

## Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Pro diagnostické použití *in vitro*.

Pouze pro export z USA.

<b>Obecné informace</b> .....	<b>2</b>
Určené použití .....	2
Souhm a vysvětlení testu .....	2
Principy metody .....	3
Varování a bezpečnostní opatření .....	4
Skladování reagensů a požadavky na manipulaci .....	5
Odběr a uchovávání vzorků .....	6
<b>Interpretace testu</b> .....	<b>19</b>
<b>Omezení</b> .....	<b>20</b>
<b>Očekávané výsledky na systému Tigris DTS: Prevalence vysoce rizikových typů HPV mRNA</b> .....	<b>21</b>
<b>Provádění testování na systému Tigris DTS</b> .....	<b>22</b>
<b>Očekávané výsledky na systému Panther: Prevalence vysoce rizikových typů HPV mRNA</b> .....	<b>41</b>
<b>Výsledky testování na systému Panther</b> .....	<b>42</b>
<b>Seznam použité literatury</b> .....	<b>59</b>

### Systém Tigris™ DTS™

<b>Systém Tigris DTS</b> .....	<b>8</b>
Poskytované reagensie a materiály .....	8
Zvlášť dodávaný materiál .....	9
Postup testování na systému Tigris DTS .....	10
Poznámky k postupu .....	12

### Systém Panther™

<b>Systém Panther</b> .....	<b>13</b>
Poskytované reagensie a materiály .....	13
Zvlášť dodávaný materiál .....	14
Provádění testování na systému Panther .....	15
Poznámky k postupu .....	17

## Obecné informace

### Určené použití

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay (Test genotypizace Aptima HPV 16 18/45) je amplifikační test cílové sondy nukleové kyseliny pro *in vitro* kvalitativní detekci E6/E7 virové messengerové RNA (mRNA) vysoce rizikových typů 16, 18 a 45 lidských papillomavirů (HPV) ve vzorcích žen s pozitivními výsledky Aptima HPV Assay (test Aptima HPV). HPV mRNA je detekována v cervikálních cytologických Pap vzorcích v tekutém médiu ve zkumavkách ThinPrep™ obsahujících roztok PreservCyt™ před zpracováním Pap i po něm nebo v odebraných vzorcích pomocí Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit odběrové a transportní soupravy Aptima (souprava Aptima pro odběr a transport cervikálních vzorků). Cervikální vzorky odebrané do konzervačního roztoku SurePath mohou být testovány pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Tento test lze použít k testování vzorků systémem Tigris DTS nebo systémem Panther.

### Souhrn a vysvětlení testu

Rakovina děložního čípku je jedno z nejčastějších nádorových onemocnění žen na světě. HPV je etiologickým původcem odpovědným za více než 99 % všech případů rakoviny děložního čípku.<sup>1,2,3</sup> HPV je častý sexuálně přenosný DNA virus zahrnující více než 100 genotypů.<sup>4</sup>

Virový genom HPV tvoří dvouvláknová kruhová DNA o délce přibližně 7900 párů bází. Genom má osm překrývajících se otevřených čtecích rámců. Existuje zde šest časných (E) genů, dva pozdní geny (L), a jedna nekódující oblast bez translace. Geny L1 a L2 kódují hlavní a vedlejší kapsidové proteiny. Časné geny HPV regulují replikaci viru. Geny E6 a E7 vysoce rizikového HPV genotypu jsou známými onkogeny. Proteiny exprimované z E6/E7 genů polycistronické mRNA pozměňují funkce p53 a retinoblastomového proteinu, což vede k narušení kontrolních bodů buněčného cyklu a k nestabilitě buněčného genomu.<sup>5,6</sup>

Za patogenní nebo vysoce rizikové pro progresi onemocnění děložního čípku se považuje čtrnáct HPV genotypů.<sup>7</sup> Spojitost genotypů 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68 s progresí onemocnění prokázaly četné studie.<sup>2,5,8</sup> Ženy s přetrvávající HPV infekcí jedním z těchto genotypů mají zvýšené riziko rozvoje těžké cervikální dysplazie nebo karcinomu děložního hrdla.<sup>7,9</sup>

Studie ukázaly, že různé typy vysoce rizikových HPV vytvářejí různé úrovně rizika rozvoje těžké dysplazie nebo rakoviny děložního čípku. HPV typy 16, 18 a 45 jsou celosvětově zodpovědné za přibližně 80 % všech invazivních karcinomů děložního čípku.<sup>2,10</sup> Tyto tři typy nacházíme u 75 % všech dlaždicových karcinomů, 85 % většinu tvoří infekce typem 16. HPV typy 16, 18 a 45 nacházíme v 80 – 94 % případů adenokarcinomu, v téměř polovině případů se jedná o genotypy 18 a 45.<sup>2,10</sup> Přítomnost HPV typu 18 v časném stádiu rakoviny děložního čípku je spojována se špatnou prognózou.<sup>11</sup> HPV typy 18 a 45 nacházíme u prekancerózních lézí, jejichž obtížná diagnostikovatelnost je způsobena přítomností okultních lézí děložního hrdla, které jsou nepřístupné kolposkopickému vyšetření.<sup>12</sup> U žen infikovaných HPV typy 16 a/nebo 18 je kumulativní riziko onemocnění děložního čípku 10-krát vyšší v porovnání k riziku rozvoje onemocnění kvůli jiným vysoce rizikovým typům.<sup>13,14,15</sup>

## Principy metody

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay zahrnuje tři hlavní kroky, které se provádí v jedné zkumavce: technologie záchytu cíle; amplifikace cíle pomocí transkripce mediované amplifikace (Transcription-Mediated Amplification TMA);<sup>16</sup> a detekce produktů amplifikace (amplikonu) pomocí testu hybridizační ochrany (Hybridization Protection Assay – HPA).<sup>17</sup> Test zahrnuje vnitřní kontrolu, která monitoruje zachycení nukleové kyseliny, amplifikaci a detekci a rovněž chyby operátora nebo přístroje.

Vzorky se odebírají nebo jsou přeneseny do zkumavky obsahující transportní roztok (Specimen Transport Media – STM), který lyzuje buňky, uvolňuje mRNA a v průběhu uchovávání ji chrání před degradací. Když se provádí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, cílová mRNA je ze vzorku izolována pomocí záchytových oligomerů, které jsou vázány na magnetické mikročástice. Záchytové oligomery obsahují sekvence, které jsou komplementární ke specifickým oblastem HPV mRNA cílových molekul, stejně jako řetězec deoxyadenosinových zbytků. Během hybridizačního kroku se sekvenčně specifické oblasti záchytových oligomerů váží na specifické oblasti cílové molekuly HPV mRNA. Komplex záchytového oligomeru a cíle je poté vychytáván z roztoku snížením teploty reakce na pokojovou teplotu. Toto snížení teploty umožňuje hybridizaci mezi deoxyadenosinovou oblastí na záchytovém oligomeru a polydeoxythymidinovými molekulami, které jsou kovalentně navázány na magnetické částice. Mikročástice, a to včetně zachycených cílových molekul HPV mRNA, které jsou na ně navázány, jsou pomocí magnetů zataženy ke straně reagenční zkumavky a supernatant se odsaje. Částice se promyjí, aby se odstranila reziduální matrice vzorku, která může obsahovat inhibitory amplifikace.

Po dokončení zachycení cíle je HPV mRNA amplifikována pomocí TMA, což je metoda amplifikace nukleové kyseliny založená na transkripci, která využívá dva enzymy, reverzní transkriptázu MMLV a polymerázu T7 RNA. Reverzní transkriptáza se používá k vytvoření kopie DNA sekvence cílové mRNA, obsahující sekvenci promotéru pro polymerázu T7 RNA. Polymeráza T7 RNA produkuje více kopií RNA amplikonu z kopie DNA templátu.

Detekce amplikonu je dosaženo metodou HPA využívající jednořetězcové sondy nukleové kyseliny s chemiluminiscenčními značkami, které jsou komplementární k amplikonu. Značené sondy nukleové kyseliny hybridizují specificky s amplikonem. Selektivní reagenzie rozlišuje hybridizované sondy od nehybridizovaných deaktivací značení na nehybridizovaných sondách. Během detekčního kroku je světlo vyzařované ze značených hybridů RNA-DNA měřeno jako fotonové signály v luminometru a intenzita je označována jako relativní světelné jednotky (Relative Light Units - RLU). Konečné výsledky testu jsou interpretovány na základě poměru signálu analytu k hodnotě cutoff (S/CO).

Ke každé reakci se prostřednictvím reagenzie pro záchyt cíle (Target Capture Reagent - TCR) přidává vnitřní kontrola. Ta monitoruje technologii záchytu cíle, amplifikaci a detekční kroky testu. Dvojitá kinetická analýza (Dual Kinetic Assay - DKA) je metoda používaná k rozlišení HPV signálu a signálu vnitřní kontroly.<sup>18</sup> Vnitřní kontrola a HPV 16 amplikon jsou detekovány sondami s rychlou kinetikou emise světla (flasher). Signál vnitřní kontroly v každé reakci je rozlišován od signálu HPV 16 pomocí velikosti signálu vyzařování světla. Amplikony specifické pro HPV 18 a 45 jsou detekovány pomocí sond s relativně pomalejší kinetikou emise světla (glower).

## Varování a bezpečnostní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*.
- B. Pouze pro odborné použití.
- C. Pro další specifická varování a bezpečnostní opatření v souvislosti s přístrojovým vybavením viz *Příručky obsluhy systémů Tigris DTS* nebo *Panther*.

## V laboratoři

- D. Používejte pouze dodávané nebo jinak specifikované jednorázové laboratorní materiály.
- E. Dodržujte rutinní bezpečnostní opatření pro práci v laboratoři. V laboratoři nejezte, nepijte ani nekuřte. Při manipulaci se vzorky a reagensy nosíte jednorázové rukavice bez talku, používejte ochranu očí a laboratorní pláště. Po manipulaci se vzorky a reagensy soupravy si důkladně umyjte ruce.
- F. **Varování: Dráždivé látky a žíraviny:** Zamezte styku reagentie Auto Detect 2 s kůží, očima a sliznicemi. Pokud se tato kapalina dostane do styku s kůží nebo očima, omyjte postiženou oblast vodou. Dojde-li k rozliti této kapaliny, zředte rozlitou kapalinu vodou a pak ji vytřete dosucha.
- G. Pracovní povrchy, pipety a jiné vybavení musí být pravidelně dekontaminováno pomocí 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztoku chlomanu sodného. Další informace viz příslušná příbalová informace *Postup testování na systému Tigris DTS* nebo *Provádění testování na systému Panther*.



## Vzorek

- H. Pro zajištění integrity vzorku udržujte správné teplotní podmínky při přepravě vzorků a skladování. Stabilita vzorku nebyla hodnocena za jiných než doporučených přepravních a skladovacích podmínek.
- I. Exspirace uvedené na soupravách pro odběr/přenos vzorků se týkají místa přenosu a nikoliv testovacího zařízení. Vzorky odebrané/přenesené před těmito daty expirace jsou validní pro testování za předpokladu, že byly přepravovány a skladovány v souladu s příslušnou příbalovou informací, a to i když je po datu této expirace.
- J. Vzorky mohou být infekční. Při provádění tohoto testu dodržujte univerzální bezpečnostní opatření. Je třeba, aby ředitel laboratoře stanovil správné postupy manipulace s jednorázovým materiálem a postupy jeho likvidace. Tuto proceduru by měl provádět pouze personál adekvátně vyškolený v manipulaci s infekčními materiály.
- K. Zabraňte zkřížené kontaminaci během manipulace se vzorkem. Ujistěte se, že kontejnery se vzorky nejsou ve vzájemném kontaktu a použité materiály vyhodte, aniž byste je přenášeli nad otevřenými kontejnery. Dojde-li ke kontaktu se vzorkem, vyměňte si rukavice.
- L. Za určitých podmínek může z propíchnutých uzávěrů zkumavek unikat kapalina. Další informace viz příslušná příbalová informace *Postup testování na systému Tigris DTS* nebo *Provádění testování na systému Panther*.
- M. ThinPrep cytologické vzorky na bázi tekutého média a vzorky odebrané systémem Aptima by měly být odmítnuty, jestliže odběrová souprava byla ponechána ve zkumavce.
- N. SurePath cytologické vzorky by měly být odmítnuty, jestliže v lahvičce není přítomna odběrová souprava.

**Test**

- O. Reagencie skladujte při uvedených teplotách. Provedení testu může být ovlivněno použitím nesprávně skladovaných reagentů.
- P. Zabraňte mikrobiální a ribonukleázové kontaminaci reagentů.
- Q. Nepoužívejte soupravu poté, co uplynula její doba použitelnosti.
- R. Nezaměňujte, nemíchejte ani nekombinujte reagenty testu nebo kalibrátory souprav s různými čísly šarží.
- S. Roztoky testu Aptima, konzervační roztoky systému Aptima (pouze systém Tigris DTS) a reagenty Auto Detect nejsou součástí hlavní šarže; může být použita kterákoli šarže.
- T. Důkladné promísení reagentů je nezbytné pro dosažení přesných výsledků testu.
- U. Je nutné používat špičky s hydrofobními zátkami.
- V. Některé reagenty v této soupravě jsou označeny symboly rizik a symboly bezpečnosti.

**Poznámka:** Informace o nebezpečnosti odpovídají klasifikaci EU v bezpečnostních listech (SDS). Informace o nebezpečnosti, které jsou specifické pro váš region, naleznete v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) specifických pro oblasti (SDS) na [www.hologicds.com](http://www.hologicds.com).

<b>Informace EU o nebezpečnosti</b>	
	<p><b>Selektivní reagenty</b>  <b>BORIC ACID 1 – 5 %</b>            Hydroxid sodný &lt; 1 %  <b>VAROVÁNÍ</b>            H315 – Dráždí kůži            H319 – Způsobuje vážné podráždění očí</p>
	<p><b>Reagenty pro záchyt cíle</b>  <b>EDTA 1 – 5 %</b>            H411 – Toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky            P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí            P280 – Používejte ochranné brýle/obličejový štít</p>

**Skladování reagentů a požadavky na manipulaci**

Nepoužívejte reagenty po datu expirace uvedeném na lahvíčkách. Další instrukce pro skladování viz níže.

- A. Následující reagenty se po přijetí uchovávají v chladničce při teplotě 2 °C až 8 °C:
  - HPV 16 18/45 Amplifikační reagenty
  - HPV 16 18/45 Enzymová reagenty
  - HPV 16 18/45 Reagenty sondy
  - HPV 16 18/45 Reagenty vnitřní kontroly
  - HPV 16 18/45 Pozitivní kalibrátory a HPV 16 18/45 Negativní kalibrátory
- B. Následující reagenty se uchovávají při pokojové teplotě 15 °C až 30 °C:
  - HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro amplifikaci
  - HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro enzymy

- HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro sondy
  - HPV 16 18/45 Reagencie pro záchyt cíle
  - HPV 16 18/45 Selekční reagencie
  - Promývací roztok
  - Olejová reagencie
  - Deaktivací pufr
  - Reagencie Auto Detect 1
  - Reagencie Auto Detect 2
  - Konzervační roztok systému Aptima (pouze pro systém Tigris DTS)
- C. Po rekonstituci jsou následující reagencie stabilní po dobu 30 dnů, pokud jsou uchovávány při teplotě 2 °C až 8 °C:
- HPV 16 18/45 Amplifikační reagencie
  - HPV 16 18/45 Enzymová reagencie
  - HPV 16 18/45 Reagencie sondy
- D. Pracovní reagencie záchytu cíle (wTCR) je stabilní po dobu 30 dnů, pokud je uchovávána při teplotě 15 °C až 30 °C. Chraňte před chladem.
- E. Jakékoli nepoužité rekonstituované reagencie a wTCR zlikvidujte po 30 dnech nebo po uplynutí expirace hlavní šarže, podle toho, co nastane dříve.
- F. Reagencie Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay jsou stabilní po úhrnnou dobu 48 hodin, pokud jsou uchovávány uvnitř systému Tigris DTS.
- G. Reagencie Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay jsou stabilní po úhrnnou dobu 72 hodin, pokud jsou uchovávány uvnitř systému Panther.
- H. Reagencie sondy i rekonstituované reagencie sondy jsou fotosenzitivní. Skladujte reagencie tak, aby byly chráněny před světlem.
- I. Reagencie nezmrazujte.

## Odběr a uchovávání vzorků

### A. Odběr a zpracování vzorků

#### *ThinPrep cytologické vzorky na bázi tekutého média*

1. Odeberte vzorky z děložního čípku do ThinPrep Pap testovacích lahvíček obsahujících roztok PreservCyt s pomocí odběrového kartáčku typu cytobrush podle pokynů výrobce.
2. Před nebo po zpracování pomocí systému ThinPrep 2000, ThinPrep 3000, ThinPrep 5000 Processor, ThinPrep 5000 Processor se systémem Autoloader nebo ThinPrep Genesis Processor přeneste 1 ml ThinPrep cytologického vzorku na bázi tekutého média do transferové zkumavky na vzorek Aptima podle příslušné příbalové informace.

#### *SurePath cytologické vzorky na bázi tekutého média*

1. Odeberte SurePath cytologické vzorky na bázi tekutého média podle návodu k použití k SurePath Pap testu a/nebo k systému PrepStain.
2. Přeneste SurePath cytologický vzorek na bázi tekutého média do transferové zkumavky na vzorek Aptima podle příslušné příbalové informace.

*Vzorky z Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit*

Odeberte vzorky podle návodu na použití příslušné soupravy.

## B. Přeprava a uchovávání před testováním

*ThinPrep cytologické vzorky na bázi tekutého média*

1. ThinPrep cytologické vzorky přepravujte při teplotě 2 °C až 30 °C.
2. Vzorky by měly být přeneseny do transferové zkumavky na vzorek Aptima do 105 dnů od odběru.
3. ThinPrep cytologické vzorky by měly být před přenesením uchovávány při teplotě 2 °C až 30 °C, zároveň ne více než 30 dní při teplotě vyšší než 8 °C.
4. ThinPrep cytologické vzorky přenesené do transferových zkumavek na vzorek Aptima je možné uchovávat při teplotě 2 °C až 30 °C po dobu až 60 dnů.
5. Je-li potřeba delšího uchovávání, ThinPrep cytologické vzorky nebo ThinPrep cytologické vzorky ředěné v transferové zkumavce na vzorek je možné uchovávat při teplotě -20 °C až -70 °C po dobu až 24 měsíců.

*SurePath cytologické vzorky na bázi tekutého média*

1. SurePath cytologické vzorky přepravujte při teplotě 2 °C až 25 °C.
2. Vzorky by měly být přeneseny do transferové zkumavky na vzorek Aptima do 7 dnů od odběru.
3. SurePath cytologické vzorky by měly být před přenosem uchovávány při teplotě 2 °C až 25 °C.
4. SurePath cytologické vzorky přenesené do transferových zkumavek na vzorek Aptima je možné uchovávat při teplotě 2 °C až 25 °C po dobu až 7 dnů.
5. Přenesené SurePath cytologické vzorky musí být před testováním Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ošetřeny transferovým roztokem Aptima. Takto ošetřené vzorky je možné před testováním pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay uchovávat při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 17 dnů. Další podrobnosti viz příbalová informace k příslušné soupravě.

*Vzorky z Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit*

1. Vzorky přepravujte a uchovávejte při teplotě 2 °C až 30 °C po dobu až 60 dnů.
2. Je-li potřeba delšího uchovávání, vzorky v transportní soupravě je možné uchovávat při teplotě -20 °C až -70 °C po dobu až 24 měsíců.

## C. Uchovávání vzorků po testování

1. Vzorky, které byly testované, musí být uloženy ve stojanu ve svislé poloze.
2. Zkumavky se vzorky by měly být zakryty novým čistým plastovým uzávěrem nebo fólií.
3. Pokud je třeba testované vzorky zmrazit nebo přepravovat, odstraňte ze zkumavek propichovací uzávěr a nahradte ho novým nepropichovacím uzávěrem. Pokud je třeba vzorky odeslat na testování do jiného zařízení, musí být dodržovány specifikované teplotní podmínky. Před otevřením dříve testovaných a znova uzavřených vzorků musí být zkumavky centrifugovány po dobu 5 minut při 420 Relativní odstředivé síly (RCF), aby se veškerá kapalina dostala na dno zkumavky.

**Poznámka:** Vzorky musí být přepravovány v souladu s platnými místními, národními a mezinárodními předpisy dopravy.

## Systém Tigris DTS

### Poskytované reagenzie a materiály

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Kit**, 100 testů (3 krabice) kat. č. 303234

Kalibrátory lze zakoupit samostatně. Jednotlivá katalogová čísla viz níže.

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay chlazený box**  
(po převzetí uchovávejte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Složka	Množství
<b>A</b>	<b>HPV 16 18/45 Amplifikační reagenzie</b> <i>Neinfekční nukleové kyseliny sušené v pufrovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
<b>E</b>	<b>HPV 16 18/45 Enzymová reagenzie</b> <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza sušená v roztoku pufrovaném HEPES obsahujícím &lt; 10 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
<b>P</b>	<b>HPV 16 18/45 Reagenzie sondy</b> <i>Neinfekční chemiluminiscenční DNA sondy (&lt; 500 ng/lahvička) sušené v sukcinátem pufrovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % detergentu.</i>	1 lahvička
<b>IC</b>	<b>HPV 16 18/45 Reagenzie vnitřní kontroly</b> <i>Neinfekční RNA transkript v pufrovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % detergentu.</i>	1 lahvička

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay box s pokojovou teplotou**  
(po převzetí uchovávejte při teplotě 15 °C až 30 °C)

Symbol	Složka	Množství
<b>AR</b>	<b>HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro amplifikaci</b> <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 lahvička
<b>ER</b>	<b>HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro enzymy</b> <i>Roztok pufrovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 lahvička
<b>PR</b>	<b>HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro sondy</b> <i>Sukcinátem pufrovaný roztok obsahující &lt; 5 % detergentu.</i>	1 lahvička
<b>S</b>	<b>HPV 16 18/45 Selekční reagenzie</b> <i>600 mM boritanem pufrovaný roztok obsahující surfaktant.</i>	1 lahvička
<b>TCR</b>	<b>HPV 16 18/45 Reagenzie pro záchyt cíle</b> <i>Neinfekční nukleová kyselina v pufrovaném roztoku, který obsahuje pevnou fázi (&lt; 0,5 mg/ml).</i>	1 lahvička
	<b>Rekonstituční objímky</b>	3
	<b>List s čárovým kódem hlavní šarže</b>	1 list



**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay box s kalibrátory (Kat. č. 303235)**  
(po převzetí uchovávejte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Složka	Množství
PCAL1	<b>HPV 16 18/45 Pozitivní Kalibrátor 1</b> <i>Neinfekční HPV 18 in vitro transkript v koncentraci 750 kopií na ml v pufrovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % detergentu.</i>	5 lahviček
PCAL2	<b>HPV 16 18/45 Pozitivní Kalibrátor 2</b> <i>Neinfekční HPV 16 in vitro transkript v koncentraci 1 000 kopií na ml v pufrovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % detergentu.</i>	5 lahviček
NCAL	<b>HPV 16 18/45 Negativní Kalibrátor</b> <i>Pufrovaný roztok obsahující &lt; 5 % detergentu.</i>	5 lahviček

### Zvlášť dodávaný materiál

**Poznámka:** Není-li uvedeno jinak, zboží dodávané firmou Hologic má uvedeno katalogové číslo.

	<u>Kat. č.</u>
Systém Tigris DTS	105118
Tigris DTS System Run Kit (Instalační souprava Tigris DTS)	301191
<i>Vícezkumavková jednotka (MTU)</i>	104772-02
<i>MTU odpadní pytel</i>	900907
<i>Deflektory pro odpadní MTU</i>	900931
<i>Kryty pro odpadní MTU</i>	105523
Aptima Assay Fluids Kit (Souprava kapalin pro test Aptima)	302382
<i>(Promývací roztok Aptima, Pufr na deaktivaci kapalin Aptima a Olejová reagencie Aptima)</i>	
Aptima Auto Detect Kit (Autodetekční souprava Aptima)	301048
Aptima System Fluid Preservative Kit (Souprava kapalin pro test Aptima)	302380
Špičky, 1 000 µl, vodivé, detekující kapaliny	10612513 (Tecan)
Aptima Specimen Transfer Kit (Souprava Aptima pro přenos vzorků)	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit (Souprava Aptima pro přenos vzorků) – tisknutelné	PRD-05110
Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit	302657
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Výměnné nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní uzávěry pro soupravy 100 testů:	
<i>Rekonstituční roztoky pro Amplifikační reagentii a Reagentii sondy</i>	CL0041
<i>Rekonstituční roztok pro enzymatickou reagentii</i>	CL0041
<i>TCR a selekční reagentie</i>	501604
Bělidlo, minimálně 5 % nebo 0,7 M roztok chlornanu sodného	—
Voda pro systém Tigris DTS	—
<i>specifikace naleznete v Příručce obsluhy systému Tigris DTS</i>	
Jednorázové rukavice	—
Aptima Transfer Solution kit (Souprava transportního roztoku) (pouze pro vzorky SurePath)	303658

### Volitelné materiály

	<u>Kat. č.</u>
Zvýrazňovač bělení pro čištění	302101

## Postup testování na systému Tigris DTS

**Poznámka:** Další informace o postupu testování naleznete v Příručce obsluhy systému Tigris DTS.

### A. Příprava pracovní plochy

Očistěte pracovní povrchy, kde budou připravovány reagentie. Otřete pracovní plochy a pipety 2,5 % – 3,5 % (0,35 M – 0,5 M) roztokem chlornanu sodného. Nechte chlornan sodný působit alespoň 1 minutu, potom povrchy a pipety opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte povrchy stolů, na kterých budou připravovány reagentie, čistým laboratorním absorpčním ubrusem podloženým plastem.

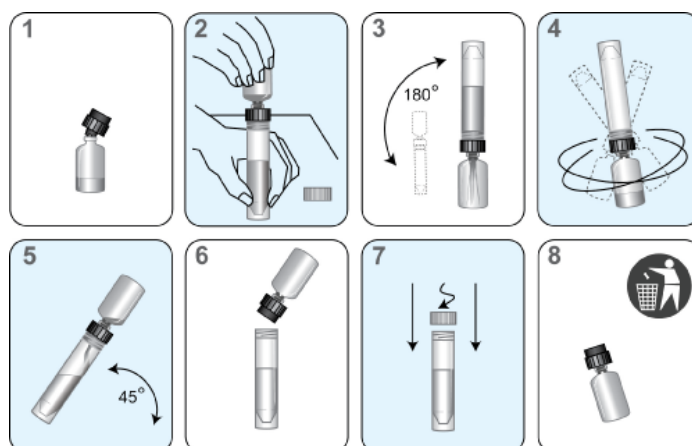
### B. Příprava reagentií nové soupravy

**Poznámka:** Rekonstituce reagentie by měla být provedena před zahájením jakékoli práce na systému Tigris DTS.

1. K rekonstituci reagentií amplifikace, enzymu a reagentie sondy smíchejte obsah lahvičky s lyofilizovanou reagentií a rekonstituční roztok. V případě, že rekonstituované roztoky byly uloženy v chladničce, nechte je před použitím dosáhnout pokojové teploty.
  - a. Každý rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lahvičkou s lyofilizovanou reagentií.
  - b. Ověřte čísla na listu s čárovým kódem hlavní šarže a ujistěte se, že jsou spárovány odpovídající reagentie.
  - c. Otevřete skleněnou lahvičku s lyofilizovanou reagentií a do jejího ústí jemně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky (Obrázek 1, Krok 1).
  - d. Otevřete odpovídající rekonstituční roztok a uzávěr položte na čistý zakrytý pracovní povrch.
  - e. Zatímco lahvičku s roztokem přidržujete na stole, do jejího ústí jemně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky (Obrázek 1, Krok 2).
  - f. Spojené lahvičky pomalu obraťte. Počkejte, až roztok z lahvičky přeteče do skleněné lahvičky (Obrázek 1, Krok 3).
  - g. Roztok v lahvičce krouživými pohyby dobře promíchejte. Při promíchávání roztoků zabraňte tvorbě pěny (Obrázek 1, Krok 4).
  - h. Počkejte, až se lyofilizovaná reagentie zcela rozpustí, obraťte spojené lahvičky zpět, nakloňte je vzájemně pod úhlem 45°, aby nedocházelo k tvorbě pěny (Obrázek 1, Krok 5). Počkejte, až roztok přeteče zpět do plastové lahvičky.
  - i. Sejměte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 1, Krok 6).
  - j. Plastovou lahvičku znovu uzavřete. Na štítku poznamenejte iniciály obsluhy a datum rekonstituce (Obrázek 1, Krok 7).
  - k. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (Obrázek 1, Krok 8).

**Varování:** Při rekonstituci reagentií zabraňte tvorbě pěny. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Tigris DTS.

**Poznámka:** Před založením do systému lahvičky amplifikační reagentie, enzymové reagentie, reagentie sondy a selekční reagentie jemným převrácením důkladně promíchejte. Při převrácení lahviček s reagentiemi zabraňte tvorbě pěny.



**Obrázek 1. Postup rekonstituce na systému Tigris DTS**

2. Příprava pracovní reagensie záchytu cíle (wTCR):
  - a. Spárujte odpovídající lahvičky TCR a IC.
  - b. Ověřte čísla šarží reagensií na listu s čárovým kódem hlavní šarže a ujistěte se, že jsou spárovány odpovídající reagensie.
  - c. Otevřete lahvičku TCR a uzávěr položte na čistý zakrytý pracovní povrch.
  - d. Otevřete lahvičku IC a celý její obsah přelijte do lahvičky TCR. Dá se očekávat, že v IC lahvičce zůstane trocha tekutiny.
  - e. Uzavřete lahvičku s TCR a krouživými pohyby jemně promíchejte její obsah. Během tohoto kroku zabraňte tvorbě pěny.
  - f. Na štítku poznamenejte iniciály obsluhy a aktuální datum.
  - g. Zlikvidujte IC lahvičku a uzávěr.
  - h. V lahvičce s wTCR mohou vzniknout precipitáty, které mohou způsobit neplatné výsledky kvůli chybám ověření objemu reagensie. Precipitáty mohou být rozpuštěny zahřátím wTCR na teplotě 42 °C – 60 °C po dobu až 90 minut. Před použitím wTCR temperujte na pokojovou teplotu. Nepoužívejte jej, jestliže obsahuje precipitáty.
3. Příprava selekční reagensie
  - a. Ověřte čísla šarží reagensií na listu s čárovým kódem hlavní šarže a ujistěte se, že patří k této soupravě.
  - b. Jestliže se v selekční reagensii vytvářejí precipitáty, zahřívějte ji na teplotu 60 °C ± 1 °C po dobu až 45 minut, aby se usnadnilo jejich rozpuštění. Každých 5 – 10 minut lahvičku jemně promíchejte. Před použitím selekční reagensie ji temperujte na pokojovou teplotu. Nepoužívejte ji, jestliže obsahuje zákal nebo precipitáty.

**Poznámka:** Před založením do systému lahvičky všech reagensií důkladně promíchejte jemným převrácením. Při převrácení lahviček s reagensiemi zabraňte tvorbě pěny.

#### C. Příprava předem rekonstituovaných reagensií

1. Před zahájením testování musí předem rekonstituované amplifikační reagensie, enzymové reagensie a reagensie sondy dosáhnout pokojové teploty (15 °C až 30 °C).
2. Jestliže reagensie sondy obsahuje precipitáty, které se nerozpouštějí při pokojové teplotě, tak ji na 1 až 2 minuty zahřejte na teplotu nepřekračující 60 °C. Nepoužívejte ji, jestliže obsahuje zákal nebo precipitáty.

3. Jestliže wTCR obsahuje precipitáty, zahřívajte jej při teplotě 42 °C – 60 °C po dobu až 90 minut. Před použitím wTCR temperujte na pokojovou teplotu. Nepoužívejte jej, jestliže obsahuje precipitáty.
4. Jestliže se v selekční reagentii vytvářejí precipitáty, zahřívajte ji na teplotu 60 °C ± 1 °C po dobu až 45 minut, aby se usnadnilo jejich rozpuštění. Každých 5 – 10 minut lahvičku jemně promíchejte. Před použitím selekční reagentie ji temperujte na pokojovou teplotu. Nepoužívejte ji, jestliže obsahuje zákal nebo precipitáty.
5. Před založením do systému lahvičky všech reagentií důkladně promíchejte jemným převrácením. Při převrácení lahviček s reagentiemi zabraňte tvorbě pěny.
6. Lahvičky s reagentiemi nedoplňujte. Systém Tigris DTS rozpozná lahvičky, které byly doplněny, a zamítne je.

#### D. Manipulace se vzorky

1. Před zpracováním kalibrátory a vzorky temperujte na pokojovou teplotu.
2. **Vzorky neprotřepávejte ve vortexové třepačce.**
3. Zkumavky se vzorky před vložením do stojanu prohlédněte. Jestliže vzorek ve zkumavce obsahuje bubliny nebo je menšího objemu, centrifugujte zkumavku 5 minut při 420 RCF, abyste se ujistili, že v uzávěru nezůstala žádná tekutina.

**Poznámka:** Nedodržení pokynů v Kroku 3 může způsobit únik tekutin z uzávěru zkumavky.

#### E. Příprava systému

Systém a pracovní list sestavte podle instrukcí v Příručce obsluhy systému Tigris DTS a v části *Poznámky k postupu* níže.

### Poznámky k postupu

#### A. Kalibrátory

1. Každý pracovní list musí obsahovat 2 kopie negativního kalibrátoru a oba pozitivní kalibrátory. Pro dodržení řádného postupu vyšetřování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay musí být negativní kalibrátor na první pozici prvního stojanu pracovního listu, pozitivní kalibrátor 1 musí být na druhé pozici prvního stojanu pracovního listu a pozitivní kalibrátor 2 musí být na třetí pozici prvního stojanu pracovního listu.
2. Snaha napipetovat více než 2 replikáty ze zkumavky s kalibrátorem může kvůli nedostatečnému objemu vést k chybám.
3. Kalibrátory se použijí s reagentiemi, které odpovídají hlavní šarži. Obsluha musí zkontrolovat, že kalibrátory mají odpovídající číslo šarže korespondující s hlavní šarží reagentií soupravy tak, jak je uvedeno v listu s čárovým kódem hlavní šarže. Při dodatečném objednávání kalibrátorů by mělo být požadováno odpovídající číslo šarže.

#### B. Teplota

Pokojevá teplota je definována jako teplota 15 °C – 30 °C.

#### C. Talek v rukavicích

Podobně jako u jiných reagentií, nadbytek talku v některých rukavicích může kontaminovat vzorky v otevřených zkumavkách. Jsou doporučovány rukavice bez talku.

## Systém Panther

## Poskytované reagensie a materiály

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay**, 100 testů (3 krabice) kat. č. 303236

Kalibrátory lze zakoupit samostatně. Jednotlivá katalogová čísla viz níže.

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay chlazený box**  
(po převzetí uchovávejte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Složka	Množství
<b>A</b>	<b>HPV 16 18/45 Amplifikační reagensie</b> <i>Neinfekční nukleové kyseliny sušené v pufrovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
<b>E</b>	<b>HPV 16 18/45 Enzymová reagensie</b> <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza sušená v roztoku pufrovaném HEPES obsahujícím &lt; 10 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
<b>P</b>	<b>HPV 16 18/45 Reagensie sondy</b> <i>Neinfekční chemiluminiscenční DNA sondy (&lt; 500 ng/lahvička) sušené v sukcinátem pufrovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % detergentu.</i>	1 lahvička
<b>IC</b>	<b>HPV 16 18/45 Reagensie vnitřní kontroly</b> <i>Neinfekční RNA transkript v pufrovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % detergentu.</i>	1 lahvička

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay box s pokojovou teplotou**  
(po převzetí uchovávejte při teplotě 15 °C až 30 °C)

Symbol	Složka	Množství
<b>AR</b>	<b>HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro amplifikaci</b> <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 lahvička
<b>ER</b>	<b>HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro enzymy</b> <i>Roztok pufrovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 lahvička
<b>PR</b>	<b>HPV 16 18/45 Rekonstituční roztok pro sondy</b> <i>Sukcinátem pufrovaný roztok obsahující &lt; 5 % detergentu.</i>	1 lahvička
<b>S</b>	<b>HPV 16 18/45 Selekční reagensie</b> <i>600 mM boritanem pufrovaný roztok obsahující surfaktant.</i>	1 lahvička
<b>TCR</b>	<b>HPV 16 18/45 Reagensie pro záchyt cíle</b> <i>Neinfekční nukleová kyselina v pufrovaném roztoku, který obsahuje pevnou fázi (&lt; 0,5 mg/ml).</i>	1 lahvička
	<b>Rekonstituční objímky</b>	3
	<b>List s čárovým kódem hlavní šarže</b>	1 list

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay box s kalibrátory (Kat. č. 303235)**  
(po převzetí uchovávejte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Složka	Množství
PCAL1	<b>HPV 16 18/45 Pozitivní kalibrátor 1</b> <i>Neinfekční HPV 18 in vitro transkript v koncentraci 750 kopií na ml v pufovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % detergentu.</i>	5 lahviček
PCAL2	<b>HPV 16 18/45 Pozitivní kalibrátor 2</b> <i>Neinfekční HPV 16 in vitro transkript v koncentraci 1 000 kopií na ml v pufovaném roztoku obsahujícím &lt; 5 % detergentu.</i>	5 lahviček
NCAL	<b>HPV 16 18/45 Negativní kalibrátor</b> <i>Pufrovaný roztok obsahující &lt; 5 % detergentu.</i>	5 lahviček

### Zvlášť dodávaný materiál

**Poznámka:** *Není-li uvedeno jinak, zboží dodávané firmou Hologic má uvedeno katalogové číslo.*

	<u>Kat. č.</u>
Systém Panther	303095
Instalační souprava Panther	303096
<i>Souprava kapalin pro test Aptima</i>	303014
<i>(Promývací roztok Aptima, Pufr na deaktivaci kapalin Aptima a Olejová reagensie Aptima)</i>	
<i>Souprava APTIMA Auto Detect</i>	303013
<i>Vícezkumavková jednotka (MTU)</i>	104772-02
<i>Souprava odpadního pytle Panther</i>	902731
<i>Kryt odpadní nádoby Panther</i>	504405
Špičky, 1 000 µl, vodivé, detekující kapaliny	10612513 (Tecan)
Aptima Specimen Transfer Kit	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit (Souprava Aptima pro přenos vzorků) – tisknutelné	PRD-05110
Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit	302657
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Výměnné nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní uzávěry pro soupravy 100 testů:	
<i>Rekonstituční roztoky pro Amplifikační reagensii a Reagensii sondy</i>	CL0041
<i>Rekonstituční roztok pro enzymatickou reagensii</i>	CL0041
<i>TCR a selekční reagensie</i>	501604
Bělidlo, minimálně 5 % nebo 0,7 M roztok chlornanu sodného	—
Jednorázové rukavice	—
Aptima Transfer Solution kit (pouze pro vzorky SurePath)	303658

### Volitelné materiály

	<u>Kat. č.</u>
Zvýrazňovač bělení pro čištění	302101

## Provádění testování na systému Panther

**Poznámka:** Další informace o postupu testování naleznete v Příručce obsluhy systému Panther.

### A. Příprava pracovní plochy

Očistěte pracovní povrchy, kde budou připravovány reagensy a vzorky. Otřete pracovní plochy 2,5 % - 3,5 % (0,35 M - 0,5 M) roztokem chlornanu sodného. Nechte chlornan sodný působit alespoň 1 minutu, potom povrchy opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte povrchy stolů, na kterých budou připravovány reagensy a vzorky, čistým laboratorním absorpčním ubrusem podloženým plastem.

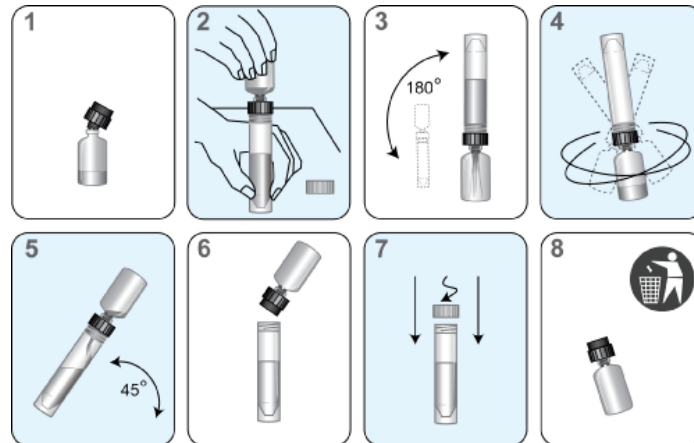
### B. Příprava reagensů nové soupravy

**Poznámka:** Rekonstituce reagensů by měla být provedena před zahájením jakékoli práce na systému Panther.

1. K rekonstituci reagensů amplifikace, enzymu a reagensů sondy smíchejte obsah lahvičky s lyofilizovanou reagensy a rekonstituční roztok. V případě, že rekonstituované roztoky byly uloženy v chladničce, nechte je před použitím dosáhnout pokojové teploty.
  - a. Každý rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lahvičkou s lyofilizovanou reagensy. Před připojením rekonstituční objímky se ujistěte, že rekonstituční roztoky a reagensy mají shodné barvy štítků.
  - b. Ověřte čísla na listu s čárovým kódem hlavní šarže a ujistěte se, že jsou spárovány odpovídající reagensy.
  - c. Otevřete skleněnou lahvičku s lyofilizovanou reagensy a do jejího ústí jemně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky (Obrázek 2, Krok 1).
  - d. Otevřete odpovídající rekonstituční roztok a uzávěr položte na čistý zakrytý pracovní povrch.
  - e. Zatímco lahvičku s roztokem přidržujete na stole, do jejího ústí jemně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky (Obrázek 2, Krok 2).
  - f. Spojené lahvičky pomalu obraťte. Počkejte, až roztok z lahvičky přeteče do skleněné lahvičky (Obrázek 2, Krok 3).
  - g. Roztok v lahvičce krouživými pohyby dobře promíchejte. Při promíchávání roztoků zabraňte tvorbě pěny (Obrázek 2, Krok 4).
  - h. Počkejte, až se lyofilizovaná reagensy zcela rozpustí, obraťte spojené lahvičky zpět, nakloňte je vzájemně pod úhlem 45°, aby nedocházelo k tvorbě pěny (Obrázek 2, Krok 5). Počkejte, až roztok přeteče zpět do plastové lahvičky.
  - i. Sejměte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 2, Krok 6).
  - j. Plastovou lahvičku znovu uzavřete. Na štítku poznamenejte iniciály obsluhy a datum rekonstituce (Obrázek 2, Krok 7).
  - k. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (Obrázek 2, Krok 8).

**Varování:** Při rekonstituci reagensů zabraňte tvorbě pěny. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.

**Poznámka:** Před založením do systému lahvičky amplifikační reagensy, enzymové reagensy, reagensy sondy a selekční reagensy jemným převrácením důkladně promíchejte. Při převrácení lahviček s reagensy zabraňte tvorbě pěny.



Obrázek 2. Rekonstituce v systému Panther

2. Příprava pracovní reagentie záchytu cíle (wTCR):
  - a. Spárujte odpovídající lahvičky TCR a IC.
  - b. Ověřte čísla šarží reagentií na listu s čárovým kódem hlavní šarže a ujistěte se, že jsou v soupravě spárovány odpovídající reagentie.
  - c. Otevřete lahvičku TCR a uzávěr položte na čistý zakrytý pracovní povrch.
  - d. Otevřete lahvičku IC a celý její obsah přelijte do lahvičky TCR. Dá se očekávat, že v IC lahvičce zůstane trocha tekutiny.
  - e. Uzavřete lahvičku s TCR a krouživými pohyby jemně promíchejte její obsah. Během tohoto kroku zabraňte tvorbě pěny.
  - f. Na štítku poznamenejte iniciály obsluhy a aktuální datum.
  - g. Zlikvidujte IC lahvičku a uzávěr.
  - h. V lahvičce s wTCR mohou vzniknout precipitáty, které mohou způsobit neplatné výsledky kvůli chybám ověření objemu reagentie. Precipitáty mohou být rozpuštěny zahřátím wTCR při teplotě 42 °C – 60 °C po dobu až 90 minut. Před použitím wTCR temperujte na pokojovou teplotu. Nepoužívejte jej, jestliže obsahuje precipitáty.
3. Příprava selekční reagentie
  - a. Ověřte čísla šarží reagentií na listu s čárovým kódem hlavní šarže a ujistěte se, že patří k této soupravě.
  - b. Jestliže se v selekční reagentii vytvářejí precipitáty, zahřívějte ji na teplotu 60 °C ± 1 °C po dobu až 45 minut, aby se usnadnilo jejich rozpuštění. Každých 5 – 10 minut lahvičku jemně promíchejte. Před použitím selekční reagentie ji temperujte na pokojovou teplotu. Nepoužívejte ji, jestliže obsahuje zákal nebo precipitáty.

**Poznámka:** Před založením do systému lahvičky všech reagentií důkladně promíchejte jemným převrácením. Při převrácení lahviček s reagentiemi zabraňte tvorbě pěny.

C. Příprava předem rekonstituovaných reagentií

1. Před zahájením testování musí předem rekonstituované amplifikační reagentie, enzymové reagentie a reagentie sondy dosáhnout pokojové teploty (15 °C až 30 °C).
2. Jestliže reagentie sondy obsahuje precipitáty, které se nerozpouštějí při pokojové teplotě, tak ji na 1 až 2 minuty zahřejte na teplotu nepřekračující 60 °C. Nepoužívejte ji, jestliže obsahuje zákal nebo precipitáty.



3. Jestliže wTCR obsahuje precipitáty, zahřívajte jej při teplotě 42 °C – 60 °C po dobu až 90 minut. Před použitím wTCR temperujte na pokojovou teplotu. Nepoužívejte jej, jestliže obsahuje precipitáty.
4. Jestliže se v selekční reagenii vytvářejí precipitáty, zahřívajte ji na teplotu 60 °C ± 1 °C po dobu až 45 minut, aby se usnadnilo jejich rozpuštění. Každých 5 – 10 minut lahvičku jemně promíchejte. Před použitím selekční reagenie ji temperujte na pokojovou teplotu. Nepoužívejte ji, jestliže obsahuje zákal nebo precipitáty.
5. Před založením do systému důkladně jemným převrácením promíchejte lahvičky všech reagenií. Při převrácení lahviček s reageniemi zabraňte tvorbě pěny.
6. Lahvičky s reageniemi nedoplňujte. Systém Panther rozpozná lahvičky, které byly doplněny, a zamítne je.

#### D. Manipulace se vzorky

1. Před zpracováním nechte vzorky (kalibrátory, vzorky a všechny vzorky externí kontroly kvality poskytnuté uživatelem) dosáhnout pokojové teploty.
2. **Vzorky neprotřepávejte ve vortexové třepačce.**
3. Před vložením do stojanu zkumavky se vzorky prohlédněte. Jestliže vzorek ve zkumavce obsahuje bubliny nebo je menšího objemu, centrifugujte zkumavku 5 minut při 420 RCF, abyste se ujistili, že v uzávěru nezůstala žádná tekutina.

**Poznámka:** Nedodržení pokynů v Kroku 3 může způsobit únik tekutin z uzávěru zkumavky.

#### E. Příprava systému

Systém a pracovní list sestavte podle instrukcí v *Příručce obsluhy systému Panther* a v části *Poznámky k metodě* níže. Ujistěte se, že používáte reagenční stojany a TCR adaptéry odpovídající velikosti.

## Poznámky k postupu

#### A. Kalibrátory

1. Aby byl dodržen řádný postup vyšetřování Aptima HPV 16 18/45 genotype Assay systémem Panther, jsou vyžadovány 2 replikáty negativního kalibrátoru a všechny replikáty pozitivních kalibrátorů. Lahvička každého z kalibrátorů se založí do kterékoli pozice ve stojanu vzorků v systému Panther. Pipetování vzorků započne, jakmile bude splněna jedna z následujících dvou podmínek:
  - a. Systém Panther momentálně zpracovává pozitivní a negativní kalibrátory.
  - b. V systému jsou zaregistrovány platné výsledky sady kalibrátorů.
2. Od okamžiku, kdy je napipetován roztok ze zkumavky kalibrátorů a je použit pro specifickou soupravu reagenií, může být prováděno testování příslušnou soupravou reagenií až po dobu 24 hodin, pokud:
  - a. Kalibrátory nejsou neplatné.
  - b. Příslušná souprava reagenií analýzy je vyjmuta ze systému Panther.
  - c. Uplynula doba stability příslušné soupravy reagenií analýzy.
3. Snaha napipetovat více než 2 replikáty ze zkumavky s kalibrátorem může kvůli nedostatečnému objemu vést k chybám.

#### B. Teplota

Pokojová teplota je definována jako teplota 15 °C – 30 °C.

#### C. Talek v rukavicích

Podobně jako u jiných reagenií, nadbytek talku v některých rukavicích může kontaminovat vzorky v otevřených zkumavkách. Jsou doporučovány rukavice bez talku.

## Postupy kontroly kvality

### A. Kritéria platnosti testování

Software automaticky určuje platnost testování. Software určí testování jako neplatné, pokud se vyskytne kterákoli z následujících podmínek:

- Více než jeden neplatný replikát negativního kalibrátoru.
- Více než jeden neplatný replikát pozitivního kalibrátoru 1.
- Více než jeden neplatný replikát pozitivního kalibrátoru 2.
- Kombinace více než jednoho neplatného replikátu kalibrátoru z šesti.

Testování může být neplatné, jsou-li během testování zaznamenány a dokumentovány technické, uživatelské nebo problémy přístroje.

Neplatné testování je nutné zopakovat. Přerušené testování je nutné zopakovat.

### B. Kritéria přijetí kalibrátoru

V tabulce níže jsou definována RLU kritéria pro replikáty negativních a pozitivních kalibrátorů.

	<b>Systém Tigris DTS</b>	<b>Systém Panther</b>
<b>Negativní kalibrátor</b>		
18/45 RLU	$\geq 0 \text{ a } \leq 60\,000 \text{ RLU}$	$\geq 0 \text{ a } \leq 60\,000 \text{ RLU}$
IC/16 RLU	$\geq 75\,000 \text{ a } \leq 300\,000 \text{ RLU}$	$\geq 75\,000 \text{ a } \leq 300\,000 \text{ RLU}$
<b>Pozitivní kalibrátor 1</b>		
18/45 RLU	$\geq 850\,000 \text{ a } \leq 2\,200\,000 \text{ RLU}$	$\geq 800\,000 \text{ a } \leq 2\,200\,000 \text{ RLU}$
IC/16 RLU	$\leq 475\,000 \text{ RLU}$	$\leq 475\,000 \text{ RLU}$
<b>Pozitivní kalibrátor 2</b>		
18/45 RLU	$\leq 115\,000 \text{ RLU}$	$\leq 115\,000 \text{ RLU}$
IC/16 RLU	$\geq 625\,000 \text{ a } \leq 4\,000\,000 \text{ RLU}$	$\geq 625\,000 \text{ a } \leq 4\,000\,000 \text{ RLU}$

### C. IC Cutoff

Hodnota IC Cutoff je stanovena z hodnoty počtu signálů analytu IC/16 z platných replikátů negativního kalibrátoru.

$$\text{IC Cutoff} = 0,5 \times [\text{střední hodnota IC/16 RLU platných replikátů negativního kalibrátoru}]$$

### D. Analyt 16 Cutoff

Hodnota cutoff Analytu pro HPV 16 je stanovena z hodnoty počtu signálů IC/16 RLU z platných replikátů negativního kalibrátoru a pozitivního kalibrátoru 2.

$$\text{Analyt 16 Cutoff} = 2 \times [\text{střední hodnota IC/16 RLU platných replikátů negativního kalibrátoru}] + 0,1 \times [\text{střední hodnota IC/16 RLU platných replikátů pozitivního kalibrátoru 2}]$$

### E. Analyt 18/45 Cutoff

Hodnota cutoff pro HPV 18/45 je stanovena z hodnoty počtu signálů 18/45 RLU z platných replikátů negativního kalibrátoru a pozitivního kalibrátoru 1.

$$\text{Analyt 18/45 Cutoff} = 1 \times [\text{střední hodnota 18/45 RLU platných replikátů negativního kalibrátoru}] + 0,18 \times [\text{střední hodnota 18/45 RLU platných replikátů pozitivního kalibrátoru 1}]$$

## Interpretace testu

Výsledky testování jsou automaticky interpretovány softwarem testu. Výsledkem testu může být negativita pro HPV 16 i pro HPV 18/45, negativita pro HPV 16 a pozitivita pro HPV 18/45, pozitivita pro HPV 16 a negativita pro HPV 18/45, pozitivita pro HPV 16 i pro HPV 18/45, nebo je výsledek neplatný, jak vyplývá poměrů z hodnot IC RLU a S/CO, tak jak popisuje tabulka níže. Výsledky testu mohou být také neplatné, pokud jsou jiné parametry mimo očekávaná rozmezí (např. pro abnormální tvar křivky měření). Neplatné testy by měly být zopakovány.

Vzorky soupravy CSCT mohou být naředěny, aby se zabránilo vlivu potenciálních inhibičních substancí. Nařeďte 1 díl neplatného vzorku 8 díly transportního roztoku (roztok v soupravě CSCT zkumavek); např. 560 µl vzorku se naředí do zkumavky soupravy CSCT, která obsahuje 4,5 ml transportního roztoku pro vzorky. Jemným převrácením promíchejte lahvičku se vzorkem; zabraňte tvorbě pěny. Naředěný vzorek otestujte standardním způsobem.

**Poznámka:** Neplatný naředěný vzorek již dále neřeďte. Pokud i naředěný vzorek vykazuje neplatný výsledek, je třeba od pacienta vyžádat nový vzorek.

Výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	Kritéria
<b>Negativní – 16</b> <b>Negativní – 18/45</b>	<i>IC/HPV 16 RLU <math>\geq</math> IC Cutoff a</i> <i>HPV 16/S/CO <math>&lt;</math> 1,00 a</i> <i>HPV 18/45 S/CO <math>&lt;</math> 1,00</i>
<b>Negativní – 16</b> <b>Pozitivní – 18/45</b>	<i>HPV 16/ S/CO <math>&lt;</math> 1,00 a</i> <i>HPV 18/45 S/CO <math>\geq</math> 1,00 a</i> <i>HPV 18/45 RLU <math>\leq</math> 3 000 000</i>
<b>Pozitivní – 16</b> <b>Negativní – 18/45</b>	<i>HPV 16/S/CO <math>\geq</math> 1,00 a</i> <i>IC/HPV 16 RLU <math>\leq</math> 4 000 000 a</i> <i>HPV 18/45 S/CO <math>&lt;</math> 1,00</i>
<b>Pozitivní – 16</b> <b>Pozitivní – 18/45</b>	<i>HPV 16/ S/CO <math>\geq</math> 1,00 a</i> <i>IC/HPV 16 RLU <math>\leq</math> 4 000 000 a</i> <i>HPV 18/45 S/CO <math>\geq</math> 1,00 a</i> <i>HPV 18/45 RLU <math>\leq</math> 3 000 000</i>
<b>Neplatný</b>	<i>HPV 16/ S/CO <math>&lt;</math> 1,00 a</i> <i>HPV 18/45 S/CO <math>&lt;</math> 1,00 a</i> <i>IC/HPV 16 RLU <math>&lt;</math> IC Cutoff</i>  <i>nebo</i> <i>IC/HPV 16 RLU <math>&gt;</math> 4 000 000</i>  <i>nebo</i> <i>HPV 18/45 RLU <math>&gt;</math> 3 000 000</i>

## Omezení

- A. Jiné vzorky než ty, které jsou určeny k použití pro tuto metodu, by neměly být vyhodnocovány.
- B. Průběh testování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay nebyl vyhodnocován pro osoby očkované proti HPV.
- C. Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay nebyl vyhodnocován v případech podezření na sexuální zneužívání.
- D. Prevalence HPV infekce v populaci může ovlivnit výpovědní hodnotu testování. Pozitivní prediktivní hodnota testu klesá při testování populace s malou prevalencí nebo při testování jednotlivců s nulovým rizikem infekce.
- E. ThinPrep cytologické vzorky obsahující méně než 1 ml po přípravě ThinPrep Pap sklíčka jsou pro testování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay nedostatečné.
- F. Výsledky testování mohou být ovlivněny nesprávným odběrem vzorku, uchováváním či manipulací se vzorky.
- G. Vnitřní kontrola monitoruje správnost technologie záchytu cíle, amplifikace a detekčních kroků testování, není určena ke kontrole adekvátnosti odběru vzorků z děložního čípku.
- H. Negativní výsledek Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay nevyklučuje možnost cytologických abnormalit, dosud neodhalených CIN2, CIN3, či jejich rozvoj v budoucnu, ani možnost rakoviny děložního čípku.
- I. Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay poskytuje kvalitativní výsledky. Proto není možná korelace mezi velikostí signálu pozitivního testu a úrovní exprese mRNA ve vzorku.
- J. Detekce mRNA vysoce rizikových HPV (typů 16, 18 a 45) je závislá na počtu kopií přítomných ve vzorku a může být ovlivněna metodikou odběru vzorku, stavem pacienta, stadiem infekce a přítomností interferujících látek ve vzorku.
- K. Infekce HPV není ukazatelem přítomnosti HSIL nebo dosud nezjištěných high-grade CIN, ani to neznamená, že se CIN2, CIN3 nebo rakovina vyvine. U většiny žen infikovaných jedním nebo více typy vysoce rizikového HPV se nevyvinou změny ve smyslu CIN2, CIN3 ani rakoviny.
- L. Následující substance mohou ovlivnit výsledky testu, pokud jsou přítomny ve vyšších koncentracích, než je uvedeno: vaginální lubrikanty (obsahující Polyquaternium 15) v koncentraci 1 % hmot/obj, protiplísňové krémy (obsahující tiokonazol) v koncentraci 0,03 % hmot/obj, hlen v koncentraci 0,3 % hmot/obj, hormony obsahující progesteron v koncentraci 1 % hmot/obj, Trichomonas vaginalis v množství  $3 \times 10^4$  buněk/ml.
- M. Vysoké koncentrace HPV typu 45 mohou snížit schopnost Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay detekovat přítomnost nízkých hladin HPV typu 16.
- N. Účinky jiných potenciálních faktorů, jako je např. vaginální výtok, používání tamponů atd. a variabilita při odběru vzorků nebyly hodnoceny.
- O. Použití tohoto zařízení může být omezeno na personál vyškolený v používání Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.
- P. Zkřížená kontaminace vzorků může způsobit falešně pozitivní výsledky. Míra přenosu z Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systémy Tigris DTS a Panther byla v neklinických studiích stanovena na 0,35 % a 0,19 % v uvedeném pořadí.
- Q. Výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay by měly být interpretovány ve spojení s ostatními laboratorními a klinickými údaji, které jsou dostupné lékaři.

## Očekávané výsledky na systému Tigris DTS: Prevalence vysoce rizikových typů HPV mRNA

Prevalence vysoce rizikové HPV infekce se velmi liší a je ovlivněna několika faktory, nejvíce pak věkem.<sup>19,20</sup> Mnoho studií se zabývalo prevalencí HPV jako stanovení detekce DNA HPV, ale jen několik málo studií stanovuje prevalenci na základě detekce onkogenní mRNA HPV. Ženy z různých klinických míst (n = 18), zahrnujících širokou geografickou distribuci a různorodou populaci (10 států USA) byly zařazeny do prospektivní klinické studie CLEAR pro vyhodnocení Aptima HPV Assay, který detekuje 14 vysoce rizikových typů HPV.<sup>21</sup> Vzorky žen ve studii CLEAR s pozitivními nálezy v Aptima HPV Assay byly v samostatné klinické studii testovány pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Prevalence HPV typů 16, 18 a 45, stejně jako zbývajících 11 vysoce rizikových typů HPV byla v klinických studiích vyhodnocena na základě výsledků testování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, dále roztržena celkově, podle věkových skupin a místa testování. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 1 pro populaci s nálezem atypických dlaždicových buněk nejasného významu (ASC-US) a pro populaci negativní pro intraepiteliální lézi či malignitu (NILM).

**Tabulka 1:** Prevalence vysoce rizikových typů HPV mRNA v populacích podle věkové skupiny, místa testování a dohromady

	Míra pozitivity % (x/n)							
	ASC-US populace (≥ 21 let)				NILM populace (≥ 30 let)			
	HPV 16 Poz	HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	11 ostatní HR* Poz	HPV 16 Poz	HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	11 ostatní HR* Poz
<b>Vše</b>	7,8 (71/912)	5,2 (47/912)	0,3 (3/912)	25,5 (233/912)	0,4 (47/10 846)	0,4 (47/10 846)	0 (0/10 846)	3,9 (421/10 846)
<b>Skupiny podle věku (roky)</b>								
<b>21 až 29</b>	13,2 (51/386)	4,9 (19/386)	0,5 (2/386)	38,3 (148/386)	N/A	N/A	N/A	N/A
<b>30 až 39</b>	5,4 (14/257)	7,0 (18/257)	0,4 (1/257)	21,8 (56/257)	0,7 (30/4 188)	0,6 (27/4 188)	0 (0/4 188)	5,3 (221/4 188)
<b>≥ 40</b>	2,2 (6/269)	3,7 (10/269)	0 (0/269)	10,8 (29/269)	0,3 (17/6 658)	0,3 (20/6 658)	0 (0/6 658)	3,0 (200/6 658)
<b>Testovací místo</b>								
<b>1</b>	9,0 (27/301)	4,3 (13/301)	0,7 (2/301)	24,9 (75/301)	0,4 (13/3 666)	0,5 (18/3 666)	0 (0/3 666)	3,8 (141/3 666)
<b>2</b>	7,4 (23/310)	6,1 (19/310)	0 (0/310)	26,5 (82/310)	0,5 (18/3 671)	0,5 (17/3 671)	0 (0/3 671)	3,7 (136/3 671)
<b>3</b>	7,0 (21/301)	5,0 (15/301)	0,3 (1/301)	25,2 (76/301)	0,5 (16/3 509)	0,3 (12/3 509)	0 (0/3 509)	4,1 (144/3 509)

N/A = Neaplikovatelné, HR = Vysoce rizikové, Poz = Pozitivní

\* HPV typy 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68

## Provádění testování na systému Tigris DTS

### Design klinické studie testování vzorků ThinPrep pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Vyhodnocení Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bylo v USA provedeno testováním Pap vzorků odebraných se souhlasem žen během prospektivní multicentrické klinické studie, známé pod názvem CLEAR. Studie CLEAR byla provedena za účelem stanovení klinické významnosti Aptima HPV Assay pro detekci cervikální intraepiteliální neoplazie stupně 2 nebo více závažných cervikálních onemocnění ( $\geq$ CIN2). Ženy byly zařazeny do studie ASC-US či studie NILM na základě jejich referenčního cytologického vyšetření ThinPrep při rutinním screeningu rakoviny děložního čípku. Studie ASC-US zahrnovala populaci žen 21 let a starší s cytologickými výsledky ASC-US a studie NILM zahrnovala populaci žen 30 let a starší s cytologickými výsledky NILM.

Byly analyzovány výsledky testování žen z 18 klinických míst, především z porodnických a gynekologických klinik o široké geografické distribuci, zahrnující různorodou populaci. Během studie CLEAR byly referenční zbytkové Pap vzorky testovány jak Aptima HPV Assay, tak jiným komerčně dostupným testem HPV DNA. V klinické studii Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byly příslušným testem testovány referenční zbytkové Pap vzorky.

Všechny ženy ve studii ASC-US podstoupily kolposkopii bez ohledu na výsledky Aptima HPV Assay a výsledky komerčně dostupných testů HPV DNA. Byly získány vzorky z endocervikální kytetáže (ECC) a z cervikální biopsie (1 vzorek z každého ze 4 kvadrantů). U viditelných lézí byl získán přímý vzorek (přímá metoda, 1 biopsie z léze), u kvadrantů bez viditelného poškození byly biopsie odebírány náhodně z oblasti squamokolumnární junkce.

Ve studii NILM podstoupily kolposkopii ženy s pozitivním Aptima HPV Assay a/nebo komerčně dostupným testem HPV DNA a také náhodně vybrané ženy, které byly negativní v obou testech. Vzorek z ECC byl odebrán každé ženě, která absolvovala kolposkopii. Ostatní biopsie byly získány pouze z viditelných lézí (přímá metoda, 1 biopsie z léze). Další sledování těch žen ve studii NILM, které neměly na počátku studie  $\geq$ CIN2, probíhá po dobu 3 let s každoročním cytologickým vyšetřením. Ženám s nálezem ASC-US nebo se závažnějšími cytologickými výsledky v průběhu sledovaného období se odkazují na kolposkopii za použití stejného bioptického postupu pro provedení základního hodnocení.

Status onemocnění byl stanoven na základě konsensu odborné komise patologů, které bylo založeno na shodě názorů alespoň 2 expertních patologů. Expertní patologové u vyšetřovaných žen neznali jejich výsledky vyšetření HPV, cytologického statusu ani jiných histologických diagnóz. Aby se snížil vliv bias, výzkumní pracovníci, klinické ani vyšetřované ženy před dokončením kolposkopického vyšetření neznali výsledky testů Aptima HPV a komerčně dostupných testů HPV DNA.

K potvrzení určeného použití Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay jako reflexního testu pro pozitivně testované vzorky z Aptima HPV Assay, referenční zbytkové Pap vzorky všech hodnocených žen ve studiích ASC-US a NILM s pozitivním výsledkem Aptima HPV Assay byly způsobilé pro testování Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Byla vyhodnocena klinická významnost Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay pro detekci  $\geq$ CIN2, cervikální intraepiteliální neoplazie stupně 3 a pro závažné onemocnění děložního čípku ( $\geq$ CIN3).

## Populace ASC-US ≥ 21 let: Klinická významnost testování ThinPrep vzorků pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Celkově bylo testováno 400 žen ve věku 21 let a starších s cytologickými nálezy ASC-US a pozitivním výsledkem Aptima HPV Assay, jejichž referenční Pap vzorky byly vhodné pro testování Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Z tohoto souboru nemělo 46 žen k dispozici referenční vzorky Pap pro testování a 6 mělo stanovenou nejasnou diagnózu; všechny byly z další analýzy vyloučeny. Zbývajících 348 hodnocených žen s průkazným onemocněním mělo platné výsledky pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, založené na reflexním testování pozitivních výsledků v Aptima HPV Assay. Šedesát sedm (67) žen mělo ≥CIN2 a 29 mělo ≥CIN3.

Z celkového počtu 348 hodnocených žen s pozitivními výsledky Aptima HPV Assay mělo 117 žen pozitivní výsledky s Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, naznačující přítomnost HPV 16 a/nebo HPV 18/45; 231 mělo negativní výsledky, což ukazuje na přítomnost jednoho nebo více z dalších 11 typů vysoce rizikových HPV, které jsou detekovány Aptima HPV Assay (tj. HPV typů 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68). Další 545 hodnocených žen ve věku 21 let a starších s cytologickými nálezy ASC-US mělo ve studii CLEAR negativní výsledky Aptima HPV Assay. Negativní výsledek Aptima HPV Assay znamená, že nebyl přítomen žádný z 14 vysoce rizikových typů HPV a pro účely analýzy byly výsledky označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Prevalence ≥CIN2 resp. ≥CIN3 u hodnocených žen s cytologickými nálezy ASC-US činila 8,8 % resp. 3,7 %. Výsledky srovnání testů Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay vzhledem k histologické diagnóze dle konsensu odborné komise histologů jsou prezentovány v Tabulce 2.

**Tabulka 2:** Populace ASC-US ≥ 21 let: Výsledky srovnání testů Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay vzhledem k histologické diagnóze dle konsensu odborné komise histologů

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT*	Interpretace	Histologická diagnóza dle konsensu odborné komise						
			Nejasný**	Normální	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Celkem
Pozitivní	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Poz	1	27	18	11	14	0	71
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	HPV 18/45 Poz	3	23	14	3	3	1	47
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	2	125	73	23	10	0	233
Celkem			6	176	105	38	28	1	354
Negativní	HPV 16/18/45 Neg***	HR HPV Neg	13	458	75	8	4	0	558
Celkem			19	634	180	46	32	1****	912

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, CIN1 = Cervikální intraepiteliální neoplazie 1. stupně, HR = vysoce rizikové, Neg = Negativní, Poz = Pozitivní

\* Všechny vzorky měly finální výsledky (po závěrečném testování nebo po vyřešení iniciálně neplatných postupů).

\*\* U 19 žen byla provedena kolposkopie, ale diagnóza nemohla být stanovena z následujících důvodů: < 5 bioptických vzorků mělo výsledky histologie v normě/CIN1 (n = 15), bioptický vzorek se nepodařilo získat (n = 3) a bioptické sklíčko se ztratilo (n = 1).

\*\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

\*\*\*\* Jedna žena měla adenokarcinom in situ (AIS).

Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3), vyhodnocené na základě výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay, je uvedeno v Tabulce 3. Riziko  $\geq$ CIN2 u žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 bylo 29,1 % v porovnání s 14,3 % rizikem u žen s jedním nebo více z 11 jiných typů vysoce rizikových HPV a 2,2 % rizikem u žen, u nichž nebyl žádný vysoce rizikový typ HPV přítomen. Absolutní rizika jsou znázorněna podle věkových skupin v Tabulce 4.

**Tabulka 3:** Populace ASC-US  $\geq$  21 let: Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
<b>Pozitivní</b>	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	29,1 (34/117) (22,4, 36,0)	16,2 (19/117) (11,4, 21,1)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	35,7 (25/70) (26,1, 45,9)	20,0 (14/70) (12,6, 28,0)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	15,9 (7/44) (7,2, 28,3)	9,1 (4/44) (2,9, 19,5)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	14,3 (33/231) (10,9, 17,9)	4,3 (10/231) (2,4, 6,8)
	Poz nebo Neg	HR HPV Poz	19,3 (67/348) (17,1, 21,3)	8,3 (29/348) (6,9, 9,4)
<b>Negativní</b>	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)	0,7 (4/545) (0,2, 1,6)
Prevalence			8,8 % (79/893)	3,7 % (33/893)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.



**Tabulka 4:** Populace ASC-US  $\geq 21$  let: Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay podle věkových skupin

	Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
21 až 29 let	Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	26,8 (19/71) (18,3, 35,7)	15,5 (11/71) (9,3, 21,8)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	28,0 (14/50) (17,5, 39,6)	18,0 (9/50) (9,9, 26,9)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	15,8 (3/19) (3,7, 36,3)	5,3 (1/19) (0,2, 22,5)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	17,0 (25/147) (12,6, 21,5)	5,4 (8/147) (2,8, 8,5)
		Poz nebo Neg	HR HPV Poz	20,2 (44/218) (17,6, 22,5)	8,7 (19/218) (7,1, 9,8)
	Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	3,6 (6/165) (1,5, 6,9)	0,6 (1/165) (0,0, 2,7)
Prevalence				13,1 % (50/383)	5,2 % (20/383)
30 až 39 let	Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	32,3 (10/31) (19,0, 45,9)	16,1 (5/31) (7,0, 25,4)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	18,8 (3/16) (3,0, 40,6)	12,5 (2/16) (1,3, 30,8)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	12,7 (7/55) (6,2, 20,5)	3,6 (2/55) (0,6, 9,1)
		Poz nebo Neg	HR HPV Poz	19,8 (17/86) (15,1, 23,9)	8,1 (7/86) (4,7, 10,3)
	Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)	0,6 (1/167) (0,0, 2,3)
Prevalence				7,5 % (19/253)	3,2 % (8/253)
$\geq 40$ let	Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	66,7 (4/6) (27,1, 93,5)	33,3 (2/6) (6,2, 69,2)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	11,1 (1/9) (0,5, 39,7)	11,1 (1/9) (0,5, 37,1)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	3,4 (1/29) (0,1, 14,0)	0 (0/29) (0,0, 8,2)
		Poz nebo Neg	HR HPV Poz	13,6 (6/44) (6,5, 20,6)	6,8 (3/44) (1,8, 11,4)
	Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)
Prevalence				3,9 % (10/257)	1,9 % (5/257)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Relativní riziko onemocnění u pacientů ve srovnání pozitivního a negativního výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay je uvedeno v Tabulce 5. U žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 byla 13,2-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN2 a 22,1-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN3 než u žen bez průkazu vysoce rizikových typů HPV. U žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 byla 2,0-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN2 a 3,8-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN3 než u žen bez průkazu jednoho nebo více z 11 vysoce rizikových typů HPV.

**Tabulka 5:** Populace ASC-US  $\geq$  21 let: Relativní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relativní riziko (95 % CI)	Relativní riziko (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Pozitivní vs. HR HPV Negativní	13,2 (7,0, 24,7)	22,1 (7,7, 63,8)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Pozitivní vs. jiné HR HPV Pozitivní	2,0 (1,3, 3,1)	3,8 (1,8, 7,8)
Jiné HR HPV pozitivní vs. HR HPV negativní	6,5 (3,4, 12,3)	5,9 (1,9, 18,6)
HR HPV Pozitivní vs. HR HPV Negativní	8,7 (4,8, 15,9)	11,4 (4,0, 32,0)
Prevalence	8,8 % (79/893)	3,7 % (33/893)

CI = interval spolehlivosti, HR = Vysoce rizikové

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Stupně pravděpodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) podle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay jsou zobrazeny v Tabulce 6. U HPV typů 16, 18 a/nebo 45 je 4,2-krát vyšší pravděpodobnost přítomnosti u ženy s  $\geq$ CIN2 a 5,1-krát vyšší pravděpodobnost přítomnosti u ženy s  $\geq$ CIN3.

**Tabulka 6:** Populace ASC-US  $\geq$  21 let: Stupně pravděpodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku testů Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Pozitivní	4,2 (3,0, 5,8)	5,1 (3,4, 6,9)
Jiné HR HPV Pozitivní	1,7 (1,3, 2,3)	1,2 (0,6, 1,9)
HR HPV Negativní	0,2 (0,1, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

CI = interval spolehlivosti, HR = Vysoce rizikové

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

## Populace NILM ≥ 30 let: Klinická významnost testování ThinPrep vzorků pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Celkově bylo testováno 540 žen ve věku 30 let a starších s cytologickými nálezy NILM a pozitivním výsledkem Aptima HPV Assay, jejichž referenční Pap vzorky byly vhodné pro testování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Z tohoto souboru nemělo 25 žen k dispozici referenční vzorky Pap pro testování; všechny byly z další analýzy vyloučeny. Zbývajících 515 hodnocených žen mělo validní výsledky testování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. U 317 z nich byla provedena kolposkopie. Patnáct (15) žen mělo ≥CIN2 a 10 mělo ≥CIN3; 283 ženy mělo normální / CIN1 histologický nálezy; 19 žen mělo neurčený status onemocnění.

Z celkového počtu 298 hodnocených žen s pozitivními výsledky Aptima HPV Assay mělo 61 žen pozitivní výsledky v Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, naznačující přítomnost HPV 16 a/nebo HPV 18/45; 237 mělo negativní výsledky, což ukazuje na přítomnost jednoho nebo více z dalších 11 typů vysoce rizikových HPV. Dalších 505 hodnocených žen ve věku 30 let a starších s cytologickými nálezy NILM mělo ve studii CLEAR negativní výsledky Aptima HPV Assay. Negativní výsledek Aptima HPV Assay znamená, že žádný z 14 vysoce rizikových typů HPV nebyl přítomen a pro účely analýzy byly výsledky označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Výsledky srovnání testů Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay vzhledem k histologické diagnóze dle konsensu odborné komise histologů jsou prezentovány v Tabulce 7.

**Tabulka 7:** Populace NILM ≥ 30 let: Výsledky srovnání testů Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay vzhledem k histologické diagnóze dle konsensu odborné komise histologů

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT*	Interpretace	Histologická diagnóza dle konsensu odborné komise						
			Nejasný**	Normální	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Celkem
Pozitivní	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Poz	2	27	0	0	3	1	33
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	HPV 18/45 Poz	1	26	1	1	0	2	31
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	0	0	0	0	0	0	0
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	16	218	11	4	4	0	253
Celkem			19	271	12	5	7	3	317
Negativní	HPV 16/18/45 Neg***	HR HPV Neg	25	483	17	4	1	0	530
Celkem			44	754	29	9	8	3****	847

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Všechny vzorky měly platné finální výsledky (při počátečním testování nebo po vyřešení iniciálně neplatných postupů).

\*\* U 44 žen byla provedena kolposkopie, ale diagnóza nemohla být stanovena z následujících důvodů: nebylo dosaženo konsensu v důsledku neadekvátnosti vzorků (n = 28), z jiných důvodů nebylo možné odebrat bioptické vzorky (n = 13), nebyla odebrána biopsie kvůli chybě (n = 3).

\*\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

\*\*\*\* Tři ženy měly adenokarcinom in situ (AIS).

Z celkového počtu 515 žen s pozitivními výsledky Aptima HPV Assay a Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay mělo 217 žen neověřený (včetně neurčeného) status onemocnění (Tabulce 8). Z celkového počtu 10 331 žen s negativními výsledky Aptima HPV Assay z původní studie CLEAR mělo 9 826 neověřený status onemocnění. Vzhledem k tomu že kolposkopické vyšetření bylo provedeno jen u náhodně vybraných žen s negativními výsledky v obou testech Aptima HPV Assay a komerčně dostupných testech HPV DNA, podíl žen s neověřeným statusem onemocnění byl u této skupiny vysoký (96,6 %). Pro nastavení bias byla k odhadu počtu nemocných žen, které by byly identifikovány, pokud by všechny ženy podstoupily kolposkopické vyšetření, použita metoda mnohonásobné imputace. Prezentovány jsou jak verifikačním bias upravené, tak i neupravené odhady klinické významnosti metody, založené na testování 803 žen s ověřenými statusy onemocnění.

**Tabulka 8:** Populace NILM ≥ 30 let: Klasifikace hodnocených žen s NILM podle výsledků testování testy Aptima HPV, Aptima HPV 16 18/45 genotypu a HPV DNA, status nemoci (≥CIN2 a ≥CIN3) a statusu ověření onemocnění

Výsledek Aptima HPV Assay*	Výsledek testu AHPV-GT*	Test HPV DNA	Celkem žen	Ověřený status nemoci: ≥CIN2		Ověřený status nemoci: ≥CIN3		Neověřený status nemoci
				Ženy s onemocněním (≥CIN2)	Ženy bez onemocnění (≥CIN2)	Ženy s onemocněním (≥CIN3)	Ženy bez onemocnění (≥CIN3)	Ženy s neznámým statusem onemocnění (% neznámý)
Pozitivní	Pozitivní	Pozitivní	83	6	48	5	49	29 (34,9 %)
	Pozitivní	Negativní	9	1	5	1	5	3 (33,3 %)
	Pozitivní	Žádný výsledek**	2	0	1	0	1	1 (50,0 %)
	Negativní	Pozitivní	271	7	171	4	174	93 (34,3 %)
	Negativní	Negativní	137	1	52	0	53	84 (61,3 %)
	Negativní	Žádný výsledek**	13	0	6	0	6	7 (53,8 %)
Celkem			515	15	283	10	288	217 (42,1 %)
Negativní	N/A***	Pozitivní	306	3	178	1	180	125 (40,8 %)
	N/A***	Negativní	9 420	1	322	0	323	9 097 (96,6 %)
	N/A***	Žádný výsledek**	605	1	0	0	1	604 (99,8 %)
Celkem			10 846	20	783	11	792	10 043 (92,6 %)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, N/A = Nehodnotitelné

\* Všechny vzorky měly platné finální výsledky (při počátečním testování nebo po vyřešení iniciálně neplatných postupů).

\*\* 620 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo provedeno HPV DNA test především kvůli nedostatečnému objemu vzorku.

\*\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Upravená absolutní rizika onemocnění (≥CIN2 a ≥CIN3) podle výsledku testování Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay jsou uvedena v Tabulce 9a. Riziko ≥CIN2 u žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 bylo 12,6 % v porovnání s rizikem 3,4 % u žen s jedním nebo více z ostatních 11 typů vysoce rizikových HPV a 0,6 % u žen bez průkazu vysoce rizikových typů HPV. Neupravená absolutní rizika onemocnění jsou uvedena celkově v Tabulce 9b a podle věkových skupin v Tabulce 10.

**Tabulka 9a:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku testů Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (verifikačním bias upravené odhady)

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	12,6 (3,7, 21,4)	9,5 (2,1, 16,8)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	14,5 (2,1, 26,9)	12,1 (0,7, 23,4)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	10,7 (0,0, 22,5)	6,9 (0,0, 16,2)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	N/A	N/A
	HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	3,4 (1,2, 5,6)	1,8 (0,1, 3,5)
	Poz nebo Neg	HR HPV Poz	5,0 (2,6, 7,5)	3,2 (1,3, 5,2)
Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	0,6 (0,1, 1,2)	0,4 (0,0, 0,7)
Prevalence			0,9 %	0,5 %

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní,  
N/A = nehodnotitelné

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 9b:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku testů Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (neupravené odhady)

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	11,5 (7/61) (5,4, 18,9)	9,8 (6/61) (4,6, 15,2)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	12,9 (4/31) (4,0, 26,0)	12,9 (4/31) (4,3, 23,8)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	10,0 (3/30) (2,4, 23,0)	6,7 (2/30) (0,8, 17,7)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	N/A (0/0)	N/A (0/0)
	HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	3,4 (8/237) (1,7, 5,3)	1,7 (4/237) (0,6, 3,2)
	Poz nebo Neg	HR HPV Poz	5,0 (15/298) (3,6, 6,2)	3,4 (10/298) (2,3, 3,9)
Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)
Prevalence			2,5 % (20/803)	1,4 % (11/803)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní,  
N/A = nehodnotitelné

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 10:** Populace NILM  $\geq 30$  let: Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay podle věkových skupin (neupravené odhady)

	Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
<b>30 až 39 let</b>	<b>Pozitivní</b>	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	8,8 (3/34) (2,2, 17,8)	5,9 (2/34) (1,0, 13,3)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	0,0 (0/17) (0,0, 15,5)	0,0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	17,6 (3/17) (3,2, 35,4)	11,8 (2/17) (1,3, 27,0)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	N/A (0/0)	N/A (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	4,0 (5/124) (1,7, 6,2)	2,4 (3/124) (0,7, 4,2)
		Poz nebo Neg	HR HPV Poz	5,1 (8/158) (3,2, 6,1)	3,2 (5/158) (1,5, 4,0)
	<b>Negativní</b>	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	0,5 (1/217) (0,0, 1,9)	0,5 (1/217) (0,0, 1,7)
Prevalence				2,4 % (9/375)	1,6 % (6/375)
<b><math>\geq 40</math> let</b>	<b>Pozitivní</b>	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	14,8 (4/27) (4,7, 27,3)	14,8 (4/27) (5,1, 22,8)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	28,6 (4/14) (6,3, 50,7)	28,6 (4/14) (6,4, 46,5)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	0,0 (0/13) (0,0, 20,1)	0,0 (0/13) (0,0, 17,1)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	N/A (0/0)	N/A (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	2,7 (3/113) (0,7, 5,8)	0,9 (1/113) (0,0, 3,1)
		Poz nebo Neg	HR HPV Poz	5,0 (7/140) (2,6, 7,0)	3,6 (5/140) (1,9, 4,2)
	<b>Negativní</b>	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,4 (4/288) (0,5, 2,5)	0,0 (0/288) (0,0, 0,8)
Prevalence				2,6 % (11/428)	1,2 % (5/428)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní, N/A = nehodnotitelné

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Relativní riziko onemocnění u pacientů ve srovnání pozitivního a negativního výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay je uvedeno v Tabulce 11 (verifikačním bias upravené) a v Tabulce 12 (neupravené). U žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 byla 20,9-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN2 a 29,4-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN3 než u žen bez průkazu vysoce rizikových typů HPV. U žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 byla 3,7-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN2 a 5,3-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN3 než u žen bez průkazu jednoho nebo více z 11 vysoce rizikových typů HPV.

**Tabulka 11:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Relativní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (verifikačním bias upravené odhady)

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relativní riziko (95 % CI)	Relativní riziko (95 % CI)
HPV 16 a/nebo 18/45 Poz vs. HR HPV Neg	20,9 (6,3, 69,3)	29,4 (7,2, 120,8)
HPV 16 a/nebo 18/45 Poz vs. jiný HR HPV Poz	3,7 (1,5, 9,5)	5,3 (1,5, 18,2)
Jiný HR HPV Poz vs. HR HPV Neg	5,6 (1,8, 17,7)	5,6 (1,2, 26,0)
HR HPV Poz vs. HR HPV Neg	8,5 (2,9, 24,8)	10,1 (2,7, 38,2)
Prevalence	0,9 %	0,5 %

CI = interval spolehlivosti, HR = Vysoce rizikové, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 12:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Relativní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (neupravené odhady)

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relativní riziko (95 % CI)	Relativní riziko (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz vs. HR HPV Neg	11,6 (3,8, 35,4)	49,7 (6,1, 406)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz vs. jiný HR HPV Poz	3,4 (1,3, 9,0)	5,8 (1,7, 20,0)
Jiný HR HPV Poz vs. HR HPV Neg	3,4 (1,1, 10,3)	8,5 (1,0, 75,8)
HR HPV Poz vs. HR HPV Neg	5,1 (1,9, 13,8)	16,9 (2,2, 132)
Prevalence	2,5 % (20/803)	1,4 % (11/803)

CI = interval spolehlivosti, HR = Vysoce rizikové, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Stupně pravděpodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) podle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay jsou zobrazeny v Tabulce 13 (verifikačním bias upravené) a v Tabulce 14 (neupravené). U HPV typů 16, 18 a/nebo 45 je 17,1-krát vyšší pravděpodobnost přítomnosti u ženy s  $\geq$ CIN2 a 21,9-krát vyšší pravděpodobnost přítomnosti u ženy s  $\geq$ CIN3.

**Tabulka 13:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Stupně pravděpodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (verifikačním bias upravené odhady)

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	17,1 (6,2, 46,9)	21,9 (7,3, 65,2)
Jiné HR HPV Poz	4,2 (1,7, 10,1)	3,8 (1,2, 12,6)
HR HPV Negativní	0,7 (0,5, 1,0)	0,7 (0,4, 1,1)

CI = interval spolehlivosti, HR = Vysoce rizikové, Poz = Pozitivní

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 14:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Stupně pravděpodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (neupravené odhady)

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	5,1 (2,3, 9,1)	7,9 (3,5, 12,9)
Jiné HR HPV Poz	1,4 (0,7, 2,2)	1,2 (0,4, 2,3)
HR HPV Negativní	0,4 (0,1, 0,7)	0,1 (0,0, 0,6)

CI = interval spolehlivosti, HR = Vysoce rizikové, Poz = Pozitivní

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.



## Klinická významnost testování SurePath vzorků pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

SurePath cytologické vzorky byly odebrány kanadským ženám, které byly odeslány na sledování v souvislosti s nálezem jednoho nebo více abnormálních Pap testů, HPV infekce nebo z nějakého jiného důvodu. Alikvotní podíl (0,5 ml) z každého vzorku byl přenesen do transferové zkumavky na vzorek Aptima a potom ošetřen pomocí transferového roztoku Aptima. Jeden replikát každého vzorku byl testován pomocí Aptima HPV Assay (n = 494). Pozitivní vzorky pak byly testovány pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Z každého vzorku byla odebrána poměrná část (1 ml) k provedení testování s komerčně dostupným testem HPV PCR (n = 557). Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN3) vyhodnocené na základě výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay, je uvedeno v Tabulce 15. Podobné výsledky jsou uvedeny pro komerčně dostupný test HPV PCR, který rozlišuje typ HPV 16 a typ HPV 18, ale ne HPV 45, odděleně od ostatních vysoce rizikových genotypů. Relativní riziko onemocnění u pozitivního versus negativního genotypu je uvedeno v Tabulce 16 pro testy Aptima HPV 16 18/45 genotype a HPV PCR.

**Tabulka 15:** Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a komerčně dostupného testu HPV PCR

Výsledek HR HPV	Výsledek genotypu	Interpretace	Aptima Absolutní Riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)	HPV PCR Absolutní Riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)
Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45* Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45* Poz	14,6 (9,6 – 19,5)	14,4 (10,4 – 18,1)
	HPV 16 Poz a HPV 18/45* Neg	Pouze HPV 16 Poz	19,4 (12,0 – 26,8)	16,8 (11,6 – 21,9)
	HPV 16 Neg a/nebo HPV 18/45* Poz	Pouze HPV 18/45* Poz	3,3 (0,1 – 13,8)	7,1 (1,0 – 18,8)
	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45* Poz	HPV 16 a HPV 18/45* Poz	25,0 (1,3 – 75,2)	14,3 (0,7 – 49,9)
	HPV 16 Neg a/nebo HPV 18/45* Neg	Jiné HR HPV Poz	2,5 (1,4 – 3,7)	2,1 (1,1 – 3,3)
	Poz nebo Neg	HR HPV Poz	9,8 (8,1 – 11,2)	8,5 (7,0 – 9,5)
Negativní**	HPV 16 Neg a/nebo HPV 18/45* Neg	HR HPV Neg	1,0 (0,2 – 2,4)	1,1 (0,3 – 2,8)
Prevalence (%)			4,9 %	5,0 %

HR = Vysoce rizikové, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* HPV test polymerázové řetězové reakce rozlišuje pouze HPV 16 a HPV 18 z ostatních 12 vysoce rizikových genotypů, včetně HPV 45.

\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 16:** Relativní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a komerčně dostupného testu HPV PCR

Výsledek Aptima Assay		Výsledek testu HPV PCR	
Interpretace testu	Relativní riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)	Interpretace testu	Relativní riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 pozitivní vs. HR HPV negativní	14,8 (4,3 – 50,3)	HPV 16 a/nebo HPV 18 pozitivní vs. HR HPV negativní	12,6 (3,8 – 41,9)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 pozitivní vs. jiné HR HPV pozitivní	2,0 (0,8 – 4,6)	HPV 16 a/nebo HPV 18 pozitivní vs. jiné HR HPV pozitivní	3,9 (1,6 – 9,5)
Jiné HR HPV pozitivní vs. HR HPV negativní	7,5 (2,0 – 28,6)	Jiné HR HPV pozitivní vs. HR HPV negativní	3,2 (0,8 – 12,8)
HR HPV pozitivní vs. HR HPV negativní	10,0 (3,0 – 32,7)	HR HPV pozitivní vs. HR HPV negativní	7,4 (2,3 – 24,3)
Prevalence	4,9 %	Prevalence	5,0 %

## Klinická významnost testování vzorků Cervical Specimen Collection and Transport pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

CSCT vzorky byly odebírány ženám při rutinním screeningu nebo při následném sledování a testovány pomocí Aptima HPV Assay. Reziduální vzorky CSCT (n = 378) s pozitivním výsledkem Aptima HPV Assay byly testovány pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému TIGRIS DTS. HPV genotyp každého vzorku byl stanoven za použití testu pro DNA genotypizaci. Vzorky s diskordantními nálezy testů genotypizace DNA a Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byly otestovány validovanou reverzní transkriptázou pomocí metody PCR a stanoven jejich HPV 16, HPV 18 a HPV 45 status. Byla stanovena klinická shoda (pozitivní i negativní) s Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay pro detekci vysoce rizikových typů HPV 16, 18 a 45. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 17.

**Tabulka 17:** Klinická shoda Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay prováděného na systému Tigris DTS pro detekci vysoce rizikových typů HPV 16, 18 a 45 v CSCT vzorcích

		Referenční metoda				Celkem
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	
Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	125	0	1	0	126
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	0	43	0	1	44
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	0	0	8	1	9
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	1	1	0	197	199
	<b>Celkem</b>	126	44	9	199	378

Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

Pozitivní shoda: 98,3 % (176/179) (95 % CI: 95,2, 99,4)

Negativní shoda: 99,0 % (197/199) (95 % CI: 96,4, 99,7)

## Analytická sensitivita

Mez detekce (LOD) u klinického cut-off je taková koncentrace analytu, která ještě může být detekována v 95 % času. Stanovení LOD Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bylo prováděno testováním negativních ThinPrep vzorků s přidavkem HPV *in vitro* transkriptů v různých koncentracích. S každou ze tří šarží reagensů bylo testováno třicet z celkového počtu 90 replikátů na každé úrovni koncentrace. Testování bylo prováděno po dobu 6 dní, s provedením 3 cyklů testování za den, v každém cyklu bylo vyšetřeno 5 replikátů daného genotypu. Detekční limit 95 % (Tabulce 18) byl vypočten probit regresní analýzou pozitivních výsledků pro každý diluční panel.

**Tabulka 18:** Stanovení detekčního limitu u klinického cutoff Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Cíl	Limit detekce* (95 % CI)
HPV 16	57,3 (46,5 – 74,6)
HPV 18	84,8 (66,1 – 115,6)
HPV 45	60,0 (46,6 – 82,3)
SiHa	1,2 (0,9, 1,7)
HeLa	0,4 (0,3, 0,5)
MS751	2,6 (1,9, 4,2)

\* kopíí na reakci pro transkripty *in vitro* a buněk na reakci pro buněčné linie

## Reprodukovatelnost testu

Reprodukovatelnost Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byla hodnocena ve dvou studiích za pomoci stejného panelu 22 vzorků. Studie 1 byla provedena na 3 externích testovacích místech pro stanovení reprodukovatelnosti testu. Studie 2 byla pro stanovení laboratorní reprodukovatelnosti provedena na jednom místě. V panelu bylo zahrnuto 14 vzorků HPV 16 a/nebo 18/45-pozitivních s koncentrací na nebo nad limitem detekce testu (očekávaná pozitivita:  $\geq 95\%$ ), 5 vzorků HPV 16 a/nebo 18/45-pozitivních s koncentrací pod mezí detekce testu (očekávaná pozitivita:  $> 0\%$  až  $< 25\%$ ) a 3 vzorky HPV-negativní. 16 a/nebo 18/45-pozitivní vzorky panelu byly připraveny naředěním HPV-infikovaných kultivovaných buněk (SiHa, HeLa, a MS751, ATCC, Manassas, Virginia), do směsných cytologických vzorků ThinPrep nebo naředěním HPV 16, 18, a/nebo 45 pozitivních klinických vzorků do směsných cytologických vzorků ThinPrep. HPV-negativní vzorky byly připraveny smícháním negativních cytologických vzorků ThinPrep.

Ve studii 1 prováděli dva operátoři na každém ze 3 testovacích míst (1 přístroj na místo) 2 řady testování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay denně, a to po dobu 3 dnů. Testování bylo prováděno za použití jedné šarže reagensů. Každá testovací řada obsahovala 3 replikáty z každého vzorku panelu reprodukovatelnosti. Na každý vzorek z panelu (3 testovací místa x 1 přístroj x 2 operátoři x 1 šarže x 2 řady testování denně x 3 dny x 3 replikáty) bylo použito sto osm (108) jednotlivých zkumavek se vzorky. Ve studii 2 bylo in-house testování prováděno po dobu 20 dnů s celkem 162 testy každého vzorku z panelu (1 testovací místo x 3 přístroje x 3 operátoři x 3 šarže x 2 řady testování x 3 replikáty).

Testované vzorky jsou popsány v Tabulce 19a a v Tabulce 19b, kde je také uvedeno shrnutí shody s očekávanými výsledky pro HPV 16 resp. HPV 18/45.

**Tabulka 19a:** Studie reprodukovatelnosti 1 a 2 Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Popis panelu vzorků a procentuální shoda s očekávanými výsledky HPV 16

Popis panelu (buněk/reakce)	Očekávané výsledky HPV 16	Procento shody (95 % CI)	
		Studie 1 (3 testovací místa)	Studie 2 (1 testovací místo)
SiHa buňky (3,0 buňky)	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa buňky (0,6 buňky)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751 buňky (11,0 buněk)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinický vzorek 1	Pozitivní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinický vzorek 1	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa buňky (1,6 buňky) & HeLa buňky (3,3 buňky)	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa buňky (1,6 buňky) & MS751 buňky (42,5 buňky)	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa buňky (15,7 buňky) & HeLa buňky (0,3 buňky)	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa buňky (15,7 buňky) & MS751 buňky (4,3 buňky)	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa buňky (1,6 buňky)	Pozitivní	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
HeLa buňky (0,3 buňky)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
MS751 buňky (4,3 buňky)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinický vzorek 2	Pozitivní	97,2 (104/107) (92,1, 99,0)	94,4 (152/161) (88,7, 97,0)
HPV 18/45 klinický vzorek 2	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa buňky (0,1 buňky)	Negativní	85,2 (92/108) (77,3, 90,7)	84,6 (137/162) (78,2, 89,3)
HeLa buňky (0,02 buňky)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751 buňky (0,04 buňky)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinický vzorek 3	Negativní	95,4 (103/108) (89,6, 98,0)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 18/45 klinický vzorek 3	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV-negativní klinický vzorek 1	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní klinický vzorek 2	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní klinický vzorek 3	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = interval spolehlivosti

**Poznámka:** Procentuální shoda může být ovlivněna změnami v přidávání, ředění, a/nebo alikvotech.

**Tabulka 19b:** Studie reprodukovatelnosti 1 a 2 Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Popis panelu vzorků a procentuální shoda s očekávanými výsledky HPV 18/45

Popis panelu (buněk/reakce)	Procento shody (95 % CI)		
	Očekávané výsledky HPV 18/45	Studie 1 (3 testovací místa)	Studie 2 (1 testovací místo)
SiHa buňky (3,0 buňky)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
HeLa buňky (0,6 buňky)	Pozitivní	93,5 (101/108) (87,2, 96,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
MS751 buňky (11,0 buněk)	Pozitivní	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 16 klinický vzorek 1	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinický vzorek 1	Pozitivní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa buňky (1,6 buňky) & HeLa buňky (3,3 buňky)	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa buňky (1,6 buňky) & MS751 buňky (42,5 buňky)	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa buňky (15,7 buňky) & HeLa buňky (0,3 buňky)	Pozitivní	63,9 (69/108) (54,5, 72,3)	67,7 (109/161) (60,1, 74,4)
SiHa buňky (15,7 buňky) & MS751 buňky (4,3 buňky)	Pozitivní	98,1 (106/108) (93,5, 99,5)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
SiHa buňky (1,6 buňky)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HeLa buňky (0,3 buňky)	Pozitivní	71,3 (77/108) (62,1, 79,0)	92,5 (149/161) (87,4, 95,7)
MS751 buňky (4,3 buňky)	Pozitivní	86,1 (93/108) (78,3, 91,4)	69,1 (112/162) (61,6, 75,7)
HPV 16 klinický vzorek 2	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)
HPV 18/45 klinický vzorek 2	Pozitivní	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	79,6 (129/162) (72,8, 85,1)
SiHa buňky (0,1 buňky)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa buňky (0,02 buňky)	Negativní	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	86,4 (140/162) (80,3, 90,9)
MS751 buňky (0,04 buňky)	Negativní	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
HPV 16 klinický vzorek 3	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV 18/45 klinický vzorek 3	Negativní	80,6 (87/108) (72,1, 86,9)	81,5 (132/162) (74,8, 86,7)
HPV-negativní klinický vzorek 1	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV-negativní klinický vzorek 2	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní klinický vzorek 3	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

CI = interval spolehlivosti

**Poznámka:** Procentuální shoda může být ovlivněna změnami v přidávání, ředění, a/nebo alikvotech.

## Zkřížená reaktivita

Analytická specifita Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byla hodnocena se směsnými vzorky ThinPrep ředěnými v poměru 1:2,9 do STM (v porovnání se vzorky přenesenými do transferové zkumavky Aptima) a obohaceny kulturami bakterií, kvasinek nebo hub; kulturami virů; nebo necílenými HPV *in vitro* transkripty. Koncentrace a konkrétní organismy, u kterých nebyla pozorována zkřížená reaktivita, jsou popsány v Tabulce 20. Kritéria studie posouzení vlivu přítomnosti mikroorganismů na specifitu testu byly založeny na pozitivitě.

**Tabulka 20:** Analytický panel specifity: Organismy a koncentrace bez zkřížené reaktivity

Organismus	Test koncentrace bez zkřížené reaktivity	Organismus	Test koncentrace bez zkřížené reaktivity
<b>Bakterie</b>			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium*</i>	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1×10 <sup>5</sup> CFU/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Prevotella bivia</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml		
<b>Necílené vysoce rizikové HPV genotypy*</b>			
HPV 31	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 56	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 33	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 58	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 35	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 59	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 39	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 66	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 51	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 68	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 52	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml		
<b>Kvasinky/houby</b>			
<i>Candida albicans</i>	1×10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis**</i>	1×10 <sup>5</sup> buněk/ml
<b>Viry</b>			
Adenovirus	5,25×10 <sup>7</sup> PFU/ml	HIV-1	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
Cytomegalovirus	1,58×10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	Herpes simplex virus 1	3,39×10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Epstein-Barrové virus	1,59×10 <sup>5</sup> TD <sub>50</sub> /ml	Herpes simplex virus 2	2,29×10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml

Tabulka 20: Analytický panel specifity: Organismy a koncentrace bez zkřížené reaktivity (pokračování)

Organismus	Test koncentrace bez zkřížené reaktivity	Organismus	Test koncentrace bez zkřížené reaktivity
<b>Necílené ostatní HPV genotypy*</b>			
HPV 6	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 53	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 11	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 67	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 26	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 69	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 30	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 70	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 34	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 73	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 42	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 82	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 43	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml	HPV 85	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml
HPV 44	2,5×10 <sup>6</sup> kopií/ml		

CFU = kolonie formující jednotka, PFU = plaky formující jednotka, TD<sub>50</sub> = 50 % transformační dávka, TCID<sub>50</sub> = 50 % infekční tkáňová dávka

\* Testovaný *in vitro* transkript.

\*\* Ačkoli u *Trichomonas vaginalis* nebyla prokázána zkřížená reaktivita, byly pozorovány interference (viz níže).

Analytická senzitivita Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay v přítomnosti mikroorganismů byla hodnocena stejným panelem, jaký je popsán v Tabulce 20, který byl také obohacen nízkými koncentracemi HPV infikovaných buněk SiHa (1,6 buňky na reakci) a HPV infikovaných HeLa buňky (0,3 buněk/reakci). Kritéria studie posouzení vlivu přítomnosti mikroorganismů na senzitivitu testu byly založeny na pozitivitě. Přítomnost mikroorganismů neinterferuje s Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay s výjimkou *Trichomonas vaginalis* (TV). Interference byla pozorována s *Trichomonas vaginalis*, pokud je přítomna v koncentraci vyšší než 3 × 10<sup>4</sup> buněk/ml.

## Interference

Látky popsané v Tabulce 21 byly jednotlivě přimíchány do směsných vzorků ThinPrep naředěných 1:2,9 v STM v koncentracích uvedených v tabulce. Všechny látky byly testovány pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay v přítomnosti i nepřítomnosti HPV infikovaných kultivovaných buněk (SiHa, 1,6 buňky/reakci a HeLa, 0,3 buňky/reakci). Interference byla pozorována u následujících substancí, pokud jsou přítomny ve vyšších koncentracích, než je uvedeno: vaginální lubrikanty (obsahující Polyquaternium 15) v 1 % hmot/obj, protiplísňové krémy (obsahující tiokonazol) v koncentraci 0,03 % hmot/obj, hlen v koncentraci 0,3 % hmot/obj, hormony obsahující progesteron v 1 % hmot/obj.

**Tabulka 21:** Substance testované na případnou interferenci s Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Kategorie produktu	Značka nebo typ produktu	Nejvyšší testovaná koncentrace, která neinterferovala s testem*
Vaginální lubrikant	KY natural feeling liquid	10 % obj/obj
	up & up (cílová značka) osobní tekutý librikant	
	Astroglide**	1 % obj/obj
Spermicidní/kontracepční gely	Vaginální antikoncepční pěna (VCF)	10 % obj/obj
	Kontracepční gel Options Conceptrol Vaginal	
Protiplísňové krémy	up & up (cílová značka) miconazole 3	10 % obj/obj
	Monistat 3 Kombinovaný balíček	
	up & up (cílová značka) Tioiconazole 1	0,03 % obj/obj
Přípravky používané k výplachům pochvy	Summer's Eve Douche	10 % obj/obj
	up & up (cílová značka) feminine douche	
Deodoranty	Summer's Eve Feminine Deodorant Spray	10 % obj/obj
	FDS Feminine Deodorant Spray	
Hlen	Prasečí mucin	0,3 % obj/obj
Intravaginální hormony	Vaginální krém Estrace (estrogen)	10 % obj/obj
	Krém Crinone (progesteron)	1 % obj/obj
Plná krev***	plná krev	5 % obj/obj
Leukocyty	leukocyty	1×10 <sup>7</sup> buněk/ml
Promývací roztok ledové kyseliny octové <sup>^</sup>	Ledová kyselina octová + roztok Cytolyt	2,6 % obj/obj

\* koncentrace v testovaném vzorku; vzorky ThinPrep ředěné v poměru 1:2,9 do STM (v porovnání se vzorky přenesenými do transferové zkumavky Aptima)

\*\* Lubrikant, který obsahuje Polyquaternium 15.

\*\*\* plná krev interferuje s testováním, pokud je přítomna v 10 % obj/obj koncentraci

<sup>^</sup> Promývací roztok ledové kyseliny octové se připraví smícháním 1 dílu ledové kyseliny octové a 9 dílů roztoku Cytolyt, jak je popsáno v Příručce obsluhy ThinPrep 2000 systému.



## Očekávané výsledky na systému Panther: Prevalence vysoce rizikových typů HPV mRNA

Prevalence vysoce rizikové HPV infekce se velmi liší a je ovlivněna několika faktory, nejvíce pak věkem.<sup>19,20</sup> Mnoho studií se zabývalo prevalencí HPV jako stanovení detekce DNA HPV, ale jen několik málo studií stanovuje prevalenci na základě detekce onkogenní mRNA HPV. Ženy z různých klinických míst (n = 18), zahrnujících širokou geografickou distribuci a různorodou populaci (10 států USA) byly zařazeny do prospektivní klinické studie CLEAR pro vyhodnocení Aptima HPV Assay, který detekuje 14 vysoce rizikových typů HPV.<sup>21</sup> Vzorky žen ve studii CLEAR s pozitivními nálezy v Aptima HPV Assay na systému Panther byly v samostatné klinické studii testovány na třech testovacích místech pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther v samostatné klinické studii. Prevalence HPV typů 16, 18/45, stejně jako zbývajících 11 vysoce rizikových typů HPV, byla v klinických studiích vyhodnocena na základě výsledků testování Aptima HPV a Aptima HPV 16 18/45 Genotype na systému Panther, dále roztríděna celkově, podle věkových skupin a podle místa testování. Negativní výsledek Aptima HPV Assay na systému Panther znamená, že žádný ze 14 vysoce rizikových typů HPV nebyl přítomen, a pro účely analýzy byly výsledky označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 22 pro populaci ASC-US (s nálezem atypických dlaždicových buněk nejasného významu) a v populaci NILM (negativní pro intraepiteliální lézi či malignitu).

**Tabulka 22:** Prevalence vysoce rizikových typů HPV mRNA v populacích podle věkové skupiny, místa testování a dohromady

	Míra pozitivity % (x/n)							
	ASC-US populace (≥ 21 let)				NILM populace (≥ 30 let)			
	HPV 16 Poz	HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	11 ostatní HR* Poz	HPV 16 Poz	HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	11 ostatní HR* Poz
<b>Vše</b>	7,8 (71/911)	5,3 (48/911)	0,3 (3/911)	26,0 (237/911)	0,5 (50/10 839)	0,5 (49/10 839)	< 0,1 (1/10 839)	3,6 (391/10 839)
<b>Skupiny podle věku (roky)</b>								
<b>21 až 29</b>	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	N/A	N/A	N/A	N/A
<b>30 až 39</b>	5,5 (14/255)	6,7 (17/255)	0,4 (1/255)	23,1 (59/255)	0,7 (31/4 183)	0,7 (31/4 183)	0 (0/4 183)	5,1 (215/4 183)
<b>≥ 40</b>	1,9 (5/268)	4,1 (11/268)	0 (0/268)	11,6 (31/268)	0,3 (19/6 656)	0,3 (18/6 656)	< 0,1 (1/6 656)	2,6 (176/6 656)
<b>Testovací místo**</b>								
<b>1</b>	5,6 (17/304)	6,6 (20/304)	0,3 (1/304)	27,0 (82/304)	0,4 (16/3 610)	0,4 (16/3 610)	< 0,1 (1/3 610)	3,6 (130/3 610)
<b>2</b>	9,6 (29/303)	3,6 (11/303)	0,3 (1/303)	26,4 (80/303)	0,5 (18/3 614)	0,4 (15/3 614)	0 (0/3 614)	3,6 (130/3 614)
<b>3</b>	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3 615)	0,5 (18/3 615)	0 (0/3 615)	3,6 (131/3 615)

N/A = Neaplikovatelné, HR = Vysoce rizikové, Poz = Pozitivní

Poznámka: Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay na systému Panther byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther.

\* HPV typy 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68

\*\* V NILM populaci nebyly všechny pacientky s negativními výsledky Aptima HPV Assay na systému Panther testovány pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther. Pro analýzu výsledků dle testovacího místa byly ženy náhodně rozděleny do jednoho ze 3 testovacích míst.

## Výsledky testování na systému Panther

### Design klinické studie testování vzorků ThinPrep pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Vyhodnocení Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther bylo v USA provedeno testováním cytologických vzorků odebraných se souhlasem žen během prospektivní multicentrické klinické studie známé pod názvem CLEAR. Studie CLEAR byla provedena za účelem stanovení klinické významnosti Aptima HPV Assay na systému Tigris DTS pro detekci cervikální intraepiteliální neoplazie stupně 2 nebo více závažných cervikálních onemocnění ( $\geq$ CIN2). Ženy byly zařazeny do studie ASC-US či studie NILM na základě jejich referenčního cytologického vyšetření ThinPrep při rutinním screeningu rakoviny děložního čípku. Studie ASC-US zahrnovala populaci žen 21 let a starší s cytologickými výsledky ASC-US a studie NILM zahrnovala populaci žen 30 let a starší s cytologickými výsledky NILM.

Byly analyzovány výsledky testování žen z 18 klinických míst, především z porodnických a gynekologických klinik o široké geografické distribuci, zahrnující různorodou populaci. Během studie CLEAR byly referenční cytologické vzorky testovány jak pomocí Aptima HPV Assay na systému Tigris DTS, tak jiným testem HPV DNA, schváleným agenturou FDA. Vhodné referenční cytologické vzorky ze studie CLEAR byly testovány pomocí APTIMA HPV Assay na systému Panther. V klinické studii Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byly příslušným testem testovány referenční reziuální cytologické vzorky na systému Panther.

Všechny ženy ve studii ASC-US podstoupily kolposkopii bez ohledu na výsledky HPV testu. Byly získány vzorky z endocervikální kyretáže (ECC) a z cervikální biopsie (1 vzorek z každého ze 4 kvadrantů). U viditelných lézí byl získán přímý vzorek (přímá metoda, 1 biopsie z léze), u kvadrantů bez viditelného poškození byly biopsie odebírány náhodně z oblasti squamokolumnární junkce.

Ve studii NILM podstoupily kolposkopii ženy s pozitivním Aptima HPV Assay na systému Tigris DTS a/nebo FDA schváleným testem HPV DNA a také náhodně vybrané ženy, které byly negativní v obou testech. Vzorek z ECC byl odebrán každé ženě, která absolvovala kolposkopii. Ostatní biopsie byly získány pouze z viditelných lézí (přímá metoda, 1 biopsie z léze). Další sledování těch žen ve studii NILM, které v současnosti nemají  $\geq$ CIN2, probíhá po dobu 3 let s každoročním cytologickým vyšetřením. Ženám s nálezem ASC-US nebo se závažnějšími cytologickými výsledky v průběhu sledovaného období se odkazují na kolposkopii za použití stejného bioptického postupu pro provedení základního hodnocení.

Status onemocnění byl stanoven na základě konsensu odborné komise patologů, který byl založen na shodě názorů alespoň 2 expertních patologů. Expertní patologové u vyšetřovaných žen neznali jejich výsledky vyšetření HPV, cytologického statusu ani jiných histologických diagnóz. Aby se snížil vliv bias, výzkumní pracovníci, klinické ani vyšetřované ženy před dokončením kolposkopického vyšetření neznali výsledky testů HPV.

K potvrzení určeného použití testu Aptima 16 18/45 genotype na systému Panther jako reflexního testu pro pozitivně testované vzorky z Aptima HPV Assay, referenční cytologické vzorky všech hodnocených žen ve studiích ASC-US a NILM s pozitivním výsledkem Aptima HPV Assay byly způsobilé pro testování Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther. Byla vyhodnocena klinická významnost Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther pro detekci  $\geq$ CIN2, cervikální intraepiteliální neoplazie stupně 3 a pro závažné onemocnění děložního čípku ( $\geq$ CIN3).

## Populace ASC-US ≥ 21 let: Klinická významnost testování ThinPrep vzorků pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Celkově bylo testováno 404 žen ve věku 21 let a starších s cytologickými nálezy ASC-US a pozitivním výsledkem Aptima HPV Assay na systému Panther, jejichž referenční cytologické vzorky byly vhodné pro testování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther. U 45 žen z tohoto souboru nebyly k dispozici referenční cytologické vzorky pro testování a u 6 byla stanovena nejasná diagnóza; po analýze chybějících dat nebyly tyto ženy zahrnuty do vyhodnocení klinické významnosti testu. U zbývajících 353 hodnocených žen s průkazným statusem onemocnění bylo provedeno validní testování pomocí APTIMA HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther, založené na reflexním testování pozitivních výsledků v Aptima HPV Assay na systému Panther. Šedesát sedm (67) žen mělo ≥CIN2 a 30 mělo ≥CIN3.

Z celkového počtu 353 hodnocených žen s pozitivními výsledky Aptima HPV Assay na systému Panther mělo 118 žen pozitivní výsledky pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther, naznačující přítomnost HPV 16 a/nebo HPV 18/45; 235 mělo negativní výsledky, což ukazuje na přítomnost jednoho nebo více z dalších 11 typů vysoce rizikových HPV, které jsou detekovány pomocí Aptima HPV Assay (tj HPV typů 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68). Dalších 539 hodnocených žen ve věku 21 let a starších s cytologickými nálezy ASC-US mělo negativní výsledky Aptima HPV Assay na systému Panther. Negativní výsledek Aptima HPV Assay znamená, že žádný z 14 vysoce rizikových typů HPV nebyl přítomen a pro účely analýzy byly výsledky označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther. Prevalence ≥CIN2 resp. ≥CIN3 u hodnocených žen s cytologickými nálezy ASC-US činila 9,1 % resp. 3,8 %. Výsledky srovnání testů založených na systému Panther, tj. Aptima HPV 16 18/45 a Aptima HPV vzhledem k histologické diagnóze dle konsensu odborné komise histologů jsou prezentovány v Tabulce 23.

**Tabulka 23:** Populace ASC-US ≥ 21 let: Výsledky srovnání testů Aptima HPV 16 18/45 a Aptima HPV vzhledem k histologické diagnóze dle konsensu odborné komise histologů

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT*	Interpretace	Histologická diagnóza dle konsensu odborné komise						
			Nejasný**	Normální	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Celkem
Pozitivní	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Poz	1	26	18	11	15	0	71
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	HPV 18/45 Poz	3	23	16	2	3	1	48
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	2	132	70	23	10	0	237
Celkem			6	182	104	37	29	1	359
Negativní	HPV 16/18/45 Neg***	HR HPV Neg	13	450	75	10	4	0	552
Celkem			19	632	179	47	33	1****	911

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, CIN1 = Cervikální intraepiteliální neoplazie 1. stupně, HR = vysoce rizikové, Neg = Negativní, Poz = Pozitivní

\* Všechny vzorky měly finální výsledky (po závěrečném testování nebo po vyřešení iniciálně neplatných postupů).

\*\* U 19 žen byla provedena kolposkopie, ale diagnóza nemohla být stanovena z následujících důvodů: < 5 bioptických vzorků mělo výsledky histologie v normě/CIN1 (n = 15), bioptický vzorek se nepodařilo získat (n = 3) a bioptické sklíčko se ztratilo (n = 1).

\*\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

\*\*\*\* Jedna žena měla adenokarcinom in situ (AIS).

Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3), vyhodnocené na základě výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay je uvedeno v Tabulce 24. Riziko  $\geq$ CIN2 u žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 bylo 28,8 % v porovnání s rizikem 14,0 % u žen s jedním nebo více z ostatních 11 typů vysoce rizikových HPV a 2,6 % u žen bez průkazu vysoce rizikových typů HPV. Absolutní rizika jsou znázorněny podle věkových skupin v Tabulce 25.

**Tabulka 24:** Populace ASC-US  $\geq$  21 let: Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
<b>Pozitivní</b>	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	28,8 (34/118) (22,2, 35,7)	16,9 (20/118) (12,1, 21,8)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	37,1 (26/70) (27,4, 47,4)	21,4 (15/70) (13,8, 29,5)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	13,3 (6/45) (5,5, 25,1)	8,9 (4/45) (2,9, 19,1)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	14,0 (33/235) (10,7, 17,7)	4,3 (10/235) (2,3, 6,7)
	Poz nebo Neg	HR HPV Poz	19,0 (67/353) (16,8, 21,1)	8,5 (30/353) (7,1, 9,6)
<b>Negativní</b>	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)	0,7 (4/539) (0,2, 1,6)
Prevalence			9,1 % (81/892)	3,8 % (34/892)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 25:** Populace ASC-US ≥ 21 let: Absolutní riziko onemocnění (≥CIN2 a ≥CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay podle věkových skupin

	Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	≥CIN2	≥CIN3
				Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
21 až 29 let	Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	<b>HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz</b>	27,4 (20/73) (19,0, 36,2)	16,4 (12/73) (10,3, 22,5)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	<b>Pouze HPV 16 Poz</b>	29,4 (15/51) (18,8, 41,1)	19,6 (10/51) (11,3, 28,5)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	<b>Pouze HPV 18/45 Poz</b>	15,0 (3/20) (3,6, 34,6)	5,0 (1/20) (0,2, 21,6)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	<b>HPV 16 &amp; 18/45 Poz</b>	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45 Neg	<b>Jiné HR HPV Poz</b>	17,1 (25/146) (12,7, 21,7)	5,5 (8/146) (2,8, 8,6)
		Poz nebo Neg	<b>HR HPV Poz</b>	20,5 (45/219) (17,9, 23,0)	9,1 (20/219) (7,5, 10,2)
	Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	<b>HR HPV Neg</b>	4,2 (7/166) (1,9, 7,6)	0,6 (1/166) (0,0, 2,7)
Prevalence				13,5 % (52/385)	5,5 % (21/385)
30 až 39 let	Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	<b>HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz</b>	30,0 (9/30) (16,5, 43,9)	16,7 (5/30) (6,9, 26,2)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	<b>Pouze HPV 16 Poz</b>	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	<b>Pouze HPV 18/45 Poz</b>	13,3 (2/15) (1,3, 35,2)	13,3 (2/15) (1,3, 32,1)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	<b>HPV 16 &amp; 18/45 Poz</b>	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45 Neg	<b>Jiné HR HPV Poz</b>	12,1 (7/58) (5,7, 19,5)	3,4 (2/58) (0,5, 8,5)
		Poz nebo Neg	<b>HR HPV Poz</b>	18,2 (16/88) (13,4, 22,3)	8,0 (7/88) (4,6, 10,0)
	Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	<b>HR HPV Neg</b>	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)
Prevalence				7,6 % (19/251)	3,2 % (8/251)
≥ 40 let	Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	<b>HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz</b>	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	<b>Pouze HPV 16 Poz</b>	80,0 (4/5) (36,8, 99,0)	40,0 (2/5) (6,3, 78,2)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	<b>Pouze HPV 18/45 Poz</b>	10,0 (1/10) (0,4, 36,6)	10,0 (1/10) (0,4, 33,1)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	<b>HPV 16 &amp; 18/45 Poz</b>	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	<b>Jiné HR HPV Poz</b>	3,2 (1/31) (0,1, 13,2)	0 (0/31) (0,0, 7,8)
		Poz nebo Neg	<b>HR HPV Poz</b>	13,0 (6/46) (6,1, 19,7)	6,5 (3/46) (1,7, 10,9)
	Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	<b>HR HPV Neg</b>	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)
Prevalence				3,9 % (10/256)	2,0 % (5/256)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Relativní riziko onemocnění u pacientů ve srovnání pozitivního a negativního výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay je uvedeno v Tabulce 26. U žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 byla 11,1-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN2 a 22,8-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN3 než u žen bez průkazu vysoce rizikových typů HPV. U žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 byla 2,1-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN2 a 4,0-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN3 než u žen bez průkazu jednoho nebo více z ostatních 11 vysoce rizikových typů HPV.

**Tabulka 26:** Populace ASC-US  $\geq$  21 let: Relativní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relativní riziko (95 % CI)	Relativní riziko (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Pozitivní vs. HR HPV Negativní	11,1 (6,2, 20,0)	22,8 (8,0, 65,6)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Pozitivní vs. jiné HR HPV Pozitivní	2,1 (1,3, 3,1)	4,0 (1,9, 8,2)
Jiné HR HPV pozitivní vs. HR HPV negativní	5,4 (2,9, 9,9)	5,7 (1,8, 18,1)
HR HPV Pozitivní vs. HR HPV Negativní	7,3 (4,2, 12,8)	11,5 (4,1, 32,2)
Prevalence	9,1 % (81/892)	3,8 % (34/892)

CI = interval spolehlivosti, HR = Vysoce rizikové

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Stupně pravděpodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) podle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay jsou zobrazeny v Tabulce 27. U HPV typů 16, 18 a/nebo 45 je 4,1-krát vyšší pravděpodobnost přítomnosti u ženy s  $\geq$ CIN2 a 5,2-krát vyšší pravděpodobnost přítomnosti u ženy s  $\geq$ CIN3.

**Tabulka 27:** Populace ASC-US  $\geq$  21 let: Stupně pravděpodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Pozitivní	4,1 (2,9, 5,6)	5,2 (3,5, 7,0)
Jiné HR HPV Pozitivní	1,6 (1,2, 2,1)	1,1 (0,6, 1,8)
HR HPV Negativní	0,3 (0,2, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

CI = interval spolehlivosti, HR = Vysoce rizikové

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

## Populace NILM ≥ 30 let: Klinická významnost testování ThinPrep vzorků pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Celkově bylo testováno 512 žen ve věku 30 let a starších s cytologickými nálezy NILM a pozitivním výsledkem Aptima HPV Assay na systému Panther, jejichž referenční cytologické vzorky byly vhodné pro testování pomocí Aptima HPV Assay 16 18/45 genotype. 21 žen z tohoto souboru nemělo k dispozici referenční cytologické vzorky pro testování (11 z nich absolvovalo kolposkopické vyšetření, 10 ne); po analýze chybějících dat nebyly zahrnuty do vyhodnocení klinické významnosti testu. Zbývajících 491 hodnocených žen mělo validní výsledky testování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. U 273 z nich byla provedena kolposkopie. Čtrnáct (14) žen mělo ≥CIN2 a 10 mělo ≥CIN3; 245 žen mělo normální / CIN1 histologický nálezy; 14 žen mělo neurčený status onemocnění.

Z celkového počtu 259 hodnocených žen s pozitivními výsledky Aptima HPV Assay na systému Panther mělo 65 žen pozitivní výsledky pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther, naznačující přítomnost HPV 16 a/nebo HPV 18/45; 194 mělo negativní výsledky, což ukazuje na přítomnost jednoho nebo více z dalších 11 typů vysoce rizikových HPV. Dalších 549 hodnocených žen ve věku 30 let a starších s cytologickými nálezy NILM s průkazným statusem onemocnění mělo negativní výsledky Aptima HPV Assay na systému Panther. Negativní výsledek Aptima HPV Assay znamená, že žádný ze 14 vysoce rizikových typů HPV nebyl přítomen a pro účely analýzy byly výsledky označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na systému Panther. Výsledky srovnání testů Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay vzhledem k histologické diagnóze dle konsensu odborné komise histologů jsou prezentovány v Tabulce 28.

**Tabulka 28:** Populace NILM ≥ 30 let: Výsledky srovnání testů Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay vzhledem k histologické diagnóze dle konsensu odborné komise histologů

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT*	Interpretace	Histologická diagnóza dle konsensu odborné komise						
			Nejasný**	Normální	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Celkem
Pozitivní	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Poz	2	28	0	0	3	1	34
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	HPV 18/45 Poz	1	28	1	1	0	2	33
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	0	1	0	0	0	0	1
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	11	175	12	3	4	0	205
Celkem			14	232	13	4	7	3	273
Negativní	HPV 16/18/45 Neg***	HR HPV Neg	31	527	16	5	1	0	580
Celkem			45	759	29	9	8	3****	853

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Všechny vzorky měly platné finální výsledky (při počátečním testování nebo po vyřešení iniciálně neplatných postupů).

\*\* U 45 žen byla provedena kolposkopie, ale diagnóza nemohla být stanovena z následujících důvodů: nebylo dosaženo konsensu v důsledku neadekvátnosti vzorků (n = 29), z jiných důvodů nebylo možné odebrat biotické vzorky (n = 13), nebyla odebrána biopsie kvůli chybě (n = 3).

\*\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

\*\*\*\* Tři ženy měly adenokarcinom in situ (AIS).

Z celkového počtu 491 žen s pozitivními výsledky testů Aptima HPV na systému Panther a Aptima HPV 16 18/45 genotype na systému Panther mělo 232 žen neověřený (včetně neurčeného) status onemocnění (Tabulce 29). Z celkového počtu 10 348 žen s negativními výsledky Aptima HPV Assay z původní studie CLEAR mělo 9 799 neověřený status onemocnění. Vzhledem k tomu že studie byla designována tak, že kolposkopické vyšetření bylo provedeno jen u náhodně vybraných žen s negativními výsledky v obou testech Aptima HPV na systému Tigris DTS a testech DNA, schválených agenturou FDA, podíl žen s neověřeným statusem onemocnění byl u této skupiny vysoký (96,2 %). Pro nastavení bias byla k odhadu počtu nemocných žen, které by byly identifikovány, pokud by všechny ženy podstoupily kolposkopické vyšetření, použita metoda mnohonásobné imputace. Jsou prezentovány jak verifikačním bias upravené, tak i neupravené odhady klinické významnosti metody, založené na testování 808 žen s ověřenými statusy onemocnění.

**Tabulka 29:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Klasifikace hodnocených žen s NILM podle výsledků testování testy Aptima HPV, Aptima HPV 16 18/45 genotype a HPV DNA, status nemoci ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) a status ověření onemocnění

Výsledek Aptima HPV Assay*	Výsledek testu AHPV-GT*	Test HPV DNA	Celkem žen	Ověřený status nemoci: $\geq$ CIN2		Ověřený status nemoci: $\geq$ CIN3		Neověřený status nemoci
				Ženy s onemocněním ( $\geq$ CIN2)	Ženy bez onemocnění (<CIN2)	Ženy s onemocněním ( $\geq$ CIN3)	Ženy bez onemocnění (<CIN3)	Ženy s neznámým statusem onemocnění (% neznámý)
Pozitivní	Pozitivní	Pozitivní	88	6	52	5	53	30 (34,1 %)
	Pozitivní	Negativní	10	1	5	1	5	4 (40,0 %)
	Pozitivní	Žádný výsledek**	2	0	1	0	1	1 (50,0 %)
	Negativní	Pozitivní	291	7	169	4	172	115 (39,5 %)
	Negativní	Negativní	85	0	14	0	14	71 (83,5 %)
	Negativní	Žádný výsledek**	15	0	4	0	4	11 (73,3 %)
Celkem			491	14	245	10	249	232 (47,3 %)
Negativní	N/A***	Pozitivní	282	3	177	1	179	102 (36,2 %)
	N/A***	Negativní	9 467	2	362	0	364	9 103 (96,2 %)
	N/A***	Žádný výsledek**	599	1	4	0	5	594 (99,2 %)
Celkem			10 839	20	788	11	797	10 031 (92,5 %)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, N/A = Nehodnotitelné

\* Všechny vzorky měly platné finální výsledky (při počátečním testování nebo po vyřešení iniciálně neplatných postupů).

\*\* 616 žen s výsledky Aptima HPV Assay nemělo proveden HPV DNA test především kvůli nedostatečnému objemu vzorku.

\*\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.



Upravená absolutní rizika onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) podle výsledku testování Aptima HPV 16 18/45 genotype Assay a Aptima HPV jsou uvedena v Tabulce 30a. Riziko  $\geq$ CIN2 u žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 bylo 10,8 % v porovnání s rizikem 3,8 % u žen s jedním nebo více z ostatních 11 typů vysoce rizikových HPV a 1,0 % u žen bez průkazu vysoce rizikových typů HPV. Neupravená absolutní rizika onemocnění jsou uvedena celkově v Tabulce 30b a podle věkových skupin v Tabulce 31.

**Tabulka 30a:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (verifikačním bias upravené odhady)

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	9,7 (4,6, 20,2)	8,5 (3,8, 19,2)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	10,4 (4,0, 27,1)	10,3 (3,9, 27,1)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	8,8 (2,9, 26,4)	6,5 (1,7, 25,1)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	0,0	0,0
	HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	3,2 (1,6, 6,3)	1,8 (0,6, 4,9)
	Poz nebo Neg	HR HPV Poz	4,6 (2,8, 7,4)	3,2 (1,7, 5,9)
Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	0,7 (0,2, 2,5)	0,2 (0,0, 4,8)
Prevalence			1,1 %	0,8 %

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní, N/A = nehodnotitelné

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 30b:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (neupravené odhady)

Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	10,8 (7/65) (5,1, 17,7)	9,2 (6/65) (4,3, 14,2)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	12,5 (4/32) (3,7, 25,2)	12,5 (4/32) (3,9, 23,1)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	9,4 (3/32) (2,2, 21,8)	6,3 (2/32) (0,9, 16,8)
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	0,0 (0/1) (0,0, 93,5)	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)
	HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	3,6 (7/194) (1,7, 6,0)	2,1 (4/194) (0,7, 3,9)
	Poz nebo Neg	HR HPV Poz	5,4 (14/259) (3,7, 6,8)	3,9 (10/259) (2,6, 4,5)
Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)
Prevalence			2,5 % (20/808)	1,4 % (11/808)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní, N/A = nehodnotitelné

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 31:** Populace NILM  $\geq 30$  let: Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay podle věkových skupin (neupravené odhady)

	Výsledek Aptima HPV Assay	Výsledek testu AHPV-GT	Interpretace	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Absolutní riziko (95 % CI)	Absolutní riziko (95 % CI)
30 až 39 let	Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	8,1 (3/37) (2,0, 16,4)	5,4 (2/37) (0,9, 12,3)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	15,0 (3/20) (3,9, 30,6)	10,0 (2/20) (1,0, 22,8)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	N/A (0/0)	N/A (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	3,6 (4/111) (1,2, 6,2)	2,7 (3/111) (0,7, 4,7)
		Poz nebo Neg	HR HPV Poz	4,7 (7/148) (2,6, 6,1)	3,4 (5/148) (1,6, 4,3)
	Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)
Prevalence				2,4 % (9/378)	1,6 % (6/378)
$\geq 40$ let	Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45 Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz	14,3 (4/28) (4,8, 26,4)	14,3 (4/28) (5,0, 21,9)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	Pouze HPV 16 Poz	26,7 (4/15) (6,4, 47,9)	26,7 (4/15) (6,5, 43,1)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	Pouze HPV 18/45 Poz	0 (0/12) (0,0, 21,5)	0 (0/12) (0,0, 18,6)
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 & 18/45 Poz	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)	0,0 (0/1) (0,0, 93,1)
		HPV 16/18/45 Neg	Jiné HR HPV Poz	3,6 (3/83) (1,0, 7,8)	1,2 (1/83) (0,0, 4,1)
		Poz nebo Neg	HR HPV Poz	6,3 (7/111) (3,3, 8,9)	4,5 (5/111) (2,3, 5,4)
	Negativní	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0 (0/319) (0,0, 0,8)
Prevalence				2,6 % (11/430)	1,2 % (5/430)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Vysoce rizikový, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní, N/A = nehodnotitelné

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Relativní riziko onemocnění u pacientů ve srovnání pozitivního a negativního výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay je uvedeno v Tabulce 32 (verifikačním bias upravené) a v Tabulce 33 (neupravené). U žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 byla 12,7-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN2 a 18,4-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN3 než u žen bez průkazu vysoce rizikových typů HPV. U žen s průkazem HPV typů 16, 18 a/nebo 45 byla 2,9-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN2 a 3,8-krát vyšší pravděpodobnost onemocnění  $\geq$ CIN3 než u žen s přítomností jednoho nebo z dalších 11 typů rizikových HPV.

**Tabulka 32:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Relativní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (verifikačním bias upravené odhady)

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relativní riziko (95 % CI)	Relativní riziko (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz vs. HR HPV Neg	12,9 (3,1, 54,6)	53,3 (1,5, > 999)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz vs. jiný HR HPV Poz	3,0 (1,1, 8,8)	4,8 (1,2, 19,2)
Jiný HR HPV Poz vs. HR HPV Neg	4,3 (1,2, 15,1)	11,0 (0,4, 289,2)
HR HPV Poz vs. HR HPV Neg	6,1 (1,8, 21,0)	20,2 (0,7, 567,7)
Prevalence	1,1 %	0,8 %

CI = interval spolehlivosti, HR = Vysoce rizikové, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 33:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Relativní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (neupravené odhady)

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relativní riziko (95 % CI)	Relativní riziko (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz vs. HR HPV Neg	9,9 (3,4, 28,4)	50,7 (6,2, 414,4)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Poz vs. jiný HR HPV Poz	3,0 (1,1, 8,2)	4,5 (1,3, 15,4)
Jiný HR HPV Poz vs. HR HPV Neg	3,3 (1,1, 9,7)	11,3 (1,3, 100,7)
HR HPV Poz vs. HR HPV Neg	4,9 (1,9, 12,7)	21,2 (2,7, 164,7)
Prevalence	2,5 % (20/808)	1,4 % (11/808)

CI = interval spolehlivosti, HR = Vysoce rizikové, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Stupně pravděpodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) podle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay jsou zobrazeny v Tabulce 34 (verifikačním bias upravené) a v Tabulce 35 (neupravené). U HPV typů 16, 18 a/nebo 45 je 17,1-krát vyšší pravděpodobnost přítomnosti u ženy s  $\geq$ CIN2 a 21,9-krát vyšší pravděpodobnost přítomnosti u ženy s  $\geq$ CIN3.

**Tabulka 34:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Stupně pravděpodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (verifikačním bias upravené odhady)

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Pozitivní	11,2 (3,3, 38,4)	24,1 (2,6, 225,9)
Jiné HR HPV Pozitivní	3,5 (1,3, 9,4)	4,7 (0,7, 29,8)
HR HPV Negativní	0,8 (0,6, 1,1)	0,4 (0,1, 2,2)

CI = interval spolehlivosti, HR = Vysoce rizikové

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 35:** Populace NILM  $\geq$  30 let: Stupně pravděpodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (neupravené odhady)

Interpretace výsledků Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)	Stupeň pravděpodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Pozitivní	4,8 (2,1, 8,5)	7,4 (3,3, 12,0)
Jiné HR HPV Pozitivní	1,5 (0,7, 2,5)	1,5 (0,5, 2,9)
HR HPV Negativní	0,4 (0,2, 0,8)	0,1 (0,0, 0,6)

CI = interval spolehlivosti, HR = Vysoce rizikové

\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

## Klinická významnost testování SurePath vzorků pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

SurePath cytologické vzorky byly odebrány kanadským ženám, které byly odeslány na sledování v souvislosti s nálezem jednoho nebo více abnormálních Pap testů, HPV infekce nebo z nějakého jiného důvodu. Alikvotní podíl (0,5 ml) z každého vzorku byl přenesen do transferové zkumavky na vzorek Aptima a potom ošetřen pomocí transferového roztoku Aptima. Jeden replikát každého vzorku byl testován pomocí Aptima HPV Assay (n = 481). Pozitivní vzorky byly následně testovány pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay, výsledky jsou uvedeny v Tabulce 36. Podobné výsledky jsou uvedeny pro komerčně dostupný test HPV PCR, který rozlišuje typ HPV 16 a typ HPV 18, ale ne HPV 45, odděleně od ostatních vysoce rizikových genotypů. Relativní riziko onemocnění u pacientů s pozitivním versus negativním genotypem je ukázáno v Tabulce 37 pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a pro HPV PCR test.

**Tabulka 36:** Absolutní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a komerčně dostupného testu HPV PCR

Výsledek HR HPV	Výsledek genotypu	Interpretace	Aptima Absolutní Riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)	HPV PCR Absolutní Riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)
Pozitivní	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45* Poz	HPV 16 a/nebo HPV 18/45* Poz	12,5 (7,6 – 17,3)	14,4 (10,4 – 18,1)
	HPV 16 Poz a HPV 18/45* Neg	Pouze HPV 16 Poz	16,4 (9,2 – 23,9)	16,8 (11,6 – 21,9)
	HPV 16 Neg a/nebo HPV 18/45* Poz	Pouze HPV 18/45* Poz	3,3 (0,1 – 13,2)	7,1 (1,0 – 18,8)
	HPV 16 Poz a/nebo HPV 18/45* Poz	HPV 16 a HPV 18/45* Poz	33,3 (1,8 – 83,7)	14,3 (0,7 – 49,9)
	HPV 16 Neg a/nebo HPV 18/45* Neg	Jiné HR HPV Poz	2,0 (1,0 – 3,1)	2,1 (1,1 – 3,3)
	Poz nebo Neg	HR HPV Poz	10,2 (8,4 – 11,7)	8,5 (7,0 – 9,5)
Negativní**	HPV 16 Neg a/nebo HPV 18/45* Neg	HR HPV Neg	1,0 (0,2 – 2,4)	1,1 (0,3 – 2,8)
Prevalence (%)			4,0 %	5,0 %

HR = Vysoce rizikové, Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

\* HPV test polymerázové řetězové reakce rozlišuje pouze HPV 16 a HPV 18 z ostatních 12 vysoce rizikových genotypů, včetně HPV 45.

\*\* Ženy s negativním výsledkem Aptima HPV Assay byly pro účely analýzy označeny jako negativní pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

**Tabulka 37:** Relativní riziko onemocnění ( $\geq$ CIN3) dle výsledku Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a komerčně dostupného testu HPV PCR

Výsledek Aptima Assay		Výsledek testu HPV PCR	
Interpretace testu	Relativní riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)	Interpretace testu	Relativní riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 Pozitivní vs. HR HPV Negativní	13,1 (3,7 – 45,9)	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 pozitivní vs. HR HPV negativní	12,6 (3,8 – 41,9)
HPV 16 a/nebo HPV 18/45 pozitivní vs. jiné HR HPV pozitivní	2,0 (0,7 – 5,4)	HPV 16 a/nebo HPV 18/45 pozitivní vs. jiné HR HPV pozitivní	3,9 (1,6 – 9,5)
Jiné HR HPV pozitivní vs. HR HPV negativní	6,6 (1,6 – 27,1)	Jiné HR HPV pozitivní vs. HR HPV negativní	3,2 (0,8 – 12,8)
HR HPV pozitivní vs. HR HPV negativní	10,7 (3,3 – 35,1)	HR HPV pozitivní vs. HR HPV negativní	7,4 (2,3 – 24,3)
Prevalence	4,0 %	Prevalence	5,0 %

## Klinická významnost testování vzorků Cervical Specimen Collection and Transport pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Klinická významnost Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byla vyhodnocena s použitím CSCT vzorků získaných od žen, které byly sledovány kvůli abnormálním cytologickým výsledkům Pap. Vzorky byly nejprve testovány pomocí Aptima HPV Assay (n = 651). Vzorky s pozitivním výsledkem Aptima HPV Assay (n = 414) pak byly testovány Aptima HPV Assay 16 18/45 genotype, jak na systému Tigris DTS, tak na systému Panther.

Klinická shoda Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay pro detekci vysoce rizikových typů HPV 16, 18 a 45 pro systém Panther byla stanovena na základě výsledků testování na systému Tigris DTS jako referenční metody. Bylo vypočítáno procento pozitivní a negativní shody a související 95 % intervalem spolehlivosti. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 38.

**Tabulka 38:** Klinická shoda Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay prováděného na systému Panther pro detekci vysoce rizikových typů HPV 16, 18 a 45 v CSCT vzorcích

		Výsledky systému Tigris DTS				Celkem
		HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	
Výsledky systému Panther	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Neg	194	0	1	3	198
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Poz	0	34	0	0	34
	HPV 16 Poz, HPV 18/45 Poz	0	0	7	0	7
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	1	1	0	173	175
	<b>Celkem</b>	195	35	8	176	414

Poz = Pozitivní, Neg = Negativní

Pozitivní shoda: 98,7 % (235/238) (95 % CI: 96,4, 99,6)

Negativní shoda: 98,3 % (173/176) (95 % CI: 95,1, 99,4)

## Analytická sensitivita

Mez detekce (LOD) u klinického cut-off je taková koncentrace analytu, která ještě může být detekována v 95 % času. Stanovení LOD Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bylo odhadnuto na základě testování jednotlivých nebo směsných negativních ThinPrep vzorků s přidavkem HPV *in vitro* transkriptů nebo HPV infikovaných buněčných kultur (SiHa, HeLa, a MS751; ATCC, Manassas, Virginia) v různých koncentracích. Pro panel *in vitro* transkriptů bylo s každou ze 2 šarží reagensí testováno 60 replikátů na každé úrovni koncentrace do celkového počtu 120 replikátů. Pro panel buněčných linií bylo s každou ze 2 šarží reagensí testováno 30 replikátů na každé úrovni koncentrace do celkového počtu 60 replikátů.

Testování bylo prováděno po dobu osmi dní, přičemž každý den byly provedeny minimálně tři cykly testování a v každém cyklu bylo vyšetřeno pět replikátů daného genotypu. Detekční limit 95 % (Tabulce 39) byl vypočten probit regresní analýzou pozitivních výsledků pro každý diluční panel.

**Tabulka 39:** Stanovení detekčního limitu u klinického cutoff Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Cíl	Limit detekce* (95 % CI)
HPV 16	23,7 (19,1, 30,9)
HPV 18	26,1 (21,2, 33,9)
HPV 45	34,5 (28,5, 43,6)
SiHa	0,4 (0,3, 0,7)
HeLa	0,7 (0,4, 1,4)
MS751	0,2 (0,1, 0,3)

\* kopii na reakci pro transkripty *in vitro* a buněk na reakci pro buněčné linie

## Reprodukovatelnost testu

Reprodukovatelnost Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay byla hodnocena ve dvou studiích za pomoci stejného panelu 24 vzorků. Studie 1 byla provedena na 3 externích testovacích místech pro stanovení reprodukovatelnosti testu. Studie 2 byla pro stanovení laboratorní reprodukovatelnosti provedena na jednom místě. V panelu bylo zahrnuto 17 HPV 16 a/nebo 18/45-pozitivních vzorků s koncentrací na nebo nad limitem detekce testu (očekávaná pozitivita:  $\geq 95$  %), 3 HPV 16 a/nebo 18/45-pozitivní vzorky s koncentrací pod mezí detekce testu (očekávaná pozitivita:  $> 0$  % až  $< 25$  %) a 4 vzorky HPV-negativní. HPV 16 a/nebo 18/45-pozitivní vzorky panelu byly připraveny naředěním *in vitro* transkriptů nebo HPV-infikovaných kultivovaných buněk (SiHa, HeLa, a MS751, ATCC, Manassas, Virginia), do směsných cytologických vzorků ThinPrep nebo naředěním HPV 16, 18, a/nebo 45 pozitivních klinických vzorků do směsných cytologických vzorků ThinPrep. HPV-negativní vzorky byly připraveny smícháním negativních cytologických vzorků ThinPrep nebo byl použit roztok PreservCyt.

Ve studii 1 prováděli dva operátoři na každém ze 3 testovacích míst (1 přístroj na místo) 2 řady testování pomocí Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay denně, a to po dobu 3 dnů. Testování bylo prováděno za použití 2 šarží reagensů. Každá testovací řada obsahovala 3 replikáty z každého vzorku panelu reprodukovatelnosti. Na každý vzorek z panelu (3 testovací místa x 1 přístroj x 2 operátoři x 2 šarže x 3 dny x 3 replikáty) bylo použito sto osm (108) jednotlivých zkumavek se vzorky. Ve studii 2 bylo in-house testování prováděno po dobu 13 dnů s celkem 162 testy každého vzorku z panelu (1 testovací místo x 3 přístroje x 3 operátoři x 3 šarže x 2 řady testování x 3 replikáty).

Testované vzorky jsou popsány v Tabulce 40a a v Tabulce 40b, kde je také uvedeno shrnutí shody s očekávanými výsledky pro HPV 16 resp. HPV 18/45.

**Tabulka 40a:** Studie reprodukovatelnosti 1 a 2 Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Popis panelu vzorků a procentuální shoda s očekávanými výsledky HPV 16

Popis panelu (kopíí nebo buněk/reakce)	Očekávané výsledky HPV 16	Procento shody (95 % CI)	
		Studie 1 (3 testovací místa)	Studie 2 (1 testovací místo)
HPV 16 IVT (240 kopíí)	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (260 kopíí)	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (350 kopíí)	Negativní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV 16 klinický vzorek 1	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinický vzorek 1	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa buňky (4 buňky) & HeLa buňky (0,7 buňky)	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa buňky (0,4 buňky) & HeLa buňky (7 buněk)	Pozitivní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
SiHa buňky (0,4 buňky)	Pozitivní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
HeLa buňky (0,7 buňky)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751 buňky (0,2 buňky)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (158/159) (96,5, 99,9)
HPV 16 IVT (24 kopíí)	Pozitivní	100 (107/107) (96,5, 100)	96,9 (157/162) (93,2, 98,7)
HPV 18 IVT (26 kopíí)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (35 kopíí)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinický vzorek 2	Pozitivní	98,1 (105/107) (93,4, 99,5)	98,8 (160/162) (95,7, 99,7)
HPV 16 klinický vzorek 3	Pozitivní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
HPV 18/45 klinický vzorek 2	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinický vzorek 3	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa buňky (0,001 buňky)	Negativní	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (158/161) (94,8, 99,4)
HeLa buňky (0,001 buňky)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751 buňky (0,006 buňky)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní klinický vzorek 1	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní klinický vzorek 2	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní PreservCyt 1	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní PreservCyt 2	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = interval spolehlivosti

**Poznámka:** Procentuální shoda může být ovlivněna změnami v přidávání, ředění, a/nebo alikvotech.



**Tabulka 40b:** Studie reprodukovatelnosti 1 a 2 Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Popis panelu vzorků a procentuální shoda s očekávanými výsledky HPV 18/45

Popis panelu (kopíí nebo buněk/reakce)	Procento shody (95 % CI)		
	Očekávané výsledky HPV 18/45	Studie 1 (3 testovací místa)	Studie 2 (1 testovací místo)
HPV 16 IVT (240 kopíí)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (260 kopíí)	Pozitivní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (350 kopíí)	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinický vzorek 1	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinický vzorek 1	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa buňky (4 buňky) & HeLa buňky (0,7 buňky)	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa buňky (0,4 buňky) & HeLa buňky (7 buněk)	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa buňky (0,4 buňky)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HeLa buňky (0,7 buňky)	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751 buňky (0,2 buňky)	Pozitivní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	88,7 (141/159) (84,5, 93,5)
HPV 16 IVT (24 kopíí)	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (26 kopíí)	Pozitivní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (35 kopíí)	Pozitivní	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
HPV 16 klinický vzorek 2	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinický vzorek 3	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinický vzorek 2	Pozitivní	100 (107/107) (96,5, 100)	95,7 (155/162) (91,7, 98,0)
HPV 18/45 klinický vzorek 3	Pozitivní	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa buňky (0,001 buňky)	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
HeLa buňky (0,001 buňky)	Negativní	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
MS751 buňky (0,006 buňky)	Negativní	75,0 (81/108) (66,1, 82,2)	88,3 (143/162) (84,2, 93,2)
HPV-negativní klinický vzorek 1	Negativní	99,1 (106/107) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní klinický vzorek 2	Negativní	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní PreservCyt 1	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativní PreservCyt 2	Negativní	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = interval spolehlivosti

**Poznámka:** Procentuální shoda může být ovlivněna změnami v přidávání, ředění, a/nebo alikvotech.

**Zkřížená reaktivita**

Testování s potenciálně zkříženě reagujícími organismy pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bylo provedeno s použitím systému Tigris DTS. Výsledky viz *Zkřížená reaktivita* (Tabulce 20) v kapitole Systém Tigris DTS.

**Interference**

Testování potenciálně interferujících substancí pro Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bylo provedeno s použitím systému Tigris DTS. Výsledky viz *Interference* (Tabulce 21) v kapitole Systém Tigris DTS.

## Seznam použité literatury

1. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 189:12-19.
2. **Li N., Franceschi S., Howell-Jones R., Snijders P.J.F., Clifford G.M.** Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer.* 2011;128: 927-935. doi 10.1002/ijc.25396
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, 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. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* 325(7364): 572-579.
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. **De Sanjose S., et al.** 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet.* DOI 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
11. **Burger R.A., B. J. Monk, T. Kurosaki, H. Anton-Culver, S. Vasilv, M. L. Berman and S.P. Wilczynski.** 1996. Human Papillomavirus Type 18: Association with poor prognosis in early stage cervical cancer. *J. Nat. Cancer institute.* 88(19): 1361-1368.
12. **Safaeian M., M. Schiffman, J. Gage, D. Solomon, C. Wheeler and P. Castle.** 2009. Detection of Precancerous Cervical Lesions Is Differential by Human Papillomavirus Type. *Cancer Res.* 69(8): 3262-3266.
13. **Khan, M.J., P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder, M. Sherman, D.R. Scott, B.B. Rush, A.G. Glass and M. Schiffman.** 2005. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J. Natl. Cancer Inst.* 97(14): 1072-1079.
14. **ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.** HPV Genotyping Clinical Update. 2009. [http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical\\_update\\_20090408.pdf](http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical_update_20090408.pdf). Accessed March 22, 2012.
15. **Wright T.C., S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E.J. Wilkinson and D. Solomon.** 2007. 2006 Consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *Journal of Lower Genital Tract Disease.* 11(4):201-222.
16. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
17. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem.* 35: 1588-1594.
18. **Nelson, N.C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* 35:8429-8438.
19. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, 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.
20. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, 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.
21. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. 2013. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* 208(2):144-145.



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



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

Zákaznická podpora: +1 800 442 9892

customersupport@hologic.com

Technická podpora: +1 888 484 4747

molecularsupport@hologic.com

Pro více kontaktních informací navštivte [www.hologic.com](http://www.hologic.com).

Tento produkt je určen pouze pro použití v humánní *in vitro* diagnostice.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, PreservCyt, ThinPrep a Tigris jsou ochranné známky a/nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc., a/nebo jejích dceřiných společností na území USA a/nebo jiných zemí.

RAININ je ochranná známka Rainin Instruments, LLC.

SUREPATH a PREPSTAIN jsou ochranné známky TriPath Imaging, Inc.

Veškeré ostatní ochranné známky, které se mohou objevit v této příbalové informaci, jsou majetkem příslušných vlastníků.

Na tento výrobek se může vztahovat jeden nebo více patentů Spojených Států, které jsou uvedeny na webové stránce [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2007-2019 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.  
AW-11504-2601 Rev. 010

2019-06