

# Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Len na diagnostické použitie *in vitro*.

Len pre U.S. export.

<b>Všeobecné informácie</b> .....	<b>2</b>
Určené použitie .....	2
Zhrnutie a vysvetlenie testu .....	2
Zásady procedúry .....	3
Upozornenia a opatrenia .....	4
Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentom .....	5
Odber vzoriek a skladovanie .....	6
<b>Interpretácia testu</b> .....	<b>19</b>
<b>Obmedzenia</b> .....	<b>20</b>
<b>Očakávané výsledky systému Tigris DTS: Prevalencia vysokorizikovej HPV mRNA</b> ..	<b>21</b>
<b>Výkon testovania systému Tigris DTS</b> .....	<b>22</b>
<b>Očakávané výsledky systému Panther: Prevalencia vysokorizikovej HPV mRNA</b> .....	<b>41</b>
<b>Výkon testovania systému Panther</b> .....	<b>42</b>
<b>Literatúra</b> .....	<b>59</b>

## Tigris™ DTS™ System

<b>Tigris DTS System</b> .....	<b>8</b>
Poskytnuté reagenty a materiály .....	8
Potrebné materiály, ale dostupné samostatne.....	9
Postup testovania systému Tigris DTS.....	10
Poznámky k postupu .....	12

## Panther™ System

<b>Panther System</b> .....	<b>13</b>
Poskytnuté reagenty a materiály .....	13
Potrebné materiály, ale dostupné samostatne .....	14
Postup testovania systému Panther.....	15
Poznámky k postupu .....	17

## Všeobecné informácie

### Určené použitie

Test genotypu Aptima HPV 16 18/45 je test *in vitro* amplifikácie nukleovej kyseliny na kvalitatívnu detekciu vírusovej mediátorovej RNA E6/E7 (mRNA) z vysokorizikových typov 16, 18 a 45 vo vzorkách ľudského papilomavírusu (HPV) vo vzorkách s pozitívnymi výsledkami testu Aptima HPV. HPV mRNA sa deteguje v cytologických cervikálnych Pap vzorkách na tekutom základe odobratých vo fľaštičkách ThinPrep™ obsahujúcich roztok PreservCyt™ pred alebo po spracovaní Pap alebo vo vzorkách odobratých pomocou súpravy na odber a transport krčka maternice Aptima. Vzorky krčka maternice odobraté v konzervačnej tekutine SurePath sa môžu testovať testom genotypu Aptima HPV 16 18/45. Test sa používa so systémom Tigris DTS a systémom Panther.

### Zhrnutie a vysvetlenie testu

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

Vírusový genóm HPV je dvojláknová kruhová DNA s dĺžkou približne 7900 párov báz. Genóm má osem prekrývajúcich sa otvorených čítacích rámcov. Existuje šesť skorých (E) génov, dva neskoré (L) gény a jeden netranslatovaná dlhá kontrolná oblasť. Gény L1 a L2 kódujú hlavné a minoritné kapsidové proteíny. Skoré gény regulujú replikáciu vírusu HPV. Gény E6 a E7 vysokorizikových HPV genotypov sú známe onkogény. Proteíny exprimované z E6/E7 polycistronickej mRNA menia bunkové funkcie bunkového p53 a retinoblastómu, čo vedie k narušeniu kontrolných bodov bunkového cyklu a nestability bunkového genómu.<sup>5,6</sup>

Štrnásť genotypov HPV sa považuje za patogénne alebo vysokorizikové pre progresiu ochorenia krčka maternice.<sup>7</sup> Viacnásobné štúdie spojili genotypy 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68 s progresiou ochorenia.<sup>2,5,8</sup> Ženy s pretrvávajúcou infekciou jedným z týchto typov majú zvýšené riziko vzniku ťažkej dysplázie krčka maternice alebo karcinómu krčka maternice.<sup>7,9</sup>

Štúdie preukázali, že rôzne typy vysokorizikových HPV predstavujú rôzne úrovne rizika pre rozvoj ťažkej dysplázie alebo karcinómu krčka maternice. Na celom svete sú typy HPV 16, 18 a 45 spojené s približne 80 % všetkých invazívnych rakovín krčka maternice.<sup>2,10</sup> Tieto tri typy sa nachádzajú v 75 % všetkých skvamóznych karcinómov, pričom typ 16 obsahuje väčšinu (85 %) týchto infekcií. V adenokarcinómoch sa typy HPV 16, 18 a 45 nachádzajú v 80 % až 94 % prípadov, pričom typy 18 a 45 zahŕňajú takmer polovicu týchto infekcií.<sup>2,10</sup> Uvádza sa, že prítomnosť HPV typu 18 v skorom štádiu rakoviny krčka maternice je spojená so zlou prognózou.<sup>11</sup> HPV typy 18 a 45 sú nedostatočne hlásené v prekancerózných léziách, čo môže byť spôsobené prítomnosťou okultných lézií cervikálneho kanála neprístupných na kolposkopické vyšetrenie.<sup>12</sup> U žien infikovaných HPV typmi 16 a/alebo 18 je kumulatívne riziko vzniku cervikálneho ochorenia 10-násobne vyššie v porovnaní s rizikom vzniku ochorenia v dôsledku iných typov s vysokým rizikom.<sup>13,14,15</sup>

## Zásady procedúry

Test genotypu HPV 16 18/45 zahŕňa tri hlavné kroky, ktoré prebiehajú v jednej skúmavke: zachytenie cieľa; cieľová amplifikácia pomocou transkripčne sprostredkovanej amplifikácie (TMA);<sup>16</sup> a detekcia amplifikačných produktov (amplikón) testom hybridizačnej ochrany (HPA).<sup>17</sup> Test zahŕňa internú kontrolu (IC) na monitorovanie zachytávania, amplifikácie a detekcie nukleovej kyseliny, ako aj chyby operátora alebo prístroja.

Vzorky sa zozbierajú alebo prenesú do skúmavky obsahujúcej médium na prenos vzoriek (STM), ktoré lyzuje bunky, uvoľňuje mRNA a chráni ju pred degradáciou počas skladovania. Keď sa vykoná test genotypu Aptima HPV 16 18/45, cieľová mRNA sa izoluje zo vzorky pomocou zachytávacích oligomérov, ktoré sú spojené s magnetickými mikročasticami. Zachytávacie oligoméry obsahujú sekvencie komplementárne so špecifickými oblasťami cieľových molekúl HPV mRNA, ako aj reťazec zvyškov deoxyadenozínu. Počas kroku hybridizácie sa sekvencie špecifické pre sekvencie zachytávacích oligomérov viažu na špecifické oblasti cieľovej molekuly mRNA HPV. Zachytávací oligomér-cieľový komplex sa potom zachytí z roztoku znížením teploty reakcie na teplotu miestnosti. Táto redukcia teploty umožňuje hybridizáciu medzi deoxyadenozínovou oblasťou na zachytávacom oligoméri a polydeoxytymidínovými molekulami, ktoré sú kovalentne pripojené k magnetickým časticiam. Mikročastice, vrátane zachytených cieľových molekúl HPV mRNA, ktoré sú na ne naviazané, sú ťahané na stranu reakčnej skúmavky pomocou magnetov a supernatant je odsatý. Častice sa premyjú, aby sa odstránila zvyšková matrica vzorky, ktorá môže obsahovať inhibítory amplifikácie.

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

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

Ku každej reakcii sa pridáva IC pomocou reagentu na zachytávanie cieľov. IC monitoruje cieľové zachytenie, amplifikáciu a detekčné kroky testu. Dual Kinetic Assay (Duálne kinetické testovanie) (DKA) je metóda používaná na rozlíšenie HPV signálov a IC signálu.<sup>18</sup> IC a HPV 16 amplikón sú detegované sondami s rýchlou kinetikou emisií svetla (flasher). IC signál v každej reakcii sa od signálu HPV 16 odlišuje veľkosťou svetelnej emisie. Amplikóny špecifické pre HPV 18 a 45 sú detegované s použitím sond s relatívne pomalšou kinetikou vyžarovania svetla (glower).

## Upozornenia a opatrenia

- A. Len na diagnostické použitie *in vitro*.
- B. Pre profesionálne použitie
- C. Ďalšie špecifické upozornenia a opatrenia týkajúce sa prístrojového vybavenia nájdete v *Príručke operátora systému Tigris DTS* alebo v *Príručke operátora systému Panther*.

## Súvisiace s laboratóriom

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

## Súvisiace so vzorkami



- H. Počas prepravy a skladovania vzoriek udržiavajte správne teplotné podmienky, aby ste zabezpečili integritu vzorky. Stabilita vzorky nebola hodnotená za iných podmienok, ako sú odporúčané.
- I. Dátumy expirácie uvedené na súpravách na odber/prenos vzoriek a skúmavkách sa vzťahujú na miesto premiestnenia a nie na testovacie zariadenie. Vzorky odobraté/prenesené kedykoľvek pred týmito dátumami expirácie sú platné na testovanie za predpokladu, že boli prepravované a skladované v súlade s príslušným príbalovým letákom, a to aj v prípade, že tieto dátumy expirácie uplynuli.
- J. Vzorky môžu byť infekčné. Pri vykonávaní tohto testu použite univerzálne opatrenia. Riaditeľ laboratória musí stanoviť správne metódy manipulácie a likvidácie. Tento postup môžu vykonávať len osoby primerane vyškolené v zaobchádzaní s infekčnými materiálmi.
- K. Počas manipulácie so vzorkami sa vyhnite krížovej kontaminácii. Uistite sa, že nádoby na vzorky sa navzájom nedotýkajú a použité materiály zlikvidujte bez toho, aby prešli cez otvorené nádoby. Vymeňte si rukavice, ak sa dostanú do kontaktu so vzorkou.
- L. Kvapalina sa za určitých podmienok môže uvoľniť z uzáverov rúrok po prepichnutí. Viac informácií nájdete na *Postup testovania systému Tigris DTS* alebo *Postup testovania systému Panther*.
- M. Vzorky tekutého cytologického preparátu ThinPrep a odber a transport cervikálnych vzoriek (CSCT) Aptima by sa mali odmietnuť, ak v skúmavke na vzorky zostalo odberové zariadenie.
- N. Kvapalné cytologické vzorky SurePath by sa mali zamietnuť, ak sa v injekčnej liekovke nenachádza odberové zariadenie.

## Súvisiace s testom

- O. Reagenty skladujte pri špecifikovaných teplotách. Výkon testu môže byť ovplyvnený použitím nesprávne skladovaných reagentov.

- P. Zabráňte mikrobiálnej a ribonukleázovej kontaminácii reagentov.
- Q. Súpravu nepoužívajte po dátume expirácie.
- R. Nepremieňajte, nemiešajte ani nekombinujte testovacie reagenty alebo kalibrátory zo súprav s rôznymi číslami šarží.
- S. Testovacie tekutiny Aptima, konzervačná tekutina pre systém Aptima (len systém Tigris DTS) a reagenty Auto Detect nie sú súčasťou hlavnej šarže; môže sa použiť akákoľvek šarža.
- T. Na dosiahnutie presných výsledkov testu je potrebné dôkladné premiešanie testovacích reagentov.
- U. Musia sa použiť hroty s hydrofóbnymi zátkami.
- V. Niektoré reagenty tejto súpravy sú označené rizikovými a bezpečnostnými symbolmi.

**Poznámka:** Oznámenie o nebezpečenstve odráža klasifikácie bezpečnostných údajov EÚ (SDS). Informácie o oznámeniach o nebezpečenstve, ktoré sú špecifické pre váš región, nájdete v SDS pre jednotlivé regióny v knižnici bezpečnostných údajov na adrese [www.hologicsds.com](http://www.hologicsds.com).

Informácie EÚ o nebezpečenstve	
	<p><b>Výberový reagent</b>  <b>KYSELINA BORITÁ 1 – 5 %</b>            Hydroxid sodný &lt; 1 %  <b>VAROVANIE</b>            H315 – Spôsobuje podráždenie pokožky            H319 – Spôsobuje vážne podráždenie očí</p>
	<p><b>Reagent na zachytávanie cieľov</b>  <b>EDTA 1 – 5 %</b>            H411 – Jedovatý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami            P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia            P280 – Noste ochranné okuliare / ochranu tváre</p>

### Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentom

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

- A. Nasledujúce reagenty sa po prijatí skladujú pri teplote 2 °C až 8 °C (v chladničke):
- HPV 16 18/45 Amplifikačný reagent
  - HPV 16 18/45 Enzýmový reagent
  - HPV 16 18/45 Reagent sondy
  - HPV 16 18/45 Reagent vnútornej kontroly
  - HPV 16 18/45 Pozitívne kalibrátory a HPV 16 18/45 Negatívne kalibrátory
- B. Nasledujúce reagenty sa po prijatí skladujú pri teplote 15 °C až 30 °C (pri izbovej teplote):
- HPV 16 18/45 Amplifikačný rekonštitučný roztok
  - HPV 16 18/45 Enzýmový rekonštitučný roztok
  - HPV 16 18/45 Rekonštitučný roztok sondy
  - HPV 16 18/45 Rekonštitučný roztok vnútornej kontroly
  - HPV 16 18/45 Výberový reagent
  - Premývací roztok

Olejový reagent

Puffer pre deaktiváciu kvapalinu

Reagent automatického rozpoznania 1

Reagent automatického rozpoznania 2

Konzervačná tekutina pre systém Aptima (len systém Tigris DTS)

- C. Po rekonštitúcii sú nasledujúce reagenty stabilné 30 dní pri skladovaní pri teplote 2 °C až 8 °C:
- HPV 16 18/45 Amplifikačný reagent
  - HPV 16 18/45 Enzýmový reagent
  - HPV 16 18/45 Reagent sondy
- D. Pracovný reagent na zachytávanie cieľov (wTCR) je stabilné počas 30 dní, keď sa uchováva pri teplote 15 °C až 30 °C. Neuchovávajte v chladničke.
- E. Nepoužité rekonštituované reagenty a wTCR zlikvidujte po 30 dňoch alebo po dátume expirácie šarže matrice, podľa toho, čo nastane skôr.
- F. Reagenty pre test genotypu Aptima HPV 16 18/45 sú stabilné po dobu 48 hodín, ak sú uložené v systéme Tigris DTS.
- G. Reagenty pre test genotypu Aptima HPV 16 18/45 sú stabilné po dobu 72 hodín, ak sú uložené v systéme Panther.
- H. Reagent sondy a reagent rekonštituovanej sondy sú fotosenzitívne. Reagenty uchovávajte chránené pred svetlom.
- I. Reagenty nezmrazujte.

## Odber vzoriek a skladovanie

### A. Odber vzoriek a skladovanie

#### *Tekuté cytologické vzorky ThinPrep*

1. Vzorky krčka maternice odoberte do injekčných liekoviek ThinPrep Pap obsahujúcich roztok PreservCyt so zariadeniami na zber metľového typu alebo cytobrushmi/spatulami podľa pokynov výrobcu.
2. Pred alebo po spracovaní systémom ThinPrep 2000, systémom ThinPrep 3000, procesorom ThinPrep 5000, procesorom ThinPrep 5000 s autoloaderom alebo procesorom ThinPrep Genesis, preneste 1 ml vzorky tekutého cytologického preparátu ThinPrep do skúmavky na prenos vzorky Aptima podľa príbalového letáku pre súpravu na prenos vzoriek Aptima.

#### *Tekuté cytologické vzorky SurePath*

1. Tekutú cytologickú vzorku SurePath odoberte podľa návodu na použitie SurePath Pap Test a/alebo PrepStain System.
2. Kvapalnú cytologickú vzorku SurePath preneste do skúmavky na prenos vzoriek Aptima podľa pokynov v príbalovom letáku súpravy na prenos vzoriek Aptima.

#### *Odber vzoriek z krčka maternice a súprava na transport vzoriek Aptima*

Vzorku odoberte podľa návodu na použitie súpravy CSCT.

**B. Preprava a skladovanie pred testovaním***Tekuté cytologické vzorky ThinPrep*

1. Tekuté cytologické vzorky ThinPrep prepravujte pri teplote 2 °C až 30 °C.
2. Vzorky by sa mali preniesť do skúmavky Aptima na prenos vzorky do 105 dní od odberu.
3. Pred prenosom by sa mali vzorky ThinPrep tekutých cytologických vzoriek skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C, maximálne však 30 dní pri teplotách nad 8 °C.
4. Tekuté cytologické vzorky ThinPrep prenesené do skúmavky Aptima na prenos vzorky možno uchovávať pri teplote 2 °C až 30 °C maximálne 60 dní.
5. Ak je potrebné dlhšie uchovávanie, tekutý cytologický preparát ThinPrep alebo tekutý cytologický preparát ThinPrep zriedený v skúmavke na prenos vzoriek sa môže uchovávať pri teplote -20 °C až -70 °C až do 24 mesiacov.

*Tekuté cytologické vzorky SurePath*

1. Tekuté cytologické vzorky SurePath prepravujte pri teplote 2 °C až 25 °C.
2. Vzorky by sa mali preniesť do skúmavky Aptima na prenos vzorky do 7 dní od odberu.
3. Pred prenosom sa musia tekuté cytologické vzorky SurePath uchovávať pri teplote 2 °C až 25 °C.
4. Tekuté cytologické vzorky SurePath prenesené do skúmavky Aptima na prenos vzorky možno uchovávať pri teplote 2 °C až 25 °C maximálne 7 dní.
5. Prenesené vzorky SurePath sa musia pred testovaním s testom genotypu Aptima HPV 16 18/45 ošetriť roztokom Aptima Transfer. Ošetrené vzorky sa môžu skladovať pri teplote 2 °C až 8 °C po dobu 17 dní pred testovaním testom genotypu Aptima HPV 16 18/45. Ďalšie podrobnosti nájdete v príbalovom letáku súpravy na prenos vzoriek.

*Odber vzoriek z krčka maternice a súprava na transport vzoriek Aptima*

1. Vzorky prepravujte a skladujte pri teplote 2 °C až 30 °C maximálne 60 dní.
2. Ak je potrebné dlhšie skladovanie, vzorky transportnej súpravy sa môžu skladovať pri teplote -20 °C až -70 °C maximálne 24 mesiacov.

**C. Uchovávanie vzoriek po testovaní**

1. Vzorky, ktoré boli testované, musia byť skladované vo vzpriamenej polohe v stojane.
2. Skúmavky so vzorkami by mali byť pokryté novou, čistou plastovou alebo fóliovou bariérou.
3. Ak sa testované vzorky musia zmraziť alebo odoslať, odstráňte priehľadný uzáver a skúmavky na vzorky opatrite novými nepreniknuteľnými uzávermi. Ak sa vzorky musia prepravovať na skúšanie v inom zariadení, musia sa dodržať stanovené teploty. Pred odobratím predtým testovaných a rekapitulovaných vzoriek sa skúmavky musia odstreďovať 5 minút pri 420 Relative Centrifugal Force (relatívnej odstredivej sile) (RCF), aby sa všetka kvapalina dostala na dno skúmavky.

**Poznámka:** Vzorky sa musia prepravovať v súlade s platnými miestnymi, národnými a medzinárodnými prepravnými predpismi.

## Tigris DTS System

### Poskytnuté reagenty a materiály

Súprava Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, 100 testov (3 boxy) Kat. č. 303234

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

#### Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Chladiaci box (po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
A	<b>HPV 16 18/45 Amplifikačný reagent</b> <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufovanom roztoku obsahujúcom &lt; 5 % objemového činidla.</i>	1 liekovka
E	<b>HPV 16 18/45 Enzýmový reagent</b> <i>Reverzná transkriptáza a RNA polymeráza sušené v HEPES pufovanom roztoku obsahujúcom &lt; 10 % objemového činidla.</i>	1 liekovka
P	<b>HPV 16 18/45 Reagent sondy</b> <i>Neinfekčné chemiluminiscenčné sondy DNA (&lt; 500 ng/liekovka) sušené v roztoku pufovanom sukcinátom obsahujúcim &lt; 5 % detergentu.</i>	1 liekovka
IC	<b>HPV 16 18/45 Reagent vnútornej kontroly</b> <i>Neinfekčný transkript RNA v pufovanom roztoku obsahujúcom &lt; 5 % detergentu.</i>	1 liekovka

#### Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Box izbovej teploty (po prijatí uchovávať pri teplote 15 °C až 30 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
AR	<b>HPV 16 18/45 Amplifikačný rekonštitučný roztok</b> <i>Vodný roztok obsahujúci konzervačné látky.</i>	1 liekovka
ER	<b>HPV 16 18/45 Enzýmový rekonštitučný roztok</b> <i>Pufovaný roztok HEPES obsahuje povrchovo aktívnu látku a glycerol.</i>	1 liekovka
PR	<b>HPV 16 18/45 Rekonštitučný roztok sondy</b> <i>Sukcinátový roztok obsahuje &lt; 5 % detergentu.</i>	1 liekovka
S	<b>HPV 16 18/45 Výberový reagent</b> <i>600 mM boritanom pufovaný roztok obsahuje povrchovo aktívnu látku.</i>	1 liekovka
TCR	<b>HPV 16 18/45 Rekonštitučný roztok vnútornej kontroly</b> <i>Neinfekčná nukleová kyselina v pufovanom roztoku obsahujúcom pevnú fázu (&lt; 0,5 mg/ml).</i>	1 liekovka
	<b>Rekonštitučné prstence</b>	3
	<b>List hlavného čiarového kódu</b>	1 list



**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Box kalibrátorov (kat. č. 303235)**  
(po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
PCAL1	<b>HPV 16 18/45 Pozitívny kalibrátor 1</b> <i>Neinfekčný HPV 18 in vitro transkript v 750 kópiách na ml v pufrovanom roztoku obsahujúcom &lt; 5 % detergentu.</i>	5 liekoviek
PCAL2	<b>HPV 16 18/45 Pozitívny kalibrátor 2</b> <i>Neinfekčný HPV 16 in vitro transkript v 1000 kópiách na ml v pufrovanom roztoku obsahujúcom &lt; 5 % detergentu.</i>	5 liekoviek
NCAL	<b>HPV 16 18/45 Negatívny kalibrátor</b> <i>Pufrovaný roztok obsahuje &lt; 5 % detergentu.</i>	5 liekoviek

**Potrebné materiály, ale dostupné samostatne**

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

	<u>Kat. č.</u>
Tigris DTS System	105118
Tigris DTS System Run Kit	301191
<i>Viacskúmavkové jednotky (MTU)</i>	104772-02
<i>MTU-Tiplet odpadové vreće</i>	900907
<i>MTU odpadové deflektory</i>	900931
<i>MTU kryty na odpad</i>	105523
Aptima Assay Fluids Kit	302382
<i>(Premývací roztok Aptima, puffer pre deaktiváciu kvapaliny Aptima a olejový reagent Aptima)</i>	
Aptima Auto Detect Kit	301048
Aptima System Fluid Preservative Kit	302380
Hroty, vodivosť 1000 µl, vnímanie kvapaliny	10612513 (Tecan)
Aptima Specimen Transfer Kit	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit — na vytlačenie	PRD-05110
Odber vzoriek z krčka maternice a prenosná súprava Aptima	302657
Preniknuteľné uzávery Aptima	105668
Náhradné nepreniknuteľné uzávery	103036A
Náhradné uzávery pre 100 testovacích súprav:	
<i>Rekonštitučné roztoky pre amplifikačný reagent a reagent sondy</i>	CL0041
<i>Rekonštitučný roztok pre enzýmový reagent</i>	CL0041
<i>TCR a výberový reagent</i>	501604
Bielidlo, minimálne 5 % alebo 0,7 M roztok chlórnanu sodného	—
Voda pre Tigris DTS System	—
<i>špecifikácie nájdete v návode na obsluhu systému Tigris DTS</i>	
Jednorazové rukavice	—
Súprava Aptima Transfer Solution kit (len pre vzorky SurePath)	303658

**Voliteľné materiály**

	<u>Kat. č.</u>
Zosilňovač bielidla na čistenie	302101

## Postup testovania systému Tigris DTS

**Poznámka:** Ďalšie informácie o postupoch systému Tigris DTS nájdete v Príručke operátora systému Tigris DTS.

### A. Príprava pracovného priestoru

Vyčistite pracovné povrchy, kde budú pripravené reagenty. Pracovné plochy a pipetory utrite 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného. Roztok chlórnanu sodného nechajte minimálne 1 minútu v kontakte s povrchmi a pipetormi a potom opláchnite vodou. Nedovoľte, aby roztok chlórnanu sodného vyschol. Povrch lavice, na ktorej sa pripravujú reagenty, prikryte čistými, absorbčnými pokrývkami laboratórnych lavíc s plastovou zadnou časťou.

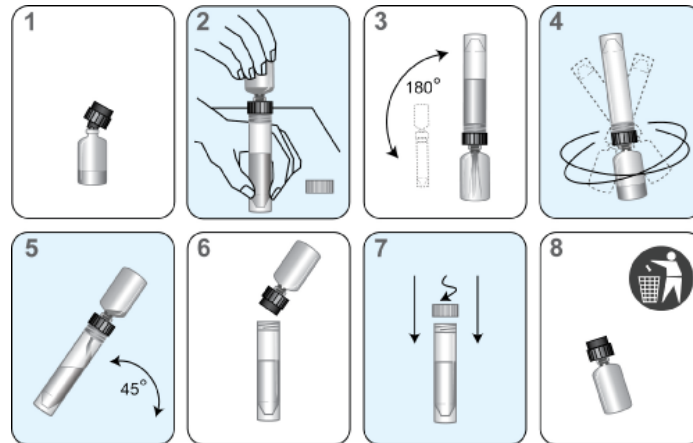
### B. Príprava reagenta novej súpravy

**Poznámka:** Rekonštitúcia reagenta vykoná pred začiatkom akejkoľvek práce na systéme Tigris DTS.

1. Na rekonštituovanie amplifikačných, enzýmových reagentov a reagentov sondy, zmiešajte fľaše lyofilizovaného reagentu s rekonštitučným roztokom. Ak sú roztoky chladené, pred použitím nechajte rekonštitučné roztoky dosiahnuť izbovú teplotu.
  - a. Každý rekonštitučný roztok spárujte s príslušným lyofilizovaným reagentom.
  - b. Skontrolujte čísla šarží na liste čiarových kódov hlavnej šarže, aby ste sa uistili, že sú spárované príslušné činidlá.
  - c. Otvorte liekovku s lyofilizovaným činidlom a pevne zasuňte vrúbkovaný koniec rekonštitučného prstenca do otvoru liekovky (Obrázok 1, krok 1).
  - d. Otvorte príslušný rekonštitučný roztok a nasadte uzáver na čistý, zakrytý pracovný povrch.
  - e. Kým držíte fľašu s roztokom na lavici, pevne zasuňte druhý koniec rekonštitučného prstenca do otvoru fľaše (Obrázok 1, krok 2).
  - f. Pomaly prevráťte zostavené fľaše. Roztok sa nechajte z fľaše vyteciť do sklenenej liekovky (Obrázok 1, krok 3).
  - g. Roztok v liekovke jemne premiešajte krúživým pohybom. Pri krútení liekovky sa vyvarujte vytváraniu peny (Obrázok 1, krok 4).
  - h. Počkajte, kým lyofilizovaný reagent prejde do roztoku, potom znova obráťte zostavené fľaše a nakloňte ich v 45° uhle, aby sa minimalizovalo penenie (Obrázok 1, krok 5). Nechajte všetku tekutinu odtiecť späť do plastovej fľaše.
  - i. Odstráňte rekonštitučný prsteneč a liekovku (Obrázok 1, krok 6).
  - j. Uzatvorte plastovú fľašu. Na štítku zaznamenajte údaje operátora a dátum rekonštitúcie (Obrázok 1, krok 7).
  - k. Vyhodte rekonštitučný prsteneč a liekovku (Obrázok 1, krok 8).

**Upozornenie:** Pri rekonštitúcii reagentov zabráňte vzniku peny. Pena zhoršuje snímanie úrovne v systéme Tigris DTS.

**Poznámka:** Pred zavedením do systému jemným prevrátením dôkladne premiešajte amplifikačné, enzýmové, sondové výberové reagenty. Počas prevrátenia reagentov nevytvárajte penu.



Obrázok 1. Postup rekonštitúcie systému Tigris DTS

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

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

#### C. Príprava reagentov pre predtým rekonštituované reagenty

1. Predtým rekonštituované amplifikačné, enzýmové a sondové reagenty musia dosiahnuť izbovú teplotu (15 °C až 30 °C) pred začiatkom testu.
2. Ak rekonštituovaný reagenčný roztok obsahuje zrazeninu, ktorá sa pri izbovej teplote nevráti do roztoku, počas 1 až 2 minút zahrievajte na teplotu, ktorá nepresiahne 60 °C. Nepoužívajte, ak je prítomná zrazenina alebo zahmlenie.

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

#### D. Manipulácia so vzorkami

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

**Poznámka:** Nedodržanie kroku 3 môže mať za následok uvoľnenie kvapaliny z uzáveru skúmavky so vzorkou.

#### E. Príprava systému

Nastavte systém a pracovný zoznam podľa pokynov uvedených v *Príručke operátora systému Tigris DTS* a nižšie v časti *Poznámky k postupu*.

## Poznámky k postupu

#### A. Kalibrátory

1. Každý pracovný zoznam musí obsahovať 2 replikácie negatívneho kalibrátora a každý pozitívny kalibrátor. Aby bolo možné pracovať správne so softvérom na test genotypu Aptima HPV 16 18/45, musí byť negatívny kalibrátor v prvej polohe prvej skúmavky v pracovnom zozname. Pozitívny kalibrátor 1 musí byť v polohe druhej skúmavky prvého stojanu pracovného zoznamu a pozitívny kalibrátor 2 musí byť v tretej polohe prvého stojanu pracovného zoznamu.
2. Pokusy o pipetovanie viac ako dvoch opakovaní z kalibračnej skúmavky môžu viesť k chybám nedostatočného objemu.
3. Kalibrátory sa majú používať so zodpovedajúcimi hlavnými šaržami reagentov. Prevádzkovateľ musí skontrolovať, či sa použila správna šarža kalibrátorov s príslušnými reagentmi súpravy hlavnej šarže, ako je uvedené na liste hlavného čiarového kódu. Pri objednávaní dodatočných kalibrátorov je potrebné uviesť vhodné číslo šarže.

#### B. Teplota

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

#### C. Prášok rukavíc

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

## Panther System

## Poskytnuté reagenty a materiály

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

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

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Chladiaci box**  
(po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
<b>A</b>	<b>HPV 16 18/45 Amplifikačný reagent</b> <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufovanom roztoku obsahujúcom &lt; 5 % objemového činidla.</i>	1 liekovka
<b>E</b>	<b>HPV 16 18/45 Enzýmový reagent</b> <i>Reverzná transkriptáza a RNA polymeráza sušené v HEPES pufovanom roztoku obsahujúcom &lt; 10 % objemového činidla.</i>	1 liekovka
<b>P</b>	<b>HPV 16 18/45 Reagent sondy</b> <i>Neinfekčné chemiluminiscenčné sondy DNA (&lt; 500 ng/liekovka) sušené v roztoku pufovanom sukcinátom obsahujúcim &lt; 5 % detergentu.</i>	1 liekovka
<b>IC</b>	<b>HPV 16 18/45 Reagent vnútornej kontroly</b> <i>Neinfekčný transkript RNA v pufovanom roztoku obsahujúcom &lt; 5 % detergentu.</i>	1 liekovka

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Box izbovej teploty**  
(po prijatí uchovávať pri teplote 15 °C až 30 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
<b>AR</b>	<b>HPV 16 18/45 Amplifikačný rekonštitučný roztok</b> <i>Vodný roztok obsahujúci konzervačné látky.</i>	1 liekovka
<b>ER</b>	<b>HPV 16 18/45 Enzýmový rekonštitučný roztok</b> <i>Pufovaný roztok HEPES obsahuje povrchovo aktívnu látku a glycerol.</i>	1 liekovka
<b>PR</b>	<b>HPV 16 18/45 Rekonštitučný roztok sondy</b> <i>Sukcinátový roztok obsahuje &lt; 5 % detergentu.</i>	1 liekovka
<b>S</b>	<b>HPV 16 18/45 Výberový reagent</b> <i>600 mM boritanom pufovaný roztok obsahuje povrchovo aktívnu látku.</i>	1 liekovka
<b>TCR</b>	<b>HPV 16 18/45 Rekonštitučný roztok vnútornej kontroly</b> <i>Neinfekčná nukleová kyselina v pufovanom roztoku obsahujúcom pevnú fázu (&lt; 0,5 mg/ml).</i>	1 liekovka
	<b>Rekonštitučné prstence</b>	3
	<b>List hlavného čiarového kódu</b>	1 list

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Box kalibrátorov (kat. č. 303235)**  
(po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
PCAL1	<b>HPV 16 18/45 Pozitívny kalibrátor 1</b> <i>Neinfekčný HPV 18 in vitro transkript v 750 kópiách na ml v pufrovanom roztoku obsahujúcom &lt; 5 % detergentu.</i>	5 liekoviek
PCAL2	<b>HPV 16 18/45 Pozitívny kalibrátor 2</b> <i>Neinfekčný HPV 16 in vitro transkript v 1000 kópiách na ml v pufrovanom roztoku obsahujúcom &lt; 5 % detergentu.</i>	5 liekoviek
NCAL	<b>HPV 16 18/45 Negatívny kalibrátor</b> <i>Pufrovaný roztok obsahuje &lt; 5 % detergentu.</i>	5 liekoviek

### Potrebné materiály, ale dostupné samostatne

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

	<u>Kat. č.</u>
Panther System	303095
Panther Run Kit	303096
<i>Aptima Assay Fluids Kit</i>	303014
<i>(Premývací roztok Aptima, puffer pre deaktiváciu kvapaliny Aptima a olejový reagent Aptima)</i>	
<i>Aptima Auto Detect Kit</i>	303013
<i>Multi-tube units (viacskúmavkové jednotky) (MTU)</i>	104772-02
<i>Súprava odpadových vriec Panther</i>	902731
<i>Súprava krytov na odpadové koše Panther</i>	504405
Hroty, vodivosť 1000 µl, vnímanie kvapaliny	10612513 (Tecan)
Aptima Specimen Transfer Kit	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit — na vytlačenie	PRD-05110
Odber vzoriek z krčka maternice a prenosná súprava Aptima	302657
Preniknuteľné uzávery Aptima	105668
Náhradné nepreniknuteľné uzávery	103036A
Náhradné uzávery pre 100 testovacích súprav:	
<i>Rekonštitučné roztoky pre amplifikačný reagent a reagent sondy</i>	CL0041
<i>Rekonštitučný roztok pre enzýmový reagent</i>	CL0041
<i>TCR a výberový reagent</i>	501604
Bielidlo, minimálne 5 % alebo 0,7 M roztok chlórnanu sodného	—
Jednorazové rukavice	—
Súprava Aptima Transfer Solution kit (len pre vzorky SurePath)	303658

### Voliteľné materiály

	<u>Kat. č.</u>
Zosilňovač bielidla na čistenie	302101

## Postup testovania systému Panther

**Poznámka:** Ďalšie informácie o postupoch systému Panther nájdete v Príručke operátora systému Panther.

### A. Príprava pracovného priestoru

Vyčistite pracovné povrchy, kde budú pripravené reagenty a vzorky. Pracovné plochy a utrite 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného. Roztok chlórnanu sodného nechajte minimálne 1 minútu v kontakte s povrchmi a potom opláchnite vodou. Nedovoľte, aby roztok chlórnanu sodného vyschol. Povrch lavice, na ktorej sa pripravujú reagenty a vzorky, prikryte čistými, absorbčnými pokrývkami laboratórných lavíc s plastovou zadnou časťou.

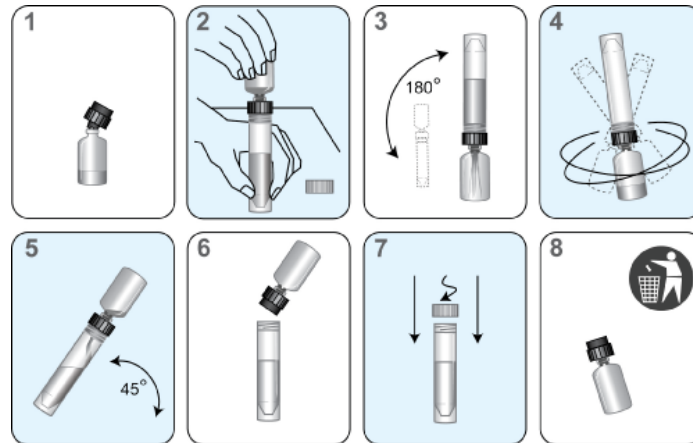
### B. Príprava reagenta novej súpravy

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

1. Na rekonštituovanie amplifikačných, enzýmových reagentov a reagentov sondy, zmiešajte fľaše lyofilizovaného reagentu s rekonštitučným roztokom. Ak sú roztoky chladené, pred použitím nechajte rekonštitučné roztoky dosiahnuť izbovú teplotu.
  - a. Každý rekonštitučný roztok spárujte s príslušným lyofilizovaným reagentom. Pred pripojením rekonštitučného prstenca sa uistite, že rekonštitučný roztok a reagent majú zodpovedajúce farby štítkov.
  - b. Skontrolujte čísla šarží na liste čiarových kódov hlavnej šarže, aby ste sa uistili, že sú spárované príslušné činidlá.
  - c. Otvorte liekovku s lyofilizovaným činidlom a pevne zasuňte vrúbkovaný koniec rekonštitučného prstenca do otvoru liekovky (Obrázok 2, krok 1).
  - d. Otvorte príslušný rekonštitučný roztok a nasadte uzáver na čistý, zakrytý pracovný povrch.
  - e. Kým držíte fľašu s roztokom na lavici, pevne zasuňte druhý koniec rekonštitučného prstenca do fľaše (Obrázok 2, krok 2).
  - f. Pomaly prevrátte zostavené fľaše. Roztok sa nechajte z fľaše vytečť do sklenenej liekovky (Obrázok 2, krok 3).
  - g. Roztok vo fľaši jemne premiešajte krúživým pohybom. Pri krútení fľaše sa vyvarujte vytváraniu peny (Obrázok 2, krok 4).
  - h. Počkajte, kým lyofilizovaný reagent prejde do roztoku, potom znova obráťte zostavené fľaše a nakloňte ich v 45° uhle, aby sa minimalizovalo penenie (Obrázok 2, krok 5). Nechajte všetku tekutinu odtiecť späť do plastovej fľaše.
  - i. Odstráňte rekonštitučný prstenec a sklenenú liekovku (Obrázok 2, krok 6).
  - j. Uzatvorte plastovú fľašu. Na štítku zaznamenajte údaje operátora a dátum rekonštitúcie (Obrázok 2, krok 7).
  - k. Vyhodte rekonštitučný prstenec a liekovku (Obrázok 2, krok 8).

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

**Poznámka:** Pred zavedením do systému jemným prevrátaním dôkladne premiešajte amplifikačné, enzýmové, sondové výberové reagenty. Počas prevrátania reagentov nevytvárajte penu.



Obrázok 2. Postup rekonštitúcie systému Panther

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

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

#### C. Príprava reagentov pre predtým rekonštituované reagenty

1. Predtým rekonštituované amplifikačné, enzýmové a sondové reagenty musia dosiahnuť izbovú teplotu (15 °C až 30 °C) pred začiatkom testu.
2. Ak rekonštituovaný reagenčný roztok obsahuje zrazeninu, ktorá sa pri izbovej teplote nevráti do roztoku, počas 1 až 2 minút zahrievajte na teplotu, ktorá nepresiahne 60 °C. Nepoužívajte, ak je prítomná zrazenina alebo zahmlenie.



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

#### D. Manipulácia so vzorkami

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

**Poznámka:** Nedodržanie kroku 3 môže mať za následok uvoľnenie kvapaliny z uzáveru skúmavky so vzorkou.

#### E. Príprava systému

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

## Poznámky k postupu

### A. Kalibrátory

1. Na správne fungovanie so softvérom testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther sú potrebné dve replikácie negatívneho kalibrátora a každého pozitívneho kalibrátora. Jedna liekovka z každého kalibrátora môže byť vložená do ktorejkoľvek polohy v stojane v pruhu vzorky na systéme Panther. Pipetovanie vzorky sa začne, keď je splnená jedna z nasledujúcich dvoch podmienok:
  - a. Pozitívne a negatívne kalibrátory sú v súčasnosti spracovávané systémom Panther.
  - b. Platné výsledky pre kalibrátory sú zaregistrované v systéme Panther.
2. Po pipetovaní skúmaviek s kalibrátorom a ich spracovaní pre špecifickú reagenčnú súpravu sa vzorky môžu spracovať s príslušnou súpravou testovacieho reagentu až 24 hodín, pokiaľ:
  - a. Kalibrátory sú neplatné.
  - b. Súprava pridruženého testovacieho reagentu sa odstráni zo systému Panther.
  - c. Súprava pridruženého testovacieho reagentu prekročila limity stability.
3. Pokusy o pipetovanie viac ako dvoch opakovaní z kalibračnej skúmavky môžu viesť k chybám nedostatočného objemu.

### B. Teplota

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

### C. Prášok rukavíc

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

## Postupy kontroly kvality

### A. Spustiť kritériá platnosti

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

- Viac ako jedna neplatná replikácia negatívneho kalibrátora.
- Viac ako jedna neplatná replikácia pozitívneho kalibrátora 1.
- Viac ako jedna neplatná replikácia pozitívneho kalibrátora 2.
- Viac ako 1 zo 6 neplatných replikácií kalibrátorov sa kombinuje.

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

Neplatný cyklus sa musí zopakovať. Prerušené cykly sa musia zopakovať.

### B. Kritériá akceptácie kalibrátora

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

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

### C. Medzná hodnota IC

Medzná hodnota IC sa stanoví zo signálu analytu IC/16 z platných replikácií negatívneho kalibrátora.

$$\text{Medzná hodnota IC} = 0,5 \times [\text{priemer IC/16 RLU platných replikácií negatívneho kalibrátora}]$$

### D. Medzná hodnota analytu 16

Medzná hodnota analytu pre HPV 16 sa stanoví zo signálu IC/16 RLU z platných replikácií negatívneho kalibrátora a platných replikácií pozitívneho kalibrátora 2.

$$\text{Medzná hodnota analytu 16} = 2 \times [\text{priemer IC/16 RLU platných replikácií negatívneho kalibrátora}] + 0,1 \times [\text{priemer IC/16 RLU platných replikácií pozitívneho kalibrátora 2}]$$

### E. Medzná hodnota analytu 18/45

Medzná hodnota analytu pre HPV 18/45 sa stanoví zo 18/45 RLU z platných replikácií negatívneho kalibrátora a platných replikácií pozitívneho kalibrátora 1.

$$\text{Medzná hodnota analytu 18/45} = 1 \times [18/45\text{ RLU platných replikácií negatívneho kalibrátora}] + 0,18 \times [\text{priemer 18/45 RLU platných replikácií pozitívneho kalibrátora 1}]$$

## Interpretácia testu

Výsledky testov sú automaticky určené testovacím softvérom. Výsledok testu môže byť negatívny pre HPV 16 aj HPV 18/45, negatívny pre HPV 16 a pozitívny pre HPV 18/45, pozitívny pre HPV 16 a negatívny pre HPV 18/45, pozitívny pre HPV 16 aj HPV 18/45 alebo neplatný, ako je určené pomermi IC RLU a S/CO, ako je opísané v tabuľke nižšie. Výsledok testu môže byť tiež neplatný kvôli iným parametrom (napríklad abnormálnemu tvaru krivky), ktoré sú mimo normálnych očakávaných rozsahov. Neplatné výsledky testu sa musia zopakovať.

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

**Poznámka:** *Nezriedujte neplatnú zriedenú vzorku. Ak zriedená vzorka poskytne neplatný výsledok, novú vzorku je potrebné odobrať od pacienta.*

<b>výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay</b>	<b>Kritériá</b>
<b>Negatívny – 16 Negatívny – 18/45</b>	<i>IC/HPV 16 RLU ≥ medzná hodnota IC a HPV 16 S/CO &lt; 1,00 a HPV 18/45 S/CO &lt; 1,00</i>
<b>Negatívny – 16 Pozitívny – 18/45</b>	<i>HPV 16 S/CO &lt; 1,00 a HPV 18/45 S/CO ≥ 1,00 a HPV 18/45 RLU ≤ 3 000 000</i>
<b>Pozitívny – 16 Negatívny – 18/45</b>	<i>HPV 16 S/CO ≥ 1,00 a IC/HPV 16 RLU ≤ 4 000 000 a HPV 18/45 S/CO &lt; 1,00</i>
<b>Pozitívny – 16 Pozitívny – 18/45</b>	<i>HPV 16 S/CO ≥ 1,00 a IC/HPV 16 RLU ≤ 4 000 000 a HPV 18/45 S/CO ≥ 1,00 a HPV 18/45 RLU ≤ 3 000 000</i>
<b>Neplatný</b>	<i>HPV 16 S/CO &lt; 1,00 a HPV 18/45 S/CO &lt; 1,00 a IC/HPV 16 RLU &lt; medzná hodnota IC a  alebo IC/HPV 16 RLU &gt; 4 000 000 a  alebo HPV 18/45 RLU &gt; 3 000 000</i>

**Obmedzenia**

- A. Druhy vzoriek odlišné od tých, ktoré boli identifikované v zamýšľanom použití, neboli vyhodnotené.
- B. Výkonnosť testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 nebola hodnotená u jedincov očkovaných HPV.
- C. Test genotypu Aptima HPV 16 18/45 nebol hodnotený v prípadoch podozrenia zo sexuálneho zneužívania.
- D. Prevalencia HPV infekcie v populácii môže ovplyvniť výkon. Pozitívne prediktívne hodnoty sa znižujú pri testovaní populácií s nízkou prevalenciou alebo u jedincov bez rizika infekcie.
- E. Tekuté cytologické vzorky ThinPrep obsahujúce menej ako 1 ml po príprave preparátu ThinPrep Pap Test sa považujú za nedostatočné na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.
- F. Výsledky testov môžu byť ovplyvnené nesprávnym odberom, skladovaním alebo spracovaním vzorky.
- G. Vnútna kontrola monitoruje cieľové zachytenie, amplifikáciu a detekčné kroky testu, nie je určená na kontrolu primeranosti odberu vzoriek z krčka maternice.
- H. Negatívny výsledok testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 nevyklučuje možnosť cytologických abnormalít alebo budúceho alebo základného CIN2, CIN3 alebo rakoviny.
- I. Test genotypu Aptima HPV 16 18/45 poskytuje aj kvalitatívne výsledky. Preto nie je možné stanoviť koreláciu medzi veľkosťou pozitívneho testovacieho signálu a úrovňou expície mRNA vo vzorke.
- J. Detekcia vysokorizikovej HPV (typy 16, 18 a 45) mRNA závisí od počtu kópií prítomných vo vzorke a môže byť ovplyvnená metódami odberu vzoriek, faktormi pacienta, štádiom infekcie a prítomnosťou interferujúcich látok.
- K. Infekcia HPV nie je indikátorom cytologického HSIL alebo základného CIN vysokého stupňa, ani neznamená, že sa vyvinie CIN2, CIN3 alebo rakovina. U väčšiny žien infikovaných jedným alebo viacerými vysokorizikovými typmi HPV sa nevyvinie CIN2, CIN3 ani rakovina.
- L. Nasledujúce výsledky môžu interferovať s výkonom testu, ak sú prítomné v koncentráciách vyšších ako sú uvedené: vaginálne lubrikanty (obsahujúce polyquaternium 15) v množstve 1 % hmot./obj., antifungálny krém (obsahujúci tiokonazol) v množstve 0,03 % hmotn./obj., 0,3 % hmotn./obj., Intravaginálne hormóny (obsahujúce progesterón) pri 1 % hmotn./obj., trichomonas vaginalis pri  $3 \times 10^4$  buniek/ml.
- M. Vysoké koncentrácie HPV 45 môžu znížiť schopnosť testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 detegovať prítomnosť HPV 16 v nízkych hladinách.
- N. Účinky iných potenciálnych premenných, ako je vaginálny výtok, použitie tampónov atď. a premenné odberu vzoriek, neboli vyhodnotené.
- O. Použitie tohto prístroja je obmedzený na personál vyškolený na používanie testu genotypu Aptima HPV 16 18/45.
- P. Krížová kontaminácia vzoriek môže spôsobiť falošne pozitívne výsledky. Miera prenosu testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Tigris DTS a Panther System bola 0,35 %, resp. 0,19 %, ako bolo stanovené v neklinických štúdiách.
- Q. Test genotypu Aptima HPV 16 18/45 je potrebné interpretovať v spojení s inými laboratórnymi a klinickými údajmi, ktoré má klinický lekár k dispozícii.

## Očakávané výsledky systému Tigris DTS: Prevalencia vysokorizikovej HPV mRNA

Prevalencia vysokorizikovej HPV infekcie sa značne líši a je ovplyvnená niekoľkými faktormi, z ktorých najväčší vplyv má vek.<sup>19,20</sup> Mnohé štúdie skúmali prevalenciu HPV stanovenú detekciou HPV DNA, avšak len málo štúdií uvádza prevalenciu na základe detekcie HPV onkogénnej mRNA. Ženy z rôznych klinických lokalít (n = 18) predstavujúce širokú geografickú distribúciu a rôznorodú populáciu (10 štátov v Spojených štátoch) boli zaradené do prospektívnej klinickej štúdie známej ako štúdia CLEAR na vyhodnotenie testu HPV Aptima, ktorý detekuje 14 vysokorizikových typov HPV.<sup>21</sup> Vzorky od žien v štúdiu CLEAR s pozitívnymi výsledkami testu HPV Aptima boli hodnotené pomocou testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 v samostatnej klinickej štúdiu. Prevalencia HPV 16, 18 a 45, ako aj zostávajúcich 11 typov vysokorizikových HPV pozorovaných v klinickej štúdiu, na základe výsledkov testovania pomocou testu Aptima HPV a testu genotypu Aptima HPV 16 18/45, bola kategorizovaná celkovo, podľa vekovej skupiny a podľa miesta testovania. Výsledky sú uvedené v Tabuľka 1 pre atypické skvamózne bunky s neurčeným významom (ASC-US) a negatívne pre populácie intraepiteliálnej lézie alebo malignity (NILM).

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

	Miera pozitivity % (x/n)							
	Populácia ASC-USA (≥21 rokov)				Populácia NILM (≥30 rokov)			
	HPV 16 poz	HPV 18/45 poz	HPV 16 a 18/45 poz	11 Iné HR* poz	HPV 16 poz	HPV 18/45 poz	HPV 16 a 18/45 poz	11 Iné HR* poz
<b>Všetky</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>Veková skupina (rokov)</b>								
<b>21 až 29</b>	13,2 (51/386)	4,9 (19/386)	0,5 (2/386)	38,3 (148/386)	Nevzťahuje sa	Nevzťahuje sa	Nevzťahuje sa	Nevzťahuje sa
<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>Testovacie miesto</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)

HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne

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

## Výkon testovania systému Tigris DTS

### Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Návrh klinickej štúdie s tekutými cytologickými vzorkami ThinPrep

Test genotypu Aptima HPV 16 18/45 bol hodnotený pomocou referenčných vzoriek Pap získaných od súhlasných žien počas prospektívnej multicentrickej US klinickej štúdie známej ako štúdia CLEAR. Štúdia CLEAR bola vykonaná s cieľom stanoviť klinický výkon testu Aptima HPV na detekciu cervikálnej intraepiteliálnej neoplázie 2. stupňa alebo závažnejšieho ochorenia krčka maternice ( $\geq$ CIN2). Ženy boli zaradené buď do štúdie ASC-US, alebo do štúdie NILM na základe ich referencie na cytologické vyšetrenie ThinPrep založené na rutinnom skríningu rakoviny krčka maternice. Študijná skupina ASC-US zahŕňala ženy vo veku 21 rokov a staršie s cytologickými výsledkami ASC-US a študijná skupina NILM zahŕňala ženy vo veku 30 rokov a staršie s NILM výsledkami cytologického vyšetrenia.

Analyzovali sa ženy z 18 klinických lokalít, predovšetkým kliniky pôrodnictva/gynekológie, ktoré pokrývali širokú geografickú distribúciu a rôznorodú populáciu. Počas štúdie CLEAR boli reziduálne referenčné vzorky Pap testované testom Aptima HPV a komerčne dostupným HPV DNA testom. Pre klinickú štúdiu testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 boli vzorky z reziduálnych referenčných vzoriek Pap testované použitím testu genotypu Aptima HPV 16 18/45.

Všetky ženy v štúdiu ASC-US boli odporúčané na kolposkopiu bez ohľadu na ich výsledky testu Aptima HPV a komerčne dostupného testu HPV DNA. Získali sa biopsie endocervikálnej kytetáže (ECC) a biopsie krčka maternice (1 biopsia z každého zo štyroch kvadrantov). Ak bola lézia viditeľná, bola získaná biopsia dierovania (riadená metóda; 1 biopsia na léziu) a kvadranty bez viditeľnej lézie boli biopsované v dlaždicovo-cylindrickom spoji (náhodná metóda).

V štúdiu NILM boli ženy pozitívne testom Aptima HPV a/alebo komerčne dostupným testom HPV DNA, rovnako ako náhodne vybrané ženy, ktoré boli negatívne pri oboch testoch, odporúčané na kolposkopiu na základné hodnotenie. Od každej ženy, ktorá sa zúčastnila kolposkopie, sa získala biopsia ECC. Dierovaná biopsia bola získaná len z viditeľných lézií (priama metóda; 1 biopsia na léziu). Sledovanie žien v štúdiu NILM, ktoré nemali  $\geq$ CIN2 na začiatku liečby, pokračuje 3 roky s každoročnými cytologickými návštevami. Ženy s ASC-US alebo závažnejšími cytologickými výsledkami počas sledovaného obdobia sú odporúčané na kolposkopiu s použitím rovnakého biopsického postupu, ktorý sa vykonal pre základné hodnotenie.

Stav ochorenia sa určil na základe konsenzuálneho panelu histologického prehľadu, ktorý sa zakladá na súhlase najmenej dvoch expertov patológov. Odborní patológovia nemali informácie o stave HPV a cytologického vyšetrenia žien, ani o vzájomných histologických diagnózach. Vyšetrovatelia, klinickí pracovníci ani ženy neboli informovaní o výsledkoch Aptima HPV assay a komerčne dostupných testov HPV DNA až do skončenia návštevy kolposkopie, aby sa predišlo skresleniu.

Na overenie zamýšľaného použitia testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 ako reflexného testu z pozitívneho výsledku testu Aptima HPV, reziduálnych referenčných vzoriek Pap od všetkých hodnotiteľných žien v štúdiu ASC-US a v štúdiu NILM so skúškou Aptima HPV pozitívny výsledok bol vhodný na testovanie s testom genotypu Aptima HPV 16 18/45. Hodnotila sa klinická výkonnosť testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na detekciu  $\geq$ CIN2 a cervikálnej intraepiteliálnej neoplázie 3. stupňa alebo závažnejšieho cervikálneho ochorenia ( $\geq$ CIN3).

## Populácia ASC-USA ≥21 rokov: Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Klinická výkonnosť s tekutými cytologickými vzorkami ThinPrep

Celkovo bolo hodnotiteľných 400 žien vo veku 21 rokov a viac s cytologickými výsledkami ASC-US a pozitívnymi výsledkami testu Aptima HPV, ktorých odporúčané vzorky Pap boli vhodné na testovanie pomocou testu genotypu Aptima HPV 16 18/45. Z nich 46 žien nemalo k dispozícii referenčné vzorky Pap pre testovanie a 6 malo neurčené diagnózy ochorenia; všetky boli vylúčené z analýzy. Zostávajúcich 348 hodnotiteľných žien s nezvratným stavom ochorenia malo platné výsledky testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 založené na reflexnom teste z pozitívneho výsledku testu Aptima HPV. Šesťdesiatdva (67) žien malo ≥CIN2 a 29 malo ≥CIN3.

Z 348 hodnotiteľných žien s pozitívnymi výsledkami Aptima HPV malo 117 pozitívnych výsledkov testu genotypu Aptima HPV 16 18/45, čo svedčí o prítomnosti HPV 16 a/alebo HPV 18/45; 231 malo negatívne výsledky, čo svedčí o prítomnosti jedného alebo viacerých z ďalších 11 vysokorizikových typov HPV, ako sa zistilo testom Aptima HPV (t.j. typy HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68). Ďalších 545 hodnotiteľných žien vo veku 21 rokov a starších s cytologickými výsledkami ASC-US malo počas štúdie CLEAR negatívne výsledky testu Aptima HPV. Negatívny výsledok Aptima HPV testu ukazuje, že nie je prítomný žiadny zo 14 vysokorizikových typov HPV a bol označený ako test genotypu Aptima HPV 16 18/45 negatívny na účely analýzy. Prevalencia ≥CIN2 a ≥CIN3 u hodnotiteľných žien s cytologickými výsledkami ASC-US bola 8,8 % a 3,7 %. Výsledky testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na základe výsledkov testu Aptima HPV a diagnostiky konsenzuálneho panelu histologického prehľadu sú uvedené v Tabuľka 2.

**Tabuľka 2:** Populácia ASC-USA ≥21 rokov: Výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay na základe diagnostiky konsenzuálneho panelu histologického prehľadu.

Výsledky HPV Aptima assay	AHPV-GT Assay výsledok*	Interpretácia	Diagnostika konsenzuálneho panelu histologického prehľadu						
			Neurčené**	Normálne	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Spolu
Pozitívne	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 a 18/45 poz	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 neg, HPV 18/45 neg	Iné HR HPV poz	2	125	73	23	10	0	233
Spolu			6	176	105	38	28	1	354
Negatívne	HPV 16/18/45 neg***	HR HPV neg	13	458	75	8	4	0	558
Spolu			19	634	180	46	32	1****	912

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, CIN1 = cervikálna intraepiteliálna neoplázia 1. stupňa, HR = vysoké riziko, Neg = Negatívne, Poz = Pozitívne

\*Všetky vzorky mali konečné výsledky (po finálnom testovaní alebo po rozpade počiatočných invalidov na procedúru).

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

\*\*\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

\*\*\*\*Jedna žena mala adenokarcinóm in situ (AIS).

Absolútne riziko ochorenia ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) je výsledkom testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 a testu Aptima HPV uvedené na Tabuľka 3. Riziko  $\geq$ CIN2 u žien s prítomnosťou HPV typov 16, 18 a/alebo 45 bolo 29,1 % v porovnaní so 14,3 % u žien s jedným alebo viacerými ďalšími 11 vysokorizikovými typmi HPV a 2,2 % u žien bez výskytu vysokorizikových typov HPV. Absolútne riziká sú uvedené podľa vekovej skupiny v Tabuľka 4.

**Tabuľka 3:** Populácia ASC-USA  $\geq$ 21 rokov: Absolútne riziká  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay

Výsledky HPV Aptima Assay	AHPV-GT Assay výsledok	Interpretácia	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolútne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)
<b>Pozitívne</b>	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo 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	HPV 16 len poz	35,7 (25/70) (26,1, 45,9)	20,0 (14/70) (12,6, 28,0)
	HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len 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 a 18/45 poz	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	14,3 (33/231) (10,9, 17,9)	4,3 (10/231) (2,4, 6,8)
	Poz alebo neg	HR HPV poz	19,3 (67/348) (17,1, 21,3)	8,3 (29/348) (6,9, 9,4)
<b>Negatívne</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)
Prevalencia			8,8 % (79/893)	3,7 % (33/893)

AHPV-GT = Test genotypu Aptima HPV 16 18/45, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne, Neg = Negatívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.



**Tabuľka 4:** Populácia ASC-USA ≥21 rokov: Absolútne riziká ≥CIN2 a ≥CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay podľa vekovej skupiny

	Výsledky HPV Aptima assay	AHPV-GT Assay výsledok	Interpretácia	≥CIN2	≥CIN3
				Absolútne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)
21 až 29 rokov	Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo 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	HPV 16 len poz	28,0 (14/50) (17,5, 39,6)	18,0 (9/50) (9,9, 26,9)
		HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len 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 a 18/45 poz	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	17,0 (25/147) (12,6, 21,5)	5,4 (8/147) (2,8, 8,5)
		Poz alebo neg	HR HPV poz	20,2 (44/218) (17,6, 22,5)	8,7 (19/218) (7,1, 9,8)
	Negatívne	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	3,6 (6/165) (1,5, 6,9)	0,6 (1/165) (0,0, 2,7)
Prevalencia				13,1 % (50/383)	5,2 % (20/383)
30 až 39 rokov	Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo 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	HPV 16 len poz	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len 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 a 18/45 poz	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	12,7 (7/55) (6,2, 20,5)	3,6 (2/55) (0,6, 9,1)
		Poz alebo neg	HR HPV poz	19,8 (17/86) (15,1, 23,9)	8,1 (7/86) (4,7, 10,3)
	Negatívne	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)	0,6 (1/167) (0,0, 2,3)
Prevalencia				7,5 % (19/253)	3,2 % (8/253)
≥40 rokov	Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo 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	HPV 16 len poz	66,7 (4/6) (27,1, 93,5)	33,3 (2/6) (6,2, 69,2)
		HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len 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 a 18/45 poz	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	3,4 (1/29) (0,1, 14,0)	0 (0/29) (0,0, 8,2)
		Poz alebo neg	HR HPV poz	13,6 (6/44) (6,5, 20,6)	6,8 (3/44) (1,8, 11,4)
	Negatívne	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)
Prevalencia				3,9 % (10/257)	1,9 % (5/257)

AHPV-GT = Test genotypu Aptima HPV 16 18/45, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne, Neg = Negatívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

Relatívne riziko ochorenia pri pozitívnych a negatívnych výsledkoch testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 je uvedené v Tabuľka 5. Ženy, ktoré mali prítomné HPV typy 16, 18 a/alebo 45, mali 13,2-krát väčšiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN2 a 22,1-krát vyššiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN3 ako ženy bez prítomnosti vysokorizikových typov HPV. Ženy, ktoré mali prítomné HPV typy 16, 18 a/alebo 45, mali 2,0-krát väčšiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN2 a 3,8-krát vyššiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN3 ako ženy s prítomnosťou jedného alebo viacerých z 11 vysokorizikových typov HPV.

**Tabuľka 5:** Populácia ASC-USA  $\geq$  21 rokov: Relatívne riziká  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay

Interpretácia výsledkov testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relatívne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)
HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívne vs HR HPV negatívne	13,2 (7,0, 24,7)	22,1 (7,7, 63,8)
HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívne vs Iné HR HPV pozitívne	2,0 (1,3, 3,1)	3,8 (1,8, 7,8)
Iné HR HPV pozitívne vs HR HPV negatívne	6,5 (3,4, 12,3)	5,9 (1,9, 18,6)
Iné HR HPV pozitívne vs HR HPV negatívne	8,7 (4,8, 15,9)	11,4 (4,0, 32,0)
Prevalencia	8,8 % (79/893)	3,7 % (33/893)

CI = Interval spoľahlivosti, HR = vysoké riziko

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

Pomer pravdepodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) je výsledkom testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 a testu Aptima HPV uvedené na Tabuľka 6. HPV typy 16, 18 a/alebo 45 boli 4,2-krát častejšie prítomné u ženy s  $\geq$ CIN2 a s 5,1-násobne vyššou pravdepodobnosťou výskytu u ženy s  $\geq$ CIN3.

**Tabuľka 6:** Populácia ASC-USA  $\geq$  21 rokov: Pomery pravdepodobnosti pre  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 výsledkami testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 a testu Aptima HPV

Interpretácia výsledkov testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Pomer pravdepodobnosti (95 % CI)	Pomer pravdepodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívne	4,2 (3,0, 5,8)	5,1 (3,4, 6,9)
Iné HR HPV pozitívne	1,7 (1,3, 2,3)	1,2 (0,6, 1,9)
HR HPV negatívne	0,2 (0,1, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

CI = Interval spoľahlivosti, HR = vysoké riziko

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

## Populácia NILM ≥30 rokov: Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Klinická výkonnosť s tekutými cytologickými vzorkami ThinPrep

Celkovo bolo hodnotiteľných 540 žien vo veku 30 rokov a viac s cytologickými výsledkami NILM a pozitívnymi výsledkami testu Aptima HPV, ktorých odporúčané vzorky Pap boli vhodné na testovanie pomocou testu genotypu Aptima HPV 16 18/45. Z nich 25 žien nemalo k dispozícii referenčné vzorky Pap pre testovanie; všetky boli vylúčené z analýzy. Zvyšných 515 hodnotiteľných žien malo platné výsledky testu genotypu Aptima HPV 16 18/45. Z nich sa 317 zúčastnilo kolposkopie. Pätnásť (15) žien malo ≥CIN2 a 10 malo ≥CIN3; 283 žien malo normálnu/CIN1 histológiu; 19 žien malo neurčený stav ochorenia.

Z 298 hodnotiteľných žien s nezvratným stavom ochorenia a pozitívnymi výsledkami Aptima HPV malo 61 pozitívnych výsledkov testu genotypu Aptima HPV 16 18/45, čo svedčí o prítomnosti HPV 16 a/alebo HPV 18/45; 237 malo negatívne výsledky, čo svedčí o prítomnosti jedného alebo viacerých z ďalších 11 vysokorizikových typov HPV. Ďalších 505 hodnotiteľných žien vo veku 30 rokov a starších s cytologickými výsledkami NILM a nezvratným stavom ochorenia malo počas štúdie CLEAR negatívne výsledky testu Aptima HPV. Negatívny výsledok Aptima HPV testu ukazuje, že nie je prítomný žiadny zo 14 vysokorizikových typov HPV a bol označený ako test genotypu Aptima HPV 16 18/45 negatívny na účely analýzy. Výsledky testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na základe výsledkov testu Aptima HPV a diagnostiky konsenzuálneho panelu histologického prehľadu sú uvedené v Tabuľka 7.

**Tabuľka 7:** Populácia NILM ≥ 30 rokov: Výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay na základe diagnostiky konsenzuálneho panelu histologického prehľadu.

Výsledky HPV Aptima assay	AHPV-GT Assay výsledok*	Interpretácia	Diagnostika konsenzuálneho panelu histologického prehľadu						
			Neurčené**	Normálne	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Spolu
Pozitívne	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 a 18/45 poz	0	0	0	0	0	0	0
	HPV 16 neg, HPV 18/45 neg	Iné HR HPV poz	16	218	11	4	4	0	253
Spolu			19	271	12	5	7	3	317
Negatívne	HPV 16/18/45 neg***	HR HPV neg	25	483	17	4	1	0	530
Spolu			44	754	29	9	8	3****	847

AHPV-GT = Test genotypu Aptima HPV 16 18/45, HR = vysoké riziko, Neg = Pozitívne, Poz = Negatívne

\*Všetky vzorky mali konečné výsledky (po finálnom testovaní alebo po rozpade počítačových invalidov na procedúru).

\*\*Návštevy na kolposkopii sa zúčastnilo 44 žien, ale diagnóza sa nedala určiť z nasledujúcich dôvodov: konsenzus sa nedal dosiahnuť kvôli nedostatočným vzorkám (n = 28), žiadne biopsie neboli odobraté kvôli základným faktorom (n = 13), žiadne zozbierané biopsie alebo nepreskúmané z dôvodu chyby (n = 3).

\*\*\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

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

Z 515 žien s pozitívnymi výsledkami testu Aptima HPV a výsledkov testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 malo 217 žien neoverený (vrátane neurčeného) stav ochorenia (Tabuľka 8). Z 10 331 žien s negatívnymi výsledkami Aptima HPV testu z pôvodnej štúdie CLEAR malo 9 826 neoverený stav ochorenia. Pretože kolposkopia sa týkala len náhodne vybraných žien s negatívnymi výsledkami pre Aptima HPV assay a komerčne dostupný test HPV DNA, podiel žien s neovereným stavom ochorenia bol v tejto skupine vysoký (96,6 %). Na prispôbenie tohto overenia skreslenia sa na odhad počtu žien s ochorením, ktoré by sa zistili, ak by všetky ženy podstúpili kolposkopiu, použila metóda viacnásobnej imputácie. Uvádzajú sa odhady výkonnosti, ktoré boli upravené na základe overenia skreslenia ako aj neupravené odhady výkonnosti na základe 803 žien s overeným stavom ochorenia.

**Tabuľka 8:** Populácia NILM ≥30 rokov: Klasifikácia hodnotiteľných NILM žien testom Aptima HPV, Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, výsledky testu HPV DNA, stav ochorenia (≥CIN2 a ≥CIN3) a stav overovania ochorenia

Výsledky HPV Aptima Assay*	AHPV-GT Assay výsledok*	HPV DNA Test	Spolu ženy	Overený stav choroby: ≥CIN2		Overený stav choroby: ≥CIN3		Neoverený stav choroby
				Ženy s ochorením (≥CIN2)	Ženy bez ochorenia (≥CIN2)	Ženy s ochorením (≥CIN3)	Ženy bez ochorenia (≥CIN3)	Ženy s neznámym stavom choroby (% neznáme)
Pozitívne	Pozitívne	Pozitívne	83	6	48	5	49	29 (34,9 %)
	Pozitívne	Negatívne	9	1	5	1	5	3 (33,3 %)
	Pozitívne	Bez výsledku**	2	0	1	0	1	1 (50,0 %)
	Negatívne	Pozitívne	271	7	171	4	174	93 (34,3 %)
	Negatívne	Negatívne	137	1	52	0	53	84 (61,3 %)
	Negatívne	Bez výsledku**	13	0	6	0	6	7 (53,8 %)
Spolu			515	15	283	10	288	217 (42,1 %)
Negatívne	Nevzťahuje sa***	Pozitívne	306	3	178	1	180	125 (40,8 %)
	Nevzťahuje sa***	Negatívne	9 420	1	322	0	323	9 097 (96,6 %)
	Nevzťahuje sa***	Bez výsledku**	605	1	0	0	1	604 (99,8 %)
Spolu			10 846	20	783	11	792	10 043 (92,6 %)

AHPV-GT = Test genotypu Aptima HPV 16 18/45

\*Všetky vzorky mali konečné výsledky (po finálnom testovaní alebo po rozpade počítačových invalidov na procedúru).

\*\*620 žien s výsledkami testu Aptima HPV nemalo výsledky testu HPV DNA primárne v dôsledku nedostatočného objemu cytologickej vzorky.

\*\*\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

Upravené absolútne riziká ochorenia (≥CIN2 a ≥CIN3) výsledkom testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 a výsledkov testu Aptima HPV sú uvedené v Tabuľka 9a. Riziko ≥CIN2 u žien s HPV typmi 16, 18 a/alebo 45 prítomnosťou bolo 12,6 % v porovnaní s 3,4 % u žien s jedným alebo viacerými ďalšími 11 vysokorizikovými typmi HPV a 0,6 % u žien bez vysokorizikových HPV typov. Neupravené absolútne riziká ochorenia sú znázornené celkovo v Tabuľka 9b a podľa vekovej skupiny v Tabuľka 10.

**Tabuľka 9a:** Populácia NILM  $\geq 30$  rokov: Absolútne riziká  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (nastavené odhady overenia skreslenia)

Výsledky HPV Aptima Assay	AHPV-GT Assay výsledok	Interpretácia	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolútne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)
Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo HPV 18/45 poz	12,6 (3,7, 21,4)	9,5 (2,1, 16,8)
	HPV 16 poz, HPV 18/45 neg	HPV 16 len poz	14,5 (2,1, 26,9)	12,1 (0,7, 23,4)
	HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len poz	10,7 (0,0, 22,5)	6,9 (0,0, 16,2)
	HPV 16 poz, HPV 18/45 poz	HPV 16 a 18/45 poz	Nevzťahuje sa	Nevzťahuje sa
	HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	3,4 (1,2, 5,6)	1,8 (0,1, 3,5)
	Poz alebo neg	HR HPV poz	5,0 (2,6, 7,5)	3,2 (1,3, 5,2)
Negatívne	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	0,6 (0,1, 1,2)	0,4 (0,0, 0,7)
Prevalencia			0,9 %	0,5 %

AHPV-GT = Test genotypu Aptima HPV 16 18/45, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne, Neg = Negatívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

**Tabuľka 9b:** Populácia NILM  $\geq 30$  rokov: Absolútne riziká  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (nenastavené odhady)

Výsledky HPV Aptima Assay	AHPV-GT Assay výsledok	Interpretácia	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolútne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)
Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo 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	HPV 16 len poz	12,9 (4/31) (4,0, 26,0)	12,9 (4/31) (4,3, 23,8)
	HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len 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 a 18/45 poz	Nevzťahuje sa (0/0)	Nevzťahuje sa (0/0)
	HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	3,4 (8/237) (1,7, 5,3)	1,7 (4/237) (0,6, 3,2)
	Poz alebo neg	HR HPV poz	5,0 (15/298) (3,6, 6,2)	3,4 (10/298) (2,3, 3,9)
Negatívne	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)
Prevalencia			2,5 % (20/803)	1,4 % (11/803)

AHPV-GT = Test genotypu Aptima HPV 16 18/45, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne, Neg = Negatívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

**Tabuľka 10:** Populácia NILM ≥30 rokov: Absolútne riziká ≥CIN2 a ≥CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay podľa vekovej skupiny (nenastavené odhady)

	Výsledky HPV Aptima assay	AHPV-GT Assay výsledok	Interpretácia	≥CIN2	≥CIN3
				Absolútne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)
30 až 39 rokov	Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo 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	HPV 16 len poz	0,0 (0/17) (0,0, 15,5)	0,0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len 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 a 18/45 poz	Nevzťahuje sa (0/0)	Nevzťahuje sa (0/0)
		HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	4,0 (5/124) (1,7, 6,2)	2,4 (3/124) (0,7, 4,2)
		Poz alebo neg	HR HPV poz	5,1 (8/158) (3,2, 6,1)	3,2 (5/158) (1,5, 4,0)
	Negatívne	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	0,5 (1/217) (0,0, 1,9)	0,5 (1/217) (0,0, 1,7)
Prevalencia				2,4 % (9/375)	1,6 % (6/375)
≥40 rokov	Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo 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	HPV 16 len poz	28,6 (4/14) (6,3, 50,7)	28,6 (4/14) (6,4, 46,5)
		HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len 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 a 18/45 poz	Nevzťahuje sa (0/0)	Nevzťahuje sa (0/0)
		HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	2,7 (3/113) (0,7, 5,8)	0,9 (1/113) (0,0, 3,1)
		Poz alebo neg	HR HPV poz	5,0 (7/140) (2,6, 7,0)	3,6 (5/140) (1,9, 4,2)
	Negatívne	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	1,4 (4/288) (0,5, 2,5)	0,0 (0/288) (0,0, 0,8)
Prevalencia				2,6 % (11/428)	1,2 % (5/428)

AHPV-GT = Test genotypu Aptima HPV 16 18/45, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne, Neg = Negatívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

Relatívne riziká ochorenia pri pozitívnych a negatívnych výsledkoch testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 je uvedené v Tabuľka 11 (nastavené overenie skreslenia) a Tabuľka 12 (nenastavené). Ženy, ktoré mali prítomné HPV typy 16, 18 a/alebo 45, mali 20,9-krát väčšiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN2 a 29,4-krát vyššiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN3 ako ženy bez prítomnosti vysokorizikových typov HPV. Ženy, ktoré mali prítomné HPV typy 16, 18 a/alebo 45, mali 3,7-krát väčšiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN2 a 5,3-krát vyššiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN3 ako ženy s prítomnosťou jedného alebo viacerých z 11 vysokorizikových typov HPV.

**Tabuľka 11:** Populácia NILM  $\geq$ 30 rokov: Relatívne riziká  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (nastavené odhady overenia skreslenia)

Interpretácia testu Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relatívne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)
HPV 16 a/alebo 18/45 poz vs HR HPV neg	20,9 (6,3, 69,3)	29,4 (7,2, 120,8)
HPV 16 a/alebo 18/45 poz vs Iné HR HPV poz	3,7 (1,5, 9,5)	5,3 (1,5, 18,2)
Iné 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)
Prevalencia	0,9 %	0,5 %

CI = Interval spoľahlivosti, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne, Neg = Negatívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

**Tabuľka 12:** Populácia NILM  $\geq$  30 rokov: Relatívne riziká  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (nenastavené odhady)

Interpretácia testu Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relatívne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)
HPV 16 a/alebo 18/45 poz vs HR HPV neg	11,6 (3,8, 35,4)	49,7 (6,1, 406)
HPV 16 a/alebo 18/45 poz vs Iné HR HPV poz	3,4 (1,3, 9,0)	5,8 (1,7, 20,0)
Iné 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)
Prevalencia	2,5 % (20/803)	1,4 % (11/803)

CI = Interval spoľahlivosti, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne, Neg = Negatívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

Pomer pravdepodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) je výsledkom testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 a testu Aptima HPV uvedené na Tabuľka 13 (nastavené overenie skreslenia) a Tabuľka 14 (nenastavené). HPV typy 16, 18 a/alebo 45 boli 17,1-krát častejšie prítomné u ženy s  $\geq$ CIN2 a s 21,9-násobne vyššou pravdepodobnosťou výskytu u ženy s  $\geq$ CIN3.

**Tabuľka 13:** Populácia NILM  $\geq$  30 rokov: Pomery pravdepodobnosti pre  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 výsledkami Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (nastavené odhady overenia skreslenia)

Interpretácia testu Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Pomer pravdepodobnosti (95 % CI)	Pomer pravdepodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/alebo 18/45 poz	17,1 (6,2, 46,9)	21,9 (7,3, 65,2)
Iné HR HPV poz	4,2 (1,7, 10,1)	3,8 (1,2, 12,6)
HR HPV Negatívne	0,7 (0,5, 1,0)	0,7 (0,4, 1,1)

CI = Interval spoľahlivosti, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

**Tabuľka 14:** Populácia NILM  $\geq$  30 rokov: Pomery pravdepodobnosti pre  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 výsledkami Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (nenastavené odhady)

Interpretácia testu Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Pomer pravdepodobnosti (95 % CI)	Pomer pravdepodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/alebo 18/45 poz	5,1 (2,3, 9,1)	7,9 (3,5, 12,9)
Iné HR HPV poz	1,4 (0,7, 2,2)	1,2 (0,4, 2,3)
HR HPV Negatívne	0,4 (0,1, 0,7)	0,1 (0,0, 0,6)

CI = Interval spoľahlivosti, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.



## Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Klinická výkonnosť s tekutými cytologickými vzorkami SurePath

Tekuté cytologické vzorky SurePath boli odobraté kanadským ženám, ktoré boli vyšetrené kvôli jednému alebo viacerým abnormálnym Pap testom, HPV infekcii alebo z nejakého iného dôvodu. Alikvótna časť (0,5 ml) každej vzorky sa preniesla do skúmavky na prenos vzorky Aptima a potom sa ošetrila použitím roztoku Aptima Transfer. Jedna replikácia každej vzorky na analýzu sa testovala testom Aptima HPV (n = 494). Pozitívne vzorky sa potom testovali na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45. Samostatná alikvótna časť (1 ml) každej vzorky sa odoberala na vyhodnotenie komerčne dostupným testom HPV PCR (n = 557). Absolútne riziko ochorenia (a  $\geq$ CIN3) podľa výsledkov testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 a testu Aptima HPV sú uvedené na Tabuľka 15. Podobné výsledky sú uvedené pre komerčne dostupný test HPV PCR, ktorý odlišuje HPV 16 a HPV 18, ale nie HPV 45, oddelene od ostatných vysokorizikových genotypov. Relatívne riziko ochorenia pre genotypovo pozitívne v porovnaní s negatívnymi výsledkami sa uvádza v Tabuľka 16 pre test genotypu Aptima HPV 16 18/45 a test HPV PCR.

**Tabuľka 15:** Absolútne riziko  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a komerčne dostupného testu HPV PCR

Výsledok HR HPV	Výsledok genotypu	Interpretácia	Absolútne riziko Aptima $\geq$ CIN3 (95 % CI)	Absolútne riziko HPV PCR $\geq$ CIN3 (95 % CI)
<b>Pozitívne</b>	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45* poz	HPV 16 a/alebo HPV 18/45* poz	14,6 (9,6 – 19,5)	14,4 (10,4 – 18,1)
	HPV 16 poz a HPV 18/45* neg	HPV 16 len poz	19,4 (12,0 – 26,8)	16,8 (11,6 – 21,9)
	HPV 16 neg a/alebo HPV 18/45* poz	HPV 18/45* len poz	3,3 (0,1 – 13,8)	7,1 (1,0 – 18,8)
	HPV 16 poz a/alebo 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/alebo HPV 18/45* neg	Iné HR HPV poz	2,5 (1,4 – 3,7)	2,1 (1,1 – 3,3)
	Poz alebo neg	HR HPV poz	9,8 (8,1 – 11,2)	8,5 (7,0 – 9,5)
<b>Negatívne**</b>	HPV 16 neg a/alebo HPV 18/45* neg	HR HPV neg	1,0 (0,2 – 2,4)	1,1 (0,3 – 2,8)
Prevalencia (%)			4,9 %	5,0 %

HR = vysokorizikové; Poz = Pozitívne; Neg = Negatívne

\* HPV PCR test len rozlišuje HPV 16 a HPV 18 od ostatných 12 vysokorizikových genotypov, vrátane HPV 45.

\*\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

**Tabuľka 16:** Relatívne riziko  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a komerčne dostupného testu HPV PCR

Výsledky testu Aptima		Výsledky testu HPV PCR	
Interpretácia testu	Relatívne riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)	Interpretácia testu	Relatívne riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)
HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívne vs HR HPV negatívne	14,8 (4,3 – 50,3)	HPV 16 a/alebo 18 pozitívne vs HR HPV negatívne	12,6 (3,8 – 41,9)
HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívne vs iné HR HPV pozitívne	2,0 (0,8 – 4,6)	HPV 16 a/alebo 18 pozitívne vs iné HR HPV pozitívne	3,9 (1,6 – 9,5)
Iné HR HPV pozitívne vs HR HPV negatívne	7,5 (2,0 – 28,6)	Iné HR HPV pozitívne vs HR HPV negatívne	3,2 (0,8 – 12,8)
HR HPV pozitívne vs HR HPV negatívne	10,0 (3,0 – 32,7)	HR HPV pozitívne vs HR HPV negatívne	7,4 (2,3 – 24,3)
Prevalencia	4,9 %	Prevalencia	5,0 %

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Klinická výkonnosť so vzorkami krčka maternice Odber a transport vzoriek**

Vzorky CSCT boli odobraté ženám pri rutinných skriningových alebo následných návštevách a testované testom Aptima HPV. Reziduálne vzorky CSCT (n = 378) s pozitívnym výsledkom testu Aptima HPV boli testované pomocou testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Tigris DTS. Genotyp HPV každej vzorky sa určil použitím testu genotypizácie DNA. Vzorky s nezhodnými výsledkami medzi genotypizačným testom (test DNA a test genotypu Aptima HPV 16 18/45) sa testovali s validovaným PCR sekvenčným testom s reverznou transkriptázou, aby sa vyriešil stav HPV 16, HPV 18 a HPV 45. Bola stanovená klinická zhoda (pozitívna a negatívna) testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na detekciu vysokorizikových HPV 16, 18 a 45. Výsledky sú uvedené v Tabuľka 17.

**Tabuľka 17:** Klinická zhoda testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Tigris DTS na detekciu vysokorizikového HPV 16, 18 a 45 v CSCT vzorkách

		Referenčná metóda				Spolu
		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	
<b>Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay</b>	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>Spolu</b>	126	44	9	199	378

Poz = pozitívne, Neg = negatívne

Pozitívna zhoda: 98,3 % (176/179) (95 % CI: 95,2, 99,4)

Negatívna zhoda: 99,0 % (197/199) (95 % CI: 96,4, 99,7)

## Analytická citlivosť

Detekčný limit (LOD) pri klinickej medznej hodnote je koncentrácia, ktorá je pozitívna (nad klinickou medznou hodnotou) v 95 % prípadov. LOD testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 sa stanovil testovaním individuálnych negatívnych klinických tekutých cytologických vzoriek ThinPrep obohatených HPV *in vitro* transkriptmi pri rôznych koncentráciách. Testovalo sa tridsať opakovaní každej úrovne kópie s každou z dvoch šarží reagentov na celkom 90 opakovaní. Testovanie sa uskutočňovalo počas šiestich dní, pričom každý deň sa vykonali minimálne tri cykly a päť opakovaní pre daný genotyp testovaný v každom cykle. 95 % detekčný limit (Tabuľka 18) sa vypočítal z regresnej analýzy výsledkov pozitivity Probit pre každý dilučný panel.

**Tabuľka 18:** Detekčný limit na klinickej medznej hranici Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Cieľ	Limit detekcie* (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)

\*kópie na reakciu pre *in vitro* transkripty a bunky na reakciu pre bunkové línie

## Presnosť testu

Presnosť testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 bola hodnotená v dvoch štúdiách s použitím rovnakého 22-členného panelu. Na stanovenie reprodukovateľnosti testu sa Štúdia 1 uskutočnila na 3 externých testovacích miestach. Na stanovenie laboratórnej presnosti bola Štúdia 2 vykonaná interne. Panel zahŕňal 14 pozitívnych členov HPV 16 a/alebo 18/45 s koncentraciami pri alebo nad hranicou detekcie testu (očakávaná pozitivita:  $\geq 95\%$ ), 5 HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívnych členov s koncentraciami pod hranicou detekcie testu (očakávaná pozitivita:  $> 0\%$  až  $< 25\%$ ) a 3 HPV-negatívne členy. HPV 16 a/alebo 18/45-pozitívne členy panelu sa pripravili pestovaním HPV-infikovaných kultivovaných buniek (SiHa, HeLa a MS751; ATCC, Manassas, Virginia) do spojených reziduálnych tekutých cytologických vzoriek ThinPrep alebo riedenia HPV 16, 18 a/alebo 45 klinických vzoriek do spojených reziduálnych tekutých cytologických vzoriek ThinPrep. HPV-negatívne členy panelu sa pripravili zo spojených tekutých cytologických vzoriek ThinPrep.

V Štúdiu 1, 2 operátori v každej z troch testovacích lokalít (1 prístroj na miesto) vykonali 2 pracovné zoznamy testu geotypu Aptima HPV 16 18/45 za deň počas 3 dní. Testovanie sa uskutočnilo použitím 1 reagenčnej šarže. Každý pracovný zoznam obsahoval 3 replikácie každý člen panelu reprodukovateľnosti. Stoosem (108) jednotlivých skúmviek so vzorkami sa testovalo pre každý člen panelu (3 miesta x 1 prístroj x 2 operátori x 1 dávka x 2 pracovné zoznamy za deň x 3 dni x 3 opakovania). V štúdiu 2 sa testovanie uskutočňovalo interne počas 20 dní s celkovo 162 reakciami testovanými pre každý člen panelu (1 miesto x 3 nástroje x 3 operátori x 3 dávky x 2 pracovné zoznamy x 3 opakovania).

Členy panelu sú opísané v Tabuľka 19a a Tabuľka 19b, spolu so zhrnutím zhody s očakávanými výsledkami pre HPV 16 a HPV 18/45.

**Tabuľka 19a:** Štúdia presnosti 1 a 2 Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Popis panelov a percentuálna zhoda s očakávanými výsledkami HPV 16

Opis panela (bunky/reakcia)	HPV 16 Očakávané výsledky	Percentuálna zhoda (95 % CI)	
		Štúdia 1 (3 testovacie miesta)	Štúdia 2 (1 testovacie miesto)
SiHa bunky (3,0 bunky)	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa bunky (0,6 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751 bunky (11,0 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinická vzorka 1	Pozitívne	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinická vzorka 1	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa bunky (1,6 bunky) a HeLa bunky (3,3 bunky)	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa bunky (1,6 bunky) a MS751 bunky (42,5 bunky)	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa bunky (15,7 bunky) a HeLa bunky (0,3 bunky)	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa bunky (15,7 bunky) a MS751 bunky (4,3 bunky)	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa bunky (1,6 bunky)	Pozitívne	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
HeLa bunky (0,3 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
MS751 bunky (4,3 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinická vzorka 2	Pozitívne	97,2 (104/107) (92,1, 99,0)	94,4 (152/161) (88,7, 97,0)
HPV 18/45 klinická vzorka 2	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa bunky (0,1 bunky)	Negatívne	85,2 (92/108) (77,3, 90,7)	84,6 (137/162) (78,2, 89,3)
HeLa bunky (0,02 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751 bunky (0,04 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinická vzorka 3	Negatívne	95,4 (103/108) (89,6, 98,0)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 18/45 klinická vzorka 3	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV-negatívna klinická vzorka 1	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatívna klinická vzorka 2	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatívna klinická vzorka 3	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = Interval spoľahlivosti skóre

**Poznámka:** Percentuálna dohoda mohla byť ovplyvnená zmenami v pestovaní, riedení a/alebo rozdelení.

**Tabuľka 19b:** Štúdia presnosti 1 a 2 Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Popis panelov a percentuálna zhoda s očakávanými výsledkami HPV 18/45

Opis panela (bunky/reakcia)	Percentuálna zhoda (95 % CI)		
	HPV 18/45 Očakávané výsledky	Štúdia 1 (3 testovacie miesta)	Štúdia 2 (1 testovacie miesto)
SiHa bunky (3,0 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
HeLa bunky (0,6 bunky)	Pozitívne	93,5 (101/108) (87,2, 96,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
MS751 bunky (11,0 bunky)	Pozitívne	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 16 klinická vzorka 1	Negatívne	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinická vzorka 1	Pozitívne	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa bunky (1,6 bunky) a HeLa bunky (3,3 bunky)	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa bunky (1,6 bunky) a MS751 bunky (42,5 bunky)	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa bunky (15,7 bunky) a HeLa bunky (0,3 bunky)	Pozitívne	63,9 (69/108) (54,5, 72,3)	67,7 (109/161) (60,1, 74,4)
SiHa bunky (15,7 bunky) a MS751 bunky (4,3 bunky)	Pozitívne	98,1 (106/108) (93,5, 99,5)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
SiHa bunky (1,6 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HeLa bunky (0,3 bunky)	Pozitívne	71,3 (77/108) (62,1, 79,0)	92,5 (149/161) (87,4, 95,7)
MS751 bunky (4,3 bunky)	Pozitívne	86,1 (93/108) (78,3, 91,4)	69,1 (112/162) (61,6, 75,7)
HPV 16 klinická vzorka 2	Negatívne	100 (107/107) (96,5, 100)	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)
HPV 18/45 klinická vzorka 2	Pozitívne	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	79,6 (129/162) (72,8, 85,1)
SiHa bunky (0,1 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa bunky (0,02 bunky)	Negatívne	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	86,4 (140/162) (80,3, 90,9)
MS751 bunky (0,04 bunky)	Negatívne	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
HPV 16 klinická vzorka 3	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV 18/45 klinická vzorka 3	Negatívne	80,6 (87/108) (72,1, 86,9)	81,5 (132/162) (74,8, 86,7)
HPV-negatívna klinická vzorka 1	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV-negatívna klinická vzorka 2	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatívna klinická vzorka 3	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

CI = Interval spoľahlivosti skóre

**Poznámka:** Percentuálna dohoda mohla byť ovplyvnená zmenami v pestovaní, riedení a/alebo rozdelení.

### Križová reaktivita

Analytická špecificita testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 bola hodnotená pomocou skupín reziduálnych tekutých cytologických vzoriek ThinPrep zriedených 1:2,9 do STM (porovnateľné so vzorkou prenesenou do skúmavky Aptima Transfer) a obohatených kultivovanými baktériami, kvasinkami alebo hubami; kultivovaného vírusu; alebo necielených HPV *in vitro* transkriptov. Organizmy a testované koncentrácie, pre ktoré nebola pozorovaná skrížená reaktivita, sú identifikované v Tabuľka 20. Kritériá štúdie na hodnotenie účinku prítomnosti mikroorganizmu na špecifickosť testu boli založené na pozitívite.

**Tabuľka 20:** Panel analytickej špecifickosti: organizmy a koncentrácia bez križovej reaktivity

Organizmus	Test Koncentrácia bez križovej reaktivity	Organizmus	Test Koncentrácia bez križovej reaktivity
<b>Baktérie</b>			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium*</i>	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 <sup>5</sup> IFU/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Prevotaella bivia</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml		
<b>Necielené vysokorizikové HPV genotypy*</b>			
HPV 31	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml	HPV 56	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml
HPV 33	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml	HPV 58	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml
HPV 35	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml	HPV 59	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml
HPV 39	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml	HPV 66	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml
HPV 51	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml	HPV 68	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml
HPV 52	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml		
<b>Kvasinky/prvoky</b>			
<i>Candida albicans</i>	1x10 <sup>5</sup> CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis**</i>	1x10 <sup>5</sup> bunky/ml
<b>Vírusy</b>			
Adenovírus	5,25x10 <sup>7</sup> PFU/ml	HIV-1	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml
Cytomegalovírus	1,58x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	Herpes simplex vírus 1	3,39x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml

Tabuľka 20: Panel analytickej špecifickosti: organizmy a koncentrácia bez krížovej reaktivity (pokračovanie)

Organizmus	Test Koncentrácia bez krížovej reaktivity	Organizmus	Test Koncentrácia bez krížovej reaktivity
Vírus Epsteina a Barrovej	1,59x10 <sup>5</sup> _TD <sub>50</sub> /ml	Herpes simplex vírus 2	2,29x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
<b>Necielené iné HPV genotypy*</b>			
HPV 6	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml	HPV 53	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml
HPV 11	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml	HPV 67	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml
HPV 26	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml	HPV 69	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml
HPV 30	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml	HPV 70	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml
HPV 34	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml	HPV 73	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml
HPV 42	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml	HPV 82	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml
HPV 43	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml	HPV 85	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml
HPV 44	2,5x10 <sup>6</sup> kópii/ml		

CFU = jednotky tvoriace kolónie, PFU = jednotky vytvárajúce plaky, TD<sub>50</sub> = transformačná dávka 50, TCID<sub>50</sub> = tkanivová kultúra infekčná dávka 50

\**in vitro* testovaný transkript.

\*\*Hoci nebola pozorovaná žiadna krížová reaktivita pre trichomonas vaginalis, bola pozorovaná interferencia (pozri nižšie).

Analytická citlivosť testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 v prítomnosti mikroorganizmov bola hodnotená na rovnakom paneli, ktorý bol opísaný v Tabuľka 20, a ktorý bol tiež obohatený nízkou koncentráciou HPV infikovaných SiHa buniek (1,6 bunky na reakciu) a HPV infikovaných HeLa bunike (0,3 bunky/reakcia). Kritériá štúdie na hodnotenie účinku prítomnosti mikroorganizmu na citlivosť testu boli založené na pozitívite. Prítomnosť mikroorganizmov neinterferovala s testom genotypu Aptima HPV 16 18/45 s výnimkou trichomonas vaginalis (TV). Interferencia bola pozorovaná pri TV, ak bola prítomná v koncentráciách vyšších ako 3 x 10<sup>4</sup> buniek/ml.

## Interferencia

Látky opísané v Tabuľka 21 boli jednotlivo obohatené do spojených ThinPrep tekutých cytologických vzoriek zriedených 1:2,9 v STM pri koncentráciách špecifikovaných v tabuľke. Všetky látky boli testované v rámci testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 v prítomnosti a neprítomnosti kultivovaných buniek infikovaných HPV (SiHa, 1,6 bunky/reakcia a HeLa, 0,3 bunky/reakcia). Interferencia bola pozorovaná s nasledujúcimi, ak sú prítomné v koncentráciách vyšších ako sú uvedené: vaginálne lubrikanty (obsahujúce polyquaternium 15) v množstve 1 % hmot./obj., antifungálny krém (obsahujúci tiokonazol) v množstve 0,03 % hmotn./obj. 0,3 % hmotn./obj., Intravaginálne hormóny (obsahujúce progesterón) pri 1 % hmotn./obj.

**Tabuľka 21:** Látky testované na možnú interferenciu s Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Kategória produktu	Produktová značka alebo typ	Najvyššia testovaná koncentrácia, ktorá neinterferovala s testom*
Vaginálny lubrikant	KY tekutina pre prirodzený pocit	10 % v/v
	up & up (Cieľová značka) osobná lubrikačná tekutina	
	Astroglide**	1 % hmot./obj.
Spermicid/antikoncepčné želé	Vaginálna antikoncepčná pena (VCF)	10 % hmot./obj.
	Options Conceptrol vaginálny antikoncepčný gél	
Antifungálny krém	up & up (Cieľová značka) miconazole 3	10 % hmot./obj.
	Monistat 3 kombinované balenie	
	up & up (Cieľová značka) Tioconazole 1	0,03 % hmot./obj.
Preplach	Preplach Summer's Eve	10 % v/v
	up & up (Cieľová značka) preplach pre ženy	
Sprej pre ženy	Dezodorant pre ženy Summer's Eve	10 % hmot./obj.
	Dezodorant pre ženy FDS	
Hlien	Bravčový mucín	0,3 % hmot./obj.
Intravaginálne hormóny	Vaginálny krém Estrace (estrogén)	10 % hmot./obj.
	Krém Crinone (progesterón)	1 % hmot./obj.
Plná krv***	plná krv	5 % v/v
Leukocyty	leukocyty	1x10 <sup>7</sup> bunky/ml
Roztok na premývanie s ľadovou kyselinou octovou <sup>^</sup>	Ľadová kyselina octová + roztok Cytolyt	2,6 % v/v

\*koncentrácia v skúšobnej vzorke; tekutá cytologická vzorka ThinPrep zriedená v pomere 1:2,9 do STM (porovnateľná so vzorkou prenesenou do skúmavky Aptima Transfer).

\*\*Osobný lubrikant, ktorý obsahuje Polyquaternium 15.

\*\*\*plná krv interferovala s testom, keď bola prítomná v testovacej koncentrácii 10 % v/v

<sup>^</sup>umývací roztok ľadovej kyseliny octovej pripravený zmiešaním 1 dielu ľadovej kyseliny octovej a 9 dielov roztoku Cytolyt, ako je uvedené v príručke operátora systému ThinPrep 2000.



## Očakávané výsledky systému Panther: Prevalencia vysokorizikovej HPV mRNA

Prevalencia vysokorizikovej HPV infekcie sa značne líši a je ovplyvnená niekoľkými faktormi, z ktorých najväčší vplyv má vek.<sup>19,20</sup> Mnohé štúdie skúmali prevalenciu HPV stanovenú detekciou HPV DNA, avšak len málo štúdií uvádza prevalenciu na základe detekcie HPV onkogénnej mRNA. Ženy z rôznych klinických lokalít (n = 18) predstavujúce širokú geografickú distribúciu a rôznorodú populáciu (10 štátov v Spojených štátoch) boli zaradené do prospektívnej klinickej štúdie známej ako štúdia CLEAR na vyhodnotenie testu HPV Aptima, ktorý detekuje 14 vysokorizikových typov HPV.<sup>21</sup> Vzorky od žien v štúdiu CLEAR s pozitívnymi výsledkami testu HPV Aptima na systéme Panther boli hodnotené na troch testovacích miestach pomocou testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther v samostatnej klinickej štúdiu. Prevalencia HPV 16, 18/45, ako aj zostávajúcich 11 typov vysokorizikových HPV pozorovaných v klinickej štúdiu, na základe výsledkov testovania pomocou testu Aptima HPV a testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther, bola kategorizovaná celkovo, podľa vekovej skupiny a podľa miesta testovania. Negatívny výsledok Aptima HPV testu na systéme Panther ukazuje že nie je prítomný žiadny zo 14 vysokorizikových typov HPV a bol označený ako typ genotypu Aptima HPV 16 18/45 negatívny na systéme Panther na účely analýzy. Výsledky sú uvedené v Tabuľka 22 pre ASC-US (atypické skvamózne bunky s neurčeným významom) a negatívne pre populácie intraepiteliálnej lézie alebo malignity.

**Tabuľka 22:** Prevalencia vysokorizikovej HPV mRNA v populáciách podľa vekovej skupiny, testovacieho miesta a všetkých kombinovane

	Miera pozitivity % (x/n)							
	Populácia ASC-USA (≥21 rokov)				Populácia NILM (≥30 rokov)			
	HPV 16 poz	HPV 18/45 poz	HPV 16 a 18/45 poz	11 Iné HR* poz	HPV 16 poz	HPV 18/45 poz	HPV 16 a 18/45 poz	11 Iné HR* poz
<b>Všetky</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>Veková skupina (rokov)</b>								
<b>21 až 29</b>	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	Nevzťahuje sa	Nevzťahuje sa	Nevzťahuje sa	Nevzťahuje sa
<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>Testovacie miesto**</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)

HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne

Poznámka: Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV na systéme Panther boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther.

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

\*\* V populácii NILM neboli všetky subjekty s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV na systéme Panther testované s testom genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther. Na účely analýzy na mieste testovania boli výsledky týchto žien náhodne zaradené do jednej z troch testovacích miest.

## Výkon testovania systému Panther

### Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Návrh klinickej štúdie s tekutými cytologickými vzorkami ThinPrep

Test genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther bol hodnotený pomocou referenčných cytologických vzoriek získaných od súhlasných žien počas prospektívnej multicentrickej US klinickej štúdie známej ako štúdia CLEAR. Štúdia CLEAR bola vykonaná s cieľom stanoviť klinický výkon testu Aptima HPV na systéme Tigris DTS na detekciu cervikálnej intraepiteliálnej neoplázie 2. stupňa alebo závažnejšieho ochorenia krčka maternice ( $\geq$ CIN2). Ženy boli zaradené buď do štúdie ASC-US, alebo do štúdie NILM na základe ich referencie na cytologické vyšetrenie ThinPrep založené na rutinnom skríningu rakoviny krčka maternice. Študijná skupina ASC-US zahŕňala ženy vo veku 21 rokov a staršie s cytologickými výsledkami ASC-US a študijná skupina NILM zahŕňala ženy vo veku 30 rokov a staršie s NILM výsledkami cytologického vyšetrenia.

Analyzovali sa ženy z 18 klinických lokalít, predovšetkým kliniky pôrodnictva/gynekológie, ktoré pokrývali širokú geografickú distribúciu a rôznorodú populáciu. Počas štúdie CLEAR boli reziduálne referenčné cytologické vzorky testované testom Aptima HPV na systéme Tigris DTS a s FDA-schváleným HPV DNA testom. Vhodné reziduálne vzorky cytologického vyšetrenia zo štúdie CLEAR boli testované testom Aptima HPV na systéme Panther. Pre klinickú štúdiu testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 boli vzorky z reziduálnych referenčných cytologických vzoriek testované testom genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther.

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

V štúdií NILM boli ženy pozitívne testom Aptima HPV na systéme Tigris DTS a/alebo s FDA-schváleným testom HPV DNA, rovnako ako náhodne vybrané ženy, ktoré boli negatívne pri oboch testoch, odporučené na kolposkopiu na základné hodnotenie. Od každej ženy, ktorá sa zúčastnila kolposkopie, sa získala biopsia ECC. Dierovaná biopsia bola získaná len z viditeľných lézií (priama metóda; 1 biopsia na léziu). Sledovanie žien v štúdií NILM, ktoré nemajú  $\geq$ CIN2, pokračuje 3 roky s každoročnými cytologickými návštevami. Ženy s ASC-US alebo závažnejšími cytologickými výsledkami počas sledovaného obdobia sú odporúčané na kolposkopiu s použitím rovnakého biopsického postupu, ktorý sa vykonal pre základné hodnotenie.

Stav ochorenia sa určil na základe konsenzuálneho panelu histologického prehľadu, ktorý sa zakladá na súhlase najmenej dvoch expertov patológov. Odborní patológovia nemali informácie o stave HPV a cytologického vyšetrenia žien, ani o vzájomných histologických diagnózach. Vyšetrovatelia, klinickí pracovníci ani ženy neboli informovaní o výsledkoch testov HPV do skončenia návštevy kolposkopie, aby sa predišlo skresleniu.

Na overenie zamýšľaného použitia testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 ako reflexného testu pre pozitívnu vzorku testu Aptima HPV, reziduálnych referenčných cytologických vzoriek od všetkých hodnotiteľných žien v štúdií ASC-US a v štúdií NILM s testom Aptima HPV pozitívny výsledok bol vhodný na testovanie s testom genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther. Hodnotila sa klinická výkonnosť testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther na detekciu  $\geq$ CIN2 a cervikálnej intraepiteliálnej neoplázie 3. stupňa alebo závažnejšieho cervikálneho ochorenia ( $\geq$ CIN3).

## Populácia ASC-USA ≥21 rokov: Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Klinická výkonnosť s tekutými cytologickými vzorkami ThinPrep

Celkovo bolo hodnotiteľných 404 žien vo veku 21 rokov a viac s cytologickými výsledkami ASC-US a pozitívnymi výsledkami testu Aptima HPV na systéme Panther, ktorých odporúčané cytologické vzorky boli vhodné na testovanie pomocou testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther. Z toho 45 žien nemalo dostatočný objem vzorky pre referenčnú cytologickú vzorku dostupnú na testovanie v tejto štúdii a 6 malo neurčené diagnózy ochorenia; po analýze chýbajúcich hodnôt neboli zahrnuté do výpočtov výkonnosti. 353 hodnotiteľných žien s nezvratným stavom ochorenia malo platné výsledky testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther založené na reflexnom teste z pozitívneho výsledku testu Aptima HPV na systéme Panther. Šesťdesiatsedem (67) žien malo ≥CIN2 a 30 malo ≥CIN3.

Z 353 hodnotiteľných žien s pozitívnymi výsledkami testu Aptima HPV malo 118 pozitívnych výsledkov testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther, čo svedčí o prítomnosti HPV 16 a/alebo HPV 18/45 na systéme Panther; 235 malo negatívne výsledky, čo svedčí o prítomnosti jedného alebo viacerých z ďalších 11 vysokorizikových typov HPV, ako sa zistilo testom Aptima HPV (t.j. typy HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68). Ďalších 539 hodnotiteľných žien vo veku 21 rokov a starších s cytologickými výsledkami ASC-US malo negatívne výsledky testu Aptima HPV na systéme Panther. Negatívny výsledok testu Aptima HPV ukazuje, že nie je prítomný žiadny zo 14 vysokorizikových typov HPV a bol označený ako negatívny na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther na účely analýzy. Prevalencia ≥CIN2 a ≥CIN3 u hodnotiteľných žien s cytologickými výsledkami ASC-US bola 9,1 % a 3,8 %. Na základe testovania so systémom Panther sú výsledky testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na základe výsledkov testu Aptima HPV a diagnostiky konsenzuálneho panelu histologického prehľadu prezentované na Tabuľka 23.

**Tabuľka 23:** Populácia ASC-USA ≥21 rokov: Výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay na základe diagnostiky konsenzuálneho panelu histologického prehľadu.

Výsledky HPV Aptima assay	AHPV-GT Assay výsledok*	Interpretácia	Diagnostika konsenzuálneho panelu histologického prehľadu						
			Neurčené**	Normálne	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Spolu
Pozitívne	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 a 18/ 45 poz	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 neg, HPV 18/45 neg	Iné HR HPV poz	2	132	70	23	10	0	237
Spolu			6	182	104	37	29	1	359
Negatívne	HPV 16/18/45 neg***	HR HPV neg	13	450	75	10	4	0	552
Spolu			19	632	179	47	33	1****	911

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, CIN1 = cervikálna intraepiteliálna neoplázia 1. stupňa, HR = vysoké riziko, Neg = Negatívne, Poz = Pozitívne

\*Všetky vzorky mali konečné výsledky (po finálnom testovaní alebo po rozpade počiatočných invalidov na procedúru).

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

\*\*\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

\*\*\*\*Jedna žena mala adenokarcinóm in situ (AIS).

Absolútne riziko ochorenia ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) je výsledkom testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 a testu Aptima HPV uvedené na Tabuľka 24. Riziko  $\geq$ CIN2 u žien s prítomnosťou HPV typov 16, 18 a/alebo 45 bolo 28,8 % v porovnaní so 14,0 % u žien s jedným alebo viacerými ďalšími 11 vysokorizikovými typmi HPV a 2,6 % u žien bez výskytu vysokorizikových typov. Absolútne riziko je uvedené podľa vekovej skupiny v Tabuľka 25.

**Tabuľka 24:** Populácia ASC-USA  $\geq$  21 rokov: Absolútne riziko  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay

Výsledky HPV Aptima Assay	AHPV-GT Assay výsledok	Interpretácia	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolútne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)
<b>Pozitívne</b>	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo 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	HPV 16 len poz	37,1 (26/70) (27,4, 47,4)	21,4 (15/70) (13,8, 29,5)
	HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len 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 a 18/45 poz	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	14,0 (33/235) (10,7, 17,7)	4,3 (10/235) (2,3, 6,7)
	Poz alebo neg	HR HPV poz	19,0 (67/353) (16,8, 21,1)	8,5 (30/353) (7,1, 9,6)
<b>Negatívne</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)
Prevalencia			9,1 % (81/892)	3,8 % (34/892)

AHPV-GT = Test genotypu Aptima HPV 16 18/45, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne, Neg = Negatívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

**Tabuľka 25:** Populácia ASC-USA ≥ 21 rokov: Absolútne riziko ≥CIN2 a ≥CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay podľa vekovej skupiny

	Výsledky HPV Aptima assay	AHPV-GT Assay výsledok	Interpretácia	≥CIN2	≥CIN3
				Absolútne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)
21 až 29 rokov	Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo HPV 18/45 poz	27,4 (20/73) (19,0, 36,2)	16,4 (12/73) (10,3, 22,5)
		HPV 16 poz, HPV 18/45 neg	HPV 16 len poz	29,4 (15/51) (18,8, 41,1)	19,6 (10/51) (11,3, 28,5)
		HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len poz	15,0 (3/20) (3,6, 34,6)	5,0 (1/20) (0,2, 21,6)
		HPV 16 poz, HPV 18/45 poz	HPV 16 a 18/45 poz	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	17,1 (25/146) (12,7, 21,7)	5,5 (8/146) (2,8, 8,6)
		Poz alebo neg	HR HPV poz	20,5 (45/219) (17,9, 23,0)	9,1 (20/219) (7,5, 10,2)
	Negatívne	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	4,2 (7/166) (1,9, 7,6)	0,6 (1/166) (0,0, 2,7)
Prevalencia				13,5 % (52/385)	5,5 % (21/385)
30 až 39 rokov	Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo HPV 18/45 poz	30,0 (9/30) (16,5, 43,9)	16,7 (5/30) (6,9, 26,2)
		HPV 16 poz, HPV 18/45 neg	HPV 16 len poz	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len poz	13,3 (2/15) (1,3, 35,2)	13,3 (2/15) (1,3, 32,1)
		HPV 16 poz, HPV 18/45 poz	HPV 16 a 18/45 poz	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	12,1 (7/58) (5,7, 19,5)	3,4 (2/58) (0,5, 8,5)
		Poz alebo neg	HR HPV poz	18,2 (16/88) (13,4, 22,3)	8,0 (7/88) (4,6, 10,0)
	Negatívne	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)
Prevalencia				7,6 % (19/251)	3,2 % (8/251)
≥40 rokov	Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo 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	HPV 16 len poz	80,0 (4/5) (36,8, 99,0)	40,0 (2/5) (6,3, 78,2)
		HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len poz	10,0 (1/10) (0,4, 36,6)	10,0 (1/10) (0,4, 33,1)
		HPV 16 poz, HPV 18/45 poz	HPV 16 a 18/45 poz	---(0/0)	---(0/0)
		HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	3,2 (1/31) (0,1, 13,2)	0 (0/31) (0,0, 7,8)
		Poz alebo neg	HR HPV poz	13,0 (6/46) (6,1, 19,7)	6,5 (3/46) (1,7, 10,9)
	Negatívne	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)
Prevalencia				3,9 % (10/256)	2,0 % (5/256)

AHPV-GT = Test genotypu Aptima HPV 16 18/45, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne, Neg = Negatívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

Relatívne riziko ochorenia pri pozitívnych a negatívnych výsledkoch testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 je uvedené v Tabuľka 26. Ženy, ktoré mali prítomné HPV typy 16, 18 a/alebo 45, mali 11,1-krát väčšiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN2 a 22,8-krát vyššiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN3 ako ženy bez prítomnosti vysokorizikových typov HPV. Ženy, ktoré mali prítomné HPV typy 16, 18 a/alebo 45, mali 2,1-krát väčšiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN2 a 4,0-krát vyššiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN3 ako ženy s prítomnosťou jedného alebo viacerých z 11 vysokorizikových typov HPV.

**Tabuľka 26:** Populácia ASC-USA  $\geq$ 21 rokov: Relatívne riziko  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay

Interpretácia výsledkov testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relatívne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)
HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívne vs HR HPV negatívne	11,1 (6,2, 20,0)	22,8 (8,0, 65,6)
HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívne vs Iné HR HPV pozitívne	2,1 (1,3, 3,1)	4,0 (1,9, 8,2)
Iné HR HPV pozitívne vs HR HPV negatívne	5,4 (2,9, 9,9)	5,7 (1,8, 18,1)
Iné HR HPV pozitívne vs HR HPV negatívne	7,3 (4,2, 12,8)	11,5 (4,1, 32,2)
Prevalencia	9,1 % (81/892)	3,8 % (34/892)

CI = Interval spoľahlivosti, HR = vysoké riziko

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

Pomer pravdepodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) je výsledkom testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 a testu Aptima HPV uvedené na Tabuľka 27. HPV typy 16, 18 a/alebo 45 boli 4,1-krát častejšie prítomné u ženy s  $\geq$ CIN2 a s 5,2-násobne vyššou pravdepodobnosťou výskytu u ženy s  $\geq$ CIN3.

**Tabuľka 27:** Populácia ASC-USA  $\geq$ 21 rokov: Pomery pravdepodobnosti pre  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 výsledkami Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay

Interpretácia výsledkov testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Pomer pravdepodobnosti (95 % CI)	Pomer pravdepodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívne	4,1 (2,9, 5,6)	5,2 (3,5, 7,0)
Iné HR HPV pozitívne	1,6 (1,2, 2,1)	1,1 (0,6, 1,8)
HR HPV Negatívne	0,3 (0,2, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

CI = Interval spoľahlivosti, HR = vysoké riziko

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

## Populácia NILM ≥30 rokov: Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Klinická výkonnosť s tekutými cytologickými vzorkami ThinPrep

Celkovo bolo hodnotiteľných 512 žien vo veku 30 rokov a viac s cytologickými výsledkami NILM a pozitívnymi výsledkami testu Aptima HPV na systéme Panther, ktorých odporúčané cytologické vzorky boli vhodné na testovanie pomocou testu genotypu Aptima HPV 16 18/45. Z toho 21 žien (11 sa zúčastnilo kolposkopie a 10 nezúčastnilo kolposkopie) nemalo v tejto štúdii k dispozícii objem vzorky na vyšetrenie cytologických vzoriek; po analýze chýbajúcich hodnôt neboli zahrnuté do výpočtov výkonnosti. 491 hodnotiteľných žien malo platné výsledky testu genotypu Aptima HPV 16 18/45. Z nich sa 273 zúčastnilo kolposkopie. Štrnásť (14) žien malo ≥CIN2 a 10 malo ≥CIN3; 245 žien malo normálnu/CIN1 histológiu; 14 žien malo neurčený stav ochorenia.

Z 259 hodnotiteľných žien s nezvratným stavom ochorenia a pozitívnymi výsledkami testu Aptima HPV na systéme Panther malo 65 pozitívnych výsledkov testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther, čo svedčí o prítomnosti HPV 16 a/alebo HPV 18/45; 194 malo negatívne výsledky, čo svedčí o prítomnosti jedného alebo viacerých z ďalších 11 vysokorizikových typov HPV. Ďalších 549 hodnotiteľných žien vo veku 30 rokov a starších s cytologickými výsledkami NILM a nezvratným stavom ochorenia malo negatívne výsledky testu Aptima HPV na systéme Panther. Negatívny výsledok testu Aptima HPV ukazuje, že nie je prítomný žiadny zo 14 vysokorizikových typov HPV a bol označený ako negatívny na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther na účely analýzy. Výsledky testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na základe výsledkov testu Aptima HPV a diagnostiky konsenzuálneho panelu histologického prehľadu sú uvedené v Tabuľka 28.

**Tabuľka 28:** Populácia NILM ≥ 30 rokov: Výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay na základe diagnostiky konsenzuálneho panelu histologického prehľadu.

Výsledky HPV Aptima assay	AHPV-GT Assay výsledok*	Interpretácia	Diagnostika konsenzuálneho panelu histologického prehľadu						
			Neurčené**	Normálne	CIN1	CIN2	CIN3	Rakovina	Spolu
Pozitívne	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 a 18/45 poz	0	1	0	0	0	0	1
	HPV 16 neg, HPV 18/45 neg	Iné HR HPV poz	11	175	12	3	4	0	205
Spolu			14	232	13	4	7	3	273
Negatívne	HPV 16/18/45 neg***	HR HPV neg	31	527	16	5	1	0	580
Spolu			45	759	29	9	8	3****	853

AHPV-GT = Test genotypu Aptima HPV 16 18/45, HR = vysoké riziko, Neg = Pozitívne, Poz = Negatívne

\*Všetky vzorky mali konečné výsledky (po finálnom testovaní alebo po rozpade počiatkových invalidov na procedúru).

\*\*Návštevy na kolposkopii sa zúčastnilo 45 žien, ale diagnóza sa nedala určiť z nasledujúcich dôvodov: konsenzus sa nedal dosiahnuť kvôli nedostatočným vzorkám (n = 29), žiadne biopsie neboli odobraté kvôli základným faktorom (n = 13), žiadne zozbierané biopsie alebo nepreskúmané z dôvodu chyby (n = 3).

\*\*\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

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

Z 491 žien s pozitívnymi výsledkami testu Aptima HPV na systéme Panther a výsledkov testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther malo 232 žien neoverený (vrátane neurčeného) stav ochorenia (Tabuľka 29). Z 10 348 žien s negatívnymi výsledkami Aptima HPV testu z pôvodnej štúdie CLEAR malo 9 799 neoverený stav ochorenia. Pretože štúdia bola navrhnutá tak, aby sa týkala len náhodne vybraných žien s negatívnymi výsledkami pre Aptima HPV assay na systéme Tigris DTS a s FDA-schváleným DNA testom, podiel žien s neovereným stavom ochorenia bol v tejto skupine vysoký (96,2 %). Na prispôbenie tohto overenia skreslenia sa na odhad počtu žien s ochorením, ktoré by sa zistili, ak by všetky ženy podstúpili kolposkopiu, použila metóda viacnásobnej imputácie. Uvádzajú sa odhady výkonnosti, ktoré boli upravené na základe overenia skreslenia ako aj neupravené odhady výkonnosti na základe 808 žien s overeným stavom ochorenia.

**Tabuľka 29:** Populácia NILM ≥30 rokov: Klasifikácia hodnotiteľných NILM žien testom Aptima HPV, Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, výsledky testu HPV DNA, stav ochorenia (≥CIN2 a ≥CIN3) a stav overovania ochorenia

Výsledky HPV Aptima Assay*	AHPV-GT Assay výsledok*	HPV DNA Test	Spolu ženy	Overený stav choroby: ≥CIN2		Overený stav choroby: ≥CIN3		Neoverený stav choroby
				Ženy s ochorením (≥CIN2)	Ženy bez ochorenia (<CIN2)	Ženy s ochorením (≥CIN3)	Ženy bez ochorenia (<CIN3)	Ženy s neznámym stavom choroby (% neznáme)
<b>Pozitívne</b>	Pozitívne	Pozitívne	88	6	52	5	53	30 (34,1 %)
	Pozitívne	Negatívne	10	1	5	1	5	4 (40,0 %)
	Pozitívne	Bez výsledku**	2	0	1	0	1	1 (50,0 %)
	Negatívne	Pozitívne	291	7	169	4	172	115 (39,5 %)
	Negatívne	Negatívne	85	0	14	0	14	71 (83,5 %)
	Negatívne	Bez výsledku**	15	0	4	0	4	11 (73,3 %)
Spolu			491	14	245	10	249	232 (47,3 %)
<b>Negatívne</b>	Nevzťahuje sa***	Pozitívne	282	3	177	1	179	102 (36,2 %)
	Nevzťahuje sa***	Negatívne	9 467	2	362	0	364	9 103 (96,2 %)
	Nevzťahuje sa***	Bez výsledku**	599	1	4	0	5	594 (99,2 %)
Spolu			10 839	20	788	11	797	10 031 (92,5 %)

AHPV-GT = Test genotypu Aptima HPV 16 18/45

\*Všetky vzorky mali konečné výsledky (po finálnom testovaní alebo po rozpade počítačových invalidov na procedúru).

\*\*616 žien s výsledkami testu Aptima HPV nemalo výsledky testu HPV DNA primárne v dôsledku nedostatočného objemu cytologickej vzorky.

\*\*\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.



Upravené absolútne riziká ochorenia ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) výsledkom testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 a výsledkov testu Aptima HPV sú uvedené v Tabuľka 30a. Riziko  $\geq$ CIN2 u žien s HPV typmi 16, 18 a/alebo 45 prítomnosťou bolo 10,8 % v porovnaní s 3,8 % u žien s jedným alebo viacerými ďalšími 11 vysokorizikovými typmi HPV a 1,0 % u žien bez vysokorizikových HPV typov. Neupravené absolútne riziká ochorenia sú znázornené celkovo v Tabuľka 30b a podľa vekovej skupiny v Tabuľka 31.

**Tabuľka 30a:** Populácia NILM  $\geq$  30 rokov: Absolútne riziká  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (nastavené odhady overenia skreslenia)

Výsledky HPV Aptima Assay	AHPV-GT Assay výsledok	Interpretácia	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolútne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)
Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo HPV 18/45 poz	9,7 (4,6, 20,2)	8,5 (3,8, 19,2)
	HPV 16 poz, HPV 18/45 neg	HPV 16 len poz	10,4 (4,0, 27,1)	10,3 (3,9, 27,1)
	HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len poz	8,8 (2,9, 26,4)	6,5 (1,7, 25,1)
	HPV 16 poz, HPV 18/45 poz	HPV 16 a 18/45 poz	0,0	0,0
	HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	3,2 (1,6, 6,3)	1,8 (0,6, 4,9)
	Poz alebo neg	HR HPV poz	4,6 (2,8, 7,4)	3,2 (1,7, 5,9)
Negatívne	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	0,7 (0,2, 2,5)	0,2 (0,0, 4,8)
Prevalencia			1,1 %	0,8 %

AHPV-GT = Test genotypu Aptima HPV 16 18/45, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne, Neg = Negatívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

**Tabuľka 30b:** Populácia NILM  $\geq$  30 rokov: Absolútne riziká  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (nenastavené odhady)

Výsledky HPV Aptima Assay	AHPV-GT Assay výsledok	Interpretácia	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolútne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)
Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo 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	HPV 16 len poz	12,5 (4/32) (3,7, 25,2)	12,5 (4/32) (3,9, 23,1)
	HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len 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 a 18/45 poz	0,0 (0/1) (0,0, 93,5)	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)
	HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	3,6 (7/194) (1,7, 6,0)	2,1 (4/194) (0,7, 3,9)
	Poz alebo neg	HR HPV poz	5,4 (14/259) (3,7, 6,8)	3,9 (10/259) (2,6, 4,5)
Negatívne	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)
Prevalencia			2,5 % (20/808)	1,4 % (11/808)

AHPV-GT = Test genotypu Aptima HPV 16 18/45, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne, Neg = Negatívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

**Tabuľka 31:** Populácia NILM ≥ 30 rokov: Absolútne riziká ≥CIN2 a ≥CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay podľa vekovej skupiny (nenastavené odhady)

	Výsledky HPV Aptima assay	AHPV-GT Assay výsledok	Interpretácia	≥CIN2	≥CIN3
				Absolútne riziko (95 % CI)	Absolútne riziko (95 % CI)
30 až 39 rokov	Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo 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	HPV 16 len poz	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len 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 a 18/45 poz	Nevzťahuje sa (0/0)	Nevzťahuje sa (0/0)
		HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	3,6 (4/111) (1,2, 6,2)	2,7 (3/111) (0,7, 4,7)
		Poz alebo neg	HR HPV poz	4,7 (7/148) (2,6, 6,1)	3,4 (5/148) (1,6, 4,3)
	Negatívne	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)
Prevalencia			2,4 % (9/378)	1,6 % (6/378)	
≥40 rokov	Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45 poz	HPV 16 a/alebo 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	HPV 16 len poz	26,7 (4/15) (6,4, 47,9)	26,7 (4/15) (6,5, 43,1)
		HPV 16 neg, HPV 18/45 poz	HPV 18/45 len poz	0 (0/12) (0,0, 21,5)	0 (0/12) (0,0, 18,6)
		HPV 16 poz, HPV 18/45 poz	HPV 16 a 18/45 poz	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)	0,0 (0/1) (0,0, 93,1)
		HPV 16/18/45 neg	Iné HR HPV poz	3,6 (3/83) (1,0, 7,8)	1,2 (1/83) (0,0, 4,1)
		Poz alebo neg	HR HPV poz	6,3 (7/111) (3,3, 8,9)	4,5 (5/111) (2,3, 5,4)
	Negatívne	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0 (0/319) (0,0, 0,8)
Prevalencia			2,6 % (11/430)	1,2 % (5/430)	

AHPV-GT = Test genotypu Aptima HPV 16 18/45, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne, Neg = Negatívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

Relatívne riziko ochorenia pri pozitívnych a negatívnych výsledkoch testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 je uvedené v Tabuľka 32 (nastavené overenie skreslenia) a Tabuľka 33 (nenastavené). Ženy, ktoré mali prítomné HPV typy 16, 18 a/alebo 45, mali 12,7-krát väčšiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN2 a 18,4-krát vyššiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN3 ako ženy bez prítomnosti vysokorizikových typov HPV. Ženy, ktoré mali prítomné HPV typy 16, 18 a/alebo 45, mali 2,9-krát väčšiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN2 a 3,8-krát vyššiu pravdepodobnosť výskytu  $\geq$ CIN3 ako ženy s prítomnosťou jedného alebo viacerých z 11 vysokorizikových typov HPV.

**Tabuľka 32:** Populácia NILM  $\geq$  30 rokov: Relatívne riziko  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (nastavené odhady overenia skreslenia)

Interpretácia testu Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relatívne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)
HPV 16 a/alebo 18/45 poz vs HR HPV neg	12,9 (3,1, 54,6)	53,3 (1,5, >999)
HPV 16 a/alebo 18/45 poz vs Iné HR HPV poz	3,0 (1,1, 8,8)	4,8 (1,2, 19,2)
Iné 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)
Prevalencia	1,1 %	0,8 %

CI = Interval spoľahlivosti, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne, Neg = Negatívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

**Tabuľka 33:** Populácia NILM  $\geq$ 30 rokov: Relatívne riziko  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (nenastavené odhady)

Interpretácia testu Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relatívne riziko (95 % CI)	Relatívne riziko (95 % CI)
HPV 16 a/alebo 18/45 poz vs HR HPV neg	9,9 (3,4, 28,4)	50,7 (6,2, 414,4)
HPV 16 a/alebo 18/45 poz vs Iné HR HPV poz	3,0 (1,1, 8,2)	4,5 (1,3, 15,4)
Iné 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)
Prevalencia	2,5 % (20/808)	1,4 % (11/808)

CI = Interval spoľahlivosti, HR = vysoké riziko, Poz = Pozitívne, Neg = Negatívne

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

Pomer pravdepodobnosti ( $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3) je výsledkom testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 a testu Aptima HPV uvedené na Tabuľka 34 (nastavené overenie skreslenia) a Tabuľka 35 (nenastavené). HPV typy 16, 18 a/alebo 45 boli 17,1-krát častejšie prítomné u ženy s  $\geq$ CIN2 a s 21,9-násobne vyššou pravdepodobnosťou výskytu u ženy s  $\geq$ CIN3.

**Tabuľka 34:** Populácia NILM  $\geq$  30 rokov: Pomery pravdepodobnosti pre  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 výsledkami Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (nastavené odhady overenia skreslenia)

Interpretácia výsledkov testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Pomer pravdepodobnosti (95 % CI)	Pomer pravdepodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívne	11,2 (3,3, 38,4)	24,1 (2,6, 225,9)
Iné HR HPV pozitívne	3,5 (1,3, 9,4)	4,7 (0,7, 29,8)
HR HPV Negatívne	0,8 (0,6, 1,1)	0,4 (0,1, 2,2)

CI = Interval spoľahlivosti, HR = vysoké riziko

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

**Tabuľka 35:** Populácia NILM  $\geq$  30 rokov: Pomery pravdepodobnosti pre  $\geq$ CIN2 a  $\geq$ CIN3 výsledkami Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a Aptima HPV Assay (nenastavené odhady)

Interpretácia výsledkov testu Aptima*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Pomer pravdepodobnosti (95 % CI)	Pomer pravdepodobnosti (95 % CI)
HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívne	4,8 (2,1, 8,5)	7,4 (3,3, 12,0)
Iné HR HPV pozitívne	1,5 (0,7, 2,5)	1,5 (0,5, 2,9)
HR HPV Negatívne	0,4 (0,2, 0,8)	0,1 (0,0, 0,6)

CI = Interval spoľahlivosti, HR = vysoké riziko

\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

## Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Klinická výkonnosť s tekutými cytologickými vzorkami SurePath

Tekuté cytologické vzorky SurePath boli odobraté kanadským ženám, ktoré boli vyšetrené kvôli jednému alebo viacerým abnormálnym Pap testom a HPV infekcii alebo z nejakého iného dôvodu. Alikvótna časť (0,5 ml) každej vzorky sa preniesla do skúmavky na prenos vzorky Aptima a potom sa ošetrila použitím roztoku Aptima Transfer. Jedna replikácia každej vzorky na analýzu sa testovala testom Aptima HPV (n = 481). Pozitívne vzorky sa potom testovali s testom genotypu Aptima HPV 16 18/45 a výsledky testu Aptima HPV sú uvedené na Tabuľka 36. Podobné výsledky sú uvedené pre komerčne dostupný HPV PCR test, ktorý odlišuje HPV 16 a HPV 18, ale nie HPV 45, oddelene od iných vysokorizikových genotypov. Relatívne riziko ochorenia u genotypovo pozitívnych verzus negatívnych výsledkov sa uvádza v teste genotypu Tabuľka 37 Aptima HPV 16 18/45 a v teste HPV PCR.

**Tabuľka 36:** Absolútne riziko  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a komerčne dostupného testu HPV PCR

Výsledok HR HPV	Výsledok genotypu	Interpretácia	Absolútne riziko Aptima $\geq$ CIN3 (95 % CI)	Absolútne riziko HPV PCR $\geq$ CIN3 (95 % CI)
Pozitívne	HPV 16 poz a/alebo HPV 18/45* poz	HPV 16 a/alebo HPV 18/45* poz	12,5 (7,6 – 17,3)	14,4 (10,4 – 18,1)
	HPV 16 poz a HPV 18/45* neg	HPV 16 len poz	16,4 (9,2 – 23,9)	16,8 (11,6 – 21,9)
	HPV 16 neg a/alebo HPV 18/45* poz	HPV 18/45* len poz	3,3 (0,1 – 13,2)	7,1 (1,0 – 18,8)
	HPV 16 poz a/alebo 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/alebo HPV 18/45* neg	Iné HR HPV poz	2,0 (1,0 – 3,1)	2,1 (1,1 – 3,3)
	Poz alebo neg	HR HPV poz	10,2 (8,4 – 11,7)	8,5 (7,0 – 9,5)
Negatívne**	HPV 16 neg a/alebo HPV 18/45* neg	HR HPV neg	1,0 (0,2 – 2,4)	1,1 (0,3 – 2,8)
Prevalencia (%)			4,0 %	5,0 %

HR = vysokorizikové; Poz = Pozitívne; Neg = Negatívne

\*HPV PCR test len rozlišuje HPV 16 a HPV 18 od ostatných 12 vysokorizikových genotypov, vrátane HPV 45.

\*\*Ženy s negatívnymi výsledkami testu Aptima HPV boli na účely analýzy označené ako negatívne na teste genotypu Aptima HPV 16 18/45.

**Tabuľka 37:** Relatívne riziko  $\geq$ CIN3 pre výsledky Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay a komerčne dostupného testu HPV PCR

Výsledky testu Aptima		Výsledky testu HPV PCR	
Interpretácia testu	Relatívne riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)	Interpretácia testu	Relatívne riziko $\geq$ CIN3 (95 % CI)
HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívne vs HR HPV negatívne	13,1 (3,7 – 45,9)	HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívne vs HR HPV negatívne	12,6 (3,8 – 41,9)
HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívne vs iné HR HPV pozitívne	2,0 (0,7 – 5,4)	HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívne vs iné HR HPV pozitívne	3,9 (1,6 – 9,5)
Iné HR HPV pozitívne vs HR HPV negatívne	6,6 (1,6 – 27,1)	Iné HR HPV pozitívne vs HR HPV negatívne	3,2 (0,8 – 12,8)
HR HPV pozitívne vs HR HPV negatívne	10,7 (3,3 – 35,1)	HR HPV pozitívne vs HR HPV negatívne	7,4 (2,3 – 24,3)
Prevalencia	4,0 %	Prevalencia	5,0 %

## Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Klinická výkonnosť so vzorkami krčka maternice Odber a transport vzoriek

Účinnosť testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 bola hodnotená pomocou vzoriek CSCT odobratých ženám odporúčaným na následnú návštevu kvôli abnormálnemu výsledku Pap. Vzorky boli najprv testované testom Aptima HPV (n = 651). Vzorky s pozitívnym výsledkom testu Aptima HPV (n = 414) sa potom testovali použitím testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 v systéme Tigris DTS aj v systéme Panther.

Klinická zhoda typu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na detekciu vysokorizikových HPV 16, 18 a 45 pre systém Panther bola stanovená na základe výsledkov systému Tigris DTS ako referenčnej metódy. Boli vypočítané pozitívne a negatívne percentuálne zhody a súvisiace 95 % intervaly spoľahlivosti skóre. Výsledky sú uvedené v Tabuľka 38.

**Tabuľka 38:** Klinická zhoda testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 na systéme Panther na detekciu vysokorizikového HPV 16, 18 a 45 v CSCT vzorkách

		Výsledky systému Tigris DTS				Spolu
		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>Spolu</b>	195	35	8	176	414

Poz = pozitívne, Neg = negatívne

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

Negatívna zhoda: 98,3 % (173/176) (95 % CI: 95,1, 99,4)

### Analytická citlivosť

Detekčný limit (LOD) pri klinickej medznej hodnote je koncentrácia, ktorá je pozitívna (nad klinickou medznou hodnotou) v 95 % prípadov. LOD testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 sa stanovil testovaním individuálnych alebo skupín negatívnych klinických tekutých cytologických vzoriek ThinPrep obohatených HPV *in vitro* transkriptmi alebo kultivovanými bunkami infikovanými HPV (SiHa, HeLa a MS751; ATCC, Manassas, Virginia) pri rôznych koncentráciách. V prípade *in vitro* transkripčných panelov sa testovalo 60 opakovaní každej úrovne kópie s každou z dvoch šarží reagentov na celkom 120 opakovaní. V prípade panelov bunkovej línie sa testovalo 30 opakovaní každej úrovne kópie s každou z dvoch šarží reagentov na celkom 60 opakovaní. Testovanie sa uskutočňovalo počas ôsmich dní, pričom každý deň sa vykonali minimálne tri cykly a päť opakovaní pre daný genotyp testovaný v každom cykle. 95 % detekčný limit (Tabuľka 39) sa vypočítal z regresnej analýzy výsledkov pozitIVITY Probit pre každý dilučný panel.

**Tabuľka 39:** Detekčný limit na klinickej medznej hranici Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Cieľ	Limit detekcie* (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)

\*kópie na reakciu pre *in vitro* transkripty a bunky na reakciu pre bunkové línie

## Presnosť testu

Presnosť testu genotypu Aptima HPV 16 18/45 bola hodnotená v dvoch štúdiách s použitím rovnakého 24-členného panelu. Na stanovenie reprodukovateľnosti testu sa Štúdia 1 uskutočnila na 3 externých testovacích miestach. Na stanovenie laboratórnej presnosti bola Štúdia 2 vykonaná interne. Panel zahŕňal 17 pozitívnych členov HPV 16 a/alebo 18/45 s koncentraciami pri alebo nad hranicou detekcie testu (očakávaná pozitivita:  $\geq 95\%$ ), 3 HPV 16 a/alebo 18/45 pozitívnych členov s koncentraciami pod hranicou detekcie testu (očakávaná pozitivita:  $> 0\%$  až  $< 25\%$ ) a 4 HPV-negatívne členy. HPV 16 a/alebo 18/45-pozitívne členy panelu sa pripravili pestovaním *in vitro* transkriptových alebo HPV-infikovaných kultivovaných buniek (SiHa, HeLa a MS751; ATCC, Manassas, Virginia) do spojených reziduálnych tekutých cytologických vzoriek ThinPrep alebo riedenia HPV 16, 18 a/alebo 45 klinických vzoriek do spojených reziduálnych tekutých cytologických vzoriek ThinPrep. HPV-negatívne členy panelu sa pripravili zo spojených tekutých cytologických vzoriek ThinPrep alebo roztoku PreservCyt.

V Štúdiu 1, 2 operátori v každej z troch testovacích lokalít (1 prístroj na miesto) vykonali 2 pracovné zoznamy testu geotypu Aptima HPV 16 18/45 za deň počas 3 dní. Testovanie sa uskutočnilo použitím 2 reagenčných šarží. Každý pracovný zoznam obsahoval 3 replikácie každý člen panelu reprodukovateľnosti. Stoosem (108) jednotlivých skúmaviek so vzorkami sa testovalo pre každého člena panelu (3 miesta x 1 prístroj x 2 operátori x 2 dávky x 3 dni x 3 opakovania). V štúdiu 2 sa testovanie uskutočňovalo interne počas 13 dní s celkovo 162 reakciami testovanými pre každý člen panelu (1 miesto x 3 nástroje x 3 operátori x 3 dávky x 2 pracovné zoznamy x 3 opakovania).

Členy panelu sú opísané v Tabuľka 40a a Tabuľka 40b, spolu so zhrnutím zhody s očakávanými výsledkami pre HPV 16 a HPV 18/45.

**Tabuľka 40a:** Štúdia presnosti 1 a 2 Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Popis panelov a percentuálna zhoda s očakávanými výsledkami HPV 16

Opis panela (kópie alebo bunky/reakcia)	HPV 16 Očakávané výsledky	Percentuálna zhoda (95 % CI)	
		Štúdia 1 (3 testovacie miesta)	Štúdia 2 (1 testovacie miesto)
HPV 16 IVT (240 kópií)	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (260 kópií)	Negatívne	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (350 kópií)	Negatívne	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV 16 klinická vzorka 1	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinická vzorka 1	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa bunky (4 bunky) a HeLa bunky (0,7 bunky)	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa bunky (0,4 bunky) a HeLa bunky (7 bunky)	Pozitívne	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
SiHa bunky (0,4 bunky)	Pozitívne	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
HeLa bunky (0,7 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751 bunky (0,2 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (158/159) (96,5, 99,9)
HPV 16 IVT (24 kópií)	Pozitívne	100 (107/107) (96,5, 100)	96,9 (157/162) (93,2, 98,7)
HPV 18 IVT (26 kópií)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (35 kópií)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinická vzorka 2	Pozitívne	98,1 (105/107) (93,4, 99,5)	98,8 (160/162) (95,7, 99,7)
HPV 16 klinická vzorka 3	Pozitívne	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
HPV 18/45 klinická vzorka 2	Negatívne	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinická vzorka 3	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa bunky (0,001 bunky)	Negatívne	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (158/161) (94,8, 99,4)
HeLa bunky (0,001 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751 bunky (0,006 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatívna klinická vzorka 1	Negatívne	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatívna klinická vzorka 2	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatívny PreservCyt 1	Negatívne	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatívny PreservCyt 2	Negatívne	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = Interval spoľahlivosti skóre

**Poznámka:** Percentuálna dohoda mohla byť ovplyvnená zmenami v pestovaní, riedení a/alebo rozdelení.



**Tabuľka 40b:** Štúdia presnosti 1 a 2 Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Popis panelov a percentuálna zhoda s očakávanými výsledkami HPV 18/45

Opis panela (kópie alebo bunky/reakcia)	Percentuálna zhoda (95 % CI)		
	HPV 18/45 Očakávané výsledky	Štúdia 1 (3 testovacie miesta)	Štúdia 2 (1 testovacie miesto)
HPV 16 IVT (240 kópii)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (260 kópii)	Pozitívne	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (350 kópii)	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinická vzorka 1	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinická vzorka 1	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa bunky (4 bunky) a HeLa bunky (0,7 bunky)	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa bunky (0,4 bunky) a HeLa bunky (7 bunky)	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa bunky (0,4 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HeLa bunky (0,7 bunky)	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751 bunky (0,2 bunky)	Pozitívne	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	88,7 (141/159) (84,5, 93,5)
HPV 16 IVT (24 kópii)	Negatívne	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (26 kópii)	Pozitívne	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (35 kópii)	Pozitívne	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
HPV 16 klinická vzorka 2	Negatívne	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinická vzorka 3	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinická vzorka 2	Pozitívne	100 (107/107) (96,5, 100)	95,7 (155/162) (91,7, 98,0)
HPV 18/45 klinická vzorka 3	Pozitívne	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa bunky (0,001 bunky)	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
HeLa bunky (0,001 bunky)	Negatívne	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
MS751 bunky (0,006 bunky)	Negatívne	75,0 (81/108) (66,1, 82,2)	88,3 (143/162) (84,2, 93,2)
HPV-negatívna klinická vzorka 1	Negatívne	99,1 (106/107) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatívna klinická vzorka 2	Negatívne	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatívny PreservCyt 1	Negatívne	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatívny PreservCyt 2	Negatívne	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = Interval spoľahlivosti skóre

**Poznámka:** Percentuálna dohoda mohla byť ovplyvnená zmenami v pestovaní, riedení a/alebo rozdelení.

**Križová reaktivita**

Testovanie s potenciálne skrížene reaktívnymi organizmami pre test genotypu Aptima HPV 16 18/45 sa uskutočnilo pomocou systému Tigris DTS. Výsledky nájdete v *Križová reaktivita* (Tabuľka 20) v časti výsledkov systému Tigris DTS.

**Interferencia**

Testovanie s potenciálne interferujúcimi substanciami pre test genotypu Aptima HPV 16 18/45 sa uskutočnilo pomocou systému Tigris DTS. Výsledky nájdete v *Interferencia* (Tabuľka 21) v časti výsledkov systému Tigris DTS.

## Literatúra

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, a 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, a A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90(12):5583-7.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Sunyum, J.E. Bock, P.A. Poll, 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, a 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 a 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 a 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 a 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). Sprístupnený 22. marca 2012.
15. **Wright T.C., S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E.J. Wilkinson a 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. a 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, a 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, a 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, a 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, a študijná skupina the IARC HPV Prevalence Surveys.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet.* 366, 991.
21. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. 2013. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* 208(2):144-145.



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

Zákaznícka podpora: +1 800 442 9892

customersupport@hologic.com

Technická podpora: +1 888 484 4747

molecularsupport@hologic.com

Viac informácií nájdete na [www.hologic.com](http://www.hologic.com).

Tento produkt je určený na použitie len v oblasti humánnej diagnostiky *in vitro*.

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

RAININ je ochranná známka spoločnosti Rainin Instruments, LLC.

SUREPATH a PREPSTAIN sú ochranné známky spoločnosti TriPath Imaging, Inc.

Akékoľvek ďalšie ochranné známky, ktoré môžu byť vyobrazené na tomto príbalovom letáku, sú majetkom príslušných vlastníkov.

Výrobok je chránený jedným alebo viacerými patentmi Spojených štátov, ktoré sú uvedené na webovej stránke [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2007 – 2019 Hologic, Inc. Všetky práva vyhradené.  
AW-11504-3201 Rev. 010

2019-06