

## Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45

Do diagnostyki *in vitro*.

Tylko na eksport poza USA.

<b>Informacje ogólne</b> .....	<b>2</b>
Przeznaczenie .....	2
Podsumowanie i objaśnienie testu .....	2
Zasady procedury .....	3
Ostrzeżenia i środki ostrożności .....	4
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi .....	5
Pobieranie i przechowywanie próbek .....	6
<b>Interpretacja testu</b> .....	<b>20</b>
<b>Ograniczenia</b> .....	<b>21</b>
<b>Oczekiwane wyniki w systemie Tigris DTS: Częstość występowania mRNA wirusa HPV wysokiego ryzyka</b> .....	<b>22</b>
<b>Skuteczność testu w systemie Tigris DTS</b> .....	<b>23</b>
<b>Oczekiwane wyniki w Panther System: Częstość występowania mRNA wirusa HPV wysokiego ryzyka</b> .....	<b>42</b>
<b>Skuteczność testu w Panther System</b> .....	<b>43</b>
<b>Bibliografia</b> .....	<b>60</b>

### System Tigris™ DTS™

<b>System Tigris DTS</b> .....	<b>9</b>
Dostarczone odczynniki i materiały .....	9
Materiały wymagane, ale dostępne osobno .....	10
Procedura testu w systemie Tigris DTS .....	11
Uwagi dotyczące procedury .....	13

### Panther™ System

<b>Panther System</b> .....	<b>14</b>
Dostarczone odczynniki i materiały .....	14
Materiały wymagane, ale dostępne osobno .....	15
Procedura testu w Panther System .....	16
Uwagi dotyczące procedury .....	18

## Informacje ogólne

### Przeznaczenie

Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45 to test amplifikacji kwasów nukleinowych *in vitro* do jakościowego wykrywania RNA informacyjnego (mRNA) genów E6/E7 ludzkiego wirusa brodawczaka (HPV) typów wysokiego ryzyka 16, 18 i 45 w próbkach pobranych od kobiet z dodatnimi wynikami testu Aptima HPV. mRNA wirusa HPV wykrywany jest w płynnych próbkach cytologicznych Pap z kanału szyjki macicy pobranych w fiolkach ThinPrep™ zawierających roztwór PreservCyt™ przed lub po przetworzeniu Pap lub w próbkach pobranych za pomocą zestawu Aptima do pobierania i transportu próbek z kanału szyjki macicy. Próbki z kanału szyjki macicy pobrane w płynie konserwującym SurePath można badać przy użyciu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45. Test używany jest wraz z systemami Tigris DTS oraz Panther System.

### 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.<sup>1,2,3</sup> Wirus HPV to powszechnie występujący wirus DNA przenoszony drogą płciową. Wyodrębniono ponad 100 genotypów wirusa HPV.<sup>4</sup>

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), zakłócając punkty kontrolne cyklu komórkowego i wywołując niestabilność genomu komórki.<sup>5,6</sup>

Czternaście genotypów wirusa HPV uważa się za genotypy chorobotwórcze lub genotypy stwarzające wysokie ryzyko progresji choroby szyjki macicy.<sup>7</sup> W wielu badaniach udowodniono związek genotypów 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 i 68 z postępem choroby.<sup>2,5,8</sup> Pacjentki, u których występuje przetrwałe zakażenie jednym z tych typów wirusa, są obarczone zwiększonym ryzykiem rozwoju ciężkiej dysplazji lub raka szyjki macicy.<sup>7,9</sup>

Badania wykazały, że różne typy wirusa HPV wysokiego ryzyka wiążą się z różnym poziomem ryzyka rozwoju ciężkiej dysplazji lub raka szyjki macicy. Na całym świecie typy 16, 18 i 45 wirusa HPV są związane z około 80% wszystkich inwazyjnych raków szyjki macicy.<sup>2,10</sup> Te trzy typy występują przy 75% wszystkich raków płaskonabłonkowych, przy czym typ 16 stanowi większość (85%) tych zakażeń. W przypadku gruczolakoraków HPV typu 16, 18 i 45 stwierdza się w 80-94% przypadków, przy czym typy 18 i 45 stanowią prawie połowę zakażeń.<sup>2,10</sup> Obecność HPV typu 18 we wczesnym stadium raka szyjki macicy wiąże się ze złym rokowaniem.<sup>11</sup> HPV typu 18 i 45 są zbyt rzadko wykrywane w zmianach przedrakowych, co może być spowodowane obecnością zmian utajonych w kanale szyjki macicy, niedostępnych dla badania kolposkopowego.<sup>12</sup> U kobiet zakażonych HPV typu 16 i/lub 18 skumulowane ryzyko rozwoju choroby szyjki macicy jest 10-krotnie wyższe w porównaniu z ryzykiem rozwoju choroby wywołanej przez inne typy wysokiego ryzyka.<sup>13,14,15</sup>

## Zasady procedury

Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45 obejmuje trzy główne etapy, przy czym wszystkie odbywają się w jednej próbówce: wychwytywanie cząsteczek szukanych; amplifikację cząsteczek szukanych techniką amplifikacji z mediacją transkrypcji (Transcription Mediated Amplification, TMA)<sup>16</sup> oraz wykrywanie produktów amplifikacji (amplikonów) za pomocą testu ochrony hybrydyzacji (Hybridization Protection Assay, HPA).<sup>17</sup> 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 próbówki 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 próbówki zawierającej to podłoże. Po wykonaniu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45, szukane mRNA jest izolowane z próbki dzięki zastosowaniu odpowiedzialnych za wychwytywanie oligomerów, połączonych z mikrocząsteczkami magnetycznymi. Oligomery wychytujące zawierają sekwencje komplementarne do swoistych regionów szukanych cząsteczek mRNA wirusa HPV, a także ciąg reszt dezoksyadenozyny. W etapie hybrydyzacji regiony swoiste dla sekwencji oligomerów wychytujących wiążą się ze swoistymi regionami cząsteczki szukanej mRNA wirusa HPV. Następnie kompleks oligomer odpowiedzialny za wychyt-cząsteczka szukana jest wychwytywany z roztworu dzięki obniżeniu temperatury reakcji do temperatury pokojowej. Ten spadek temperatury umożliwia hybrydyzację między obszarem deoksyadenozyny oligomeru odpowiedzialnego za wychyt i cząsteczkami polideoksytymidyny, które są połączone wiązaniami kowalencyjnymi z cząsteczkami magnetycznymi. Mikrocząstki ze związanymi z nimi wychwyconymi szukanimi cząsteczkami mRNA wirusa HPV są przyciągane do ścianki próbówki reakcyjnej przy użyciu magneśców, a supernatant jest aspirowany. Cząsteczki są przepłukiwane, aby usunąć pozostałości matrycy komórkowej próbki, która może zawierać inhibitory amplifikacji.

Po zakończeniu wychwytu cząsteczek szukanych 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 szukanej sekwencji mRNA zawierającej sekwencję promotora 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 etapie 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 granicznej (signal-to-cutoff, S/CO) dla analitu.

Kontrola wewnętrzna (IC) jest dodawana do każdej reakcji za pośrednictwem odczynnika do wychwytywania cząsteczek szukanych (Target Capture Reagent, TCR). Kontrola IC służy do monitorowania etapów testu – wychwytu, amplifikacji i wykrywania cząsteczek szukanych. Test podwójnej kinetyki (Dual Kinetic Assay, DKA) to metoda używana do rozróżniania sygnałów HPV i sygnału IC.<sup>18</sup> IC i amplikon HPV 16 są wykrywane przez sondy o szybkiej kinetyce emisji światła (sygnał błyskowy). Sygnał IC w każdej reakcji jest odróżniany od sygnału HPV 16 na podstawie wielkości emisji światła. Amplikony swoiste dla wirusa HPV 18 i 45 wykrywane są za pomocą sond ze stosunkowo wolniejszą kinetyką emisji światła (sygnał żarowy).

## Ostrzeżenia i środki ostrożności

- A. Do diagnostyki *in vitro*.
- B. Do użycia przez profesjonalistów.
- C. Dodatkowe szczególne ostrzeżenia i środki ostrożności dotyczące przyrządów opisano w *Instrukcji obsługi systemu Tigris DTS* oraz *Instrukcji obsługi Panther 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 bezpydrowe, 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 Tigris DTS* lub *Procedura testu w Panther System*.



## Kwestie dotyczące próbek

- H. 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.
- I. Daty ważności podane na zestawach i probówkach do pobierania/przenoszenia próbek obowiązują ośrodek, w którym 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.
- J. Próbki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności. Właściwe metody postępowania z próbkami oraz utylizacji próbek powinien określić kierownik laboratorium. Do wykonania opisywanej tutaj procedury może być dopuszczony wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie postępowania z materiałami zakaźnymi.
- K. W czasie etapów pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. Należy dopilnować, aby pojemniki na próbki nie stykały się ze sobą, a zużyte materiały wyrzucić bez przesuwania ich nad jakimikolwiek otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbką.
- L. W pewnych warunkach z zakrętek probówek, po ich przekłuciu, może wypływać płyn. Aby uzyskać więcej informacji, patrz *Procedura testu w systemie Tigris DTS* lub *Procedura testu w Panther System*.
- M. Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep i próbki pobrane przy użyciu zestawu Aptima 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.
- N. Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath nie kwalifikują się do badania, jeśli fiolka nie zawiera przyrządu do pobierania materiału.

**Kwestie dotyczące testu**

- O. Odczynniki należy przechowywać w określonych temperaturach. W przypadku użycia odczynników przechowywanych w niewłaściwych warunkach charakterystyka działania testu może ulec zmianie.
- P. Unikać kontaminacji odczynników przez drobnoustroje i rybonukleazy.
- Q. Nie używać zestawu po upływie terminu ważności.
- R. Nie zamieniać, nie mieszać ani nie łączyć odczynników analitycznych lub kalibratorów pochodzących z zestawów o różnych numerach serii.
- S. Płynne odczynniki analityczne Aptima, płyn konserwujący do systemu Aptima (tylko w przypadku użycia systemu Tigris DTS) i odczynniki Auto Detect do testu Aptima nie są częścią partii głównej; dozwolone jest użycie dowolnej partii tych materiałów.
- T. Do uzyskania dokładnych wyników testu niezbędne jest dokładne wymieszanie odczynników analitycznych.
- U. Należy używać końcówek z hydrofobowymi korkami.
- V. 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.hologiccsds.com](http://www.hologiccsds.com).

<b>Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami UE</b>	
	<p><b>Odczynnik selekcyjny</b>  <b>KWAS BOROWY 1-5%</b>            Wodorotlenek sodu &lt; 1%  <b>OSTRZEŻENIE</b>            H315 – Działa drażniąco na skórę            H319 – Działa drażniąco na oczy</p>
	<p><b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych</b>  <b>EDTA 1-5%</b>            H411 – Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki            P273 – Unikać uwolnienia do środowiska            P280 – Stosować ochronę oczu / ochronę twarzy</p>

**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 amplifikacji genu HPV 16 18/45
  - Odczynnik enzymatyczny do testu HPV 16 18/45
  - Odczynnik-sonda dla genu HPV 16 18/45
  - Odczynnik kontroli wewnętrznej do testu HPV 16 18/45
  - Dodatknie kalibratory HPV 16 18/45 oraz ujemne kalibratory HPV 16 18/45

- B. Następujące odczynniki należy przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C (w temperaturze pokojowej):  
Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji HPV 16 18/45  
Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych do testu HPV 16 18/45  
Roztwór do przygotowania sond do testu HPV 16 18/45  
Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych HPV 16 18/45  
Odczynnik selekcyjny do testu HPV 16 18/45  
Roztwór do płukania  
Odczynnik olejowy  
Bufor do płynu dezaktywującego  
Odczynnik Auto Detect 1  
Odczynnik Auto Detect 2  
Płyn konserwujący do systemu Aptima (tylko w przypadku użycia systemu Tigris DTS)
- C. Po przygotowaniu, następujące odczynniki zachowują stabilność przez 30 dni, gdy są przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C:  
Odczynnik amplifikacji genu HPV 16 18/45  
Odczynnik enzymatyczny do testu HPV 16 18/45  
Odczynnik-sonda dla genu HPV 16 18/45
- D. Roboczy odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych (Working Target Capture Reagent, odczynnik wTCR) zachowuje stabilność przez 30 dni, gdy jest przechowywany w temperaturze od 15°C do 30°C. Nie przechowywać w warunkach chłodniczych.
- E. Niewykorzystane przygotowane odczynniki oraz odczynnik wTCR wyrzucić po 30 dniach lub po upływie daty ważności partii głównej, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.
- F. Odczynniki analityczne do testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 są stabilne łącznie przez 48 godzin, gdy są przechowywane w systemie Tigris DTS.
- G. Odczynniki analityczne do testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 są stabilne łącznie przez 72 godziny, gdy są przechowywane w systemie Panther System.
- H. Odczynnik-sonda oraz przygotowany odczynnik-sonda są wrażliwe na światło. Przechowywane odczynniki należy chronić przed ekspozycją na światło.
- I. Nie zamrażać odczynników.

## Pobieranie i przechowywanie próbek

- A. Pobieranie i obróbka próbek przeznaczonych do analizy

### *Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep*

1. Próbki 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 obróbce w systemie ThinPrep 2000, systemie ThinPrep 3000, procesorze ThinPrep 5000, procesorze ThinPrep 5000 z podajnikiem automatycznym lub procesorze ThinPrep Genesis przenieść 1 mL próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep do probówki do przenoszenia próbek Aptima, zgodnie z ulotką dołączoną do opakowania zestawu 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 próbkę do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath do próbki do przenoszenia próbek Aptima zgodnie z instrukcją zamieszczoną w ulotce dołączonej do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima.

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

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

**B. Transport i przechowywanie próbek przed wykonaniem testu***Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep*

1. Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep transportować w temperaturze od 2°C do 30°C.
2. Próbki należy przenieść do próbki 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. Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep przeniesione do próbek 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 próbce do przenoszenia próbek można przechowywać w temperaturze od -20°C do -70°C przez maksymalnie 24 miesiące.

*Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath*

1. Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath transportować w temperaturze od 2°C do 25°C.
2. Próbki należy przenieść do próbki 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. Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath przeniesione do próbek do przenoszenia próbek Aptima mogą być przechowywane w temperaturze od 2°C do 25°C przez maksymalnie 7 dni.
5. Przed zbadaniem za pomocą testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45, przeniesione próbki SurePath muszą zostać poddane obróbce przy użyciu roztworu do przenoszenia próbek Aptima. Próbki poddane obróbce mogą być przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C przez maksymalnie 17 dni przed zbadaniem za pomocą testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45. Więcej informacji można znaleźć w ulotce dołączonej do opakowania zestawu do przenoszenia próbek.

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

1. Próbki 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 do -70°C lub niższej przez maksymalnie 24 miesiące.

**C. Przechowywanie próbek po wykonaniu testu**

1. Próbki, 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 przepuszczalną zakrętkę i założyć nową nieprzepuszczalną zakrętkę na probówkę z próbkami. Jeżeli konieczne jest wysłanie próbek do badania do innej placówki, należy zawsze przestrzegać zalecanych warunków termicznych. Przed zdjęciem zakrętek z wcześniej badanych próbek, na które nałożono nowe zakrętki, probówki z próbkami należy wirować przez 5 minut przy 420 RCF (względna siła odśrodkowa), aby całość cieczy znalazła się na dnie probówki.

**Uwaga:** *Próbki należy przesyłać zgodnie z odpowiednimi lokalnymi, krajowymi i międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu.*



## System Tigris DTS

## Dostarczone odczynniki i materiały

Zestaw testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45, 100 testów (3 opakowania) kat. nr 303234

Kalibratory można kupować oddzielnie. Numery katalogowe osobnych pudełek podano poniżej.

**Pudełko chłodnicze do testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45**  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
A	<b>Odczynnik amplifikacji genu HPV 16 18/45</b> <i>Liofilizowane niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym zawierającym &lt; 5% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
E	<b>Odczynnik enzymatyczny do testu HPV 16 18/45</b> <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES zawierającym &lt; 10% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
P	<b>Odczynnik-sonda dla genu HPV 16 18/45</b> <i>Liofilizowane niezakaźne chemiluminescencyjne sondy DNA (&lt; 500 ng/fiolkę) w roztworze buforowanym bursztynianem zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	1 fiolka
IC	<b>Odczynnik kontroli wewnętrznej do testu HPV 16 18/45</b> <i>Niezakaźny transkrypt RNA w roztworze buforowanym zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	1 fiolka

**Pudełko do przechowywania w temperaturze pokojowej testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45**  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
AR	<b>Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji HPV 16 18/45</b> <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1 fiolka
ER	<b>Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych do testu HPV 16 18/45</b> <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 fiolka
PR	<b>Roztwór do przygotowania sond do testu HPV 16 18/45</b> <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający &lt; 5% detergentu.</i>	1 fiolka
S	<b>Odczynnik selekcyjny do testu HPV 16 18/45</b> <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1 fiolka
TCR	<b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych HPV 16 18/45</b> <i>Niezakaźny kwas nukleinowy w roztworze buforowanym zawierającym fazę stałą (&lt; 0,5 mg/mL).</i>	1 fiolka
	<b>Kołnierze do przygotowania odczynników</b>	3
	<b>Karta z kodami kreskowymi partii głównych</b>	1 karta

**Pudełko chłodnicze do testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45 (kat. nr 303235)**  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
PCAL1	<b>Kalibrator dodatni 1 wirusa HPV 16 18/45</b> <i>Niezakaźny materiał wirusa HPV 18 otrzymany w wyniku transkrypcji in vitro w ilości 750 kopii na mL, w roztworze buforowanym zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	5 fiolek
PCAL2	<b>Kalibrator dodatni 2 wirusa HPV 16 18/45</b> <i>Niezakaźny materiał wirusa HPV 16 otrzymany w wyniku transkrypcji in vitro w ilości 1000 kopii na mL, w roztworze buforowanym zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	5 fiolek
NCAL	<b>Kalibrator ujemny HPV 16 18/45</b> <i>Roztwór buforowany zawierający &lt; 5% detergentu.</i>	5 fiolek

### Materiały wymagane, ale dostępne osobno

**Uwaga:** Materiały dostarczane przez Hologic są zaopatrzone w numery katalogowe, chyba że podano inaczej.

	<u>Kat. Nr</u>
System Tigris DTS	105118
Zestaw wstępny do systemu Tigris DTS	301191
<i>Zestawy wieloprobówkowe (MTU)</i>	104772-02
<i>Worki na zużyte końcówki zasysające do MTU</i>	900907
<i>Oslony pojemników na odpady MTU</i>	900931
<i>Pokrywy pojemników na odpady MTU</i>	105523
Zestaw płynów do testu Aptima	302382
<i>(Roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima oraz odczynnik olejowy Aptima)</i>	
Zestaw Aptima Auto Detect	301048
Zestaw ze środkiem konserwującym do systemu Aptima	302380
Końcówki, 1000 µL, przewodzące, z detekcją cieczy	10612513 (Tecan)
Zestaw do przenoszenia próbek Aptima	301154C
Zestaw do przenoszenia próbek Aptima – drukowalny	PRD-05110
Zestaw Aptima do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy	302657
Zakrętki przepuszczalne Aptima	105668
Zamienne zakrętki nieprzepuszczalne	103036A
Zapasowe zakrętki do zestawów 100 testów:	
<i>Roztwory do przygotowania odczynnika amplifikacji i odczynnika-sondy</i>	CL0041
<i>Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego</i>	CL0041
<i>Odczynnik TCR i selekcyjny</i>	501604
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu co najmniej 5% lub 0,7 M	–
Woda do systemu Tigris DTS	–
<i>specyfikację zawiera Instrukcja obsługi systemu Tigris DTS</i>	
Rękawiczki jednorazowe	–
Zestaw roztworu do przenoszenia Aptima (tylko do próbek na podłożu SurePath)	303658

### Materiały opcjonalne

	<u>Kat. Nr</u>
Wzmacniacz wybielacza do czyszczenia	302101

## Procedura testu w systemie Tigris DTS

**Uwaga:** Dodatkowe informacje na temat procedury przedstawiono w Instrukcji obsługi systemu Tigris DTS.

### A. Przygotowanie obszaru roboczego

Oczyścić powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki. Wyrzeć powierzchnie robocze i pipetory roztworem podchlorynu sodu (od 2,5% do 3,5%; od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien oddziaływać na powierzchnie robocze i pipetory przez co najmniej 1 minutę, następnie należy spłukać go wodą. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię roboczą, na której będą przygotowywane odczynniki, czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.

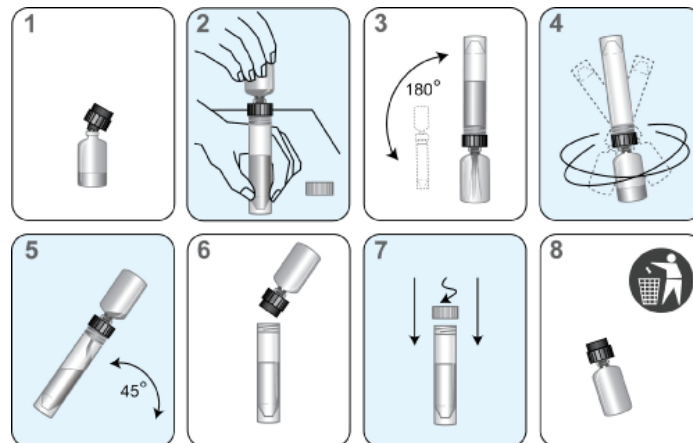
### B. Przygotowanie odczynników nowego zestawu

**Uwaga:** Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem jakichkolwiek prac w systemie Tigris DTS.

1. Aby przygotować odczynniki amplifikacji, odczynniki enzymatyczne i odczynniki-sondy, należy połączyć zawartość butelek z liofilizowanymi odczynnikiemami z zawartością butelek z roztworami do przygotowania. Jeśli odczynniki były przechowywane w chłodziarce, przed użyciem należy odczekać, aż roztwory do przygotowania odczynników osiągną temperaturę pokojową.
  - a. Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika.
  - b. Sprawdzić numery partii na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
  - c. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem i mocno wcisnąć przycięty koniec kołnierza do przygotowania odczynników w otwór fiolki (Rysunek 1, etap 1).
  - d. Otworzyć butelkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania odczynników i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
  - e. Trzymając buteleczkę z roztworem na stole, mocno włożyć drugi koniec kołnierza do przygotowania odczynników do otworu butelki (Rysunek 1, etap 2).
  - f. Powoli odwrócić połączone buteleczki. Poczekać, aż roztwór spłynie z butelki do szklanej fiolki (Rysunek 1, etap 3).
  - g. Delikatnie wymieszać roztwór, obracając fiolkę. Nie dopuszczać do wytwarzania piany podczas mieszania zawartości fiolki ruchem wirowym (Rysunek 1, etap 4).
  - h. Odczekać, aż liofilizowany odczynnik przejdzie do roztworu, następnie ponownie odwrócić połączone buteleczki, przechylając je pod kątem 45°, aby zminimalizować tworzenie się piany (Rysunek 1, etap 5). Odczekać, aż całość płynu z powrotem przesączy się do plastikowej buteleczki.
  - i. Zdjąć kołnierz do przygotowywania odczynników i fiolkę (Rysunek 1, etap 6).
  - j. Nałożyć zakrętkę na plastikową buteleczkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników (Rysunek 1, etap 7).
  - k. Wyrzucić kołnierz do przygotowywania i fiolkę (Rysunek 1, etap 8).

**Ostrzeżenie:** Unikać tworzenia piany podczas przygotowywania odczynników. Piana ma niekorzystny wpływ na detekcję poziomu w systemie Tigris DTS.

**Uwaga:** Przed załadowaniem do systemu należy dokładnie wymieszać odczynniki amplifikacji, enzymatyczny, odczynnik-sondę i selekcyjny, delikatnie je obracając. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.



Rysunek 1. Proces przygotowania w systemie Tigris DTS

2. Przygotować roboczy odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych (wTCR):
  - a. Dopasować odpowiednie buteleczki TCR i IC.
  - b. Sprawdzić numery partii odczynników na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
  - c. Otworzyć buteleczkę TCR i odłożyć zakrętkę 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 zakrętkę na buteleczkę z TCR i delikatnie obracać, aby wymieszać zawartość. Na tym etapie unikać tworzenia piany.
  - f. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.
  - g. Wyrzucić buteleczkę IC i zakrętkę.
  - 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 wróci do pokojowej. Nie stosować, jeżeli osad jest nadal obecny.
3. Przygotować odczynnik selekcyjny
  - a. Sprawdzić numer partii odczynnika na karcie z kodami kreskowymi partii 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 wróci 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 przygotowanych

1. Wcześniej przygotowane odczynniki amplifikacji, enzymatyczne i odczynniki-sondy muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C) przed rozpoczęciem testu.
2. Jeśli przygotowany odczynnik-sonda 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 wróci 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 wróci do pokojowej. Nie używać, jeżeli nadal obecny jest osad lub zmętnienie.
5. Dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając przed włożeniem do aparatu. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.
6. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikiem. System Tigris DTS rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

#### D. Postępowanie z materiałami przeznaczonymi do badania

1. Przed rozpoczęciem obróbki należy poczekać aż kalibratory i próbki osiągną temperaturę pokojową.
2. **Nie wytrząsać próbek.**
3. Przed włożeniem do statywów sprawdzić próbki na próbki. Jeżeli próbka zawiera pęcherzyki gazu lub objętość materiału mniejszą niż zwykle obserwowana, wirować próbkę przez 5 minut przy 420 RCF, aby mieć pewność, że w zakrętce nie będzie cieczy.

**Uwaga:** Pominięcie etapu 3 może spowodować wyciek cieczy spod zakrętki próbki.

#### E. Przygotowanie systemu

Skonfigurować system i listę roboczą zgodnie z instrukcjami zawartymi w *Instrukcji obsługi systemu Tigris DTS* i poniższej sekcji *Uwagi dotyczące procedury*.

## Uwagi dotyczące procedury

### A. Kalibratory

1. Każda lista robocza musi zawierać 2 replikaty kalibratora ujemnego i każdego kalibratora dodatniego. Aby kalibratory działały prawidłowo z oprogramowaniem testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45, kalibrator ujemny musi znajdować się w próbce na pierwszej pozycji pierwszego statywu listy roboczej, kalibrator dodatni 1 musi znajdować się w próbce na drugiej pozycji pierwszego statywu listy roboczej, natomiast kalibrator dodatni 2 musi znajdować się w próbce na trzeciej pozycji pierwszego statywu listy roboczej.
2. Próba pobrania pipetą więcej niż dwóch replikatów z próbki z kalibratorem może doprowadzić do błędów wynikających z niewystarczającej objętości.
3. Kalibratory powinny być używane z odpowiednią partią główną odczynników. Operator musi sprawdzić, czy właściwa partia kalibratorów jest używana z odpowiednią partią główną odczynników zestawu, jak wskazano na arkuszu kodów kreskowych partii głównej. Przy zamawianiu dodatkowych kalibratorów należy powołać się na odpowiedni numer partii.

### 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 kontaminację otwartych próbek. Zaleca się stosować rękawiczki bezpudrowe.

## Panther System

### Dostarczone odczynniki i materiały

Zestaw testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45, 100 testów (3 opakowania) kat. nr 303236

Kalibratory można kupować oddzielnie. Numery katalogowe osobnych pudełek podano poniżej.

#### Pudełko chłodnicze do testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45 (po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
A	<b>Odczynnik amplifikacji genu HPV 16 18/45</b> <i>Liofilizowane niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym zawierającym &lt; 5% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
E	<b>Odczynnik enzymatyczny do testu HPV 16 18/45</b> <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES zawierającym &lt; 10% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
P	<b>Odczynnik-sonda dla genu HPV 16 18/45</b> <i>Liofilizowane niezakaźne chemiluminescencyjne sondy DNA (&lt; 500 ng/fiolkę) w roztworze buforowanym bursztynianem zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	1 fiolka
IC	<b>Odczynnik kontroli wewnętrznej do testu HPV 16 18/45</b> <i>Niezakaźny transkrypt RNA w roztworze buforowanym zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	1 fiolka

#### Pudełko do przechowywania w temperaturze pokojowej testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45 (po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
AR	<b>Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji HPV 16 18/45</b> <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1 fiolka
ER	<b>Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych do testu HPV 16 18/45</b> <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 fiolka
PR	<b>Roztwór do przygotowania sond do testu HPV 16 18/45</b> <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający &lt; 5% detergentu.</i>	1 fiolka
S	<b>Odczynnik selekcyjny do testu HPV 16 18/45</b> <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1 fiolka
TCR	<b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych HPV 16 18/45</b> <i>Niezakaźny kwas nukleinowy w roztworze buforowanym zawierającym fazę stałą (&lt; 0,5 mg/mL).</i>	1 fiolka
	<b>Kołnierze do przygotowania odczynników</b>	3
	<b>Karta z kodami kreskowymi partii głównych</b>	1 karta

**Pudełko chłodnicze do testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45 (kat. nr 303235)**  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
PCAL1	<b>Kalibrator dodatni 1 wirusa HPV 16 18/45</b> <i>Niezakaźny materiał wirusa HPV 18 otrzymany w wyniku transkrypcji in vitro w ilości 750 kopii na mL, w roztworze buforowanym zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	5 fiolek
PCAL2	<b>Kalibrator dodatni 2 wirusa HPV 16 18/45</b> <i>Niezakaźny materiał wirusa HPV 16 otrzymany w wyniku transkrypcji in vitro w ilości 1000 kopii na mL, w roztworze buforowanym zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	5 fiolek
NCAL	<b>Kalibrator ujemny HPV 16 18/45</b> <i>Roztwór buforowany zawierający &lt; 5% detergentu.</i>	5 fiolek

### Materiały wymagane, ale dostępne osobno

**Uwaga:** Materiały dostarczane przez Hologic są zaopatrzone w numery katalogowe, chyba że podano inaczej.

	<u>Kat. Nr</u>
Panther System	303095
Zestaw serii Panther	303096
Zestaw płynów do testu Aptima	303014
<i>(Roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima oraz odczynnik olejowy Aptima)</i>	
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, przewodzące, z detekcją cieczy	10612513 (Tecan)
Zestaw do przenoszenia próbek Aptima	301154C
Zestaw do przenoszenia próbek Aptima – drukowalny	PRD-05110
Zestaw Aptima do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy	302657
Zakrętki przepuszczalne Aptima	105668
Zamienne zakrętki nieprzepuszczalne	103036A
Zapasowe zakrętki do zestawów 100 testów:	
Roztwory do przygotowania odczynnika amplifikacji i odczynnika-sondy	CL0041
Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego	CL0041
Odczynnik TCR i selekcyjny	501604
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu co najmniej 5% lub 0,7 M	–
Rękawiczki jednorazowe	–
Zestaw roztworu do przenoszenia Aptima (tylko do próbek na podłożu SurePath)	303658

### Materiały opcjonalne

	<u>Kat. Nr</u>
Wzmacniacz wybielacza do czyszczenia	302101

## Procedura testu w Panther System

**Uwaga:** Dodatkowe informacje na temat procedury przedstawiono w Instrukcji obsługi Panther System.

### A. Przygotowanie obszaru roboczego

Oczyszczyć powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki i próbki. 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 spłukać powierzchnie wodą. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię roboczą, na której będą przygotowywane odczynniki i próbki, czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.

### B. Przygotowanie odczynników nowego zestawu

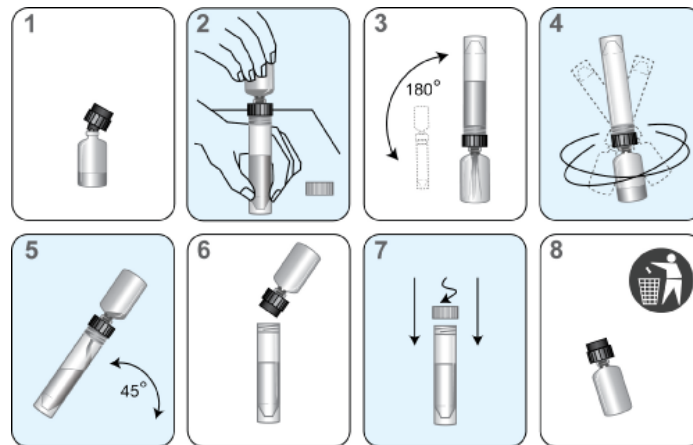
**Uwaga:** Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem jakichkolwiek prac w aparacie Panther System.

1. Aby przygotować odczynniki amplifikacji, odczynniki enzymatyczne i odczynniki-sondy, należy połączyć zawartość butelek z liofilizowanymi odczynnikiemami z zawartością butelek z roztworami do przygotowania. Jeśli odczynniki były przechowywane w chłodziarce, przed użyciem należy odczekać, aż roztwory do przygotowania odczynników osiągną temperaturę pokojową.
  - a. Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika. Przed założeniem kołnierza do przygotowania odczynników upewnić się, że roztwór do przygotowania odczynników i odczynnik mają etykiety w tym samym kolorze.
  - b. Sprawdzić numery partii na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
  - c. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem i mocno wcisnąć przycięty koniec kołnierza do przygotowania odczynników w otwór fiolki (Rysunek 2, etap 1).
  - d. Otworzyć butelkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania odczynników i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
  - e. Trzymając buteleczkę z roztworem na stole, mocno włożyć drugi koniec kołnierza do przygotowania odczynników do butelki (Rysunek 2, etap 2).
  - f. Powoli odwrócić połączone buteleczki. Poczekać, aż roztwór spłynie z butelki do szklanej fiolki (Rysunek 2, etap 3).
  - g. Delikatnie wymieszać roztwór, obracając buteleczkę. Nie dopuszczać do utworzenia się piany podczas mieszania zawartości butelki ruchem wirowym (Rysunek 2, etap 4).
  - h. Odczekać, aż liofilizowany odczynnik przejdzie do roztworu, następnie ponownie odwrócić połączone buteleczki, przechylając je pod kątem 45°, aby zminimalizować tworzenie się piany (Rysunek 2, etap 5). Odczekać, aż całość płynu z powrotem przesączy się do plastikowej buteleczki.
  - i. Zdjąć kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 2, etap 6).
  - j. Nałożyć zakrętkę na plastikową buteleczkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników (Rysunek 2, etap 7).
  - k. Wyrzucić kołnierz do przygotowywania i fiolkę (Rysunek 2, etap 8).

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

**Uwaga:** Przed załadowaniem do systemu należy dokładnie wymieszać odczynniki amplifikacji, enzymatyczny, odczynnik-sondę i selekcyjny, delikatnie je obracając. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.





Rysunek 2. Proces przygotowania w Panther System

2. Przygotować roboczy odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych (wTCR):
  - a. Dopasować odpowiednie buteleczki TCR i IC.
  - b. Sprawdzić numery partii odczynników na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki z zestawu.
  - c. Otworzyć buteleczkę TCR i odłożyć zakrętkę 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 zakrętkę na buteleczkę z TCR i delikatnie obracać, aby wymieszać zawartość. Na tym etapie unikać tworzenia piany.
  - f. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.
  - g. Wyrzucić buteleczkę IC i zakrętkę.
  - 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 wróci do pokojowej. Nie stosować, jeżeli osad jest nadal obecny.
3. Przygotowanie odczynnika selekcyjnego
  - a. Sprawdzić numer partii odczynnika na karcie z kodami kreskowymi partii 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 wróci 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 przygotowanych
  1. Przed rozpoczęciem testu uprzednio przygotowane odczynniki amplifikacji, enzymatyczny i odczynnik-sonda muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C).
  2. Jeśli przygotowany odczynnik-sonda 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 wróci do pokojowej. Nie stosować, jeżeli osad jest nadal obecny.

4. Jeśli odczynnik selekcyjny zawiera wytrącony osad, ogrzewać odczynnik selekcyjny w temperaturze  $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  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 wróci 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. Przed rozpoczęciem pracy z próbkami (kalibratory, próbki i wszelkie dostarczone przez użytkownika próbki zewnętrznej kontroli jakości) należy pozostawić je do osiągnięcia temperatury pokojowej.
2. **Nie wytrząsać próbek.**
3. Przed włożeniem do statywu sprawdzić próbówki na próbki. Jeżeli próbówka zawiera pęcherzyki gazu lub objętość materiału mniejszą niż zwykle obserwowana, wirować próbówkę przez 5 minut przy 420 RCF, aby mieć pewność, że w zakrętce nie będzie cieczy.

**Uwaga:** Pominięcie etapu 3 może spowodować wyciek cieczy spod zakrętki próbówki.

#### E. Przygotowanie systemu

Skonfigurować system zgodnie z instrukcjami, które zawiera *Instrukcja obsługi Panther System* i poniższa sekcja *Uwagi dotyczące procedury testowej*. Sprawdzić, czy stosowane są statywy na odczynniki o odpowiedniej wielkości oraz adaptory TCR.

## Uwagi dotyczące procedury

### A. Kalibratory

1. Aby kalibratory działały prawidłowo z oprogramowaniem testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w systemie Panther System, potrzebne są dwa replikaty kalibratora ujemnego i każdego kalibratora dodatniego. 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 Panther System.
  - b. W Panther System rejestrowane 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. Kalibratory są nieważne.
  - b. Usunięto z systemu Panther System powiązany zestaw odczynników analitycznych.
  - c. Przekroczono granice stabilności powiązanego zestawu odczynników analitycznych.
3. Próba pobrania pipetą więcej niż dwóch replikatów z próbówki z kalibratorem może doprowadzić do błędów wynikających z niewystarczającej objętości.

### B. Temperatura

Temperatura pokojowa jest zdefiniowana jako zakres od  $15^{\circ}\text{C}$  do  $30^{\circ}\text{C}$ .

### C. Puder z rękawiczek

Podobnie jak w przypadku każdego systemu odczynników, nadmiar pudru na niektórych rękawiczkach może spowodować kontaminację 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 jeden replikat kalibratora ujemnego będzie nieważny.
- Więcej niż jeden replikat kalibratora dodatniego 1 będzie nieważny.
- Więcej niż jeden replikat kalibratora dodatniego 2 będzie nieważny.
- Więcej niż 1 z 6 replikatów kalibratorów będzie nieważny.

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

Serię nieważną należy powtórzyć. Serie przerwane należy powtórzyć.

### B. Kryteria akceptacji kalibratorów

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

	<b>System Tigris DTS</b>	<b>Panther System</b>
<b>Kalibrator ujemny</b>		
RLU 18/45	$\geq 0 \text{ i } \leq 60\,000 \text{ RLU}$	$\geq 0 \text{ i } \leq 60\,000 \text{ RLU}$
RLU IC/16	$\geq 75\,000 \text{ i } \leq 300\,000 \text{ RLU}$	$\geq 75\,000 \text{ i } \leq 300\,000 \text{ RLU}$
<b>Kalibrator dodatni 1</b>		
RLU 18/45	$\geq 850\,000 \text{ i } \leq 2\,200\,000 \text{ RLU}$	$\geq 800\,000 \text{ i } \leq 2\,200\,000 \text{ RLU}$
RLU IC/16	$\leq 475\,000 \text{ RLU}$	$\leq 475\,000 \text{ RLU}$
<b>Kalibrator dodatni 2</b>		
RLU 18/45	$\leq 115\,000 \text{ RLU}$	$\leq 115\,000 \text{ RLU}$
RLU IC/16	$\geq 625\,000 \text{ i } \leq 4\,000\,000 \text{ RLU}$	$\geq 625\,000 \text{ i } \leq 4\,000\,000 \text{ RLU}$

### C. Wartość graniczna IC

Wartość graniczna IC wyznaczana jest na podstawie analitu IC/16 z ważnych replikatów kalibratora ujemnego.

$$\text{Wartość graniczna IC} = 0,5 \times [\text{średnia wartość RLU IC/16 ważnych replikatów kalibratora ujemnego}]$$

### D. Wartość graniczna analitu 16

Wartość graniczna analitu dla genu wirusa HPV 16 jest wyznaczana na podstawie sygnału RLU IC/16 z ważnych replikatów kalibratora ujemnego oraz ważnych replikatów kalibratora dodatniego 2.

$$\text{Wartość graniczna analitu 16} = 2 \times [\text{średnia wartość RLU IC/16 ważnych replikatów kalibratora ujemnego}] + 0,1 \times [\text{średnia wartość RLU IC/16 ważnych replikatów kalibratora dodatniego 2}]$$

### E. Wartość graniczna analitu 18/45

Wartość graniczna analitu dla genu wirusa HPV 18/45 jest wyznaczana na podstawie sygnału RLU 18/45 z ważnych replikatów kalibratora ujemnego oraz ważnych replikatów kalibratora dodatniego 1.

$$\text{Wartość graniczna analitu 18/45} = 1 \times [\text{średnia wartość RLU 18/45 ważnych replikatów kalibratora ujemnego}] + 0,18 \times [\text{średnia wartość RLU 18/45 ważnych replikatów kalibratora dodatniego 1}]$$

## Interpretacja testu

Wyniki testu są automatycznie określone przez oprogramowanie analityczne. Wynik testu może być ujemny zarówno dla HPV 16, jak i HPV 18/45, ujemny dla HPV 16 i dodatni dla HPV 18/45, dodatni dla HPV 16 i ujemny dla HPV 18/45, dodatni zarówno dla HPV 16, jak i HPV 18/45 lub nieważny, jak określono na podstawie stosunku RLU IC i S/CO, zgodnie z poniższą tabelą. Wynik testu może również zostać uznany za nieważny ze względu na wartości innych parametrów (np. nieprawidłowy kształt krzywej), wykraczające poza prawidłowe zakresy oczekiwane. Testy z wynikiem nieważnym należy powtórzyć.

Próbki pobierane za pomocą systemu do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy (CSCT) 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. Przebadac rozcieńczoną próbkę zgodnie ze standardową procedurą analityczną.

**Uwaga:** Rozcieńczonych próbek z nieważnym wynikiem nie należy dalej rozcieńczać. Jeśli wynik badania rozcieńczonej próbki jest nieważny, należy pobrać nową próbkę od pacjenta.

Wynik testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45	Kryteria
Ujemny – 16 Ujemny – 18/45	<i>RLU IC/HPV 16 ≥ Wartość graniczna IC oraz S/CO HPV 16 &lt; 1,00 oraz S/CO HPV 18/45 &lt; 1,00</i>
Ujemny – 16 Dodatni – 18/45	<i>S/CO HPV 16 &lt; 1,00 oraz S/CO HPV 18/45 ≥ 1,00 oraz RLU HPV 18/45 ≤ 3 000 000</i>
Dodatni – 16 Ujemny – 18/45	<i>S/CO HPV 16 ≥ 1,00 oraz RLU IC/HPV 16 ≤ 4 000 000 oraz S/CO HPV 18/45 &lt; 1,00</i>
Dodatni – 16 Dodatni – 18/45	<i>S/CO HPV 16 ≥ 1,00 oraz RLU IC/HPV 16 ≤ 4 000 000 oraz S/CO HPV 18/45 ≥ 1,00 oraz RLU HPV 18/45 ≤ 3 000 000</i>
Nieważny	<i>S/CO HPV 16 &lt; 1,00 oraz S/CO HPV 18/45 &lt; 1,00 oraz RLU IC/HPV 16 &lt; Wartość graniczna IC lub RLU IC/HPV 16 &gt; 4 000 000 lub RLU HPV 18/45 &gt; 3 000 000</i>

## Ograniczenia

- A. Typy próbek innych niż wskazane w sekcji Przeznaczenie nie były poddawane ocenom.
- B. Nie określono charakterystyki działania testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 u osób szczepionych przeciwko wirusowi HPV.
- C. Nie określono charakterystyki działania testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w przypadkach, w których zachodzi podejrzenie nadużyć seksualnych.
- D. Częstość występowania zakażeń wirusem HPV w populacji może wpływać na działanie testu. Dodatnie wartości predykcyjne są niższe w populacjach o niskiej częstości występowania 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 genetycznego Aptima HPV 16 18/45.
- F. Na wyniki mogą mieć wpływ nieprawidłowości przy pobieraniu, przechowywaniu lub obróbce próbek.
- G. Kontrola wewnętrzna służy do monitorowania etapów testu – wychwytu, amplifikacji i wykrywania cząsteczek szukanych. Nie służy ona do sprawdzania, czy próbka została prawidłowo pobrana z szyjki macicy.
- H. Ujemny wynik testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 nie wyklucza nieprawidłowości cytologicznych bądź przyszłych lub istniejących zmian CIN2, CIN3 bądź raka szyjki macicy.
- I. Wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 mają charakter jakościowy. Dlatego nie można zakładać istnienia korelacji między intensywnością dodatniego sygnału w teście a poziomem ekspresji mRNA w badanej próbce.
- J. Detekcja mRNA wirusa HPV (typy 16, 18 i 45) 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.
- K. 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.
- L. Następujące substancje mogą zakłócać wyniki testu, jeśli występują w stężeniach większych niż wskazane: środki nawilżające do pochwy (zawierające Polikwaternium 15) w stężeniu 1% masowo-obj., krem przeciwgrzybiczy (zawierający tioconazole) w stężeniu 0,03% masowo-obj., śluz w stężeniu 0,3% masowo-obj., hormony dopochwowe (zawierające progesteron) w stężeniu 1% masowo-obj., *Trichomonas vaginalis* w ilości  $3 \times 10^4$  komórek/mL.
- M. Wysokie stężenia HPV 45 mogą zmniejszyć zdolność testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 do wykrywania obecności HPV 16 w niskich stężeniach.
- N. Nie przeprowadzono oceny wpływu innych potencjalnych zmiennych, takich jak upławy, stosowanie tamponów itp., oraz zmiennych związanych z pobieraniem próbek.
- O. Wyrobu tego może używać wyłącznie personel przeszkolony w zakresie korzystania z testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45.
- P. Skażenie krzyżowe próbek może powodować uzyskiwanie wyników fałszywie dodatnich. Współczynnik przenoszenia testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w systemie DTS Tigris i Panther System wynosił odpowiednio 0,35% i 0,19%, jak ustalono w badaniach nieklinicznych.
- Q. Wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 należy interpretować w powiązaniu z innymi danymi laboratoryjnymi i klinicznymi dostępnymi dla lekarza.

## Oczekiwane wyniki w systemie Tigris DTS: Częstość występowania mRNA wirusa HPV wysokiego ryzyka

Częstość występowania zakażeń wirusem HPV wysokiego ryzyka jest silnie zróżnicowana i zależy od kilku czynników, z których najistotniejszym jest wiek.<sup>19,20</sup> Częstość występowania zakażeń HPV wykrywanych poprzez detekcję DNA tego wirusa była przedmiotem wielu badań, jednak tylko w nielicznych badaniach podawana jest częstość występowania 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, mającego na celu ocenę testu Aptima HPV, który wykrywa 14 typów HPV wysokiego ryzyka.<sup>21</sup> W badaniu CLEAR próbki od kobiet z dodatnimi wynikami testów Aptima HPV zostały ocenione przy użyciu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w oddzielnym badaniu klinicznym. Częstość występowania HPV 16, 18 i 45, jak również pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka zaobserwowanych w badaniu klinicznym, na podstawie wyników testów Aptima HPV i testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45, została skategoryzowana ogólnie, według grup wiekowych i według miejsca przeprowadzania testów. 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:** Częstość występowania mRNA wirusa HPV wysokiego ryzyka w populacjach z podziałem na grupy wiekowe i ośrodki badające oraz łączna częstość występowania

	% wyników dodatnich (x/n)							
	Populacja ASC-US (≥ 21 lat)				Populacja NILM (≥ 30 lat)			
	HPV 16 dodat.	HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	11 innych WR* dodat.	HPV 16 dodat.	HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	11 innych WR* dodat.
<b>Wszystkie</b>	7,8 (71/912)	5,2 (47/912)	0,3 (3/912)	25,5 (233/912)	0,4 (47/10 846)	0,4 (47/10 846)	0 (0/10 846)	3,9 (421/10 846)
<b>Grupa wiekowa (lata)</b>								
<b>od 21 do 29</b>	13,2 (51/386)	4,9 (19/386)	0,5 (2/386)	38,3 (148/386)	N/D	N/D	N/D	N/D
<b>od 30 do 39</b>	5,4 (14/257)	7,0 (18/257)	0,4 (1/257)	21,8 (56/257)	0,7 (30/4 188)	0,6 (27/4 188)	0 (0/4 188)	5,3 (221/4 188)
<b>≥ 40</b>	2,2 (6/269)	3,7 (10/269)	0 (0/269)	10,8 (29/269)	0,3 (17/6 658)	0,3 (20/6 658)	0 (0/6 658)	3,0 (200/6 658)
<b>Ośrodek badający</b>								
<b>1</b>	9,0 (27/301)	4,3 (13/301)	0,7 (2/301)	24,9 (75/301)	0,4 (13/3 666)	0,5 (18/3 666)	0 (0/3 666)	3,8 (141/3 666)
<b>2</b>	7,4 (23/310)	6,1 (19/310)	0 (0/310)	26,5 (82/310)	0,5 (18/3 671)	0,5 (17/3 671)	0 (0/3 671)	3,7 (136/3 671)
<b>3</b>	7,0 (21/301)	5,0 (15/301)	0,3 (1/301)	25,2 (76/301)	0,5 (16/3 509)	0,3 (12/3 509)	0 (0/3 509)	4,1 (144/3 509)

N/D = Nie dotyczy, WR = Wysokiego ryzyka, dodat. = dodatnie

\* Typy HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 oraz 68

## Skuteczność testu w systemie Tigris DTS

### Projekt badania klinicznego testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 z próbkami do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep

Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45 oceniono podczas prospektywnego, wieloośrodkowego badania klinicznego pod nazwą CLEAR, prowadzonego w USA, przy wykorzystaniu próbek Pap pozyskanych od kobiet skierowanych na takie badania, które zgodziły się na wykorzystanie ich materiału w badaniu klinicznym. Badanie CLEAR zostało przeprowadzone w celu określenia skuteczności klinicznej testu Aptima HPV stosowanego do detekcji śródnamłonkowych neoplazji szyjki macicy stopnia 2 i poważniejszych zmian chorobowych w obrębie szyjki macicy ( $\geq$ CIN2). Kobiety były kwalifikowane do grupy ASC-US albo do grupy NILM na podstawie wyników rutynowych badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy na próbkach do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep. 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 śródnamłonkowych lub złośliwych (NILM).

Do badania włączono kobiety z 18 ośrodków klinicznych, głównie z poradni położniczych/ginekologicznych zlokalizowanych w różnych obszarach geograficznych, należące do różnych populacji. Podczas badania CLEAR, resztkowe próbki Pap były testowane zarówno testem Aptima HPV, jak i dostępnym na rynku testem DNA HPV. W badaniu klinicznym z użyciem testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45, resztkowe próbki Pap były badane przy użyciu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45.

Wszystkie kobiety w badaniu ASC-US zostały skierowane na kolposkopię, niezależnie od wyników testu Aptima HPV i komercyjnie dostępnych testów DNA na 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 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. U każdej kobiety poddanej kolposkopii wykonano łyżeczkowanie szyjki macicy (ECC). Biopsje wykonano tylko z widocznych zmian chorobowych (metoda celowana; 1 biopsja na zmianę). Obserwacja kobiet w badaniu NILM, u których na początku badania nie stwierdzono  $\geq$ CIN2, trwa 3 lata i obejmuje coroczne wizyty w celu wykonania badań cytologicznych. Kobiety z ASC-US lub poważniejszymi wynikami cytologii w okresie obserwacji są kierowane na kolposkopię przy użyciu tej samej procedury biopsji, która została wykonana przy ocenie bazowej.

Stan chorobowy był określany na podstawie konsensusu panelu przeglądu histologicznego, który opierał się na porozumieniu co najmniej 2 specjalistów patologów. Specjalistom patologom nie ujawniano stanu HPV i cytologii kobiet, ani ich rozpoznań histologicznych. Badaczom, lekarzom ani pacjentkom nie ujawniano wyników testów Aptima HPV oraz komercyjnie dostępnych testów DNA w kierunku HPV aż do zakończenia kolposkopii, aby uniknąć obciążenia wyniku.

W celu potwierdzenia zamierzonego zastosowania testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 jako testu potwierdzającego dodatni wynik testu Aptima HPV, do badania testem genetycznym Aptima HPV 16 18/45 zakwalifikowano resztkowe próbki Pap od wszystkich kobiet ocenianych w badaniu ASC-US i badaniu NILM z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV. Oceniono skuteczność kliniczną testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w wykrywaniu  $\geq$ CIN2 oraz śródnamłonkowych neoplazji szyjki macicy w stopniu 3 lub cięższym ( $\geq$ CIN3).

## Populacja ASC-US w wieku $\geq 21$ lat: Skuteczność kliniczna testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 z próbkami do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep

Ogółem oceniono 400 kobiet w wieku 21 lat i starszych z wynikiem cytologii ASC-US i dodatnim wynikiem testu Aptima HPV, których próbki Pap kwalifikowały się do badania testem genetycznym Aptima HPV 16 18/45. Spośród nich 46 kobiet nie miało referencyjnych próbek Pap dostępnych do badania, a 6 miało nieokreślone rozpoznanie choroby; wszystkie zostały wyłączone z analizy. Pozostałe 348 uwzględnionych w analizie kobiet z rozstrzygającym stanem chorobowym miało ważne wyniki testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45 oparte na testach referencyjnych z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV. U sześćdziesięciu siedmiu (67) kobiet stwierdzono zmiany  $\geq$ CIN2, a u 29 zmiany  $\geq$ CIN3.

Spośród 348 uwzględnionych w analizie kobiet z dodatnimi wynikami testu Aptima HPV, 117 kobiet miało dodatnie wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 wskazujące na obecność HPV 16 i/lub HPV 18/45; 231 miało wyniki ujemne, wskazujące na obecność jednego lub więcej z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka wykrytych testem Aptima HPV (tj. typy HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 i 68). Dodatkowe 545 uwzględnionych w analizie kobiet w wieku 21 lat i starszych z wynikiem badania cytologicznego ASC-US miało ujemne wyniki testów Aptima HPV podczas badania CLEAR. Ujemny wynik testu Aptima HPV oznacza, że żaden z 14 typów HPV wysokiego ryzyka nie jest obecny i dla celów analizy został oznaczony jako ujemny w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45. Częstość występowania  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 u kobiet z wynikiem badania cytologicznego ASC-US wynosiła odpowiednio 8,8% i 3,7%. Wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 według wyniku testu Aptima HPV i rozpoznania postawionego w wyniku konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny przedstawiono w Tabeli 2.

**Tabela 2:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq 21$  lat: Wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 i Aptima HPV w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny

Wynik testu Aptima HPV	AHPV-GT Wynik testu*	Interpretacja	Rozpoznanie postawione w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny						
			Stan nieokreślony**	Stan prawidłowy	CIN1	CIN2	CIN3	Rak	Ogółem
Dodatni	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	HPV 16 dodat.	1	27	18	11	14	0	71
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	HPV 18/45 dodat.	3	23	14	3	3	1	47
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	2	125	73	23	10	0	233
Ogółem			6	176	105	38	28	1	354
Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.***	HPV WR ujem.	13	458	75	8	4	0	558
Ogółem			19	634	180	46	32	1****	912

AHPV-GT = test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, CIN1 = Śródnaobłonkowe neoplazje szyjki macicy w stopniu 1, WR = Wysokiego ryzyka, Ujem. = ujemny, Dodat. = dodatni

\*Dla wszystkich próbek uzyskano wyniki końcowe (po końcowym teście lub po wyeliminowaniu przyczyn nieważności zgodnie z procedurą).

\*\*19 kobiet 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).

\*\*\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

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



Bezwzględne ryzyko choroby ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3) w zależności od wyniku testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz wyniku testu Aptima HPV przedstawiono w Tabeli 3. Ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 u kobiet z obecnymi typami HPV 16, 18, i/lub 45 wynosiło 29,1% w porównaniu z 14,3% u kobiet z jednym lub więcej z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka i 2,2% u kobiet bez typów HPV wysokiego ryzyka. Ryzyko bezwzględne przedstawiono w podziale na grupy wiekowe w Tabeli 4.

**Tabela 3:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq$  21 lat: Bezwzględne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV

Aptima HPV Wynik testu	AHPV-GT Wynik testu	Interpretacja	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)
<b>Dodatni</b>	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.	29,1 (34/117) (22,4; 36,0)	16,2 (19/117) (11,4; 21,1)
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	35,7 (25/70) (26,1; 45,9)	20,0 (14/70) (12,6; 28,0)
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Tylko HPV 18/45 dodat.	15,9 (7/44) (7,2; 28,3)	9,1 (4/44) (2,9; 19,5)
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	66,7 (2/3) (15,2; 98,2)	33,3 (1/3) (1,8; 84,6)
	HPV 16/18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	14,3 (33/231) (10,9; 17,9)	4,3 (10/231) (2,4; 6,8)
	Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	19,3 (67/348) (17,1; 21,3)	8,3 (29/348) (6,9; 9,4)
<b>Ujemny</b>	HPV 16/18/45 ujem.*	HPV WR ujem.	2,2 (12/545) (1,2; 3,5)	0,7 (4/545) (0,2; 1,6)
Częstość występowania			8,8% (79/893)	3,7% (33/893)

AHPV-GT = Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

**Tabela 4:** Populacja ASC-US w wieku ≥ 21 lat: Bezwzględne ryzyko wystąpienia ≥CIN2 i ≥CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV wg grupy wiekowej

	Wynik testu Aptima HPV	AHPV-GT Wynik testu	Interpretacja	≥CIN2	≥CIN3
				Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)
Od 21 do 29 lat	Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.	26,8 (19/71) (18,3; 35,7)	15,5 (11/71) (9,3; 21,8)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	28,0 (14/50) (17,5; 39,6)	18,0 (9/50) (9,9; 26,9)
		HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Tylko HPV 18/45 dodat.	15,8 (3/19) (3,7; 36,3)	5,3 (1/19) (0,2; 22,5)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	100 (2/2) (27,0; 100)	50,0 (1/2) (2,9; 97,1)
		HPV 16/18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	17,0 (25/147) (12,6; 21,5)	5,4 (8/147) (2,8; 8,5)
		Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	20,2 (44/218) (17,6; 22,5)	8,7 (19/218) (7,1; 9,8)
	Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.*	HPV WR ujem.	3,6 (6/165) (1,5; 6,9)	0,6 (1/165) (0,0; 2,7)
Częstość występowania				13,1% (50/383)	5,2% (20/383)
Od 30 do 39 lat	Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.	32,3 (10/31) (19,0; 45,9)	16,1 (5/31) (7,0; 25,4)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	50,0 (7/14) (24,2; 74,2)	21,4 (3/14) (5,1; 41,6)
		HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Tylko HPV 18/45 dodat.	18,8 (3/16) (3,0; 40,6)	12,5 (2/16) (1,3; 30,8)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	0 (0/1) (0,0; 93,5)	0 (0/1) (0,0; 93,3)
		HPV 16/18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	12,7 (7/55) (6,2; 20,5)	3,6 (2/55) (0,6; 9,1)
		Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	19,8 (17/86) (15,1; 23,9)	8,1 (7/86) (4,7; 10,3)
	Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.*	HPV WR ujem.	1,2 (2/167) (0,2; 3,5)	0,6 (1/167) (0,0; 2,3)
Częstość występowania				7,5% (19/253)	3,2% (8/253)
≥ 40 lat	Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.	33,3 (5/15) (12,4; 55,0)	20,0 (3/15) (4,1; 36,0)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	66,7 (4/6) (27,1; 93,5)	33,3 (2/6) (6,2; 69,2)
		HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Tylko HPV 18/45 dodat.	11,1 (1/9) (0,5; 39,7)	11,1 (1/9) (0,5; 37,1)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	3,4 (1/29) (0,1; 14,0)	0 (0/29) (0,0; 8,2)
		Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	13,6 (6/44) (6,5; 20,6)	6,8 (3/44) (1,8; 11,4)
	Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.*	HPV WR ujem.	1,9 (4/213) (0,6; 3,4)	0,9 (2/213) (0,1; 2,0)
Częstość występowania				3,9% (10/257)	1,9% (5/257)

AHPV-GT = Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

Względne ryzyko zachorowania w przypadku dodatniego wyniku testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w porównaniu z wynikiem ujemnym przedstawiono w Tabeli 5. U kobiet, u których występowały typy HPV 16, 18 i/lub 45, prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN2 było 13,2 raza większe, a prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN3 22,1 raza większe niż u kobiet, u których nie występowały typy HPV wysokiego ryzyka. U kobiet, u których występowały typy HPV 16, 18 i/lub 45, prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN2 było 2,0 raza większe, a prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN3 3,8 raza większe niż u kobiet, u których występował co najmniej jeden z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka.

**Tabela 5:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq$  21 lat: Względne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV

Interpretacja wyniku testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodatni vs. HPV WR ujem.	13,2 (7,0; 24,7)	22,1 (7,7; 63,8)
HPV 16 i/lub 18/45 dodatni vs. Inne HPV WR dodatnie	2,0 (1,3; 3,1)	3,8 (1,8; 7,8)
Inne HPV WR dodatnie vs. HPV WR ujem.	6,5 (3,4; 12,3)	5,9 (1,9; 18,6)
HPV WR dodatni vs. HPV WR ujem.	8,7 (4,8; 15,9)	11,4 (4,0; 32,0)
Częstość występowania	8,8% (79/893)	3,7% (33/893)

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

Współczynniki prawdopodobieństwa ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3) dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 przedstawiono w Tabeli 6. Prawdopodobieństwo obecności typów HPV 16, 18 i/lub 45 było 4,2 raza większe u kobiet z  $\geq$ CIN2 i 5,1 raza większe u kobiet z  $\geq$ CIN3.

**Tabela 6:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq$  21 lat: Współczynniki prawdopodobieństwa wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 według wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV

Interpretacja wyniku testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Współczynnik prawdopodobieństwa (95% CI)	Współczynnik prawdopodobieństwa (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodatni	4,2 (3,0; 5,8)	5,1 (3,4; 6,9)
Inne HPV WR dodatnie	1,7 (1,3; 2,3)	1,2 (0,6; 1,9)
HPV WR ujem.	0,2 (0,1; 0,4)	0,2 (0,1; 0,4)

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

## Populacja NILM w wieku $\geq 30$ lat: Skuteczność kliniczna testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 z próbkami do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep

Ogółem oceniono 540 kobiet w wieku 30 lat i starszych z wynikiem cytologii NILM i dodatnim wynikiem testu Aptima HPV, których próbki Pap kwalifikowały się do badania testem genetycznym Aptima HPV 16 18/45. Spośród nich 25 kobiet nie miało referencyjnych próbek Pap dostępnych do badania; wszystkie zostały wyłączone z analizy. Pozostałe 515 uwzględnionych w analizie kobiet miało ważne wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45. Spośród nich 317 zostało poddanych kolposkopii. U piętnastu (15) kobiet występowały zmiany  $\geq$ CIN2, a u 10 występowały zmiany  $\geq$ CIN3; u 283 wyniki badań histopatologicznych wykazały stan prawidłowy / zmiany CIN1; u 19 kobiet stan obecności bądź braku choroby był nieokreślony.

Spośród 298 uwzględnionych w analizie kobiet z określonym stanem chorobowym oraz dodatnimi wynikami testu Aptima HPV, 61 kobiet miało dodatnie wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45, wskazujące na obecność HPV 16 i/lub HPV 18/45; 237 miało wyniki ujemne, wskazujące na obecność jednego lub więcej z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka. Dodatkowo 505 uwzględnionych w analizie kobiet w wieku 30 lat i starszych z wynikiem badania cytologicznego NILM oraz określonym stanem chorobowym miało ujemne wyniki testów Aptima HPV podczas badania CLEAR. Ujemny wynik testu Aptima HPV oznacza, że żaden z 14 typów HPV wysokiego ryzyka nie jest obecny i dla celów analizy został oznaczony jako ujemny w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45. Wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 według wyniku testu Aptima HPV i rozpoznania postawionego w wyniku konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny przedstawiono w Tabeli 7.

**Tabela 7:** Populacja NILM w wieku  $\geq 30$  lat: Wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 i Aptima HPV w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny

Wynik testu Aptima HPV	AHPV-GT Wynik testu*	Interpretacja	Rozpoznanie postawione w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny						
			Stan nieokreślony**	Stan prawidłowy	CIN1	CIN2	CIN3	Rak	Ogółem
Dodatni	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	HPV 16 dodat.	2	27	0	0	3	1	33
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	HPV 18/45 dodat.	1	26	1	1	0	2	31
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	0	0	0	0	0	0	0
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	16	218	11	4	4	0	253
Ogółem			19	271	12	5	7	3	317
Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.***	HPV WR ujem.	25	483	17	4	1	0	530
Ogółem			44	754	29	9	8	3****	847

AHPV-GT = Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny

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

\*\*44 kobiety poddano kolposkopii, ale z następujących przyczyn nie było możliwe ustalenie rozpoznania: nie udało się osiągnąć konsensusu z powodu niewystarczającej liczby próbek (n=28), nie pobrano biopsji z powodu czynników leżących u podstaw badania (n=13), nie pobrano lub nie oceniono biopsji z powodu błędów (n=3).

\*\*\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

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

Spośród 515 kobiet z dodatnimi wynikami testu Aptima HPV i genetycznego testu Aptima HPV 16 18/45, 217 kobiet miało niezwerifikowany (w tym nieokreślony) stan chorobowy (Tabela 8). Spośród 10 331 kobiet z ujemnymi wynikami testu Aptima HPV z pierwotnego badania CLEAR, 9 826 miało niezwerifikowany stan chorobowy. Ponieważ na kolposkopię skierowano tylko losowo wybrane kobiety z ujemnymi wynikami obu testów (Aptima HPV i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV), w tej grupie udział kobiet z niezwerifikowanym 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 obecność choroby, gdyby wszystkie kobiety zostały poddane kolposkopii. Przedstawiono oszacowania skuteczności testów na podstawie analizy 803 przypadków ze zwerifikowanym stanem obecności bądź braku choroby, zarówno skorygowanym pod względem obciążenia selektywnością skierowań, jak i bez korekty.

**Tabela 8:** Populacja NILM w wieku  $\geq 30$  lat: Klasyfikacja kobiet z grupy NILM uwzględnionych w analizie wg wyników testu Aptima HPV, testu genetycznego HPV 16 18/45, testu wykrywającego DNA wirusa HPV, obecności lub braku choroby ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3) oraz weryfikacji obecności lub braku choroby

Wynik testu Aptima HPV*	Wynik testu AHPV-GT*	Test wykrywający DNA wirusa HPV	Ogółem kobiet	Zwerifikowany stan chorobowy: $\geq$ CIN2		Zwerifikowany stan chorobowy: $\geq$ CIN3		Niezwerifikowany stan chorobowy
				Kobiety chore ( $\geq$ CIN2)	Kobiety wolne od choroby ( $\geq$ CIN2)	Kobiety chore ( $\geq$ CIN3)	Kobiety wolne od choroby ( $\geq$ CIN3)	Kobiety o nieznanym stanie obecności choroby (% nieznanach)
Dodatni	Dodatni	Dodatni	83	6	48	5	49	29 (34,9%)
	Dodatni	Ujemny	9	1	5	1	5	3 (33,3%)
	Dodatni	Brak wyniku**	2	0	1	0	1	1 (50,0%)
	Ujemny	Dodatni	271	7	171	4	174	93 (34,3%)
	Ujemny	Ujemny	137	1	52	0	53	84 (61,3%)
	Ujemny	Brak wyniku**	13	0	6	0	6	7 (53,8%)
Ogółem			515	15	283	10	288	217 (42,1%)
Ujemny	N/D***	Dodatni	306	3	178	1	180	125 (40,8%)
	N/D***	Ujemny	9 420	1	322	0	323	9 097 (96,6%)
	N/D***	Brak wyniku**	605	1	0	0	1	604 (99,8%)
Ogółem			10 846	20	783	11	792	10 043 (92,6%)

AHPV-GT = Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, N/D = Nie dotyczy

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

\*\*U 620 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV – głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

\*\*\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

Skorygowane bezwzględne ryzyko choroby ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3) w zależności od wyniku testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz wyniku testu Aptima HPV przedstawiono w Tabeli 9a. Ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 u kobiet z obecnymi typami HPV 16, 18, i/lub 45 wynosiło 12,6% w porównaniu z 3,4% u kobiet z jednym lub więcej z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka i 0,6% u kobiet bez typów HPV wysokiego ryzyka. Nieskorygowane bezwzględne ryzyko wystąpienia choroby przedstawiono ogółem w Tabeli 9b oraz według grupy wiekowej w Tabeli 10.

**Tabela 9a:** Populacja NILM w wieku  $\geq 30$  lat: Bezwzględne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (Dane szacunkowe skorygowane pod względem obciążenia)

Aptima HPV Wynik testu	AHPV-GT Wynik testu	Interpretacja	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)
<b>Dodatni</b>	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.	12,6 (3,7; 21,4)	9,5 (2,1; 16,8)
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	14,5 (2,1; 26,9)	12,1 (0,7; 23,4)
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Tylko HPV 18/45 dodat.	10,7 (0,0; 22,5)	6,9 (0,0; 16,2)
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	N/D	N/D
	HPV 16/18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	3,4 (1,2; 5,6)	1,8 (0,1; 3,5)
	Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	5,0 (2,6; 7,5)	3,2 (1,3; 5,2)
<b>Ujemny</b>	HPV 16/18/45 ujem.*	HPV WR ujem.	0,6 (0,1; 1,2)	0,4 (0,0; 0,7)
Częstość występowania			0,9%	0,5%

AHPV-GT = Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny, N/D = Nie dotyczy

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

**Tabela 9b:** Populacja NILM w wieku  $\geq 30$  lat: Bezwzględne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (Nieskorygowane dane szacunkowe)

Aptima HPV Wynik testu	AHPV-GT Wynik testu	Interpretacja	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)
<b>Dodatni</b>	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.	11,5 (7/61) (5,4; 18,9)	9,8 (6/61) (4,6; 15,2)
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	12,9 (4/31) (4,0; 26,0)	12,9 (4/31) (4,3; 23,8)
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Tylko HPV 18/45 dodat.	10,0 (3/30) (2,4; 23,0)	6,7 (2/30) (0,8; 17,7)
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	N/D (0/0)	N/D (0/0)
	HPV 16/18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	3,4 (8/237) (1,7; 5,3)	1,7 (4/237) (0,6; 3,2)
	Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	5,0 (15/298) (3,6; 6,2)	3,4 (10/298) (2,3; 3,9)
<b>Ujemny</b>	HPV 16/18/45 ujem.*	HPV WR ujem.	1,0 (5/505) (0,4; 1,9)	0,2 (1/505) (0,0; 0,9)
Częstość występowania			2,5% (20/803)	1,4% (11/803)

AHPV-GT = Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny, N/D = Nie dotyczy

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

**Tabela 10:** Populacja NILM w wieku  $\geq 30$  lat: Bezwzględne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV wg grupy wiekowej (Nieskorygowane dane szacunkowe)

	Wynik testu Aptima HPV	AHPV-GT Wynik testu	Interpretacja	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)
Od 30 do 39 lat	Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.	8,8 (3/34) (2,2; 17,8)	5,9 (2/34) (1,0; 13,3)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	0,0 (0/17) (0,0; 15,5)	0,0 (0/17) (0,0; 14,3)
		HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Tylko HPV 18/45 dodat.	17,6 (3/17) (3,2; 35,4)	11,8 (2/17) (1,3; 27,0)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	N/D (0/0)	N/D (0/0)
		HPV 16/18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	4,0 (5/124) (1,7; 6,2)	2,4 (3/124) (0,7; 4,2)
		Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	5,1 (8/158) (3,2; 6,1)	3,2 (5/158) (1,5; 4,0)
	Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.*	HPV WR ujem.	0,5 (1/217) (0,0; 1,9)	0,5 (1/217) (0,0; 1,7)
Częstość występowania				2,4% (9/375)	1,6% (6/375)
$\geq 40$ lat	Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.	14,8 (4/27) (4,7; 27,3)	14,8 (4/27) (5,1; 22,8)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	28,6 (4/14) (6,3; 50,7)	28,6 (4/14) (6,4; 46,5)
		HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Tylko HPV 18/45 dodat.	0,0 (0/13) (0,0; 20,1)	0,0 (0/13) (0,0; 17,1)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	N/D (0/0)	N/D (0/0)
		HPV 16/18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	2,7 (3/113) (0,7; 5,8)	0,9 (1/113) (0,0; 3,1)
		Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	5,0 (7/140) (2,6; 7,0)	3,6 (5/140) (1,9; 4,2)
	Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.*	HPV WR ujem.	1,4 (4/288) (0,5; 2,5)	0,0 (0/288) (0,0; 0,8)
Częstość występowania				2,6% (11/428)	1,2% (5/428)

AHPV-GT = Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny, N/D = Nie dotyczy  
\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

Względne ryzyko wystąpienia choroby w przypadku dodatniego wyniku testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w porównaniu z wynikiem ujemnym przedstawiono w Tabeli 11 (skorygowane pod względem obciążenia) oraz Tabela 12 (nieskorygowane). U kobiet, u których występowały typy HPV 16, 18 i/lub 45, prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN2 było 20,9 raza większe, a prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN3 29,4 raza większe niż u kobiet, u których nie występowały typy HPV wysokiego ryzyka. U kobiet, u których występowały typy HPV 16, 18 i/lub 45, prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN2 było 3,7 raza większe, a prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN3 5,3 raza większe niż u kobiet, u których występował co najmniej jeden z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka.

**Tabela 11:** Populacja NILM w wieku  $\geq$  30 lat: Względne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (dane szacunkowe skorygowane pod względem obciążenia)

Interpretacja testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodat. vs. HPV WR ujem.	20,9 (6,3; 69,3)	29,4 (7,2; 120,8)
HPV 16 i/lub 18/45 dodat. vs. Inne HPV WR dodat.	3,7 (1,5; 9,5)	5,3 (1,5; 18,2)
Inne HPV WR dodat. vs. HPV WR ujem.	5,6 (1,8; 17,7)	5,6 (1,2; 26,0)
HPV WR dodat. vs. HPV WR ujem.	8,5 (2,9; 24,8)	10,1 (2,7; 38,2)
Częstość występowania	0,9%	0,5%

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

**Tabela 12:** Populacja NILM w wieku  $\geq$  30 lat: Względne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (Nieskorygowane dane szacunkowe)

Interpretacja testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodat. vs. HPV WR ujem.	11,6 (3,8; 35,4)	49,7 (6,1; 406)
HPV 16 i/lub 18/45 dodat. vs. Inne HPV WR dodat.	3,4 (1,3; 9,0)	5,8 (1,7; 20,0)
Inne HPV WR dodat. vs. HPV WR ujem.	3,4 (1,1; 10,3)	8,5 (1,0; 75,8)
HPV WR dodat. vs. HPV WR ujem.	5,1 (1,9; 13,8)	16,9 (2,2; 132)
Częstość występowania	2,5% (20/803)	1,4% (11/803)

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.



Współczynniki prawdopodobieństwa ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3) dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 przedstawiono w Tabeli 13 (skorygowane pod względem obciążenia) oraz Tabela 14 (nieskorygowane). Prawdopodobieństwo obecności typów HPV 16, 18 i/lub 45 było 17,1 raza większe u kobiet z  $\geq$ CIN2 i 21,9 raza większe u kobiet z  $\geq$ CIN3.

**Tabela 13:** Populacja NILM w wieku  $\geq$  30 lat: Współczynniki prawdopodobieństwa w kierunku wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (dane szacunkowe skorygowane pod względem obciążenia)

Interpretacja testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Współczynnik prawdopodobieństwa (95% CI)	Współczynnik prawdopodobieństwa (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodat.	17,1 (6,2; 46,9)	21,9 (7,3; 65,2)
Inne HPV WR dodat.	4,2 (1,7; 10,1)	3,8 (1,2; 12,6)
HPV WR ujem.	0,7 (0,5; 1,0)	0,7 (0,4; 1,1)

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

**Tabela 14:** Populacja NILM w wieku  $\geq$  30 lat: Współczynniki prawdopodobieństwa w kierunku wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (nieskorygowane dane szacunkowe)

Interpretacja testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Współczynnik prawdopodobieństwa (95% CI)	Współczynnik prawdopodobieństwa (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodat.	5,1 (2,3; 9,1)	7,9 (3,5; 12,9)
Inne HPV WR dodat.	1,4 (0,7; 2,2)	1,2 (0,4; 2,3)
HPV WR ujem.	0,4 (0,1; 0,7)	0,1 (0,0; 0,6)

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

## Skuteczność kliniczna testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 z próbkami do badań cytologicznych na podłożu płynnym SurePath

Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath zostały pobrane od mieszkanki Kanady, 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 replikacie każdej próbki (n=494). Próbki dodatkowo były następnie badane przy użyciu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45. Osobna porcja (1 mL) każdej próbki została wydzielona do przebadania za pomocą dostępnego na rynku testu PCR w kierunku wirusa HPV (n=557). Bezwzględne ryzyko wystąpienia choroby ( $\geq$ CIN3) w zależności od wyniku testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz wyniku testu Aptima HPV przedstawiono w Tabeli 15. Podobne wyniki wykazano dla komercyjnie dostępnego testu PCR na HPV, który rozróżnia HPV 16 i HPV 18, ale nie HPV 45, oddzielnie od innych genotypów wysokiego ryzyka. Względne ryzyko wystąpienia choroby dla wyników dodatnich w stosunku do ujemnych przedstawiono w Tabeli 16 dla testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 i testu PCR na HPV.

**Tabela 15:** Bezwzględne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego HPV 16 18/45 oraz komercyjnie dostępnego testu PCR na HPV

Wynik HPV WR	Wynik genetyczny	Interpretacja	Bezwzględne ryzyko Aptima $\geq$ CIN3 (95% CI)	Bezwzględne ryzyko HPV w PCR $\geq$ CIN3 (95% CI)
Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub 18/45* dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45* dodat.	14,6 (9,6-19,5)	14,4 (10,4-18,1)
	HPV 16 dodat. i HPV 18/45* ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	19,4 (12,0-26,8)	16,8 (11,6-21,9)
	HPV 16 ujem. i/lub 18/45* dodat.	Tylko HPV 18/45* dodat.	3,3 (0,1-13,8)	7,1 (1,0-18,8)
	HPV 16 dodat. i/lub 18/45* dodat.	HPV 16 i HPV 18/45* dodat.	25,0 (1,3-75,2)	14,3 (0,7-49,9)
	HPV 16 ujem. i/lub HPV 18/45* ujem.	Inne HPV WR dodat.	2,5 (1,4-3,7)	2,1 (1,1-3,3)
	Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	9,8 (8,1-11,2)	8,5 (7,0-9,5)
Ujemny**	HPV 16 ujem. i/lub HPV 18/45* ujem.	HPV WR ujem.	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
Cz. wyst. (%)			4,9%	5,0%

WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny

\*Test PCR w kierunku HPV pozwala odróżnić HPV 16 i HPV 18 od pozostałych 12 genotypów wysokiego ryzyka, w tym HPV 45.

\*\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

**Tabela 16:** Względne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego HPV 16 18/45 oraz komercyjnie dostępnego testu PCR na HPV

Wynik testu Aptima		Wynik testu PCR w kierunku HPV	
Interpretacja testu	Ryzyko względne $\geq$ CIN3 (95% CI)	Interpretacja testu	Ryzyko względne $\geq$ CIN3 (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodatni vs. HPV WR ujemny	14,8 (4,3-50,3)	HPV 16 i/lub 18 dodatni vs. HPV WR ujemny	12,6 (3,8-41,9)
HPV 16 i/lub 18/45 dodatni vs. inne HPV WR dodatnie	2,0 (0,8-4,6)	HPV 16 i/lub 18 dodatni vs. inne HPV WR dodatnie	3,9 (1,6-9,5)
Inne HPV WR dodatnie vs. HPV WR ujemny	7,5 (2,0-28,6)	Inne HPV WR dodatnie vs. HPV WR ujemny	3,2 (0,8-12,8)
HPV WR dodatni vs. HPV WR ujemny	10,0 (3,0-32,7)	HPV WR dodatni vs. HPV WR ujemny	7,4 (2,3-24,3)
Częstość występowania	4,9%	Częstość występowania	5,0%

## Skuteczność kliniczna testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 z próbkami pobranymi do zestawu do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy (CSCT)

Próbki CSCT zostały pobrane od kobiet podczas rutynowych badań przesiewowych lub wizyt kontrolnych i zbadane testem Aptima HPV. Pozostałe próbki CSCT (n=378) z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV zostały zbadane testem genetycznym Aptima HPV 16 18/45 w systemie Tigris DTS. Genotyp HPV w każdej próbce był określany przy użyciu testu genotypowania DNA. Próbki z rozbieżnymi wynikami testów genetycznych (DNA i test genetyczny Aptima HPV 16 18/45) zostały zbadane przy użyciu zatwierdzonego testu sekwencjonowania PCR z odwrotną transkryptazą w celu określenia ich stanu HPV 16, HPV 18 i HPV 45. Określono zgodność kliniczną (wyników dodatnich i ujemnych) testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w wykrywaniu wirusa HPV 16, 18 i 45 wysokiego ryzyka. Wyniki przedstawiono w Tabeli 17.

**Tabela 17:** Zgodność kliniczna wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w systemie Tigris DTS w wykrywaniu wirusa HPV 16, 18 i 45 wysokiego ryzyka w próbkach CSCT

		Metoda referencyjna				Ogółem
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 ujem., HPV 18/45 ujem.	
Aptima HPV 16 18/45, test genetyczny	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	125	0	1	0	126
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	0	43	0	1	44
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	0	0	8	1	9
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 ujem.	1	1	0	197	199
	<b>Ogółem</b>	126	44	9	199	378

Dodat. = Dodatni, Ujem = Ujemny

Zgodność wyników dodatnich: 98,3% (176/179) (95% CI: 95,2; 99,4)

Zgodność wyników ujemnych: 99,0% (197/199) (95% CI: 96,4; 99,7)

## Czułość analityczna

Granica wykrywalności (LOD) przy klinicznej wartości granicznej to stężenie, które w 95% przypadków generuje wynik dodatni (powyżej klinicznej wartości granicznej). Wartość LOD testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 określono na podstawie badania pojedynczych ujemnych klinicznych próbek do badań cytologicznych na płynnym podłożu ThinPrep, zawierających transkrypty HPV *in vitro* w różnych stężeniach. Przebadano po trzydzieści replikatów z każdym poziomem kopii z trzema seriami odczynników, co dało łącznie 90 replikatów. Badania przy użyciu testu wykonywano w okresie 6 dni. W jednym dniu wykonano 3 serie, a w każdej serii badano 5 replikatów jednej kombinacji genotypu. Granica wykrywalności z prawdopodobieństwem 95% (Tabela 18) została obliczona na podstawie analizy regresji probitowej wyników dodatnich dla każdego panelu rozcieńczeń.

**Tabela 18:** Granica wykrywalności testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 przy klinicznej wartości granicznej

Wykrywany typ / linia komórkowa	Granica wykrywalności* (95% CI)
HPV 16	57,3 (46,5 – 74,6)
HPV 18	84,8 (66,1 – 115,6)
HPV 45	60,0 (46,6 – 82,3)
SiHa	1,2 (0,9; 1,7)
HeLa	0,4 (0,3; 0,5)
MS751	2,6 (1,9; 4,2)

\*liczba kopii na reakcję w przypadku transkryptów *in vitro* i liczba komórek na reakcję w przypadku linii komórkowych

## Precyzja testu

Precyzję testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oceniono w dwóch badaniach z użyciem tego samego panelu 22-elementowego. Badanie 1 przeprowadzono w 3 zewnętrznych ośrodkach w celu określenia odtwarzalności testu. Badanie 2 przeprowadzono samodzielnie w celu określenia precyzji laboratorium. Panel składał się z 14 elementów HPV 16-dodatnich i/lub HPV 18/45-dodatnich o stężeniach nie mniejszych niż granica wykrywalności testu (oczekiwany odsetek wyników dodatnich:  $\geq 95\%$ ), 5 elementów HPV 16-dodatnich i/lub HPV 18/45-dodatnich o stężeniach niższych niż granica wykrywalności testu (oczekiwany odsetek wyników dodatnich:  $> 0\%$  do  $< 25\%$ ) oraz z 3 elementów HPV-ujemnych. Elementy panelu HPV 16-dodatnie i/lub HPV 18/45-dodatnie zostały przygotowane poprzez dodanie wyhodowanych komórek zainfekowanych HPV (SiHa, HeLa oraz MS751; ATCC, Manassas, Virginia) do pul resztkowych próbek do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep lub rozpuszczenie próbek klinicznych HPV 16, 18 i/lub 45 w połączonych próbkach do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep. HPV-ujemne elementy panelu przygotowano z pul próbek do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep.

W badaniach 1 i 2 operatorzy w każdym z 3 ośrodków (1 aparat na ośrodek) wykonywali 2 listy robocze testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45 dziennie przez 3 dni. Badania wykonywano przy użyciu 1 partii odczynników. Każda lista robocza zawierała 3 replikaty 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 1 seria x 2 listy robocze dziennie x 3 dni x 3 replikaty). W badaniu 2 testy wykonywano samodzielnie przez okres 20 dni. Wykonano łącznie 162 badania reakcji z udziałem każdego elementu panelu (1 ośrodek x 3 aparaty x 3 operatorów x 3 partie x 2 listy robocze x 3 replikaty).

Elementy panelu są opisane w Tabeli 19a oraz Tabeli 19b, wraz z podsumowaniem zgodności wyników z wynikami oczekiwanymi w kierunku HPV 16 oraz HPV 18/45 odpowiednio.

**Tabela 19a:** Badanie 1 i badanie 2 precyzji testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45: Opis panelu i procentowa zgodność z oczekiwanymi wynikami HPV 16

Opis panelu (komórki/reakcję)	HPV 16 Wynik oczekiwany	Procentowa zgodność (95% CI)	
		Badanie 1 (3 ośrodki)	Badanie 2 (1 ośrodek)
Komórki SiHa (3,0 komórki)	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki HeLa (0,6 komórki)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki MS751 (11,0 komórek)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 16	Dodatni	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 18/45	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	98,8 (160/162) (95,6; 99,7)
Komórki SiHa (1,6 komórki) oraz Komórki HeLa (3,3 komórki)	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	98,8 (160/162) (95,6; 99,7)
Komórki SiHa (1,6 komórki) oraz Komórki MS751 (42,5 komórek)	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)
Komórki SiHa (15,7 komórki) oraz Komórki HeLa (0,3 komórki)	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (161/161) (97,7; 100)
Komórki SiHa (15,7 komórki) oraz Komórki MS751 (4,3 komórek)	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki SiHa (1,6 komórki)	Dodatni	97,2 (105/108) (92,1; 99,1)	98,8 (160/162) (95,6; 99,7)
Komórki HeLa (0,3 komórki)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (161/161) (97,7; 100)
Komórki MS751 (4,3 komórek)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 2 w kierunku HPV 16	Dodatni	97,2 (104/107) (92,1; 99,0)	94,4 (152/161) (88,7; 97,0)
Próbka kliniczna 2 w kierunku HPV 18/45	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki SiHa (0,1 komórki)	Ujemny	85,2 (92/108) (77,3; 90,7)	84,6 (137/162) (78,2; 89,3)
Komórki HeLa (0,02 komórki)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki MS751 (0,04 komórek)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 3 w kierunku HPV 16	Ujemny	95,4 (103/108) (89,6; 98,0)	92,6 (150/162) (87,5; 95,7)
Próbka kliniczna 3 w kierunku HPV 18/45	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)
Próbka kliniczna 1 ujemna w kierunku HPV	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 2 ujemna w kierunku HPV	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 3 ujemna w kierunku HPV	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)

CI = Przedział ufności wyniku

**Uwaga:** Na zgodność procentową mogły mieć wpływ różnice w dozowaniu, rozcieńczeniu i/lub porcjowaniu.

**Tabela 19b:** Badanie 1 i badanie 2 precyzji testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45: Opis panelu i procentowa zgodność z oczekiwanymi wynikami HPV 18/45

Opis panelu (komórki/reakcję)	Procentowa zgodność (95% CI)		
	Wynik oczekiwany w kierunku HPV 18/45	Badanie 1 (3 ośrodki)	Badanie 2 (1 ośrodek)
Komórki SiHa (3,0 komórki)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	98,8 (160/162) (95,6; 99,7)
Komórki HeLa (0,6 komórki)	Dodatni	93,5 (101/108) (87,2; 96,8)	98,1 (159/162) (94,7; 99,4)
Komórki MS751 (11,0 komórek)	Dodatni	92,6 (100/108) (86,1; 96,2)	92,6 (150/162) (87,5; 95,7)
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 16	Ujemny	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 18/45	Dodatni	99,1 (107/108) (94,9; 99,8)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)
Komórki SiHa (1,6 komórki) oraz Komórki HeLa (3,3 komórki)	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki SiHa (1,6 komórki) oraz Komórki MS751 (42,5 komórek)	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)
Komórki SiHa (15,7 komórki) oraz Komórki HeLa (0,3 komórki)	Dodatni	63,9 (69/108) (54,5; 72,3)	67,7 (109/161) (60,1; 74,4)
Komórki SiHa (15,7 komórki) oraz Komórki MS751 (4,3 komórek)	Dodatni	98,1 (106/108) (93,5; 99,5)	92,0 (149/162) (86,8; 95,3)
Komórki SiHa (1,6 komórki)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)
Komórki HeLa (0,3 komórki)	Dodatni	71,3 (77/108) (62,1; 79,0)	92,5 (149/161) (87,4; 95,7)
Komórki MS751 (4,3 komórek)	Dodatni	86,1 (93/108) (78,3; 91,4)	69,1 (112/162) (61,6; 75,7)
Próbka kliniczna 2 w kierunku HPV 16	Ujemny	100 (107/107) (96,5; 100)	99,4 (160/161) (96,6; 99,9)
Próbka kliniczna 2 w kierunku HPV 18/45	Dodatni	88,0 (95/108) (80,5; 92,8)	79,6 (129/162) (72,8; 85,1)
Komórki SiHa (0,1 komórki)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki HeLa (0,02 komórki)	Ujemny	92,6 (100/108) (86,1; 96,2)	86,4 (140/162) (80,3; 90,9)
Komórki MS751 (0,04 komórek)	Ujemny	97,2 (105/108) (92,1; 99,1)	98,1 (159/162) (94,7; 99,4)
Próbka kliniczna 3 w kierunku HPV 16	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)
Próbka kliniczna 3 w kierunku HPV 18/45	Ujemny	80,6 (87/108) (72,1; 86,9)	81,5 (132/162) (74,8; 86,7)
Próbka kliniczna 1 ujemna w kierunku HPV	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)
Próbka kliniczna 2 ujemna w kierunku HPV	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 3 ujemna w kierunku HPV	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)

CI = Przedział ufności wyniku

**Uwaga:** Na zgodność procentową mogły mieć wpływ różnice w dozowaniu, rozcieńczaniu i/lub porcjowaniu.

## Reaktywność krzyżowa

Swoistość analityczną testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 badano przy użyciu pul resztkowych próbek do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep rozcieńczonych w stosunku 1:2,9 w podłożu STM (porównywalnych do próbek przenoszonych do probówki do przenoszenia próbek Aptima), do którego dodawano wyhodowane bakterie, drożdże lub grzyby; wyhodowane wirusy; lub nieskierowane transkrypty *in vitro* HPV. Mikroorganizmy i badane stężenia, dla których nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej, są określone w Tabeli 20. Przyjęte w badaniu kryteria oceny wpływu obecności mikroorganizmu na swoistość testu oparte były na wynikach dodatnich.

**Tabela 20:** Panel do badania swoistości analitycznej: Mikroorganizmy i stężenia niepowodujące reaktywności krzyżowej

Mikroorganizm	Badane stężenie bez reaktywności krzyżowej	Mikroorganizm	Badane stężenie bez reaktywności krzyżowej
<b>Bakterie</b>			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Atopobium vaginae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Mycoplasma genitalium*</i>	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Campylobacter jejuni</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 <sup>5</sup> IFU/mL	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Clostridium difficile</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Prevotella bivia</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Escherichia coli</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL		
<b>Nieskierowane genotypy HPV wysokiego ryzyka*</b>			
HPV 31	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL	HPV 56	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL
HPV 33	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL	HPV 58	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL
HPV 35	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL	HPV 59	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL
HPV 39	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL	HPV 66	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL
HPV 51	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL	HPV 68	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL
HPV 52	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL		
<b>Drożdże/pierwotniaki</b>			
<i>Candida albicans</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/mL	<i>Trichomonas vaginalis**</i>	1x10 <sup>5</sup> komórek/mL
<b>Wirusy</b>			
Adenowirus	5,25x10 <sup>7</sup> PFU/mL	HIV-1	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL
Cytomegalowirus	1,58x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	Wirus opryszczki pospolitej typu 1	3,39x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /mL

**Tabela 20:** Panel do badania swoistości analitycznej: Mikroorganizmy i stężenia niepowodujące reaktywności krzyżowej

Mikroorganizm	Badane stężenie bez reaktywności krzyżowej	Mikroorganizm	Badane stężenie bez reaktywności krzyżowej
Wirus Epsteina-Barr	1,59x10 <sup>5</sup> TD <sub>50</sub> /mL	Wirus opryszczki pospolitej typu 2	2,29x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
<b>Inne nieskierowane genotypy HPV*</b>			
HPV 6	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL	HPV 53	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL
HPV 11	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL	HPV 67	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL
HPV 26	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL	HPV 69	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL
HPV 30	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL	HPV 70	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL
HPV 34	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL	HPV 73	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL
HPV 42	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL	HPV 82	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL
HPV 43	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL	HPV 85	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL
HPV 44	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/mL		

CFU = Jednostki tworzące kolonie, PFU = Jednostki tworzące łysinki, TD<sub>50</sub> = Dawka przekształcająca dla 50% komórek, TCID<sub>50</sub> = Dawka zakaźna dla 50% hodowli komórkowych

\*Zbadano transkrypt *in vitro*.

\*\*Chociaż nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej dla *Trichomonas vaginalis*, zaobserwowano zakłócenia (patrz poniżej).

Czułość analityczna testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w obecności mikroorganizmów została zbadana przy użyciu tego samego panelu (patrz Tabela 20), do którego dodano komórki SiHa zakażone HPV w niskim stężeniu (1,6 komórki na reakcję) oraz komórki HeLa zakażone HPV (0,3 komórki na reakcję). Przyjęte w badaniu kryteria oceny wpływu obecności mikroorganizmu na czułość testu oparte były na wynikach dodatnich. Obecność mikroorganizmów nie zakłócała testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 z wyjątkiem *Trichomonas vaginalis* (TV). Zaobserwowano zakłócenia przy TV w stężeniach wyższych niż 3x10<sup>4</sup> komórek/mL.



## Zakłócenia

Substancje opisane w Tabeli 21 były indywidualnie wprowadzane do pul próbek do badań cytologicznych na płynnym podłożu ThinPrep rozcieńczonych w stosunku 1:2,9 w podłożu STM w stężeniach określonych w tabeli. Wszystkie substancje były badane przy użyciu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w obecności i bez obecności zakażonych HPV komórek z hodowli (SiHa, 1,6 komórki/reakcję i HeLa, 0,3 komórki/reakcję). Zakłócenia zaobserwowano w przypadku obecności następujących substancji w stężeniach wyższych niż wskazane: środki nawilżające do pochwy (zawierające Polikwaternium 15) w stężeniu 1% masowo-obj., krem przeciwgrzybiczy (zawierający tioconazole) w stężeniu 0,03% masowo-obj., śluz w stężeniu 0,3% masowo-obj., hormony dopochwowe (zawierające progesteron) w stężeniu 1% masowo-obj.

**Tabela 21:** Substancje badane pod kątem wywoływania zakłóceń w działaniu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45

Kategoria produktów	Marka lub rodzaj produktu	Najwyższe badane stężenie, które nie zakłócało testu*
Środek nawilżający do pochwy	Płyn KY o naturalnym odczuciu	10% obj.
	Lubrykant osobisty up & up (marka Target)	
	Astroglide**	1% masowo-obj.
Żel plemnikobójczy/antykonceptyjny	Pianka antykonceptyjna dopochwowa (VCF)	10% masowo-obj.
	Opcjonalnie żel antykonceptyjny dopochwowy Conceptrol	
Krem przeciwgrzybiczy	up & up (marka Target) miconazole 3	10% masowo-obj.
	Monistat 3 Combination Pack	
	up & up (marka Target ) Tioconazole 1	0,03% masowo-obj.
Środek do płukania	Środek do płukania Summer's Eve	10% obj.
	Środek do płukania dla kobiet up & up (marka Target)	
Dezodorant dla kobiet	Dezodorant dla kobiet Summer's Eve	10% masowo-obj.
	Dezodorant dla kobiet FDS	
Śluz	Mucyna wieprzowa	0,3% masowo-obj.
Hormony dopochwowe	Krem dopochwowy Estrace (estrogen)	10% masowo-obj.
	Krem Crinone (progesteron)	1% masowo-obj.
Krew pełna***	krew pełna	5% obj.
Leukocyty	leukocyty	1x10 <sup>7</sup> komórek/mL
Roztwór do płukania na bazie lodowatego kwasu octowego <sup>^</sup>	Lodowaty kwas octowy + roztwór CytoLyt	2,6% obj.

\*stężenie w badanej próbce; Próbkę do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep rozcieńczona w stosunku 1:2,9 w podłożu STM (porównywalnych do próbek przenoszonych do próbki do przenoszenia próbek Aptima)

\*\*Lubrykant osobisty zawierający Polikwaternium 15.

\*\*\*krew pełna zaburzała test, gdy była obecna w stężeniu badanym 10% obj.

<sup>^</sup>Roztwór do płukania na bazie lodowatego kwasu octowego przygotowany poprzez wymieszanie 1 części lodowatego kwasu octowego i 9 części roztworu Cytolyt, zgodnie ze wskazaniem w Instrukcji obsługi aparatu ThinPrep 2000.

## Oczekiwane wyniki w Panther System: Częstość występowania mRNA wirusa HPV wysokiego ryzyka

Częstość występowania zakażeń wirusem HPV wysokiego ryzyka jest silnie zróżnicowana i zależy od kilku czynników, z których najistotniejszym jest wiek.<sup>19,20</sup> Częstość występowania zakażeń HPV wykrywanych poprzez detekcję DNA tego wirusa była przedmiotem wielu badań, jednak tylko w nielicznych badaniach podawana jest częstość występowania 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, mającego na celu ocenę testu Aptima HPV, który wykrywa 14 typów HPV wysokiego ryzyka.<sup>21</sup> W badaniu CLEAR próbki od kobiet z dodatnimi wynikami testów Aptima HPV w Panther System zostały ocenione w trzech ośrodkach badawczych przy użyciu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w Panther System w oddzielnym badaniu klinicznym. Częstość występowania HPV 16, 18/45, jak również pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka zaobserwowanych w badaniu klinicznym, na podstawie wyników testów Aptima HPV i testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45 w Panther System, została skategoryzowana ogólnie, według grup wiekowych i według ośrodka badającego. Ujemny wynik testu Aptima HPV w Panther System oznacza, że żaden z 14 typów HPV wysokiego ryzyka nie jest obecny i dla celów analizy został oznaczony jako ujemny w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45 w Panther System. Tabela 22 przedstawia wyniki populacji z ASC-US (atypowymi komórkami nabłonka wielowarstwowego płaskiego o nieokreślonym charakterze) i populacji NILM (ujemnej w kierunku zmian śród nabłonkowych lub złośliwych).

**Tabela 22:** Częstość występowania mRNA wirusa HPV wysokiego ryzyka w populacjach z podziałem na grupy wiekowe i ośrodki badające oraz łączna częstość występowania

	% wyników dodatnich (x/n)							
	Populacja ASC-US (≥ 21 lat)				Populacja NILM (≥ 30 lat)			
	HPV 16 dodat.	HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	11 innych WR* dodat.	HPV 16 dodat.	HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/ 45 dodat.	11 innych WR* dodat.
<b>Wszystkie</b>	7,8 (71/911)	5,3 (48/911)	0,3 (3/911)	26,0 (237/911)	0,5 (50/10 839)	0,5 (49/10 839)	< 0,1 (1/10 839)	3,6 (391/10 839)
<b>Grupa wiekowa (lata)</b>								
<b>od 21 do 29</b>	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	N/D	N/D	N/D	N/D
<b>od 30 do 39</b>	5,5 (14/255)	6,7 (17/255)	0,4 (1/255)	23,1 (59/255)	0,7 (31/4 183)	0,7 (31/4 183)	0 (0/4 183)	5,1 (215/4 183)
<b>≥ 40</b>	1,9 (5/268)	4,1 (11/268)	0 (0/268)	11,6 (31/268)	0,3 (19/6 656)	0,3 (18/6 656)	< 0,1 (1/6 656)	2,6 (176/6 656)
<b>Ośrodek badający**</b>								
<b>1</b>	5,6 (17/304)	6,6 (20/304)	0,3 (1/304)	27,0 (82/304)	0,4 (16/3 610)	0,4 (16/3 610)	< 0,1 (1/3 610)	3,6 (130/3 610)
<b>2</b>	9,6 (29/303)	3,6 (11/303)	0,3 (1/303)	26,4 (80/303)	0,5 (18/3 614)	0,4 (15/3 614)	0 (0/3 614)	3,6 (130/3 614)
<b>3</b>	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3 615)	0,5 (18/3 615)	0 (0/3 615)	3,6 (131/3 615)

N/D = Nie dotyczy, WR = Wysokiego ryzyka, dodat. = dodatnie

Uwaga: Kobiety z ujemnym wynikiem testu Aptima HPV w Panther System zostały oznaczone jako kobiety z ujemnym wynikiem testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w Panther System dla celów analizy.

\* Typy HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 oraz 68

\*\*W populacji NILM nie wszystkie uczestniczki z ujemnymi wynikami testu Aptima HPV w Panther System były badane testem genetycznym Aptima HPV 16 18/45 w Panther System. W przypadku analizy według miejsca przeprowadzania badań, wyniki dla tych kobiet zostały losowo przypisane do jednego z 3 ośrodków badających.

## Skuteczność testu w Panther System

### Projekt badania klinicznego testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 z próbkami do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep

Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45 w systemie Panther System oceniono podczas prospektywnego, wieloośrodkowego badania klinicznego pod nazwą CLEAR, prowadzonego w USA, przy wykorzystaniu próbek do badań cytologicznych pozyskanych od kobiet skierowanych na takie badania, które zgodziły się na wykorzystanie ich materiału w badaniu klinicznym. Badanie CLEAR zostało przeprowadzone w celu określenia charakterystyki klinicznej testu Aptima HPV stosowanego w systemie Tigris DTS do detekcji śródnabłonkowych neoplazji szyjki macicy stopnia 2 i poważniejszych zmian chorobowych w obrębie szyjki macicy ( $\geq$ CIN2). Kobiety były kwalifikowane do grupy ASC-US albo do grupy NILM na podstawie wyników rutynowych badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy na próbkach do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep. 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 śródnabłonkowych lub złośliwych (NILM).

Do badania włączono kobiety z 18 ośrodków klinicznych, głównie z poradni położniczych/ginekologicznych zlokalizowanych w różnych obszarach geograficznych, należące do różnych populacji. Podczas badania CLEAR, resztkowe próbki do badań cytologicznych badano zarówno testem Aptima HPV w systemie Tigris DTS, jak i zatwierdzonym przez FDA testem DNA w kierunku HPV. Kwalifikujące się do badania resztkowe próbki do badań cytologicznych z badania CLEAR zostały przebadane testem Aptima HPV w Panther System. W badaniu klinicznym z użyciem testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45, resztkowe próbki do badania cytologicznego zostały zbadane przy użyciu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w Panther System.

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 biopsję (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 i/lub zatwierdzonego przez FDA testu wykrywającego DNA wirusa HPV, a także losowo wybrane kobiety z ujemnymi wynikami obu testów skierowane zostały na kolposkopię w ramach oceny stanu początkowego. U każdej kobiety poddanej kolposkopii wykonano łyżeczkowanie szyjki macicy (ECC). Biopsje wykonano tylko z widocznych zmian chorobowych (metoda celowana; 1 biopsja na zmianę). Obserwacja kobiet w badaniu NILM, u których nie stwierdzono  $\geq$ CIN2, trwa 3 lata i obejmuje coroczne wizyty w celu wykonania badań cytologicznych. Kobiety z ASC-US lub poważniejszymi wynikami cytologii w okresie obserwacji są kierowane na kolposkopię przy użyciu tej samej procedury biopsji, która została wykonana przy ocenie bazowej.

Stan chorobowy był określany na podstawie konsensusu panelu przeglądu histologicznego, który opierał się na porozumieniu co najmniej 2 specjalistów patologów. Specjalistom patologom nie ujawniano stanu HPV i cytologii kobiet, ani ich rozpoznań histologicznych. Badaczom, lekarzom ani pacjentkom nie ujawniano wyników testów w kierunku HPV aż do zakończenia kolposkopii, aby uniknąć obciążenia wyniku.

W celu potwierdzenia zamierzonego zastosowania testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w Panther System jako testu potwierdzającego dla próbki dodatniej w teście Aptima HPV, do badania testem genetycznym Aptima HPV 16 18/45 w Panther System zakwalifikowano resztkowe próbki do badania cytologicznego od wszystkich kobiet ocenianych w badaniu ASC-US i badaniu NILM z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV. Oceniono skuteczność kliniczną testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w Panther System w wykrywaniu  $\geq$ CIN2 oraz śródnabłonkowych neoplazji szyjki macicy w stopniu 3 lub cięższym ( $\geq$ CIN3).

## Populacja ASC-US w wieku $\geq 21$ lat: Skuteczność kliniczna testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 z próbkami do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep

Ogółem oceniono 404 kobiety w wieku 21 lat i starszych z wynikiem cytologii ASC-US i dodatnim wynikiem testu Aptima HPV w Panther System, których próbki do badania cytologicznego kwalifikowały się do badania testem genetycznym Aptima HPV 16 18/45 w Panther System. Spośród nich 45 kobiet nie miało wystarczającej ilości próbek do badania cytologicznego, a 6 miało nieokreślone rozpoznanie choroby; po przeprowadzeniu analizy brakujących wartości nie zostały one uwzględnione w obliczeniach skuteczności. 353 uwzględnione w analizie kobiety z rozstrzygającym stanem chorobowym miały ważne wyniki testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45 w Panther System, oparte na testach referencyjnych z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV w Panther System. U sześćdziesięciu siedmiu (67) kobiet stwierdzono zmiany  $\geq$ CIN2, a u 30 zmiany  $\geq$ CIN3.

Spośród 353 uwzględnionych w analizie kobiet z dodatnimi wynikami testu Aptima HPV w Panther System, 118 kobiet miało dodatnie wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w Panther System, wskazujące na obecność HPV 16 i/lub HPV 18/45; 235 miało wyniki ujemne, wskazujące na obecność jednego lub więcej z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka wykrytych testem Aptima HPV (tj. typy HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 i 68). Dodatkowych 539 uwzględnionych w analizie kobiet w wieku 21 lat i starszych z wynikiem badania cytologicznego ASC-US miało ujemne wyniki testów Aptima HPV w Panther System. Ujemny wynik testu Aptima HPV oznacza, że żaden z 14 typów HPV wysokiego ryzyka nie jest obecny i dla celów analizy został oznaczony jako ujemny w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45 w Panther System. Częstość występowania  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 u kobiet z wynikiem badania cytologicznego ASC-US wynosiła odpowiednio 9,1% i 3,8%. W oparciu o badania przy użyciu Panther System, wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 według wyniku testu Aptima HPV i rozpoznania postawionego w wyniku konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny przedstawiono w Tabeli 23.

**Tabela 23:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq 21$  lat: Wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 i Aptima HPV w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny

Wynik testu Aptima HPV	AHPV-GT Wynik testu*	Interpretacja	Rozpoznanie postawione w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny						
			Stan nieokreślony**	Stan prawidłowy	CIN1	CIN2	CIN3	Rak	Ogółem
Dodatni	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	HPV 16 dodat.	1	26	18	11	15	0	71
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	HPV 18/45 dodat.	3	23	16	2	3	1	48
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	2	132	70	23	10	0	237
Ogółem			6	182	104	37	29	1	359
Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.***	HPV WR ujem.	13	450	75	10	4	0	552
Ogółem			19	632	179	47	33	1****	911

AHPV-GT = test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, CIN1 = Śródnaobłonkowe neoplazje szyjki macicy w stopniu 1, WR = Wysokiego ryzyka, Ujem. = ujemny, Dodat. = dodatni

\*Dla wszystkich próbek uzyskano wyniki końcowe (po końcowym teście lub po wyeliminowaniu przyczyn nieważności zgodnie z procedurą). \*\*19 kobiet 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).

\*\*\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

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

Bezwzględne ryzyko wystąpienia choroby ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3) w zależności od wyniku testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz wyniku testu Aptima HPV przedstawiono w Tabeli 24. Ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 u kobiet z obecnymi typami HPV 16, 18 i/lub 45 wynosiło 28,8% w porównaniu z 14,0% u kobiet z jednym lub więcej z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka i 2,6% u kobiet bez typów HPV wysokiego ryzyka. Ryzyko bezwzględne przedstawiono w podziale na grupy wiekowe w Tabeli 25.

**Tabela 24:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq$  21 lat: Bezwzględne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV

Aptima HPV Wynik testu	AHPV-GT Wynik testu	Interpretacja	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)
<b>Dodatni</b>	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.	28,8 (34/118) (22,2; 35,7)	16,9 (20/118) (12,1; 21,8)
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	37,1 (26/70) (27,4; 47,4)	21,4 (15/70) (13,8; 29,5)
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Tylko HPV 18/45 dodat.	13,3 (6/45) (5,5; 25,1)	8,9 (4/45) (2,9; 19,1)
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	66,7 (2/3) (15,2; 98,2)	33,3 (1/3) (1,8; 84,6)
	HPV 16/18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	14,0 (33/235) (10,7; 17,7)	4,3 (10/235) (2,3; 6,7)
	Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	19,0 (67/353) (16,8; 21,1)	8,5 (30/353) (7,1; 9,6)
<b>Ujemny</b>	HPV 16/18/45 ujem.*	HPV WR ujem.	2,6 (14/539) (1,5; 4,0)	0,7 (4/539) (0,2; 1,6)
Częstość występowania			9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

AHPV-GT = Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

**Tabela 25:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq 21$  lat: Bezwzględne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV wg grupy wiekowej

	Wynik testu Aptima HPV	AHPV-GT Wynik testu	Interpretacja	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)
Od 21 do 29 lat	Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	<b>HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.</b>	27,4 (20/73) (19,0; 36,2)	16,4 (12/73) (10,3; 22,5)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	<b>Tylko HPV 16 dodat.</b>	29,4 (15/51) (18,8; 41,1)	19,6 (10/51) (11,3; 28,5)
		HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	<b>Tylko HPV 18/45 dodat.</b>	15,0 (3/20) (3,6; 34,6)	5,0 (1/20) (0,2; 21,6)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	<b>HPV 16 i 18/45 dodat.</b>	100 (2/2) (27,0; 100)	50,0 (1/2) (2,9; 97,1)
		HPV 16/18/45 ujem.	<b>Inne HPV WR dodat.</b>	17,1 (25/146) (12,7; 21,7)	5,5 (8/146) (2,8; 8,6)
		Dodat. lub ujem.	<b>HPV WR dodat.</b>	20,5 (45/219) (17,9; 23,0)	9,1 (20/219) (7,5; 10,2)
	Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.*	<b>HPV WR ujem.</b>	4,2 (7/166) (1,9; 7,6)	0,6 (1/166) (0,0; 2,7)
Częstość występowania				13,5% (52/385)	5,5% (21/385)
Od 30 do 39 lat	Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	<b>HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.</b>	30,0 (9/30) (16,5; 43,9)	16,7 (5/30) (6,9; 26,2)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	<b>Tylko HPV 16 dodat.</b>	50,0 (7/14) (24,2; 74,2)	21,4 (3/14) (5,1; 41,6)
		HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	<b>Tylko HPV 18/45 dodat.</b>	13,3 (2/15) (1,3; 35,2)	13,3 (2/15) (1,3; 32,1)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	<b>HPV 16 i 18/45 dodat.</b>	0 (0/1) (0,0; 93,5)	0 (0/1) (0,0; 93,3)
		HPV 16/18/45 ujem.	<b>Inne HPV WR dodat.</b>	12,1 (7/58) (5,7; 19,5)	3,4 (2/58) (0,5; 8,5)
		Dodat. lub ujem.	<b>HPV WR dodat.</b>	18,2 (16/88) (13,4; 22,3)	8,0 (7/88) (4,6; 10,0)
	Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.*	<b>HPV WR ujem.</b>	1,8 (3/163) (0,4; 4,3)	0,6 (1/163) (0,0; 2,4)
Częstość występowania				7,6% (19/251)	3,2% (8/251)
$\geq 40$ lat	Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	<b>HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.</b>	33,3 (5/15) (12,4; 55,0)	20,0 (3/15) (4,1; 36,0)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	<b>Tylko HPV 16 dodat.</b>	80,0 (4/5) (36,8; 99,0)	40,0 (2/5) (6,3; 78,2)
		HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	<b>Tylko HPV 18/45 dodat.</b>	10,0 (1/10) (0,4; 36,6)	10,0 (1/10) (0,4; 33,1)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	<b>HPV 16 i 18/45 dodat.</b>	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45 ujem.	<b>Inne HPV WR dodat.</b>	3,2 (1/31) (0,1; 13,2)	0 (0/31) (0,0; 7,8)
		Dodat. lub ujem.	<b>HPV WR dodat.</b>	13,0 (6/46) (6,1; 19,7)	6,5 (3/46) (1,7; 10,9)
	Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.*	<b>HPV WR ujem.</b>	1,9 (4/210) (0,6; 3,4)	1,0 (2/210) (0,1; 2,0)
Częstość występowania				3,9% (10/256)	2,0% (5/256)

AHPV-GT = Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

Względne ryzyko wystąpienia choroby w przypadku dodatniego wyniku testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w porównaniu z wynikiem ujemnym przedstawiono w Tabeli 26. U kobiet, u których występowały typy HPV 16, 18 i/lub 45, prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN2 było 11,1 raza większe, a prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN3 22,8 raza większe niż u kobiet, u których nie występowały typy HPV wysokiego ryzyka. U kobiet, u których występowały typy HPV 16, 18 i/lub 45, prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN2 było 2,1 raza większe, a prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN3 4,0 raza większe niż u kobiet, u których występował co najmniej jeden z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka.

**Tabela 26:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq$  21 lat: Względne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV

Interpretacja wyniku testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodatni vs. HPV WR ujem.	11,1 (6,2; 20,0)	22,8 (8,0; 65,6)
HPV 16 i/lub 18/45 dodatni vs. Inne HPV WR dodatnie	2,1 (1,3; 3,1)	4,0 (1,9; 8,2)
Inne HPV WR dodatnie vs. HPV WR ujem.	5,4 (2,9; 9,9)	5,7 (1,8; 18,1)
HPV WR dodatni vs. HPV WR ujem.	7,3 (4,2; 12,8)	11,5 (4,1; 32,2)
Częstość występowania	9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

Współczynniki prawdopodobieństwa ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3) dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 przedstawiono w Tabeli 27. Prawdopodobieństwo obecności typów HPV 16, 18 i/lub 45 było 4,1 raza większe u kobiet z  $\geq$ CIN2 i 5,2 raza większe u kobiet z  $\geq$ CIN3.

**Tabela 27:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq$  21 lat: Współczynniki prawdopodobieństwa wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 według wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV

Interpretacja wyniku testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Współczynnik prawdopodobieństwa (95% CI)	Współczynnik prawdopodobieństwa (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodatni	4,1 (2,9; 5,6)	5,2 (3,5; 7,0)
Inne HPV WR dodatnie	1,6 (1,2; 2,1)	1,1 (0,6; 1,8)
HPV WR ujem.	0,3 (0,2; 0,4)	0,2 (0,1; 0,4)

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

## Populacja NILM w wieku $\geq 30$ lat: Skuteczność kliniczna testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 z próbkami do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep

Ogółem oceniono 512 kobiet w wieku 30 lat i starszych z wynikiem cytologii NILM i dodatnim wynikiem testu Aptima HPV w Panther System, których próbki do badania cytologicznego kwalifikowały się do badania testem genetycznym Aptima HPV 16 18/45. Spośród nich 21 kobiet (11, które uczestniczyły w kolposkopii i 10, które nie uczestniczyły w kolposkopii) nie miało dostępnej odpowiedniej objętości próbki do badania cytologicznego na potrzeby tego badania; po przeprowadzeniu analizy brakujących wartości nie zostały one uwzględnione w obliczeniach skuteczności. 491 uwzględnionych w analizie kobiet miało ważne wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45. Spośród nich 273 zostało poddanych kolposkopii. U czternastu (14) kobiet występowały zmiany  $\geq$ CIN2, a u 10 występowały zmiany  $\geq$ CIN3; u 245 wyniki badań histopatologicznych wykazały stan prawidłowy / zmiany CIN1; u 14 kobiet stan obecności bądź braku choroby był nieokreślony.

Spośród 259 uwzględnionych w analizie kobiet z określonym stanem chorobowym oraz dodatnimi wynikami testu Aptima HPV w systemie Panther System, 65 kobiet miało dodatnie wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w Panther System, wskazujące na obecność HPV 16 i/lub HPV 18/45; 194 miało wyniki ujemne, wskazujące na obecność jednego lub więcej z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka. Dodatkowych 549 uwzględnionych w analizie kobiet w wieku 30 lat i starszych z wynikiem badania cytologicznego NILM oraz określonym stanem chorobowym miało ujemne wyniki testów Aptima HPV w Panther System. Ujemny wynik testu Aptima HPV oznacza, że żaden z 14 typów HPV wysokiego ryzyka nie jest obecny i dla celów analizy został oznaczony jako ujemny w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45 w Panther System. Wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 według wyniku testu Aptima HPV i rozpoznania postawionego w wyniku konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny przedstawiono w Tabeli 28.

**Tabela 28:** Populacja NILM w wieku  $\geq 30$  lat: Wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 i Aptima HPV w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny

Wynik testu Aptima HPV	AHPV-GT Wynik testu*	Interpretacja	Rozpoznanie postawione w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny						
			Stan nieokreślony**	Stan prawidłowy	CIN1	CIN2	CIN3	Rak	Ogółem
Dodatni	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	HPV 16 dodat.	2	28	0	0	3	1	34
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	HPV 18/45 dodat.	1	28	1	1	0	2	33
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	0	1	0	0	0	0	1
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	11	175	12	3	4	0	205
Ogółem			14	232	13	4	7	3	273
Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.***	HPV WR ujem.	31	527	16	5	1	0	580
Ogółem			45	759	29	9	8	3****	853

AHPV-GT = Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny

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

\*\*45 kobiety poddano kolposkopii, ale z następujących przyczyn nie było możliwe ustalenie rozpoznania: nie udało się osiągnąć konsensusu z powodu niewystarczającej liczby próbek (n=29), nie pobrano biopsji z powodu czynników leżących u podstaw badania (n=13), nie pobrano lub nie oceniono biopsji z powodu błędów (n=3).

\*\*\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

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



Spośród 491 kobiet z dodatnimi wynikami testu Aptima HPV w Panther System i genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w Panther System, 232 kobiety miały niezwyfikowany (w tym nieokreślony) stan chorobowy (Tabela 29). Spośród 10 348 kobiet z ujemnymi wynikami testu Aptima HPV z pierwotnego badania CLEAR, 9 799 miało niezwyfikowany stan chorobowy. Ponieważ badanie zostało zaprojektowane tak, że na kolposkopię skierowano tylko losowo wybrane kobiety z ujemnymi wynikami obu testów (Aptima HPV w systemie Tigris DTS i zatwierdzonego przez FDA testu wykrywającego DNA wirusa HPV), w tej grupie udział kobiet z niezwyfikowanym stanem obecności bądź braku choroby był wysoki (96,2%). Aby skorygować to obciążenie selektywnością skierowań, zastosowano metodę wielokrotnych podstawień w celu oszacowania liczby kobiet, u których rozpoznano obecność choroby, gdyby wszystkie kobiety zostały poddane kolposkopii. Przedstawiono oszacowania skuteczności testów na podstawie analizy 808 przypadków ze zweryfikowanym stanem obecności bądź braku choroby, zarówno skorygowanym pod względem obciążenia selektywnością skierowań, jak i bez korekty.

**Tabela 29:** Populacja NILM w wieku  $\geq 30$  lat: Klasyfikacja kobiet z grupy NILM uwzględnionych w analizie wg wyników testu Aptima HPV, testu genetycznego HPV 16 18/45, testu wykrywającego DNA wirusa HPV, obecności lub braku choroby ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3) oraz weryfikacji obecności lub braku choroby

Wynik testu Aptima HPV*	AHPV-GT Wynik testu*	Test wykrywający DNA wirusa HPV	Ogółem kobiet	Zweryfikowany stan chorobowy: $\geq$ CIN2		Zweryfikowany stan chorobowy: $\geq$ CIN3		Niezwyfikowany stan chorobowy
				Kobiety chore ( $\geq$ CIN2)	Kobiety wolne od choroby (<CIN2)	Kobiety chore ( $\geq$ CIN3)	Kobiety wolne od choroby (<CIN3)	Kobiety o nieznanym stanie obecności choroby (% nieznanych)
Dodatni	Dodatni	Dodatni	88	6	52	5	53	30 (34,1%)
	Dodatni	Ujemny	10	1	5	1	5	4 (40,0%)
	Dodatni	Brak wyniku**	2	0	1	0	1	1 (50,0%)
	Ujemny	Dodatni	291	7	169	4	172	115 (39,5%)
	Ujemny	Ujemny	85	0	14	0	14	71 (83,5%)
	Ujemny	Brak wyniku**	15	0	4	0	4	11 (73,3%)
Ogółem			491	14	245	10	249	232 (47,3%)
Ujemny	N/D***	Dodatni	282	3	177	1	179	102 (36,2%)
	N/D***	Ujemny	9 467	2	362	0	364	9 103 (96,2%)
	N/D***	Brak wyniku**	599	1	4	0	5	594 (99,2%)
Ogółem			10 839	20	788	11	797	10 031 (92,5%)

AHPV-GT = Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, N/D = Nie dotyczy

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

\*\*U 616 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV – głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

\*\*\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

Skorygowane bezwzględne ryzyko choroby ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3) w zależności od wyniku testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz wyniku testu Aptima HPV przedstawiono w Tabeli 30a. Ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 u kobiet z obecnymi typami HPV 16, 18, i/lub 45 wynosiło 10,8% w porównaniu z 3,8% u kobiet z jednym lub więcej z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka i 1,0% u kobiet bez typów HPV wysokiego ryzyka. Nieskorygowane bezwzględne ryzyko wystąpienia choroby przedstawiono ogółem w Tabeli 30b oraz według grupy wiekowej w Tabeli 31.

**Tabela 30a:** Populacja NILM w wieku  $\geq$  30 lat: Bezwzględne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (Dane szacunkowe skorygowane pod względem obciążenia)

Aptima HPV Wynik testu	AHPV-GT Wynik testu	Interpretacja	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)
Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.	9,7 (4,6; 20,2)	8,5 (3,8; 19,2)
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	10,4 (4,0; 27,1)	10,3 (3,9; 27,1)
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Tylko HPV 18/45 dodat.	8,8 (2,9; 26,4)	6,5 (1,7; 25,1)
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	0,0	0,0
	HPV 16/18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	3,2 (1,6; 6,3)	1,8 (0,6; 4,9)
	Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	4,6 (2,8; 7,4)	3,2 (1,7; 5,9)
Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.*	HPV WR ujem.	0,7 (0,2; 2,5)	0,2 (0,0; 4,8)
Częstość występowania			1,1%	0,8%

AHPV-GT = Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny, N/D = Nie dotyczy

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

**Tabela 30b:** Populacja NILM w wieku  $\geq$  30 lat: Bezwzględne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (Nieskorygowane dane szacunkowe)

Aptima HPV Wynik testu	AHPV-GT Wynik testu	Interpretacja	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)
Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.	10,8 (7/65) (5,1; 17,7)	9,2 (6/65) (4,3; 14,2)
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	12,5 (4/32) (3,7; 25,2)	12,5 (4/32) (3,9; 23,1)
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Tylko HPV 18/45 dodat.	9,4 (3/32) (2,2; 21,8)	6,3 (2/32) (0,9; 16,8)
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	0,0 (0/1) (0,0; 93,5)	0,0 (0/1) (0,0; 93,4)
	HPV 16/18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	3,6 (7/194) (1,7; 6,0)	2,1 (4/194) (0,7; 3,9)
	Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	5,4 (14/259) (3,7; 6,8)	3,9 (10/259) (2,6; 4,5)
Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.*	HPV WR ujem.	1,1 (6/549) (0,5; 1,9)	0,2 (1/549) (0,0; 0,8)
Częstość występowania			2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

AHPV-GT = Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny, N/D = Nie dotyczy

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

**Tabela 31:** Populacja NILM w wieku  $\geq 30$  lat: Bezwzględne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV wg grupy wiekowej (Nieskorygowane dane szacunkowe)

	Wynik testu Aptima HPV	AHPV-GT Wynik testu	Interpretacja	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)
Od 30 do 39 lat	Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.	8,1 (3/37) (2,0; 16,4)	5,4 (2/37) (0,9; 12,3)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	0 (0/17) (0,0; 15,5)	0 (0/17) (0,0; 14,3)
		HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Tylko HPV 18/45 dodat.	15,0 (3/20) (3,9; 30,6)	10,0 (2/20) (1,0; 22,8)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	N/D (0/0)	N/D (0/0)
		HPV 16/18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	3,6 (4/111) (1,2; 6,2)	2,7 (3/111) (0,7; 4,7)
		Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	4,7 (7/148) (2,6; 6,1)	3,4 (5/148) (1,6; 4,3)
	Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.*	HPV WR ujem.	0,9 (2/230) (0,1; 2,2)	0,4 (1/230) (0,0; 1,6)
	Częstość występowania			2,4% (9/378)	1,6% (6/378)
$\geq 40$ lat	Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.	14,3 (4/28) (4,8; 26,4)	14,3 (4/28) (5,0; 21,9)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	26,7 (4/15) (6,4; 47,9)	26,7 (4/15) (6,5; 43,1)
		HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Tylko HPV 18/45 dodat.	0 (0/12) (0,0; 21,5)	0 (0/12) (0,0; 18,6)
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	0,0 (0/1) (0,0; 93,4)	0,0 (0/1) (0,0; 93,1)
		HPV 16/18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	3,6 (3/83) (1,0; 7,8)	1,2 (1/83) (0,0; 4,1)
		Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	6,3 (7/111) (3,3; 8,9)	4,5 (5/111) (2,3; 5,4)
	Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.*	HPV WR ujem.	1,3 (4/319) (0,4; 2,3)	0 (0/319) (0,0; 0,8)
	Częstość występowania			2,6% (11/430)	1,2% (5/430)

AHPV-GT = Test genetyczny Aptima HPV 16 18/45, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny, N/D = Nie dotyczy  
\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

Względne ryzyko wystąpienia choroby w przypadku dodatniego wyniku testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w porównaniu z wynikiem ujemnym przedstawiono w Tabeli 32 (skorygowane pod względem obciążenia) oraz Tabela 33 (nieskorygowane). U kobiet, u których występowały typy HPV 16, 18 i/lub 45, prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN2 było 12,7 raza większe, a prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN3 18,4 raza większe niż u kobiet, u których nie występowały typy HPV wysokiego ryzyka. U kobiet, u których występowały typy HPV 16, 18 i/lub 45, prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN2 było 2,9 raza większe, a prawdopodobieństwo wystąpienia  $\geq$ CIN3 3,8 raza większe niż u kobiet, u których występował co najmniej jeden z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka.

**Tabela 32:** Populacja NILM w wieku  $\geq$  30 lat: Względne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (dane szacunkowe skorygowane pod względem obciążenia)

Interpretacja testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodat. vs. HPV WR ujem.	12,9 (3,1; 54,6)	53,3 (1,5; > 999)
HPV 16 i/lub 18/45 dodat. vs. Inne HPV WR dodat.	3,0 (1,1; 8,8)	4,8 (1,2; 19,2)
Inne HPV WR dodat. vs. HPV WR ujem.	4,3 (1,2; 15,1)	11,0 (0,4; 289,2)
HPV WR dodat. vs. HPV WR ujem.	6,1 (1,8; 21,0)	20,2 (0,7; 567,7)
Częstość występowania	1,1%	0,8%

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

**Tabela 33:** Populacja NILM w wieku  $\geq$  30 lat: Względne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (Nieskorygowane dane szacunkowe)

Interpretacja testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodat. vs. HPV WR ujem.	9,9 (3,4; 28,4)	50,7 (6,2; 414,4)
HPV 16 i/lub 18/45 dodat. vs. Inne HPV WR dodat.	3,0 (1,1; 8,2)	4,5 (1,3; 15,4)
Inne HPV WR dodat. vs. HPV WR ujem.	3,3 (1,1; 9,7)	11,3 (1,3; 100,7)
HPV WR dodat. vs. HPV WR ujem.	4,9 (1,9; 12,7)	21,2 (2,7; 164,7)
Częstość występowania	2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

Współczynniki prawdopodobieństwa ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3) dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 przedstawiono w Tabeli 34 (skorygowane pod względem obciążenia) oraz Tabela 35 (nieskorygowane). Prawdopodobieństwo obecności typów HPV 16, 18 i/lub 45 było 17,1 raza większe u kobiet z  $\geq$ CIN2 i 21,9 raza większe u kobiet z  $\geq$ CIN3.

**Tabela 34:** Populacja NILM w wieku  $\geq$  30 lat: Współczynniki prawdopodobieństwa w kierunku wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (dane szacunkowe skorygowane pod względem obciążenia)

Interpretacja wyniku testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Współczynnik prawdopodobieństwa (95% CI)	Współczynnik prawdopodobieństwa (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodatni	11,2 (3,3; 38,4)	24,1 (2,6; 225,9)
Inne HPV WR dodatnie	3,5 (1,3; 9,4)	4,7 (0,7; 29,8)
HPV WR ujem.	0,8 (0,6; 1,1)	0,4 (0,1; 2,2)

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

**Tabela 35:** Populacja NILM w wieku  $\geq$  30 lat: Współczynniki prawdopodobieństwa w kierunku wystąpienia  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (nieskorygowane dane szacunkowe)

Interpretacja wyniku testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Współczynnik prawdopodobieństwa (95% CI)	Współczynnik prawdopodobieństwa (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodatni	4,8 (2,1; 8,5)	7,4 (3,3; 12,0)
Inne HPV WR dodatnie	1,5 (0,7; 2,5)	1,5 (0,5; 2,9)
HPV WR ujem.	0,4 (0,2; 0,8)	0,1 (0,0; 0,6)

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka

\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

## Skuteczność kliniczna testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 z próbkami do badań cytologicznych na podłożu płynnym SurePath

Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath zostały pobrane od mieszkanek Kanady, 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 probówki do przenoszenia próbek Aptima, a następnie poddana obróbce za pomocą roztworu do przenoszenia Aptima. Za pomocą testu Aptima HPV przebadano po jednym replikacie każdej próbki (n=481). Dodatkowo próbki następnie zbadano testem genetycznym Aptima HPV 16 18/45, a wyniki testu Aptima HPV przedstawiono w Tabeli 36. Podobne wyniki wykazano dla komercyjnie dostępnego testu PCR w kierunku HPV, który rozróżnia HPV 16 i HPV 18, ale nie HPV 45, oddzielnie od innych genotypów wysokiego ryzyka. Względne ryzyko wystąpienia choroby dla wyników dodatnich w stosunku do ujemnych przedstawiono w Tabeli 37 dla testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 i testu PCR w kierunku HPV.

**Tabela 36:** Bezwzględne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego HPV 16 18/45 oraz komercyjnie dostępnego testu PCR na HPV

Wynik HPV WR	Wynik genetyczny	Interpretacja	Bezwzględne ryzyko Aptima $\geq$ CIN3 (95% CI)	Bezwzględne ryzyko HPV w PCR $\geq$ CIN3 (95% CI)
Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub 18/45* dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45* dodat.	12,5 (7,6-17,3)	14,4 (10,4-18,1)
	HPV 16 dodat. i HPV 18/45* ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	16,4 (9,2-23,9)	16,8 (11,6-21,9)
	HPV 16 ujem. i/lub 18/45* dodat.	Tylko HPV 18/45* dodat.	3,3 (0,1-13,2)	7,1 (1,0-18,8)
	HPV 16 dodat. i/lub 18/45* dodat.	HPV 16 i HPV 18/45* dodat.	33,3 (1,8-83,7)	14,3 (0,7-49,9)
	HPV 16 ujem. i/lub HPV 18/45* ujem.	Inne HPV WR dodat.	2,0 (1,0-3,1)	2,1 (1,1-3,3)
	Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	10,2 (8,4-11,7)	8,5 (7,0-9,5)
Ujemny**	HPV 16 ujem. i/lub HPV 18/45* ujem.	HPV WR ujem.	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
Cz. wyst. (%)			4,0%	5,0%

WR = Wysokiego ryzyka, Dodat. = Dodatni, Ujem. = Ujemny

\*Test PCR w kierunku HPV pozwala odróżnić HPV 16 i HPV 18 od pozostałych 12 genotypów wysokiego ryzyka, w tym HPV 45.

\*\*Kobiety, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, dla celów analizy oznaczono jako ujemne w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45.

**Tabela 37:** Względne ryzyko wystąpienia  $\geq$ CIN3 dla wyników testu genetycznego HPV 16 18/45 oraz komercyjnie dostępnego testu PCR na HPV

Wynik testu Aptima		Wynik testu PCR w kierunku HPV	
Interpretacja testu	Ryzyko względne $\geq$ CIN3 (95% CI)	Interpretacja testu	Ryzyko względne $\geq$ CIN3 (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodatni vs. HPV WR ujemny	13,1 (3,7-45,9)	HPV 16 i/lub 18/45 dodatni vs. HPV WR ujemny	12,6 (3,8-41,9)
HPV 16 i/lub 18/45 dodatni vs. inne HPV WR dodatnie	2,0 (0,7-5,4)	HPV 16 i/lub 18/45 dodatni vs. inne HPV WR dodatnie	3,9 (1,6-9,5)
Inne HPV WR dodatnie vs. HPV WR ujemny	6,6 (1,6-27,1)	Inne HPV WR dodatnie vs. HPV WR ujemny	3,2 (0,8-12,8)
HPV WR dodatni vs. HPV WR ujemny	10,7 (3,3-35,1)	HPV WR dodatni vs. HPV WR ujemny	7,4 (2,3-24,3)
Częstość występowania	4,0%	Częstość występowania	5,0%

## Skuteczność kliniczna testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 z próbkami pobranymi do zestawu do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy (CSCT)

Skuteczność testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oceniano na podstawie próbek CSCT pobranych od kobiet skierowanych na wizytę kontrolną w związku z nieprawidłowym wynikiem badania dla próbki Pap. Próbki zostały wstępnie przebadane testem Aptima HPV (n=651). Próbki z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV (n=414) zostały następnie przebadane testem genetycznym Aptima HPV 16 18/45 zarówno w systemie Tigris DTS, jak i Panther System.

Zgodność kliniczna wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 do wykrywania wirusa HPV 16, 18 i 45 wysokiego ryzyka dla Panther System została określona na podstawie wyników z systemu Tigris DTS jako metody referencyjnej. Obliczono procentową zgodność wyników dodatnich i ujemnych oraz związane z tym 95-procentowe przedziały ufności. Wyniki przedstawiono w Tabeli 38.

**Tabela 38:** Zgodność kliniczna wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w Panther System w wykrywaniu wirusa HPV 16, 18 i 45 wysokiego ryzyka w próbkach CSCT

		Wynik dla systemu Tigris DTS				Ogółem
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 ujem., HPV 18/45 ujem.	
Wynik dla Panther System	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	194	0	1	3	198
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	0	34	0	0	34
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	0	0	7	0	7
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 ujem.	1	1	0	173	175
	<b>Ogółem</b>	195	35	8	176	414

Dodat. = Dodatni, Ujem = Ujemny

Zgodność wyników dodatnich: 98,7% (235/238) (95% CI: 96,4; 99,6)

Zgodność wyników ujemnych: 98,3% (173/176) (95% CI: 95,1; 99,4)

## Czułość analityczna

Granica wykrywalności (LOD) przy klinicznej wartości granicznej to stężenie, które w 95% przypadków generuje wynik dodatni (powyżej klinicznej wartości granicznej). Wartość LOD testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oszacowano na podstawie badania pojedynczych ujemnych klinicznych próbek do badań cytologicznych na płynnym podłożu ThinPrep zawierających transkrypty HPV *in vitro* lub wyhodowane komórki zainfekowane HPV (SiHa, HeLa i MS751; ATCC, Manassas, Virginia) w różnych stężeniach lub ich puli. W przypadku panelu transkryptów *in vitro* przebadano po 60 replikatów każdego poziomu kopii z dwiema partiami odczynników, co dało łącznie 120 replikatów. W przypadku paneli komórek przebadano po 30 replikatów każdego poziomu kopii z dwiema partiami odczynników, co dało łącznie 60 replikatów. Badania przy użyciu testu wykonywano w okresie ośmiu dni. W jednym dniu wykonano minimum trzy serie, a w każdej serii badano pięć replikatów jednej kombinacji genotypu. Granica wykrywalności z prawdopodobieństwem 95% (Tabela 39) została obliczona na podstawie analizy regresji probitowej wyników dodatnich dla każdego panelu rozcieńczeń.

**Tabela 39:** Granica wykrywalności testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 przy klinicznej wartości granicznej

Wykrywany typ / linia komórkowa	Granica wykrywalności* (95% CI)
HPV 16	23,7 (19,1; 30,9)
HPV 18	26,1 (21,2; 33,9)
HPV 45	34,5 (28,5; 43,6)
SiHa	0,4 (0,3; 0,7)
HeLa	0,7 (0,4; 1,4)
MS751	0,2 (0,1; 0,3)

\*liczba kopii na reakcję w przypadku transkryptów *in vitro* i liczba komórek na reakcję w przypadku linii komórkowych

## Precyzja testu

Precyzję testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oceniono w dwóch badaniach z użyciem tego samego panelu 24-elementowego. Badanie 1 przeprowadzono w 3 zewnętrznych ośrodkach w celu określenia odtwarzalności testu. Badanie 2 przeprowadzono samodzielnie w celu określenia precyzji laboratorium. Panel składał się z 17 elementów HPV 16-dodatnich i/lub HPV 18/45-dodatnich o stężeniach nie mniejszych niż granica wykrywalności testu (oczekiwany odsetek wyników dodatnich:  $\geq 95\%$ ), 3 elementów HPV 16-dodatnich i/lub HPV 18/45-dodatnich o stężeniach niższych niż granica wykrywalności testu (oczekiwany odsetek wyników dodatnich:  $> 0\%$  do  $< 25\%$ ) oraz z 4 elementów HPV-ujemnych. Elementy panelu HPV 16-dodatnie i/lub HPV 18/45-dodatnie zostały przygotowane poprzez dodanie transkryptów *in vitro* lub wyhodowanych komórek zainfekowanych HPV (SiHa, HeLa oraz MS751; ATCC, Manassas, Virginia) do pul resztkowych próbek do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep lub rozpuszczenie próbek klinicznych HPV 16, 18 i/lub 45 w połączonych próbkach do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep. HPV-ujemne elementy panelu przygotowano z pul próbek do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep lub roztworu PreservCyt.

W badaniach 1 i 2 operatorzy w każdym z 3 ośrodków (1 aparat na ośrodek) wykonywali 2 listy robocze testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45 dziennie przez 3 dni. Badania wykonywano przy użyciu 2 partii odczynników. Każda lista robocza zawierała 3 replikaty 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 partie x 3 dni x 3 replikaty). 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 operatorów x 3 partie x 2 listy robocze x 3 replikaty).

Elementy panelu są opisane w Tabeli 40a oraz Tabeli 40b, wraz z podsumowaniem zgodności wyników z wynikami oczekiwanymi w kierunku HPV 16 oraz HPV 18/45 odpowiednio.



**Tabela 40a:** Badanie 1 i badanie 2 precyzji testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45: Opis panelu i procentowa zgodność z oczekiwanymi wynikami HPV 16

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/reakcję)	HPV 16 Wynik oczekiwany	Procentowa zgodność (95% CI)	
		Badanie 1 (3 ośrodki)	Badanie 2 (1 ośrodek)
IVT HPV 16 (240 kopii)	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
IVT HPV 18 (260 kopii)	Ujemny	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
IVT HPV 45 (350 kopii)	Ujemny	99,1 (107/108) (94,9; 99,8)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 16	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 18/45	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (161/161) (97,7; 100)
Komórki SiHa (4 komórki) oraz Komórki HeLa (0,7 komórki)	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki SiHa (0,4 komórki) oraz Komórki HeLa (7 komórki)	Dodatni	99,1 (107/108) (94,9; 99,8)	97,5 (158/162) (94,0; 99,1)
Komórki SiHa (0,4 komórki)	Dodatni	99,1 (107/108) (94,9; 99,8)	97,5 (158/162) (94,0; 99,1)
Komórki HeLa (0,7 komórki)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki MS751 (0,2 komórek)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	99,4 (158/159) (96,5; 99,9)
IVT HPV 16 (24 kopii)	Dodatni	100 (107/107) (96,5; 100)	96,9 (157/162) (93,2; 98,7)
IVT HPV 18 (26 kopii)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
IVT HPV 45 (35 kopii)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 2 w kierunku HPV 16	Dodatni	98,1 (105/107) (93,4; 99,5)	98,8 (160/162) (95,7; 99,7)
Próbka kliniczna 3 w kierunku HPV 16	Dodatni	99,1 (107/108) (94,9; 99,8)	97,5 (158/162) (94,0; 99,1)
Próbka kliniczna 2 w kierunku HPV 18/45	Ujemny	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 3 w kierunku HPV 18/45	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki SiHa (0,001 komórki)	Ujemny	97,2 (105/108) (92,1; 99,1)	98,1 (158/161) (94,8; 99,4)
Komórki HeLa (0,001 komórki)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki MS751 (0,006 komórek)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 1 ujemna w kierunku HPV	Ujemny	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 2 ujemna w kierunku HPV	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
PreservCyt 1 ujemny w kierunku HPV	Ujemny	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
PreservCyt 2 ujemny w kierunku HPV	Ujemny	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)

CI = Przedział ufności wyniku

**Uwaga:** Na zgodność procentową mogły mieć wpływ różnice w dozowaniu, rozcieńczaniu i/lub porcjowaniu.

**Tabela 40b:** Badanie 1 i badanie 2 precyzji testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45: Opis panelu i procentowa zgodność z oczekiwanymi wynikami HPV 18/45

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/reakcję)	Procentowa zgodność (95% CI)		
	Wynik oczekiwany w kierunku HPV 18/45	Badanie 1 (3 ośrodki)	Badanie 2 (1 ośrodek)
IVT HPV 16 (240 kopii)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
IVT HPV 18 (260 kopii)	Dodatni	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
IVT HPV 45 (350 kopii)	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 16	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 18/45	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (161/161) (97,7; 100)
Komórki SiHa (4 komórki) oraz Komórki HeLa (0,7 komórki)	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki SiHa (0,4 komórki) oraz Komórki HeLa (7 komórki)	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki SiHa (0,4 komórki)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)
Komórki HeLa (0,7 komórki)	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki MS751 (0,2 komórek)	Dodatni	99,1 (107/108) (94,9; 99,8)	88,7 (141/159) (84,5; 93,5)
IVT HPV 16 (24 kopii)	Ujemny	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
IVT HPV 18 (26 kopii)	Dodatni	99,1 (107/108) (94,9; 99,8)	100 (162/162) (97,7; 100)
IVT HPV 45 (35 kopii)	Dodatni	99,1 (107/108) (94,9; 99,8)	98,1 (159/162) (94,7; 99,4)
Próbka kliniczna 2 w kierunku HPV 16	Ujemny	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 3 w kierunku HPV 16	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 2 w kierunku HPV 18/45	Dodatni	100 (107/107) (96,5; 100)	95,7 (155/162) (91,7; 98,0)
Próbka kliniczna 3 w kierunku HPV 18/45	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	98,8 (160/162) (95,6; 99,7)
Komórki SiHa (0,001 komórki)	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (161/161) (97,7; 100)
Komórki HeLa (0,001 komórki)	Ujemny	97,2 (105/108) (92,1; 99,1)	98,1 (159/162) (94,7; 99,4)
Komórki MS751 (0,006 komórek)	Ujemny	75,0 (81/108) (66,1; 82,2)	88,3 (143/162) (84,2; 93,2)
Próbka kliniczna 1 ujemna w kierunku HPV	Ujemny	99,1 (106/107) (94,9; 99,8)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 2 ujemna w kierunku HPV	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
PreservCyt 1 ujemny w kierunku HPV	Ujemny	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
PreservCyt 2 ujemny w kierunku HPV	Ujemny	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)

CI = Przedział ufności wyniku

**Uwaga:** Na zgodność procentową mogą mieć wpływ różnice w dozowaniu, rozcieńczaniu i/lub porcjowaniu.

**Reaktywność krzyżowa**

Badania przy użyciu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w obecności mikroorganizmów potencjalnie powodujących reaktywność krzyżową wykonywano w systemie Tigris DTS. Wyniki – patrz *Reaktywność krzyżowa* (Tabela 20) w sekcji dotyczącej systemu Tigris DTS.

**Zakłócenia**

Badania przy użyciu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w obecności substancji potencjalnie powodujących zakłócenia wykonywano w systemie Tigris DTS. Wyniki – patrz *Zakłócenia* (Tabela 21) w sekcji dotyczącej systemu Tigris DTS.

## Bibliografia

1. **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.
2. **Li N., Franceschi S., Howell-Jones R., Snijders P.J.F., Clifford G.M.** Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer.* 2011;128: 927-935. doi 10.1002/ijc.25396
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely i 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.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond).* 110(5):525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* 16(1):1-17.
6. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson i 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.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Sunyum, J.E. Bock, P.A. Poll i 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.
8. **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 i 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.
9. **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.
10. **De Sanjose S. i in.** 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet.* DOI 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
11. **Burger R.A., B. J. Monk, T. Kurosaki, H. Anton-Culver, S. Vasilv, M. L. Berman i S.P. Wilczynski.** 1996. Human Papillomavirus Type 18: Association with poor prognosis in early stage cervical cancer. *J. Nat. Cancer institute.* 88(19): 1361-1368.
12. **Safaeian M., M. Schiffman, J. Gage, D. Solomon, C. Wheeler i P. Castle.** 2009. Detection of Precancerous Cervical Lesions Is Differential by Human Papillomavirus Type. *Cancer Res.* 69(8): 3262-3266.
13. **Khan, M.J., P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder, M. Sherman, D.R. Scott, B.B. Rush, A.G. Glass i M. Schiffman.** 2005. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J. Natl. Cancer Inst.* 97(14): 1072-1079.
14. **ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.** HPV Genotyping Clinical Update. 2009. [http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical\\_update\\_20090408.pdf](http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical_update_20090408.pdf). Dostęp z dnia 22 marca 2012 r.
15. **Wright T.C., S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E.J. Wilkinson i D. Solomon.** 2007. 2006 Consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *Journal of Lower Genital Tract Disease.* 11(4):201-222.
16. **Kacian, D.L. i T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
17. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, i N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem.* 35: 1588-1594.
18. **Nelson, N.C., A. BenCheikh, E. Matsuda i M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* 35:8429-8438.
19. **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 i 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.
20. **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 i Grupa badająca częstość występowania HPV IARC.** 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.
21. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. 2013. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* 208(2):144-145.



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

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

Dział obsługi klienta: +1 800 442 9892  
customersupport@hologic.com

Wsparcie techniczne: +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

Więcej informacji kontaktowych zamieszczono na stronie [www.hologic.com](http://www.hologic.com).

Ten produkt jest przeznaczony do użytku wyłącznie w zakresie diagnostyki *in vitro* u ludzi.

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

RAININ jest znakiem handlowym firmy Rainin Instruments, LLC.

SUREPATH i PREPSTAIN są znakami handlowymi firmy TriPath Imaging, Inc.

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 USA, przedstawionym na stronie [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2007-2019 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.  
AW-11504-3401 Wer. 010  
2019-06