

Test Aptima HPV (system Panther)

Instrukcja użycia
Do zastosowania w diagnostyce *in vitro*.
Tylko na eksport poza USA

Informacje ogólne	2
Przeznaczenie	2
Podsumowanie i objaśnienie testu	2
Zasady procedury	3
Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej	4
Ostrzeżenia i środki ostrożności	4
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi	8
Pobieranie i przechowywanie próbek	8
Panther System	11
Dostarczone odczynniki i materiały	11
Materiały wymagane, ale dostępne osobno	12
Ograniczenia	20
Procedura testu w systemie Panther System	13
Uwagi dotyczące procedury	17
Procedury kontroli jakości	18
Interpretacja testu	19
Ograniczenia	20
Oczekiwane wyniki w systemie Panther: Prewalencja mRNA HPV wysokiego ryzyka	22
Charakterystyka działania systemu Panther System	26
Bibliografia	58
Informacje kontaktowe i historia wersji	60

Informacje ogólne

Przeznaczenie

Test Aptima HPV to test amplifikacji docelowych kwasów nukleinowych z wykorzystaniem sond przeznaczony do jakościowego wykrywania wirusowego informacyjnego RNA (mRNA) E6/E7 z 14 typów wirusa brodawczaka ludzkiego (human papillomavirus, HPV) wysokiego ryzyka (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68) w warunkach *in vitro*. Test Aptima HPV nie umożliwia rozróżniania między 14 typami wysokiego ryzyka.

- Test Aptima HPV jest wskazany do stosowania w badaniach przesiewowych pacjentek, u których w rozmazie szyjkowym stwierdzono ASC-US (atypowe komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego o nieokreślonym charakterze), w celu określenia konieczności skierowania na kolposkopię. Wyniki tego testu nie mają być w zamierzeniu przeszkodą w przystępowaniu przez kobiety do badania kolposkopowego.
- Test Aptima HPV może być używany wraz z cytologią szyjki macicy w celu wsparcia badania przesiewowego (współtestowanie), aby przeprowadzić ocenę obecności lub braku wysokiego ryzyka występowania odmian HPV. Informacje te, wraz z dokonaną przez lekarza oceną danych z wywiadu dotyczących cytologii, innymi czynnikami ryzyka i wytycznymi dotyczącymi postępowania w praktyce lekarskiej, mogą być wykorzystane do podjęcia odpowiedniego leczenia pacjentki.
- Test Aptima HPV może być stosowany jako początkowy test przesiewowy pierwszego rzutu, wraz z cytologią szyjki macicy lub bez niej, w celu identyfikacji kobiet należących do grupy podwyższonego ryzyka rozwoju raka szyjki macicy lub wykrycia obecności choroby o wysokim stopniu złośliwości. Informacje te, wraz z dokonaną przez lekarza oceną danych z wywiadu dotyczących testów przesiewowych wykonywanych pacjentce, innymi czynnikami ryzyka i wytycznymi dotyczącymi postępowania w praktyce lekarskiej, mogą być wykorzystane do podjęcia odpowiedniego leczenia pacjentki.

Testu Aptima HPV można używać do badania następujących rodzajów próbek w Panther System: próbki pobrane przez lekarza z szyjki macicy do fiolek do badania wymazowego ThinPrep Pap Test z roztworem PreservCyt przed lub po przetworzeniu wymazu, próbki pobrane z szyjki macicy za pomocą zestawu Aptima do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy (Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit), próbki szyjki macicy pobrane do płynu konserwującego SurePath Preservative Fluid lub próbki z pochwy pobrane samodzielnie przy użyciu zestawu do pobierania próbek wymazów Aptima Multitest.

Podsumowanie i objaśnienie testu

Rak szyjki macicy jest jednym z najczęstszych nowotworów występujących u kobiet na świecie. Wirus HPV to czynnik etiologiczny odpowiedzialny za ponad 99% wszystkich nowotworów szyjki macicy.^{1, 2, 3} Wirus HPV to powszechnie występujący wirus DNA przenoszony drogą płciową. Wyodrębniono ponad 100 genotypów wirusa HPV.⁴

Genom wirusa HPV to dwuniciowe koliste DNA o długości około 7900 par zasad. W genomie występuje osiem nachodzących na siebie otwartych ramek odczytu. Genom zawiera sześć genów wczesnych (early, E), dwa późne (late, L) oraz jeden długi region regulatorowy (Long control region, LCR), który nie ulega translacji. Geny L1 i L2 kodują większe i mniejsze białka tworzące kapsyd (otoczkę). Geny wczesne regulują replikację wirusa HPV. Geny E6 i E7 genotypów HPV wysokiego ryzyka to znane onkogeny. Białka ulegające ekspresji na podstawie policystronowego mRNA genów E6/E7 zmieniają funkcje białka komórkowego p53 i białka RB (Retinoblastoma protein), zakłócając punkty kontrolne cyklu komórkowego i wywołując niestabilność genomu komórki.^{1, 4}

Czternaście genotypów HPV uważanych jest za patogenne lub obarczone wysokim ryzykiem chorób szyjki macicy.⁵ Wiele badań powiązało genotypy 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 i 68 z postępowaniem choroby.^{2, 6, 7} Kobiety z uporczywą infekcją jednym z tych typów mają zwiększone ryzyko rozwoju ciężkiej dysplazji lub raka szyjki macicy.^{5, 8}

Zakażenia wirusem HPV są bardzo częste i u większości kobiet ustępują w ciągu od 6 do 12 miesięcy.^{2, 9} Obecność kwasu nukleinowego wirusa HPV nie oznacza obecności dysplazji szyjki macicy lub raka szyjki macicy. Jednak skutecznym podejściem do wykrywania choroby szyjki macicy jest ukierunkowanie badań na te onkogenne elementy wirusa HPV, które sprzyjają wystąpieniu przetrwałego zakażenia i transformacji komórkowej.¹⁰

Kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HPV w początkowych badaniach przesiewowych pod kątem raka szyjki macicy

Kliniczną charakterystykę działania testu Aptima HPV, wykonywanego podczas początkowych badań przesiewowych, zbadano w wielu ośrodkach z udziałem niezależnych badaczy. Co najmniej 25 recenzowanych publikacji¹¹⁻³⁵ z 15 oddzielnych badań klinicznych donosi o badaniu testu Aptima HPV we wstępnych badaniach przesiewowych u kobiet włączonych w jedenastu krajach (Chiny, Kanada, Francja, Meksyk, Anglia, Dania, Holandia, Stany Zjednoczone, Niemcy, Szwecja i Tajlandia). Dane z tych badań wskazują, że test HPV Aptima ma podobną kliniczną charakterystykę działania jak inne testy HPV zwalidowane klinicznie, gdy jest stosowany w początkowych badaniach przesiewowych pod kątem obecności stanów przedrakowych szyjki macicy i raka szyjki macicy.

Zasady procedury

Test Aptima HPV obejmuje trzy główne kroki, przy czym wszystkie odbywają się w jednej probówce: wychwytywanie cząsteczek docelowych, amplifikację cząsteczek docelowych techniką amplifikacji sterowanej transkrypcją (Transcription Mediated Amplification, TMA)⁴² oraz wykrywanie produktów amplifikacji (amplikonów) za pomocą testu Hybridization Protection Assay (HPA).⁴³ W teście wykorzystywana jest kontrola wewnętrzna (Internal Control, IC) w celu monitorowania wychwytywania, amplifikacji i wykrywania kwasów nukleinowych, a także błędów operatora lub aparatu.

Próbki są zbierane do probówki zawierającej podłoże do transportu próbek (specimen transport media, STM), które powoduje lizę komórek, uwalnianie mRNA, a także chroni przed rozkładem w czasie przechowywania, lub są przenoszone do probówki zawierającej to podłoże. Podczas testu Aptima HPV docelowe mRNA jest oddzielane od próbki za pomocą oligomerów wychwytyjących związanych z mikrocząstkami magnetycznymi. Oligomery wychwytyjące zawierają sekwencje komplementarne do swoistych regionów szukanych cząsteczek mRNA wirusa HPV, a także ciąg reszt deoksyadenozyny. W kroku hybrydyzacji regiony swoiste dla sekwencji oligomerów wychwytyjących wiążą się ze swoistymi regionami cząsteczki docelowej mRNA wirusa HPV. Następnie kompleks oligomer:cząsteczka szukana jest wychwytywany z roztworu poprzez obniżenie temperatury reakcji do temperatury pokojowej. Ten spadek temperatury umożliwia zajście hybrydyzacji między regionem reszt deoksyadenozyny oligomeru wychwytyjącego a cząsteczkami polideoksytymidyny, które są połączone wiązaniami kowalencyjnymi z cząstkami magnetycznymi. Mikrocząstki ze związanymi z nimi wychwyconymi szukanymi cząsteczkami mRNA wirusa HPV są przyciągane do ścianki probówki reakcyjnej przy użyciu magnesów, a supernatant jest aspirowany. Cząsteczki są przepłukiwane, aby usunąć pozostałości macierzy komórkowej próbki, która może zawierać inhibitory amplifikacji.

Po zakończeniu wychwytu cząsteczek docelowych mRNA wirusa HPV jest amplifikowane metodą TMA. Jest to metoda amplifikacji kwasów nukleinowych oparta na transkrypcji,

w której wykorzystywane są dwa enzymy — odwrotna transkryptaza wirusa MMLV oraz polimeraza RNA bakteriofaga T7. Odwrotna transkryptaza jest wykorzystywana do produkcji kopii DNA docelowej sekwencji mRNA zawierającej sekwencję promotorową dla polimerazy RNA bakteriofaga T7. Polimeraza RNA bakteriofaga T7 produkuje liczne kopie amplikonu RNA na podstawie matrycy kopii DNA.

Amplikon jest wykrywany podczas testu HPA przy użyciu jednoniciowych kwasów nukleinowych — sond ze znacznikami chemiluminescencyjnymi, które są komplementarne do amplikonu. Sondy w postaci znakowanych kwasów nukleinowych swoiście hybrydują do amplikonu. Odczynnik selekcyjny odróżnia sondy, które nie zhybrydowały do amplikonu, inaktywując ich znaczniki. W kroku wykrywania sygnał świetlny generowany przez znakowane hybrydy RNA:DNA jest mierzony w luminometrze i zostaje zarejestrowany jako wartość wyrażona we względnych jednostkach światła (relative light units, RLU). Końcowe wyniki testu są interpretowane na podstawie stosunku sygnału do wartości odcięcia (signal-to-cutoff, S/CO) dla analitu.

Kontrola wewnętrzna (IC) jest dodawana do każdej reakcji za pośrednictwem odczynnika do wychwytywania cząsteczek docelowych (Target Capture Reagent, TCR). Kontrola IC służy do monitorowania kroków testu — wychwytu, amplifikacji i wykrywania cząsteczek docelowych. Sygnał kontroli IC w każdej reakcji jest odróżniany od sygnału wirusa HPV metodą kinetyki różnicującej emisję światła z sond o różnych znacznikach.⁴⁴ Amplikon swoisty dla kontroli IC jest wykrywany za pomocą sondy z szybką emisją światła (sygnał błyskowy). Amplikon swoisty dla wirusa HPV jest wykrywany za pomocą sond ze stosunkowo powolniejszą kinetyką emisji światła (sygnał żarowy). Test podwójnej kinetyki (Dual Kinetic Assay, DKA) to metoda używana do rozróżnienia błyskowych sygnałów znaczników od żarowych sygnałów znaczników.⁴⁴

Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej

SPP (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej, ang. Summary of Safety and Performance) jest dostępne w europejskiej bazie danych wyrobów medycznych (Eudamed), gdzie jest powiązane z identyfikatorami wyrobu (Basic UDI-DI). W celu odnalezienia SPP testu Aptima HPV należy użyć kodu BUDI (Basic Unique Device Identifier): **54200455DIAGAPTHPVBR**.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

- A. Do diagnostyki *in vitro*.
- B. Do użytku profesjonalnego.
- C. Dodatkowe szczególne ostrzeżenia i środki ostrożności opisano w *Instrukcjach obsługi Panther/Panther Fusion System*.

Kwestie związane z laboratorium

- D. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- E. Przestrzegać rutynowych środków ostrożności stosowanych w laboratorium. Nie jeść, nie pić ani nie palić w wyznaczonych obszarach pracy. W czasie pracy z próbkami i odczynnikami zestawu nosić jednorazowe rękawiczki bezpudrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Dokładnie umyć ręce po pracy z próbkami i odczynnikami zestawu.
- F. **Ostrzeżenie: Środek drażniący i żrący:** Unikać kontaktu odczynnika Auto Detect 2 ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. W przypadku kontaktu tego płynu ze skórą lub z oczami należy przemyć zanieczyszczony obszar wodą. Jeśli dojdzie do rozlania tego płynu, należy rozcieńczyć go wodą, po czym wytrzeć do sucha.

- G. Powierzchnie robocze, pipety i inne wyposażenie należy regularnie odkażać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Aby uzyskać więcej informacji, patrz *Procedura testu w systemie Panther System*.
- H. Należy przestrzegać standardowych dobrych praktyk postępowania w laboratoriach molekularnych, w tym praktyk dotyczących monitorowania środowiska.

Kwestie dotyczące próbek

- I. W trakcie transportu i przechowywania próbek utrzymywać właściwe warunki termiczne w celu zachowania prawidłowego stanu materiału do badań. Nie zbadano stabilności próbek w warunkach transportu i przechowywania innych niż zalecane.
- J. Daty ważności podane na zestawach i probówkach do pobierania/przenoszenia próbek obowiązują ośrodek, w którym pobierana/przenoszona jest próbka, a nie ośrodek wykonujący badania. próbki pobrane/przeniesione w dowolnym czasie przed upływem daty ważności mogą być badane, o ile były transportowane i przechowywane zgodnie z odpowiednią ulotką załączoną do opakowania, nawet jeżeli minęły daty ważności.
- K. Należy przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności oraz ustalonych protokołów laboratoryjnych dotyczących bezpiecznego obchodzenia się z materiałami, ich utylizacji oraz zapobiegania zakażeniom krzyżowym. Do pracy z próbkami może być dopuszczony wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie postępowania z materiałami zakaźnymi.
- L. Natychmiast zmienić rękawiczki, jeżeli zetknęły się z próbką. Aby zapobiec zakażeniu krzyżowemu, zużyte materiały należy wyrzucać i unikać przenoszenia ich nad jakimikolwiek innymi pojemnikami.
- M. W pewnych warunkach po przekłuciu spod zatyczek probówek może uwolnić się płyn. Aby temu zapobiec, należy postępować zgodnie z instrukcjami zawartymi w sekcji *Procedura testu w systemie Panther System*.
- N. Probki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep i próbki pobrane przy użyciu zestawu do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) nie kwalifikują się do badania, jeśli w probówce pozostał przyrząd do pobierania materiału.
- O. Probki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath nie kwalifikują się do badania, jeśli fiolka nie zawiera przyrządu do pobierania materiału.
- P. Jeżeli w probówce transportowej zestawu do pobierania próbek wymazu Aptima Multitest nie będzie wymazu, będą dwa wymazy, wacik do czyszczenia albo wymazówka firmy innej niż Hologic, próbkę należy odrzucić.

Kwestie dotyczące testu

- Q. Przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności.
- R. Odczynniki należy przechowywać w określonych temperaturach. W przypadku użycia odczynników przechowywanych w niewłaściwych warunkach charakterystyka działania testu może ulec zmianie.
- S. Unikać skażenia odczynników przez drobnoustroje i rybonukleazy.

- T. Nie używać zestawu po upływie terminu ważności.
- U. Nie zamieniać, nie mieszać ani nie łączyć odczynników analitycznych lub kalibratorów pochodzących z zestawów o różnych numerach serii.
- V. Płynne odczynniki analityczne Aptima i odczynniki Aptima Auto Detect do testu Aptima nie są częścią partii głównej; dozwolone jest użycie dowolnej partii tych materiałów.
- W. Do uzyskania dokładnych wyników testu niezbędne jest dokładne wymieszanie odczynników analitycznych.
- X. Należy używać końcówek z hydrofobowymi korkami.
- Y. Niektóre odczynniki w tym zestawie są oznakowane symbolami zagrożenia i bezpieczeństwa.

Uwaga: Stosowane informacje dotyczące zagrożeń są określone przez klasyfikacje kart charakterystyki substancji (Safety Data Sheets, SDS) obowiązujące w UE. Informacje dotyczące zagrożeń występujących w konkretnym regionie opisano w kartach SDS właściwych dla regionów. Dokumenty te znajdują się w bibliotece kart charakterystyki pod adresem www.hologicsds.com. Więcej informacji na temat symboli zawiera legenda symboli dostępna pod adresem <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami UE	
 	Odczynnik selekcyjny Kwas borowy 1–5% Triton X-100 1–5% Wodorotlenek sodu < 1% — NIEBEZPIECZEŃSTWO H315 – Działa drażniąco na skórę. H360FD – Może działać szkodliwie na płodność. Może działać szkodliwie na dziecko w tonie matki. P264 – Dokładnie umyć twarz, ręce i wszelkie narażone powierzchnie skóry po użyciu. P280 – Stosować rękawice ochronne / odzież ochronną / ochronę oczu / ochronę twarzy. P302 + P352 – W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody z mydłem. P332 + P313 – W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364 – Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P201 – Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności. P202 – Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa. P308 + P313 – W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P405 – Przechowywać pod zamknięciem. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
	Odczynnik do wychwytywania cząstek szukanych HEPES 5–10% EDTA 1–5% Wodorotlenek litu, monohydrat 1–5% — — H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
—	Odczynnik do amplifikacji HEPES 25–30% — — H402 – Działa szkodliwie na organizmy wodne. H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.

—	Odczynnik enzymatyczny <i>HEPES 1–5%</i> <i>Triton X-100 1–5%</i>
—	H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
—	Odczynnik zawierający sondę <i>SÓL LITOWA SIARCZANU LAURYLOWEGO 35–40%</i> <i>KWAS BURSZTYNOWY 10–15%</i>
—	H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
—	Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego <i>Glicerol 20–25%</i> <i>Triton X-100 5–10%</i> <i>HEPES 1–5%</i>
—	H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.

Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi

Nie używać odczynników po upływie terminu ważności podanego na fiolkach. Dodatkowe instrukcje przechowywania znajdują się poniżej.

- A. Następujące odczynniki należy po odebraniu przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C (w warunkach chłodniczych):
 - Odczynnik do amplifikacji genu HPV
 - Odczynnik enzymatyczny do testu HPV
 - Odczynnik zawierający sondy dla genu HPV
 - Odczynnik kontroli wewnętrznej do testu HPV
 - Kalibratory dodatnie i kalibratory ujemne do testu HPV
- B. Następujące odczynniki należy przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C (w temperaturze pokojowej):
 - Roztwór do rekonstrukcji odczynnika do amplifikacji HPV
 - Roztwór do rekonstrukcji enzymów do testu HPV
 - Roztwór do rekonstrukcji sond do testu HPV
 - Odczynnik do wychwytywania cząsteczek docelowych HPV
 - Odczynnik selekcyjny do testu HPV
- C. Po rekonstrukcji następujące odczynniki zachowują stabilność przez 30 dni, gdy są przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C:
 - Odczynnik do amplifikacji genu HPV
 - Odczynnik enzymatyczny do testu HPV
 - Odczynnik zawierający sondy dla genu HPV
- D. Roboczy odczynnik do wychwytywania cząsteczek docelowych (Working Target Capture Reagent, wTCR) zachowuje stabilność przez 30 dni, gdy jest przechowywany w temperaturze od 15°C do 30°C. Nie przechowywać w warunkach chłodniczych.
- E. Niewykorzystane odczynniki zrekonstruowane oraz odczynnik wTCR wyrzucić po 30 dniach lub po upływie daty ważności serii głównej, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.
- F. Odczynniki do testu Aptima HPV są stabilne łącznie przez 72 godziny, gdy są przechowywane w systemie Panther System.
- G. Odczynnik zawierający sondy oraz odczynnik ze zrekonstruowanymi sondami są wrażliwe na światło. Przechowywane odczynniki chronić przed ekspozycją na światło.
- H. **Nie zamrażać odczynników.**

Pobieranie i przechowywanie próbek

Uwaga: Z wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak, jak gdyby zawierały czynniki potencjalnie zakaźne. Przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności.

- A. Pobieranie i obróbka próbek przeznaczonych do analizy
 - Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep*

1. Próbkę z szyjki macicy należy pobierać do fiolek testowych ThinPrep Pap zawierających roztwór PreservCyt, korzystając z miotełek lub szczoteczek/szpatulek do pobierania wymazów cytologicznych zgodnie z instrukcjami ich producentów.
2. Przed lub po przetwarzaniu za pomocą procesora ThinPrep 2000, procesora ThinPrep 5000, procesora ThinPrep 5000 z automatyczną ładowarką lub procesora ThinPrep Genesis należy przenieść 1 ml płynnej próbki cytologicznej ThinPrep do próbówki do przenoszenia próbek Aptima zgodnie z instrukcją zamieszczoną w ulotce załączonej do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima i roztworu do przenoszenia próbek Aptima.

Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath

1. Pobrać próbkę do badania cytologicznego na podłożu SurePath zgodnie z instrukcją użycia testu SurePath Pap i/lub systemu PrepStain.
2. Przenieść płynną próbkę cytologiczną SurePath do próbówki do przenoszenia próbek Aptima zgodnie z instrukcją zamieszczoną w ulotce załączonej do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima i roztworu do przenoszenia próbek Aptima.

Próbki z zestawu Aptima do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy

1. Pobrać próbkę zgodnie z instrukcją użycia zestawu do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy Aptima.

Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest – próbki

1. Pobrać próbkę zgodnie z instrukcją użycia zestawu do pobierania wymazów Aptima Multitest.

B. Transport i przechowywanie próbek przed wykonaniem testu

Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep

1. Próbkę do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep transportować w temperaturze od 2°C do 30°C.
2. Próbkę należy przenieść do próbówki do przenoszenia próbek Aptima w ciągu 105 dni od pobrania.
3. Przed przeniesieniem próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep powinny być przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C, przy czym czas przechowywania w temperaturze przekraczającej 8°C nie powinien przekraczać 30 dni.
4. Próbkę do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep przeniesioną do próbówki do przenoszenia próbek Aptima mogą być przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C przez maksymalnie 60 dni.
5. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, próbkę do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep lub próbkę do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep rozcieńczoną w próbówce do przenoszenia próbek można przechowywać w temperaturze -20°C lub niższej przez maksymalnie 24 miesiące.

Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath

1. Próbkę do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath transportować w temperaturze od 2°C do 25°C.
2. Próbkę należy przenieść do próbówki do przenoszenia próbek Aptima w ciągu 7 dni od pobrania.
3. Przed przeniesieniem próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath powinny być przechowywane w temperaturze od 2°C do 25°C.
4. Próbkę do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath przeniesioną do próbówki do przenoszenia próbek Aptima mogą być przechowywane w temperaturze od 2°C do 25°C przez maksymalnie 7 dni.

Próbki z zestawu Aptima do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy

1. Probki należy transportować w temperaturze od 2°C do 30°C i można je przechowywać w takiej temperaturze przez maksymalnie 60 dni.
2. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, próbki w zestawie do transportu próbek można przechowywać w temperaturze -20°C lub niższej przez maksymalnie 24 miesiące.

Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest – próbki

1. Transport próbek
 - a. Probki transportować w temperaturze od 2°C do 30°C.
 - b. Probki powinny trafić do laboratorium w ciągu 5 dni od pobrania.
 2. Przechowywanie próbek przed testem
 - a. Opcja 1: Probki można przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 30 dni.
 - b. Opcja 2: Probki można przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C przez okres do 30 dni.
- C. Obróbka próbek do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath

Uwaga: *Przed zbadaniem za pomocą testu Aptima HPV próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath muszą zostać poddane obróbce przy użyciu roztworu do przenoszenia Aptima.*

1. Roztwór do przenoszenia Aptima

Probki poddane obróbce mogą być przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C przez maksymalnie 17 dni przed zbadaniem za pomocą testu Aptima HPV. Więcej informacji można znaleźć w ulotce dołączonej do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima i roztworu do przenoszenia Aptima Transfer Solution.

D. Przechowywanie próbek po wykonaniu testu

1. Probki, które były już badane, należy przechowywać pionowo w statywie.
2. Probówki z próbkami należy przykryć nową, czystą barierą z tworzywa sztucznego lub folii.
3. Jeżeli konieczne jest zamrożenie lub przetransportowanie badanych próbek, należy zdjąć przebijalną zatyczkę i założyć nową nieprzebijalną zatyczkę na probówki z próbkami. Jeżeli konieczne jest wysłanie próbek do badania do innej placówki, należy zawsze przestrzegać zalecanych warunków termicznych. Przed zdjęciem zatyczek z wcześniej badanych próbek, na które nałożono nowe zatyczki, probówki z próbkami należy wirować przez 5 minut przy 420 RCF (względna siła odśrodkowa), aby całość cieczy znalazła się na dnie probówki.

Uwaga: *Probki należy przysyłać zgodnie z odpowiednimi krajowymi i międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu.*

Panther System

Poniżej wymieniono odczynniki potrzebne do wykonania testu Aptima HPV w systemie Panther System. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

Dostarczone odczynniki i materiały

Test Aptima HPV, 250 testów, nr kat. 303093 (3 pudełek)

Test Aptima HPV, 100 testów, nr kat. 302929 (3 pudełek)

Kalibratory można kupować oddzielnie. Poniżej przedstawiono poszczególne numery katalogowe.

Pudełko Aptima HPV do przechowywania w chłodziarce
(po odebraniu przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Składnik	Ilość
A	Odczynnik do amplifikacji genu HPV <i>Liofilizowane niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym zawierającym < 5% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiołka
E	Odczynnik enzymatyczny do testu HPV <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES zawierającym < 10% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiołka
P	Odczynnik zawierający sondy dla genu HPV <i>Liofilizowane niezakaźne chemiluminescencyjne sondy DNA (< 500 ng/fiołkę) w roztworze buforowanym bursztynianem zawierającym < 5% detergentu.</i>	1 fiołka
IC	Odczynnik kontroli wewnętrznej do testu HPV <i>Niezakaźny transkrypt RNA w roztworze buforowanym zawierającym < 5% detergentu.</i>	1 fiołka

Pudełko Aptima HPV do przechowywania w temperaturze pokojowej
(po odbiorze przechowywać w temperaturze pokojowej od 15°C do 30°C)

Symbol	Składnik	Ilość
AR	Roztwór do rekonstytucji odczynnika do amplifikacji HPV <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1
ER	Roztwór do rekonstytucji enzymów do testu HPV <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1
PR	Roztwór do rekonstytucji sond do testu HPV <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający < 5% detergentu.</i>	1
S	Odczynnik selekcyjny do testu HPV <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1
TCR	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek docelowych HPV <i>Buforowany roztwór zawierający fazę stałą i oligomery wychwytywające (< 0,5 mg/ml).</i>	1
	Kołnierze do rekonstytucji	3
	Karta z kodami kreskowymi serii głównych	1 karta

Pudełko z kalibratorami Aptima HPV (nr kat. 302554)
(po odebraniu przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Składnik	Ilość
PCAL	Kalibrator dodatni HPV <i>Niezakaźny materiał wirusa HPV 16 otrzymany w wyniku transkrypcji in vitro w ilości 1000 kopii na ml, w roztworze buforowanym zawierającym < 5% detergentu.</i>	5 fiolek
NCAL	Kalibrator ujemny HPV <i>Roztwór buforowany zawierający < 5% detergentu.</i>	5 fiolek

Materiały wymagane, ale dostępne osobno

Uwaga: Dostarczane materiały Hologic są zaopatrzone w następujące numery katalogowe, chyba że podano inne dane.

Materiał	Nr Kat.
Panther System	303095
System Panther Fusion	PRD-04172
Panther System Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Zestaw Panther Run	303096
Zestaw płynów do testu Aptima (Roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima oraz odczynnik olejowy Aptima)	303014
Zestaw Aptima Auto Detect	303013
Zestawy wieloprobówkowe (MTU)	104772-02
Zestaw torby na odpady Panther	902731
Osłona pojemnika na odpady Panther	504405
Końcówki, 1000 µl, z filtrami, przewodzące, z detekcją cieczy, materiał jednorazowego użytku	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
Nie wszystkie produkty są dostępne we wszystkich regionach. W celu uzyskania dokładnych informacji dotyczących regionu należy skontaktować się ze swoim przedstawicielem	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Zestaw do transportu próbek Aptima	301154C
Zestaw do transportu próbek Aptima – drukowalny	PRD-05110
Zestaw Aptima do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy	302657
Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest	PRD-03546
Zatyczki przepuszczalne Aptima	105668
Zamienne zakrętki nieprzepuszczalne	103036A
Zapasowe zatyczki do zestawów 250 testów:	—
Roztwory do przygotowania odczynnika do amplifikacji i odczynnika-sondy	CL0041
Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego	501616
Odczynnik TCR i selekcyjny	CL0040
Zapasowe zatyczki do zestawów 100 testów:	—
Roztwory do przygotowania odczynnika do amplifikacji i odczynnika-sondy	CL0041
Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego	CL0041
Odczynnik TCR i selekcyjny	501604
Roztwór podchlorynu sodu (wybielacz w stężeniu od 5,0% do 8,25% (od 0,7 M do 1,16 M))	—
Rękawiczki jednorazowe	—

Zestaw roztworu do przenoszenia Aptima (tylko do próbek na podłożu SurePath) 303658

Materiały opcjonalne

Materiał	Nr Kat.
Wzmocniacz wybielacza do czyszczenia Hologic	302101
Blok grzewczy	—
Wytrząsarka kołyskowa	—

Procedura testu w systemie Panther System

Uwaga: Dodatkowe informacje na temat procedury wykonywanej w systemie Panther System przedstawiono w instrukcji obsługi przyrządu Panther/Panther Fusion System.

A. Przygotowanie obszaru roboczego

1. Oczyszczyć powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy je spłukać wodą dejonizowaną (DI). Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię roboczą, na której będą przygotowywane odczynniki i próbki, czystymi, wzmocnionymi plastikami, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.
2. Oczyszczyć odrębną powierzchnię roboczą jako miejsce do przygotowania próbek. Postępować zgodnie z procedurą opisaną powyżej (etap A.1).
3. Wyczyścić wszystkie pipetory. Postępować zgodnie z procedurą czyszczenia opisaną powyżej (etap A.1).

B. Przygotowanie odczynników nowego zestawu

Uwaga: Rekonstytucję odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem jakichkolwiek prac w systemie Panther System.

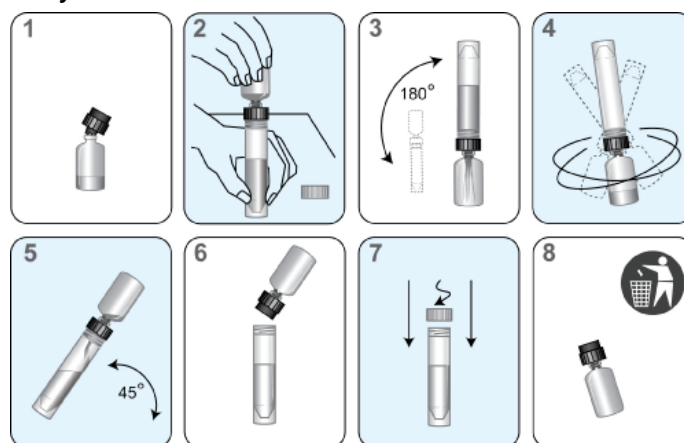
1. Przed testem odczynniki do amplifikacji, enzymatyczny i sondy należy przygotować, czyli zawartość butelek zawierających liofilizowany odczynnik połączyć z odpowiednim roztworem.
 - a. Przed zastosowaniem odczekać, aż liofilizowane odczynniki osiągną temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C).
 - b. Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika. Przed nałożeniem kołnierza do przygotowania sprawdzić, czy roztwór do przygotowania i odczynnik mają dopasowane symbole na etykiecie.
 - c. Sprawdzić numery partii na karcie z kodami kreskowymi serii (partii) głównych, aby upewnić się, że sparowano odpowiednie odczynniki. Oznaczyć zakrętki butelek z roztworem do przygotowania.
 - d. Otworzyć szklaną fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem i mocno wcisnąć nacięty koniec kołnierza do przygotowania odczynników do otworu szklanej fiołki (Rysunek 1, etap 1).
 - e. Otworzyć buteleczkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
 - f. Trzymając buteleczkę z roztworem na stole, mocno włożyć drugi koniec kołnierza rekonstytucyjnego do otworu butelki (Rysunek 1, krok 2).

- g. Delikatnie wymieszać roztwór, obracając buteleczkę. Nie dopuszczać do wytwarzania piany podczas mieszania zawartości butelki ruchem wirowym (Rysunek 1, krok 4).
- h. Podnieść połączone butelki i mieszać ich zawartość ruchem wirowym w celu dokładnego wymieszania. Nie dopuszczać do wytwarzania piany podczas mieszania zawartości butelki ruchem wirowym (Rysunek 1, krok 4).
- i. Upewnić się, że liofilizowany odczynnik całkowicie przeszedł w roztwór. Mieszać zawartość butelek ruchem wirowym, a następnie lekko wstrząsać roztworem w szklanej fiolce w przód i w tył w celu dokładnego wymieszania.
- j. Sprawdzić wzrokowo, czy odczynnik całkowicie przeszedł w roztwór, który nie zawiera proszku, grudek ani falistych linii.
- k. Ponownie powoli przechylić połączone butelki, aby umożliwić spłynięcie całego roztworu z powrotem do butelki z roztworem do przygotowywania odczynników (Rysunek 1, etap 5).
- l. Zdjąć kołnierz do przygotowywania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 1, krok 6).
- m. Zamknąć plastikową butelkę zachowaną, oznaczoną zakrętką odpowiadającą odczynnikowi lub nową zakrętką. Nie pomylić zakrętek. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników (Rysunek 1, etap 7).
- n. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 1, etap 8).
- o. Dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając, przed włożeniem do systemu Panther System.

Opcja: Dopuszczalne jest dodatkowe mieszanie odczynników do amplifikacji, odczynników enzymatycznych i odczynników zawierających sondy w zamkniętych zatyczkami plastikowych buteleczkach w wytrząsarce kołyskowej ustawionej na umiarkowaną prędkość i umiarkowane nachylenie przez co najmniej 5 minut. Zadbać, aby odczynniki zostały starannie wymieszane.

Ostrzeżenie: *Unikać tworzenia piany podczas rekonstruowania odczynników. Piana ma niekorzystny wpływ na detekcję poziomu w systemie Panther System.*

Ostrzeżenie: *Do uzyskania oczekiwanych wyników testu niezbędne jest odpowiednie wymieszanie odczynników.*



Rysunek 1. Proces rekonstrukcji w systemie Panther System

- 2. Przygotować roboczy odczynnik do wychwytywania cząsteczek docelowych (wTCR):
 - a. Dopasować odpowiednie buteleczki TCR i IC.

- b. Sprawdzić numery serii odczynników na karcie z kodami kreskowymi serii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki z zestawu.
 - c. Otworzyć buteleczkę z TCR i odłożyć zatyczkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
 - d. Otworzyć buteleczkę IC i przelać całą zawartość do buteleczki z TCR. Przewiduje się, że w buteleczce IC pozostanie niewielka ilość płynu.
 - e. Nałożyć zatyczkę na buteleczkę z TCR i delikatnie obracać, aby wymieszać zawartość. W tym kroku unikać tworzenia piany.
 - f. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.
 - g. Wyrzucić buteleczkę IC i zatyczkę.
 - h. W odczynniku wTCR może wytrącać się osad powodujący uzyskiwanie błędnych wyników z uwagi na nieprawidłowości w weryfikacji objętości. Osad można rozpuścić, ogrzewając odczynnik wTCR w temperaturze od 42°C do 60°C przez maksymalnie 90 minut. Przed użyciem odczekać, aż temperatura wTCR powróci do pokojowej. Nie stosować, jeżeli osad jest nadal obecny.
3. Przygotowanie odczynnika selekcyjnego
- a. Sprawdzić numer serii odczynnika na karcie z kodami kreskowymi serii głównych, aby mieć pewność, że odczynnik faktycznie należy do zestawu.
 - b. Jeśli odczynnik selekcyjny zawiera wytrącony osad, ogrzewać odczynnik selekcyjny w temperaturze 60°C ± 1°C przez maksymalnie 45 minut, aby stworzyć warunki do rozpuszczenia osadu. Delikatnie mieszać zawartość butelki co 5 do 10 minut. Przed użyciem odczekać, aż temperatura odczynnika selekcyjnego powróci do pokojowej. Nie używać, jeżeli nadal obecny jest osad lub zmętnienie.

Uwaga: Przed włożeniem do systemu dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.

C. Przygotowanie odczynników wcześniej zrekonstruowanych

1. Przed rozpoczęciem testu uprzednio zrekonstruowane odczynniki do amplifikacji, enzymatyczny i zawierający sondy muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C).

Opcja: Rekonstruowane odczynniki do amplifikacji, odczynniki enzymatyczne i odczynniki zawierające sondy można umieścić w zamkniętych zatyczkami plastikowych buteleczkach w wytrząsarce ustawionej na umiarkowaną prędkość i intensywność wytrząsania przez około 25 minut, aby mieć pewność, że odczynniki osiągnęły temperaturę pokojową i są dokładnie wymieszane.

2. Jeśli zrekonstruowany odczynnik zawierający sondy zawiera wytrącony osad, który nie rozpuszcza się w temperaturze pokojowej, należy ogrzewać go w temperaturze nieprzekraczającej 60°C przez 1–2 minuty. Nie używać w przypadku obecności osadu lub zmętnienia.
3. Jeśli odczynnik wTCR zawiera wytrącony osad, ogrzewać odczynnik wTCR w temperaturze od 42°C do 60°C przez maksymalnie 90 minut. Przed użyciem odczekać, aż temperatura wTCR powróci do pokojowej. Nie stosować, jeżeli osad jest nadal obecny.
4. Jeśli odczynnik selekcyjny zawiera wytrącony osad, ogrzewać odczynnik selekcyjny w temperaturze 60°C ± 1°C przez maksymalnie 45 minut, aby stworzyć warunki do rozpuszczenia osadu. Delikatnie mieszać zawartość butelki co 5 do 10 minut. Przed użyciem odczekać, aż temperatura odczynnika selekcyjnego powróci do pokojowej. Nie używać, jeżeli nadal obecny jest osad lub zmętnienie.

5. Dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając, przed włożeniem do systemu. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.
6. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. Panther System rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

D. Postępowanie z materiałami przeznaczonymi do badania

1. Dla każdej próbki wymazu pobranej za pomocą zestawu do pobierania wymazów Aptima Multitest wykonać następujące kroki:
 - a. Wizualnie potwierdzić obecność jednej różowej wymazówki Aptima w próbówce do pobierania próbek wymazów Aptima Multitest.
 - b. Podgrzać próbki wymazów Aptima Multitest do 90°C przez 75 minut przed badaniem. Podczas tego procesu próbki powinny zostać zamknięte.
2. Przed rozpoczęciem obróbki należy poczekać aż kalibratory i próbki osiągną temperaturę pokojową.
3. **Nie wytrząsać próbek.**
4. Przed włożeniem do statywu sprawdzić próbkę. Jeżeli próbówka zawiera pęcherzyki gazu lub objętość materiału mniejszą niż zwykle obserwowana, wirować próbkę przez 5 minut przy 420 RCF, aby mieć pewność, że w zatyczce nie będzie cieczy.

Uwaga: Pominięcie kroku 4 może spowodować wyciek cieczy spod zatyczki próbówki.

E. Przygotowanie systemu

1. Skonfigurować system zgodnie z instrukcjami, które zawiera *Podręcznik operatora systemu Panther System* i poniższa sekcja *Uwagi dotyczące procedury testowej*. Sprawdzić, czy stosowane są statywy na odczynniki i adaptery TCR o odpowiedniej wielkości.
2. Załadować próbki.

Uwagi dotyczące procedury**A. Kalibratory**

1. Aby kalibratory działały prawidłowo z oprogramowaniem testu Aptima HPV w systemie Panther System, potrzebne są trzy powtórzenia kalibratora dodatniego i trzy powtórzenia kalibratora ujemnego. Jedną fiolkę każdego kalibratora można załadować na dowolnej pozycji w statywie w dowolnej wnęce na próbki w systemie Panther System. Pipetowanie próbek pobranych od pacjentów rozpocznie się po spełnieniu jednego z dwóch następujących warunków:
 - a. Trwa obróbka kalibratora dodatniego i ujemnego przez system.
 - b. W systemie zarejestrowane są ważne wyniki badania kalibratorów.
2. Po odpipetowaniu próbek z kalibratorami i obróbce pod kątem konkretnego zestawu odczynników można badać próbki pacjentów powiązany zestawem odczynników analitycznych w okresie do 24 godzin, o ile nie wystąpiły następujące sytuacje:
 - a. Wyniki kalibratorów są nieważne.
 - b. Z systemu usunięto powiązany zestaw odczynników analitycznych.
 - c. Przekroczono granice stabilności powiązanego zestawu odczynników analitycznych.
3. Próba pobrania pipetą więcej niż trzech powtórzeń z próbki z kalibratorem może doprowadzić do błędów w obróbce.

B. Temperatura

Temperatura pokojowa jest zdefiniowana jako zakres od 15°C do 30°C.

C. Puder z rękawiczek

Podobnie jak w przypadku każdego systemu odczynników nadmiar pudru na niektórych rękawiczkach może spowodować zanieczyszczenie otwartych próbek. Zaleca się stosować rękawiczki bezpudrowe.

Procedury kontroli jakości

A. Kryteria ważności serii

Oprogramowanie automatycznie określa ważność serii. Oprogramowanie unieważni serię, jeśli wystąpi dowolna z następujących sytuacji:

- Więcej niż jedno powtórzenie kalibratora ujemnego będzie nieważne.
- Więcej niż jedno powtórzenie kalibratora dodatniego będzie nieważne.

Operator może unieważnić serię w przypadku zaobserwowania i udokumentowania problemów technicznych, związanych z operatorem lub aparatem w trakcie testu.

Serię nieważną należy powtórzyć.

B. Kryteria akceptacji kalibratorów

W poniższej tabeli przedstawiono bazujące na RLU kryteria akceptacji wyniku badania powtórzeń kalibratora ujemnego i dodatniego.

Kalibrator ujemny	
Analit	≥ 0 i $\leq 45\,000$ RLU
Kontrola wewnętrzna (IC)	$\geq 75\,000$ i $\leq 400\,000$ RLU
Kalibrator dodatni	
Analit	$\geq 480\,000$ i $\leq 1\,850\,000$ RLU
Kontrola wewnętrzna (IC)	$\leq 450\,000$ RLU

C. Obliczenie wartości odcięcia IC

Wartość odcięcia IC wyznaczana jest na podstawie sygnału IC (błyskowego) z ważnych powtórzeń kalibratora ujemnego.

$$\text{Odcięcie IC} = 0,5 \times [\text{średnia liczba RLU IC ważnych powtórzeń kalibratora ujemnego}]$$

D. Obliczenie wartości odcięcia analitu

Wartość odcięcia analitu wyznaczana jest na podstawie sygnału analitu (żarowego) z ważnych powtórzeń kalibratora ujemnego oraz sygnału analitu z ważnych powtórzeń kalibratora dodatniego.

$$\text{Odcięcie analitu} = \frac{[\text{średnia liczba RLU analitu ważnych powtórzeń kalibratora ujemnego}] + [0,09 \times \text{średnia wartość RLU ważnych powtórzeń kalibratora dodatniego}]}{2}$$

E. Obliczenie stosunku sygnału do odcięcia (S/CO) analitu

Stosunek S/CO analitu jest wyznaczany na podstawie wartości RLU analitu w próbce badanej oraz wartości odcięcia analitu w serii.

$$\text{S/CO analitu} = \frac{\text{liczba RLU analitu w próbce badanej}}{\text{odcięcie analitu}}$$

Interpretacja testu

Wyniki testu są automatycznie określone przez oprogramowanie analityczne. Wynik testu może być ujemny, dodatni lub nieważny. Wynik określa się na podstawie liczby RLU kontroli wewnętrznej (IC) oraz stosunku S/CO analitu. Pierwszy prawidłowy wynik jest wynikiem, który należy zgłosić. Wynik testu może być uznany za nieważny również ze względu na wartości innych parametrów (nieprawidłowy kształt krzywej kinetycznej) wykraczające poza prawidłowe zakresy oczekiwane. Testy z wynikiem nieważnym należy powtórzyć. Jeżeli wynik ponownego badania jest nieważny, należy pobrać nową próbkę.

Próbki pobierane za pomocą systemu do pobierania i transportu próbek (CSCT) Aptima można rozcieńczyć, aby wyeliminować ewentualny wpływ substancji hamujących. 1 część próbki z nieważnym wynikiem należy rozcieńczyć 8 częściami podłoża do transportu próbek (roztworu w probówkach zestawu CSCT); na przykład 560 µl próbki wlać do nowej probówki zestawu CSCT zawierającej 4,5 ml podłoża do transportu próbek. Delikatnie wymieszać rozcieńczoną próbkę, odwracając ją; unikać tworzenia piany. Przeprowadzić rozcieńczoną próbkę zgodnie ze standardową procedurą analityczną.

Uwaga: Do przebadania 1 porcji próbki potrzebna jest objętość co najmniej 1,7 ml. Rozcieńczonych próbek z nieważnym wynikiem nie należy dalej rozcieńczać. Jeśli wynik badania rozcieńczonej próbki jest nieważny, należy pobrać nową próbkę od pacjenta.

Wynik testu Aptima HPV	Kryteria
Ujemny	$S/CO \text{ analitu} < 0,50$ $IC \geq \text{odcięcia } IC$ $IC \leq 2\,000\,000 \text{ RLU}$
Dodatni	$S/CO \text{ analitu} \geq 0,50$ $IC \leq 2\,000\,000 \text{ RLU}$ $\text{Analit} \leq 13\,000\,000 \text{ RLU}$
Nieważny	$IC > 2\,000\,000 \text{ RLU}$ lub $S/CO \text{ analitu} < 0,50$ i $IC < \text{odcięcia } IC$ lub $\text{Analit} > 13\,000\,000 \text{ RLU}$

Ograniczenia

- A. Typy próbek innych niż wskazane w sekcji Przeznaczenie nie były poddawane ocenom.
- B. Nie określono charakterystyki działania testu Aptima HPV u osób szczepionych przeciwko wirusowi HPV.
- C. Nie określono charakterystyki działania testu Aptima HPV w przypadkach, w których zachodzi podejrzenie nadużyć seksualnych.
- D. Prewalencja zakażeń wirusem HPV w populacji może wpływać na działanie testu. Dodatnie wartości predykcyjne są niższe w populacjach o niskiej prewalencji lub u osób nienarażonych na ryzyko zakażenia.
- E. Próbkę do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep zawierającą mniej niż 1 ml po przygotowaniu preparatów ThinPrep Pap uznaje się za niewystarczającą do badania przy użyciu testu Aptima HPV.
- F. Nie przeprowadzono oceny wpływu usunięcia przed analizą cytologiczną 1 ml próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath na wynik badania.
- G. Na wyniki mogą mieć wpływ nieprawidłowości przy pobieraniu, przechowywaniu lub obróbce próbek.
- H. Kontrola wewnętrzna służy do monitorowania kroków testu — wychwytu, amplifikacji i wykrywania cząsteczek docelowych. Nie służy ona do sprawdzania, czy próbka została prawidłowo pobrana z szyjki macicy.
- I. Ujemny wynik testu Aptima HPV nie wyklucza nieprawidłowości cytologicznych bądź przyszłych lub istniejących zmian CIN2, CIN3 bądź raka szyjki macicy.
- J. Lubrykanty zawierające Polyquaternium 15 mogą zakłócać działanie testu, gdy substancja ta obecna jest w stężeniu większym niż 0,025% (objętościowym lub masowo-objętościowym) w próbce badanej.
- K. Leki przeciwgrzybicze zawierające tiokonazol mogą zakłócać działanie testu, gdy substancja ta obecna jest w stężeniu większym niż 0,075% (masowo-objętościowym) w próbce badanej.
- L. Krem przeciwłoneczny zawierający tlenek cynku może zakłócać działanie testu, gdy substancja ta obecna jest w stężeniu większym niż 2,5% (masowo-objętościowym) w próbce badanej.
- M. Krem na hemoroidy zawierający tlenek cynku, bizmut i balsam Peru może zakłócać działanie testu, gdy substancja ta obecna jest w stężeniu większym niż 1% (masowo-objętościowym) w próbce badanej.
- N. Śluz może zakłócać działanie testu, gdy substancja ta obecna jest w stężeniu większym niż 2,5% (masowo-objętościowym) w próbce badanej.
- O. Wyniki testu Aptima HPV mają charakter jakościowy. Dlatego nie można zakładać istnienia korelacji między intensywnością dodatniego sygnału w teście a poziomem ekspresji mRNA w badanej próbce.

- P. Detekcja mRNA wirusa HPV wysokiego ryzyka zależy od liczby kopii obecnych w próbce. Na detekcję może mieć wpływ sposób pobrania próbki, czynniki związane z pacjentem, faza zakażenia i obecność substancji zakłócających.
- Q. Zakażenie wirusem HPV nie jest indykatorem cytologicznych zmian śródnabłonkowych dużego stopnia (HSIL) lub istniejącej neoplazji CIN wysokiego stopnia ani nie implikuje, że u pacjentki rozwiną się zmiany CIN2, CIN3 lub rak szyjki macicy. U większości kobiet zakażonych jednym lub większą liczbą typów wirusa HPV wysokiego ryzyka nie rozwijają się zmiany CIN2 lub CIN3 ani rak szyjki macicy.
- R. Nie przeprowadzono oceny wpływu innych potencjalnych zmiennych, takich jak upławy, stosowanie tamponów, irygacja pochwy itp., oraz zmiennych związanych z pobieraniem próbek.
- S. Produktu tego może używać wyłącznie personel przeszkolony w korzystaniu z testu Aptima HPV.
- T. Skażenie krzyżowe próbek może powodować uzyskiwanie wyników fałszywie dodatnich. Badanie niekliniczne wykazało, że częstość występowania efektu przeniesienia w teście Aptima HPV w systemie Panther System wynosi 0,7%.
- U. Wyniki testu Aptima HPV powinny być interpretowane w powiązaniu z innymi danymi laboratoryjnymi i klinicznymi dostępnymi dla lekarza.
- V. Ten test może dawać wyniki fałszywie dodatnie. Otrzymane w warunkach *in vitro* transkrypty genotypów 26, 67, 70 i 82 wirusa HPV niskiego ryzyka wykazywały reaktywność krzyżową z testem Aptima HPV.
- W. Można zaobserwować różnice w skuteczności badania w przypadku próbek pobranych samodzielnie z pochwy i próbek pobranych przez lekarza z szyjki macicy. Pacjentki, u których wyniki badania wymazu z pochwy pobranego samodzielnie są dodatnie, powinny zostać skierowane do lekarza w celu dalszej oceny.

Oczekiwane wyniki w systemie Panther: Prewalencja mRNA HPV wysokiego ryzyka

Prewalencja zakażeń wirusem HPV wysokiego ryzyka jest silnie zróżnicowana i zależy od kilku czynników, z których najistotniejszym jest wiek.^{36,37} Prewalencja zakażeń HPV wykrywanych poprzez detekcję DNA tego wirusa była przedmiotem wielu badań, jednak tylko w nielicznych badaniach podawana jest prewalencja określona w oparciu o detekcję onkogenego mRNA wirusa HPV. Kobiety z różnych ośrodków klinicznych (n=18), pochodzące z różnych obszarów geograficznych i populacji (10 stanów w USA), włączono do prospektywnego badania klinicznego pod nazwą CLEAR. Prewalencję próbek dodatnich w kierunku mRNA wirusa zaobserwowaną w badaniu klinicznym na podstawie wyników testu Aptima HPV w systemie Panther System poddano klasyfikacji ogólnej, z podziałem na grupy wiekowe i z podziałem na ośrodki badające. Tabela 1 przedstawia wyniki populacji z atypowymi komórkami nabłonka wielowarstwowego płaskiego o nieokreślonym charakterze (ASC-US) i populacji ujemnej w kierunku zmian śródnabłonkowych lub złośliwych (NILM).

Tabela 1: Prewalencja mRNA wirusa HPV wysokiego ryzyka z podziałem na grupy wiekowe i ośrodki badające oraz prewalencja łączna

	% wyników dodatnich (x/n)	
	Populacja ASC-US (≥21 lat)	Populacja NILM (≥30 lat)
Wszystkie	42,3 (404/956)	4,7 (512/10 860)
Grupa wiekowa (lata)		
od 21 do 29	60,0 (251/418)	ND
od 30 do 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
≥40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
Ośrodek badający		
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)

ND = Nie dotyczy

Projekt badania klinicznego testu Aptima HPV z próbkami cytologicznymi na podłożu ThinPrep

Test Aptima HPV w systemie Panther System oceniono podczas prospektywnego, wieloośrodkowego badania klinicznego pod nazwą CLEAR prowadzonego w USA przy wykorzystaniu pozostałości próbek do badań cytologicznych pozyskanych od kobiet skierowanych na takie badania, które zgodziły się na wykorzystanie ich materiału w badaniu klinicznym.³⁸

Test Aptima HPV po raz pierwszy wprowadzono na rynek w 2008 roku jako test wykonywany w systemie Tigris DTS System. W 2011 roku rozszerzono wskazania do stosowania testu Aptima HPV, umożliwiając wykonywanie go w systemie Panther System. Panther System to aparat, który stanowi alternatywę dla systemu Tigris DTS System i jest od niego mniejszy. Oba systemy są przeznaczone do całkowitej automatyzacji diagnostycznych testów zamplifikowanych kwasów nukleinowych. Wybrane badania pod kątem skuteczności działania testu przeprowadzone w systemie Tigris DTS System wykorzystano do potwierdzenia charakterystyki działania testu w systemie Panther System.

Badanie kliniczne CLEAR — ocena stanu początkowego

Badanie CLEAR zostało przeprowadzone w celu określenia charakterystyki klinicznej testu Aptima HPV stosowanego w systemie Tigris DTS System do detekcji śródnabłonkowych neoplazji szyjki macicy stopnia 2 i poważniejszych zmian chorobowych w obrębie szyjki macicy ($\geq$ CIN2). Badanie CLEAR obejmowało ocenę początkowego stanu pacjentek i 3-letni okres kontrolny. Kobiety były kwalifikowane do grupy ASC-US albo do grupy NILM na podstawie wyników rutynowych badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy. Populacja grupy ASC-US obejmowała kobiety w wieku 21 lat i starsze z wynikami badań cytologicznych wykazującymi obecność komórek ASC-US, a populacja grupy NILM obejmowała kobiety w wieku 30 lat i starsze z wynikami badań cytologicznych wykazującymi brak zmian (NILM). Grupa NILM w zamierzeniu służyła dodatkowemu monitorowaniu u kobiet w wieku 30 lat i starszych, ponieważ kobiety w tej grupie wiekowej z wynikami badań cytologicznych wykazującymi stopień wyższy niż ASC-US powinny być kierowane na kolposkopię niezależnie od wyniku badania w kierunku HPV.³⁹

Do badania włączono kobiety z 18 ośrodków klinicznych, głównie z poradni położniczych/ginekologicznych zlokalizowanych w różnych obszarach geograficznych, należące do różnych populacji. Zakwalifikowane kobiety były przypisywane do grupy ASC-US albo do grupy NILM na podstawie próbki do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep, z którą zostały skierowane do badania klinicznego. Na początku badania klinicznego pozostałości próbek pobranych od kobiet z grupy ASC-US i z grupy NILM przebadano zarówno testem Aptima HPV w systemie Tigris DTS System, jak i dostępnym na rynku testem wykrywającym DNA wirusa HPV. Następnie próbki przeniesiono do archiwum, gdzie były przechowywane w temperaturze -70°C do momentu przebadania testem Aptima HPV w systemie Panther System.

Na początku badania klinicznego CLEAR wszystkie kobiety z grupy ASC-US zostały skierowane na kolposkopię niezależnie od wyników testów w kierunku HPV. Przeprowadzono łyżeczkowanie szyjki macicy (endocervical curettage, ECC) i biopsje (1 biopsja w każdym z 4 kwadrantów). Tam, gdzie widoczna była zmiana chorobowa, wykonywano biopsję skrawkową (metodą celowaną; 1 biopsja na zmianę), a w kwadrantach bez widocznych zmian chorobowych biopsje wykonywano w miejscu przejścia nabłonka płaskokomórkowego w walcowatokomórkowy (metodą losową).

W grupie NILM kobiety z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV w systemie Tigris DTS System i/lub dostępnego w handlu testu wykrywającego DNA wirusa HPV, a także losowo wybrane kobiety z ujemnymi wynikami obu testów skierowane zostały na kolposkopię w ramach oceny stanu początkowego. Losowo wybrane kobiety z ujemnymi wynikami obu testów uwzględniono w tych skierowaniach, aby skorygować obciążenie selektywnością skierowań przy wykorzystaniu skorygowanych oszacowań charakterystyki działania wygenerowanych metodą wielokrotnych podstawień. U każdej kobiety poddanej kolposkopii wykonano łyżeczkowanie szyjki macicy (ECC). Biopsje wykonano tylko z widocznych zmian chorobowych (metoda celowana; 1 biopsja na zmianę).

O tym, czy pacjentkę uznano za chorą, decydował konsensus panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny, przy czym wymagana była zgodna opinia co najmniej 2 doświadczonych histopatologów. Ekspertom tym nie ujawniano wyników testów w kierunku HPV uzyskanych u pacjentek. Eksperti nie znali również wyników badań cytologicznych i nie byli informowani wzajemnie o swoich rozpoznaniach histologicznych. Jeśli opinie 3 histopatologów były sprzeczne, wszyscy 3 oglądali preparaty pod jednym mikroskopem dla wielu obserwatorów, aby uzgodnić konsensus. Badaczom, lekarzom ani pacjentkom nie ujawniano wyników testów w kierunku HPV aż do zakończenia kolposkopii, aby uniknąć obciążenia wyniku.

Na początku badania oceniono kliniczną charakterystykę działania testu Aptima HPV stosowanego do detekcji neoplazji $\geq$ CIN2, śródnabłonkowych neoplazji szyjki macicy stopnia 3 lub poważniejszych zmian w obrębie szyjki macicy ($\geq$ CIN3), porównując jego wyniki ze stanem pacjentek określonym na początku badania. Określono również kliniczną charakterystykę działania dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV, aby możliwe było bezpośrednie porównywanie wyników tego testu z wynikami testu Aptima HPV.

Badanie CLEAR — testy kontrolne

Kobiety z grupy NILM z 14 ośrodków klinicznych kwalifikowały się do udziału w 3-letniej fazie kontrolnej badania, jeśli: i) zostały poddane kolposkopii na początku badania klinicznego i nie stwierdzono u nich zmiany $\geq$ CIN2 lub ii) nie zostały poddane kolposkopii na początku badania klinicznego. Faza kontrolna badania klinicznego składała się z wizyt odbywanych w odstępach rocznych. Podczas tych wizyt od każdej kobiety pobierano wymaz z szyjki macicy, a niektóre kobiety badano dostępnym na rynku testem w kierunku HPV. Kobiety, u których w okresie kontrolnym badania cytologiczne wykazały obecność komórek ASC-US lub poważniejsze zmiany chorobowe były kierowane na kolposkopię wykonywaną według tych samych procedur biopsji i badania histopatologicznego, co w grupie NILM na początku badania klinicznego. Na wizycie kontrolnej oceniano stan chorobowy szyjki macicy, a wynik tej oceny uznawano za „ujemny”, gdy badanie cytologiczne wykazało brak zmian (NILM) albo, w przypadku kobiet z nieprawidłowymi wynikami badań cytologicznych, gdy konsensus panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny wskazywał na stan prawidłowy lub zmiany CIN1. Kobiety, u których w okresie kontrolnym wykryto zmiany $\geq$ CIN2, wyłączano z fazy kontrolnej, i nie odbywały one dalszych wizyt po wykryciu zmian $\geq$ CIN2. Uznawano, że kobiety, u których nie wykryto zmian $\geq$ CIN2 w okresie kontrolnym, ale które odbyły wizyty kontrolne po roku 1 i/lub po roku 2 i po roku 3, ukończyły fazę kontrolną.

Przeprowadzenie fazy kontrolnej służyło porównaniu skumulowanego ryzyka wystąpienia w ciągu 3 lat zmian chorobowych w obrębie szyjki macicy u kobiet z początkowo dodatnimi wynikami testu Aptima HPV oraz u kobiet z początkowo ujemnymi wynikami testu Aptima HPV. To, czy stan chorobowy szyjki macicy wystąpił w okresie 3 lat, określano w następujący sposób:

- Stan dodatni, tj. wystąpienie zmian chorobowych w obrębie szyjki macicy ($\geq$ CIN2 i/lub $\geq$ CIN3) — kobiety, u których wykryto zmiany $\geq$ CIN2 na początku badania klinicznego lub w fazie kontrolnej.
- Stan ujemny, tj. brak zmian chorobowych w obrębie szyjki macicy ($<$ CIN2) — kobiety, które ukończyły fazę kontrolną bez wykrycia zmian $\geq$ CIN2 i u których nie stwierdzono stanu „nieokreślonego”.
- Stan nieokreślony — kobiety z nieprawidłowymi wynikami badania cytologicznego w fazie kontrolnej, u których nie określono konsensusu panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny, oraz kobiety z nieodpowiednio wykonanym rozmazem szyjkowym podczas ich ostatniej wizyty.
- Pacjentki utracone dla potrzeb obserwacji — kobiety, które nie ukończyły fazy kontrolnej, i u których jednocześnie nie stwierdzono stanu „nieokreślonego”.

Kliniczną charakterystykę działania testu Aptima HPV w systemie Panther System w zakresie wykrywania zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3 oceniono w kontekście występowania zmian chorobowych w obrębie szyjki macicy w okresie 3-letnim.

Charakterystyka działania systemu Panther System

Populacja ASC-US w wieku ≥ 21 lat: kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HPV

Łącznie do grupy ASC-US zakwalifikowano 1252 kobiety w wieku 21 lat lub starsze z wynikami badań cytologicznych wykazującymi obecność komórek ASC-US. Z tej liczby 294 kobiety zostały wycofane. Pozostałe 958 kobiet zakwalifikowano do badania w systemie Panther System. Próbkę dwóch kobiet nie były dostępne, a u 19 nie określono rozpoznania choroby; wszystkie te przypadki wyłączono z analizy. Pozostałe 937 kobiet uwzględnionych w analizie ukończyło 21 lat, miało wyniki badania cytologicznego wskazujące na występowanie komórek ASC-US, określone wyniki testu Aptima HPV w systemie Panther System i określony jednoznacznie stan wystąpienia albo niewystąpienia choroby. U dziewięćdziesięciu jeden (91) kobiet stwierdzono zmiany $\geq \text{CIN}2$, a u czterdziestu jeden (41) zmiany $\geq \text{CIN}3$. Prewalencja zmian $\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$ wśród kobiet uwzględnionych w analizie, u których wyniki badań cytologicznych wykazywały obecność komórek ASC-US, wynosiła odpowiednio 9,7% i 4,4%. Tabela 2 przedstawia wyniki testu Aptima HPV w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny.

Tabela 2: Populacja ASC-US w wieku ≥ 21 lat: Wyniki testu Aptima HPV w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny

Wynik testu Aptima HPV*	Test wykrywający DNA wirusa HPV	Rozpoznanie postawione w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny						
		Stan nieokreślony**	Stan prawidłowy	CIN1	CIN2	CIN3	Rak	Ogółem
Dodatni	Dodatni	6	178	110	40	32	1	367
Dodatni	Ujemny	0	5	2	0	2	0	9
Dodatni	Brak wyniku***	0	15	11	0	2	0	28
Ujemny	Dodatni	0	39	15	3	3	0	60
Ujemny	Ujemny	10	372	53	7	1	0	443
Ujemny	Brak wyniku***	3	39	7	0	0	0	49
Ogółem		19	648	198	50	40	1****	956

*Dla wszystkich próbek uzyskano ważne wyniki końcowe (po pierwszym teście lub po wyeliminowaniu przyczyn nieważności pierwszego testu zgodnie z procedurą).

**19 pacjentek zostało poddanych kolposkopii, ale z następujących przyczyn nie było możliwe ustalenie rozpoznania: Uzyskano <5 preparatów biopsyjnych, wszystkie wyłącznie z wynikami badań histopatologicznych wskazującymi na stan prawidłowy/CIN1 (n=15), brak preparatów biopsyjnych (n=3), zagubiono wszystkie preparaty biopsyjne (n=1).

***U 77 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV — głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

****U jednej pacjentki stwierdzono raka gruczołowego in situ (AIS).

Tabela 3 zawiera oszacowania klinicznej charakterystyki działania testu Aptima HPV, w tym jego czułości, swoistości, dodatniej wartości predykcyjnej (PPV) i ujemnej wartości predykcyjnej (NPV) w detekcji zmian $\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$; przedstawiono oszacowania wyznaczone na podstawie wszystkich biopsji oraz wyłącznie na podstawie biopsji kierowanych. W tabeli przedstawiono również analogiczne oszacowania dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV.

Tabela 3: Populacja ASC-US w wieku ≥ 21 lat: Charakterystyka działania testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV w detekcji zmian $\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$

Charakterystyka działania	Test Aptima HPV N=937		Test wykrywający DNA HPV N=863*		
	Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)	
≥CIN2	Wszystkie biopsje				
	Czułość (%)	84,6 (77/91)	(75,8; 90,6)	88,8 (79/89)	(80,5; 93,8)
	Swoistość (%)	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)
	Prewalencja (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
	Biopsje celowane**				
	Czułość (%)	90,0 (54/60)	(79,9; 95,3)	93,2 (55/59)	(83,8; 97,3)
	Swoistość (%)	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)
	Prewalencja (%)	6,4 (60/934)		6,9 (59/861)	
	≥CIN3	Wszystkie biopsje			
		Czułość (%)	90,2 (37/41)	(77,5; 96,1)	92,3 (36/39)
Swoistość (%)		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)
Prewalencja (%)		4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	
Biopsje celowane**					
Czułość (%)		93,1 (27/29)	(78,0; 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3; 99,4)
Swoistość (%)		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)
Prewalencja (%)		3,1 (29/935)		3,2 (28/862)	

*U 74 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV — głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

**Konsensus co do wyników badań histopatologicznych uzyskano wyłącznie na podstawie materiału z biopsji celowanych. Kobiety, u których nie wykonano biopsji celowanych, miały prawidłowy wynik kolposkopii i w analizie uwzględnione są jako wolne od choroby (odpowiednio $< \text{CIN}2$ i $< \text{CIN}3$). W ocenie materiału pochodzącego wyłącznie z biopsji celowanych nie zawsze udawało się osiągnąć konsensus.

Przy ocenie wszystkich biopsji szacowane wartości czułości testu Aptima HPV i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV były podobne w przypadkach, w których dostępne były wyniki obu testów pozwalające na wykrycie zmian $\geq$ CIN2 lub $\geq$ CIN3 (różnice w szacowanej czułości nie były statystycznie istotne). W przypadku zmian $\geq$ CIN2 różnica czułości wynosiła 4,5% (95-procentowy przedział ufności: -12,2%, 2,5%). Szacowana swoistość testu Aptima HPV przy detekcji zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3 była wyższa od szacowanej swoistości dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV (różnice swoistości były statystycznie istotne). W przypadku zmian $\geq$ CIN2 różnica swoistości wynosiła 6,1% (95-procentowy przedział ufności: 4,2%, 8,2%). Ujemne wartości predykcyjne (NPV) były podobne, ale przy detekcji zmian $\geq$ CIN2 dodatnia wartość predykcyjna (PPV) testu Aptima HPV była nieznacznie wyższa od wartości PPV dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV (19,3% wobec 18,8%).

Spośród 91 przypadków $\geq$ CIN2 60 (65,9%) wykryto dzięki biopsjom celowanym, a 31 (34,1%) na podstawie biopsji losowych lub łyżeczkowania szyjki macicy (ECC) (tj. na podstawie materiału nie pochodzącego z biopsji celowanych). Spostrzeżenia te są porównywalne z wynikami przedstawionymi w opublikowanych badaniach, w których około 25%–40% przypadków $\geq$ CIN2 wykrywano w materiałach uzyskanych wyłącznie z biopsji losowych i/lub łyżeczkowania szyjki macicy (ECC)^{40,41}. Gdyby występowanie lub niewystępowanie choroby określano wyłącznie na podstawie biopsji celowanych (przy założeniu, że kobiety, u których takich biopsji nie wykonano miały prawidłowe wyniki badań histopatologicznych, ponieważ nie stwierdzono u nich widocznych zmian chorobowych), prevalencja zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3 w badaniu klinicznym wyniosłaby odpowiednio 6,4% i 3,1%. Szacowana czułość kliniczna obu testów przy detekcji zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3 była wyższa, gdy uwzględniono tylko biopsje celowane, niż w przypadku uwzględnienia wszystkich biopsji. Swoistość kliniczna obu testów, gdy uwzględniono tylko biopsje celowane, była podobna do swoistości wyznaczonej z uwzględnieniem wszystkich biopsji. W związku z tym, przy uwzględnieniu tylko biopsji celowanych, swoistość testu Aptima HPV była istotnie wyższa od swoistości dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV.

W tabelach Tabela 4 i Tabela 5 przedstawiono oszacowania charakterystyki klinicznej testu Aptima HPV i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV z podziałem na grupy wiekowe (odpowiednio przy wykrywaniu zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3, z uwzględnieniem wszystkich biopsji).

Tabela 4: Populacja ASC-US w wieku ≥ 21 lat: Charakterystyka działania testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV w detekcji zmian $\geq \text{CIN}2$ z podziałem na grupy wiekowe

Charakterystyka działania	Test Aptima HPV N=937		Test wykrywający DNA HPV N=863*		
	Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)	
Od 21 do 29 lat	N=415		N=389		
	Czułość (%)	88,5 (54/61)	(78,2; 94,3)	94,9 (56/59)	(86,1; 98,3)
	Swoistość (%)	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)
	Prewalencja (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
Od 30 do 39 lat	N=261		N=238		
	Czułość (%)	85,0 (17/20)	(64,0; 94,8)	80,0 (16/20)	(58,4; 91,9)
	Swoistość (%)	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)
	Prewalencja (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
≥40 lat	N=261		N=236		
	Czułość (%)	60,0 (6/10)	(31,3; 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7; 89,2)
	Swoistość (%)	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)
	Prewalencja (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	

*U 74 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV — głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

Tabela 5: Populacja ASC-US w wieku ≥ 21 lat: Charakterystyka działania testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV w detekcji zmian $\geq \text{CIN3}$ z podziałem na grupy wiekowe

Charakterystyka działania		Test Aptima HPV N=937		Test wykrywający DNA HPV N=863*	
		Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)
		N=415		N=389	
Od 21 do 29 lat	Czułość (%)	96,3 (26/27)	(81,7; 99,3)	100 (25/25)	(86,7; 100)
	Swoistość (%)	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)
	Prewalencja (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
		N=261		N=238	
Od 30 do 39 lat	Czułość (%)	88,9 (8/9)	(56,5; 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3; 93,7)
	Swoistość (%)	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)
	Prewalencja (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
		N=261		N=236	
≥ 40 lat	Czułość (%)	60,0 (3/5)	(23,1; 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6; 96,4)
	Swoistość (%)	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)
	Prewalencja (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*U 74 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV — głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

Tabela 6 przedstawia ryzyko bezwzględne wystąpienia choroby ($\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3, na podstawie wszystkich biopsji) związane z wynikami testu Aptima HPV oraz ryzyko względne choroby związane z dodatnimi i ujemnymi wynikami testu Aptima HPV. W tej samej tabeli przedstawiono analogiczne dane dotyczące dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV. Ryzyko względne wystąpienia zmian $\geq$ CIN2 wynosiło 7,4 (95-procentowy przedział ufności: 4,3, 13,0), co oznacza, że u kobiety z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV istniało 7,4 raza większe prawdopodobieństwo występowania zmian $\geq$ CIN2 niż u kobiety z ujemnym wynikiem testu Aptima HPV. Ryzyko względne wystąpienia zmian $\geq$ CIN3 wynosiło 12,5 (95-procentowy przedział ufności: 4,5; 34,9).

Tabela 6: Populacja ASC-US w wieku ≥ 21 lat: Bezwzględne i względne ryzyko występowania zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3 związane z wynikami testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV

		Test Aptima HPV N=937		Test wykrywający DNA HPV N=863*	
Wynik testu		Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
≥CIN2	Dodatni	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)
	Ujemny	2,6 (14/539) (1,5; 4,0)		2,3 (10/442) (1,2; 3,8)	
	Prewalencja (%)		9,7 (91/937)	10,3 (89/863)	
≥CIN3	Dodatni	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)
	Ujemny	0,7 (4/539) (0,2; 1,7)		0,7 (3/442) (0,2; 1,7)	
	Prewalencja (%)		4,4 (41/937)	4,5 (39/863)	

*U 74 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV — głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

Tabela 7 przedstawia oszacowane ryzyko bezwzględne i względne wystąpienia choroby ($\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3, na podstawie wszystkich biopsji) związane z wynikami testu Aptima HPV i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV z podziałem na grupy wiekowe.

Tabela 7: Populacja ASC-US w wieku ≥ 21 lat: Bezwzględne i względne ryzyko występowania zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3 związane z wynikami testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV z podziałem na grupy wiekowe

		Test Aptima HPV N=937		Test wykrywający DNA HPV N=863*		
Wiek	Wynik testu	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	
≥CIN2	Od 21 do 29 lat	N=415		N=389		
		Dodatni	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)
		Ujemny	4,2 (7/166) (1,9; 7,7)		2,5 (3/120) (0,6; 6,4)	
		Prewalencja (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	Od 30 do 39 lat	N=261		N=238		
		Dodatni	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)
		Ujemny	1,8 (3/163) (0,4; 4,3)		2,9 (4/139) (0,9; 5,9)	
		Prewalencja (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	≥40 lat	N=261		N=236		
		Dodatni	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)
		Ujemny	1,9 (4/210) (0,6; 3,4)		1,6 (3/183) (0,4; 3,4)	
		Prewalencja (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	
≥CIN3	Od 21 do 29 lat	N=415		N=389		
		Dodatni	10,4 (26/249) (9,0; 11,5)	17,3 (2,4; 127)	9,3 (25/269) (8,2; 10,0)	Brak możliwości obliczenia
		Ujemny	0,6 (1/166) (0,0; 2,8)		0,0 (0/120) (0,0; 2,5)	
		Prewalencja (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	Od 30 do 39 lat	N=261		N=238		
		Dodatni	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)
		Ujemny	0,6 (1/163) (0,0; 2,4)		1,4 (2/139) (0,2; 3,6)	
		Prewalencja (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	≥40 lat	N=261		N=236		
		Dodatni	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)
		Ujemny	1,0 (2/210) (0,1; 2,0)		0,5 (1/183) (0,0; 1,8)	
		Prewalencja (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*U 74 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV — głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: Kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HPV z próbkami do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep na początku badania klinicznego

Łącznie do grupy NILM zakwalifikowano 11 644 kobiety z wynikami badań cytologicznych wykazującymi brak zmian (NILM), z czego 773 kobiety wycofano z badania. Pozostałe 10 871 kobiet zakwalifikowano do badania w systemie Panther System. Próbkę jedenastu kobiet nie były dostępne, dlatego kobiety te zostały wyłączone z oceny testu Aptima HPV w systemie Panther System na początku badania klinicznego. Pozostałe 10 860 kobiet uwzględnionych w analizie ukończyło 30 lat, miało wyniki badania cytologicznego wykazujące brak zmian (NILM) oraz określone wyniki testu Aptima HPV w Panther System. Spośród 512 kobiet z dodatnimi wynikami testu Aptima HPV w systemie Panther System u 284 wykonano kolposkopię na początku badania klinicznego. Spośród 10 348 kobiet z ujemnymi wynikami testu Aptima HPV u 580 wykonano kolposkopię na początku badania klinicznego. U dwudziestu (20) kobiet występowały zmiany $\geq \text{CIN}2$, a u jedenastu (11) występowały zmiany $\geq \text{CIN}3$; u 798 wyniki badań histopatologicznych wykazały stan prawidłowy/zmiany CIN1; u 46 kobiet stan obecności bądź braku choroby był nieokreślony. Tabela 8 przedstawia wyniki testu Aptima HPV w systemie Panther System w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny na początku badania klinicznego.

Tabela 8: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: Wyniki testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny na początku badania klinicznego

Wynik testu Aptima HPV*	Test wykrywający DNA wirusa HPV	Rozpoznanie postawione w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny						
		Stan nieokreślony**	Stan prawidłowy	CIN1	CIN2	CIN3	Rak	Ogółem
Dodatni	Dodatni	11	211	12	4	7	2	247
Dodatni	Ujemny	2	19	0	0	0	1	22
Dodatni	Brak wyniku***	2	12	1	0	0	0	15
Ujemny	Dodatni	10	170	7	2	1	0	190
Ujemny	Ujemny	20	353	9	2	0	0	384
Ujemny	Brak wyniku***	1	4	0	1	0	0	6
Ogółem		46	769	29	9	8	3****	864

*Dla wszystkich próbek uzyskano ważne wyniki końcowe (po pierwszym teście lub po wyeliminowaniu przyczyn nieważności pierwszego testu zgodnie z procedurą).

**46 pacjentek zostało poddanych kolposkopii, ale z następujących przyczyn nie było możliwe ustalenie rozpoznania: preparaty biopsyjne uznane za nienadające się do badania (n=29), brak preparatów biopsyjnych (n=15), zagubienie preparatów biopsyjnych (n=2).

***U 21 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV — głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

****U trzech kobiet stwierdzono raka gruczołowego in situ (AIS).

Łącznie na początku badania klinicznego u 10 042 kobiet stan obecności bądź braku choroby był niezwyfikowany (w tej liczbie uwzględniono też pacjentki w stanie nieokreślonym) (Tabela 9). Ponieważ na kolposkopię skierowano tylko losowo wybrane kobiety z ujemnymi wynikami obu testów (Aptima HPV w systemie Tigris DTS System i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV), w tej grupie udział kobiet z niezwyfikowanym stanem obecności bądź braku choroby był wysoki (96,6%).

Aby skorygować to obciążenie selektywnością skierowań, zastosowano metodę wielokrotnych podstawień w celu oszacowania liczby kobiet, u których rozpoznano by obecność choroby, gdyby wszystkie kobiety zostały poddane kolposkopii. Przedstawiono oszacowania charakterystyki działania testów na podstawie analizy 818 przypadków ze zweryfikowanym stanem obecności bądź braku choroby, zarówno skorygowanym pod względem obciążenia selektywnością skierowań, jak i bez korekty.

Tabela 9: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: Klasyfikacja kobiet z grupy NILM uwzględnionych w analizie wg wyników testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV, obecności lub braku choroby ($\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$) oraz weryfikacji obecności lub braku choroby

Wynik testu Aptima HPV*		Test wykrywający DNA wirusa HPV	Ogółem kobiet	Zweryfikowany stan chorobowy: $\geq \text{CIN}2$		Zweryfikowany stan chorobowy: $\geq \text{CIN}3$		Niezwyfikowany stan chorobowy
Panther System	Tigris DTS System			Kobiety chore ($\geq \text{CIN}2$)	Kobiety wolne od choroby ($< \text{CIN}2$)	Kobiety chore ($\geq \text{CIN}3$)	Kobiety wolne od choroby ($< \text{CIN}3$)	Kobiety o nieznanym stanie obecności choroby (% nieznanach)
Dodatni	Dodatni	Dodatni	313	13	189	9	193	111 (35,5%)
Dodatni	Dodatni	Ujemny	37	1	18	1	18	18 (48,6%)
Dodatni	Dodatni	Brak wyniku**	22	0	13	0	13	9 (40,9%)
Dodatni	Ujemny	Dodatni	70	0	34	0	34	36 (51,4%)
Dodatni	Ujemny	Ujemny	60	0	1	0	1	59 (98,3%)
Dodatni	Ujemny	Brak wyniku**	10	0	0	0	0	10 (100%)
Ujemny	Dodatni	Dodatni	46	0	33	0	33	13 (28,3%)
Ujemny	Dodatni	Ujemny	113	1	41	0	42	71 (62,8%)
Ujemny	Dodatni	Brak wyniku**	8	0	4	0	4	4 (50,0%)
Ujemny	Ujemny	Dodatni	236	3	144	1	146	89 (37,7%)
Ujemny	Ujemny	Ujemny	9 354	1	321	0	322	9 032 (96,6%)
Ujemny	Ujemny	Brak wyniku**	591	1	0	0	1	590 (99,8%)
Ogółem			10 860	20	798	11	807	10 042 (92,5%)

*Dla wszystkich próbek uzyskano wyniki końcowe (po pierwszym teście lub po wyeliminowaniu przyczyn nieważności pierwszego testu zgodnie z procedurą).

**U 631 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV — głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

Skorygowana prevalencja zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3 wśród kobiet z wynikami badań cytologicznych wykazujących brak zmian (NILM) wynosiła odpowiednio 0,9% i 0,4%. Tabela 10 przedstawia skorygowane oszacowane ryzyko bezwzględne i względne wykrycia zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3 na początku badania. Ryzyko względne wystąpienia zmian $\geq$ CIN2 wynosiło 7,5 (95-procentowy przedział ufności: 2,1, 26,3), co oznacza, że u kobiety z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV istniało 7,5 raza większe prawdopodobieństwo występowania zmian $\geq$ CIN2 niż u kobiety z ujemnym wynikiem testu Aptima HPV. Ryzyko względne wystąpienia zmian $\geq$ CIN3 wynosiło 24,9 (95-procentowy przedział ufności: 2,0; 307,0). Tabela 11 przedstawia nieskorygowane oszacowane ryzyko bezwzględne i względne wykrycia zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3 na początku badania klinicznego w całej populacji. Tabela 12 przedstawia analogiczne dane z podziałem na grupy wiekowe.

Tabela 10: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: Bezwzględne i względne ryzyko występowania zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3 związane z wynikami testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV (oszacowania ze skorygowanym obciążeniem selektywnością skierowań) na początku badania klinicznego

		Test Aptima HPV		Test wykrywający DNA wirusa HPV	
	Wynik testu	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
≥CIN2	Dodatni	4,5 (2,7; 7,4)	7,5 (2,1; 26,3)	3,7 (2,3; 6,1)	7,3 (1,6; 33,5)
	Ujemny	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1; 2,1)	
	Prewalencja (%)		0,9	0,9	
≥CIN3	Dodatni	3,0 (1,6; 5,5)	24,9 (2,0; 307,0)	2,3 (1,3; 4,1)	21,0 (1,0; 423,8)
	Ujemny	0,1 (0,0; 1,7)		0,1 (0,0; 2,4)	
	Prewalencja (%)		0,4	0,4	

Tabela 11: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: Bezwzględne i względne ryzyko występowania zmian $\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$ związane z wynikami testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV (oszacowania nieskorygowane) na początku badania klinicznego

		Test Aptima HPV N=818		Test wykrywający DNA HPV N=800*	
Wynik testu		Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
≥CIN2	Dodatni	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)
	Ujemny	1,1 (6/549) (0,5; 1,9)		0,8 (3/384) (0,2; 1,9)	
	Prewalencja (%)		2,4 (20/818)	2,4 (19/800)	
≥CIN3	Dodatni	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)
	Ujemny	0,2 (1/549) (0,0; 0,8)		0,3 (1/384) (0,0; 1,1)	
	Prewalencja (%)		1,3 (11/818)	1,4 (11/800)	

*U 18 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV — głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

Tabela 12: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: Bezwzględne i względne ryzyko występowania zmian $\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$ związane z wynikami testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV z podziałem na grupy wiekowe (oszacowania nieskorygowane) na początku badania klinicznego

		Test Aptima HPV N=818		Test wykrywający DNA HPV N=800*		
Wiek	Wynik testu	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	
≥CIN2	Od 30 do 39 lat	N=383		N=376		
		Dodatni	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)
		Ujemny	0,9 (2/230) (0,1; 2,2)		1,2 (2/161) (0,2; 3,2)	
		Prewalencja (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥40 lat	N=435		N=424		
Dodatni		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)	
Ujemny		1,3 (4/319) (0,4; 2,3)		0,4 (1/223) (0,0; 1,8)		
Prewalencja (%)		2,5 (11/435)		2,4 (10/424)		
≥CIN3	Od 30 do 39 lat	N=383		N=376		
		Dodatni	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)
		Ujemny	0,4 (1/230) (0,0; 1,6)		0,6 (1/161) (0,0; 2,2)	
		Prewalencja (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	≥40 lat	N=435		N=424		
Dodatni		4,3 (5/116) (2,2; 5,1)	Brak możliwości obliczenia	2,5 (5/201) (1,3; 2,8)	Brak możliwości obliczenia	
Ujemny		0,0 (0/319) (0,0; 0,8)		0,0 (0/223) (0,0; 1,1)		
Prewalencja (%)		1,1 (5/435)		1,2 (5/424)		

*U 18 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV — głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

Tabela 13 zawiera skorygowane oszacowania klinicznej charakterystyki działania testu Aptima HPV, w tym jego czułości, swoistości, dodatniej wartości predykcyjnej (PPV) i ujemnej wartości predykcyjnej (NPV) w detekcji zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3 na początku badania klinicznego. W tabeli przedstawiono również analogiczne oszacowania charakterystyki dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV. Tabela 14 zawiera nieskorygowane oszacowania klinicznej charakterystyki działania. Test Aptima HPV i dostępny na rynku test wykrywający DNA wirusa HPV mają podobną czułość, natomiast test Aptima HPV charakteryzował się znacznie wyższą swoistością (w nienakładających się 95-procentowych przedziałach ufności). Oszacowane wartości predykcyjne testu Aptima HPV były klinicznie istotne i podobne do oszacowań dla dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV. Ujemne wartości predykcyjne (NPV) były podobne, ale przy detekcji zmian $\geq$ CIN2 dodatnia wartość predykcyjna (PPV) testu Aptima HPV była nieznacznie wyższa od wartości PPV dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV (4,5% wobec 3,7%).

Tabela 13: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: Charakterystyka działania testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV w detekcji zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3 (oszacowania ze skorygowanym obciążeniem selektywnością skierowań) na początku badania klinicznego

	Charakterystyka działania	Test Aptima HPV		Test wykrywający DNA wirusa HPV	
		Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)
≥CIN2	Czułość (%)	28,4	(4,9; 51,8)	35,4	(3,8; 66,9)
	Swoistość (%)	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)
	Prewalencja (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
≥CIN3	Czułość (%)	54,0	(3,6; 100)	56,4	(0,4; 100)
	Swoistość (%)	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)
	Prewalencja (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Tabela 14: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: Charakterystyka działania testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV w detekcji zmian $\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$ (oszacowania nieskorygowane) na początku badania klinicznego

Charakterystyka działania	Test Aptima HPV N=818		Test wykrywający DNA HPV N=800*	
	Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)
$\geq \text{CIN}2$				
Czułość (%)	70,0 (14/20)	(48,1; 85,5)	84,2 (16/19)	(62,4; 94,5)
Swoistość (%)	68,0 (543/798)	(64,7; 71,2)	48,8 (381/781)	(45,3; 52,3)
PPV (%)	5,2 (14/269)	(3,5; 6,6)	3,8 (16/416)	(2,9; 4,5)
NPV (%)	98,9 (543/549)	(98,1; 99,5)	99,2 (381/384)	(98,1; 99,8)
Prewalencja (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
$\geq \text{CIN}3$				
Czułość (%)	90,9 (10/11)	(62,3; 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3; 98,4)
Swoistość (%)	67,9 (548/807)	(64,6; 71,0)	48,5 (383/789)	(45,1; 52,0)
PPV (%)	3,7 (10/269)	(2,5; 4,3)	2,4 (10/416)	(1,6; 2,7)
NPV (%)	99,8 (548/549)	(99,2; 100)	99,7 (383/384)	(98,9; 100)
Prewalencja (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*U 18 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV — głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

Bezpośrednie porównanie testu Aptima HPV w systemie Panther System i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV wykazuje, że mają one podobną czułość i że test Aptima HPV ma istotnie statystycznie większą czułość przy wykrywaniu zmian $\geq \text{CIN}2$, czego dowodzą stosunki liczby wyników prawdziwie dodatnich i fałszywie dodatnich (odpowiednio Tabela 15 i Tabela 16).

Tabela 15: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: Stosunek liczby wyników prawdziwie dodatnich (test Aptima HPV/test wykrywający DNA wirusa HPV) u kobiet ze zmianami $\geq \text{CIN}2$ (oszacowanie nieskorygowane) na początku badania klinicznego

	Test wykrywający DNA wirusa HPV		Ogółem
	Dodatni	Ujemny	
Test Aptima HPV	Dodatni	13	14 (73,7%)
	Ujemny	3	5
	Ogółem	16 (84,2%)	3
			19

Stosunek liczby wyników prawdziwie dodatnich = 0,88 (14/16) (95-procentowy przedział ufności: 0,65; 1,10)

Tabela 16: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: Stosunek liczby wyników fałszywie dodatnich (test Aptima HPV/test wykrywający DNA wirusa HPV) u kobiet ze zmianami $< \text{CIN}2$ (oszacowanie nieskorygowane) na początku badania klinicznego

		Test wykrywający DNA wirusa HPV		Ogółem
		Dodatni	Ujemny	
Test Aptima HPV	Dodatni	223	19	242 (31,0%)
	Ujemny	177	362	539
	Ogółem	400 (51,2%)	381	781

Stosunek liczby wyników fałszywie dodatnich = 0,61 (242/400) (95-procentowy przedział ufności: 0,55; 0,66)

Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: Kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HPV w systemie Panther System po 3-letniej fazie kontrolnej

Na początku badania klinicznego do fazy kontrolnej kwalifikowały się 10 843 kobiety uwzględnione w analizie, które ukończyły 30 lat i miały wyniki badania cytologicznego wykazujące brak zmian (NILM) oraz ważne wyniki testu Aptima HPV w systemie Panther System. Spośród kobiet, u których nie występowały zmiany $\geq \text{CIN}2$, 67,0% (7 247/10 823) odbyło wizytę kontrolną po 1. roku, na której wykonano rozmaz szyjkowy, 60,3% (6 517/10 814) odbyło taką wizytę po 2. roku, a 58,7% (6 339/10 807) po 3. roku. Ogółem badanie kliniczne ukończyło 58,8% (6 375/10 843) kobiet (są to kobiety, u których na początku badania klinicznego lub w fazie kontrolnej były obecne zmiany $\geq \text{CIN}2$ i/lub które odbyły wymagane wizyty).

Spośród 10 843 kobiet kwalifikujących się do oceny 511 (4,7%) miało na początku badania klinicznego dodatnie wyniki testu Aptima HPV w systemie Panther System. Spośród tych 511 kobiet u 255 (49,9%) stwierdzono obecność lub brak choroby po 3 latach na podstawie badań cytologicznych lub wyników kolposkopii/biopsji. Pozostałe 10 332 kobiety miały ujemne wyniki testu Aptima HPV w systemie Panther System na początku badania klinicznego. Spośród tych 10 332 kobiet u 5 946 (57,5%) stwierdzono obecność lub brak choroby po 3 latach. Spośród 6 201 kobiet, u których stwierdzono obecność lub brak choroby po 3 latach, u 47 były obecne zmiany $\geq \text{CIN}2$, w tym u 23 były obecne zmiany $\geq \text{CIN}3$; u 6 154 kobiet konsensus panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny wskazał na stan prawidłowy/zmiany $\text{CIN}1$. Tabela 17 zawiera uzyskane na początku badania klinicznego wyniki testu Aptima HPV w systemie Panther System i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV, a także stan obecności albo braku choroby po 3 latach (z uwzględnieniem badań na początku badania klinicznego i wizyt kontrolnych) określony poprzez konsensus panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny.

Tabela 17: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: Klasyfikacja kobiet zakwalifikowanych do fazy kontrolnej według wyników testu Aptima HPV uzyskanych na początku badania klinicznego, wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV uzyskanych na początku badania klinicznego i stanu obecności albo braku choroby ($\geq \text{CIN}2$, $\geq \text{CIN}3$, stan niezwyfikowany) określonego w fazie początkowej i w fazie kontrolnej

Wynik testu Aptima HPV	Test wykrywający DNA wirusa HPV	Ogółem kobiet	Zweryfikowany stan chorobowy: $\geq \text{CIN}2$		Zweryfikowany stan chorobowy: $\geq \text{CIN}3$		Niezweryfikowany stan chorobowy	
			Kobiety chore ($\geq \text{CIN}2$)	Kobiety wolne od choroby ($< \text{CIN}2$)	Kobiety chore ($\geq \text{CIN}3$)	Kobiety wolne od choroby ($< \text{CIN}3$)	Pacjentki utracone dla potrzeb obserwacji	Brak możliwości określenia*
Dodatni	Dodatni	382	23	171	16	178	167	21
Dodatni	Ujemny	97	1	48	1	48	44	4
Dodatni	Brak wyniku**	32	2	10	1	11	17	3
Ujemny	Dodatni	281	5	129	2	132	130	17
Ujemny	Ujemny	9 452	15	5 476	3	5 488	3 756	205
Ujemny	Brak wyniku**	599	1	320	0	321	264	14
Ogółem		10 843	47	6 154	23	6 178	4 378	264

*Kobiety z nieprawidłowymi wynikami badania cytologicznego w fazie kontrolnej, u których nie określono konsensusu panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny, oraz kobiety z nieodpowiednio wykonanym rozmazem szyjkowym podczas ich ostatniej wizyty. 174 kobiety bez możliwości określenia, czy choroba jest, czy nie jest obecna, ukończyły fazę kontrolną zgodnie z protokołem.

**U 631 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV — głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

Skumulowane ryzyko wystąpienia choroby ($\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$) w okresie 3 lat wyznaczono przy użyciu estymatora Kaplan-Meier (analiza tabel przeżycia), z uwzględnieniem stanów chorobowych wykrytych na początku badania klinicznego i w fazie kontrolnej. Kobiety, u których występowały pewne oznaki choroby (wykryte komórki ASC-US lub poważniejsze wyniki badania cytologicznego), ale dla których nie określono wyniku na podstawie konsensusu panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny, zostały uwzględnione w analizie poprzez zastosowanie metody wielokrotnych podstawień w celu predykcji liczby kobiet, u których rozpoznano by chorobę, gdyby zostały poddane kolposkopii.

Tabela 18 przedstawia skumulowane ryzyko bezwzględne i względne wykrycia zmian $\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$ w okresie 3 lat.

Tabela 18: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: Bezwzględne i względne skumulowane ryzyko* występowania zmian $\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$ w okresie 3 lat związane z wynikami testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV na początku badania klinicznego

		Test Aptima HPV		Test wykrywający DNA wirusa HPV	
Wynik testu		Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
≥CIN2	Dodatni	7,90 (5,50; 11,27)	24,45 (13,85; 43,15)	6,43 (4,50; 9,14)	22,71 (12,20; 42,30)
	Ujemny	0,32 (0,21; 0,51)		0,28 (0,17; 0,47)	
	Prewalencja (%)		0,68	0,68	
≥CIN3	Dodatni	5,23 (3,34; 8,13)	57,11 (21,09; 154,62)	4,14 (2,62; 6,52)	51,34 (17,74; 148,58)
	Ujemny	0,09 (0,04; 0,23)		0,08 (0,03; 0,22)	
	Prewalencja (%)		0,34	0,35	

*Wartości skumulowanego ryzyka w okresie 3-letnim skorygowane z uwzględnieniem innych możliwych obciążeń były podobne do podanych w tej tabeli. Z uwagi na przewidywane różnice między poziomami ryzyka po 1. i 2. roku w dwóch grupach kobiet uczestniczących w fazie kontrolnej (w grupie poddanej kolposkopii na początku badania klinicznego i grupie niepoddanej kolposkopii) podano wyłącznie skumulowane ryzyko dla obu grup w okresie 3-letnim.

Skumulowana prewalencja zmian $\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$ w okresie 3-letnim wśród kobiet z wynikami badań cytologicznych wykazujących brak zmian (NILM) wynosiła odpowiednio 0,68% i 0,34%. Ryzyko względne obecności zmian $\geq \text{CIN}2$ wynosiło 24,45 (95-procentowy przedział ufności 13,85, 43,15), co oznacza, że u kobiety z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV w systemie Panther System istniało 24,45 raza większe prawdopodobieństwo występowania zmian $\geq \text{CIN}2$ niż u kobiety z ujemnym wynikiem testu Aptima HPV. Ryzyko względne wystąpienia zmian $\geq \text{CIN}3$ wynosiło 57,11 (95-procentowy przedział ufności: 21,09; 154,62).

Kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HPV z próbkami do badań cytologicznych na podłożu płynnym SurePath

Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath zostały pobrane od mieszkanek Kanady (n=1350), które zostały skierowane na badanie dodatkowe z powodu jednego lub większej liczby nieprawidłowych wyników rozmazu szyjkowego, zakażenia wirusem HPV lub z innej przyczyny. Jedna porcja (0,5 ml) każdej próbki została przeniesiona do próbki do przenoszenia próbek Aptima, a następnie poddana obróbce za pomocą roztworu do przenoszenia Aptima. Za pomocą testu Aptima HPV przebadano po jednym powtórzeniu każdej próbki. Osobna porcja (1 ml) każdej próbki została wydzielona do przebadania za pomocą dostępnego na rynku testu PCR w kierunku wirusa HPV. Zarówno dla testu Aptima HPV, jak i dla testu PCR w kierunku wirusa HPV, obliczono kliniczną czułość detekcji stanu chorobowego, zdefiniowanego jako wynik $\geq$ CIN3 w badaniu histopatologicznym. Wyniki (wraz z dodatnimi i ujemnymi wartościami predykcyjnymi) zawiera Tabela 19.

Tabela 19: Charakterystyka działania testu Aptima HPV i testu PCR w kierunku wirusa HPV w detekcji zmian $\geq$ CIN3

Charakterystyka działania	Test Aptima HPV N=1326		Test PCR w kierunku HPV N=1351	
	Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)
Czułość (%)	89,6 (69/77)	(80,8 - 94,6)	94,8 (73/77)	(87,4 - 98,0)
Swoistość (%)	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)
Prewalencja (%)	5,8 (77/1326)		5,7 (77/1351)	

Charakterystyka działania testu Aptima HPV z próbkami pobranymi do zestawu do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy

Od 735 pacjentek pobrano pary próbek do badania cytologicznego: jedną na podłożu płynnym ThinPrep i jedną do zestawu do pobierania i transportu próbek Aptima. Jeden mililitr (1,0 ml) każdej próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep rozcieńczono w 2,9 ml podłoża do transportu próbek Aptima i przebadano jedno powtórzenie za pomocą testu Aptima HPV w systemie Tigris DTS System. Za pomocą testu Aptima HPV przebadano również jedno powtórzenie każdej próbki pobranej do zestawu do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy. Tabela 20 przedstawia informacje o procentowej zgodności wyników testu Aptima HPV uzyskanych na próbkach do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep i na próbkach pobranych do zestawu do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy.

Procentowa zgodność wyników dodatnich wyniosła 95,9% (95-procentowy przedział ufności: 92,6–97,8); procentowa zgodność wyników ujemnych wyniosła 95,5% (95-procentowy przedział ufności: 93,3–97,0); zgodność ogólna wyniosła 95,6% (95-procentowy przedział ufności: 93,9–96,9). Zaobserwowano silną korelację między próbkami do badania cytologicznego na podłożu płynnym a próbkami w zestawie do transportu ($\kappa=0,90$).

Tabela 20: Ogólna zgodność wyników testu Aptima HPV na próbkach do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep i próbkach w zestawie do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy Aptima przebadanych w systemie Tigris DTS System

		Próbka do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep		Razem
		Dodatni	Ujemny	
Próbka z zestawu do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy	Dodatni	234	22	256
	Ujemny	10	469	479
	Razem	244	491	735

Zgodność wyników dodatnich = 95,9% (92,6–97,8)

Zgodność wyników ujemnych = 95,5% (93,3–97,0)

Ogólna zgodność wyników = 95,6% (93,9–96,9)

Współczynnik kappa = 0,90

Próbki kliniczne dodatnie w kierunku HPV wysokiego ryzyka i ujemne w kierunku HPV wysokiego ryzyka zebrane z badań przesiewowych (wizyty rutynowe) i z badań po skierowaniu (kolposkopia) przy użyciu zestawu Aptima CSCT przebadano testem Aptima HPV w systemach Panther System i Tigris DTS System przy użyciu dwóch serii odczynników. Tabela 21 przedstawia informacje o zgodności wyników badań próbek pobranych przy użyciu zestawu CSCT wykonanych w systemie Panther System i w systemie Tigris DTS System.

Ogólna zgodność między wynikami z systemu Panther System i Tigris DTS System dla próbek pobranych przy użyciu zestawu była > 98% (patrz Tabela 21). Spośród 632 przebadanych próbek klinicznych 69 wykazało obecność zmian CIN2+, a 38 zmian CIN3+. Czulość testu Aptima HPV w detekcji zmian CIN2+ wynosiła 97,1% (95-procentowy przedział ufności 90,0%–99,2%) w systemie Panther System i 98,6% (95-procentowy przedział ufności: 92,2–99,7) w systemie Tigris DTS System. Czulość detekcji zmian CIN3+ wynosiła 100% (przedział ufności: 90,8%–100%) zarówno w systemie Panther System, jak i Tigris DTS System.

Tabela 21: Zgodność wyników testu Aptima HPV między systemem Panther System i Tigris DTS System dla próbek pobranych przy użyciu zestawu Aptima CSCT

		Tigris DTS System		
		Dodatni	Ujemny	Ogółem
Panther System	Dodatni	490	3	493
	Ujemny	9	130	139
	Ogółem	499	133	632

Zgodność ogólna = 98,1% (przedział ufności 96,7–98,9)

Zgodność wyników dodatnich = 98,2% (przedział ufności 96,6–99,0)

Zgodność wyników ujemnych = 97,7% (przedział ufności 93,6–99,2)

Kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HPV z próbkami pobranymi za pomocą zestawu do pobierania próbek wymazów Aptima Multitest

Skuteczność kliniczna badania próbek z pochwy pobranych przy użyciu zestawu do pobierania próbek Aptima Multitest Swab została wykazana w badaniu przeprowadzonym wśród kobiet w wieku 24–64 lat w Anglii⁴⁵. Do badania zakwalifikowano kobiety (spełniające kryteria włączenia i posiadające ważne wyniki badań HPV pobranych przez lekarza oraz samodzielnie pobranych), w tym kobiety skierowane na kolposkopię w celu dalszej diagnostyki po uzyskaniu dodatniego lub niewystarczającego wyniku badania HPV pobranego przez lekarza w ramach pierwotnych badań przesiewowych lub wczesnego ponownego badania przeprowadzonego najpóźniej 8 tygodni (≤ 56 dni) przed kolposkopią ($n = 78$), oraz kobiety w wieku 24–64 lat, które miały termin rutynowego badania przesiewowego w kierunku raka szyjki macicy lub były już po terminie ($n = 903$).

Od każdej uczestniczki badania pobrano jedną próbkę pobraną samodzielnie oraz jedną pobraną przez lekarza. Próbki pochwy pobrane za pomocą zestawu do pobierania próbek z wymazu Aptima Multitest podgrzewano wstępnie do temperatury 90°C przez 75 minut, a następnie pozostawiono do ostygnięcia przed przetworzeniem w systemie Panther System.

Współczynnik wrażliwości warunkowej dla próbek pobranych samodzielnie zdefiniowano jako odsetek przypadków CIN2+ wykrytych na podstawie dodatniego wyniku badania próbki pobranej przez lekarza, które dały również dodatni wynik testu na obecność wirusa HPV w przypadku próbki pobranej samodzielnie podczas rutynowej wizyty kolposkopowej.

Pod względem warunkowej czułości względnej u kobiet bez CIN2+ porównano liczbę kobiet w ramach podstawowych badań przesiewowych, które uzyskały ujemny wynik badania próbki pobranej samodzielnie podczas rutynowej wizyty przesiewowej, z liczbą kobiet, u których uzyskano ujemny wynik badania próbki pobranej przez lekarza.

Szacowana warunkowa czułość względna dla śródnabłonkowej neoplazji szyjki macicy wysokiego stopnia (CIN2+) wyniosła 0,92 (0,86–0,96), a dla CIN3+ – 1 (0,92–1,00). Szacowana względna specyficzność dla CIN2+ wyniosła 0,87 (0,85–0,89).

Granica wykrywalności (LoD) w próbkach szyjki macicy na poziomie odcięcia klinicznego

Granica wykrywalności (LoD) przy klinicznej wartości odcięcia to stężenie RNA wirusa HPV, które w 95% przypadków generuje wynik dodatni (powyżej odcięcia klinicznego). Granica wykrywalności testu Aptima HPV została określona poprzez badanie paneli rozcieńczeń transkryptów in vitro (IVT) wszystkich 14 genotypów wysokiego ryzyka i 4 linii komórkowych zakażonych HPV: SiHa, HeLa, MS751 i ME180 (ATCC, Manassas, Virginia). Panele IVT uzyskano w ten sposób, że do podłoża do transportu próbek dodawano transkrypty IVT o różnych stężeniach, a następnie przed wykonaniem testu dokonywano rozcieńczenia poszczególnymi ujemnymi próbkami do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep. Panele komórek zakażonych HPV uzyskano w ten sposób, że do próbek do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep, ujemnych w kierunku HPV, dodawano komórki zakażone HPV w różnych stężeniach, a następnie przed wykonaniem testu dokonywano rozcieńczenia podłożem do transportu próbek. Przebadano po trzydzieści powtórzeń z każdym poziomem liczby kopii z dwiema seriami odczytników, co dało łącznie 60 powtórzeń. Badania przy użyciu testu wykonywano w okresie 17 dni. W jednym dniu wykonywano od 1 do 12 serii, a w każdej serii badano 5 powtórzeń jednej kombinacji genotypu i stężenia. Granica wykrywalności z prawdopodobieństwem 95% została obliczona na podstawie analizy regresji probit wyników dodatnich dla każdego panelu rozcieńczeń.

W wynikach analizy probit (Tabela 22) można zauważyć, że 95-procentowe granice wykrywalności HPV typu 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 i 68 są niższe niż 100 kopii/reakcję; a 95-procentowe granice wykrywalności typów 52, 58 i 66 wynoszą między 100 a 500 kopii/reakcję. W przypadku czterech badanych linii komórkowych granice wykrywalności z prawdopodobieństwem 95% były niższe niż 1 komórka/reakcję.

Tabela 22: Granica wykrywalności w próbkach z szyjki macicy pobranych przez lekarza przy klinicznym progu odcięcia

Wykrywany typ/ linia komórkowa	Granica wykrywalności* (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)

* Liczba kopii na reakcję w przypadku IVT i liczba komórek na reakcję w przypadku linii komórkowych

Granica wykrywalności (LoD) w próbkach pochwy na poziomie odcięcia klinicznego

Granica wykrywalności testu Aptima HPV została określona poprzez badanie paneli rozcieńczeń IVT wszystkich 14 genotypów wysokiego ryzyka i 4 linii komórkowych zakażonych HPV (SiHa, HeLa, ME180 i MS751) w macierzy zbiorczych, ujemnych próbek pochwy pobranych samodzielnie przez pacjentkę pod kątem HPV. Do każdego ujemnego zbioru próbek macierzy wymazu z pochwy dodano stężenia docelowe poniżej, na poziomie i powyżej LoD. Przetestowano dwadzieścia replik każdego stężenia z każdą z 2 partii odczynników przy użyciu 2 systemów Panther/Panther Fusion. Granicę wykrywalności określono jako stężenie RNA HPV dające wynik dodatni w co najmniej 95% przypadków.

Tabela 23 przedstawia granicę wykrywalności ustaloną na podstawie partii odczynnika, dając najbardziej konserwatywną (najwyższą) granicę wykrywalności z dwustronnym przedziałem ufności 95%. 95-procentowe granice wykrywalności HPV typu 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 66 i 68 są niższe niż 100 kopii/reakcję; a 95-procentowe granice wykrywalności typów 52, 56, 58 i 59 wynoszą między 100 a 600 kopii/reakcję. 4 linie komórkowe mają 95% próg wykrywalności przy 1 lub mniej niż 1 komórka/reakcję.

Tabela 23: Granica wykrywalności w samodzielnie pobranych próbkach z pochwy na poziomie odcięcia klinicznego

Cel	Granica wykrywalności*	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%

* Liczba kopii na reakcję w przypadku IVT i liczba komórek na reakcję w przypadku linii komórkowych

Precyzja testu

Precyzję testu Aptima HPV oceniono w dwóch badaniach z użyciem tego samego panelu 20-elementowego. Badanie 1 prowadzono w 3 ośrodkach, 2 zewnętrznych i 1 wewnętrznym, a badanie 2 prowadzono samodzielnie. Panel składał się z 13 elementów HPV-dodatnich o stężeniach nie mniejszych niż granica wykrywalności testu (oczekiwany odsetek wyników dodatnich: $\geq 95\%$), 3 elementów HPV-dodatnich o stężeniach niższych niż granica wykrywalności testu (oczekiwany odsetek wyników dodatnich: $>0\%$ i $<25\%$) oraz z 4 elementów HPV-ujemnych. HPV-dodatnie elementy panelu przygotowano poprzez dodawanie transkryptów RNA in vitro (IVT) do roztworu PreservCyt rozcieńczonego podłożem do transportu próbek (STM) lub poprzez dodawanie wyhodowanych komórek zakażonych HPV (SiHa, HeLa i MS751; ATCC, Manassas, Virginia) do pul ujemnych próbek do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep rozcieńczonych podłożem STM. HPV-ujemne elementy panelu przygotowano z roztworu PreservCyt lub pul ujemnych próbek do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep rozcieńczonych podłożem STM.

W badaniach 1 i 2 operatorzy w każdym z 3 ośrodków (1 aparat na ośrodek) wykonywali 2 listy robocze testów Aptima HPV dziennie (1 z każdą serią odczytników) przez 3 dni. Każda lista robocza zawierała 3 powtórzenia każdego z elementów panelu do badania odtwarzalności. Przebadano po sto osiem (108) próbek z próbkami zawierającymi każdy element panelu (3 ośrodki x 1 aparat x 2 operatorów x 2 serie x 3 listy robocze x 3 powtórzenia). W badaniu 2 testy wykonywano samodzielnie przez okres 13 dni. Wykonano łącznie 162 badania reakcji z udziałem każdego elementu panelu (1 ośrodek x 3 aparaty x 3 operatorzy x 3 serie x 2 listy robocze x 3 powtórzenia).

Opisy elementów panelu zawierają następujące tabele: Tabela 24a (elementy panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi) i Tabela 24b (elementy panelu z oczekiwanymi wynikami ujemnymi). Zamieszczono także podsumowanie zgodności z oczekiwanymi wynikami oraz wartości S/CO analitu w 2,5., 50. i 97,5. centylu rozkładu S/CO. Zmienność S/CO analitu dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi przedstawia Tabela 25 (badanie 1) i Tabela 26 (badanie 2).

Tabela 24a: Badanie 1 i badanie 2 precyzji testu Aptima HPV: opis panelu, zgodność wyników dodatnich i rozkład centylowy S/CO analitu dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/reakcję)	Badanie 1 (3 ośrodki)				Badanie 2 (1 ośrodek)			
	Procentowa zgodność wyników dodatnich (95% CI)	S/CO analitu Percentyl			Procentowa zgodność wyników dodatnich (95% CI)	S/CO analitu Percentyl		
		2,5	50	97,5		2,5	50	97,5
Próbka kliniczna 1 wysokododatnia w kierunku HPV	100 (107/107) (96,5; 100)	21,16	29,64	33,63	100 (161/161) (97,7; 100)	22,50	26,84	30,67
Próbka kliniczna 2 wysokododatnia w kierunku HPV	100 (107/107) (96,5; 100)	25,98	29,77	36,03	100 (162/162) (97,7; 100)	25,00	28,61	33,99
IVT HPV 16 (1830 kopii)	100 (107/107) (96,5; 100)	10,45	11,18	12,40	100 (161/161) (97,1; 100)	10,40	11,07	11,75
IVT HPV 18 (1550 kopii)	100 (107/107) (96,5; 100)	13,09	14,55	18,08	100 (162/162) (97,7; 100)	11,26	13,47	15,63
Próbka kliniczna 1 niskododatnia w kierunku HPV	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
Próbka kliniczna 2 niskododatnia w kierunku HPV	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
Próbka kliniczna 3 niskododatnia w kierunku HPV	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
Próbka kliniczna 4 niskododatnia w kierunku HPV	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
IVT HPV 16 (183 kopii)	100 (102/102) (96,4; 100)	10,03	11,14	11,97	100 (162/162) (97,7; 100)	10,24	11,05	11,85
IVT HPV 18 (155 kopii)	100 (108/108) (96,6; 100)	4,87	12,01	15,21	100 (159/159) (97,6; 100)	7,82	11,59	13,84
Komórki MS751 (0,63 komórki)	100 (108/108) (96,6; 100)	5,90	10,99	14,00	100 (162/162) (97,7; 100)	5,61	10,14	12,26
Komórki HeLa (0,35 komórki)	100 (108/108) (96,6; 100)	1,43	6,19	13,28	100 (162/162) (97,7; 100)	3,24	7,88	12,58
Komórki SiHa (0,90 komórek)*	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 = transkrypt in vitro.

*Oczekiwana procentowa zgodność wyników dodatnich ~95%; zaobserwowana zgodność była niższa, prawdopodobnie ze względu na różnice produkcyjne w obrębie elementu panelu.

Tabela 24b: Badanie 1 i badanie 2 precyzji testu Aptima HPV: opis panelu, zgodność wyników ujemnych i rozkład centylowy S/CO analitu dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami ujemnymi

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/reakcję)	Badanie 1 (3 ośrodki)				Badanie 2 (1 ośrodek)			
	% zgodności wyników ujemnych (95% CI)	S/CO analitu Percentyl			% zgodności wyników ujemnych (95% CI)	S/CO analitu Percentyl		
		2,5	50	97,5		2,5	50	97,5
Komórki MS751 (0,005 komórki)	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
Komórki SiHa (0,008 komórki)	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
Komórki HeLa (0,02 komórki)	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
Próbka kliniczna 1 ujemna w kierunku HPV	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
Próbka kliniczna 2 ujemna w kierunku HPV	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
Roztwór 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
Roztwór 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

Tabela 25: Badanie 1 precyzji testu Aptima HPV: zmienność sygnału uzyskiwanego dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/reakcję)	n	Średnia wartość S/CO	Między aparaturami		Między operatorami		Między seriami		Między listami roboczymi		W obrębie list roboczych		Ogółem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Próbka kliniczna 1 wysokododatnia w kierunku HPV	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
Próbka kliniczna 2 wysokododatnia w kierunku HPV	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
IVT HPV 16 (1830 kopii)	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
IVT HPV 18 (1550 kopii)	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
Próbka kliniczna 1 niskododatnia w kierunku HPV	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
Próbka kliniczna 2 niskododatnia w kierunku HPV	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
Próbka kliniczna 3 niskododatnia w kierunku HPV	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
Próbka kliniczna 4 niskododatnia w kierunku HPV	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
IVT HPV 16 (183 kopii)	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
IVT HPV 18 (155 kopii)	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
Komórki MS751 (0,63 komórki)	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
Komórki HeLa (0,35 komórki)	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
Komórki SiHa (0,90 komórki)	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 = współczynnik zmienności; IVT = transkrypt in vitro; SD = odchylenie standardowe

*Dla dwunastu próbek uzyskano nieważne wyniki testu Aptima HPV (1 dla próbki klinicznej 1 wysokododatniej w kierunku HPV, 1 dla próbki klinicznej 2 wysokododatniej w kierunku HPV, 1 dla IVT HPV 16 (1830 kopii), 1 dla IVT HPV 18 (1550 kopii), 1 dla próbki klinicznej 1 niskododatniej w kierunku HPV, 6 dla IVT HPV 16 (183 kopie) i 1 dla komórek SiHa (0,90 komórki)).

Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna. Może to nastąpić wtedy, gdy zmienność wywołana tymi czynnikami jest bardzo niska. W takich przypadkach wartości SD i CV przedstawiono jako 0.

Tabela 26: Badanie 2 precyzji testu Aptima HPV: zmienność sygnału uzyskiwanego dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/reakcję)	n	Średnia wartość S/CO	Między aparaturami		Między operatorami		Między seriami		Między listami roboczymi		W obrębie list roboczych		Ogółem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Próbka kliniczna 1 wysokododatnia w kierunku HPV	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
Próbka kliniczna 2 wysokododatnia w kierunku HPV	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
IVT HPV 16 (1830 kopii)	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
IVT HPV 18 (1550 kopii)	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
Próbka kliniczna 1 niskododatnia w kierunku HPV	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
Próbka kliniczna 2 niskododatnia w kierunku HPV	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
Próbka kliniczna 3 niskododatnia w kierunku HPV	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
Próbka kliniczna 4 niskododatnia w kierunku HPV	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
IVT HPV 16 (183 kopii)	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
IVT HPV 18 (155 kopii)	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
Komórki MS751 (0,63 komórki)	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
Komórki HeLa (0,35 komórki)	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
Komórki SiHa (0,90 komórki)	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 = współczynnik zmienności; IVT = transkrypt in vitro; SD = odchylenie standardowe

*Dla sześciu próbek uzyskano nieważne wyniki testu Aptima HPV (1 dla próbki klinicznej 1 wysokododatniej w kierunku HPV, 1 dla IVT HPV 16 (1830 kopii), 1 dla próbki klinicznej 3 niskododatniej w kierunku HPV, 3 dla IVT HPV 18 (155 kopii)).

Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna. Może to nastąpić wtedy, gdy zmienność wywołana tymi czynnikami jest bardzo niska. W takich przypadkach wartości SD i CV przedstawiono jako 0.

Reaktywność krzyżowa

Uwaga: Badania przy użyciu testu Aptima HPV w obecności mikroorganizmów potencjalnie powodujących reaktywność krzyżową wykonywano w systemie Tigris DTS System. Test Aptima HPV po raz pierwszy wprowadzono na rynek w 2008 roku jako test wykonywany w systemie Tigris DTS System. W 2011 roku rozszerzono wskazania do stosowania testu genotypującego Aptima HPV, umożliwiając wykonywanie go w systemie Panther System. Panther System to przyrząd, który stanowi alternatywę dla systemu Tigris DTS System i jest od niego mniejszy. Oba systemy są przeznaczone do całkowitej automatyzacji diagnostycznych testów zamplikowanych kwasów nukleinowych. Wybrane badania pod kątem skuteczności działania testu przeprowadzone w systemie Tigris DTS System wykorzystano do potwierdzenia charakterystyki działania testu w systemie Panther System.

Swoistość analityczną testu Aptima HPV badano przy użyciu roztworu PreservCyt rozcieńczonego w stosunku 1:2,9 w podłożu STM, do którego dodawano wyhodowane bakterie, drożdże lub grzyby; wyhodowane wirusy; lub transkrypty *in vitro* HPV niskiego ryzyka. Tabela 27 zawiera listę mikroorganizmów i stężeń stosowanych w badaniu. Przyjęte w badaniu kryteria oceny wpływu obecności mikroorganizmu na swoistość testu oparte były na wynikach dodatnich. Zaobserwowano reaktywność krzyżową z genotypami HPV niskiego ryzyka 26, 67, 70 i 82, ale nie z jakimikolwiek innymi mikroorganizmami użytymi w badaniu.

Tabela 27: Panel swoistości analitycznej: Mikroorganizmy i stężenia niepowodujące reaktywności krzyżowej

Mikroorganizm	Badanie Stężenie Bez reaktywności krzyżowej	Mikroorganizm	Badanie Stężenie Bez reaktywności krzyżowej
Bakterie			
<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 and 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 ⁶ 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

Tabela 27: Panel swoistości analitycznej: Mikroorganizmy i stężenia niepowodujące reaktywności krzyżowej (ciąg dalszy)

Mikroorganizm	Badanie Stężenie Bez reaktywności krzyżowej	Mikroorganizm	Badanie Stężenie Bez reaktywności krzyżowej
<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>Finegoldia 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
<i>Lactobacillus gasseri</i> *	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Ureaplasma parvum</i> *	1 x 10 ⁶ genomiczny kopii/ml
<i>Lactobacillus iners</i> *	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml		
Drożdże/pierwotniaki			
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Pichia fermentans</i> *	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i> *	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Trichomonas tenax</i> *	1 x 10 ⁶ komórek/ml**
<i>Pentatrichomonas hominis</i> *	1 x 10 ⁶ komórek/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 x 10 ⁷ komórek/ml
Wirusy			
Adenowirus typu 2	1 x 10 ⁷ cz. wir./ml	Wirus opryszczki pospolitej typu 1	2,5 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
Adenowirus typu 40*	1 x 10 ⁵ kopii genomicznych/ml	Wirus opryszczki pospolitej typu 2	5 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Cytomegalowirus	5,6 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	HIV-1	1,0 x 10 ⁶ kopii/ml
Wirus Epsteina-Barr	4,3 x 10 ⁶ cz. wir./ml	SV40	1,2 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Genotypy HPV, na które nie jest ukierunkowany test			
HPV 6	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml	HPV 61	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml
HPV 11	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml	HPV 67	1 kopia/ml
HPV 26	2,5 kopii/ml	HPV 69	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml
HPV 30	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml	HPV 70	1 kopia/ml
HPV 34	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml	HPV 71	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml
HPV 42	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml	HPV 73	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml
HPV 43	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml	HPV 81	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml
HPV 44	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml	HPV 82	1 kopia/ml
HPV 53	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml	HPV 85	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml

Tabela 27: Panel swoistości analitycznej: Mikroorganizmy i stężenia niepowodujące reaktywności krzyżowej (ciąg dalszy)

Mikroorganizm	Badanie Stężenie Bez reaktywności krzyżowej	Mikroorganizm	Badanie Stężenie Bez reaktywności krzyżowej
HPV 54	2,5 x 10 ⁶ kopii/ml		

cz. wir. = cząstki wirusowe; CFU = jednostki tworzące kolonie; TCID50 = dawka zakaźna dla 50% kultury tkankowej

Uwaga: Czcionka pogrubiona oznacza typy, przy których zaobserwowano reaktywność krzyżową (>5% wyników dodatnich) w badaniach stężeń większych niż podane w tabeli.

* Dodatkowe organizmy pod kątem reaktywności krzyżowej i zakłóceń mikrobiologicznych oceniono w przypadku próbek z pochwy pobranych samodzielnie. Poddano testowi panel zawierający 15 organizmów na podłożu TM w nieobecności lub obecności komórek SiHa przy 3X LoD. Nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej ani interferencji mikrobiologicznych w przypadku żadnego z organizmów w przedstawionych stężeniach.

** Nie zaobserwowano żadnej reakcji krzyżowej w przypadku *Trichomonas tenax*. Choć w obecności *Trichomonas tenax* utrzymano 100% dodatnich wyników dla docelowego HPV (komórki SiHa w stężeniu 3-krotnie przekraczający granicę wykrywalności), zaobserwowano zmniejszenie wartości S/CO, które powróciły do normy po ponownym badaniu przy stężeniu 1 x 10⁶ komórek/ml.

Czułość analityczna testu Aptima HPV w obecności mikroorganizmów została zbadana przy użyciu tego samego panelu (patrz Tabela 27), do którego dodano komórki SiHa zakażone HPV w niskim stężeniu (1 komórka na reakcję). Przyjęte w badaniu kryteria oceny wpływu obecności mikroorganizmu na czułość testu oparte były na wynikach dodatnich. Żaden z mikroorganizmów użytych w badaniu nie wpływał na czułość testu Aptima HPV.

Interferencja

Uwaga: Badania przy użyciu testu Aptima HPV w obecności substancji potencjalnie powodujących zakłócenia wykonywano w systemie Tigris DTS System. Test Aptima HPV po raz pierwszy wprowadzono na rynek w 2008 roku jako test wykonywany w systemie Tigris DTS System. W 2011 roku rozszerzono wskazania do stosowania testu Aptima HPV, umożliwiając wykonywanie go w systemie Panther System. Panther System to przyrząd, który stanowi alternatywę w porównaniu do systemu Tigris DTS System i jest od niego mniejszy. Oba systemy są przeznaczone do całkowitej automatyzacji diagnostycznych testów zamplifikowanych kwasów nukleinowych. Wybrane badania pod kątem skuteczności działania testu przeprowadzone w systemie Tigris DTS System wykorzystano do potwierdzenia charakterystyki działania testu w systemie Panther System.

Każda z substancji, których listę zawiera Tabela 28, została osobno dodana do roztworu PreservCyt w stężeniach 1% i 10% (objętościowych i masowo-objętościowych), a następnie po rozcieńczeniu podłożem STM przebadana testem Aptima HPV. Wszystkie substancje badano w obecności i bez obecności wyhodowanych komórek zakażonych HPV (SiHa, 3 komórki/reakcję). Zaobserwowano interferencję w obecności dwóch z siedmiu lubrykantów zawierających Polyquaternium 15 oraz jednego z pięciu leków przeciwgrzybiczych zawierających tiokonazol. Interferencji nie zaobserwowano w obecności żadnej innej badanej substancji.

Tabela 28: Substancje badane pod kątem wywoływania interferencji w działaniu testu Aptima HPV

Kategoria produktów	Marka lub rodzaj produktu	Najwyższe przebadane stężenie*, które nie zakłócało działania testu
Środek nawilżający	KY Sensual Mist	10% obj.
	KY Warming Jelly	10% masowo-obj.
	KY Warming Liquid	10% obj.
	Personal Lubricant marki CVS	10% masowo-obj.
	Warming Massage Lotion and Personal Lubricant marki Target	10% obj.
	Osobisty środek nawilżający Astroglide**	0,3% masowo-obj. (badana próbka 0,075% masowo-obj.)
	Płyn nawilżający marki Target**	0,1% obj./obj. (badana próbka 0,025% masowo-obj.)
Środek plemnikobójczy	Gynol II Vaginal Contraceptive Original Formula	10% masowo-obj.
	Gynol II Vaginal Contraceptive Extra Strength	10% masowo-obj.
	Delfen Vaginal Contraceptive Foam	10% masowo-obj.
	Encare Vaginal Contraceptive	10% masowo-obj.
	Conceptrol Vaginal Contraceptive	10% masowo-obj.
Lek przeciwgrzybiczy/ przeciwsiwidłowy	Vagisil Maximum Strength	10% masowo-obj.
	Monistat Soothing Care	10% masowo-obj.
	Monistat 3 Combination Pack	10% masowo-obj.
	Tioconazole 1 marki Target	0,3% masowo-obj. (badana próbka 0,075% masowo-obj.)
	Miconazole 3 marki Target	10% masowo-obj.
Żel antybiotykowy[†]	Żel metronidazolowy	123 µg/ml
Krem przeciwwirusowy[†]	Krem Zovirax (acyklowir)	66 µg/ml
	Krem na hemoroidy Preparation H	5% masowo-obj.
Krem na hemoroidy[†]	Krem na hemoroidy Anusol^{††}	1% masowo-obj.
	Krem na hemoroidy Preparation H	5% masowo-obj.
Krem sterydowy[†]	Krem łagodzący swędzenie Cortizone-10 Max Strength	5% masowo-obj.
Płyn do higieny intymnej[†]	Roztwór antyseptyczny Dynarex Povidone-Jodine Prep	5% obj./obj.
	Płyn do higieny intymnej Summer's Eve, ocet i woda o działaniu dodatkowo oczyszczającym	5% obj./obj.
	Płyn do higieny intymnej Summer's Eve redukujący nieprzyjemny zapach	5% masowo-obj.
Roztwór do płukania dla kobiet[†]	Oczyszczający środek do płukania Summer's Eve	5% obj./obj.
	Płyn do mycia na sucho Vagisil	5% obj./obj.
Żel eliminujący zapachy[†]	Żel eliminujący zapachy RepHresh	5% obj./obj.
Środek do dezynfekcji rąk[†]	Środek do dezynfekcji rąk Germ-X	5% masowo-obj.
Mydło do rąk[†]	Antybakteryjne mydło w płynie do rąk Dial	5% masowo-obj.
	Żelowe mydło do mycia rąk Method	5% masowo-obj.
Balsam[†]	Balsam do ciała NIVEA	5% masowo-obj.

Tabela 28: Substancje badane pod kątem wywoływania interferencji w działaniu testu Aptima HPV (ciąg dalszy)

Kategoria produktów	Marka lub rodzaj produktu	Najwyższe przebadane stężenie*, które nie zakłócało działania testu
	Balsam nawilżający CeraVe	5% masowo-obj.
Krem przeciwsłoneczny†	Krem przeciwsłoneczny Neutrogena	5% masowo-obj.
	Balsam przeciwsłoneczny nawilżający NIVEA	5% masowo-obj.
	Krem przeciwsłoneczny Coppertone Sport z filtrami mineralnymi**	2,5% masowo-obj.
Kwas octowy lodowaty	EMD M/N AX0073-11	10% obj.
Krew pełna	Krew pełna	10% obj.
Śluz†	Mucyna wieprzowa**	2,5% masowo-obj.
Hormony dopochwowe†	Estradiol (estrogen)	7,5 pg/ml
	Progesteron	0,18 mg/ml
Płyn nasienny†	Płyn nasienny	5% obj./obj.
Leukocyty†	Leukocyty	1 x 10 ⁶ komórek/ml

* Stężenie w próbce roztworu PreservCyt; stężenie w badanej próbce wynosi 1/4 pierwotnego stężenia w wyniku przeniesienia próbki roztworu PreservCyt do probówki transferowej zawierającej STM.

** Osobiste środki nawilżające zawierające polikwaternium 15.

† Oceniono wpływ dodatkowych substancji na wyniki badań próbek z pochwy pobranych samodzielnie. Poddano testowi panel zawierający 15 organizmów na podłożu do transportu próbek (STM) w nieobecności lub obecności komórek SiHa przy 3X LoD.

** Zakłócenia zaobserwowano w przypadku obecności następujących substancji w stężeniach wyższych niż wskazane: krem na hemoroidy (zawierające tlenek cynku, tlenek bizmutu i balsam Peru) w stężeniu 1% masowo-obj., krem przeciwsłoneczny (zawierający tlenek cynku) w stężeniu 2,5% masowo-obj., śluz w stężeniu 2,5% masowo-obj.

Bibliografia

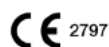
1. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)*. **110(5)**:525-41.
2. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer*. **108(3)**:329-33. Erratum in: *Int J Cancer*. **108(6)**:945.
3. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*. **189**:12-19.
4. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **90(12)**:5583-7.
5. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ*. **325(7364)**: 572-579.
6. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*. **16(1)**:1-17.
7. **Li N., S. Franceschi, R. Howell-Jones, P. J. Snijders, G. M. Clifford.** 2010. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*, n/a. doi: 10.1002/ijc.25396.
8. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol.* **73(1)**: 65-70.
9. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol*. **32 Suppl 1**:S16-24.
10. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer*. **64(3)**:211-5.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2010; 20(8):1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011; 49(2):557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer*. 2011;129:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology*. 2012;125:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2013;23(3):513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer*. 2013;108:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, Lynge E.** Prevalence of human papillomavirus infection in unselected SurePath samples using the APTIMA HPV mRNA assay. *The Journal of Molecular Diagnostics*:2013;15(5):670-7.
18. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lynge E.** A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer*. 2015;51:1456-66.
19. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lynge E.** Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above. *PLoS One*. 2016 Jan 20;11(1):e0147326.
20. **Preisler S, Rebolj M, Ejegod DM, Lynge E, Rygaard C, Bonde J.** Cross-reactivity profiles of hybrid capture II, cobas, and APTIMA human papillomavirus assays: split-sample study. *BMC Cancer*. 2016;16:510.
21. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lynge E.** Differential Detection of Human Papillomavirus Genotypes and Cervical Intraepithelial Neoplasia by Four Commercial Assays. *Journal of Clinical Microbiology*. 2016;54(11):2669-2675.
22. **Rebolj M, Njor S, Lynge E, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Bonde J.** Referral population studies underestimate differences between human papillomavirus assays in primary cervical screening. *Cytopathology*. 2017;28(5):419-428.
23. **Heideman DAM, Hesselink AT, van Kemenade FJ, Iftner T, Berkhof J, Topal F, et al.** The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013;51(11):3653-7.
24. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, 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. HPVValidate-human papillomavirus testing with DNA and mRNA assays on self-collected samples in cervical screening: comparison of test characteristics on three self-sampling devices. *British journal of cancer*, 133(5), 665–673.

Informacje kontaktowe i historia wersji



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

Adres e-mail i numer telefonu działu pomocy technicznej i obsługi klienta właściwe dla danego kraju można znaleźć na stronie www.hologic.com/support.

Poważne zdarzenia, które miały miejsce w związku z wyrobem w Unii Europejskiej należy zgłaszać do producenta oraz właściwego urzędu państwa członkowskiego, w którym ma siedzibę użytkownik/mieszka pacjent.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris i powiązane logo są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic i/lub spółek zależnych w Stanach Zjednoczonych i/lub innych państwach.

SurePath i PrepStain są znakami handlowymi firmy BD.

Wszystkie inne znaki towarowe, które mogą się pojawić w tej ulotce załączonej do opakowania, należą do ich odpowiednich właścicieli.

Opisywany produkt może być objęty co najmniej jednym patentem w Stanach Zjednoczonych spośród wymienionych na stronie www.hologic.com/patents.

©2016–2026 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

AW-22202-3401 Wer. 003

2026-04

Historia wersji	Data	Opis
AW-22202-3401 Wer. 001	Marzec 2023	• Utworzono Instrukcję użycia testu Aptima™ HPV (Panther™ System) AW-22202 Wer. 001 na podstawie dokumentu AW-14517 Wer. 007 w celu zapewnienia zgodności z rozporządzeniem IVDR. • Zaktualizowano przeznaczenie poprzez usunięcie odniesienia do stosowania w systemach Tigris DTS. • Dodano: Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej. • Zaktualizowano sekcję Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami UE. • Zaktualizowane sekcje Ostrzeżenia i środki ostrożności, Wymagania dotyczące przechowywania i obchodzenia się z odczynnikami, Pobieranie i przechowywanie próbek, Dostarczane odczynniki i materiały, Materiały wymagane, ale dostępne oddzielnie, Procedura testowa systemu Panther System, Ograniczenia, Tabele precyzji testów, Reaktywność krzyżowa, Interferencja i Bibliografia. • Zaktualizowano informacje kontaktowe, w tym: przedstawiciela w WE, znak CE, informacje o przedstawicielu w Australii i pomocy technicznej • Wprowadzono różne zmiany w stylu i formatowaniu.
AW-22202-3401 Wer. 002	Sierpień 2024 r.	• Zaktualizowano tabelę próbek przedstawiających skuteczność kliniczną SurePath.

Historia wersji	Data	Opis
AW-22202-3401 Wer. 003	Kwiecień 2026	• Dodano informacje dotyczące bezpieczeństwa, takie jak dobre praktyki standardowe i uniwersalne środki ostrożności • Zaktualizowano tabelę SDS • Zaktualizowano instrukcje przygotowania odczynników nowego zestawu • Zaktualizowano sekcję Ograniczenia • Dodano sekcję Kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HPV z próbkami pobranymi za pomocą zestawu do pobierania próbek wymazów Aptima Multitest • Zaktualizowana tabelę zakłóceń substancji oraz organizmów/stężeń • Usunięto sekcje procesora ThingPrep dla pre- i post-cytologii • Zaktualizowano informacje o bibliografii