Normálne	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Spolu
Pozitívne	Pozitívne	6	178	110	40	32	1	367
Pozitívne	Negatívne	0	5	2	0	2	0	9
Pozitívne	Bez výsledku***	0	15	11	0	2	0	28
Negatívne	Pozitívne	0	39	15	3	3	0	60
Negatívne	Negatívne	10	372	53	7	1	0	443
Negatívne	Bez výsledku***	3	39	7	0	0	0	49
Spolu		19	648	198	50	40	1****	956

*Všetky vzorky mali konečné platné výsledky (po počiatočnom testovaní alebo po odštiepení počiatočných invalidov na procedúru).

**19 subjektov sa zúčastnilo kolposkopie, ale diagnóza sa nedala určiť z týchto dôvodov: < 5 vzoriek biopsie sa získalo s normálnymi/CIN1 (n = 15) výsledkami histologického vyšetrenia, neboli odobraté žiadne biopsie (n = 3) a snímky biopsie sa stratili (n = 1).

***77 žien s výsledkami Aptima HPV assay nemalo výsledky testu HPV DNA primárne v dôsledku nedostatočného objemu cytologickej vzorky.

****Jeden subjekt mal adenokarcinóm in situ (AIS).

Odhady klinického výkonu Aptima HPV assay vrátane citlivosti, špecifickosti, pozitívnej prediktívnej hodnoty (PPV) a negatívnej prediktívnej hodnoty (NPV) na detekciu ≥CIN2 a ≥CIN3 na základe vyhodnotenia všetkých biopsií a zahrnutých iba riadených biopsií sú uvedené v Tabuľka 3, rovnako ako odhady komerčne dostupného HPV DNA testu.

Tabuľka 3: Populácia ASC-US ≥ 21 rokov: Výkonnosť Aptima HPV Assay a HPV DNA testu na detekciu ≥CIN2 a ≥CIN3

		Aptima HPV Assay N=937		HPV DNA Test N=863*		
Výkonnosť		Odhad	(95 % CI)	Odhad	(95 % CI)	
≥CIN2	Všetky biopsie					
	Citlivosť (%)	84,6 (77/91)	(75,8, 90,6)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)	
	Špecifickosť (%)	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)	
	Prevalencia (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)		
	Riadené biopsie**					
	Citlivosť (%)	90,0 (54/60)	(79,9, 95,3)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)	
	Špecifickosť (%)	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)	
	Prevalencia (%)	6,4 (60/934)		6,9 (59/861)		
	≥CIN3	Všetky biopsie				
		Citlivosť (%)	90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
Špecifickosť (%)		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)	
Prevalencia (%)		4,4 (41/937)		4,5 (39/863)		
Riadené biopsie**						
Citlivosť (%)		93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)	
Špecifickosť (%)		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)	
Prevalencia (%)		3,1 (29/935)		3,2 (28/862)		

*74 žien s výsledkami Aptima HPV assay nemalo výsledky testu HPV DNA primárne v dôsledku nedostatočného objemu cytologickej vzorky.

**Výsledok konsenzuálneho histologického nálezu bol odvodený iba z výsledkov z riadených biopsií. Ženy bez riadených biopsií odzrkadľujú normálnu kolposkopiu a sú zahrnuté do týchto analýz ako bez ochorenia (<CIN2 alebo <CIN3, podľa potreby). Keď boli zahrnuté iba riadené biopsie, konsenzus nebol vždy dosiahnutý.

Pri hodnotení všetkých biopsií boli odhady klinickej citlivosti testu Aptima HPV a komerčne dostupného HPV DNA assay na detekciu $\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3, kde sú k dispozícii oba výsledky testov, podobné (rozdiely v odhadoch citlivosti neboli štatisticky významné). V prípade $\geq$ CIN2 bol rozdiel citlivosti -4,5 % (95 % CI: -12,2 %, 2,5 %). Odhady klinickej špecificity Aptima HPV assay na detekciu $\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3 boli vyššie ako u komerčne dostupného HPV DNA testu (rozdiely v odhadoch špecificity boli štatisticky významné). V prípade $\geq$ CIN2 bol rozdiel špecificity 6,1 % (95 % CI: 4,2 %, 8,2 %). NPV boli podobné, ale na detekciu $\geq$ CIN2, PPV pre Aptima HPV assay bol mierne vyšší ako PPV pre komerčne dostupný HPV DNA test (19,3 % oproti 18,8 %).

Z 91 prípadov $\geq$ CIN2 bolo 60 (65,9 %) identifikovaných v riadených biopsiách a 31 (34,1 %) bolo identifikovaných z náhodných a/alebo ECC biopsií (t.j. nie v riadených biopsiách). Tieto zistenia sú porovnateľné s výsledkami z publikovaných štúdií, v ktorých bolo približne 25 % až 40 % prípadov $\geq$ CIN2 identifikovaných len z náhodných a/alebo vzoriek ECC biopsie.^{40,41} Použitím iba riadených biopsií na stanovenie stavu ochorenia (za predpokladu, že ženy bez riadených biopsií mali normálne histologické výsledky, pretože neboli prítomné žiadne viditeľné lézie), prevalencia $\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3 v štúdií bola 6,4 % a 3,1 %. Odhady klinickej citlivosti na detekciu $\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3 boli vyššie pri oboch testoch s použitím iba riadených biopsií, ako odhady vypočítané pomocou všetkých biopsií. V oboch testoch bola klinická špecificita s použitím iba riadených biopsií podobná špecificite získanej pri všetkých biopsiách. V súlade s tým, keď sa použili iba riadené biopsie, špecificita Aptima HPV assay bola významne vyššia ako špecificita komerčne dostupného HPV DNA testu.

Odhady klinického výkonu Aptima HPV assay a komerčne dostupného HPV DNA testu sú ukázané podľa vekovej skupiny v Tabuľka 4 a Tabuľka 5 ($\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3, na základe vyhodnotenia všetkých biopsií).

Tabuľka 4: Populácia ASC-US ≥21 rokov: Výkonnosť Aptima HPV Assay a HPV DNA testu na detekciu ≥CIN2 podľa vekovej skupiny

	Výkonnosť	Aptima HPV Assay N=937		HPV DNA Test N=863*	
		Odhad	(95 % CI)	Odhad	(95 % CI)
21 až 29 rokov		N=415		N=389	
	Citlivosť (%)	88,5 (54/61)	(78,2, 94,3)	94,9 (56/59)	(86,1, 98,3)
	Špecifickosť (%)	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)
	Prevalencia (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
30 až 39 rokov		N=261		N=238	
	Citlivosť (%)	85,0 (17/20)	(64,0, 94,8)	80,0 (16/20)	(58,4, 91,9)
	Špecifickosť (%)	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)
	Prevalencia (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
≥ 40 rokov		N=261		N=236	
	Citlivosť (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	Špecifickosť (%)	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)
	Prevalencia (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	

*74 žien s výsledkami Aptima HPV assay nemalo výsledky testu HPV DNA primárne v dôsledku nedostatočného objemu cytologickej vzorky.

Tabuľka 5: Populácia ASC-US ≥21 rokov: Výkonnosť Aptima HPV Assay a HPV DNA testu na detekciu ≥CIN3 podľa vekovej skupiny

	Výkonnosť	Aptima HPV Assay N=937		HPV DNA Test N=863*	
		Odhad	(95 % CI)	Odhad	(95 % CI)
21 až 29 rokov		N=415		N=389	
	Citlivosť (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Špecifickosť (%)	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)
	Prevalencia (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
30 až 39 rokov		N=261		N=238	
	Citlivosť (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Špecifickosť (%)	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)
	Prevalencia (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
≥ 40 rokov		N=261		N=236	
	Citlivosť (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Špecifickosť (%)	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)
	Prevalencia (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 žien s výsledkami Aptima HPV assay nemalo výsledky testu HPV DNA primárne v dôsledku nedostatočného objemu cytologickej vzorky.

Absolútne riziko ochorenia ($\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3, založené na hodnotení všetkých biopsií) na základe výsledkov Aptima HPV assay a relatívneho rizika ochorenia pre pozitívne a negatívne výsledky Aptima HPV assay sú uvedené v Tabuľka 6, rovnako ako odhady komerčne dostupného HPV DNA testu. Relatívne riziko $\geq$ CIN2 bolo 7,4 (95 % CI: 4,3, 13,0), čo poukazuje na to, že u ženy, ktorá bola pozitívna v Aptima HPV assay, bola 7,4-krát vyššia pravdepodobnosť výskytu $\geq$ CIN2 ako u ženy, ktorá bola v Aptima HPV assay negatívna. Relatívne riziko $\geq$ CIN3 bolo 12,5 (95 % CI: 4,5, 34,9).

Tabuľka 6: Populácia ASC-USA $\geq$ 21 rokov: Absolútne a relatívne riziká $\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV assay a HPV DNA testu

	Výsledok testu	Aptima HPV Assay N=937		HPV DNA Test N=863*	
		Absolútne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)
≥CIN2	Pozitívne	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)
	Negatívne	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prevalencia (%)		9,7 (91/937)	10,3 (89/863)	
≥CIN3	Pozitívne	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)
	Negatívne	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prevalencia (%)		4,4 (41/937)	4,5 (39/863)	

*74 žien s výsledkami Aptima HPV assay nemalo výsledky testu HPV DNA primárne v dôsledku nedostatočného objemu cytologickej vzorky.

Absolútne a relatívne odhady rizika ochorenia ($\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3, založené na hodnotení všetkých biopsií) Aptima HPV assay a komerčne dostupného HPV DNA testu sú uvedené podľa vekovej skupiny v Tabuľka 7.

Tabuľka 7: Populácia ASC-USA ≥ 21 rokov: Absolútne a relatívne riziká $\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV assay a HPV DNA testu podľa vekovej skupiny

		Aptima HPV Assay N=937		HPV DNA Test N=863*		
Vek	Výsledok testu	Absolútne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)	
≥CIN2	21 až 29 rokov	N=415		N=389		
		Pozitívne	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)
		Negatívne	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalencia (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 až 39 rokov	N=261		N=238		
		Pozitívne	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)
		Negatívne	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalencia (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	≥40 rokov	N=261		N=236		
		Pozitívne	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)
Negatívne		1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)		
Prevalencia (%)		3,8 (10/261)		4,2 (10/236)		
≥CIN3	21 až 29 rokov	N=415		N=389		
		Pozitívne	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Nepočítateľné
		Negatívne	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalencia (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 až 39 rokov	N=261		N=238		
		Pozitívne	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)
		Negatívne	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalencia (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	≥40 rokov	N=261		N=236		
		Pozitívne	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)
Negatívne		1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)		
Prevalencia (%)		1,9 (5/261)		2,1 (5/236)		

*74 žien s výsledkami Aptima HPV assay nemalo výsledky testu HPV DNA primárne v dôsledku nedostatočného objemu cytologickej vzorky.

Populácia NILM ≥30 rokov: Aptima HPV Assay Klinická výkonnosť s tekutými cytologickými vzorkami ThinPrep na začiatku liečby

Celkovo bolo do štúdie NILM zaradených 11 644 žien s cytologickými výsledkami NILM, z nich bolo 773 žien vyradených. Zvyšných 10 871 žien bolo vhodných na testovanie na systéme Panther. Jedenásť žien malo chýbajúce vzorky a boli vylúčené zo základného hodnotenia Aptima HPV assay na systéme Panther. Zvyšných 10 860 hodnotiteľných žien bolo vo veku 30 rokov a starších s cytologickými výsledkami NILM a s výsledkami Aptima HPV assay na systéme Panther. Z 512 žien s pozitívnymi výsledkami Aptima HPV assay na systéme Panther sa 284 zúčastnilo kolposkopie na začiatku liečby. Z 10 348 žien s negatívnymi výsledkami Aptima HPV assay sa 580 zúčastnilo kolposkopie na začiatku liečby. Dvadsať (20) žien malo ≥CIN2 a jedenásť (11) malo ≥CIN3; 798 žien malo normálnu/ CIN1 histológiu; 46 žien malo neurčený stav ochorenia. Výsledky Aptima HPV assay na systéme Panther pomocou diagnostiky konsenzuálneho panelu histologického prehľadu na začiatku liečby sú uvedené v Tabuľka 8.

Tabuľka 8: Populácia NILM ≥30 rokov: Výsledky Aptima HPV assay a HPV DNA testu na základe diagnostiky konsenzuálneho panelu histologického prehľadu na začiatku liečby

Výsledky HPV Aptima Assay*	HPV DNA Test	Diagnostika konsenzuálneho panelu histologického prehľadu						
		Neurčené**	Normálne	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Spolu
Pozitívne	Pozitívne	11	211	12	4	7	2	247
Pozitívne	Negatívne	2	19	0	0	0	1	22
Pozitívne	Bez výsledku***	2	12	1	0	0	0	15
Negatívne	Pozitívne	10	170	7	2	1	0	190
Negatívne	Negatívne	20	353	9	2	0	0	384
Negatívne	Bez výsledku***	1	4	0	1	0	0	6
Spolu		46	769	29	9	8	3****	864

*Všetky vzorky mali konečné platné výsledky (po počiatočnom testovaní alebo po odštiepení počiatočných invalidov na procedúru).

**46 subjektov sa zúčastnilo kolposkopie, ale diagnóza sa nedala určiť z týchto dôvodov: vzorky biopsie sa ukázali ako neadekvátne (n = 29), neboli odobraté žiadne biopsie (n = 15) a snímky biopsie sa stratili (n = 2).

***21 žien s výsledkami Aptima HPV assay nemalo výsledky testu HPV DNA primárne v dôsledku nedostatočného objemu cytologickej vzorky.

****Tri ženy mali adenokarcinóm in situ (AIS).

Celkovo 10 042 žien malo neoverený (vrátane nedefinovaného) stav ochorenia na začiatku liečby (Tabuľka 9). Pretože kolposkopia sa týkala len náhodne vybraných žien s negatívnymi výsledkami pre Aptima HPV assay na systéme Tigris DTS a komerčne dostupný test HPV DNA, podiel žien s neovereným stavom ochorenia bol v tejto skupine vysoký (96,6 %). Na prispôbenie tohto overenia skreslenia sa na odhad počtu žien s ochorením, ktoré by sa zistili, ak by všetky ženy podstúpili kolposkopiu, použila metóda viacnásobnej imputácie. Uvádzajú sa odhady výkonnosti, ktoré boli upravené na základe overenia skreslenia ako aj neupravené odhady výkonnosti na základe 818 žien s overeným stavom ochorenia na začiatku liečby.

Tabuľka 9: Populácia NILM ≥30 rokov: Klasifikácia hodnotiteľných NILM žien Aptima HPV assay a testu HPV DNA, stav ochorenia (≥CIN2 a ≥CIN3) a stav overovania ochorenia

Výsledky HPV Aptima Assay*		HPV DNA Test	Spolu ženy	Overený stav choroby: ≥CIN2		Overený stav choroby: ≥CIN3		Neoverený stav choroby
Panther System	Tigris DTS System			Ženy s ochorením (≥CIN2)	Ženy bez ochorenia (<CIN2)	Ženy s ochorením (≥CIN3)	Ženy bez ochorenia (<CIN3)	Ženy s neznámym stavom choroby (% neznáme)
Pozitívne	Pozitívne	Pozitívne	313	13	189	9	193	111 (35,5 %)
Pozitívne	Pozitívne	Negatívne	37	1	18	1	18	18 (48,6 %)
Pozitívne	Pozitívne	Bez výsledku**	22	0	13	0	13	9 (40,9 %)
Pozitívne	Negatívne	Pozitívne	70	0	34	0	34	36 (51,4 %)
Pozitívne	Negatívne	Negatívne	60	0	1	0	1	59 (98,3 %)
Pozitívne	Negatívne	Bez výsledku**	10	0	0	0	0	10 (100 %)
Negatívne	Pozitívne	Pozitívne	46	0	33	0	33	13 (28,3 %)
Negatívne	Pozitívne	Negatívne	113	1	41	0	42	71 (62,8 %)
Negatívne	Pozitívne	Bez výsledku**	8	0	4	0	4	4 (50,0 %)
Negatívne	Negatívne	Pozitívne	236	3	144	1	146	89 (37,7 %)
Negatívne	Negatívne	Negatívne	9 354	1	321	0	322	9 032 (96,6 %)
Negatívne	Negatívne	Bez výsledku**	591	1	0	0	1	590 (99,8 %)
Spolu			10 860	20	798	11	807	10 042 (92,5 %)

*Všetky vzorky mali konečné výsledky (po počiatocnom testovaní alebo po odštiepení počiatocných invalidov na procedúru).

**631 žien s výsledkami testu Aptima HPV nemalo výsledky testu HPV DNA primárne v dôsledku nedostatočného objemu cytologickej vzorky.

Upravená prevencia $\geq\text{CIN}2$ a $\geq\text{CIN}3$ u žien s cytologickými výsledkami NILM bola 0,9 % a 0,4 %. Upravené odhady absolútneho a relatívneho rizika pre detekciu $\geq\text{CIN}2$ a $\geq\text{CIN}3$ na začiatku liečby sú uvedené v Tabuľka 10. Upravené relatívne riziko $\geq\text{CIN}2$ bolo 7,5 (95 % CI: 2,1, 26,3), čo poukazuje na to, že u ženy, ktorá bola pozitívna v Aptima HPV assay, je 7,5-krát vyššia pravdepodobnosť výskytu $\geq\text{CIN}2$ ako u ženy, ktorá bola v Aptima HPV assay negatívna. Upravené relatívne riziko $\geq\text{CIN}3$ bolo 24,9 (95 % CI: 2,0, 307,0). Neupravené odhady absolútneho a relatívneho rizika pre detekciu $\geq\text{CIN}2$ a $\geq\text{CIN}3$ na začiatku liečby sú kompletne uvedené v Tabuľka 11 a podľa vekovej skupiny v Tabuľka 12.

Tabuľka 10: Populácia NILM ≥ 30 rokov: Absolútne a relatívne riziko $\geq\text{CIN}2$ a $\geq\text{CIN}3$ pre výsledky Aptima HPV assay a testu HPV DNA (nastavené odhady overenia skreslenia) na začiatku liečby

	Výsledok testu	Aptima HPV Assay		HPV DNA Test	
		Absolútne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)
≥CIN2	Pozitívne	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negatívne	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalencia (%)		0,9	0,9	
≥CIN3	Pozitívne	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negatívne	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalencia (%)		0,4	0,4	

Tabuľka 11: Populácia NILM ≥ 30 rokov: Absolútne a relatívne riziko $\geq\text{CIN}2$ a $\geq\text{CIN}3$ pre výsledky Aptima HPV assay a HPV DNA testu (nenastavené odhady) na začiatku liečby

		Aptima HPV Assay N=818		HPV DNA Test N=800*	
Výsledok testu		Absolútne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)
≥CIN2	Pozitívne	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)
	Negatívne	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalencia (%)		2,4 (20/818)		2,4 (19/800)
≥CIN3	Pozitívne	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)
	Negatívne	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalencia (%)		1,3 (11/818)		1,4 (11/800)

*18 žien s výsledkami Aptima HPV assay nemalo výsledky testu HPV DNA primárne v dôsledku nedostatočného objemu cytologickej vzorky.

Tabuľka 12: Populácia NILM ≥30 rokov: Absolútne a relatívne riziká ≥CIN2 a ≥CIN3 pre výsledky Aptima HPV assay a HPV DNA testu podľa vekovej skupiny (nenastavené odhady) na začiatku liečby

		Aptima HPV Assay N=818		HPV DNA Test N=800*	
Vek	Výsledok testu	Absolútne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)
30 až 39 rokov		N=383		N=376	
	Pozitívne	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)
	Negatívne	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
	Prevalencia (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
		N=435		N=424	
≥ 40 rokov	Pozitívne	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)
	Negatívne	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
	Prevalencia (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
		N=383		N=376	
30 až 39 rokov	Pozitívne	3,3 (5/153) (1,6, 4,1)	7,5 (0,9, 63,7)	2,3 (5/215) (1,1, 2,9)	3,7 (0,4, 31,7)
	Negatívne	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
	Prevalencia (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
		N=435		N=424	
≥ 40 rokov	Pozitívne	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Nepočítateľné	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Nepočítateľné
	Negatívne	0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
	Prevalencia (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*18 žien s výsledkami Aptima HPV assay nemalo výsledky testu HPV DNA primárne v dôsledku nedostatočného objemu cytologickej vzorky.

Upravené odhady klinického výkonu Aptima HPV assay vrátane citlivosti, špecificity, PPV a NPV na detekciu $\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3 na začiatku liečby sú uvedené v Tabuľka 13, rovnako ako odhady komerčne dostupného HPV DNA testu. Neupravené odhady klinického výkonu sú uvedené v Tabuľka 14. Aptima HPV assay a komerčne dostupný HPV DNA test mali podobnú citlivosť, zatiaľ čo špecificita bola signifikantne vyššia pri Aptima HPV assay (neprekrývajúce sa 95 % CI). Odhady prediktívnej hodnoty Aptima HPV assay boli klinicky relevantné a podobné odhadom komerčne dostupného HPV DNA testu. NPV boli podobné, ale na detekciu $\geq$ CIN2, PPV pre Aptima HPV assay bol mierne vyšší ako PPV pre komerčne dostupný HPV DNA test (4,5% oproti 3,7%).

Tabuľka 13: Populácia NILM $\geq$ 30 rokov: Výkonnosť Aptima HPV Assay a HPV DNA testu na detekciu $\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3 (nastavené odhady overenia skreslenia) na začiatku liečby

	Výkonnosť	Aptima HPV Assay		HPV DNA Test	
		Odhad	(95 % CI)	Odhad	(95 % CI)
$\geq$ CIN2	Citlivosť (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Špecifickosť (%)	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)
	Prevalencia (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
$\geq$ CIN3	Citlivosť (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Špecifickosť (%)	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)
	Prevalencia (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Tabuľka 14: Populácia NILM ≥ 30 rokov: Výkonnosť Aptima HPV Assay a HPV DNA testu na detekciu $\geq \text{CIN}2$ a $\geq \text{CIN}3$ (neupravené odhady) na začiatku liečby

	Aptima HPV Assay N=818		HPV DNA Test N=800*	
	Výkonnosť	Odhad (95 % CI)	Odhad (95 % CI)	
$\geq \text{CIN}2$	Citlivosť (%)	70,0 (14/20)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Špecifickosť (%)	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)
	Prevalencia (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)
$\geq \text{CIN}3$	Citlivosť (%)	90,9 (10/11)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Špecifickosť (%)	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)
	Prevalencia (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)

*18 žien s výsledkami Aptima HPV assay nemalo výsledky testu HPV DNA primárne v dôsledku nedostatočného objemu cytologickej vzorky.

Priame porovnanie Aptima HPV assay na systéme Panther a komerčne dostupného HPV DNA testu demonštruje podobnú citlivosť a štatisticky významnú zlepšenú špecifickosť Aptima HPV assay na komerčne dostupnom HPV DNA teste na detekciu $\geq \text{CIN}2$, ako to ukazujú pomery skutočných pozitívnych a falošne pozitívnych testov (Tabuľka 15 a Tabuľka 16).

Tabuľka 15: Populácia NILM ≥ 30 rokov: Pomer skutočných pozitívnych hodnôt (Aptima HPV assay/ HPV DNA test) pre ženy s $\geq \text{CIN}2$ (neupravené odhady) na začiatku liečby

	HPV DNA Test		Spolu
	Pozitívne	Negatívne	
Aptima HPV Assay	Pozitívne	13	14 (73,7 %)
	Negatívne	3	5
	Spolu	16 (84,2%)	19
Pomer skutočných pozitívnych hodnôt = 0,88 (14/16) (95 % CI: 0,65, 1,10)			

Tabuľka 16: Populácia NILM $\geq$ 30 rokov: Pomer falošne pozitívnych hodnôt (Aptima HPV assay/ HPV DNA test) pre ženy $<$ CIN2 (neupravené odhady) na začiatku liečby

	HPV DNA Test		Spolu
	Pozitívne	Negatívne	
Aptima HPV Assay	Pozitívne	223	19
	Negatívne	177	362
	Spolu	400 (51,2%)	381
Pomer falošne pozitívnych hodnôt = 0,61 (242/400) (95 % CI: 0,55, 0,66)			

Populácia NILM $\geq$ 30 rokov: Klinický výkon Aptima HPV assay na systéme Panther po 3 rokoch sledovania

Bolo 10 843 žien vo veku 30 rokov a starších s výsledkami cytologických vyšetrení NILM a platnými výsledkami Aptima HPV assay na systéme Panther na začiatku liečby, ktoré boli vhodné pre následnú fázu. Zo žien bez $\geq$ CIN2, 67,0 % (7 247/10 823) žien ukončilo Pap návštevu v 1. 60,3 % (6 517/10 814) v 2. roku a 58,7 % (6 339/10 807) v 3. roku. Celkovo 58,8 % (6 375/10 843) žien dokončilo štúdiu (mali $\geq$ CIN2 na začiatku alebo počas následného sledovania a/alebo ukončených požadovaných návštev).

Z hodnotiteľných 10 843 žien malo 511 (4,7 %) pozitívne výsledky Aptima HPV assay na systéme Panther na začiatku liečby. Z týchto 511 žien malo 255 (49,9 %) buď pozitívny, alebo negatívny 3-ročný stav ochorenia na základe cytologických alebo kolposkopických/biopsických výsledkov. Zostávajúcich 10 332 žien malo negatívne výsledky Aptima HPV assay na systéme Panther na začiatku liečby. Z týchto 10 332 žien malo 5 946 (57,5 %) buď pozitívny, alebo negatívny 3-ročný stav ochorenia. Zo 6 201 žien s 3-ročným stavom ochorenia malo 47 žien $\geq$ CIN2, z toho 23 s $\geq$ CIN3; 6 154 žien malo normálny/CIN1 podľa konsenzuálneho panelu histologického prehľadu. Základné výsledky Aptima HPV assay na systéme Panther a komerčne dostupného HPV DNA testu a 3-ročného stavu ochorenia (vrátane základného a následného hodnotenia) podľa konsenzuálneho panelu histologického prehľadu sú uvedené v Tabuľka 17.

Tabuľka 17: Populácia NILM ≥ 30 rokov: Klasifikácia žien, ktoré sú vhodné pre následnú fázu, podľa základných výsledkov Aptima HPV assay, základné výsledky HPV DNA testov a stav ochorenia ($\geq \text{CIN}2$, $\geq \text{CIN}3$, neoverené) stanovené v základných a následných fázach

Výsledky HPV Aptima assay	HPV DNA Test	Spolu ženy	Overený stav choroby: $\geq \text{CIN}2$		Overený stav choroby: $\geq \text{CIN}3$		Neoverený stav choroby	
			Ženy s ochorením ($\geq \text{CIN}2$)	Ženy bez ochorenia ($< \text{CIN}2$)	Ženy s ochorením ($\geq \text{CIN}3$)	Ženy bez ochorenia ($< \text{CIN}3$)	Strata následného sledovania	Neurčitý stav*
Pozitívne	Pozitívne	382	23	171	16	178	167	21
Pozitívne	Negatívne	97	1	48	1	48	44	4
Pozitívne	Bez výsledku**	32	2	10	1	11	17	3
Negatívne	Pozitívne	281	5	129	2	132	130	17
Negatívne	Negatívne	9 452	15	5 476	3	5 488	3 756	205
Negatívne	Bez výsledku**	599	1	320	0	321	264	14
Spolu		10 843	47	6 154	23	6 178	4 378	264

*Ženy, ktoré mali počas sledovania abnormálne výsledky cytologického testu a ktoré nemali následný výsledok konsenzuálneho panelu histologického prehľadu, alebo ženy s neadekvátnou cytológiou pri poslednej návšteve. 174 žien s neurčitým stavom ochorenia ukončilo sledovanie podľa protokolu.

**631 žien s výsledkami testu Aptima HPV nemalo výsledky testu HPV DNA primárne v dôsledku nedostatočného objemu cytologickej vzorky.

3-ročné kumulatívne riziko ochorenia ($\geq \text{CIN}2$ a $\geq \text{CIN}3$) je založené na Kaplanovom-Meierovom odhade (analýza životného cyklu) a zahŕňa ochorenie zistené na začiatku alebo v sledovaní. Ženy, ktoré mali nejakú indikáciu ochorenia (ASC-US alebo závažnejšie cytologické výsledky), ale bez konsenzuálneho histologického vyšetrenia, boli zahrnuté do analýzy s použitím metódy viacnásobnej imputácie na predpovedanie počtu žien s ochorením, ktoré by boli identifikované, ak by ženy podstúpili kolposkopiu.

3-Ročné kumulatívne odhady absolútneho a relatívneho rizika pre detekciu $\geq \text{CIN}2$ a $\geq \text{CIN}3$ sú uvedené v Tabuľka 18.

Tabuľka 18: Populácia NILM ≥ 30 rokov: 3-ročné kumulatívne absolútne a relatívne riziko* $\geq \text{CIN}2$ a $\geq \text{CIN}3$ pre výsledky Aptima HPV assay a testu HPV DNA na začiatku liečby

Výsledok testu	Aptima HPV Assay		HPV DNA Test	
	Absolútne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)
$\geq \text{CIN}2$	Pozitívne	7,90 (5,50, 11,27)	6,43 (4,50, 9,14)	22,71 (12,20, 42,30)
	Negatívne	0,32 (0,21, 0,51)	0,28 (0,17, 0,47)	
	Prevalencia (%)	0,68	0,68	
$\geq \text{CIN}3$	Pozitívne	5,23 (3,34, 8,13)	4,14 (2,62, 6,52)	51,34 (17,74, 148,58)
	Negatívne	0,09 (0,04, 0,23)	0,08 (0,03, 0,22)	
	Prevalencia (%)	0,34	0,35	

*3-ročné kumulatívne riziká upravené pre iné možné predpoklady boli podobné rizikám v tejto tabuľke. Kvôli očakávaným rozdielom v rizikách v 1. a 2. roku pre dve skupiny žien v následnej štúdii (pacientky s kolposkopiou na začiatku liečby a pacientky bez kolposkopie na začiatku liečby) bolo hlásené len 3-ročné kumulatívne riziko pre kombinované skupiny.

3-ročná kumulatívna prevalencia $\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3 u žien s cytologickými výsledkami NILM na začiatku liečby bola 0,68 % a 0,34 %. Relatívne riziko $\geq$ CIN2 bolo 24,45 (95 % CI 13,85, 43,15), čo poukazuje na to, že u ženy, ktorá bola pozitívna v Aptima HPV assay na systéme Panther, je 24,45-krát vyššia pravdepodobnosť výskytu $\geq$ CIN2 ako u ženy, ktorá bola v Aptima HPV assay negatívna. Relatívne riziko $\geq$ CIN3 bolo 57,11 (95 % CI: 21,09, 154,62).

Aptima HPV Assay Klinická výkonnosť s tekutými cytologickými vzorkami SurePath

Tekuté cytologické vzorky SurePath boli odobraté kanadským ženám (n=1350), ktoré boli vyšetrené kvôli jednému alebo viacerým abnormálnym Pap testom, HPV infekcii alebo z nejakého iného dôvodu. Alikvótna časť (0,5 ml) každej vzorky sa preniesla do skúmavky na prenos vzorky Aptima a potom sa ošetrila použitím roztoku Aptima Transfer. Jedna replikácia každej vzorky na analýzu sa testovala Aptima HPV assay. Samostatná alikvótna časť (1 ml) každej vzorky sa odoberala na vyhodnotenie komerčne dostupným testom HPV PCR. Klinická senzitivita na detekciu ochorenia, definovaná ako výsledok histologického vyšetrenia $\geq$ CIN3, sa vypočítala pre Aptima HPV assay aj pre test HPV PCR, ako je uvedené v Tabuľka 19, s pozitívnymi a negatívnymi prediktívnymi hodnotami.

Tabuľka 19: Výkonnosť Aptima HPV Assay a HPV PCR testu na detekciu $\geq$ CIN3

Výkonnosť	Aptima HPV Assay N=1326		HPV PCR Test N=1351	
	Odhad	(95 % CI)	Odhad	(95 % CI)
Citlivosť (%)	89,6 (69/77)	(80,8 - 94,6)	94,8 (73/77)	(87,4 - 98,0)
Špecifickosť (%)	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)
Prevalencia (%)	5,8 (77/1326)		5,7 (77/1351)	

Výkon testu Aptima HPV pri odbere vzoriek krčka maternice a ich prenose

Od 735 subjektov sa odobrali vzorky párových tekutých cytologických vzoriek ThinPrep a vzorky súpravy Aptima CSCT. Jeden mililiter (1,0 ml) každej tekutej cytologickej vzorky ThinPrep bol nariadený do 2,9 ml transportného média pre vzorky Aptima a jedna replikácia boli testované pomocou testu Aptima HPV v systéme Tigris DTS. Jedna replikácia každej vzorky CSCT sa testovala aj s použitím testu Aptima HPV. Bola stanovená percentuálna zhoda testu Aptima HPV medzi tekutou cytologickou vzorkou ThinPrep a vzorkou CSCT a výsledky sú uvedené v Tabuľka 20.

Percentuálna pozitívna zhoda bola 95,9 % (95 % IS: 92,6 – 97,8); percentuálna negatívna zhoda bola 95,5 % (95 % IS: 93,3 – 97,0) a celková zhoda bola 95,6 % (95 % IS: 93,9 – 96,9). Medzi tekutou cytologickou vzorkou a vzorkami súpravy na prenos bola pozorovaná silná korelácia (kappa = 0,90).

Tabuľka 20: Celková zhoda výsledkov testu Aptima HPV z tekutých cytologických vzoriek ThinPrep a súpravy na odber a prenos vzoriek krčka maternice Aptima testovaných v systéme Tigris DTS

		Tekutá cytologická vzorka ThinPrep		
		Pozitívna	Negatívna	Celkom
Vzorka súpravy Aptima CSCT	Pozitívna	234	22	256
	Negatívna	10	469	479
	Celkom	244	491	735

Pozitívna zhoda = 95,9 % (92,6 – 97,8)

Negatívna zhoda = 95,5% (93,3 – 97,0)

Celková zhoda = 95,6% (93,9 – 96,9)

Koeficient kappa = 0,90

Vysokorizikové HPV-pozitívne a vysokorizikové HPV-negatívne klinické vzorky odobraté z oboch skríniových (rutinných prehliadok) a odporúčaných (kolposkopických) populácií s aplikáciou Aptima CSCT boli testované Aptima HPV Assay na systémoch Panther a Tigris DTS s použitím dvoch šarží reagenctov. Zhoda medzi systémami Panther a Tigris DTS pre vzorky CSCT je uvedená v Tabuľka 21.

V prípade vzoriek CSCT bola celková zhoda medzi systémami Panther a Tigris DTS > 98 %, ako je uvedené v Tabuľka 21. Zo 632 testovaných klinických vzoriek bolo 69 CIN2+ a 38 CIN3+. Citlivosť Aptima HPV assay na detekciu CIN2 + bola 97,1 % (95 % C.I. 90,0 % – 99,2 %) na systéme Panther a 98,6 % (95 % CI: 92,2 – 99,7) na systéme Tigris DTS. Citlivosť na detekciu CIN3+ bola 100 % (CI: 90,8 % – 100 %) na oboch systémoch Panther a Tigris DTS.

Tabuľka 21: Zhoda výsledkov Aptima HPV assay zo vzoriek Aptima CSCT testovaných na systémoch Tigris DTS a Panther

		Tigris DTS System		
		Pozitívne	Negatívne	Spolu
Panther System	Pozitívne	490	3	493
	Negatívne	9	130	139
	Spolu	499	133	632

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

Pozitívna zhoda = 98,2 % (CI 96,6 – 99,0)

Negatívna zhoda = 97,7 % (CI 93,6 – 99,2)

Klinický výkon testu Aptima HPV Assay so vzorkami z tampónu na odber vzoriek testu Aptima Multitest

Klinický výkon vaginálnych vzoriek odobratých v odberovjé súprave Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit bol preukázaný v štúdiu vykonanej u žien vo veku 24 – 64 rokov v Anglicku.⁴⁵ Medzi oprávnené ženy (ktoré spĺňali kritériá pre zaradenie a mali platné výsledky HPV odobraté lekárom a odobraté samoodberom) patrili ženy, ktoré boli odoslané na kolposkopiu na ďalšie vyšetrenie po pozitívnom alebo neadekvátnom výsledku HPV testu odobratého lekárom z primárneho skríningu alebo skorého opakovaného vyšetrenia najneskôr 8 týždňov (≤ 56 dní) pred kolposkopiou (n = 78), a ženy vo veku 24 – 64 rokov, ktoré mali termín absolvovanie rutinného skríningu rakoviny krčka maternice alebo ho absolvovali už po termíne (n = 903).

Každému účastníkovi štúdie bola odobratá vzorka odobratá samoodberom a vzorka odobratá lekárom. Vaginálne vzorky odobraté pomocou odberovej súpravy Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit sa pred spracovaním v systéme Panther predhriali na teplotu 90 °C počas 75 minút a nechali sa vychladnúť.

Podmienená relatívna citlivosť pre vzorky odobraté samoodberom bola definovaná ako podiel prípadov CIN2+ zistených prostredníctvom pozitívnej vzorky odobratej lekárom, pri ktorých bol pozitívny výsledok testu HPV aj pri vzorke odobratej samoodberom získanej počas bežnej kolposkopie.

Pre podmienenú relatívnu špecifickosť u žien bez CIN2+ sa porovnával počet žien v primárnom skríningu s negatívnym výsledkom testu na vzorke odobratej samoodberom pri rutinnom skríningu s počtom žien s negatívnym výsledkom testu na spárovanej vzorke odobratej lekárom.

Odhadovaná podmienená relatívna citlivosť pre cervikálnu intraepiteliálnu neopláziu vysokého stupňa (CIN2+) bola 0,92 (0,86 – 0,96) a pre CIN3+ bola 1 (0,92 – 1,00). Odhad relatívnej špecificity pre CIN2+ bol 0,87 (0,85 – 0,89).

Limit detekcie (LoD) v cervikálnych vzorkách pri klinickej medznej hodnote

Detekčný limit (LoD) pri klinickej medznej hodnote je koncentrácia, HPV RNA, ktorá poskytuje pozitívny výsledok (nad klinickou medznou hodnotou) v 95 % prípadov. LoD testu Aptima HPV Assay sa stanovil testovaním riediacich panelov in vitro transkriptov (IVT) pre všetkých 14 vysokorizikových genotypov a 4 HPV-infikovaných bunkových línií: SiHa, HeLa, MS751 a ME180 (ATCC, Manassas, Virginia). V prípade IVT panelov sa transportné médium vzoriek obohatilo o IVT v rôznych koncentráciách a potom sa pred testovaním zriedilo s jednotlivými negatívnymi ThinPrep tekutými cytologickými vzorkami. V prípade HPV-infikovaných bunkových panelov boli vzorky HPV-negatívnych ThinPrep tekutých cytologických vzoriek obohatené HPV-infikovanými bunkami v rôznych koncentráciách a potom boli pred testovaním zriedené so vzorkou transportného média. Testovalo sa tridsať opakovaní každej úrovne kópie s každou z dvoch šarží reagentov na celkom 60 opakovaní. Testovanie sa uskutočňovalo počas 17 dní, pričom každý deň sa vykonalo minimálne 1 až 12 cyklov a päť opakovaní pre daný genotyp a koncentráciu testované v každom cykle. 95 % detekčný limit sa vypočítal z regresnej analýzy výsledkov positivity Probit pre každý dilučný panel.

Výsledky analýzy Probit ukazujú, Tabuľka 22 že HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 a 68 mali v 95 % detekčné limity menšie ako 100 kópií/reakcií; a typy 52, 58, a 66 mali v 95 % detekčné limity medzi 100 a 500 kópiami/reakciami. Štyri testované bunkové línie mali v 95 % detekčné limity nižšie ako 1 bunka/reakcia.

Tabuľka 22: Limit stanovenia v cervikálnych vzorkách odobratých lekármi pri klinickej medznej hodnote

Cieľ	Limit detekcie* (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)

* Kópie na reakciu pre IVT a bunky na reakciu pre bunkové línie

Limit detekcie (LoD) vo vaginálnych vzorkách pri klinickej medznej hodnote

LoD testu Aptima HPV Assay sa stanovil testovaním riediacich panelov IVT pre všetkých 14 vysokorizikových genotypov a 4 bunkových línií infikovaných HPV (SiHa, HeLa, ME180 a MS751) v matrici súhrnných vaginálnych vzoriek negatívnych na HPV odobratých samoodberom. Do každej negatívnej skupiny matrice vzoriek vaginálnych výterov boli pridané cieľové koncentrácie pod koncentráciou LoD, na úrovni LoD a nad úrovňou LoD. S každou z 2 šarží reagensí sa testovalo dvadsať replikátov každej koncentrácie za použitia 2 systémov Panther/Panther Fusion. LoD pri klinickej medznej hodnote bol definovaný ako koncentrácia HPV RNA, ktorá poskytovala pozitívny výsledok v aspoň 95 % prípadov.

Tabuľka 23 uvádza LoD stanovenú na základe šarže reagensie, ktorá poskytuje najkonzervatívnejšiu (najvyššiu) LoD s obojstranným 95 % intervalom spoľahlivosti. HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 66 a 68 mali v 95 % detekčné limity menšie ako 100 kópií/reakcií; HPV 52, 56, 58 a 59 mali v 95 % detekčné limity medzi 100 a 600 kópiami/reakciami. 4 bunkové línie majú 95 % limit detekcie pri 1 alebo menej ako 1 bunke/reakcii.

Tabuľka 23: Limit detekcie vo vaginálnych vzorkách odobratých samoodberom pri klinickej medznej hodnote

Cieľ	Limit detekcie*	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 %

* Kópie na reakciu pre IVT a bunky na reakciu pre bunkové línie

Presnosť testu

Presnosť Aptima HPV assay bola hodnotená v dvoch štúdiách s použitím rovnakého 20-členného panelu. Štúdia 1 sa uskutočnila na 3 miestach, 2 externé a 1 interné a Štúdia 2 sa uskutočnila interne. Panel zahŕňal 13 pozitívnych členov HPV assay s koncentraciami pri alebo nad hranicou detekcie testu (očakávaná pozitivita: $\geq 95\%$), 3 HPV-pozitívnych členov s koncentraciami pod hranicou detekcie testu (očakávaná pozitivita: $> 0\%$ až $< 25\%$) a 4 HPV-negatívne členy. HPV-pozitívne členy panelu sa pripravili obohatením in vitro RNA transkriptov (IVT) do roztoku PreservCyt zriedeného s transportným médiom pre vzorky (STM) alebo kultivovaných buniek infikovaných HPV (SiHa, HeLa, MS751; ATCC, Manassas, Virginia) do spojených negatívnych tekutých cytologických vzoriek ThinPrep zriedených s STM. HPV-negatívne členy panelu boli pripravené s roztokom PreservCyt alebo spojenými negatívnymi tekutými cytologickými vzorkami ThinPrep zriedenými s STM.

V Štúdii 1, 2 operátori v každej z troch testovacích lokalít (1 prístroj na miesto) vykonali 2 pracovné zoznamy Aptima HPV assay denne (1 s každou šaržou reagentu) počas 3 dní. Každý pracovný zoznam obsahoval 3 replikácie každý člen panelu reprodukovateľnosti. Stoosem (108) jednotlivých skúmvaviek so vzorkami sa testovalo pre každého člena panelu (3 miesta x 1 prístroj x 2 operátori x 2 dávky x 3 pracovné zoznamy x 3 opakovania). V štúdii 2 sa testovanie uskutočňovalo interne počas 13 dní s celkovo 162 reakciami testovanými pre každý člen panelu (1 miesto x 3 nástroje x 3 operátori x 3 dávky x 2 pracovné zoznamy x 3 opakovania).

Členy panelu sú opísané v Tabuľka 24a (členy panelu s očakávanými pozitívnymi výsledkami) a Tabuľka 24b (členy panelu s očakávanými negatívnymi výsledkami) spolu so zhrnutím dohody s očakávanými výsledkami a hodnotami S/CO analytu na 2,5., 50. a 97,5. percentilu distribúcie S/CO. Variabilita S/CO analytu pre členy panelu s očakávanými pozitívnymi výsledkami je uvedená v Tabuľka 25 pre Štúdiu 1 a Tabuľka 26 pre Štúdiu 2.

Tabuľka 24a: Štúdia presnosti Aptima HPV assay 1 a 2: Popis panelov, pozitívna dohoda a percentuálne rozdelenie hodnôt S/CO analytu pre členy panelu s očakávanými pozitívnymi výsledkami

Opis panela (kópie alebo bunky/ reakcie)	Štúdia 1 (3 testovacie pracoviská)				Štúdia 2 (1 testovacie pracovisko)			
	% pozitívna zhoda (95 % IS)	Analyt S/CO Percentil			% pozitívna zhoda (95 % IS)	Analyt S/CO Percentil		
		2,5.	50.	97,5.		2,5.	50.	97,5.
Vysokopozitívna klinická vzorka HPV 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
Vysokopozitívna klinická vzorka HPV 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 (1 830 kópií)	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 (1 550 kópií)	100 (107/107) (96,5; 100)	13,09	14,55	18,08	100 (162/162) (97,7; 100)	11,26	13,47	15,63
Nízkopozitívna klinická vzorka HPV 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
Nízkopozitívna klinická vzorka HPV 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
Nízkopozitívna klinická vzorka HPV 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
Nízkopozitívna klinická vzorka HPV 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 kópií)	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 kópií)	100 (108/108) (96,6; 100)	4,87	12,01	15,21	100 (159/159) (97,6; 100)	7,82	11,59	13,84
MS751 bunky (0,63 bunky)	100 (108/108) (96,6; 100)	5,90	10,99	14,00	100 (162/162) (97,7; 100)	5,61	10,14	12,26
HeLa bunky (0,35 bunky)	100 (108/108) (96,6; 100)	1,43	6,19	13,28	100 (162/162) (97,7; 100)	3,24	7,88	12,58
SiHa bunky (0,90 bunky)*	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 = in vitro transkript

*Očakávaná % pozitívna zhoda ~95 %; pozorovaná nižšia pravdepodobnosť v dôsledku výrobných variability člena panela.

Tabuľka 24b: Štúdia presnosti Aptima HPV assay 1 a 2: Popis panelov, Negatívna zhoda a percentuálne rozdelenie hodnôt S/CO analytu pre členy panelu s očakávanými negatívnymi výsledkami

Opis panela (kópie alebo bunky/ reakcie)	Štúdia 1 (3 testovacie pracoviská)			Štúdia 2 (1 testovacie pracovisko)				
	% negatívna zhoda (95 % IS)	Analyt S/CO Percentil			% negatívna zhoda (95 % IS)	Analyt S/CO Percentil		
		2,5.	50.	97,5.		2,5.	50.	97,5.
MS751 bunky (0,005 bunky)	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
SiHa bunky (0,008 bunky)	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
HeLa bunky (0,02 bunky)	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-negatívna klinická vzorka 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-negatívna klinická vzorka 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

Tabuľka 25: Štúdia presnosti Aptima HPV assay 1: Variabilita signálu pre členy panelu s očakávanými pozitívnymi výsledkami

Opis panela (kópie alebo bunky/reakcia)	n	Priemer r S/CO	Medzi nástrojmi		Medzi operátormi		Medzi šaržami		Medzi pracovnými zoznamami		V rámci pracovných zoznamov		Spolu	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV vysokopozitívna klinická vzorka 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 vysokopozitívna klinická vzorka 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 kópií)	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 kópií)	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 nízko pozitívna klinická vzorka 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 nízko pozitívna klinická vzorka 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 nízko pozitívna klinická vzorka 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 nízko pozitívna klinická vzorka 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 kópií)	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 kópií)	108	11,78	0,00	0,0	0,43	3,7	0,00	0,0	1,12	9,5	1,97	16,7	2,30	19,6
MS751 bunky (0,63 bunky)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
HeLa bunky (0,35 bunky)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
SiHa bunky (0,90 bunky)	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 = variačný koeficient; IVT = in vitro transkript; SD = štandardná odchýlka

*Dvanásť vzoriek malo neplatné výsledky Aptima HPV assay (1 pre HPV-vysokopozitívnu klinickú vzorku 1, 1 pre HPV-vysokopozitívnu klinickú vzorku 2, 1 pre HPV 16 IVT (1830 kópií), 1 pre HPV 18 IVT (1 550 kópií), 1 pre HPV-nízko pozitívnu klinickú vzorku 1, 6 pre HPV 16 IVT (183 kópií) a 1 pre bunky SiHa (0,90 buniek)).

Poznámka: Variabilita niektorých faktorov môže byť číselne negatívna. Môže sa to stať, ak je variabilita spôsobená týmito faktormi veľmi malá. V týchto prípadoch sú SD a CV zobrazené ako nula.

Tabuľka 26: Štúdia presnosti Aptima HPV assay 2: Variabilita signálu pre členy panelu s očakávanými pozitívnymi výsledkami

Opis panela (kópie alebo bunky/reakcia)	n	Priemer S/CO	Medzi nástrojmi		Medzi operátormi		Medzi šaržami		Medzi pracovnými zoznamami		V rámci pracovných zoznamov		Spolu	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV vysokopozitívna klinická vzorka 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 vysokopozitívna klinická vzorka 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 kópií)	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 kópií)	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 nízko pozitívna klinická vzorka 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 nízko pozitívna klinická vzorka 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 nízko pozitívna klinická vzorka 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 nízko pozitívna klinická vzorka 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 kópií)	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 kópií)	159*	11,40	0,16	1,4	0,17	1,5	1,21	10,6	0,23	2,0	1,17	10,3	1,72	15,0
MS751 bunky (0,63 bunky)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
HeLa bunky (0,35 bunky)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
SiHa bunky (0,90 bunky)	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 = variačný koeficient; IVT = in vitro transkript; SD = štandardná odchýlka

*Šesť vzoriek malo neplatné výsledky testu Aptima HPV (1 pre HPV-vysokopozitívnu klinickú vzorku 1, 1 pre HPV 16 IVT (1830 kópií), 1 pre HPV-nízko pozitívnu klinickú vzorku 3, 3 pre HPV 18 IVT (155 kópií)).

Poznámka: Variabilita niektorých faktorov môže byť číselne negatívna. Môže sa to stať, ak je variabilita spôsobená týmito faktormi veľmi malá. V týchto prípadoch sú SD a CV zobrazené ako nula.

Krížová reaktivita

Poznámka: Testovanie s potenciálne skrížene reaktívnymi organizmami v prípade testu Aptima HPV sa uskutočnilo pomocou systému Tigris DTS. Test Aptima HPV bol prvýkrát spustený v systéme Tigris DTS v roku 2008. V roku 2011 boli indikácie rozšírené na použitie testu Aptima HPV v systéme Panther. Systém Panther je alternatívna menšia prístrojová platforma k systému Tigris DTS. Oba systémy sú určené na plne automatizované testovanie amplifikovaných nukleových kyselín pri diagnostických testoch. Vybrané testovanie výkonu testov dokončené v systéme Tigris DTS bolo využité na podporu výkonu testov v systéme Panther.

Analytická špecifita testu Aptima HPV bola hodnotená pomocou média s roztokom PreservCyt zriedeného v pomere 1 : 2,9 do STM a obohateného kultivovanými baktériami, kvasinkami alebo hubami; kultivovaným vírusom alebo nízkorizikovým HPV *in vitro* transkriptom. Tabuľka 27 obsahuje organizmy a testované koncentrácie. Kritériá štúdie na hodnotenie účinku prítomnosti mikroorganizmu na špecifitu testu boli založené na pozitívite. Krížová reaktivita bola pozorovaná u nízko rizikových HPV genotypov 26, 67, 70 a 82, ale u žiadneho z iných testovaných organizmov.

Tabuľka 27: Panel analytickej špecifity: Organizmy a koncentrácia bez krížovej reaktivity

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

Tabuľka 27: Panel analytickej špecificity: Organizmy a koncentrácia bez krížovej reaktivity (pokračovanie)

Organizmus	Testovaná koncentrácia s krížovou reaktivitou	Organizmus	Testovaná koncentrácia s krížovou reaktivitou
<i>Lactobacillus gasseri</i> *	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Ureaplasma parvum</i> *	1 x 10 ⁶ genómových kópií/ml
<i>Lactobacillus iners</i> *	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml		
Kvasinky/prvky			
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Pichia fermentans</i> *	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i> *	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Trichomonas tenax</i> *	1x10 ⁶ buniek/ml**
<i>Pentatrichomonas hominis</i> *	1 x 10 ⁶ buniek/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 x 10 ⁷ buniek/ml
Vírusy			
Adenovírus 2	1 x 10 ⁷ vp/ml	Herpes simplex vírus 1	2,5 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
Adenovírus 40*	1 x 10 ⁵ genómových kópií/ml	Herpes simplex vírus 2	5 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Cytomegalovírus	5,6 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	HIV-1	1,0 x 10 ⁶ kópií/ml
Vírus Epstein a Barovej	4,3 x 10 ⁶ vp/ml	SV40	1,2 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Necielené HPV genotypy			
HPV 6	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml	HPV 61	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml
HPV 11	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml	HPV 67	1 kópia/ml
HPV 26	2,5 kópií/ml	HPV 69	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml
HPV 30	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml	HPV 70	1 kópia/ml
HPV 34	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml	HPV 71	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml
HPV 42	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml	HPV 73	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml
HPV 43	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml	HPV 81	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml
HPV 44	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml	HPV 82	1 kópia/ml
HPV 53	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml	HPV 85	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml
HPV 54	2,5 x 10 ⁶ kópií/ml		

vp = vírusové častice; CFU = jednotky tvoriace kolónie; TCID₅₀ = infekčná dávka tkanivovej kultúry 50

Poznámka: Tučné písmo označuje typy, pri ktorých bola pozorovaná krížová reaktivita (> 5 % pozitivita) pri testovaní v koncentráciách vyšších, ako je uvedené v tabuľke.

*Dodatočné mikroorganizmy boli hodnotené na krížovú reaktivitu a mikrobiálnu interferenciu pri vaginálnych vzorkách odobratých samoodberom. Panel zložený z 15 mikroorganizmov bol testovaný v STM v neprítomnosti alebo prítomnosti buniek SiHa pri 3X LoD. Žiadna krížová reaktivita ani mikrobiálna interferencia nebola pozorovaná u žiadneho z organizmov pri uvedených koncentráciách.

** Nebola pozorovaná žiadna krížová reaktivita pre *Trichomonas tenax*. Zatiaľ čo sa v prítomnosti *Trichomonas tenax* zachovala 100 % pozitivita na cieľový HPV (bunky SiHa pri 3X LoD), pozorovalo sa zníženie hodnôt S/CO, ktoré sa získali počas opakovaného testovania pri koncentrácii 1x10⁶ buniek/ml.

Analytická citlivosť testu Aptima HPV v prítomnosti mikroorganizmov bola hodnotená na rovnakom paneli, ktorý opisuje Tabuľka 27, a ktorý bol tiež obohatený nízkou koncentráciou HPV infikovaných SiHa buniek (1 bunka na reakciu). Kritériá štúdie na hodnotenie účinku prítomnosti mikroorganizmu na citlivosť testu boli založené na pozitivite. Citlivosť testu Aptima HPV nebola ovplyvnená žiadnym testovaným organizmom.

Interferencia

Poznámka: Testovanie s potenciálne interferujúcimi substanciami pre Aptima HPV Assay sa uskutočnilo pomocou systému Tigris DTS. Test Aptima HPV Assay bol prvýkrát spustený v systéme Tigris DTS v roku 2008. V roku 2011 boli indikácie rozšírené na použitie testu Aptima HPV Assay v systéme Panther. Systém Panther je v porovnaní so systémom Tigris DTS alternatívna menšia prístrojová platforma. Oba systémy sú určené na plne automatizované testovanie amplifikovaných nukleových kyselín pri diagnostických testoch. Vybrané testovanie výkonu testov dokončené v systéme Tigris DTS bolo využité na podporu výkonu testov v systéme Panther.

Látky, ktoré opisuje Tabuľka 27, boli jednotlivo pridané do roztoku PreservCyt v množstve 1 % a 10 % obj./obj. alebo hmot./obj., zriedené s STM a potom testované pomocou testu Aptima HPV. Všetky látky sa testovali v prítomnosti a neprítomnosti kultivovaných buniek infikovaných HPV (SiHa, 3 bunky/reakcia). Interferencia bola pozorovaná u dvoch zo siedmich lubrikantov, ktoré obsahovali polyquaternium 15 a jedného z piatich antifungálnych liekov, ktoré obsahujú tiokonazol. Interferencia sa nepozorovala pri žiadnej inej testovanej látke.

Tabuľka 28: Látky testované na možnú interferenciu s testom Aptima HPV Assay

Kategória produktu	Značka alebo typ produktu	Najvyššia testovaná koncentrácia*, ktorá neinterferovala s výkonom testu
Lubrikant	KY senzuálne zvlhčenie	10 % obj./obj.
	KY hrejivé želé	10 % hmot./obj.
	KY hrejivá tekutina	10 % obj./obj.
	CVS osobný lubrikant	10 % hmot./obj.
	Hrejivé masážne mlieko a osobný lubrikant cieľovej značky	10 % obj./obj.
	Osobný lubrikant Astroglide**	0,3 % hmot./obj. (0,075 % hmot./obj. testovacia vzorka)
	Lubrikačná tekutina cieľovej značky**	0,1 % obj./obj. (0,025 % obj./obj. testovacia vzorka)
Spermicíd	Glycol II vaginálna antikoncepcia, pôvodné zloženie	10 % hmot./obj.
	Glycol II vaginálna antikoncepcia, extra silná	10 % hmot./obj.
	Delfen vaginálna antikoncepčná pena	10 % hmot./obj.
	Encare vaginálna antikoncepcia	10 % hmot./obj.
	Conceptrol vaginálna antikoncepcia	10 % hmot./obj.
Antifungálne lieky/ lieky proti svrbeniu	Vagisil maximálna sila	10 % hmot./obj.
	Monistat upokojujúca starostlivosť	10 % hmot./obj.
	Monistat 3 kombinované balenie	10 % hmot./obj.
	Cieľová značka Tioconazole 1	0,3 % hmot./obj. (0,075 % hmot./obj. testovacia vzorka)
	Cieľová značka Miconazole 3	10 % hmot./obj.
Antibiotický gél†	Metronidazolový gél	123 µg/ml
Antivírusový krém†	Zovirax (acyklovir) krém	66 µg/ml
	Abreva krém na opar	5 % hmot./obj.
Krém na hemoroidy†	Anusol krém na hemoroidy††	1 % hmot./obj.
	Prípravok H krém na hemoroidy	5 % hmot./obj.
Steroidový krém†	Krém proti svrbeniu Cortizone-10 Max Strength	5 % hmot./obj.
Preplach†	Antiseptický roztok s prípravok v jódovaným povidonom Dynarex	5 % obj./obj.
	Vaginálna sprcha Summer's Eve, extra čistiaci ocot a voda	5 % obj./obj.
	Preplach na zmiernenie zápachu Summer's Eve	5 % hmot./obj.
Prípravok na umývanie pre ženy†	Čistiaci prípravok na umývanie Summer's Eve	5 % obj./obj.
	Prípravok na umývanie za sucha Vagisil	5 % obj./obj.
Gél na odstránenie zápachu†	Gél na odstránenie zápachu RepHresh	5 % obj./obj.
Dezinfekčný prípravok na ruky†	Dezinfekčný prípravok na ruky Germ-X	5 % hmot./obj.
Mydlo na ruky†	Antibakteriálne tekuté mydlo na ruky Dial	5 % hmot./obj.

Tabuľka 28: Látky testované na možnú interferenciu s testom Aptima HPV Assay (pokračovanie)

Kategória produktu	Značka alebo typ produktu	Najvyššia testovaná koncentrácia*, ktorá neinterferovala s výkonom testu
	Gélové mydlo na ruky Method	5 % hmot./obj.
Telové mlieko [†]	Telové mlieko NIVEA	5 % hmot./obj.
	Hydratačné mlieko CeraVe	5 % hmotn./obj.
Opaľovací krém [†]	Krém na opaľovanie Neutrogena	5 % hmot./obj.
	Hydratačné mlieko na opaľovanie NIVEA	5 % hmot./obj.
	Minerálne mlieko na opaľovanie Coppertone Sport ^{††}	2,5 % hmot./obj.
Ľadová kyselina octová	EMD M/N AX0073-11	10 % obj./obj.
Plná krv	Plná krv	10 % obj./obj.
Hlien [†]	Bravčový mucín ^{††}	2,5 % hmot./obj.
Intravaginálne hormóny [†]	Estradiol (estrogén)	7,5 µg/ml
	Progesterón	0,18 mg/ml
Seminálna tekutina [†]	Seminálna tekutina	5 % obj./obj.
Leukocyty [†]	Leukocyty	1 x 10 ⁶ buniek/ml

* Koncentrácia vo vzorke PreservCyt Solution; koncentrácia testovanej vzorky je 1/4 koncentrácie v dôsledku prenosu vzorky PreservCyt Solution do prenosovej skúmavky obsahujúcej STM.

** Osobné lubrikanty, ktoré obsahujú polyquaternium 15.

[†] Ďalšie látky sa hodnotili z hľadiska interferencie vo vaginálnych vzorkách odobratých samoodberom. Panel pozostávajúci z 15 látok bol testovaný v STM v neprítomnosti alebo v prítomnosti buniek SiHa pri 3X LoD.

^{††} Interferencia bola pozorovaná pri nasledujúcich látkach, ak boli prítomné v koncentráciách vyšších, ako sú uvedené: krém na hemoroidy (obsahujúci oxid zinočnatý, oxid bizmutitý a peruánsky balzam) v koncentrácii 1 % hmot./obj., opaľovací krém (obsahujúci oxid zinočnatý) v koncentrácii 2,5 % hmot./obj. a hlien v koncentrácii 2,5 % hmot./obj..

Literatúra

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., Pauli, 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, Schlaberg R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods*. 2015;221:95-9.
25. **Iftner T, Becker S, Neis KJ, Castanon A, Iftner A, Holz B, et al.** Head-to-Head Comparison of the RNA368 Based Aptima Human Papillomavirus (HPV) Assay and the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in a Routine Screening Population of Women Aged 30 to 60 Years in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015;53:2509-16.

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

Kontaktné údaje a história revízií



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-mailovú adresu a telefónne číslo na technickú podporu a zákaznícky servis pre konkrétnu krajinu nájdete na stránkach www.hologic.com/support.

Závažné udalosti, ktoré sa vyskytnú v súvislosti s pomôckou v Európskej únii, by sa mali nahlásiť výrobcovi a príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom má používateľ a/alebo pacient bydlisko.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris a súvisiace logá sú ochranné známky a/alebo registrované ochranné známky spoločnosti Hologic, Inc. a/alebo jej pobočiek v USA a/alebo v iných krajinách.

SurePath a PrepStain sú ochranné známky spoločnosti BD.

Akékoľvek ďalšie ochranné známky, ktoré sa môžu objaviť v tomto príbalovom letáku, sú majetkom príslušných vlastníkov.

Výrobok je chránený jedným alebo viacerými patentmi Spojených štátov amerických, ktoré sú uvedené na stránkach www.hologic.com/patents.

©2016–2026 Hologic, Inc. Všetky práva vyhradené.

AW-22202-3201 Rev. 003

2026-04

História revízií	Dátum	Opis
AW-22202-3201 Rev. 001	Marec 2023	- Vytvorený dokument AW-22202 Návod na použitie testu Aptima™ HPV (systém Panther™), rev. 001 na základe revízie dokumentu AW-14517, rev. 007 na účely dodržania ustanovení nariadenia EÚ o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro (IVDR). - Aktualizované Určené použitie s odstráneným odkazom na použitie v systéme Tigris DTS. - Pridaný súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu. - Aktualizované informácie EÚ o nebezpečenstve. - Aktualizované časti Upozornenia a bezpečnostné opatrenia, Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentmi, Odber vzoriek a skladovanie, Poskytnuté reagenty a materiály, Potrebné materiály, ale dostupné samostatne, Postup testovania systému Panther, Obmedzenia, tabuľky Presnosti testu, Krížová reaktivita, Interferencia a Literatúra. - Aktualizované kontaktné údaje vrátane: zástupcu pre ES, označenia CE, informácií o zástupcovi pre Austráliu a oddelenia technickej podpory. - Rôzne aktualizácie štýlu a formátovania.
AW-22202-3201 Rev. 002	August 2024	Aktualizovaná tabuľka klinických výkonov SurePath Specimens.

História revízií	Dátum	Opis
AW-22202-3201 Rev. 003	Apríl 2026	• Pridané bezpečnostné informácie, ako sú správne štandardné postupy a všeobecné bezpečnostné opatrenia • Aktualizovaná tabuľka KBÚ • Aktualizované pokyny na prípravu reagencie novej súpravy • Aktualizovaná časť Obmedzenia • Pridaný klinický výkon testu Aptima HPV Assay so vzorkami z tampónu na odber vzoriek • Aktualizovaná tabuľka Interferencia látok a organizmov/koncentrácií • Odstránené časti Precytologický a postcytologický procesor ThingPrep • Aktualizované informácie o literatúre