

## Test Aptima HPV

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 .....	6
Pobieranie i przechowywanie próbek .....	7
<b>Procedury kontroli jakości</b> .....	<b>23</b>
<b>Interpretacja testu</b> .....	<b>24</b>
<b>Ograniczenia</b> .....	<b>25</b>
<b>Oczekiwane wyniki w systemie Tigris DTS System: Prewalencja mRNA</b> .....	<b>27</b>
<b>Projekt badania klinicznego testu Aptima HPV z próbkami cytologicznymi na podłożu ThinPrep</b> ..	<b>28</b>
<b>Charakterystyka działania testu w systemie Tigris DTS System</b> .....	<b>30</b>
<b>Oczekiwane wyniki w systemie Panther System: Prewalencja mRNA wirusa HPV wysokiego ryzyka</b> .....	<b>60</b>
<b>Projekt badania klinicznego testu Aptima HPV z próbkami cytologicznymi na podłożu ThinPrep</b> ..	<b>61</b>
<b>Charakterystyka działania systemu Panther System</b> .....	<b>64</b>
<b>Bibliografia</b> .....	<b>90</b>

### Tigris™ DTS System

<b>Tigris DTS System</b> .....	<b>10</b>
Dostarczone odczynniki i materiały .....	10
Materiały wymagane, ale dostępne osobno .....	12
Materiały opcjonalne .....	12
<b>Procedura testu w systemie Tigris DTS System</b> .....	<b>13</b>
Uwagi dotyczące procedury .....	15

### Panther™ System

<b>Panther System</b> .....	<b>17</b>
Dostarczone odczynniki i materiały .....	17
Materiały wymagane, ale dostępne osobno .....	18
Materiały opcjonalne .....	19
<b>Procedura testu w systemie Panther System</b> .....	<b>19</b>
Uwagi dotyczące procedury .....	22

## Informacje ogólne

### Przeznaczenie

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

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

Próbki z szyjki macicy pobrane do fiolek ThinPrep™ Pap Test zawierających roztwór PreservCyt™ można badać za pomocą testu Aptima HPV przed lub po obróbce rozmazu szyjkowego. Za pomocą tego testu można również badać próbki z szyjki macicy pobrane przy użyciu zestawu Aptima do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy. Test można wykorzystać do badania tych typów próbek za pomocą systemu Tigris DTS System lub systemu Panther System. Próbki z szyjki macicy zebrane do płynu konserwującego SurePath można badać za pomocą testu Aptima HPV w systemie Tigris DTS System i systemie 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 protein), zakłócając punkty kontrolne cyklu komórkowego i wywołując niestabilność genomu komórki.<sup>5, 6</sup>

Czternaście genotypów wirusa HPV uważanych jest za genotypy chorobotwórcze lub genotypy stwarzające wysokie ryzyko rozwoju 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>

Zakażenia wirusem HPV są bardzo częste i u większości kobiet ustępują w ciągu od 6 do 12 miesięcy.<sup>8, 10</sup> Obecność kwasu nukleinowego wirusa HPV nie oznacza obecności dysplazji szyjki macicy lub raka szyjki macicy. Jednak skutecznym podejściem do wykrywania choroby szyjki macicy jest ukierunkowanie badań na te onkogenne elementy wirusa HPV, które sprzyjają wystąpieniu przetrwałego zakażenia i transformacji komórkowej.<sup>3</sup>

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

Kliniczną charakterystykę działania testu Aptima HPV, wykonywanego podczas początkowych badań przesiewowych, zbadano w wielu ośrodkach z udziałem niezależnych badaczy. W trzynastu recenzowanych publikacjach<sup>11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23</sup> z dziesięciu odrębnych badań klinicznych przedstawiono doniesienia o skuteczności testu Aptima HPV w początkowych badaniach przesiewowych wykonywanych u kobiet włączonych do badań w dziewięciu krajach (Chiny, Kanada, Francja, Meksyk, Anglia, Dania, Holandia, Stany Zjednoczone i Niemcy). Dane z tych badań wskazują, że test HPV Aptima ma podobną kliniczną charakterystykę działania jak inne testy HPV zwalidowane klinicznie, gdy jest stosowany w początkowych badaniach przesiewowych pod kątem obecności stanów przedrakowych szyjki macicy i raka szyjki macicy.

### **Zasady procedury**

Test Aptima HPV obejmuje trzy główne kroki, przy czym wszystkie odbywają się w jednej probówce: wychwytywanie cząsteczek docelowych, amplifikację cząsteczek docelowych techniką amplifikacji sterowanej transkrypcją (Transcription Mediated Amplification, TMA)<sup>24</sup> oraz wykrywanie produktów amplifikacji (amplikonów) za pomocą testu Hybridization Protection Assay (HPA).<sup>25</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 probówki zawierającej podłoże do transportu próbek (specimen transport media, STM), które powoduje lizę komórek, uwalnianie mRNA, a także chroni przed rozkładem w czasie przechowywania, lub są przenoszone do probówki zawierającej to podłoże. Podczas testu Aptima HPV docelowe mRNA jest oddzielane od próbki za pomocą oligomerów wychwytyjących związanych z mikrocząstkami magnetycznymi. Oligomery wychwytyjące zawierają sekwencje komplementarne do swoistych regionów docelowych cząsteczek mRNA wirusa HPV, a także ciąg reszt dezoksyadenozyny. W kroku hybrydyzacji regiony swoiste dla sekwencji oligomerów wychwytyjących wiążą się ze swoistymi regionami cząsteczki docelowej mRNA wirusa HPV. Następnie kompleks oligomer wychwytyjący:cząsteczka docelowa jest wychwytywany z roztworu poprzez obniżenie temperatury reakcji do temperatury pokojowej. Ten spadek temperatury umożliwia zajęcie hybrydyzacji między regionem reszt deoksyadenozyny oligomeru wychwytyjącego a cząsteczkami polideoksytymidyny, które są połączone wiązaniami kowalencyjnymi z cząstkami magnetycznymi. Mikrocząstki ze związanymi z nimi wychwyconymi docelowymi cząsteczkami mRNA wirusa HPV są przyciągane do ścianki probówki reakcyjnej przy użyciu magneśmów, a supernatant jest aspirowany. Cząsteczki są przepłukiwane, aby usunąć pozostałości macierzy komórkowej próbki, która może zawierać inhibitory amplifikacji.

Po zakończeniu wychwytu cząsteczek docelowych mRNA wirusa HPV jest amplifikowane metodą TMA. Jest to metoda amplifikacji kwasów nukleinowych oparta na transkrypcji, w której wykorzystywane są dwa enzymy — odwrotna transkryptaza wirusa MMLV oraz polimeraza RNA bakteriofaga T7. Odwrotna transkryptaza jest wykorzystywana do produkcji kopii DNA docelowej sekwencji mRNA zawierającej sekwencję promotorową dla polimerazy RNA bakteriofaga T7. Polimeraza RNA bakteriofaga T7 produkuje liczne kopie amplikonu RNA na podstawie matrycy kopii DNA.

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

Kontrola wewnętrzna (IC) jest dodawana do każdej reakcji za pośrednictwem odczynnika do wychwytywania cząsteczek docelowych (Target Capture Reagent, TCR). Kontrola IC służy do monitorowania kroków testu — wychwytu, amplifikacji i wykrywania cząsteczek docelowych. Sygnał kontroli IC w każdej reakcji jest odróżniany od sygnału wirusa HPV metodą kinetyki różnicującej emisję światła z sond o różnych znacznikach.<sup>26</sup> Amplikon swoisty dla kontroli IC jest wykrywany za pomocą sondy z szybką emisją światła (sygnał błyskowy). Amplikon swoisty dla wirusa HPV jest wykrywany za pomocą sond ze stosunkowo powolniejszą kinetyką emisji światła (sygnał żarowy). Test podwójnej kinetyki (Dual Kinetic Assay, DKA) to metoda używana do rozróżnienia błyskowych sygnałów znaczników od żarowych sygnałów znaczników.<sup>26</sup>

## Ostrzeżenia i środki ostrożności

- A. Do diagnostyki *in vitro*.
- B. Do użytku profesjonalnego.
- C. Dodatkowe szczególne ostrzeżenia i środki ostrożności opisano w podręcznikach operatora systemów Tigris DTS System i 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 bezpudrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Dokładnie umyć ręce po pracy z próbkami i odczynnikami zestawu.
- F. **Ostrzeżenie: Środek drażniący i żrący:** Unikać kontaktu odczynnika Auto Detect 2 ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. W przypadku kontaktu tego płynu ze skórą lub z oczami należy przemyć zanieczyszczony obszar wodą. Jeśli dojdzie do rozlania tego płynu, należy rozcieńczyć go wodą, po czym wytrzeć do sucha.
- G. Powierzchnie robocze, pipety i inne wyposażenie należy regularnie odkażać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Aby uzyskać więcej informacji, patrz *Procedura testu w systemie Tigris DTS System* lub *Procedura testu w systemie Panther DTS 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 pobierana/przenoszona jest próbka, a nie ośrodek wykonujący badania. Próbki pobrane/przeniesione w dowolnym czasie przed upływem daty ważności mogą być badane, o ile były transportowane i przechowywane zgodnie z odpowiednią ulotką załączoną do opakowania, nawet jeżeli minęły daty ważności.
- 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 pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. Dopilnować, aby pojemniki na próbki nie kontaktowały się wzajemnie ze sobą i wyrzucać zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbką.
- L. W pewnych warunkach po przekłuciu spod zatyczek probówek może uwolnić się płyn. Aby uzyskać więcej informacji, patrz *Procedura testu w systemie Tigris DTS System* lub *Procedura testu w systemie Panther DTS System*.
- M. Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep i próbki pobrane przy użyciu zestawu do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) nie kwalifikują się do badania, jeśli w probówce pozostał przyrząd do pobierania materiału.
- 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 skażenia 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, odczynniki Auto Detect do testu Aptima, płyn konserwujący do systemu Aptima (tylko w przypadku użycia systemu Tigris DTS System) i kontrole do testu Aptima HPV (tylko przypadku użycia systemu Tigris DTS System) nie są częścią serii głównej; dozwolone jest użycie dowolnej serii 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.hologicsds.com](http://www.hologicsds.com).

Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami UE	
	<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 docelowych</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 do amplifikacji genu HPV
  - Odczynnik enzymatyczny do testu HPV
  - Odczynnik zawierający sondy dla genu HPV
  - Odczynnik kontroli wewnętrznej do testu HPV
  - Kalibratory dodatnie i kalibratory ujemne do testu HPV
  - Kontrole dodatnie i kontrole ujemne do testu HPV (tylko w przypadku użycia systemu Tigris DTS System)
- B. Następujące odczynniki należy przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C (w temperaturze pokojowej):
- Roztwór do rekonstrukcji odczynnika do amplifikacji HPV
  - Roztwór do rekonstrukcji enzymów do testu HPV
  - Roztwór do rekonstrukcji sond do testu HPV
  - Odczynnik do wychwytywania cząsteczek docelowych HPV
  - Odczynnik selekcyjny do testu HPV
  - Roztwór do płukania
  - Odczynnik olejowy
  - Bufor do płynu do inaktywacji
  - Odczynnik Auto Detect 1

- Odczynnik Auto Detect 2
- Płyn konserwujący do systemu Aptima (tylko w przypadku użycia systemu Tigris DTS System)
- C. Po rekonstytucji następujące odczynniki zachowują stabilność przez 30 dni, gdy są przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C:
- Odczynnik do amplifikacji genu HPV
  - Odczynnik enzymatyczny do testu HPV
  - Odczynnik zawierający sondy dla genu HPV
- D. Roboczy odczynnik do wychwytywania cząsteczek docelowych (Working Target Capture Reagent, wTCR) zachowuje stabilność przez 30 dni, gdy jest przechowywany w temperaturze od 15°C do 30°C. Nie przechowywać w warunkach chłodniczych.
- E. Niewykorzystane odczynniki zrekonstruowane oraz odczynnik wTCR wyrzucić po 30 dniach lub po upływie daty ważności serii głównej, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.
- F. Odczynniki do testu Aptima HPV są stabilne łącznie przez 48 godzin, gdy są przechowywane w systemie Tigris DTS System.
- G. Odczynniki do testu Aptima HPV są stabilne łącznie przez 72 godziny, gdy są przechowywane w systemie Panther System.
- H. Odczynnik zawierający sondy oraz odczynnik ze zrekonstruowanymi sondami są wrażliwe na światło. Przechowywane odczynniki 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 próbki do przenoszenia próbek Aptima zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w ulotce dołączonej 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 szyjki macicy Aptima.

## 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 probówki 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 probówek 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 probówce do przenoszenia próbek można przechowywać w temperaturze -20°C lub niższej 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 probówki 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 probówek do przenoszenia próbek Aptima mogą być przechowywane w temperaturze od 2°C do 25°C przez maksymalnie 7 dni.

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

1. 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 lub niższej przez maksymalnie 24 miesiące.

## C. Obróbka próbek do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath

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

1. Roztwór do przenoszenia Aptima

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



**D. 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 przebijalną zatyczkę i założyć nową nieprzebijalną zatyczkę na probówki z próbkami. Jeżeli konieczne jest wysłanie próbek do badania do innej placówki, należy zawsze przestrzegać zalecanych warunków termicznych. Przed zdjęciem zatyczek z wcześniej badanych próbek, na które nałożono nowe zatyczki, probówki z próbkami należy wirować przez 5 minut przy 420 RCF (względna siła odśrodkowa), aby całość cieczy znalazła się na dnie probówki.

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

## Tigris DTS System

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

### Dostarczone odczynniki i materiały

**Zestaw testów Aptima HPV**, 250 testów, nr kat. 302611 (4 pudełek)

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

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

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

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

Symbol	Składnik	Ilość
<b>AR</b>	<b>Roztwór do rekonstrukcji odczynnika do amplifikacji HPV</b> <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1 fiolka
<b>ER</b>	<b>Roztwór do rekonstrukcji enzymów do testu HPV</b> <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 fiolka
<b>PR</b>	<b>Roztwór do rekonstrukcji sond do testu HPV</b> <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający &lt; 5% detergentu.</i>	1 fiolka
<b>S</b>	<b>Odczynnik selekcyjny do testu HPV</b> <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1 fiolka

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

Symbol	Składnik	Ilość
TCR	<b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek docelowych HPV</b> <i>Niezakaźny kwas nukleinowy w roztworze buforowanym zawierającym fazę stałą (&lt; 0,5 mg/ml).</i>	1 fiolka
	<b>Kołnierze do rekonstrukcji</b>	3
	<b>Karta z kodami kreskowymi serii głównych</b>	1 karta

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

Symbol	Składnik	Ilość
PCAL	<b>Kalibrator dodatni HPV</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</b> <i>Roztwór buforowany zawierający &lt; 5% detergentu.</i>	5 fiolek

**Pudełko z kontrolami Aptima HPV (nr kat. 302556)  
(po odebraniu przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)**

Symbol	Składnik	Ilość
PC	<b>Kontrola dodatnia HPV</b> <i>Zlizowane, inaktywowane wyhodowane komórki ujemne w kierunku HPV oraz komórki dodatnie w kierunku HPV w ilości 25 komórek na ml w roztworze buforowanym zawierającym &lt;5% detergentu.</i>	5 fiolek
NC	<b>Kontrola ujemna HPV</b> <i>Zlizowane, inaktywowane wyhodowane komórki ujemne w kierunku HPV w roztworze buforowanym zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	5 fiolek

**Materiały wymagane, ale dostępne osobno**

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

	<u>Nr kat.</u>
Tigris DTS System	105118
Zestaw płynów do testu Aptima	302382
<i>(roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu do dezaktywacji Aptima oraz odczynnik olejowy Aptima)</i>	
Zestaw Aptima Auto Detect	301048
Zestaw z płynem konserwującym do systemu Aptima	302380
Końcówki, 1000 µl, przewodzące, z detekcją cieczy	10612513 (Tecan)
Zestaw wstępny do systemu Tigris DTS System	301191
<i>Zespoły wieloprobówkowe (MTU)</i>	
	104772-02
<i>Worek na odpady do trzech zespołów MTU</i>	
	900907
<i>Kierownice odpadów do zespołów MTU</i>	
	900931
<i>Pokrywy pojemnika na odpady do zespołów MTU</i>	
	105523
Zestaw do przenoszenia próbek Aptima	301154C
Zestaw do przenoszenia próbek Aptima — z możliwością drukowania	PRD-05110
Zestaw Aptima do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy	302657
Zatyczki przebijalne Aptima	105668
Zapaszowe zatyczki nieprzebijalne	103036A
Zapaszowe zatyczki do roztworów do rekonstrukcji odczynnika do amplifikacji i odczynnika zawierającego sondy	CL0041
Zapaszowe zatyczki do roztworu do rekonstrukcji odczynnika enzymatycznego	501616
Zapaszowe zatyczki do odczynnika TCR i selekcyjnego	CL0040
Wybielacz (roztwór podchlorynu sodu o stężeniu co najmniej 5% lub 0,7 M)	—
Woda do systemu Tigris DTS System	—
<i>specyfikację zawiera podręcznik operatora systemu Tigris DTS System</i>	
Rękawiczki jednorazowe	—
Zestaw roztworu do przenoszenia Aptima (tylko do próbek na podłożu SurePath)	303658

**Materiały opcjonalne**

	<u>Nr kat.</u>
Wzmocniacz wybielacza do czyszczenia	302101

## Procedura testu w systemie Tigris DTS System

**Uwaga:** Dodatkowe informacje na temat procedury przedstawiono w podręczniku operatora systemu Tigris DTS System.

### A. Przygotowanie obszaru roboczego

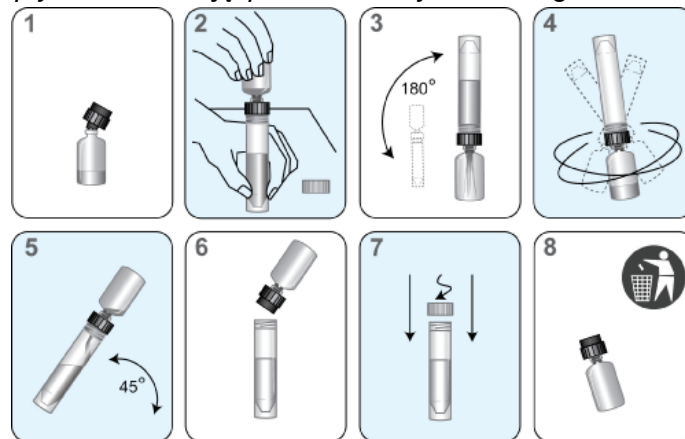
Oczyszczyć powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki i próbki. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy 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:** Rekonstytucję odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem jakichkolwiek prac w systemie Tigris DTS System.

1. Aby zrekonstruować odczynniki do amplifikacji, odczynniki enzymatyczne i odczynniki zawierające sondy, należy połączyć zawartość butelek z liofilizowanymi odczynnikiemami z zawartością butelek z roztworami do rekonstytucji. Jeśli odczynniki były przechowywane w chłodziarce, przed użyciem należy odczekać, aż roztwory do rekonstytucji osiągną temperaturę pokojową.
  - a. Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika. Przed założeniem kołnierza rekonstytucyjnego upewnić się, że roztwór do rekonstytucji i liofilizowany odczynnik mają etykiety w tym samym kolorze.
  - b. Sprawdzić numery serii na karcie z kodami kreskowymi serii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
  - c. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem i mocno wcisnąć przycięty koniec kołnierza rekonstytucyjnego w otwór fiolki (Rysunek 1, krok 1).
  - d. Otworzyć butelkę zawierającą odpowiedni roztwór do rekonstytucji i odłożyć zatyczkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
  - e. Trzymając buteleczkę z roztworem na stole, mocno włożyć drugi koniec kołnierza rekonstytucyjnego do otworu butelki (Rysunek 1, krok 2).
  - f. Powoli odwrócić połączone butelki. Poczekać, aż roztwór spłynie z butelki do szklanej fiolki (Rysunek 1, krok 3).
  - g. Delikatnie wymieszać roztwór, obracając buteleczkę. Nie dopuszczać do wytwarzania piany podczas mieszania zawartości butelki ruchem wirowym (Rysunek 1, krok 4).
  - h. Odczekać, aż liofilizowany odczynnik przejdzie do roztworu, następnie ponownie odwrócić połączone buteleczki, przechylając je pod kątem 45°, aby zminimalizować tworzenie piany (Rysunek 1, krok 5). Odczekać, aż cały płyn spłynie z powrotem do butelki z tworzywa sztucznego.
  - i. Zdjąć kołnierz rekonstytucyjny i szklaną fiolkę (Rysunek 1, krok 6).
  - j. Nałożyć zatyczkę na plastikową buteleczkę. Oznaczyć wszystkie fiolki ze zrekonstruowanymi odczynnikiemami inicjałami operatora i datą rekonstytucji (Rysunek 1, krok 7).
  - k. Wyrzucić kołnierz rekonstytucyjny i szklaną fiolkę (Rysunek 1, krok 8).

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



**Rysunek 1. Proces rekonstrukcji w systemie Tigris DTS System**

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

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

### C. Przygotowanie odczynników wcześniej zrekonstruowanych

1. Przed rozpoczęciem testu uprzednio zrekonstruowane odczynniki do amplifikacji, enzymatyczny i zawierający sondy muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C).
2. Jeśli zrekonstruowany odczynnik zawierający sondy zawiera wytrącony osad, który nie rozpuszcza się w temperaturze pokojowej, należy ogrzewać go w temperaturze nieprzekraczającej 60°C przez 1–2 minuty. Nie używać w przypadku obecności osadu lub zmętnienia.
3. Jeśli odczynnik wTCR zawiera wytrącony osad, ogrzewać odczynnik wTCR w temperaturze od 42°C do 60°C przez maksymalnie 90 minut. Przed użyciem odczekać, aż temperatura wTCR powróci do pokojowej. Nie stosować, jeżeli osad jest nadal obecny.
4. Jeśli odczynnik selekcyjny zawiera wytrącony osad, ogrzewać odczynnik selekcyjny w temperaturze 60°C±1°C przez maksymalnie 45 minut, aby stworzyć warunki do rozpuszczenia osadu. Delikatnie mieszać zawartość butelki co 5 do 10 minut. Przed użyciem odczekać, aż temperatura odczynnika selekcyjnego powróci do pokojowej. Nie używać, jeżeli nadal obecny jest osad lub zmętnienie.
5. Dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając, przed włożeniem do systemu. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.
6. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. System Tigris DTS System rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

### D. Postępowanie z materiałami przeznaczonymi do badania

1. Przed rozpoczęciem obróbki należy poczekać, aż kalibratory, kontrole i próbki osiągną temperaturę pokojową.
2. **Nie wytrząsać kalibratorów, kontroli i próbek.**
3. Przed zbadaniem za pomocą testu Aptima HPV próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath muszą zostać poddane obróbce proteinazą K, zgodnie z instrukcją podaną w punkcie *Pobieranie i przechowywanie próbek* sekcji C.
4. Przed włożeniem do statywu sprawdzić próbówki. 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 zatyczce nie będzie cieczy.

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

### E. Przygotowanie systemu

Skonfigurować aparat i listę roboczą zgodnie z instrukcjami, które zawiera *Podręcznik operatora systemu Tigris DTS System* i poniższa sekcja *Uwagi dotyczące procedury testowej*.

## Uwagi dotyczące procedury

### A. Kalibratory

1. Każda lista robocza musi zawierać 3 powtórzenia kalibratora ujemnego i kalibratora dodatniego. Aby kalibratory działały prawidłowo z oprogramowaniem testu Aptima HPV, kalibrator ujemny musi znajdować się w próbówce na pierwszej pozycji pierwszego statywu listy roboczej, natomiast kalibrator dodatni musi znajdować się w próbówce na drugiej pozycji pierwszego statywu listy roboczej.
2. Próba pobrania pipetą więcej niż trzech powtórzeń z próbówki z kalibratorem może doprowadzić do błędów wynikających z niewystarczającej objętości.

**B. Kontrole**

1. Oprogramowanie testu Aptima HPV wymaga przebadania kontroli na początku i na końcu serii. Kontrola ujemna musi znajdować się w próbówce na trzeciej pozycji pierwszego statywu oraz w próbówce na drugiej pozycji od końca ostatniego statywu listy roboczej. Kontrola dodatnia musi znajdować się w próbówce na czwartej pozycji pierwszego statywu oraz w próbówce na ostatniej pozycji ostatniego statywu listy roboczej.
2. Próba pobrania pipetą kontroli z próbówki więcej niż jeden raz może doprowadzić do błędów wynikających z niewystarczającej objętości.

**C. Temperatura**

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

**D. Puder z rękawiczek**

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



## Panther System

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

### Dostarczone odczynniki i materiały

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

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

Kalibratory można kupować oddzielnie. Poniżej przedstawiono poszczególne numery katalogowe.

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

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

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

Symbol	Składnik	Ilość
<b>AR</b>	<b>Roztwór do rekonstytucji odczynnika do amplifikacji HPV</b> <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1
<b>ER</b>	<b>Roztwór do rekonstytucji enzymów do testu HPV</b> <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1
<b>PR</b>	<b>Roztwór do rekonstytucji sond do testu HPV</b> <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający &lt; 5% detergentu.</i>	1
<b>S</b>	<b>Odczynnik selekcyjny do testu HPV</b> <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1

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

Symbol	Składnik	Ilość
TCR	<b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek docelowych HPV</b> <i>Niezakaźny kwas nukleinowy w roztworze buforowanym zawierającym fazę stałą (&lt; 0,5 mg/ml).</i>	1
	<b>Kołnierze do rekonstrukcji</b>	3
	<b>Karta z kodami kreskowymi serii głównych</b>	1 karta

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

Symbol	Składnik	Ilość
PCAL	<b>Kalibrator dodatni HPV</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</b> <i>Roztwór buforowany zawierający &lt; 5% detergentu.</i>	5 fiolek

## Materiały wymagane, ale dostępne osobno

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

	<u>Nr kat.</u>
Panther System	303095
Panther Run Kit	303096
Zestaw płynów do testu Aptima	303014
<i>(roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu do dezaktywacji Aptima oraz odczynnik olejowy Aptima)</i>	
Zestaw Aptima Auto Detect	303013
Zespoły wieloprobówkowe (MTU)	104772-02
Zestaw worka na odpady Panther	902731
Ośłona worka na odpady Panther	504405
Końcówki, 1000 µl, przewodzące, z detekcją cieczy	10612513 (Tecan)
Zestaw do przenoszenia próbek Aptima	301154C
Zestaw do przenoszenia próbek Aptima — z możliwością drukowania	PRD-05110
Zestaw Aptima do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy	302657
Zatyczki przebijalne Aptima	105668
Zapasowe zatyczki nieprzebijalne	103036A
Zapasowe zatyczki do 250 zestawów testów:	
<i>Roztwory do rekonstrukcji odczynnika do amplifikacji i odczynnika zawierającego sondy</i>	CL0041
<i>Roztwór do rekonstrukcji odczynnika enzymatycznego</i>	501616
<i>Odczynnik TCR i selekcyjny</i>	CL0040
Zapasowe zatyczki do 100 zestawów testów:	
<i>Roztwory do rekonstrukcji odczynnika do amplifikacji i odczynnika zawierającego sondy</i>	CL0041

Roztwór do rekonstrukcji odczynnika enzymatycznego	CL0041
Odczynnik TCR i selekcyjny	501604
Wybielacz (roztwór podchlorynu sodu o stężeniu co najmniej 5% lub 0,7 M)	—
Rękawiczki jednorazowe	—
Zestaw roztworu do przenoszenia Aptima (tylko do próbek na podłożu SurePath)	303658

## Materiały opcjonalne

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

## Procedura testu w systemie Panther System

**Uwaga:** Dodatkowe informacje na temat procedury przedstawiono w podręczniku operatora systemu 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.

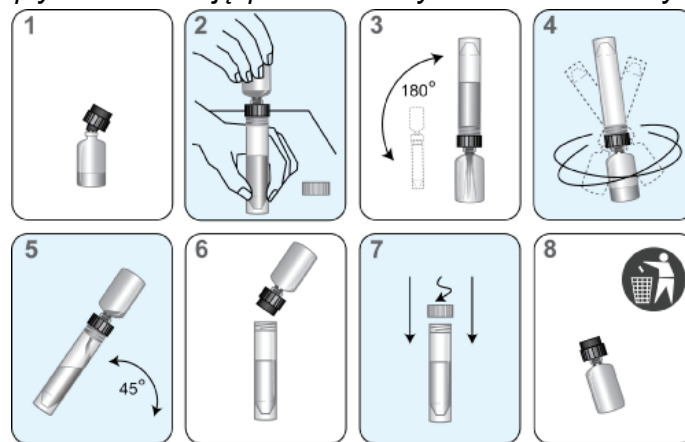
### B. Przygotowanie odczynników nowego zestawu

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

1. Aby zrekonstruować odczynniki do amplifikacji, odczynniki enzymatyczne i odczynniki zawierające sondy, należy połączyć zawartość butelek z liofilizowanymi odczynniki z zawartością butelek z roztworami do rekonstrukcji. Jeśli odczynniki były przechowywane w chłodziarce, przed użyciem należy odczekać, aż roztwory do rekonstrukcji osiągną temperaturę pokojową.
  - a. Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika. Przed założeniem kołnierza rekonstrukcyjnego upewnić się, że roztwór do rekonstrukcji i odczynnik mają etykiety w tym samym kolorze.
  - b. Sprawdzić numery serii na karcie z kodami kreskowymi serii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
  - c. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem i mocno wcisnąć przycięty koniec kołnierza rekonstrukcyjnego w otwór fiolki (Rysunek 2, krok 1).
  - d. Otworzyć butelkę zawierającą odpowiedni roztwór do rekonstrukcji i odłożyć zatyczkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
  - e. Trzymając buteleczkę z roztworem na stole, mocno włożyć drugi koniec kołnierza rekonstrukcyjnego do butelki (Rysunek 2, krok 2).
  - f. Powoli odwrócić połączone butelki. Poczekać, aż roztwór spłynie z butelki do szklanej fiolki (Rysunek 2, krok 3).

- g. Delikatnie wymieszać roztwór, obracając buteleczkę. Nie dopuszczać do wytwarzania piany podczas mieszania zawartości butelki ruchem wirowym (Rysunek 2, krok 4).
- h. Odczekać, aż liofilizowany odczynnik przejdzie do roztworu, następnie ponownie odwrócić połączone buteleczki, przechylając je pod kątem 45°, aby zminimalizować tworzenie piany (Rysunek 2, krok 5). Odczekać, aż cały płyn spłynie z powrotem do butelki z tworzywa sztucznego.
- i. Zdjąć kołnierz rekonstryucyjny i szklaną fiolkę (Rysunek 2, krok 6).
- j. Nałożyć zatyczkę na plastikową buteleczkę. Oznaczyć wszystkie fiolki ze zrekonstruowanymi odczynnikami inicjałami operatora i datą rekonstrukcji (Rysunek 2, krok 7).
- k. Wyrzucić kołnierz rekonstryucyjny i fiolkę (Rysunek 2, krok 8).

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



**Rysunek 2. Proces rekonstrukcji w systemie Panther System**

2. Przygotować roboczy odczynnik do wychwytywania cząsteczek docelowych (wTCR):
  - a. Dopasować odpowiednie buteleczki TCR i IC.
  - b. Sprawdzić numery serii odczynników na karcie z kodami kreskowymi serii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki z zestawu.
  - c. Otworzyć buteleczkę z TCR i odłożyć zatyczkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
  - d. Otworzyć buteleczkę IC i przelać całą zawartość do buteleczki z TCR. Przewiduje się, że w buteleczce IC pozostanie niewielka ilość płynu.
  - e. Nałożyć zatyczkę na buteleczkę z TCR i delikatnie obracać, aby wymieszać zawartość. W tym kroku unikać tworzenia piany.
  - f. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.
  - g. Wyrzucić buteleczkę IC i zatyczkę.
  - h. W odczynniku wTCR może wytrącać się osad powodujący uzyskiwanie błędnych wyników z uwagi na nieprawidłowości w weryfikacji objętości. Osad można rozpuścić, ogrzewając odczynnik wTCR w temperaturze od 42°C do 60°C przez maksymalnie 90 minut. Przed użyciem odczekać, aż temperatura wTCR powróci do pokojowej. Nie stosować, jeżeli osad jest nadal obecny.

3. Przygotowanie odczynnika selekcyjnego
  - a. Sprawdzić numer serii odczynnika na karcie z kodami kreskowymi serii głównych, aby mieć pewność, że odczynnik faktycznie należy do zestawu.
  - b. Jeśli odczynnik selekcyjny zawiera wytrącony osad, ogrzewać odczynnik selekcyjny w temperaturze  $60^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  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 powróci do pokojowej. Nie używać, jeżeli nadal obecny jest osad lub zmętnienie.

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

#### C. Przygotowanie odczynników wcześniej zrekonstruowanych

1. Przed rozpoczęciem testu uprzednio zrekonstruowane odczynniki do amplifikacji, enzymatyczny i zawierający sondy muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od  $15^{\circ}\text{C}$  do  $30^{\circ}\text{C}$ ).
2. Jeśli zrekonstruowany odczynnik zawierający sondy zawiera wytrącony osad, który nie rozpuszcza się w temperaturze pokojowej, należy ogrzewać go w temperaturze nieprzekraczającej  $60^{\circ}\text{C}$  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  $42^{\circ}\text{C}$  do  $60^{\circ}\text{C}$  przez maksymalnie 90 minut. Przed użyciem odczekać, aż temperatura wTCR powróci do pokojowej. Nie stosować, jeżeli osad jest nadal obecny.
4. Jeśli odczynnik selekcyjny zawiera wytrącony osad, ogrzewać odczynnik selekcyjny w temperaturze  $60^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  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 powróci do pokojowej. Nie używać, jeżeli nadal obecny jest osad lub zmętnienie.
5. Dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając, przed włożeniem do systemu. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.
6. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. Panther System rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

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

1. Przed rozpoczęciem obróbki należy poczekać aż kalibratory i próbki osiągną temperaturę pokojową.
2. **Nie wytrząsać próbek.**
3. Przed włożeniem do statywu sprawdzić próbówki. 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 zatyczce nie będzie cieczy.

**Uwaga:** *Pominięcie kroku 3 może spowodować wyciek cieczy spod zatyczki próbówki.*

#### E. Przygotowanie systemu

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

## Uwagi dotyczące procedury

### A. Kalibratory

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

### B. Temperatura

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

### C. Puder z rękawiczek

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

## Procedury kontroli jakości

### A. Kryteria ważności serii

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

- Więcej niż jedno powtórzenie kalibratora ujemnego będzie nieważne.
- Więcej niż jedno powtórzenie kalibratora dodatniego będzie nieważne.
- Kontrola ujemna będzie nieważna (tylko w systemie Tigris DTS System).
- Kontrola dodatnia będzie nieważna (tylko w systemie Tigris DTS System).

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 powtórzeń kalibratora ujemnego i dodatniego.

<b>Kalibrator ujemny</b>	
Analit	$\geq 0 \text{ i } \leq 45\ 000 \text{ RLU}$
Kontrola wewnętrzna (IC)	$\geq 75\ 000 \text{ i } \leq 400\ 000 \text{ RLU}$
<b>Kalibrator dodatni</b>	
Analit	$\geq 480\ 000 \text{ i } \leq 1\ 850\ 000 \text{ RLU}$
Kontrola wewnętrzna (IC)	$\leq 450\ 000 \text{ RLU}$

### C. Obliczenie wartości odcięcia IC

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

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

### D. Obliczenie wartości odcięcia analitu

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

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

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

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

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

### F. Kryteria akceptacji kontroli (tylko w systemie Tigris DTS System)

Kontrola ujemna musi dać ważny wynik ujemny (liczba RLU IC  $\geq$  odcięcie IC i S/CO analitu  $< 0,50$ ). Kontrola dodatnia musi dać ważny wynik dodatni (S/CO analitu  $\geq 0,50$ ).

## Interpretacja testu

Wyniki testu są automatycznie określone przez oprogramowanie analityczne. Wynik testu może być ujemny, dodatni lub nieważny. Wynik określa się na podstawie liczby RLU kontroli wewnętrznej (IC) oraz stosunku S/CO analitu. Wynik testu może być uznany za nieważny również ze względu na wartości innych parametrów (nieprawidłowy kształt krzywej kinetycznej) wykraczające poza prawidłowe zakresy oczekiwane. Testy, które początkowo miały wynik nieważny, należy powtórzyć.

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

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

Wynik testu Aptima HPV	Kryteria
Ujemny	<i>S/CO analitu &lt; 0,50</i> <i>IC ≥ odcięcia IC</i> <i>IC ≤ 2 000 000 RLU</i>
Dodatni	<i>S/CO analitu ≥ 0,50</i> <i>IC ≤ 2 000 000 RLU</i> <i>Analit ≤ 13 000 000 RLU</i>
Nieważny	<i>IC &gt; 2 000 000 RLU</i> <i>lub</i> <i>S/CO analitu &lt; 0,50 i IC &lt; odcięcia IC</i> <i>lub</i> <i>Analit &gt; 13 000 000 RLU</i>



## Ograniczenia

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

- O. Nie przeprowadzono oceny wpływu innych potencjalnych zmiennych, takich jak upławy, stosowanie tamponów, irygacja pochwy itp., oraz zmiennych związanych z pobieraniem próbek.
- P. Produktu tego może używać wyłącznie personel przeszkolony w korzystaniu z testu Aptima HPV.
- Q. Skażenie krzyżowe próbek może powodować uzyskiwanie wyników fałszywie dodatnich. Badanie niekliniczne wykazało, że częstość występowania efektu przeniesienia w teście Aptima HPV w systemie Tigris DTS System wynosi 0,3%.
- R. Wyniki testu Aptima HPV powinny być interpretowane w powiązaniu z innymi danymi laboratoryjnymi i klinicznymi dostępnymi dla lekarza.
- S. Ten test może dawać wyniki fałszywie dodatnie. Otrzymane w warunkach *in vitro* transkrypty genotypów 26, 67, 70 i 82 wirusa HPV niskiego ryzyka wykazywały reaktywność krzyżową z testem Aptima HPV.
- T. Materiał do kontroli dodatniej nie jest przeznaczony do monitorowania działania testu przy wartości odcięcia.

## Oczekiwane wyniki w systemie Tigris DTS: Prewalencja mRNA HPV wysokiego ryzyka

Prewalencja zakażeń wirusem HPV wysokiego ryzyka jest silnie zróżnicowana i zależy od kilku czynników, z których najistotniejszym jest wiek.<sup>32,33</sup> Prewalencja zakażeń HPV wykrywanych poprzez detekcję DNA tego wirusa była przedmiotem wielu badań, jednak tylko w nielicznych badaniach podawana jest prewalencja określona w oparciu o detekcję onkogennego 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.<sup>34</sup> Prewalencję próbek dodatnich w kierunku mRNA wirusa HPV zaobserwowaną w badaniu klinicznym poddano klasyfikacji ogólnej, z podziałem na grupy wiekowe i z podziałem na ośrodki badające. Tabela 1 przedstawia wyniki populacji z atypowymi komórkami nabłonka wielowarstwowego płaskiego o nieokreślonym charakterze (ASC-US) i populacji ujemnej w kierunku zmian śródnabłonkowych lub złośliwych (NILM).

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

	% wyników dodatnich (x/n)	
	Populacja ASC-US (≥21 lat)	Populacja NILM (≥30 lat)
<b>Wszystkie</b>	41,8 (400/958)	5,0 (540/10 871)
<b>Grupa wiekowa (lata)</b>		
od 21 do 29	60,3 (252/418)	ND
od 30 do 39	36,8 (98/266)	6,9 (289/4199)
≥40	18,2 (50/274)	3,8 (251/6672)
<b>Ośrodek badający</b>		
1	41,6 (134/322)	4,7 (172/3682)
2	41,4 (150/362)	5,2 (194/3702)
3	42,3 (116/274)	5,0 (174/3487)

ND = Nie dotyczy

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

W USA przeprowadzono prospektywne, wieloośrodkowe badanie kliniczne o nazwie CLEAR w celu określenia charakterystyki klinicznej testu Aptima HPV stosowanego do detekcji śródnabłonkowych neoplazji szyjki macicy stopnia 2 i poważniejszych zmian w obrębie szyjki macicy ( $\geq$ CIN2). Badanie CLEAR obejmowało ocenę początkowego stanu pacjentek i 3-letni okres kontrolny.<sup>34</sup>

### Badanie kliniczne CLEAR — ocena stanu początkowego

Na początku badania klinicznego CLEAR (faza początkowa) kobiety były kwalifikowane do grupy ASC-US albo do grupy NILM na podstawie wyników rutynowych badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy. Populacja grupy ASC-US obejmowała kobiety w wieku 21 lat i starsze z wynikami badań cytologicznych wykazującymi obecność komórek ASC-US, a populacja grupy NILM obejmowała kobiety w wieku 30 lat i starsze z wynikami badań cytologicznych wykazującymi brak zmian (NILM). Grupa NILM w zamierzeniu służyła dodatkowemu monitorowaniu u kobiet w wieku 30 lat i starszych, ponieważ kobiety w tej grupie wiekowej z wynikami badań cytologicznych wykazującymi stopień wyższy niż ASC-US powinny być kierowane na kolposkopię niezależnie od wyniku badania w kierunku HPV.<sup>35</sup>

Do badania włączono kobiety z 18 ośrodków klinicznych, głównie z poradni położniczych/ginekologicznych zlokalizowanych w różnych obszarach geograficznych, należące do różnych populacji. Zakwalifikowane kobiety były przypisywane do grupy ASC-US albo do grupy NILM na podstawie próbki do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep, z którą zostały skierowane do badania klinicznego. Na początku badania klinicznego pozostałości próbek pobranych od kobiet z grupy ASC-US i z grupy NILM przebadano zarówno testem Aptima HPV, jak i dostępnym na rynku testem wykrywającym DNA wirusa HPV.

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

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

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

ujawniano wyników testów w kierunku HPV aż do zakończenia kolposkopii, aby uniknąć obciążenia wyniku.

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

## Badanie CLEAR — testy kontrolne

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

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

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

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

## Charakterystyka działania testu w systemie Tigris DTS System

### Populacja ASC-US w wieku $\geq 21$ lat: Kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HPV z próbkami do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep

Łącznie do grupy ASC-US zakwalifikowano 1252 kobiety w wieku 21 lat lub starsze z wynikami badań cytologicznych wykazującymi obecność komórek ASC-US. Z tej liczby 294 kobiety zostały wycofane z badania, a u 19 stan wystąpienia zmian chorobowych był nieokreślony; wszystkie te przypadki wyłączone z analizy. Pozostałe 939 kobiet uwzględnionych w analizie ukończyło 21 lat, miało wyniki badania cytologicznego wskazujące na występowanie komórek ASC-US, określone wyniki testu Aptima HPV i określony jednoznacznie stan wystąpienia albo niewystąpienia choroby. U dziewięćdziesięciu jeden (91) kobiet stwierdzono zmiany  $\geq$ CIN2, a u czterdziestu jeden (41) zmiany  $\geq$ CIN3. Prewalencja zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 wśród kobiet uwzględnionych w analizie, u których wyniki badań cytologicznych wykazywały obecność komórek ASC-US, wynosiła odpowiednio 9,7% i 4,4%. Tabela 2 przedstawia wyniki testu Aptima HPV w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny.

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

Wynik testu Aptima HPV*	Test wykrywający DNA wirusa HPV	Rozpoznanie postawione w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny						
		Stan nieokreślony**	Stan prawidłowy	CIN1	CIN2	CIN3	Rak	Ogółem
Dodatni	Dodatni	6	170	113	41	32	1	363
Dodatni	Ujemny	0	7	0	1	2	0	10
Dodatni	Brak wyniku***	0	14	11	0	2	0	27
Ujemny	Dodatni	0	47	13	2	3	0	65
Ujemny	Ujemny	10	371	55	6	1	0	443
Ujemny	Brak wyniku***	3	40	7	0	0	0	50
<b>Ogółem</b>		19	649	199	50	40	1****	958

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

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

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

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

Tabela 3 zawiera oszacowania klinicznej charakterystyki działania testu Aptima HPV, w tym jego czułości, swoistości, dodatniej wartości predykcyjnej (PPV) i ujemnej wartości predykcyjnej (NPV) w detekcji zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3; przedstawiono oszacowania wyznaczone na podstawie wszystkich biopsji oraz wyłącznie na podstawie biopsji kierowanych. W tabeli przedstawiono również analogiczne oszacowania dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV.

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

	Charakterystyka działania	Test Aptima HPV N=939		Test wykrywający DNA HPV N=865*	
		Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)
$\geq \text{CIN}2$	<b>Wszystkie biopsje</b>				
	<b>Czułość (%)</b>	86,8 (79/91)	(78,4; 92,3)	88,8 (79/89)	(80,5; 93,8)
	<b>Swoistość (%)</b>	62,9 (533/848)	(59,6; 66,0)	55,8 (433/776)	(52,3; 59,3)
	<b>PPV (%)</b>	20,1 (79/394)	(18,1; 22,0)	18,7 (79/422)	(17,0; 20,4)
	<b>NPV (%)</b>	97,8 (533/545)	(96,5; 98,8)	97,7 (433/443)	(96,2; 98,8)
	<b>Prewalencja (%)</b>	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
	<b>Biopsje celowane**</b>				
	<b>Czułość (%)</b>	93,3 (56/60)	(84,1; 97,4)	93,2 (55/59)	(83,8; 97,3)
	<b>Swoistość (%)</b>	61,5 (539/876)	(58,3; 64,7)	54,5 (438/804)	(51,0; 57,9)
	<b>PPV (%)</b>	14,2 (56/393)	(12,7; 15,6)	13,1 (55/421)	(11,7; 14,2)
	<b>NPV (%)</b>	99,3 (539/543)	(98,3; 99,8)	99,1 (438/442)	(97,9; 99,7)
	<b>Prewalencja (%)</b>	6,4 (60/936)		6,8 (59/863)	
	$\geq \text{CIN}3$	<b>Wszystkie biopsje</b>			
<b>Czułość (%)</b>		90,2 (37/41)	(77,5; 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7; 97,3)
<b>Swoistość (%)</b>		60,2 (541/898)	(57,0; 63,4)	53,3 (440/826)	(49,9; 56,6)
<b>PPV (%)</b>		9,4 (37/394)	(8,1; 10,4)	8,5 (36/422)	(7,4; 9,4)
<b>NPV (%)</b>		99,3 (541/545)	(98,3; 99,8)	99,3 (440/443)	(98,3; 99,8)
<b>Prewalencja (%)</b>		4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	
<b>Biopsje celowane**</b>					
<b>Czułość (%)</b>		93,1 (27/29)	(78,0; 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3; 99,4)
<b>Swoistość (%)</b>		59,6 (541/908)	(56,4; 62,7)	52,8 (441/836)	(49,4; 56,1)
<b>PPV (%)</b>		6,9 (27/394)	(5,8; 7,6)	6,4 (27/422)	(5,5; 7,0)
<b>NPV (%)</b>		99,6 (541/543)	(98,8; 100)	99,8 (441/442)	(98,9; 100)
<b>Prewalencja (%)</b>		3,1 (29/937)		3,2 (28/864)	

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

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

Przy ocenie wszystkich biopsji szacowane wartości czułości testu Aptima HPV i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV były podobne w przypadkach, w których dostępne były wyniki obu testów pozwalające na wykrycie zmian  $\geq$ CIN2 lub  $\geq$ CIN3 (różnice w szacowanej czułości nie były statystycznie istotne: różnica czułości = -2,3% [95-procentowy przedział ufności: -9,5%, 4,8%]). Szacowana swoistość testu Aptima HPV przy detekcji zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 była wyższa od szacowanej swoistości dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV (różnice swoistości były statystycznie istotne). W przypadku zmian  $\geq$ CIN2 różnica swoistości wynosiła 6,8% (95-procentowy przedział ufności: 4,9%, 9,0%). Ujemne wartości predykcyjne (NPV) były podobne, ale przy detekcji zmian  $\geq$ CIN2 dodatnia wartość predykcyjna (PPV) testu Aptima HPV była nieznacznie wyższa od wartości PPV dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV (20,1% wobec 18,7%).

Spośród 91 przypadków  $\geq$ CIN2 60 (65,9%) wykryto dzięki biopsjom celowanym, a 31 (34,1%) na podstawie biopsji losowych lub łyżeczkowania szyjki macicy (ECC) (tj. na podstawie materiału nie pochodzącego z biopsji celowanych). Spostrzeżenia te są porównywalne z wynikami przedstawionymi w opublikowanych badaniach, w których około 25%–40% przypadków  $\geq$ CIN2 wykrywano w materiałach uzyskanych wyłącznie z biopsji losowych i/lub łyżeczkowania szyjki macicy (ECC)<sup>36,37</sup>. Gdyby występowanie lub niewystępowanie choroby określano wyłącznie na podstawie biopsji celowanych (przy założeniu, że kobiety, u których takich biopsji nie wykonano miały prawidłowe wyniki badań histopatologicznych, ponieważ nie stwierdzono u nich widocznych zmian chorobowych), prevalencja zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 w badaniu klinicznym wyniosłaby odpowiednio 6,4% i 3,1%. Szacowana czułość kliniczna obu testów przy detekcji zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 była wyższa, gdy uwzględniono tylko biopsje celowane, niż w przypadku uwzględnienia wszystkich biopsji. Swoistość kliniczna obu testów, gdy uwzględniono tylko biopsje celowane, była podobna do swoistości wyznaczonej z uwzględnieniem wszystkich biopsji. W związku z tym, przy uwzględnieniu tylko biopsji celowanych, swoistość testu Aptima HPV była istotnie wyższa od swoistości dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV.

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



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

	Charakterystyka działania	Test Aptima HPV N=939		Test wykrywający DNA HPV N=865*	
		Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)
Od 21 do 29 lat		N=415		N=389	
	Czułość (%)	90,2 (55/61)	(80,2; 95,4)	94,9 (56/59)	(86,1; 98,3)
	Swoistość (%)	44,9 (159/354)	(39,8; 50,1)	35,5 (117/330)	(30,5; 40,8)
	PPV (%)	22,0 (55/250)	(19,6; 24,2)	20,8 (56/269)	(19,0; 22,5)
	NPV (%)	96,4 (159/165)	(93,0; 98,5)	97,5 (117/120)	(93,6; 99,4)
	Prewalencja (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
Od 30 do 39 lat		N=262		N=239	
	Czułość (%)	90,0 (18/20)	(69,9; 97,2)	80,0 (16/20)	(58,4; 91,9)
	Swoistość (%)	68,2 (165/242)	(62,1; 73,7)	61,6 (135/219)	(55,1; 67,8)
	PPV (%)	18,9 (18/95)	(14,7; 22,7)	16,0 (16/100)	(11,8; 19,6)
	NPV (%)	98,8 (165/167)	(96,5; 99,8)	97,1 (135/139)	(94,1; 99,1)
	Prewalencja (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
$\geq 40$ lat		N=262		N=237	
	Czułość (%)	60,0 (6/10)	(31,3; 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7; 89,2)
	Swoistość (%)	82,9 (209/252)	(77,8; 87,1)	79,7 (181/227)	(74,0; 84,4)
	PPV (%)	12,2 (6/49)	(5,8; 18,4)	13,2 (7/53)	(6,9; 18,7)
	NPV (%)	98,1 (209/213)	(96,6; 99,4)	98,4 (181/184)	(96,6; 99,6)
	Prewalencja (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)	

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

**Tabela 5:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq 21$  lat: Charakterystyka działania testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV w detekcji zmian  $\geq \text{CIN}3$  z podziałem na grupy wiekowe

	Charakterystyka działania	Test Aptima HPV N=939		Test wykrywający DNA HPV N=865*	
		Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)
Od 21 do 29 lat		N=415		N=389	
	Czułość (%)	96,3 (26/27)	(81,7; 99,3)	100 (25/25)	(86,7; 100)
	Swoistość (%)	42,3 (164/388)	(37,5; 47,2)	33,0 (120/364)	(28,3; 38,0)
	PPV (%)	10,4 (26/250)	(8,9; 11,4)	9,3 (25/269)	(8,2; 10,0)
	NPV (%)	99,4 (164/165)	(97,2; 100)	100 (120/120)	(97,5; 100)
	Prewalencja (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
Od 30 do 39 lat		N=262		N=239	
	Czułość (%)	88,9 (8/9)	(56,5; 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3; 93,7)
	Swoistość (%)	65,6 (166/253)	(59,6; 71,2)	59,6 (137/230)	(53,1; 65,7)
	PPV (%)	8,4 (8/95)	(5,2; 10,4)	7,0 (7/100)	(3,9; 9,1)
	NPV (%)	99,4 (166/167)	(97,6; 100)	98,6 (137/139)	(96,4; 99,8)
	Prewalencja (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
$\geq 40$ lat		N=262		N=237	
	Czułość (%)	60,0 (3/5)	(23,1; 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6; 96,4)
	Swoistość (%)	82,1 (211/257)	(77,0; 86,3)	78,9 (183/232)	(73,2; 83,6)
	PPV (%)	6,1 (3/49)	(1,6; 10,2)	7,5 (4/53)	(2,9; 10,7)
	NPV (%)	99,1 (211/213)	(98,0; 99,9)	99,5 (183/184)	(98,2; 100)
	Prewalencja (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)	

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

Tabela 6 przedstawia ryzyko bezwzględne wystąpienia choroby ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3, na podstawie wszystkich biopsji) związane z wynikami testu Aptima HPV oraz ryzyko względne choroby związane z dodatnimi i ujemnymi wynikami testu Aptima HPV. W tej samej tabeli przedstawiono analogiczne dane dotyczące dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV. Ryzyko względne wystąpienia zmian  $\geq$ CIN2 wynosiło 9,1 (95-procentowy przedział ufności: 5,0, 16,5), co oznacza, że u kobiety z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV istniało 9,1 raza większe prawdopodobieństwo występowania zmian  $\geq$ CIN2 niż u kobiety z ujemnym wynikiem testu Aptima HPV. Ryzyko względne wystąpienia zmian  $\geq$ CIN3 wynosiło 12,8 (95-procentowy przedział ufności: 4,6; 35,6).

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

	Wynik testu	Test Aptima HPV N=939		Test wykrywający DNA HPV N=865*	
		Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
$\geq$ CIN2	Dodatni	20,1 (79/394) (18,1; 22,0)	9,1 (5,0; 16,5)	18,7 (79/422) (17,0; 20,4)	8,3 (4,4; 15,8)
	Ujemny	2,2 (12/545) (1,2; 3,5)		2,3 (10/443) (1,2; 3,8)	
	Prewalencja (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
$\geq$ CIN3	Dodatni	9,4 (37/394) (8,1; 10,4)	12,8 (4,6; 35,6)	8,5 (36/422) (7,4; 9,4)	12,6 (3,9; 40,6)
	Ujemny	0,7 (4/545) (0,2; 1,7)		0,7 (3/443) (0,2; 1,7)	
	Prewalencja (%)	4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	

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

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

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

	Wiek	Wynik testu	Test Aptima HPV N=939		Test wykrywający DNA HPV N=865*	
			Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
$\geq$ CIN2	Od 21 do 29 lat		N=415		N=389	
		Dodatni	22,0 (55/250) (19,6; 24,2)	6,1 (2,7; 13,7)	20,8 (56/269) (19,0; 22,5)	8,3 (2,7; 26,1)
		Ujemny	3,6 (6/165) (1,5; 7,0)		2,5 (3/120) (0,6; 6,4)	
		Prewalencja (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	Od 30 do 39 lat		N=262		N=239	
		Dodatni	18,9 (18/95) (14,7; 22,7)	15,8 (3,8; 66,7)	16,0 (16/100) (11,8; 19,6)	5,6 (1,9; 16,1)
		Ujemny	1,2 (2/167) (0,2; 3,5)		2,9 (4/139) (0,9; 5,9)	
		Prewalencja (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
	$\geq$ 40 lat		N=262		N=237	
		Dodatni	12,2 (6/49) (5,8; 18,4)	6,5 (1,9; 22,2)	13,2 (7/53) (6,9; 18,7)	8,1 (2,2; 30,2)
		Ujemny	1,9 (4/213) (0,6; 3,4)		1,6 (3/184) (0,4; 3,4)	
		Prewalencja (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)	
$\geq$ CIN3	Od 21 do 29 lat		N=415		N=389	
		Dodatni	10,4 (26/250) (8,9; 11,4)	17,2 (2,4; 125)	9,3 (25/269) (8,2; 10,0)	Brak możliwości obliczenia
		Ujemny	0,6 (1/165) (0,0; 2,8)		0,0 (0/120) (0,0; 2,5)	
		Prewalencja (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	Od 30 do 39 lat		N=262		N=239	
		Dodatni	8,4 (8/95) (5,2; 10,4)	14,1 (1,8; 111)	7,0 (7/100) (3,9; 9,1)	4,9 (1,0; 22,9)
		Ujemny	0,6 (1/167) (0,0; 2,4)		1,4 (2/139) (0,2; 3,6)	
		Prewalencja (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
	$\geq$ 40 lat		N=262		N=237	
		Dodatni	6,1 (3/49) (1,6; 10,2)	6,5 (1,1; 38,0)	7,5 (4/53) (2,9; 10,7)	13,9 (1,6; 122)
		Ujemny	0,9 (2/213) (0,1; 2,0)		0,5 (1/184) (0,0; 1,8)	
		Prewalencja (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)	

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

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

Łącznie do grupy NILM zakwalifikowano 11 644 kobiety z wynikami badań cytologicznych wykazującymi brak zmian (NILM). Z tej liczby 773 kobiety zostały wycofane i wyłączone z analizy na początku badania klinicznego. Pozostałe 10 871 kobiet uwzględnionych w analizie ukończyło 30 lat, miało wyniki badania cytologicznego wykazujące brak zmian (NILM) oraz określone wyniki testu Aptima HPV. Spośród 540 kobiet z dodatnimi wynikami testu Aptima HPV u 335 wykonano kolposkopię na początku badania klinicznego. Spośród 10 331 kobiet z ujemnymi wynikami testu Aptima HPV u 530 wykonano kolposkopię na początku badania klinicznego. U dwudziestu (20) kobiet występowały zmiany  $\geq$ CIN2, a u jedenastu (11) występowały zmiany  $\geq$ CIN3; u 799 wyniki badań histopatologicznych wykazały stan prawidłowy/zmiany CIN1; u 46 kobiet stan obecności bądź braku choroby był nieokreślony. Tabela 8 przedstawia wyniki testu Aptima HPV w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny na początku badania klinicznego.

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

Wynik testu Aptima HPV*	Test wykrywający DNA wirusa HPV	Rozpoznanie postawione w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny						
		Stan nieokreślony	Stan prawidłowy	CIN1	CIN2	CIN3	Rak	Ogółem
Dodatni	Dodatni	11	212	11	4	7	2	247
Dodatni	Ujemny	7	59	0	1	0	1	68
Dodatni	Brak wyniku**	3	16	1	0	0	0	20
Ujemny	Dodatni	10	170	8	2	1	0	191
Ujemny	Ujemny	15	313	9	1	0	0	338
Ujemny	Brak wyniku**	0	0	0	1	0	0	1
<b>Ogółem</b>		46	770	29	9	8	3***	865

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

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

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

Łącznie na początku badania klinicznego u 10 052 kobiet stan obecności bądź braku choroby był niezwerfikowany (w tej liczbie uwzględniono też pacjentki w stanie nieokreślonym) (Tabela 9). Ponieważ na kolposkopię skierowano tylko losowo wybrane kobiety z ujemnymi wynikami obu testów (Aptima HPV i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV), w tej grupie udział kobiet z niezwerfikowanym stanem obecności bądź braku choroby był wysoki (96,6%). Aby skorygować to obciążenie selektywnością skierowań, zastosowano metodę wielokrotnych podstawień w celu oszacowania liczby kobiet, u których rozpoznano by obecność choroby, gdyby wszystkie kobiety zostały poddane kolposkopii. Przedstawiono oszacowania charakterystyki działania testów na podstawie analizy 819 przypadków ze zwerfikowanym stanem obecności bądź braku choroby, zarówno skorygowanym pod względem obciążenia selektywnością skierowań, jak i bez korekty.

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

Wynik testu Aptima HPV*	Test wykrywający DNA wirusa HPV	Ogółem kobiet	Zwerfikowany stan chorobowy: $\geq \text{CIN}2$		Zwerfikowany stan chorobowy: $\geq \text{CIN}3$		Niezwerfikowany stan chorobowy
			Kobiety chore ( $\geq \text{CIN}2$ )	Kobiety wolne od choroby ( $< \text{CIN}2$ )	Kobiety chore ( $\geq \text{CIN}3$ )	Kobiety wolne od choroby ( $< \text{CIN}3$ )	Kobiety o nieznanym stanie obecności choroby (% nieznanych)
Dodatni	Dodatni	360	13	223	9	227	124 (34,4%)
Dodatni	Ujemny	150	2	59	1	60	89 (59,3%)
Dodatni	Brak wyniku**	30	0	17	0	17	13 (43,3%)
Ujemny	Dodatni	306	3	178	1	180	125 (40,8%)
Ujemny	Ujemny	9420	1	322	0	323	9097 (96,6%)
Ujemny	Brak wyniku**	605	1	0	0	1	604 (99,8%)
<b>Ogółem</b>		10 871	20	799	11	808	10 052 (92,5%)

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

\*\*U 635 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV — głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

Skorygowana prevalencja zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 wśród kobiet z wynikami badań cytologicznych wykazujących brak zmian (NILM) wynosiła odpowiednio 0,9% i 0,4%. Tabela 10 przedstawia skorygowane oszacowane ryzyko bezwzględne i względne wykrycia zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 na początku badania. Ryzyko względne wystąpienia zmian  $\geq$ CIN2 wynosiło 8,1 (95-procentowy przedział ufności: 2,3, 28,1), co oznacza, że u kobiety z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV istniało 8,1 raza większe prawdopodobieństwo występowania zmian  $\geq$ CIN2 niż u kobiety z ujemnym wynikiem testu Aptima HPV. Ryzyko względne wystąpienia zmian  $\geq$ CIN3 wynosiło 34,5 (95-procentowy przedział ufności: 2,7; 443,3). Tabela 11 przedstawia nieskorygowane oszacowane ryzyko bezwzględne i względne wykrycia zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 na początku badania klinicznego w całej populacji. Tabela 12 przedstawia analogiczne dane z podziałem na grupy wiekowe.

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

Wynik testu		Test Aptima HPV		Test wykrywający DNA wirusa HPV	
		Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
$\geq$ CIN2	Dodatni	4,7 (2,9; 7,6)	8,1 (2,3; 28,1)	3,7 (2,3; 6,0)	7,3 (1,6; 33,4)
	Ujemny	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1; 2,1)	
	Prewalencja (%)	0,9		0,9	
$\geq$ CIN3	Dodatni	3,3 (1,4; 7,6)	34,5 (2,7; 443,3)	2,3 (1,3; 4,1)	21,0 (1,0; 423,4)
	Ujemny	0,1 (0,0; 1,6)		0,1 (0,0; 2,4)	
	Prewalencja (%)	0,4		0,4	

**Tabela 11:** Populacja NILM w wieku  $\geq$ 30 lat: Bezwzględne i względne ryzyko występowania zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 związane z wynikami testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV (oszacowania nieskorygowane) na początku badania klinicznego

Wynik testu		Test Aptima HPV N=819		Test wykrywający DNA HPV N=801*	
		Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
$\geq$ CIN2	Dodatni	4,8 (15/314) (3,4; 5,8)	4,8 (1,8; 13,1)	3,8 (16/417) (2,9; 4,4)	4,9 (1,4; 16,7)
	Ujemny	1,0 (5/505) (0,4; 1,9)		0,8 (3/384) (0,2; 1,9)	
	Prewalencja (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	

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

Wynik testu		Test Aptima HPV N=819		Test wykrywający DNA HPV N=801*	
		Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
$\geq \text{CIN}3$	Dodatni	3,2 (10/314) (2,2; 3,7)	16,1 (2,1; 125)	2,4 (10/417) (1,6; 2,7)	9,2 (1,2; 71,6)
	Ujemny	0,2 (1/505) (0,0; 0,9)		0,3 (1/384) (0,0; 1,1)	
	Prewalencja (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

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



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

	Wiek	Wynik testu	Test Aptima HPV N=819		Test wykrywający DNA HPV N=801*	
			Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
$\geq \text{CIN}2$	Od 30 do 39 lat		N=384		N=377	
		Dodatni	4,8 (8/167) (2,1; 9,2)	10,4 (1,3; 82,3)	3,2 (7/216) (1,3; 6,6)	2,6 (0,5; 12,4)
		Ujemny	0,5 (1/217) (0,0; 2,5)		1,2 (2/161) (0,2; 4,4)	
		Prewalencja (%)	2,3 (9/384)		2,4 (9/377)	
	$\geq 40$ lat		N=435		N=424	
		Dodatni	4,8 (7/147) (1,9; 9,6)	3,4 (1,0; 11,5)	4,5 (9/201) (2,1; 8,3)	10,0 (1,3; 78,1)
		Ujemny	1,4 (4/288) (0,4; 3,5)		0,4 (1/223) (0,0; 2,5)	
		Prewalencja (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
$\geq \text{CIN}3$	Od 30 do 39 lat		N=384		N=377	
		Dodatni	3,0 (5/167) (1,0; 6,8)	6,5 (0,8; 55,1)	2,3 (5/216) (0,8; 5,3)	3,7 (0,4; 31,6)
		Ujemny	0,5 (1/217) (0,0; 2,5)		0,6 (1/161) (0,0; 3,4)	
		Prewalencja (%)	1,6 (6/384)		1,6 (6/377)	
	$\geq 40$ lat		N=435		N=424	
		Dodatni	3,4 (5/147) (1,1; 7,8)	Brak możliwości obliczenia	2,5 (5/201) (0,8; 5,7)	Brak możliwości obliczenia
		Ujemny	0,0 (0/288) (0,0; 1,3)		0,0 (0/223) (0,0; 1,6)	
		Prewalencja (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

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

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

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

	Charakterystyka działania	Test Aptima HPV		Test wykrywający DNA wirusa HPV	
		Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)
$\geq$ CIN2	Czułość (%)	31,0	(5,9; 56,1)	35,4	(3,8; 66,9)
	Swoistość (%)	95,2	(94,8; 95,6)	93,7	(93,2; 94,2)
	PPV (%)	4,7	(2,9; 7,6)	3,7	(2,3; 6,0)
	NPV (%)	99,4	(98,1; 99,8)	99,5	(97,9; 99,9)
	Prewalencja (%)	0,9		0,9	
$\geq$ CIN3	Czułość (%)	61,5	(14,0; 100)	56,4	(0,4; 100)
	Swoistość (%)	95,2	(94,8; 95,6)	93,6	(93,1; 94,1)
	PPV (%)	3,3	(1,4; 7,6)	2,3	(1,3; 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,4; 100)	99,9	(97,6; 100)
	Prewalencja (%)	0,4		0,4	

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

	Charakterystyka działania	Test Aptima HPV N=819		Test wykrywający DNA HPV N=801*	
		Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)
$\geq \text{CIN}2$	<b>Czułość (%)</b>	75,0 (15/20)	(53,1; 88,8)	84,2 (16/19)	(62,4; 94,5)
	<b>Swoistość (%)</b>	62,6 (500/799)	(59,2; 65,9)	48,7 (381/782)	(45,2; 52,2)
	<b>PPV (%)</b>	4,8 (15/314)	(3,4; 5,8)	3,8 (16/417)	(2,9; 4,4)
	<b>NPV (%)</b>	99,0 (500/505)	(98,1; 99,6)	99,2 (381/384)	(98,1; 99,8)
	<b>Prewalencja (%)</b>	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
$\geq \text{CIN}3$	<b>Czułość (%)</b>	90,9 (10/11)	(62,3; 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3; 98,4)
	<b>Swoistość (%)</b>	62,4 (504/808)	(59,0; 65,7)	48,5 (383/790)	(45,0; 52,0)
	<b>PPV (%)</b>	3,2 (10/314)	(2,2; 3,7)	2,4 (10/417)	(1,6; 2,7)
	<b>NPV (%)</b>	99,8 (504/505)	(99,1; 100)	99,7 (383/384)	(98,9; 100)
	<b>Prewalencja (%)</b>	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

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

Bezpośrednie porównanie testu Aptima HPV i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV wykazuje, że mają one podobną czułość i że test Aptima HPV ma istotnie statystycznie większą czułość przy wykrywaniu zmian  $\geq$ CIN2, czego dowodzą stosunki liczby wyników prawdziwie dodatnich i fałszywie dodatnich (odpowiednio Tabela 15 i Tabela 16).

**Tabela 15:** Populacja NILM w wieku  $\geq$ 30 lat: Stosunek liczby wyników prawdziwie dodatnich (test Aptima HPV/test wykrywający DNA wirusa HPV) u kobiet ze zmianami  $\geq$ CIN2 (oszacowanie nieskorygowane) na początku badania klinicznego

		Test wykrywający DNA wirusa HPV		Ogółem
		Dodatni	Ujemny	
Test Aptima HPV	Dodatni	13	2	15 (78,9%)
	Ujemny	3	1	4
	Ogółem	16 (84,2%)	3	19
Stosunek liczby wyników prawdziwie dodatnich = 0,94 (15/16) (95-procentowy przedział ufności: 0,67; 1,20)				

**Tabela 16:** Populacja NILM w wieku  $\geq$ 30 lat: Stosunek liczby wyników fałszywie dodatnich (test Aptima HPV/test wykrywający DNA wirusa HPV) u kobiet ze zmianami  $<$ CIN2 (oszacowanie nieskorygowane) na początku badania klinicznego

		Test wykrywający DNA wirusa HPV		Ogółem
		Dodatni	Ujemny	
Test Aptima HPV	Dodatni	223	59	282 (36,1%)
	Ujemny	178	322	500
	Ogółem	401 (51,3%)	381	782
Stosunek liczby wyników fałszywie dodatnich = 0,70 (282/401) (95-procentowy przedział ufności: 0,64; 0,77)				

## Populacja NILM w wieku $\geq 30$ lat: Kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HPV po 3-letniej fazie kontrolnej

Na początku badania klinicznego do fazy kontrolnej kwalifikowały się 10 854 kobiety uwzględnione w analizie, które ukończyły 30 lat i miały wyniki badania cytologicznego wykazujące brak zmian (NILM) oraz ważne wyniki testu Aptima HPV. Spośród kobiet, u których nie występowały zmiany  $\geq \text{CIN}2$ , 66,9% (7 251/10 834) odbyło wizytę kontrolną po 1. roku, na której wykonano rozmaz szyjkowy, 60,2% (6 522/10 825) odbyło taką wizytę po 2. roku, a 58,6% (6 344/10 818) po 3. roku. Ogółem badanie kliniczne ukończyło 58,8% (6 380/10 854) kobiet (są to kobiety, u których na początku badania klinicznego lub w fazie kontrolnej były obecne zmiany  $\geq \text{CIN}2$  i/lub które odbyły wymagane wizyty).

Spośród 10 854 kobiet 540 (5,0%) miało na początku badania klinicznego dodatnie wyniki testu Aptima HPV. Spośród tych 540 kobiet u 263 (48,7%) stwierdzono obecność lub brak choroby po 3 latach na podstawie badań cytologicznych lub wyników kolposkopii/biopsji. Pozostałe 10 314 kobiet miało ujemne wyniki testu Aptima HPV na początku badania klinicznego. Spośród tych 10 314 kobiet u 5 943 (57,6%) stwierdzono obecność lub brak choroby po 3 latach. Spośród 6 206 kobiet, u których stwierdzono obecność lub brak choroby po 3 latach, u 47 były obecne zmiany  $\geq \text{CIN}2$ , w tym u 23 były obecne zmiany  $\geq \text{CIN}3$ ; u 6 159 kobiet konsensus panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny wskazał na stan prawidłowy/zmiany CIN1. Tabela 17 zawiera uzyskane na początku badania klinicznego wyniki testu Aptima HPV i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV, a także stan obecności albo braku choroby po 3 latach (z uwzględnieniem badań na początku badania klinicznego i wizyt kontrolnych) określony poprzez konsensus panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny.

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

Wynik testu Aptima HPV	Test wykrywający DNA wirusa HPV	Ogółem kobiet	Zweryfikowany stan chorobowy: $\geq \text{CIN}2$		Zweryfikowany stan chorobowy: $\geq \text{CIN}3$		Niezweryfikowany stan chorobowy	
			Kobiety chore ( $\geq \text{CIN}2$ )	Kobiety wolne od choroby ( $< \text{CIN}2$ )	Kobiety chore ( $\geq \text{CIN}3$ )	Kobiety wolne od choroby ( $< \text{CIN}3$ )	Pacjentki utracone dla potrzeb obserwacji	Brak możliwości określenia*
Dodatni	Dodatni	360	22	154	15	161	165	19
Dodatni	Ujemny	150	2	72	1	73	68	8
Dodatni	Brak wyniku**	30	2	11	1	12	14	3
Ujemny	Dodatni	304	6	146	3	149	133	19
Ujemny	Ujemny	9 405	14	5 455	3	5 466	3 735	201
Ujemny	Brak wyniku**	605	1	321	0	322	269	14
<b>Ogółem</b>		10 854	47	6 159	23	6 183	4 384	264

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

\*\*U 635 kobiet z wynikami testu Aptima HPV nie uzyskano wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV — głównie z powodu niewystarczającej objętości próbki do badania cytologicznego.

Skumulowane ryzyko wystąpienia choroby ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3) w okresie 3 lat wyznaczono przy użyciu estymatora Kaplan-Meier (analiza tabel przeżycia), z uwzględnieniem stanów chorobowych wykrytych na początku badania klinicznego i w fazie kontrolnej. Kobiety, u których występowały pewne oznaki choroby (wykryte komórki ASC-US lub poważniejsze wyniki badania cytologicznego), ale dla których nie określono wyniku na podstawie konsensusu panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny, zostały uwzględnione w analizie poprzez zastosowanie metody wielokrotnych podstawień w celu predykcji liczby kobiet, u których rozpoznano by chorobę, gdyby zostały poddane kolposkopii.

Tabela 18 przedstawia skumulowane ryzyko bezwzględne i względne wykrycia zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 w okresie 3 lat.

**Tabela 18:** Populacja NILM w wieku  $\geq$ 30 lat: Bezwzględne i względne skumulowane ryzyko\* występowania zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 w okresie 3 lat związane z wynikami testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV na początku badania klinicznego

	Wynik testu	Test Aptima HPV		Test wykrywający DNA wirusa HPV	
		Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
$\geq$ CIN2	Dodatni	7,39 (5,12; 10,59)	22,55 (12,68; 40,10)	6,42 (4,50; 9,13)	22,71 (12,19; 42,29)
	Ujemny	0,33 (0,21; 0,51)		0,28 (0,17; 0,47)	
	Prewalencja (%)	0,68		0,68	
$\geq$ CIN3	Dodatni	4,66 (2,94; 7,36)	44,12 (16,91; 115,10)	4,14 (2,62; 6,52)	51,33 (17,74; 148,55)
	Ujemny	0,11 (0,04; 0,25)		0,08 (0,03; 0,22)	
	Prewalencja (%)	0,34		0,35	

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

Skumulowana prewalencja zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 w okresie 3-letnim wśród kobiet z wynikami badań cytologicznych wykazujących brak zmian (NILM) wynosiła odpowiednio 0,68% i 0,34%. Ryzyko względne wystąpienia zmian  $\geq$ CIN2 wynosiło 22,55 (95-procentowy przedział ufności: 12,68, 40,10), co oznacza, że u kobiety z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV istniało 22,55 raza większe prawdopodobieństwo występowania zmian  $\geq$ CIN2 niż u kobiety z ujemnym wynikiem testu Aptima HPV. Ryzyko względne wystąpienia zmian  $\geq$ CIN3 wynosiło 44,12 (95-procentowy przedział ufności: 16,91; 115,10).

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

### Próbki do badań cytologicznych na podłożu SurePath poddane obróbce roztworem do przenoszenia Aptima

Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath zostały pobrane od mieszkanek Kanady (n=558), 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 powtórzeniu każdej próbki. Osobna porcja (1 ml) każdej próbki została wydzielona do przebadania za pomocą dostępnego na rynku testu PCR w kierunku wirusa HPV. Zarówno dla testu Aptima HPV, jak i dla testu PCR w kierunku wirusa HPV, obliczono kliniczną czułość detekcji stanu chorobowego, zdefiniowanego jako wynik  $\geq$ CIN3 w badaniu histopatologicznym. Wyniki (wraz z dodatnimi i ujemnymi wartościami predykcyjnymi) zawiera Tabela 19.

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

Charakterystyka działania	Test Aptima HPV N=558		Test PCR w kierunku HPV N=558	
	Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)
<b>Czułość (%)</b>	89,3 (25/28)	(72,8–96,3)	89,3 (25/28)	(72,8–96,3)
<b>Swoistość (%)</b>	56,8 (301/530)	(52,5–60,9)	49,1 (260/530)	(44,8–53,3)
<b>PPV (%)</b>	9,8 (25/254)	(8,1–11,2)	8,5 (25/295)	(7,0–9,5)
<b>NPV (%)</b>	99,0 (301/304)	(97,6–99,8)	98,9 (260/263)	(97,2–99,7)
<b>Prewalencja (%)</b>	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

**Tabela 20:** Czulość testu Aptima HPV z próbkami do badań cytologicznych na podłożach płynnych SurePath i ThinPrep

Genotyp HPV	Kopie/ reakcję	ThinPrep	SurePath
		% dodatnich (95% CI)	% dodatnich (95% CI)
16	60	98,3 (91,1–99,7)	100 (94,0–100)
18	100	100 (94,0–100)	100 (94,0–100)
31	25	100 (94,0–100)	95,0 (86,3–98,3)
33	60	96,7 (88,6–99,1)	98,3 (91,1–99,7)
35	25	100 (94,0–100)	100 (94,0–100)
39	25	100 (94,0–100)	91,7 (81,9–96,4)
45	40	100 (94,0–100)	95,0 (86,3–98,3)
51	250	100 (94,0–100)	100 (94,0–100)
52	600	100 (94,0–100)	98,3 (91,1–99,7)
56	100	98,3 (91,1–99,7)	93,3 (84,1–97,4)
58	50	95,0 (86,3–98,3)	93,3 (84,1–97,4)
59	75	96,7 (88,6–99,1)	91,7 (81,9–96,4)
66	150	98,3 (91,1–99,7)	95,0 (86,3–98,3)
68	30	96,7 (88,6–99,1)	93,3 (84,1–97,4)



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

Od 735 pacjentek pobrano pary próbek do badania cytologicznego: jedną na podłożu płynnym ThinPrep i jedną do zestawu do pobierania i transportu próbek Aptima. Jeden mililitr (1,0 ml) każdej próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep rozcieńczono w 2,9 ml podłoża do transportu próbek Aptima i przebadano jedno powtórzenie za pomocą testu Aptima HPV w systemie Tigris DTS System. Za pomocą testu Aptima HPV przebadano również jedno powtórzenie każdej próbki pobranej do zestawu do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy. Tabela 21 przedstawia informacje o procentowej zgodności wyników testu Aptima HPV uzyskanych na próbkach do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep i na próbkach pobranych do zestawu do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy.

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

**Tabela 21:** Ogólna zgodność wyników testu Aptima HPV na próbkach do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep i próbkach w zestawie do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy Aptima przebadanych w systemie Tigris DTS System

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

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

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

Zgodność ogólna = 95,6% (93,9–96,9)

Współczynnik kappa = 0,90

## Czułość analityczna

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

W wynikach analizy probit (Tabela 22) można zauważyć, że 95-procentowe granice wykrywalności HPV typu 16, 18, 31, 33, 35, 38, 45, 58, 59 i 68 są niższe niż 100 kopii/reakcję; a 95-procentowe granice wykrywalności typów 51, 52, 56 i 66 wynoszą między 100 a 300 kopii/reakcję. W przypadku czterech badanych linii komórkowych granice wykrywalności z prawdopodobieństwem 95% były niższe niż 1 komórka/reakcję.

**Tabela 22:** Granica wykrywalności testu Aptima HPV przy klinicznej wartości odcięcia

Wykrywany typ/ linia komórkowa	Granica wykrywalności* (95% CI)
HPV 16	48,7 (36,6–72,2)
HPV 18	80,9 (60,4–118,4)
HPV 31	18,6 (14,2–27,3)
HPV 33	49,1 (37,0–71,3)
HPV 35	19,1 (14,2–29,1)
HPV 39	24,6 (19,1–34,4)
HPV 45	33,8 (25,7–49,4)
HPV 51	206,6 (157,5–297,7)
HPV 52	266,2 (205,5–373,8)
HPV 56	100,1 (81,9–129,9)
HPV 58	48,0 (37,3–68,7)
HPV 59	49,0 (36,4–75,9)
HPV 66	168,7 (129,6–241,1)
HPV 68	27,0 (20,3–40,1)
SiHa	0,30 (0,24–0,43)
HeLa	0,18 (0,14–0,29)
ME180	0,11 (0,09–0,16)
MS751	0,19 (0,14–0,33)

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

## Precyzja testu

Precyzję testu Aptima HPV oceniono w dwóch badaniach z użyciem tego samego panelu 20-elementowego. Badanie 1 przeprowadzono w 3 zewnętrznych ośrodkach w celu określenia odtwarzalności testu. Badanie 2 przeprowadzono samodzielnie w celu określenia powtarzalności testu. Panel składał się z 10 elementów HPV-dodatnich o stężeniach nie mniejszych niż granica wykrywalności testu (oczekiwany odsetek wyników dodatnich:  $\geq 95\%$ ), 4 elementów HPV-dodatnich o stężeniach niższych niż granica wykrywalności testu (oczekiwany odsetek wyników dodatnich:  $>0\%$  i  $<25\%$ ) oraz z 6 elementów HPV-ujemnych. HPV-dodatnie elementy panelu przygotowano poprzez dodawanie transkryptów RNA *in vitro* (IVT) do podłoża do transportu próbek (STM) lub poprzez dodawanie wyhodowanych komórek zakażonych HPV (SiHa, HeLa, ME180 i MS751; ATCC, Manassas, Virginia) do roztworu PreservCyt. HPV-ujemne elementy panelu przygotowano z podłoża do transportu próbek lub pul pozostałości próbek do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep.

W badaniach 1, 2 operatorów w każdym z 3 ośrodków (na 1 aparacie w każdym ośrodku) wykonywało 1 listę roboczą testów Aptima HPV dziennie przez 3 dni, używając każdej z 3 serii odczynników. Każda lista robocza zawierała 3 powtórzenia każdego z elementów panelu do badania odtwarzalności. Przebadano po sto sześćdziesiąt dwie (162) próbki z próbkami zawierającymi każdy element panelu (3 ośrodki x 1 aparat x 2 operatorów x 3 serie x 3 listy robocze x 3 powtórzenia). 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 operatorzy x 3 serie x 2 listy robocze x 3 powtórzenia).

Opisy elementów panelu zawierają następujące tabele: Tabela 23a (elementy panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi) i Tabela 23b (elementy panelu z oczekiwanymi wynikami ujemnymi). Zamieszczono także podsumowanie zgodności z oczekiwanymi wynikami oraz wartości S/CO analitu w 2,5., 50. i 97,5. centylu rozkładu S/CO. Zmienność S/CO analitu dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi przedstawia Tabela 24 (badanie 1) i Tabela 25 (badanie 2).

Zgodność wyników dodatnich HPV-dodatnich elementów panelu przy stężeniach nie mniejszych od granicy wykrywalności wynosiła od 95,1% do 100% w badaniu 1 oraz od 93,2% do 100% w badaniu 2 dla 9 z 10 elementów panelu. W przypadku pozostałego jednego HPV-dodatniego elementu panelu w badaniu 1 uzyskano zgodność 77,2%, a w badaniu 2 uzyskano zgodność 79,0%. Te zgodności były niższe od oczekiwanych, ale podobne w obu badaniach. Zgodność wyników ujemnych HPV-ujemnych elementów panelu przy stężeniach mniejszych od granicy wykrywalności wynosiła od 78,8% do 93,8% w badaniu 1 oraz od 82,1% do 95,7% w badaniu 2. Zgodność z oczekiwanymi wynikami dla HPV-ujemnych elementów panelu wynosiła od 96,9% do 100% w badaniu 1 i od 96,3% do 100% w badaniu 2.

**Tabela 23a:** Badanie 1 i badanie 2 odtwarzalności testu Aptima HPV: opis panelu, zgodność wyników dodatnich i rozkład centylowy S/CO analitu dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/reakcję)	Badanie 1 (3 ośrodki)	Badanie 2 (1 ośrodek)
	Procentowa zgodność wyników dodatnich (95% CI)	% zgodność wyników dodatnich (95% CI)
IVT HPV 16 i HPV 18 (100 kopii)	100 (161/161) (97,7; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki SiHa (3 komórki) i komórki HeLa (7,5 komórki)	100 (162/162) (97,7; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
IVT HPV 18 (100 kopii)	100 (162/162) (97,7; 100)	100 (160/160) (97,7; 100)
IVT HPV 16 (100 kopii)	100 (162/162) (97,7; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki MS751 (1 komórka)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)	96,9 (157/162) (93,0; 98,7)
Komórki ME180 (0,3 komórki)	95,1 (154/162) (90,6; 97,5)	93,2 (151/162) (88,3; 96,2)
IVT HPV 18 (30 kopii)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)	100 (162/162) (97,7; 100)
IVT HPV 16 (30 kopii)	100 (162/162) (97,7; 100)	97,5 (158/162) (93,8; 99,0)
Komórki HeLa (2,5 komórki)	100 (162/162) (97,7; 100)	95,6 (152/159) (91,2; 97,9)
Komórki SiHa (1 komórka)*	77,2 (125/162) (70,1; 83,0)	79,0 (128/162) (72,1; 84,6)

IVT = transkrypt *in vitro*. IVT były dodawane do podłoża do transportu próbek (STM), a komórki dodawano do roztworu PreservCyt.

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

**Tabela 23b:** Badanie 1 i badanie 2 odtwarzalności testu Aptima HPV: opis panelu, zgodność wyników ujemnych i rozkład centylowy S/CO analitu dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami ujemnymi

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/reakcję)	Badanie 1 (3 ośrodki)	Badanie 2 (1 ośrodek)
	% zgodność wyników ujemnych (95% CI)	% zgodność wyników ujemnych (95% CI)
IVT HPV 18 (1 kopia)*	78,8 (126/160) (71,8; 84,4)	83,3 (135/162) (76,8; 88,3)
IVT HPV 16 (1 kopia)*	80,9 (131/162) (74,1; 86,2)	88,3 (143/162) (82,4; 92,4)
Komórki HeLa (0,05 komórki)*	79,0 (128/162) (72,1; 84,6)	82,1 (133/162) (75,5; 87,2)
Komórki SiHa (0,03 komórki)*	93,8 (152/162) (89,0; 96,6)	95,7 (155/162) (91,4; 97,9)
Seria 1 podłoża STM	100 (162/162) (97,7; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Seria 2 podłoża STM	99,4 (160/161) (96,6; 99,9)	100 (162/162) (97,7; 100)
Seria 3 podłoża STM	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)
Pula 1 ThinPrep	97,5 (158/162) (93,8; 99,0)	97,5 (158/162) (93,8; 99,0)
Pula 2 ThinPrep	96,9 (157/162) (93,0; 98,7)	96,3 (156/162) (92,2; 98,3)
Pula 3 ThinPrep	100 (162/162) (97,7; 100)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)

STM = podłoże do transportu próbek IVT = transkrypt *in vitro*. IVT były dodawane do podłoża do transportu próbek (STM), a komórki dodawano do roztworu PreservCyt.

\* Oczekiwana procentowa zgodność wyników ujemnych >75% i <100%.

**Tabela 24:** Badanie 1 odtwarzalności testu Aptima HPV: zmienność sygnału uzyskiwanego dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/reakcję)	n	Średnia wartość S/CO	Między ośrodkami		Między operatorami		Między seriami		Między listami roboczymi		W obrębie list roboczych		Ogółem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
IVT HPV 16 i HPV 18 (100 kopii)	161 <sup>^</sup>	23,4	0,1	0,4	0,1	0,4	0,9	4,0	0	0	1,6	7,0	1,9	8,1
Komórki SiHa (3 komórki) i komórki HeLa (7,5 komórki)	162	17,9	0	0	1,4	8,1	0	0	0,6	3,1	5,1	28,6	5,3	29,9
IVT HPV 18 (100 kopii)	162	11,8	0	0	0	0	0,8	6,4	0,1	0,9	1,2	10,1	1,4	12,0
IVT HPV 16 (100 kopii)	162	10,8	0,2	1,5	0	0	0,1	1,1	0,3	2,6	0,3	3,1	0,5	4,5
Komórki MS751 (1 komórka)	162	13,3	0,3	2,1	0	0	1,0	7,8	0,9	7,1	2,2	16,2	2,6	19,4
Komórki ME180 (0,3 komórki)	162	6,5	0,2	3,2	0	0	0,6	8,6	0,4	5,5	2,4	36,2	2,5	37,7
IVT HPV 18 (30 kopii)	162	9,0	0,7	7,3	0	0	0,7	7,2	0,8	8,3	2,3	25,3	2,6	28,5
IVT HPV 16 (30 kopii)	162	10,8	0,1	0,8	0	0	0,1	1,3	0,4	3,8	0,9	8,4	1,0	9,3
Komórki HeLa (2,5 komórki)	162	12,4	0	0	0,4	3,3	0,4	3,1	0	0	2,3	18,4	2,4	19,0
Komórki SiHa (1 komórka)	162	7,5	0,3	3,7	1,0	13,0	0	0	0	0	4,8	63,6	4,9	65,0

SD = odchylenie standardowe; CV = współczynnik zmienności; IVT = transkrypt *in vitro*; S/CO = stosunek sygnału do wartości odcięcia

<sup>^</sup>Dla jednej próbki wynik testu Aptima HPV był nieważny i nie został uwzględniony w analizie.

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

**Tabela 25:** Badanie 2 odtwarzalności testu Aptima HPV: zmienność sygnału uzyskiwanego dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/reakcję)	n	Średnia wartość S/CO	Między aparatami		Między operatorami		Między seriami		Między listami roboczymi		W obrębie list roboczych		Ogółem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
IVT HPV 16 i HPV 18 (100 kopii)	162	23,2	0,4	1,5	0,6	2,3	0,8	3,4	0,8	3,4	1,5	6,3	2,0	8,4
Komórki SiHa (3 komórki) i komórki HeLa (7,5 komórki)	162	18,6	0	0	1,7	9,3	0	0	3,5	18,6	3,7	20,0	5,4	28,9
IVT HPV 18 (100 kopii)	160 <sup>^</sup>	11,9	0,1	0,6	0,2	1,6	0,8	7,0	0,4	3,6	1,3	11,3	1,7	13,8
IVT HPV 16 (100 kopii)	162	10,8	0	0	0,1	1,3	0	0	0,2	2,2	0,7	6,1	0,7	6,6
Komórki MS751 (1 komórka)	162	13,6	0	0	0,6	4,3	0	0	2,5	18,4	2,1	15,2	3,3	24,2
Komórki ME180 (0,3 komórki)	162	5,8	0	0	0,6	10,8	0,5	9,4	2,2	36,9	1,7	29,7	2,9	49,5
IVT HPV 18 (30 kopii)	162	8,8	0,4	4,4	0,5	6,0	0,7	7,9	1,0	11,5	1,9	21,4	2,4	26,6
IVT HPV 16 (30 kopii)	162	10,5	0	0	0,1	1,3	0,2	2,0	1,6	14,9	1,2	11,2	2,0	18,8
Komórki HeLa (2,5 komórki)	159 <sup>^</sup>	12,0	0,6	5,1	1,0	8,5	0	0	2,8	23,8	2,0	16,6	3,7	30,6
Komórki SiHa (1 komórka)	162	7,4	0,9	12,5	0	0	0,7	9,3	1,8	24	4,2	56,8	4,7	63,8

SD = odchylenie standardowe; CV = współczynnik zmienności; IVT = transkrypt *in vitro*; S/CO = stosunek sygnału do wartości odcięcia

<sup>^</sup>Dla pięciu próbek uzyskano nieważne wyniki testu Aptima HPV (2 dla IVT HPV 18 (100 kopii), 3 dla komórek HeLa (2,5 komórki)) i nie zostały one uwzględnione w analizie.

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

Przeprowadzono również trzecie badanie w celu określenia odtwarzalności testu. Polegało one na badaniu 6-elementowego panelu zawierającego pulę próbek klinicznych do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep. Jako matrycę przygotowano sześć unikalnych pul pozostałości HPV-ujemnych próbek do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep. Spośród nich dwie były badane jako HPV-ujemne elementy panelu. Do przygotowania nisko- (n=2) i wysoko- (n=2) HPV-dodatnich elementów panelu wykorzystano cztery unikalne pule HPV-dodatnich próbek do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep. Niskododatnie elementy panelu miały stężenie równe granicy wykrywalności testu (oczekiwany odsetek wyników dodatnich:  $\geq 95\%$  określony dla każdej z pul HPV-dodatnich poprzez przebadanie serii rozcieńczeń danej puli). Wysokododatnie elementy panelu miały stężenia na poziomie 1–2 logarytmów powyżej szacowanej granicy wykrywalności dla każdej odrębnej puli HPV-dodatniej (oczekiwany odsetek wyników dodatnich: 100% wyników dodatnich). Każdy element panelu w dniu badania przeniesiono (1 ml) do próbki Aptima do przenoszenia próbek zawierającej podłoże do transportu próbek. Badanie (realizowane samodzielnie przez producenta) wykonywało 2 operatorów, używając 1 serii odczynników i 3 aparatów w okresie 6 dni (każdy operator po 3 dni). Wykonywano 2 serie testów dziennie, w których panel był badany w dwóch powtórzeniach.

Tabela 26 zawiera opis elementów panelu oraz podsumowanie zgodności z oczekiwanymi wynikami oraz wartości S/CO analitu w 2,5., 50. i 97,5. centylu rozkładu sygnału. Zmienność S/CO analitu dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi przedstawia Tabela 27.

Zgodność wynosiła 100% w przypadku wysoko-HPV-dodatnich elementów panelu,  $\geq 98,6\%$  w przypadku nisko-HPV-dodatnich elementów panelu i  $\geq 94,4\%$  w przypadku HPV-ujemnych elementów panelu.

**Tabela 26:** Badanie 3 odtwarzalności testu Aptima HPV: Opis panelu, procentowa zgodność

Opis panelu	% zgodność (95% CI)
Niskododatnie 1	98,6 (71/72) (92,5; 99,8)
Niskododatnie 2	100 (72/72) (94,9; 100)
Wysokododatnie 1	100 (72/72) (94,9; 100)
Wysokododatnie 2	100 (72/72) (94,9; 100)
Ujemne 1	98,6 (71/72) (92,5; 99,8)
Ujemne 2	94,4 (68/72) (86,6; 97,8)

**Tabela 27:** Badanie 3 odtwarzalności testu Aptima HPV: analiza sygnału z elementów panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi

Opis panelu	n	Średni a wartość S/CO	Między aparatami		Między operatorami		Między seriami		Między listami roboczymi		W obrębie list roboczych		Ogółem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Niskododatnie 1	72	9,8	0	0	0	0	0	0	2,2	22,8	3,0	30,4	3,7	38,0
Niskododatnie 2	72	10,5	0	0	2,2	21,0	0,9	9,0	3,7	35,3	2,7	26,1	5,2	49,5
Wysokododatnie 1	72	22,7	1,3	5,6	0	0	0,1	0,5	3,0	13,3	3,7	16,4	5,0	21,9
Wysokododatnie 2	72	23,9	0	0	0	0	0	0	2,9	12,3	3,0	12,4	4,2	17,4

SD = odchylenie standardowe; CV = współczynnik zmienności; S/CO = stosunek sygnału do wartości odcięcia

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



## Reaktywność krzyżowa

Swoistość analityczną testu Aptima HPV badano przy użyciu roztworu PreservCyt rozcieńczonego w stosunku 1:2,9 w podłożu STM, do którego dodawano wyhodowane bakterie, drożdże lub grzyby; wyhodowane wirusy; lub transkrypty *in vitro* HPV niskiego ryzyka. Tabela 28 zawiera listę mikroorganizmów i stężeń stosowanych w badaniu. Przyjęte w badaniu kryteria oceny wpływu obecności mikroorganizmu na swoistość testu oparte były na wynikach dodatnich. Zaobserwowano reaktywność krzyżową z genotypami HPV niskiego ryzyka 26, 67, 70 i 82, ale nie z jakimkolwiek innymi mikroorganizmami użytymi w badaniu.

**Tabela 28:** Panel do badania swoistości analitycznej: Mikroorganizmy i stężenia niepowodujące reaktywności krzyżowej

Mikroorganizm	Badane stężenie bez stwierdzonej reaktywności krzyżowej	Mikroorganizm	Badane stężenie bez stwierdzonej reaktywności krzyżowej
<b>Bakterie</b>			
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Micrococcus luteus</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2x10 <sup>7</sup> CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	5x10 <sup>7</sup> CFU/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Bacillus cereus</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5x10 <sup>7</sup> CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	5x10 <sup>7</sup> CFU/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae i Chlamydia trachomatis</i>	2,5x10 <sup>7</sup> CFU/ml 2,3x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3,2x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	6x10 <sup>7</sup> CFU/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Providencia stuartii</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Ruminococcus productus</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Finegoldia magna</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Serratia marcescens</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml

**Tabela 28:** Panel do badania swoistości analitycznej: Mikroorganizmy i stężenia niepowodujące reaktywności krzyżowej (*ciąg dalszy*)

Mikroorganizm	Badane stężenie bez stwierdzonej reaktywności krzyżowej	Mikroorganizm	Badane stężenie bez stwierdzonej reaktywności krzyżowej
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml		
<b>Drożdże/pierwotniaki</b>			
<i>Candida albicans</i>	1x10 <sup>8</sup> CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 <sup>7</sup> komórek/ml
<b>Wirusy</b>			
Adenowirus typu 2	1x10 <sup>7</sup> cz. wir./ml	Wirus opryszczki pospolitej typu 1	2,5x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Cytomegalowirus	5,6x10 <sup>2</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	Wirus opryszczki pospolitej typu 2	5x10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Wirus Epsteina-Barr	4,3x10 <sup>8</sup> cz. wir./ml	SV40	1,2 x10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
HIV-1	1,0x10 <sup>6</sup> kopii/ml		
<b>Genotypy HPV, na które nie jest ukierunkowany test</b>			
HPV 6	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml	HPV 61	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml
HPV 11	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml	<b>HPV 67</b>	1 kopia/ml
<b>HPV 26</b>	2,5 kopii/ml	HPV 69	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml
HPV 30	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml	<b>HPV 70</b>	1 kopia/ml
HPV 34	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml	HPV 71	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml
HPV 42	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml	HPV 73	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml
HPV 43	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml	HPV 81	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml
HPV 44	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml	<b>HPV 82</b>	1 kopia/ml
HPV 53	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml	HPV 85	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml
HPV 54	2,5x10 <sup>6</sup> kopii/ml		

cz. wir. = cząstki wirusowe CFU = jednostki tworzące kolonie TCID<sub>50</sub> = dawka zakaźna dla 50% kultury tkankowej

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

Czułość analityczna testu Aptima HPV w obecności mikroorganizmów została zbadana przy użyciu tego samego panelu (patrz Tabela 28), do którego dodano komórki SiHa zakażone HPV w niskim stężeniu (1 komórka na reakcję). Przyjęte w badaniu kryteria oceny wpływu obecności mikroorganizmu na czułość testu oparte były na wynikach dodatnich. Żaden z mikroorganizmów użytych w badaniu nie wpływał na czułość testu Aptima HPV.

## Zakłócenia

Każda z substancji, których listę zawiera Tabela 29, została osobno dodana do roztworu PreservCyt w stężeniach 1% i 10% (objętościowych i masowo-objętościowych), a następnie po rozcieńczeniu podłożem STM przebadana testem Aptima HPV. Wszystkie substancje badano w obecności i bez obecności wyhodowanych komórek zakażonych HPV (SiHa, 3 komórki/reakcję). Zaobserwowano zakłócenia w obecności dwóch z siedmiu lubrykantów zawierających Polyquaternium 15 oraz jednego z pięciu leków przeciwgrzybiczych zawierających tiokonazol. Zakłóceń nie zaobserwowano w obecności żadnej innej badanej substancji.

Tabela 29: Substancje badane pod kątem wywoływania zakłóceń w działaniu testu Aptima HPV

Kategoria produktów	Marka lub rodzaj produktu	Najwyższe przebadane stężenie*, które nie zakłócało działania testu
<b>Lubrykant</b>	KY Sensual Mist	10% obj.
	KY Warming Jelly	10% masowo-obj.
	KY Warming Liquid	10% obj.
	Personal Lubricant marki CVS	10% masowo-obj.
	Warming Massage Lotion and Personal Lubricant marki Target	10% obj.
	Astroglide Personal Lubricant	0,3% masowo-obj. (badana próbka 0,075% masowo-obj.)
	Lubricating Liquid marki Target	0,1% obj. (badana próbka 0,025% obj.)
<b>Środek przeciwbójczy</b>	Gynol II Vaginal Contraceptive Original Formula	10% masowo-obj.
	Gynol II Vaginal Contraceptive Extra Strength	10% masowo-obj.
	Delfen Vaginal Contraceptive Foam	10% masowo-obj.
	Encare Vaginal Contraceptive	10% masowo-obj.
	Conceptrol Vaginal Contraceptive	10% masowo-obj.
<b>Lek przeciwgrzybiczy/ przeciwświądowy</b>	Vagisil Maximum Strength	10% masowo-obj.
	Monistat Soothing Care	10% masowo-obj.
	Monistat 3 Combination Pack	10% masowo-obj.
	Tioconazole 1 marki Target	0,3% masowo-obj. (badana próbka 0,075% masowo-obj.)
	Miconazole 3 marki Target	10% masowo-obj.
<b>Glacial Acetic Acid</b>	EMD M/N AX0073-11	10% obj.
<b>Krew pełna</b>	krew pełna	10% obj.

\*Lubrykanty osobiste zawierające Polyquaternium 15.

## Oczekiwane wyniki w systemie Panther: Prewalencja mRNA HPV wysokiego ryzyka

Prewalencja zakażeń wirusem HPV wysokiego ryzyka jest silnie zróżnicowana i zależy od kilku czynników, z których najistotniejszym jest wiek.<sup>32,33</sup> Prewalencja zakażeń HPV wykrywanych poprzez detekcję DNA tego wirusa była przedmiotem wielu badań, jednak tylko w nielicznych badaniach podawana jest prewalencja określona w oparciu o detekcję onkogenego mRNA wirusa HPV. Kobiety z różnych ośrodków klinicznych (n=18), pochodzące z różnych obszarów geograficznych i populacji (10 stanów w USA), włączono do prospektywnego badania klinicznego pod nazwą CLEAR.<sup>34</sup> Prewalencję próbek dodatnich w kierunku mRNA wirusa zaobserwowaną w badaniu klinicznym na podstawie wyników testu Aptima HPV w systemie Panther System poddano klasyfikacji ogólnej, z podziałem na grupy wiekowe i z podziałem na ośrodki badające. Tabela 30 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 30:** Prewalencja mRNA wirusa HPV wysokiego ryzyka z podziałem na grupy wiekowe i ośrodki badające oraz prewalencja łączna

	% wyników dodatnich (x/n)	
	Populacja ASC-US (≥21 lat)	Populacja NILM (≥30 lat)
<b>Wszystkie</b>	42,3 (404/956)	4,7 (512/10 860)
<b>Grupa wiekowa (lata)</b>		
od 21 do 29	60,0 (251/418)	ND
od 30 do 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
≥40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
<b>Ośrodek badający</b>		
1	41,5 (134/323)	3,7 (304/8286)
2	43,1 (137/318)	9,2 (118/1285)
3	42,2 (133/315)	7,0 (90/1289)

ND = Nie dotyczy

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

Test Aptima HPV w systemie Panther System oceniono podczas prospektywnego, wieloośrodkowego badania klinicznego pod nazwą CLEAR prowadzonego w USA przy wykorzystaniu pozostałości próbek do badań cytologicznych pozyskanych od kobiet skierowanych na takie badania, które zgodziły się na wykorzystanie ich materiału w badaniu klinicznym.<sup>34</sup>

### Badanie kliniczne CLEAR — ocena stanu początkowego

Badanie CLEAR zostało przeprowadzone w celu określenia charakterystyki klinicznej testu Aptima HPV stosowanego w systemie Tigris DTS System do detekcji śródnabłonkowych neoplazji szyjki macicy stopnia 2 i poważniejszych zmian chorobowych w obrębie szyjki macicy ( $\geq$ CIN2). Badanie CLEAR obejmowało ocenę początkowego stanu pacjentek i 3-letni okres kontrolny. Kobiety były kwalifikowane do grupy ASC-US albo do grupy NILM na podstawie wyników rutynowych badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy. Populacja grupy ASC-US obejmowała kobiety w wieku 21 lat i starsze z wynikami badań cytologicznych wykazującymi obecność komórek ASC-US, a populacja grupy NILM obejmowała kobiety w wieku 30 lat i starsze z wynikami badań cytologicznych wykazującymi brak zmian (NILM). Grupa NILM w zamierzeniu służyła dodatkowemu monitorowaniu u kobiet w wieku 30 lat i starszych, ponieważ kobiety w tej grupie wiekowej z wynikami badań cytologicznych wykazującymi stopień wyższy niż ASC-US powinny być kierowane na kolposkopię niezależnie od wyniku badania w kierunku HPV.<sup>35</sup>

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

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

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

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

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

### Badanie CLEAR — testy kontrolne

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

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

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

- Pacjentki utracone dla potrzeb obserwacji — kobiety, które nie ukończyły fazy kontrolnej, i u których jednocześnie nie stwierdzono stanu „nieokreślonego”.

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

## Charakterystyka działania systemu Panther System

### Populacja ASC-US w wieku $\geq 21$ lat: kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HPV

Łącznie do grupy ASC-US zakwalifikowano 1252 kobiety w wieku 21 lat lub starsze z wynikami badań cytologicznych wykazującymi obecność komórek ASC-US. Z tej liczby 294 kobiety zostały wycofane. Pozostałe 958 kobiet zakwalifikowano do badania w systemie Panther System. Próbkę dwóch kobiet nie były dostępne, a u 19 nie określono rozpoznania choroby; wszystkie te przypadki wyłączono z analizy. Pozostałe 937 kobiet uwzględnionych w analizie ukończyło 21 lat, miało wyniki badania cytologicznego wskazujące na występowanie komórek ASC-US, określone wyniki testu Aptima HPV w systemie Panther System i określony jednoznacznie stan wystąpienia albo niewystąpienia choroby. U dziewięćdziesięciu jeden (91) kobiet stwierdzono zmiany  $\geq$ CIN2, a u czterdziestu jeden (41) zmiany  $\geq$ CIN3. Prewalencja zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 wśród kobiet uwzględnionych w analizie, u których wyniki badań cytologicznych wykazywały obecność komórek ASC-US, wynosiła odpowiednio 9,7% i 4,4%. Tabela 31 przedstawia wyniki testu Aptima HPV w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny.

**Tabela 31:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq 21$  lat: Wyniki testu Aptima HPV w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny

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

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

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

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

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

Tabela 32 zawiera oszacowania klinicznej charakterystyki działania testu Aptima HPV, w tym jego czułości, swoistości, dodatniej wartości predykcyjnej (PPV) i ujemnej wartości predykcyjnej (NPV) w detekcji zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3; przedstawiono oszacowania



wyznaczone na podstawie wszystkich biopsji oraz wyłącznie na podstawie biopsji kierowanych. W tabeli przedstawiono również analogiczne oszacowania dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV.

**Tabela 32:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq 21$  lat: Charakterystyka działania testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV w detekcji zmian  $\geq \text{CIN}2$  i  $\geq \text{CIN}3$

	Charakterystyka działania	Test Aptima HPV N=937		Test wykrywający DNA HPV N=863*	
		Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)
$\geq \text{CIN}2$	<b>Wszystkie biopsje</b>				
	<b>Czułość (%)</b>	84,6 (77/91)	(75,8; 90,6)	88,8 (79/89)	(80,5; 93,8)
	<b>Swoistość (%)</b>	62,1 (525/846)	(58,7; 65,3)	55,8 (432/774)	(52,3; 59,3)
	<b>PPV (%)</b>	19,3 (77/398)	(17,3; 21,2)	18,8 (79/421)	(17,0; 20,4)
	<b>NPV (%)</b>	97,4 (525/539)	(96,0; 98,5)	97,7 (432/442)	(96,2; 98,8)
	<b>Prewalencja (%)</b>	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
	<b>Biopsje celowane**</b>				
	<b>Czułość (%)</b>	90,0 (54/60)	(79,9; 95,3)	93,2 (55/59)	(83,8; 97,3)
	<b>Swoistość (%)</b>	60,8 (531/874)	(57,5; 63,9)	54,5 (437/802)	(51,0; 57,9)
	<b>PPV (%)</b>	13,6 (54/397)	(12,0; 15,0)	13,1 (55/420)	(11,7; 14,2)
	<b>NPV (%)</b>	98,9 (531/537)	(97,8; 99,6)	99,1 (437/441)	(97,9; 99,7)
	<b>Prewalencja (%)</b>	6,4 (60/934)		6,9 (59/861)	
$\geq \text{CIN}3$	<b>Wszystkie biopsje</b>				
	<b>Czułość (%)</b>	90,2 (37/41)	(77,5; 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7; 97,3)
	<b>Swoistość (%)</b>	59,7 (535/896)	(56,5; 62,9)	53,3 (439/824)	(49,9; 56,7)
	<b>PPV (%)</b>	9,3 (37/398)	(8,0; 10,3)	8,6 (36/421)	(7,4; 9,4)
	<b>NPV (%)</b>	99,3 (535/539)	(98,3; 99,8)	99,3 (439/442)	(98,3; 99,8)
	<b>Prewalencja (%)</b>	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	
	<b>Biopsje celowane**</b>				
	<b>Czułość (%)</b>	93,1 (27/29)	(78,0; 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3; 99,4)
	<b>Swoistość (%)</b>	59,1 (535/906)	(55,8; 62,2)	52,8 (440/834)	(49,4; 56,1)
	<b>PPV (%)</b>	6,8 (27/398)	(5,7; 7,5)	6,4 (27/421)	(5,5; 7,0)
	<b>NPV (%)</b>	99,6 (535/537)	(98,8; 100)	99,8 (440/441)	(98,9; 100)
	<b>Prewalencja (%)</b>	3,1 (29/935)		3,2 (28/862)	

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

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

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

Spośród 91 przypadków  $\geq$ CIN2 60 (65,9%) wykryto dzięki biopsjom celowanym, a 31 (34,1%) na podstawie biopsji losowych lub łyżeczkowania szyjki macicy (ECC) (tj. na podstawie materiału nie pochodzącego z biopsji celowanych). Spostrzeżenia te są porównywalne z wynikami przedstawionymi w opublikowanych badaniach, w których około 25%–40% przypadków  $\geq$ CIN2 wykrywano w materiałach uzyskanych wyłącznie z biopsji losowych i/lub łyżeczkowania szyjki macicy (ECC)<sup>36,37</sup>. Gdyby występowanie lub niewystępowanie choroby określano wyłącznie na podstawie biopsji celowanych (przy założeniu, że kobiety, u których takich biopsji nie wykonano miały prawidłowe wyniki badań histopatologicznych, ponieważ nie stwierdzono u nich widocznych zmian chorobowych), prevalencja zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 w badaniu klinicznym wyniosłaby odpowiednio 6,4% i 3,1%. Szacowana czułość kliniczna obu testów przy detekcji zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 była wyższa, gdy uwzględniono tylko biopsje celowane, niż w przypadku uwzględnienia wszystkich biopsji. Swoistość kliniczna obu testów, gdy uwzględniono tylko biopsje celowane, była podobna do swoistości wyznaczonej z uwzględnieniem wszystkich biopsji. W związku z tym, przy uwzględnieniu tylko biopsji celowanych, swoistość testu Aptima HPV była istotnie wyższa od swoistości dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV.

W tabelach Tabela 33 i Tabela 34 przedstawiono oszacowania charakterystyki klinicznej testu Aptima HPV i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV z podziałem na grupy wiekowe (odpowiednio przy wykrywaniu zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3, z uwzględnieniem wszystkich biopsji).

**Tabela 33:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq 21$  lat: Charakterystyka działania testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV w detekcji zmian  $\geq \text{CIN}2$  z podziałem na grupy wiekowe

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

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

**Tabela 34:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq 21$  lat: Charakterystyka działania testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV w detekcji zmian  $\geq \text{CIN}3$  z podziałem na grupy wiekowe

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

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

Tabela 35 przedstawia ryzyko bezwzględne wystąpienia choroby ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3, na podstawie wszystkich biopsji) związane z wynikami testu Aptima HPV oraz ryzyko względne choroby związane z dodatnimi i ujemnymi wynikami testu Aptima HPV. W tej samej tabeli przedstawiono analogiczne dane dotyczące dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV. Ryzyko względne wystąpienia zmian  $\geq$ CIN2 wynosiło 7,4 (95-procentowy przedział ufności: 4,3, 13,0), co oznacza, że u kobiety z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV istniało 7,4 raza większe prawdopodobieństwo występowania zmian  $\geq$ CIN2 niż u kobiety z ujemnym wynikiem testu Aptima HPV. Ryzyko względne wystąpienia zmian  $\geq$ CIN3 wynosiło 12,5 (95-procentowy przedział ufności: 4,5; 34,9).

**Tabela 35:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq$ 21 lat: Bezwzględne i względne ryzyko występowania zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 związane z wynikami testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV

	Wynik testu	Test Aptima HPV N=937		Test wykrywający DNA HPV N=863*	
		Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
$\geq$ CIN2	Dodatni	19,3 (77/398) (17,3; 21,2)	7,4 (4,3; 13,0)	18,8 (79/421) (17,0; 20,4)	8,3 (4,4; 15,8)
	Ujemny	2,6 (14/539) (1,5; 4,0)		2,3 (10/442) (1,2; 3,8)	
	Prewalencja (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
$\geq$ CIN3	Dodatni	9,3 (37/398) (8,0; 10,3)	12,5 (4,5; 34,9)	8,6 (36/421) (7,4; 9,4)	12,6 (3,9; 40,6)
	Ujemny	0,7 (4/539) (0,2; 1,7)		0,7 (3/442) (0,2; 1,7)	
	Prewalencja (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

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

Tabela 36 przedstawia oszacowane ryzyko bezwzględne i względne wystąpienia choroby ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3, na podstawie wszystkich biopsji) związane z wynikami testu Aptima HPV i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV z podziałem na grupy wiekowe.

**Tabela 36:** Populacja ASC-US w wieku  $\geq$ 21 lat: Bezwzględne i względne ryzyko występowania zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 związane z wynikami testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV z podziałem na grupy wiekowe

Wiek	Wynik testu	Test Aptima HPV N=937		Test wykrywający DNA HPV N=863*		
		Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	
$\geq$ CIN2	Od 21 do 29 lat	N=415		N=389		
		Dodatni	21,7 (54/249) (19,3; 23,9)	5,1 (2,4; 11,0)	20,8 (56/269) (19,0; 22,5)	8,3 (2,7; 26,1)
		Ujemny	4,2 (7/166) (1,9; 7,7)		2,5 (3/120) (0,6; 6,4)	
		Prewalencja (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	Od 30 do 39 lat	N=261		N=238		
		Dodatni	17,3 (17/98) (13,1; 21,1)	9,4 (2,8; 31,3)	16,2 (16/99) (11,8; 19,8)	5,6 (1,9; 16,3)
		Ujemny	1,8 (3/163) (0,4; 4,3)		2,9 (4/139) (0,9; 5,9)	
		Prewalencja (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	$\geq$ 40 lat	N=261		N=236		
		Dodatni	11,8 (6/51) (5,6; 17,7)	6,2 (1,8; 21,1)	13,2 (7/53) (6,9; 18,7)	8,1 (2,2; 30,1)
		Ujemny	1,9 (4/210) (0,6; 3,4)		1,6 (3/183) (0,4; 3,4)	
		Prewalencja (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	
$\geq$ CIN3	Od 21 do 29 lat	N=415		N=389		
		Dodatni	10,4 (26/249) (9,0; 11,5)	17,3 (2,4; 127)	9,3 (25/269) (8,2; 10,0)	Brak możliwości obliczenia
		Ujemny	0,6 (1/166) (0,0; 2,8)		0,0 (0/120) (0,0; 2,5)	
		Prewalencja (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	Od 30 do 39 lat	N=261		N=238		
		Dodatni	8,2 (8/98) (5,0; 10,1)	13,3 (1,7; 105)	7,1 (7/99) (4,0; 9,2)	4,9 (1,0; 23,2)
		Ujemny	0,6 (1/163) (0,0; 2,4)		1,4 (2/139) (0,2; 3,6)	
		Prewalencja (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	$\geq$ 40 lat	N=261		N=236		
		Dodatni	5,9 (3/51) (1,6; 9,7)	6,2 (1,1; 36,0)	7,5 (4/53) (2,9; 10,7)	13,8 (1,6; 121)
		Ujemny	1,0 (2/210) (0,1; 2,0)		0,5 (1/183) (0,0; 1,8)	
		Prewalencja (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

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

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

Łącznie do grupy NILM zakwalifikowano 11 644 kobiety z wynikami badań cytologicznych wykazującymi brak zmian (NILM), z czego 773 kobiety wycofano z badania. Pozostałe 10 871 kobiet zakwalifikowano do badania w systemie Panther System. Próbki jedenastu kobiet nie były dostępne, dlatego kobiety te zostały wyłączone z oceny testu Aptima HPV w systemie Panther System na początku badania klinicznego. Pozostałe 10 860 kobiet uwzględnionych w analizie ukończyło 30 lat, miało wyniki badania cytologicznego wykazujące brak zmian (NILM) oraz określone wyniki testu Aptima HPV w Panther System. Spośród 512 kobiet z dodatnimi wynikami testu Aptima HPV w systemie Panther System u 284 wykonano kolposkopię na początku badania klinicznego. Spośród 10 348 kobiet z ujemnymi wynikami testu Aptima HPV u 580 wykonano kolposkopię na początku badania klinicznego. U dwudziestu (20) kobiet występowały zmiany  $\geq$ CIN2, a u jedenastu (11) występowały zmiany  $\geq$ CIN3; u 798 wyniki badań histopatologicznych wykazały stan prawidłowy/zmiany CIN1; u 46 kobiet stan obecności bądź braku choroby był nieokreślony. Tabela 37 przedstawia wyniki testu Aptima HPV w systemie Panther System w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny na początku badania klinicznego.

**Tabela 37:** Populacja NILM w wieku  $\geq 30$  lat: Wyniki testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny na początku badania klinicznego

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

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

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

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

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

Łącznie na początku badania klinicznego u 10 042 kobiet stan obecności bądź braku choroby był niezwyfikowany (w tej liczbie uwzględniono też pacjentki w stanie nieokreślonym) (Tabela 38). Ponieważ na kolposkopię skierowano tylko losowo wybrane kobiety z ujemnymi wynikami obu testów (Aptima HPV w systemie Tigris DTS System i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV), w tej grupie udział kobiet z niezwyfikowanym stanem obecności bądź braku choroby był wysoki (96,6%).

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

**Tabela 38:** Populacja NILM w wieku  $\geq 30$  lat: Klasyfikacja kobiet z grupy NILM uwzględnionych w analizie wg wyników testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV, obecności lub braku choroby ( $\geq \text{CIN}2$  i  $\geq \text{CIN}3$ ) oraz weryfikacji obecności lub braku choroby

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

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

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



Skorygowana prevalencja zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 wśród kobiet z wynikami badań cytologicznych wykazujących brak zmian (NILM) wynosiła odpowiednio 0,9% i 0,4%. Tabela 39 przedstawia skorygowane oszacowane ryzyko bezwzględne i względne wykrycia zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 na początku badania. Ryzyko względne wystąpienia zmian  $\geq$ CIN2 wynosiło 7,5 (95-procentowy przedział ufności: 2,1, 26,3), co oznacza, że u kobiety z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV istniało 7,5 raza większe prawdopodobieństwo występowania zmian  $\geq$ CIN2 niż u kobiety z ujemnym wynikiem testu Aptima HPV. Ryzyko względne wystąpienia zmian  $\geq$ CIN3 wynosiło 24,9 (95-procentowy przedział ufności: 2,0; 307,0). Tabela 40 przedstawia nieskorygowane oszacowane ryzyko bezwzględne i względne wykrycia zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 na początku badania klinicznego w całej populacji. Tabela 41 przedstawia analogiczne dane z podziałem na grupy wiekowe.

**Tabela 39:** Populacja NILM w wieku  $\geq$ 30 lat: Bezwzględne i względne ryzyko występowania zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 związane z wynikami testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV (oszacowania ze skorygowanym obciążeniem selektywnością skierowań) na początku badania klinicznego

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

**Tabela 40:** Populacja NILM w wieku  $\geq 30$  lat: Bezwzględne i względne ryzyko występowania zmian  $\geq \text{CIN}2$  i  $\geq \text{CIN}3$  związane z wynikami testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV (oszacowania nieskorygowane) na początku badania klinicznego

	Wynik testu	Test Aptima HPV N=818		Test wykrywający DNA HPV N=800*	
		Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
$\geq \text{CIN}2$	Dodatni	5,2 (14/269) (3,5; 6,6)	4,8 (1,9; 12,3)	3,8 (16/416) (2,9; 4,5)	4,9 (1,4; 16,8)
	Ujemny	1,1 (6/549) (0,5; 1,9)		0,8 (3/384) (0,2; 1,9)	
	Prewalencja (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
$\geq \text{CIN}3$	Dodatni	3,7 (10/269) (2,5; 4,3)	20,4 (2,6; 159)	2,4 (10/416) (1,6; 2,7)	9,2 (1,2; 71,8)
	Ujemny	0,2 (1/549) (0,0; 0,8)		0,3 (1/384) (0,0; 1,1)	
	Prewalencja (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

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

**Tabela 41:** Populacja NILM w wieku  $\geq 30$  lat: Bezwzględne i względne ryzyko występowania zmian  $\geq \text{CIN}2$  i  $\geq \text{CIN}3$  związane z wynikami testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV z podziałem na grupy wiekowe (oszacowania nieskorygowane) na początku badania klinicznego

	Wiek	Wynik testu	Test Aptima HPV N=818		Test wykrywający DNA HPV N=800*	
			Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
$\geq \text{CIN}2$	Od 30 do 39 lat		N=383		N=376	
		Dodatni	4,6 (7/153) (2,5; 5,9)	5,3 (1,1; 25,0)	3,3 (7/215) (1,8; 4,1)	2,6 (0,6; 12,4)
		Ujemny	0,9 (2/230) (0,1; 2,2)		1,2 (2/161) (0,2; 3,2)	
		Prewalencja (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	$\geq 40$ lat		N=435		N=424	
		Dodatni	6,0 (7/116) (3,2; 8,5)	4,8 (1,4; 16,1)	4,5 (9/201) (2,9; 5,3)	10,0 (1,3; 78,1)
Ujemny		1,3 (4/319) (0,4; 2,3)	0,4 (1/223) (0,0; 1,8)			
Prewalencja (%)		2,5 (11/435)		2,4 (10/424)		
$\geq \text{CIN}3$	Od 30 do 39 lat		N=383		N=376	
		Dodatni	3,3 (5/153) (1,6; 4,1)	7,5 (0,9; 63,7)	2,3 (5/215) (1,1; 2,9)	3,7 (0,4; 31,7)
		Ujemny	0,4 (1/230) (0,0; 1,6)		0,6 (1/161) (0,0; 2,2)	
		Prewalencja (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	$\geq 40$ lat		N=435		N=424	
		Dodatni	4,3 (5/116) (2,2; 5,1)	Brak możliwości obliczenia	2,5 (5/201) (1,3; 2,8)	Brak możliwości obliczenia
Ujemny		0,0 (0/319) (0,0; 0,8)	0,0 (0/223) (0,0; 1,1)			
Prewalencja (%)		1,1 (5/435)		1,2 (5/424)		

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

Tabela 42 zawiera skorygowane oszacowania klinicznej charakterystyki działania testu Aptima HPV, w tym jego czułości, swoistości, dodatniej wartości predykcyjnej (PPV) i ujemnej wartości predykcyjnej (NPV) w detekcji zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 na początku badania klinicznego. W tabeli przedstawiono również analogiczne oszacowania charakterystyki dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV. Tabela 43 zawiera nieskorygowane oszacowania klinicznej charakterystyki działania. Test Aptima HPV i dostępny na rynku test wykrywający DNA wirusa HPV mają podobną czułość, natomiast test Aptima HPV charakteryzował się znacznie wyższą swoistością (w nienakładających się 95-procentowych przedziałach ufności). Oszacowane wartości predykcyjne testu Aptima HPV były klinicznie istotne i podobne do oszacowań dla dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV. Ujemne wartości predykcyjne (NPV) były podobne, ale przy detekcji zmian  $\geq$ CIN2 dodatnia wartość predykcyjna (PPV) testu Aptima HPV była nieznacznie wyższa od wartości PPV dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV (4,5% wobec 3,7%).

**Tabela 42:** Populacja NILM w wieku  $\geq$ 30 lat: Charakterystyka działania testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV w detekcji zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 (oszacowania ze skorygowanym obciążeniem selektywności skierowań) na początku badania klinicznego

	Charakterystyka działania	Test Aptima HPV		Test wykrywający DNA wirusa HPV	
		Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)
$\geq$ CIN2	Czułość (%)	28,4	(4,9; 51,8)	35,4	(3,8; 66,9)
	Swoistość (%)	95,5	(95,1; 95,9)	93,7	(93,2; 94,2)
	PPV (%)	4,5	(2,7; 7,4)	3,7	(2,3; 6,1)
	NPV (%)	99,4	(98,1; 99,8)	99,5	(97,9; 99,9)
	Prewalencja (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
$\geq$ CIN3	Czułość (%)	54,0	(3,6; 100)	56,4	(0,4; 100)
	Swoistość (%)	95,4	(95,0; 95,8)	93,6	(93,1; 94,1)
	PPV (%)	3,0	(1,6; 5,5)	2,3	(1,3; 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,3; 100)	99,9	(97,6; 100)
	Prewalencja (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

**Tabela 43:** Populacja NILM w wieku  $\geq 30$  lat: Charakterystyka działania testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV w detekcji zmian  $\geq \text{CIN}2$  i  $\geq \text{CIN}3$  (oszacowania nieskorygowane) na początku badania klinicznego

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

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

Bezpośrednie porównanie testu Aptima HPV w systemie Panther System i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV wykazuje, że mają one podobną czułość i że test Aptima HPV ma istotnie statystycznie większą czułość przy wykrywaniu zmian  $\geq$ CIN2, czego dowodzą stosunki liczby wyników prawdziwie dodatnich i fałszywie dodatnich (odpowiednio Tabela 44 i Tabela 45).

**Tabela 44:** Populacja NILM w wieku  $\geq$ 30 lat: Stosunek liczby wyników prawdziwie dodatnich (test Aptima HPV/test wykrywający DNA wirusa HPV) u kobiet ze zmianami  $\geq$ CIN2 (oszacowanie nieskorygowane) na początku badania klinicznego

		Test wykrywający DNA wirusa HPV		Ogółem
		Dodatni	Ujemny	
Test Aptima HPV	Dodatni	13	1	14 (73,7%)
	Ujemny	3	2	5
	Ogółem	16 (84,2%)	3	19
Stosunek liczby wyników prawdziwie dodatnich = 0,88 (14/16) (95-procentowy przedział ufności: 0,65; 1,10)				

**Tabela 45:** Populacja NILM w wieku  $\geq$ 30 lat: Stosunek liczby wyników fałszywie dodatnich (test Aptima HPV/test wykrywający DNA wirusa HPV) u kobiet ze zmianami  $<$ CIN2 (oszacowanie nieskorygowane) na początku badania klinicznego

		Test wykrywający DNA wirusa HPV		Ogółem
		Dodatni	Ujemny	
Test Aptima HPV	Dodatni	223	19	242 (31,0%)
	Ujemny	177	362	539
	Ogółem	400 (51,2%)	381	781
Stosunek liczby wyników fałszywie dodatnich = 0,61 (242/400) (95-procentowy przedział ufności: 0,55; 0,66)				

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

Na początku badania klinicznego do fazy kontrolnej kwalifikowały się 10 843 kobiety uwzględnione w analizie, które ukończyły 30 lat i miały wyniki badania cytologicznego wykazujące brak zmian (NILM) oraz ważne wyniki testu Aptima HPV w systemie Panther System. Spośród kobiet, u których nie występowały zmiany  $\geq$ CIN2, 67,0% (7 247/10 823) odbyło wizytę kontrolną po 1. roku, na której wykonano rozmaz szyjkowy, 60,3% (6 517/10 814) odbyło taką wizytę po 2. roku, a 58,7% (6 339/10 807) po 3. roku. Ogółem badanie kliniczne ukończyło 58,8% (6 375/10 843) kobiet (są to kobiety, u których na początku badania klinicznego lub w fazie kontrolnej były obecne zmiany  $\geq$ CIN2 i/lub które odbyły wymagane wizyty).

Spośród 10 843 kobiet kwalifikujących się do oceny 511 (4,7%) miało na początku badania klinicznego dodatnie wyniki testu Aptima HPV w systemie Panther System. Spośród tych 511 kobiet u 255 (49,9%) stwierdzono obecność lub brak choroby po 3 latach na podstawie

badania cytologicznych lub wyników kolposkopii/biopsji. Pozostałe 10 332 kobiety miały ujemne wyniki testu Aptima HPV w systemie Panther System na początku badania klinicznego. Spośród tych 10 332 kobiet u 5 946 (57,5%) stwierdzono obecność lub brak choroby po 3 latach. Spośród 6 201 kobiet, u których stwierdzono obecność lub brak choroby po 3 latach, u 47 były obecne zmiany  $\geq$ CIN2, w tym u 23 były obecne zmiany  $\geq$ CIN3; u 6 154 kobiet konsensus panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny wskazał na stan prawidłowy/zmiany CIN1. Tabela 46 zawiera uzyskane na początku badania klinicznego wyniki testu Aptima HPV w systemie Panther System i dostępnego na rynku testu wykrywającego DNA wirusa HPV, a także stan obecności albo braku choroby po 3 latach (z uwzględnieniem badań na początku badania klinicznego i wizyt kontrolnych) określony poprzez konsensus panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny.

**Tabela 46:** Populacja NILM w wieku  $\geq$ 30 lat: Klasyfikacja kobiet zakwalifikowanych do fazy kontrolnej według wyników testu Aptima HPV uzyskanych na początku badania klinicznego, wyników testu wykrywającego DNA wirusa HPV uzyskanych na początku badania klinicznego i stanu obecności albo braku choroby ( $\geq$ CIN2,  $\geq$ CIN3, stan niezwyfikowany) określonego w fazie początkowej i w fazie kontrolnej

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

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

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

Skumulowane ryzyko wystąpienia choroby ( $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3) w okresie 3 lat wyznaczono przy użyciu estymatora Kaplan-Meier (analiza tabel przeżycia), z uwzględnieniem stanów chorobowych wykrytych na początku badania klinicznego i w fazie kontrolnej. Kobiety, u których występowały pewne oznaki choroby (wykryte komórki ASC-US lub poważniejsze wyniki badania cytologicznego), ale dla których nie określono wyniku na podstawie konsensusu panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny, zostały uwzględnione w analizie poprzez zastosowanie metody wielokrotnych podstawień w celu predykcji liczby kobiet, u których rozpoznano by chorobę, gdyby zostały poddane kolposkopii.

Tabela 47 przedstawia skumulowane ryzyko bezwzględne i względne wykrycia zmian  $\geq$ CIN2 i  $\geq$ CIN3 w okresie 3 lat.

**Tabela 47:** Populacja NILM w wieku  $\geq 30$  lat: Bezwzględne i względne skumulowane ryzyko\* występowania zmian  $\geq \text{CIN}2$  i  $\geq \text{CIN}3$  w okresie 3 lat związane z wynikami testu Aptima HPV i testu wykrywającego DNA wirusa HPV na początku badania klinicznego

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

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

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



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

Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath zostały pobrane od mieszkanek Kanady (n=558), które zostały skierowane na badanie dodatkowe z powodu jednego lub większej liczby nieprawidłowych wyników rozmazu szyjkowego, zakażenia wirusem HPV lub z innej przyczyny. Jedna porcja (0,5 ml) każdej próbki została przeniesiona do próbki do przenoszenia próbek Aptima, a następnie poddana obróbce za pomocą roztworu do przenoszenia Aptima. Za pomocą testu Aptima HPV przebadano po jednym powtórzeniu każdej próbki. Osobna porcja (1 ml) każdej próbki została wydzielona do przebadania za pomocą dostępnego na rynku testu PCR w kierunku wirusa HPV. Zarówno dla testu Aptima HPV, jak i dla testu PCR w kierunku wirusa HPV, obliczono kliniczną czułość detekcji stanu chorobowego, zdefiniowanego jako wynik  $\geq$ CIN3 w badaniu histopatologicznym. Wyniki (wraz z dodatnimi i ujemnymi wartościami predykcyjnymi) zawiera Tabela 48.

**Tabela 48:** Charakterystyka działania testu Aptima HPV i testu PCR w kierunku wirusa HPV w detekcji zmian  $\geq$ CIN3

Charakterystyka działania	Test Aptima HPV N=558		Test PCR w kierunku HPV N=558	
	Oszacowanie	(95% CI)	Oszacowanie	(95% CI)
<b>Czułość (%)</b>	89,3 (25/28)	(72,8–96,3)	89,3 (25/28)	(72,8–96,3)
<b>Swoistość (%)</b>	58,7 (311/530)	(54,4–62,8)	49,1 (260/530)	(44,8–53,3)
<b>PPV (%)</b>	10,2 (25/244)	(8,4–11,7)	8,5 (25/295)	(7,0–9,5)
<b>NPV (%)</b>	99,0 (311/314)	(97,6–99,8)	98,9 (260/263)	(97,2–99,7)
<b>Prewalencja (%)</b>	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

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

Próbki kliniczne dodatnie w kierunku HPV wysokiego ryzyka i ujemne w kierunku HPV wysokiego ryzyka zebrane z badań przesiewowych (wizyty rutynowe) i z badań po skierowaniu (kolposkopia) przy użyciu zestawu Aptima CSCT przebadano testem Aptima HPV w systemach Panther System i Tigris DTS System przy użyciu dwóch serii odczynników. Tabela 49 przedstawia informacje o zgodności wyników badań próbek pobranych przy użyciu zestawu CSCT wykonanych w systemie Panther System i w systemie Tigris DTS System.

Ogólna zgodność między wynikami z systemu Panther System i Tigris DTS System dla próbek pobranych przy użyciu zestawu była  $> 98\%$  (patrz Tabela 49). Spośród 632 przebadanych próbek klinicznych 69 wykazało obecność zmian CIN2+, a 38 zmian CIN3+. Czułość testu Aptima HPV w detekcji zmian CIN2+ wynosiła 97,1% (95-procentowy przedział ufności: 90,0%–99,2%) w systemie Panther System i 98,6% (95-procentowy przedział ufności: 92,2–99,7) w systemie Tigris DTS System. Czułość detekcji zmian CIN3+ wynosiła 100% (przedział ufności: 90,8%–100%) zarówno w systemie Panther System, jak i Tigris DTS System.

**Tabela 49:** Zgodność wyników testu Aptima HPV między systemem Panther System i Tigris DTS System dla próbek pobranych przy użyciu zestawu Aptima CSCT

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

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

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

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

## Czułość analityczna

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

W wynikach analizy probit (Tabela 50) można zauważyć, że 95-procentowe granice wykrywalności HPV typu 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 i 68 są niższe niż 100 kopii/reakcję; a 95-procentowe granice wykrywalności typów 52, 58 i 66 wynoszą między 100 a 500 kopii/reakcję. W przypadku czterech badanych linii komórkowych granice wykrywalności z prawdopodobieństwem 95% były niższe niż 1 komórka/reakcję.

**Tabela 50:** Granica wykrywalności testu Aptima HPV przy klinicznej wartości odcięcia

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

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

## Precyzja testu

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

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

Opisy elementów panelu zawierają następujące tabele: Tabela 51a (elementy panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi) i Tabela 51b (elementy panelu z oczekiwanymi wynikami ujemnymi). Zamieszczono także podsumowanie zgodności z oczekiwanymi wynikami oraz wartości S/CO analitu w 2,5., 50. i 97,5. centylu rozkładu S/CO. Zmienność S/CO analitu dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi przedstawia Tabela 52 (badanie 1) i Tabela 53 (badanie 2).

**Tabela 51a:** Badanie 1 i badanie 2 precyzji testu Aptima HPV: opis panelu, zgodność wyników dodatnich i rozkład centylowy S/CO analitu dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/ reakcję)	Badanie 1 (3 ośrodki)	Badanie 2 (1 ośrodek)
	Procentowa zgodność wyników dodatnich (95% CI)	% zgodność wyników dodatnich (95% CI)
Próbka kliniczna 1 wysokododatnia w kierunku HPV	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (161/161) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 2 wysokododatnia w kierunku HPV	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
IVT HPV 16 (1830 kopii)	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (161/161) (97,1; 100)
IVT HPV 18 (1550 kopii)	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 1 niskododatnia w kierunku HPV	94,4 (101/107) (88,3; 97,4)	89,5 (145/162) (83,3; 93,3)
Próbka kliniczna 2 niskododatnia w kierunku HPV	88,0 (95/108) (80,5; 92,8)	92,0 (149/162) (86,8; 95,3)
Próbka kliniczna 3 niskododatnia w kierunku HPV	100 (108/108) (96,6; 100)	97,5 (157/161) (93,8; 99,0)
Próbka kliniczna 4 niskododatnia w kierunku HPV	90,7 (98/108) (83,8; 94,9)	92,6 (150/162) (87,5; 95,7)
IVT HPV 16 (183 kopii)	100 (102/102) (96,4; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
IVT HPV 18 (155 kopii)	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (159/159) (97,6; 100)
Komórki MS751 (0,63 komórki)	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki HeLa (0,35 komórki)	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki SiHa (0,90 komórki)	87,9 (94/107) (80,3; 92,8)	89,5 (145/162) (83,8; 93,3)

IVT = transkrypt in vitro

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

**Tabela 51b:** Badanie 1 i badanie 2 precyzji testu Aptima HPV: opis panelu, zgodność wyników ujemnych i rozkład centylowy S/CO analitu dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami ujemnymi

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/ reakcję)	Badanie 1 (3 ośrodki)	Badanie 2 (1 ośrodek)
	% zgodność wyników ujemnych (95% CI)	% zgodność wyników ujemnych (95% CI)
Komórki MS751 (0,005 komórki)	87,0 (94/108) (79,4; 92,1)	93,8 (152/162) (89,0; 96,6)
Komórki SiHa (0,008 komórki)	97,2 (105/108) (92,1; 99,1)	95,7 (155/162) (91,4; 97,9)
Komórki HeLa (0,02 komórki)	70,4 (76/108) (61,2; 78,2)	67,3 (109/162) (59,8; 74,0)
Próbka kliniczna 1 ujemna w kierunku HPV	99,1 (107/108) (94,9; 99,8)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 2 ujemna w kierunku HPV	97,2 (105/108) (92,1; 99,1)	100 (162/162) (97,7; 100)
Roztwór PreservCyt 1	99,1 (107/108) (94,9; 99,8)	100 (162/162) (97,7; 100)
Roztwór PreservCyt 2	99,1 (107/108) (94,9; 99,8)	100 (161/161) (97,7; 100)

IVT = transkrypt in vitro.

\*Oczekiwana procentowa zgodność wyników ujemnych >75% i <100%.

**Tabela 52:** Badanie 1 precyzji testu Aptima HPV: zmienność sygnału uzyskiwanego dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/reakcję)	n	Średnia wartość S/CO	Między aparatami		Między operatorami		Między seriami		Między listami roboczymi		W obrębie list roboczych		Ogółem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Próbka kliniczna 1 wysokododatnia w kierunku HPV	107*	29,34	0,00	0,0	0,00	0,0	1,43	4,9	1,87	6,4	1,49	5,1	2,79	9,5
Próbka kliniczna 2 wysokododatnia w kierunku HPV	107*	30,09	0,55	1,8	0,00	0,0	1,06	3,5	0,73	2,4	2,21	7,3	2,61	8,7
IVT HPV 16 (1830 kopii)	107*	11,20	0,09	0,8	0,16	1,4	0,03	0,3	0,14	1,3	0,46	4,1	0,52	4,6
IVT HPV 18 (1550 kopii)	107*	14,89	0,18	1,2	0,00	0,0	0,20	1,3	0,14	0,9	1,53	10,3	1,56	10,5
Próbka kliniczna 1 niskododatnia w kierunku HPV	107*	8,24	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,23	39,2	3,23	39,2
Próbka kliniczna 2 niskododatnia w kierunku HPV	108	7,07	0,00	0,0	0,41	5,8	0,00	0,0	0,00	0,0	4,57	64,7	4,59	65,0
Próbka kliniczna 3 niskododatnia w kierunku HPV	108	10,23	0,26	2,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,32	12,9	3,23	31,6	3,49	34,2
Próbka kliniczna 4 niskododatnia w kierunku HPV	108	4,68	0,50	10,7	0,20	4,2	0,00	0,0	0,99	21,1	3,02	64,6	3,22	68,9
IVT HPV 16 (183 kopii)	102*	11,09	0,08	0,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	2,3	0,54	4,9	0,61	5,5
IVT HPV 18 (155 kopii)	108	11,78	0,00	0,0	0,43	3,7	0,00	0,0	1,12	9,5	1,97	16,7	2,30	19,6
Komórki MS751 (0,63 komórki)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
Komórki HeLa (0,35 komórki)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
Komórki SiHa (0,90 komórki)	107*	7,74	0,37	4,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,85	49,8	3,87	50,1

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

CV = współczynnik zmienności; IVT = transkrypt in vitro; SD = odchylenie standardowe

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

**Tabela 53:** Badanie 2 precyzji testu Aptima HPV: zmienność sygnału uzyskiwanego dla elementów panelu z oczekiwanymi wynikami dodatnimi

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/reakcję)	n	Średnia wartość S/CO	Między aparatami		Między operatorami		Między seriami		Między listami roboczymi		W obrębie list roboczych		Ogółem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Próbka kliniczna 1 wysokodatnia w kierunku HPV	161*	26,81	0,75	2,8	0,00	0,0	0,91	3,4	0,48	1,8	1,84	6,9	2,24	8,3
Próbka kliniczna 2 wysokodatnia w kierunku HPV	162	28,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,96	3,3	0,65	2,3	2,35	8,2	2,62	9,1
IVT HPV 16 (1830 kopii)	161*	11,07	0,14	1,2	0,00	0,0	0,05	0,5	0,16	1,4	0,32	2,9	0,39	3,5
IVT HPV 18 (1550 kopii)	162	13,34	0,14	1,1	0,12	0,9	1,00	7,5	0,31	2,3	0,75	5,6	1,31	9,8
Próbka kliniczna 1 niskodatnia w kierunku HPV	162	7,57	0,56	7,5	0,55	7,3	0,63	8,3	0,00	0,0	3,61	47,7	3,75	49,5
Próbka kliniczna 2 niskodatnia w kierunku HPV	162	7,59	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	5,25	69,2	5,25	69,2
Próbka kliniczna 3 niskodatnia w kierunku HPV	161*	8,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	3,0	0,00	0,0	3,48	39,4	3,49	39,5
Próbka kliniczna 4 niskodatnia w kierunku HPV	162	4,95	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	15,2	0,00	0,0	3,35	67,6	3,43	69,3
IVT HPV 16 (183 kopii)	162	11,02	0,13	1,2	0,11	1,0	0,12	1,1	0,13	1,2	0,54	4,9	0,59	5,4
IVT HPV 18 (155 kopii)	159*	11,40	0,16	1,4	0,17	1,5	1,21	10,6	0,23	2,0	1,17	10,3	1,72	15,0
Komórki MS751 (0,63 komórki)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
Komórki HeLa (0,35 komórki)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
Komórki SiHa (0,90 komórki)	162	7,30	0,32	4,3	0,00	0,0	0,93	12,7	1,04	14,3	3,49	47,8	3,77	51,7

\*Dla sześciu próbek uzyskano nieważne wyniki testu Aptima HPV (1 dla próbki klinicznej 1 wysokodatniej w kierunku HPV, 1 dla IVT HPV 16 (1830 kopii), 1 dla próbki klinicznej 3 niskodatniej w kierunku HPV, 3 dla IVT HPV 18 (155 kopii)).  
CV = współczynnik zmienności; IVT = transkrypt in vitro; SD = odchylenie standardowe

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

## Reaktywność krzyżowa

Badania przy użyciu testu Aptima HPV w obecności mikroorganizmów potencjalnie powodujących reaktywność krzyżową wykonywano w systemie Tigris DTS System. Wyniki — patrz *Reaktywność krzyżowa* (Tabela 28) w sekcji dotyczącej systemu Tigris DTS System.



**Zakłócenia**

Badania przy użyciu testu Aptima HPV w obecności substancji potencjalnie powodujących zakłócenia wykonywano w systemie Tigris DTS System. Wyniki — patrz *Zakłócenia* (Tabela 29) w sekcji dotyczącej systemu Tigris DTS System.

## 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., S. Franceschi, R. Howell-Jones, P. J. Snijders, G. M. Clifford.** 2010. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*, n/a. doi: 10.1002/ijc.25396.
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer.* **64(3)**:211-5.
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, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **90(12)**:5583-7.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Sunsum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* **325(7364)**: 572-579.
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, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer.* **108(3)**:329-33. Erratum in: *Int J Cancer.* **108(6)**:945.
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. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol.* **32 Suppl 1**:S16-24.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2010; 20(8):1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology.* 2011; 49(2):557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer.* 2011;129:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology.* 2012;125:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2013;23(3):513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer.* 2013;108:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, Lynge E.** Prevalence of human papillomavirus infection in unselected SurePath samples using the APTIMA HPV mRNA assay. *The Journal of Molecular Diagnostics.* 2013;15(5):670-7.
18. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lynge E.** A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer.* 2015;51:1456-66.
19. **Heideman DAM, Hesselink AT, van Kemenade FJ, Iftner T, Berkhof J, Topal F, et al.** The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *Journal of Clinical Microbiology.* 2013;51(11):3653-7.
20. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlaberg R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods.* 2015;221:95-9.
21. **Iftner T, Becker S, Neis KJ, Castanon A, Iftner A, Holz B, et al.** Head-to-Head Comparison of the RNA368 Based Aptima Human Papillomavirus (HPV) Assay and the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in a Routine Screening Population of Women Aged 30 to 60 Years in Germany. *Journal of Clinical Microbiology.* 2015;53:2509-16.
22. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lynge E.** Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above. *PLoS One.* 20 stycznia 2016;11(1):e0147326.
23. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lynge E.** A daunting challenge: Human Papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30years. *Eur J Cancer.* Lipiec 2015;51(11):1456-66.
24. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
25. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem.* **35**: 1588-1594.
26. **Nelson, N. C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* **35**:8429-8438.

27. **Clad, A., M. Reuschenbach, J. Weinschenk, R. Grote, J. Rahmsdorf, and N. Freudenberg.** Performance of the Aptima high-risk HPV mRNA assay in a referral population in comparison with Hybrid Capture 2 and cytology. 2010. *J Clin Microbiol*, n/a. doi: 10.1128/JCM.01674-10.
28. **Ratnam S., F. Coutless, D. Fontaine, J. Bentley, N. Escott, P. Ghatage, G. Holloway, E. Bartellas, N. Kum, and A. Lear.** 2008. Clinical Correlations of Aptima HPV E6/E7 mRNA Test in Cervical Cancer Screening: Preliminary Results from a Multicentre Canadian Study. Presented at EUROGIN 2008, 12–15 listopada 2008 r., Scientific Communication SS **8-6**.
29. **Szarewski A., L. Ambroisine, L. Cadman, J. Austin, L. Ho, G. Terry, S. Little, R. Dina, J. McCarthy, H. Buckley, C. Bergeron, P. Soutter, D. Lyons, and J. Cuzick.** 2008. Comparison of predictors for High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia in Women with Abnormal Smears. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **17(11)**, Listopad.
30. **Castle P.E., J. Dockter, C. Giachetti, F.A.R. Garcia, M. McCormick, A.L. Mitchell, E.B. Holladay, and D.P. Kolk.** 2007. A Cross-sectional Study of a Prototype Carcinogenic Human Papillomavirus E6/E7 Messenger RNA Assay for Detection of Cervical Pre-cancer and Cancer. *Clin Cancer Res.* **13(9)**. 2599.
31. **Monsonogo J., M.G. Hudgens, L. Zerat, J.C. Zerat, K. Syrjänen, P. Halfon, F. Ruiz, and J.S. Smith.** 2010. Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid based cytology in primary cervical cancer screening (The FASE study). *Int J Cancer.* n/a. doi 10.1002/ijc.25726.
32. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. *Annals Int Med.* **148**:493.
33. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet.* **366**, 991.
34. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** 2013. Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* **208(2)**:144-145.
35. **Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D.** 2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests. 2007. *Am J Obstet Gynecol* **197 (4)**; 346-355.
36. **Pretorius R.G., W. H. Zhang, J. L. Belinson, et al.** Colposcopically directed biopsy, random cervical biopsy, and endocervical curettage in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia II or worse. 2004. *Am J Obstet Gynecol.* **191**:430-434.
37. **Pretorius R.G., R. J. Kim, J. L. Belinson, P. Elson, Y-L Qiao.** Inflation of sensitivity of cervical cancer screening tests secondary to correlated error in colposcopy. 2006. *J Low Genit Tract Dis.* **10(1)**:5-9.



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

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).



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



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

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep i Tigris są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic, Inc. i/lub spółek zależnych w Stanach Zjednoczonych i/lub innych państwach.

ependorf (stylizowany znak) i REPEATER są znakami towarowymi firmy Ependorf AG.

RAININ jest znakiem handlowym firmy Rainin Instruments, LLC.

TECAN i FREEDOM EVO są znakami towarowymi firmy Tecan Group AG.

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 spośród wymienionych na stronie [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2007–2019 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.  
AW-14517-3401 Rev. 007 (PL)

2019-07