

Aptima™ HPV 16 18/45 Genotype Assay (Panther™ System)

Instrukcja użycia
Do diagnostyki *in vitro*
Tylko na eksport poza USA

Informacje ogólne	2
Przeznaczenie	2
Podsumowanie i objaśnienie testu	2
Zasady procedury	3
Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej	4
Ostrzeżenia i środki ostrożności	4
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi	6
Pobieranie i przechowywanie próbek	7
Panther System	9
Dostarczone odczynniki i materiały	9
Materiały wymagane, ale dostępne osobno	10
Procedura testu w systemie Panther System	11
Uwagi dotyczące procedury	13
Procedury kontroli jakości	14
Interpretacja testu	16
Ograniczenia	17
Oczekiwane wyniki w systemie Panther System: Częstość występowania mRNA wirusa HPV wysokiego ryzyka	18
Skuteczność testu w Panther System	19
Bibliografia	50
Dane kontaktowe i historia wersji	51

Informacje ogólne

Przeznaczenie

Test genotypujący Aptima™ HPV 16 18/45 to test amplifikacji kwasów nukleinowych *in vitro* do jakościowego wykrywania wirusowego informacyjnego RNA (mRNA) onkogenów E6/E7 wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV) typu 16, 18 i 45 w próbkach z szyjki macicy pobranych od kobiet z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV. Stosując test genotypujący Aptima HPV 16 18/45 można różnicować HPV 16 od HPV 18 i/lub HPV 45, ale nie można różnicować HPV 18 od HPV 45.

Test genotypujący Aptima HPV 16 18/45 można stosować do badania następujących rodzajów próbek w systemie Panther System: próbki z szyjki macicy pobrane do fiolek testowych ThinPrep™ Pap Test zawierających roztwór PreservCyt™ przed lub po obróbce próbki Pap, próbki z szyjki macicy pobrane za pomocą zestawu Aptima do przenoszenia i pobierania próbek z szyjki macicy (Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit) lub próbki z szyjki macicy pobrane do płynu konserwującego SurePath Preservative Fluid.

Wskazaniem do stosowania testu genotypującego HPV 16 18/45 są rutynowe badania przesiewowe w kierunku raka szyjki macicy. Kobiety, u których wynik testu na obecność HPV typu 16, 18 lub 45 jest dodatni lub ujemny, należy poddać selekcji/kontroli zgodnie z profesjonalnymi wytycznymi medycznymi, oceną badań przesiewowych dokonaną przez placówkę opieki zdrowotnej, historią choroby i innymi czynnikami ryzyka w celu oceny ryzyka wystąpienia dysplazji szyjki macicy i nowotworu.

Podsumowanie i objaśnienie testu

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

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

Czternaście genotypów wirusa HPV uważa się za genotypy chorobotwórcze lub genotypy stwarzające wysokie ryzyko progresji choroby szyjki macicy.⁵ W wielu badaniach udowodniono związek genotypów 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 i 68 z postępowaniem choroby.^{2,6,7} Kobiety, u których występuje przetrwałe zakażenie jednym z tych typów wirusa, są obarczone zwiększonym ryzykiem rozwoju ciężkiej dysplazji lub raka szyjki macicy.^{5,8}

Badania wykazały, że różne typy wirusa HPV wysokiego ryzyka wiążą się z różnym poziomem ryzyka rozwoju ciężkiej dysplazji lub raka szyjki macicy. Na całym świecie typy 16, 18 i 45 wirusa HPV są związane z około 80% wszystkich inwazyjnych raków szyjki macicy.^{7,10} Te trzy typy występują przy 75% wszystkich raków płaskonabłonkowych, przy czym typ 16 stanowi większość (85%) tych zakażeń. W przypadku gruczolakoraków HPV typu 16, 18 i 45 stwierdza się w 80-94% przypadków, przy czym typy 18 i 45 stanowią prawie połowę zakażeń.^{7,10} Obecność HPV typu 18 we wczesnym stadium raka szyjki macicy wiąże się ze złym rokowaniem.¹¹ HPV typu 18 i 45 są zbyt rzadko wykrywane w zmianach przedrakowych, co może być spowodowane obecnością zmian utajonych w kanale szyjki macicy, niedostępnych dla badania kolposkopowego.¹² U kobiet zakażonych HPV typu 16 i/lub 18 skumulowane ryzyko rozwoju choroby szyjki macicy jest 10-krotnie wyższe w porównaniu z ryzykiem rozwoju choroby wywołanej przez inne typy wysokiego ryzyka.^{13,14,15}

Zasady procedury

Test genotypujący Aptima HPV 16 18/45 obejmuje trzy główne etapy, przy czym wszystkie odbywają się w jednej próbówce: wychwytywanie cząsteczek szukanych; amplifikację cząsteczek szukanych techniką amplifikacji z mediacją transkrypcji (Transcription Mediated Amplification, TMA)¹⁶ oraz wykrywanie produktów amplifikacji (amplikonów) za pomocą testu ochrony hybrydyzacji (Hybridization Protection Assay, HPA).¹⁷ W teście wykorzystywana jest kontrola wewnętrzna (Internal Control, IC) w celu monitorowania wychwytywania, amplifikacji i wykrywania kwasów nukleinowych, a także błędów operatora lub aparatu.

Próbki są zbierane do próbówki zawierającej podłoże do transportu próbek (Specimen Transport Media, STM), które powoduje lizę komórek, uwalnianie mRNA, a także chroni przed rozkładem w czasie przechowywania, lub są przenoszone do próbówki zawierającej to podłoże. Po wykonaniu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45, szukane mRNA jest izolowane z próbki dzięki zastosowaniu odpowiedzialnych za wychwytywanie oligomerów, połączonych z mikrocząsteczkami magnetycznymi. Oligomery wychytujące zawierają sekwencje komplementarne do swoistych regionów szukanych cząsteczek mRNA wirusa HPV, a także ciąg reszt deoksyadenozyny. W kroku hybrydyzacji regiony swoiste dla sekwencji oligomerów wychytujących wiążą się ze swoistymi regionami cząsteczki docelowej mRNA wirusa HPV. Następnie kompleks oligomer odpowiedzialny za wychyt-cząsteczka szukana jest wychwytywany z roztworu dzięki obniżeniu temperatury reakcji do temperatury pokojowej. Ten spadek temperatury umożliwia zajście hybrydyzacji między regionem reszt deoksyadenozyny oligomeru wychytującego a cząsteczkami polideoksytymidyny, które są połączone wiązaniami kowalencyjnymi z cząstkami magnetycznymi. Mikrocząstki ze związanymi z nimi wychwyconymi szukany cząsteczkami mRNA wirusa HPV są przyciągane do ścianki próbówki reakcyjnej przy użyciu magnesów, a supernatant jest aspirowany. Cząsteczki są przepłukiwane, aby usunąć pozostałości macierzy komórkowej próbki, która może zawierać inhibitory amplifikacji.

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

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

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

Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej

SSP (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej, ang. Summary of Safety and Performance) jest dostępne w europejskiej bazie danych wyrobów medycznych (Eudamed), gdzie jest powiązane z identyfikatorami wyrobu (Basic UDI-DI). W celu odszukania SSP testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 należy użyć kodu BUDI (Basic Unique Device Identifier): **54200455DIAGAPTHPVGTVK**.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

- A. Do diagnostyki *in vitro*.
- B. Do użycia przez profesjonalistów.
- C. Dodatkowe szczególne ostrzeżenia i środki ostrożności związane z oprzyrządowaniem opisano w *Instrukcji obsługi aparatu Panther/Panther Fusion System*.

Kwestie związane z laboratorium

- D. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- E. Przestrzegać rutynowych środków ostrożności stosowanych w laboratorium. Nie jeść, nie pić ani nie palić w wyznaczonych obszarach pracy. W czasie pracy z próbkami i odczynnikami zestawu nosić jednorazowe rękawiczki bezpydrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Dokładnie umyć ręce po pracy z próbkami i odczynnikami zestawu.
- F. **Ostrzeżenie: Środek drażniący i żrący:** nie dopuszczać do kontaktu odczynnika Auto Detect 2 ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. W przypadku kontaktu tego płynu ze skórą lub z oczami należy przemyć zanieczyszczony obszar wodą. Jeśli dojdzie do rozlania tego płynu, należy rozcieńczyć go wodą, po czym wytrzeć do sucha.
- G. Powierzchnie robocze, pipety i inne wyposażenie należy regularnie odkażać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Aby uzyskać więcej informacji, patrz *Procedura testu w systemie Panther System*.

Kwestie dotyczące próbek


- H. W trakcie transportu i przechowywania próbek utrzymywać właściwe warunki termiczne w celu zachowania prawidłowego stanu materiału do badań. Nie zbadano stabilności próbek w warunkach transportu i przechowywania innych niż zalecane.
- I. Daty ważności podane na zestawach i probówkach do pobierania/przenoszenia próbek obowiązują ośrodek, w którym przenoszona jest próbka, a nie ośrodek wykonujący badania. próbki pobrane/przeniesione w dowolnym czasie przed upływem daty ważności mogą być badane, o ile były transportowane i przechowywane zgodnie z odpowiednią ulotką załączoną do opakowania, nawet jeżeli minęły daty ważności.
- J. próbki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności. Właściwe metody postępowania z próbkami oraz utylizacji próbek powinien określić kierownik laboratorium. Do wykonania opisywanej tutaj procedury może być dopuszczony wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie postępowania z materiałami zakaźnymi.
- K. W czasie pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. Dopilnować, aby pojemniki na próbki nie kontaktowały się wzajemnie ze sobą i wyrzucać zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbką.

- L. W pewnych warunkach z zakrętek probówek, po ich przekłuciu, może wypływać płyn. Aby uzyskać więcej informacji, patrz *Procedura testu w systemie Panther System*.
- M. Próbkki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep i próbki pobrane przy użyciu zestawu Aptima do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) nie kwalifikują się do badania, jeśli w próbówce pozostał przyrząd do pobierania materiału.
- N. Próbkki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath nie kwalifikują się do badania, jeśli fiolka nie zawiera przyrządu do pobierania materiału.

Kwestie dotyczące testu

- O. Odczynniki należy przechowywać w określonych temperaturach. W przypadku użycia odczynników przechowywanych w niewłaściwych warunkach charakterystyka działania testu może ulec zmianie.
- P. Unikać skażenia odczynników przez drobnoustroje i rybonukleazy.
- Q. Nie używać zestawu po upływie terminu ważności.
- R. Nie zamieniać, nie mieszać ani nie łączyć odczynników analitycznych lub kalibratorów pochodzących z zestawów o różnych numerach serii.
- S. Płynne odczynniki analityczne Aptima i odczynniki Auto Detect do testu Aptima nie są częścią serii głównej; dozwolone jest użycie dowolnej serii tych materiałów.
- T. Do uzyskania dokładnych wyników testu niezbędne jest dokładne wymieszanie odczynników analitycznych.
- U. Należy używać końcówek z hydrofobowymi korkami.
- V. Niektóre odczynniki w tym zestawie są oznakowane symbolami zagrożenia i bezpieczeństwa.

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

Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami UE	
	<p>Odczynnik selekcyjny KWAS BOROWY 1–5%</p> <p>OSTRZEŻENIE H315 — Działa drażniąco na skórę</p>
—	<p>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych HEPES 5 – 10% EDTA 1–5% WODOROTLENEK LITU, MONOHYDRAT 1–5%</p> <p>— H412 — Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki P273 — Unikać uwolnienia do środowiska P280 — Stosować ochronę oczu/ochronę twarzy</p>

—	<p>Odczynnik amplifikacji <i>HEPES 25 – 30%</i></p> <p>—</p> <p>H412 — Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki P273 — Unikać uwolnienia do środowiska P280 — Stosować ochronę oczu/ochronę twarzy</p>
—	<p>Odczynnik enzymatyczny <i>HEPES 1 – 5%</i></p> <p>—</p> <p>H412 — Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki P273 — Unikać uwolnienia do środowiska P280 — Stosować ochronę oczu/ochronę twarzy</p>
—	<p>Odczynnik-sonda <i>LAURYLOSIARCZAN LITU 35–40%</i> <i>KWAS BURSZTYNOWY 10 – 15%</i> <i>WODOROTLENEK LITU, MONOHYDRAT 10 – 15%</i></p> <p>—</p> <p>H412 — Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki P273 — Unikać uwolnienia do środowiska P280 — Stosować ochronę oczu/ochronę twarzy</p>

Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi

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

- A. Następujące odczynniki należy po odebraniu przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C (w warunkach chłodniczych):
- Odczynnik amplifikacji genu HPV 16 18/45
 - Odczynnik enzymatyczny do testu HPV 16 18/45
 - Odczynnik-sonda dla genu HPV 16 18/45
 - Odczynnik kontroli wewnętrznej do testu HPV 16 18/45
 - Dodatknie kalibratory HPV 16 18/45 oraz ujemne kalibratory HPV 16 18/45
- B. Następujące odczynniki należy przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C (w temperaturze pokojowej):
- Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji HPV 16 18/45
 - Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych do testu HPV 16 18/45
 - Roztwór do przygotowania sond do testu HPV 16 18/45
 - Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych HPV 16 18/45
 - Odczynnik selekcyjny do testu HPV 16 18/45
- C. Po przygotowaniu, następujące odczynniki zachowują stabilność przez 30 dni, gdy są przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C:
- Odczynnik amplifikacji genu HPV 16 18/45
 - Odczynnik enzymatyczny do testu HPV 16 18/45
 - Odczynnik-sonda dla genu HPV 16 18/45
- D. Roboczy odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych (working Target Capture Reagent, wTCR) zachowuje stabilność przez 30 dni, gdy jest przechowywany w temperaturze od 15°C do 30°C. Nie przechowywać w warunkach chłodniczych.

- E. Niewykorzystane odczynniki zrekonstruowane oraz odczynnik wTCR wyrzucić po 30 dniach lub po upływie daty ważności serii głównej, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.
- F. Odczynniki analityczne do testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 są stabilne łącznie przez 72 godziny, gdy są przechowywane w systemie Panther System.
- G. Odczynnik-sonda oraz przygotowany odczynnik-sonda są wrażliwe na światło. Przechowywane odczynniki chronić przed ekspozycją na światło.
- H. **Nie zamrażać odczynników.**

Pobieranie i przechowywanie próbek

- A. Pobieranie i obróbka próbek przeznaczonych do analizy

Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep

1. Próbki z szyjki macicy należy pobierać do fiolek testowych ThinPrep Pap zawierających roztwór PreservCyt, korzystając z miotełek lub szczoteczek/szpatulek do pobierania wymazów cytologicznych zgodnie z instrukcjami ich producentów.
2. Przed obróbką lub po obróbce w procesorze ThinPrep 5000, procesorze ThinPrep 5000 z podajnikiem automatycznym lub procesorze ThinPrep Genesis przenieść 1 mL próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep do probówki do przenoszenia próbek Aptima, zgodnie z ulotką dołączoną do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima.

Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath

1. Pobrać próbkę do badania cytologicznego na podłożu SurePath zgodnie z instrukcją użycia testu SurePath Pap i/lub systemu PrepStain.
2. Przenieść próbkę do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath do probówki do przenoszenia próbek Aptima zgodnie z instrukcją zamieszczoną w ulotce dołączonej do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima.

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

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

- B. Transport i przechowywanie próbek przed wykonaniem testu

Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep

1. Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep transportować w temperaturze od 2°C do 30°C.
2. Próbki należy przenieść do probówki do przenoszenia próbek Aptima w ciągu 105 dni od pobrania.
3. Przed przeniesieniem próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep powinny być przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C, przy czym czas przechowywania w temperaturze przekraczającej 8°C nie powinien przekraczać 30 dni.
4. Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep przeniesione do probówek do przenoszenia próbek Aptima mogą być przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C przez maksymalnie 60 dni.
5. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, próbkę do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep lub próbkę do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep rozcieńczoną w probówce do przenoszenia próbek można przechowywać w temperaturze od -20°C do -70°C przez maksymalnie 24 miesiące.

Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath

1. Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath transportować w temperaturze od 2°C do 25°C.

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

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

1. Próbkę należy transportować w temperaturze od 2°C do 30°C i można je przechowywać w takiej temperaturze przez maksymalnie 60 dni.
2. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, próbki w zestawie do transportu próbek można przechowywać w temperaturze od -20°C do -70°C przez maksymalnie 24 miesiące.

C. Przechowywanie próbek po wykonaniu testu

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

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

Panther System

Dostarczone odczynniki i materiały

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

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

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

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

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

Symbol	Składnik	Ilość
AR	Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji HPV 16 18/45 <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1 fiolka
ER	Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych do testu HPV 16 18/45 <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 fiolka
PR	Roztwór do przygotowania sond do testu HPV 16 18/45 <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający < 5% detergentu.</i>	1 fiolka
S	Odczynnik selekcyjny do testu HPV 16 18/45 <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1 fiolka
TCR	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych HPV 16 18/45 <i>Buforowany roztwór zawierający fazę stałą i oligomery wychytujące (<0,5 mg/mL).</i>	1 fiolka
	Kołnierze do rekonstrukcji	3
	Karta z kodami kreskowymi serii głównych	1 karta

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

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

Materiały wymagane, ale dostępne osobno

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

	Nr kat.
Panther System	303095
Zestaw Panther Run	303096
Zestaw płynów do testu Aptima (Roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima, odczynnik olejowy Aptima)	303014
Zestaw Aptima Auto Detect	303013
Zestawy wieloprobówkowe (MTU)	104772-02
Zestaw torby na odpady Panther	902731
Ośłona pojemnika na odpady Panther	504405
Końcówki, 1000 µL z filtrami, przewodzące, z detekcją cieczy, jednorazowe. <i>Nie wszystkie produkty są dostępne we wszystkich regionach. W celu uzyskania dokładnych informacji dotyczących regionu należy skontaktować się ze swoim przedstawicielem</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Zestaw do transportu próbek Aptima	301154C
Zestaw do transportu próbek Aptima – drukowalny	PRD-05110
Zestaw Aptima do pobierania i transportu próbek z szyjki macicy	302657
Zatyczki przepuszczalne Aptima	105668
Zapasowe zatyczki nieprzepuszczalne	103036A
Zapasowe zatyczki do zestawów 100 testów:	
<i>Roztwory do przygotowania odczynnika amplifikacji i odczynnika-sondy</i>	CL0041
<i>Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego</i>	CL0041
<i>Odczynnik TCR i selekcyjny</i>	501604
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 8,25% (od 0,7 M do 1,16 M)	—
Rękawiczki jednorazowe, bezpudrowe	—
Wzmocnione plastikiem osłony stołu laboratoryjnego	—
Ściereczki bezpyłowe	—
Pipetor	—
Zestaw roztworu do przenoszenia Aptima (tylko do próbek na podłożu SurePath)	303658

Materiały opcjonalne

	Nr kat.
Wzmacniacz wybielacza do czyszczenia	302101

Procedura testu w systemie Panther System

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

A. Przygotowanie obszaru roboczego

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

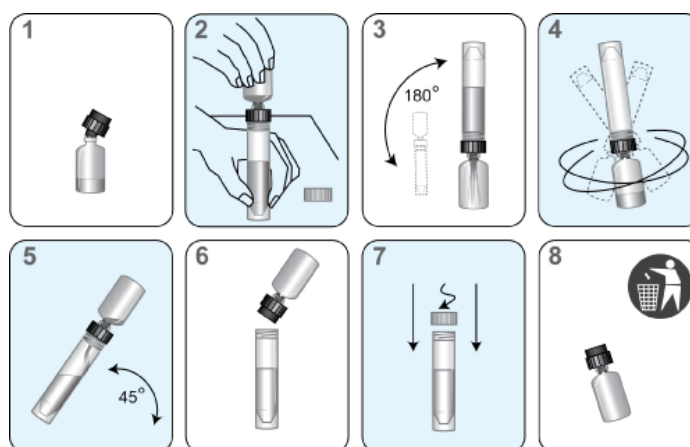
B. Przygotowanie odczynników nowego zestawu

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

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

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

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



Rysunek 1. Proces przygotowania w systemie Panther System

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

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

- C. Przygotowanie odczynników wcześniej zrekonstruowanych
 1. Przed rozpoczęciem testu uprzednio zrekonstruowane odczynniki do amplifikacji, enzymatyczny i zawierający sondy muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C).
 2. Jeśli zrekonstruowany odczynnik zawierający sondy zawiera wytrącony osad, który nie rozpuszcza się w temperaturze pokojowej, należy ogrzewać go w temperaturze nieprzekraczającej 60°C przez 1–2 minuty. Nie używać w przypadku obecności osadu lub zmętnienia.

3. Jeśli odczynnik wTCR zawiera wytrącony osad, ogrzewać odczynnik wTCR w temperaturze od 42°C do 60°C przez maksymalnie 90 minut. Przed użyciem odczekać, aż temperatura wTCR powróci do pokojowej. Nie stosować, jeżeli osad jest nadal obecny.
4. Jeśli odczynnik selekcyjny zawiera wytrącony osad, ogrzewać odczynnik selekcyjny w temperaturze 60°C ±1°C przez maksymalnie 45 minut, aby stworzyć warunki do rozpuszczenia osadu. Delikatnie mieszać zawartość butelki co 5 do 10 minut. Przed użyciem odczekać, aż temperatura odczynnika selekcyjnego powróci do pokojowej. Nie używać, jeżeli nadal obecny jest osad lub zmętnienie.
5. Dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając, przed włożeniem do systemu. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.
6. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. Panther System rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

D. Postępowanie z materiałami przeznaczonymi do badania

1. Przed rozpoczęciem pracy z próbkami (kalibratory, próbki i wszelkie dostarczone przez użytkownika próbki zewnętrznej kontroli jakości) należy pozostawić je do osiągnięcia temperatury pokojowej.
2. **Nie wytrząsać próbek.**
3. Przed włożeniem do statywu sprawdzić próbówki. Jeżeli próbówka zawiera pęcherzyki gazu lub objętość materiału mniejszą niż zwykle obserwowana, wirować próbówkę przez 5 minut przy 420 RCF, aby mieć pewność, że w zatyczce nie będzie cieczy.

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

E. Przygotowanie systemu

Skonfigurować system zgodnie z instrukcjami, które zawiera *Instrukcja obsługi systemu Panther/Panther Fusion System* i poniższa sekcja *Uwagi dotyczące procedury*. Upewnić się, że stosowane są statywy na odczynniki i adaptory TCR o odpowiedniej wielkości.

Uwagi dotyczące procedury

A. Kalibratory

1. Aby kalibratory działały prawidłowo z oprogramowaniem testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w systemie Panther System, potrzebne są dwa replikaty kalibratora ujemnego i każdego kalibratora dodatniego. Jedną fiolkę każdego kalibratora można załadować na dowolnej pozycji w statywie w dowolnej wnęce na próbki w systemie Panther System. Pipetowanie próbek pobranych od pacjentów rozpocznie się po spełnieniu jednego z dwóch następujących warunków:
 - a. Trwa obróbka kalibratora dodatniego i ujemnego przez Panther System.
 - b. W Panther System rejestrowane są ważne wyniki badania kalibratorów.
2. Po odpipetowaniu próbek z kalibratorami i obróbce pod kątem konkretnego zestawu odczynników można badać próbki pacjentów powiązany zestawem odczynników analitycznych w okresie do 24 godzin, o ile nie wystąpiły następujące sytuacje:
 - a. Kalibratory są nieważne.
 - b. Usunięto z systemu Panther System powiązany zestaw odczynników analitycznych.
 - c. Przekroczono granice stabilności powiązanego zestawu odczynników analitycznych.
3. Próba pobrania pipetą więcej niż dwóch replikatów z próbówki z kalibratorem może doprowadzić do błędów wynikających z niewystarczającej objętości.

B. Temperatura

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

C. Puder z rękawiczek

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

Procedury kontroli jakości

A. Kryteria ważności serii

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

- Więcej niż jedno powtórzenie kalibratora ujemnego będzie nieważne.
- Więcej niż jeden replikat kalibratora dodatniego 1 będzie nieważny.
- Więcej niż jeden replikat kalibratora dodatniego 2 będzie nieważny.
- Więcej niż 1 z 6 replikatów kalibratorów będzie nieważny.

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

Serię nieważną należy powtórzyć. Serie przerwane należy powtórzyć.

B. Kryteria akceptacji kalibratorów

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

	Panther System
Kalibrator ujemny	
RLU 18/45	≥ 0 i $\leq 60\ 000$ RLU
RLU IC/16	$\geq 75\ 000$ i $\leq 300\ 000$ RLU
Kalibrator dodatni 1	
RLU 18/45	$\geq 800\ 000$ i $\leq 2\ 000\ 000$ RLU
RLU IC/16	$\leq 475\ 000$ RLU
Kalibrator dodatni 2	
RLU 18/45	$\leq 115\ 000$ RLU
RLU IC/16	$\geq 625\ 000$ i $\leq 4\ 000\ 000$ RLU

C. Wartość graniczna IC

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

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

D. Wartość graniczna analitu 16

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

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

E. Wartość graniczna analitu 18/45

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

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

F. Stosunek sygnału do wartości granicznej (S/CO) analitu 16

Stosunek S/CO analitu dla wirusa HPV 16 jest wyznaczany na podstawie wartości RLU sygnału kontroli wewnętrznej/analitu 16 w badanej próbce oraz wartości granicznej analitu 16 w serii.

$$S/CO \text{ analitu } 16 = \frac{\text{wartość RLU kontroli wewnętrznej/analitu 16 w próbce badanej}}{\text{wartość graniczna analitu 16}}$$

G. Stosunek sygnału do wartości granicznej (S/CO) analitu 18/45

Stosunek S/CO analitu dla wirusa HPV 18/45 jest wyznaczany na podstawie wartości RLU sygnału analitu 18/45 w badanej próbce oraz wartości granicznej analitu 18/45 w serii.

$$S/CO \text{ analitu } 18/45 = \frac{\text{wartość RLU analitu 18/45 w próbce badanej}}{\text{wartość graniczna analitu 18/45}}$$

Interpretacja testu

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

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

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

Wynik testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45	Kryteria
Ujemny – 16 Ujemny – 18/45	$RLU\ IC/HPV\ 16 \geq \text{Wartość graniczna IC}$ oraz $S/CO\ HPV\ 16 < 1,00$ oraz $S/CO\ HPV\ 18/45 < 1,00$
Ujemny – 16 Dodatni – 18/45	$S/CO\ HPV\ 16 < 1,00$ oraz $S/CO\ HPV\ 18/45 \geq 1,00$ oraz $RLU\ HPV\ 18/45 \leq 3\ 000\ 000$
Dodatni – 16 Ujemny – 18/45	$S/CO\ HPV\ 16 \geq 1,00$ oraz $RLU\ IC/HPV\ 16 \leq 4\ 000\ 000$ oraz $S/CO\ HPV\ 18/45 < 1,00$
Dodatni – 16 Dodatni – 18/45	$S/CO\ HPV\ 16 \geq 1,00$ oraz $RLU\ IC/HPV\ 16 \leq 4\ 000\ 000$ oraz $S/CO\ HPV\ 18/45 \geq 1,00$ oraz $RLU\ HPV\ 18/45 \leq 3\ 000\ 000$
Nieważny	$S/CO\ HPV\ 16 < 1,00$ oraz $S/CO\ HPV\ 18/45 < 1,00$ oraz $RLU\ IC/HPV\ 16 < \text{Wartość graniczna IC}$ lub $RLU\ IC/HPV\ 16 > 4\ 000\ 000$ lub $RLU\ HPV\ 18/45 > 3\ 000\ 000$

Ograniczenia

- A. Typy próbek innych niż wskazane w sekcji Przeznaczenie nie były poddawane ocenom.
- B. Nie określono charakterystyki działania testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 u osób szczepionych przeciwko wirusowi HPV.
- C. Nie określono charakterystyki działania testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w przypadkach, w których zachodzi podejrzenie nadużyć seksualnych.
- D. Częstość występowania zakażeń wirusem HPV w populacji może wpływać na działanie testu. Dodatnie wartości predykcyjne są niższe w populacjach o niskiej prevalencji lub u osób nienarażonych na ryzyko zakażenia.
- E. Próbkę do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep, zawierającą mniej niż 1 mL po przygotowaniu preparatów ThinPrep Pap, uznaje się za niewystarczającą do badania przy użyciu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45.
- F. Na wyniki mogą mieć wpływ nieprawidłowości przy pobieraniu, przechowywaniu lub obróbce próbek.
- G. Kontrola wewnętrzna służy do monitorowania etapów testu — wychwytywania, amplifikacji i wykrywania cząsteczek szukanych. Nie służy ona do sprawdzania, czy próbka z szyjki macicy została prawidłowo pobrana.
- H. Ujemny wynik testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 nie wyklucza nieprawidłowości cytologicznych bądź przyszłych lub istniejących zmian CIN2, CIN3 bądź raka szyjki macicy.
- I. Wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 mają charakter jakościowy. Dlatego nie można zakładać istnienia korelacji między intensywnością dodatniego sygnału w teście a poziomem ekspresji mRNA w badanej próbce.
- J. Detekcja mRNA wirusa HPV (typy 16, 18 i 45) wysokiego ryzyka zależy od liczby kopii obecnych w próbce. Na detekcję może mieć wpływ sposób pobrania próbki, czynniki związane z pacjentem, faza zakażenia i obecność substancji zakłócających.
- K. Zakażenie wirusem HPV nie jest indykatorem cytologicznych zmian śród nabłonkowych dużego stopnia (HSIL) lub istniejącej neoplazji CIN wysokiego stopnia ani nie implikuje, że u pacjentki rozwiną się zmiany CIN2, CIN3 lub rak szyjki macicy. U większości kobiet zakażonych jednym lub większą liczbą typów wirusa HPV wysokiego ryzyka nie rozwijają się zmiany CIN2 lub CIN3 ani rak szyjki macicy.
- L. Następujące substancje mogą zakłócać wyniki testu, jeśli występują w stężeniach większych niż wskazane: środki nawilżające do pochwy (zawierające Polikwaternium 15) w stężeniu 1% masowo-obj., krem przeciwgrzybiczy (zawierający tioconazole) w stężeniu 0,03% masowo-obj., śluz w stężeniu 0,3% masowo-obj., hormony dopochwowe (zawierające progesteron) w stężeniu 1% masowo-obj., *Trichomonas vaginalis* w ilości 3×10^4 komórek/mL.
- M. Wysokie stężenia HPV 45 mogą zmniejszyć zdolność testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 do wykrywania obecności HPV 16 w niskich stężeniach.
- N. Nie przeprowadzono oceny wpływu innych potencjalnych zmiennych, takich jak upławy, stosowanie tamponów itp., oraz zmiennych związanych z pobieraniem próbek.
- O. Wyrobu tego może używać wyłącznie personel przeszkolony w zakresie korzystania z testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45.
- P. Skażenie krzyżowe próbek może powodować uzyskiwanie wyników fałszywie dodatnich. Badanie niekliniczne wykazało, że częstość występowania efektu przeniesienia w teście genotypującym Aptima HPV 16 18/45 w systemie Panther System wynosi 0,19%.
- Q. Wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 należy interpretować w powiązaniu z innymi danymi laboratoryjnymi i klinicznymi dostępnymi dla lekarza.

Oczekiwane wyniki w systemie Panther System: częstość występowania mRNA wirusa HPV wysokiego ryzyka

Częstość występowania zakażeń wirusem HPV wysokiego ryzyka jest bardzo zróżnicowana i zależy od wielu czynników, przy czym największe znaczenie ma wiek. W wielu badaniach badano częstość występowania zakażeń wirusem HPV określaną w oparciu o wykrycie DNA wirusa HPV, natomiast w nielicznych badaniach częstość występowania określano w oparciu o wykrycie onkogenego mRNA wirusa HPV. Kobiety z różnych ośrodków klinicznych (n=18), pochodzące z różnych obszarów geograficznych i populacji (10 stanów w USA), włączono do prospektywnego badania klinicznego pod nazwą CLEAR, mającego na celu ocenę testu Aptima HPV, który wykrywa 14 typów HPV wysokiego ryzyka. W badaniu CLEAR próbki od kobiet z dodatnimi wynikami testów Aptima HPV w Panther System zostały ocenione w trzech ośrodkach badawczych przy użyciu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w Panther System w oddzielnym badaniu klinicznym. Częstość występowania HPV 16, 18/45, jak również pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka zaobserwowanych w badaniu klinicznym, na podstawie wyników testów Aptima HPV i testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45 w Panther System, została skategoryzowana ogólnie, według grup wiekowych i według ośrodka badającego. Ujemny wynik testu Aptima HPV w Panther System oznacza, że żaden z 14 typów HPV wysokiego ryzyka nie jest obecny i dla celów analizy został oznaczony jako ujemny w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45 w Panther System. Tabela 1 przedstawia wyniki dla populacji z ASC-US (atypowe komórki nabłonka płaskiego o nieokreślonym charakterze) i populacji NILM (populacja ujemna w kierunku zmian śródnabłonkowych lub złośliwych).

Tabela 1: Częstość występowania mRNA wirusa HPV wysokiego ryzyka w populacjach z podziałem na grupy wiekowe i ośrodki badające oraz łączna częstość występowania

	% wyników dodatnich (x/n)							
	Populacja ASC-US (≥ 21 lat)				Populacja NILM (≥ 30 lat)			
	HPV 16 dodat.	HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	11 innych WR* dodat.	HPV 16 dodat.	HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	11 innych WR* dodat.
Ogółem	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)
Grupa wiekowa (lata)								
od 21 do 29	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	N/D	N/D	N/D	N/D
od 30 do 39	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)
≥40	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)
Ośrodek badający**								
1	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)
2	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)
3	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3 615)	0,5 (18/3 615)	0 (0/3 615)	3,6 (131/3 615)

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

Uwaga: Na potrzeby analizy kobiety z ujemnym wynikiem testu Aptima HPV uzyskanym w systemie Panther System zostały oznaczone jako kobiety z ujemnym wynikiem testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 wykonanym w systemie Panther System.

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

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

Skuteczność testu w Panther System

Test genotypujący Aptima HPV 16 18/45 po raz pierwszy wprowadzono na rynek w 2012 roku jako test wykonywany w systemie Tigris DTS System. W 2013 roku rozszerzono wskazania do stosowania testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45, umożliwiając wykonywanie go w systemie Panther System. Panther System to aparat, który stanowi alternatywę dla systemu Tigris DTS System i jest od niego mniejszy. Oba systemy są przeznaczone do całkowitej automatyzacji diagnostycznych testów zamplifikowanych kwasów nukleinowych. Wybrane badania pod kątem skuteczności działania testu przeprowadzone w systemie Tigris DTS System wykorzystano do potwierdzenia charakterystyki działania testu w systemie Panther System.

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

Test genotypujący Aptima HPV 16 18/45 w systemie Panther System oceniono podczas prospektywnego, wielośrodkowego badania klinicznego pod nazwą CLEAR, prowadzonego w USA, przy wykorzystaniu próbek do badań cytologicznych pozyskanych od kobiet skierowanych na takie badania, które zgodziły się na wykorzystanie ich materiału w badaniu klinicznym.

Badanie kliniczne CLEAR — ocena stanu początkowego

Badanie CLEAR zostało przeprowadzone w celu określenia skuteczności klinicznej testu Aptima HPV wykonywanego w systemie Tigris DTS System w celu detekcji śródnabłonkowych neoplazji szyjki macicy stopnia 2 i poważniejszych zmian chorobowych w obrębie szyjki macicy (\geq CIN2). Badanie CLEAR obejmowało ocenę początkowego stanu pacjentek i 3-letni okres kontrolny. Kobiety były kwalifikowane do grupy ASC-US albo do grupy NILM na podstawie wyników rutynowych badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy na próbkach do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep. Populacja grupy ASC-US obejmowała kobiety w wieku 21 lat i starsze z wynikami badań cytologicznych wykazującymi obecność komórek ASC-US, a populacja grupy NILM obejmowała kobiety w wieku 30 lat i starsze z wynikami badań cytologicznych wykazującymi brak zmian śródnabłonkowych lub złośliwych (NILM).

Do badania włączono kobiety z 18 ośrodków klinicznych, głównie z poradni położniczych/ginekologicznych zlokalizowanych w różnych obszarach geograficznych, należące do różnych populacji. Na początku badania klinicznego pozostałości próbek do badań cytologicznych pozyskanych od kobiet skierowanych na takie badania badano za pomocą testu Aptima HPV wykonywanego w systemie Tigris DTS System oraz za pomocą zatwierdzonego przez agencję FDA testu pod kątem DNA wirusa HPV. Próbkę podzielono następnie na porcje, które zarchiwizowano i przechowywano w temperaturze -70°C do momentu przetestowania ich za pomocą testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 wykonywanego w systemie Panther System w ramach badania klinicznego testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45.

Na początku badania klinicznego wszystkie kobiety w grupie badanej ASC-US zostały skierowane na kolposkopię, niezależnie od wyników testu Aptima HPV wykonywanego w systemie Tigris DTS System i zatwierdzonego przez agencję FDA testu pod kątem DNA wirusa HPV. Przeprowadzono łyżeczkowanie szyjki macicy (endocervical curettage, ECC) i biopsje (1 biopsja w każdym z 4 kwadrantów). Tam, gdzie widoczna była zmiana chorobowa, wykonywano biopsję skrawkową (metodą celowaną; 1 biopsja na zmianę), a w kwadrantach bez widocznych zmian chorobowych biopsje wykonywano w miejscu przejścia nabłonka płaskokomórkowego w walcowatokomórkowy (metodą losową).

W grupie NILM kobiety z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV w systemie Tigris DTS i/lub zatwierdzonego przez FDA testu wykrywającego DNA wirusa HPV, a także losowo wybrane kobiety z ujemnymi wynikami obu testów skierowane zostały na kolposkopię w ramach oceny stanu początkowego. U każdej kobiety poddanej kolposkopii wykonano łyżeczkowanie szyjki macicy (ECC). Biopsje wykonano tylko z widocznych zmian chorobowych (metoda celowana; 1 biopsja na zmianę).

Stan chorobowy był określany na podstawie konsensusu panelu przeglądu histologicznego, który opierał się na porozumieniu co najmniej 2 specjalistów patologów. Specjalistom patologom nie ujawniano stanu HPV i cytologii kobiet, ani ich rozpoznań histologicznych. Jeśli opinie 3 histopatologów były sprzeczne, wszyscy 3 oglądali preparaty pod jednym mikroskopem dla wielu obserwatorów, aby uzgodnić konsensus. Badaczom, lekarzom ani pacjentkom nie ujawniano wyników testów w kierunku HPV aż do zakończenia kolposkopii, aby uniknąć obciążenia wyniku.

Na początku badania klinicznego oceniano poddawano kliniczną skuteczność testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 wykonywanego w systemie Panther System w celu detekcji neoplazji \geq CIN2 oraz śródnabłonkowych neoplazji szyjki macicy stopnia 3 lub poważniejszych zmian w obrębie szyjki macicy (\geq CIN3), porównując jego wyniki ze stanem zmian chorobowych w obrębie szyjki macicy określonym na początku badania.

Badanie CLEAR — testy kontrolne

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

Przeprowadzenie fazy kontrolnej służyło porównaniu skumulowanego ryzyka wystąpienia w ciągu 3 lat zmian chorobowych w obrębie szyjki macicy u kobiet z początkowo dodatnimi wynikami testu Aptima HPV i początkowo dodatnimi wynikami testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 oraz u kobiet z początkowo dodatnimi wynikami testu Aptima HPV i początkowo ujemnymi wynikami testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45. To, czy stan chorobowy szyjki macicy wystąpił w okresie 3 lat, określano w następujący sposób:

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

Kliniczną skuteczność testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 w zakresie wykrywania zmian \geq CIN2 i \geq CIN3 oceniono w kontekście występowania zmian chorobowych w obrębie szyjki macicy w okresie 3-letnim.

Populacja ASC-US w wieku ≥ 21 lat: skuteczność kliniczna testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 z próbkami do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep

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

Spośród 353 uwzględnionych w analizie kobiet z dodatnimi wynikami testu Aptima HPV w Panther System, 118 kobiet miało dodatnie wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w Panther System, wskazujące na obecność HPV 16 i/lub HPV 18/45; 235 miało wyniki ujemne, wskazujące na obecność jednego lub więcej z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka wykrytych testem Aptima HPV (tj. typy HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 i 68). Dodatkowych 539 uwzględnionych w analizie kobiet w wieku 21 lat i starszych z wynikiem badania cytologicznego ASC-US miało ujemne wyniki testów Aptima HPV w Panther System. Ujemny wynik testu Aptima HPV oznacza, że żaden z 14 typów HPV wysokiego ryzyka nie jest obecny i dla celów analizy został oznaczony jako ujemny w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45 w Panther System. Częstość występowania \geq CIN2 i \geq CIN3 u kobiet z wynikiem badania cytologicznego ASC-US wynosiła odpowiednio 9,1% i 3,8%. W oparciu o badania przy użyciu Panther System, wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 według wyniku testu Aptima HPV i rozpoznania postawionego w wyniku konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny przedstawiono w Tabeli 2.

Tabela 2: Populacja ASC-US w wieku ≥ 21 lat: wyniki testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 i testu Aptima HPV w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny

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

AHPV-GT = Test genotypujący Aptima HPV 16 18/45, CIN1 = Śródnaślakowate neoplazje szyjki macicy w stopniu 1, WR = Wysokiego ryzyka, Ujem. = Ujemny, Dodat. = Dodatni

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

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

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

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

Bezwzględne ryzyko wystąpienia choroby (\geq CIN2 i \geq CIN3) w zależności od wyniku testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 oraz wyniku testu Aptima HPV przedstawiono w Tabeli 3. Ryzyko wystąpienia \geq CIN2 u kobiet z obecnymi typami HPV 16, 18 i/lub 45 wynosiło 28,8% w porównaniu z 14,0% u kobiet z jednym lub więcej z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka i 2,6% u kobiet bez typów HPV wysokiego ryzyka. Ryzyko bezwzględne przedstawiono w podziale na grupy wiekowe w Tabeli 4.

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

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

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

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

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

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

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

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

Względne ryzyko wystąpienia choroby w przypadku dodatniego wyniku testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w porównaniu z wynikiem ujemnym przedstawiono w Tabeli 5. U kobiet, u których występowały typy HPV 16, 18 i/lub 45, prawdopodobieństwo wystąpienia \geq CIN2 było 11,1 raza większe, a prawdopodobieństwo wystąpienia \geq CIN3 22,8 raza większe niż u kobiet, u których nie występowały typy HPV wysokiego ryzyka. U kobiet, u których występowały typy HPV 16, 18 i/lub 45, prawdopodobieństwo wystąpienia \geq CIN2 było 2,1 raza większe, a prawdopodobieństwo wystąpienia \geq CIN3 4,0 raza większe niż u kobiet, u których występował co najmniej jeden z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka.

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

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

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka

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

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

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

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

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka

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

Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: skuteczność kliniczna testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 z próbkami do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep na początku badania klinicznego

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

Spośród 259 uwzględnionych w analizie kobiet z określonym stanem chorobowym oraz dodatnimi wynikami testu Aptima HPV w systemie Panther System na początku badania, 65 kobiet miało dodatnie wyniki testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 w systemie Panther System, wskazujące na obecność HPV 16 i/lub HPV 18/45; 194 miało wyniki ujemne, wskazujące na obecność jednego lub więcej z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka. Dodatkowych 549 uwzględnionych w analizie kobiet w wieku 30 lat i starszych z wynikiem badania cytologicznego NILM oraz określonym stanem chorobowym miało ujemne wyniki testów Aptima HPV w Panther System. Ujemny wynik testu Aptima HPV oznacza, że żaden z 14 typów HPV wysokiego ryzyka nie jest obecny i dla celów analizy został oznaczony jako ujemny w teście genetycznym Aptima HPV 16 18/45 w Panther System. Wyniki testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 według wyniku testu Aptima HPV i rozpoznania postawionego w wyniku konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny przedstawiono w Tabeli 7.

Tabela 7: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: wyniki testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 i testu Aptima HPV w zestawieniu z rozpoznaniem postawionymi w wyniku osiągnięcia konsensusu przez panel ekspertów oceniających materiał histologiczny na początku badania klinicznego

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

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

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

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

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

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

Spośród 491 kobiet z dodatnimi wynikami testu Aptima HPV w Panther System i genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w Panther System, 232 kobiety miały niezwyfikowany (w tym nieokreślony) stan chorobowy (Tabela 8). Spośród 10 348 kobiet z ujemnymi wynikami testu Aptima HPV z pierwotnego badania CLEAR, 9 799 miało niezwyfikowany stan chorobowy. Ponieważ badanie zostało zaprojektowane tak, że na kolposkopię skierowano tylko losowo wybrane kobiety z ujemnymi wynikami obu testów (Aptima HPV w systemie Tigris DTS i zatwierdzonego przez FDA testu wykrywającego DNA wirusa HPV), w tej grupie udział kobiet z niezwyfikowanym stanem obecności bądź braku choroby był wysoki (96,2%). Aby skorygować to obciążenie selektywnością skierowań, zastosowano metodę wielokrotnych podstawień, biorąc pod uwagę wyniki testu, w celu oszacowania liczby kobiet, u których rozpoznano by obecność choroby, gdyby wszystkie kobiety zostały poddane kolposkopii. W przypadku tej metody brakujący stan chorobowy podstawiano na podstawie wyników testu Aptima HPV wykonywanego w systemie Panther, testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 wykonywanego w systemie Panther oraz zatwierdzonego przez agencję FDA testu pod kątem DNA wirusa HPV. Przedstawiono oszacowania skuteczności testów na podstawie analizy 808 przypadków ze zweryfikowanym stanem obecności bądź braku choroby, zarówno skorygowanym pod względem obciążenia selektywnością skierowań, jak i bez korekty.

Tabela 8: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: klasyfikacja kobiet z grupy NILM uwzględnionych w analizie wg wyników testu Aptima HPV, testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45, testu wykrywającego DNA wirusa HPV, obecności lub braku choroby ($\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$) oraz weryfikacji obecności lub braku choroby na początku badania klinicznego

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

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

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

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

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

Skorygowane bezwzględne ryzyko choroby (\geq CIN2 i \geq CIN3) na początku badania klinicznego według wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 oraz wyniku testu Aptima HPV przedstawia Tabela 9a. Ryzyko wystąpienia \geq CIN2 u kobiet z obecnymi typami HPV 16, 18 i/lub 45 wynosiło 9,7% w porównaniu z 3,2% u kobiet z jednym lub więcej z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka i 0,7% u kobiet bez typów HPV wysokiego ryzyka. Nieskorygowane bezwzględne ryzyko wystąpienia choroby przedstawiono ogółem w Tabeli 9b oraz według grupy wiekowej w Tabeli 10.

Tabela 9a: Populacja NILM w wieku \geq 30 lat: bezwzględne ryzyko wystąpienia \geq CIN2 i \geq CIN3 dla wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (dane szacunkowe skorygowane pod względem obciążenia) na początku badania klinicznego

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

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

Tabela 9b: Populacja NILM w wieku \geq 30 lat: bezwzględne ryzyko wystąpienia \geq CIN2 i \geq CIN3 dla wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (nieskorygowane dane szacunkowe) na początku badania klinicznego

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

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

Tabela 10: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: bezwzględne ryzyko wystąpienia $\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$ dla wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV wg grupy wiekowej (nieskorygowane dane szacunkowe) na początku badania klinicznego

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

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

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

Względne ryzyko wystąpienia choroby w przypadku dodatniego wyniku testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w porównaniu z wynikiem ujemnym przedstawiono w Tabeli 11 (skorygowane pod względem obciążenia) oraz Tabela 12 (nieskorygowane). U kobiet, u których występowały typy HPV 16, 18 i/lub 45, prawdopodobieństwo wystąpienia \geq CIN2 było 12,9 raza większe, a prawdopodobieństwo wystąpienia \geq CIN3 53,3 raza większe niż u kobiet, u których nie występowały typy HPV wysokiego ryzyka. U kobiet, u których występowały typy HPV 16, 18 i/lub 45, prawdopodobieństwo wystąpienia \geq CIN2 było 3,0 raza większe, a prawdopodobieństwo wystąpienia \geq CIN3 4,8 raza większe niż u kobiet, u których występował co najmniej jeden z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka.

Tabela 11: Populacja NILM w wieku \geq 30 lat: względne ryzyko wystąpienia \geq CIN2 i \geq CIN3 dla wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (dane szacunkowe skorygowane pod względem obciążenia) uzyskanych na początku badania klinicznego

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

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

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

Tabela 12: Populacja NILM w wieku \geq 30 lat: względne ryzyko wystąpienia \geq CIN2 i \geq CIN3 dla wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (nieskorygowane dane szacunkowe) na początku badania klinicznego

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

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

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

Współczynniki prawdopodobieństwa (\geq CIN2 i \geq CIN3) na początku badania klinicznego według wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 przedstawiono w tabelach: Tabela 13 (skorygowane pod względem obciążenia) oraz Tabela 14 (nieskorygowane). Prawdopodobieństwo obecności typów HPV 16, 18 i/lub 45 było 11,2 razy większe u kobiet z \geq CIN2 i 24,1 razy większe u kobiet z \geq CIN3 na początku badania klinicznego.

Tabela 13: Populacja NILM w wieku \geq 30 lat: współczynniki prawdopodobieństwa w kierunku wystąpienia \geq CIN2 i \geq CIN3 według wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (dane szacunkowe skorygowane pod względem obciążenia) uzyskanych na początku badania klinicznego

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

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka

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

Tabela 14: Populacja NILM w wieku \geq 30 lat: współczynniki prawdopodobieństwa w kierunku wystąpienia \geq CIN2 i \geq CIN3 według wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV (nieskorygowane dane szacunkowe) na początku badania klinicznego

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

CI = Przedział ufności, WR = Wysokiego ryzyka

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

Populacja NILM w wieku ≥30 lat: skuteczność kliniczna testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 po 3-letnim okresie kontrolnym

Na początku badania klinicznego do fazy kontrolnej kwalifikowały się 10 822 kobiety uwzględnione w analizie, które ukończyły 30 lat i miały wyniki badania cytologicznego wykazujące brak zmian (NILM) oraz dodatnie wyniki testu Aptima HPV i ważne wyniki testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 lub ujemne wyniki testu Aptima HPV. Testy wykonywano w systemie Panther System. Spośród kobiet, u których nie występowały zmiany ≥CIN2, 67,0% (7 235/10 802) odbyło wizytę kontrolną po 1. roku, na której wykonano rozmaz szyjkowy, 60,3% (6 505/10 793) odbyło taką wizytę po 2. roku, a 58,7% (6 330/10 786) po 3. roku. Ogółem badanie kliniczne ukończyło 58,8% (6366/10 822) kobiet (są to kobiety, u których na początku badania klinicznego lub w fazie kontrolnej były obecne zmiany ≥CIN2 i/lub które odbyły wymagane wizyty).

Spośród 10 822 kobiet na początku badania klinicznego 490 (4,5%) miało wynik dodatni testu Aptima HPV i ważny wynik testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45. Spośród tych 490 kobiet u 247 (50,4%) stwierdzono obecność lub brak choroby po 3 latach na podstawie badań cytologicznych lub wyników kolposkopii/biopsji. U dwudziestu pięciu (25) kobiet występowały zmiany ≥CIN2, w tym u 18 występowały zmiany ≥CIN3; u 222 kobiet wyniki badań histopatologicznych wykazały stan prawidłowy/zmiany CIN1.

Spośród 247 uwzględnionych w analizie kobiet z określonym stanem chorobowym w okresie 3 lat oraz dodatnimi wynikami testu Aptima HPV 47 (19,0%) kobiet miało dodatkowo wyniki testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45, wskazujące na obecność HPV 16 i/lub HPV 18/45 powyżej klinicznej wartości odcięcia; 200 (81,0%) miało wyniki ujemne, wskazujące na obecność jednego lub więcej z pozostałych 11 typów HPV wysokiego ryzyka powyżej klinicznej wartości odcięcia.

Pozostałe 10 332 kobiety miało ujemne wyniki testu Aptima HPV na początku badania klinicznego CLEAR. 57,6% (5946/10 322) spośród tych kobiet miało określony stan chorobowy w okresie 3 lat. Na potrzeby analizy kobietom, u których wynik testu Aptima HPV był ujemny, przypisano wynik ujemny w teście genotypującym Aptima HPV 16 18/45. Tabela 15 zawiera uzyskane na początku badania klinicznego wyniki testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45, a także stan obecności albo braku choroby w okresie 3 lat (z uwzględnieniem oceny na początku badania klinicznego i wizyt kontrolnych) określony poprzez konsensus panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny.

Tabela 15: Populacja NILM w wieku ≥30 lat: klasyfikacja kobiet kwalifikujących się do fazy kontrolnej według uzyskanych na początku badania klinicznego wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45, wyników testu Aptima HPV i stanu obecności albo braku choroby określonego w fazie początkowej i w fazie kontrolnej

Aptima HPV Wynik testu	Wynik testu AHPV-GT	Interpretacja	Stan obecności albo braku choroby w okresie 3 lat (z uwzględnieniem oceny na początku badania klinicznego i wizyt kontrolnych)							
			Pacjentki utracone dla potrzeb obserwacji	Brak możliwości określenia*	Stan prawidłowy	CIN1	CIN2	CIN3	Rak	Ogółem
Dodatni	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	HPV 16 dodat.	25	2	16	0	1	5	1	50
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	HPV 18/45 dodat.	22	3	18	2	2	0	2	49
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	1	0	0	0	0	0	0	1
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	168	22	178	8	4	10	0	390
Ogółem			216	27	212	10	7	15	3	490
Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.**	HPV WR ujem.	4 150	236	5 879	46	16	5	0	10 332
Ogółem			4 366	263	6 091	56	23	20	3 [^]	10 822

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

*Kobiety z nieprawidłowymi wynikami badania cytologicznego w fazie kontrolnej, u których nie określono konsensusu panelu ekspertów oceniających materiał histologiczny, lub kobiety z nieodpowiednio wykonanym rozmazem szyjkowym podczas ich ostatniej wizyty

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

[^]U trzech kobiet stwierdzono raka gruczołowego in situ (AIS).

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

Skumulowane bezwzględne ryzyko wystąpienia choroby (\geq CIN2 i \geq CIN3) w okresie 3 lat w zależności od wyniku testu Aptima HPV oraz wyniku testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 przedstawia Tabela 16. Skumulowane względne ryzyko wystąpienia choroby w okresie 3 lat w przypadku dodatniego wyniku testu genotypującego Aptima 16 18/45 w porównaniu z wynikiem ujemnym przedstawia Tabela 17.

Tabela 16: Populacja NILM w wieku \geq 30 lat: skumulowane bezwzględne ryzyko* wystąpienia \geq CIN2 i \geq CIN3 w okresie 3 lat dla wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV na początku badania klinicznego

Wynik testu Aptima HPV	Wynik testu AHPV-GT	Interpretacja	\geq CIN2	\geq CIN3
			Ryzyko bezwzględne (95% CI)	Ryzyko bezwzględne (95% CI)
Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45 dodat.	16,5 (9,4; 28,1)	11,9 (6,0; 22,8)
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	21,4 (10,8; 39,7)	18,6 (8,7; 37,3)
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Tylko HPV 18/45 dodat.	12,2 (4,7; 29,6)	5,4 (1,3; 21,1)
	HPV 16 dodat., HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i 18/45 dodat.	N/D	N/D
	HPV 16/18/45 ujem.	Inne HPV WR dodat.	5,7 (3,4; 9,5)	3,8 (2,0; 7,2)
	Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	7,9 (5,4; 11,3)	5,4 (3,5; 8,5)
Ujemny	HPV 16/18/45 ujem.**	HPV WR ujem.	0,3 (0,2; 0,5)	0,1 (0,0; 0,2)
Częstość występowania			0,7%	0,3%

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

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

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

Tabela 17: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: skumulowane względne ryzyko* wystąpienia $\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$ w okresie 3 lat dla wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 oraz testu Aptima HPV na początku badania klinicznego

Interpretacja testu Aptima**	$\geq \text{CIN}2$	$\geq \text{CIN}3$
	Ryzyko względne (95% CI)	Ryzyko względne (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodat. vs. HPV WR ujem.	51,2 (25,9; 101,0)	129,6 (42,7; 393,5)
HPV 16 i/lub 18/45 dodat. vs. inne HPV WR dodat.	2,9 (1,4; 6,2)	3,1 (1,2; 7,9)
Inne HPV WR dodat. vs. HPV WR ujem.	17,6 (8,9; 34,9)	42,0 (14,2; 124,0)
HPV WR dodat. vs. HPV WR ujem.	24,3 (13,7; 43,2)	59,5 (22,0; 161,0)
Częstość występowania	0,7%	0,3%

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

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

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

Skumulowana prevalencja zmian $\geq \text{CIN}2$ i $\geq \text{CIN}3$ w okresie 3-letnim wśród kobiet z wynikami badań cytologicznych wykazujących brak zmian (NILM) wynosiła odpowiednio 0,7% i 0,3%. Względne ryzyko wykrycia zmian $\geq \text{CIN}2$ u kobiet z dodatnim wynikiem dla wirusa HPV 16 i/lub 18/45 względem kobiet z dodatnim wynikiem dla innych wirusów HPV WR wynosiło 2,9 (95-procentowy przedział ufności: 1,4, 6,2), co wskazuje, że zmiany $\geq \text{CIN}2$ wykrywano u kobiet z dodatnim wynikiem badania HPV 16 i/lub 18/45 2,9 razy częściej niż u kobiet z dodatnim wynikiem dla innych wirusów HPV WR. Ryzyko względne wystąpienia zmian $\geq \text{CIN}3$ wynosiło 3,1 (95-procentowy przedział ufności: 1,2, 7,9). Względne ryzyko wykrycia zmian $\geq \text{CIN}2$ u kobiet z dodatnim wynikiem dla innych wirusów HPV WR względem kobiet z ujemnym wynikiem dla wirusów HPV WR wynosiło 17,6 (95-procentowy przedział ufności: 8,9, 34,9), co wskazuje, że zmiany $\geq \text{CIN}2$ wykrywano u kobiet z dodatnim wynikiem dla innych wirusów HPV WR 17,6 razy częściej niż u kobiet z ujemnym wynikiem dla wirusów HPV WR. Ryzyko względne wystąpienia zmian $\geq \text{CIN}3$ wynosiło 42,0 (95-procentowy przedział ufności: 14,2, 124,0).

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

Próbki do badania cytologicznego na podłożu płynnym SurePath zostały pobrane od mieszkanki Kanady, które zostały skierowane na badanie dodatkowe z powodu jednego lub większej liczby nieprawidłowych wyników rozmazu szyjkowego, zakażenia wirusem HPV lub z innej przyczyny. Jedna porcja (0,5 mL) każdej próbki została przeniesiona do probówki do przenoszenia próbek Aptima, a następnie poddana obróbce za pomocą roztworu do przenoszenia Aptima. Za pomocą testu Aptima HPV przebadano po jednym replikacie każdej próbki (n=500). Dodatnie próbki następnie zbadano testem genetycznym Aptima HPV 16 18/45, a wyniki testu Aptima HPV przedstawiono w Tabeli 18. Podobne wyniki wykazano dla komercyjnie dostępnego testu PCR w kierunku HPV, który rozróżnia HPV 16 i HPV 18, ale nie HPV 45, oddzielnie od innych genotypów wysokiego ryzyka. Względne ryzyko wystąpienia choroby dla wyników dodatnich w stosunku do ujemnych przedstawiono w Tabeli 19 dla testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 i testu PCR w kierunku HPV.

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

Wynik HPV WR	Wynik genetyczny	Interpretacja	Bezwzględne ryzyko Aptima \geq CIN3 (95% CI)	Bezwzględne ryzyko HPV w PCR \geq CIN3 (95% CI)
Dodatni	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i/lub HPV 18/45* dodat.	13,9 (10,8-17,0)	13,9 (11,4-16,4)
	HPV 16 dodat. i HPV 18/45* ujem.	Tylko HPV 16 dodat.	16,8 (12,4-21,3)	16,2 (12,8-19,5)
	HPV 16 ujem. i/lub HPV 18/45* ujem.	Tylko HPV 18/45* dodat.	6,1 (2,0-12,9)	6,6 (2,1-13,9)
	HPV 16 dodat. i/lub HPV 18/45 dodat.	HPV 16 i HPV 18/45* dodat.	25,0 (2,9-59,8)	12,5 (1,3-34,5)
	HPV 16 ujem. i/lub HPV 18/45* ujem.	Inne HPV WR dodat.	2,1 (1,4-2,8)	2,0 (1,4-2,7)
	Dodat. lub ujem.	HPV WR dodat.	11,5 (10,3-12,4)	10,7 (9,8-11,4)
Ujemny**	HPV 16 ujem. i/lub HPV 18/45* ujem.	HPV WR ujem.	1,1 (0,5-2,0)	0,6 (0,2-1,4)
Częstość występowania (%)			4,2%	4,6%

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

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

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

Tabela 19: Względne ryzyko wystąpienia zmian \geq CIN3 dla wyników testu genotypującego HPV 16 18/45 oraz komercyjnie dostępnego testu PCR w kierunku HPV

Wynik testu Aptima		Wynik testu PCR w kierunku HPV	
Interpretacja testu	Ryzyko względne \geq CIN3 (95% CI)	Interpretacja testu	Ryzyko względne \geq CIN3 (95% CI)
HPV 16 i/lub 18/45 dodatni vs. HPV WR ujemny	12,6 (5,9-27,0)	HPV 16 i/lub 18/45 dodatni vs. HPV WR ujemny	23,3 (8,4-64,3)
HPV 16 i/lub 18/45 dodatni vs. inne HPV WR dodatnie	3,0 (1,6-5,5)	HPV 16 i/lub 18/45 dodatni vs. inne HPV WR dodatnie	3,1 (1,8-5,3)
Inne HPV WR dodatnie vs. HPV WR ujemny	4,2 (1,8-10,1)	Inne HPV WR dodatnie vs. HPV WR ujemny	7,6 (2,6-22,4)
HPV WR dodatni vs. HPV WR ujemny	8,3 (4,0-17,3)	HPV WR dodatni vs. HPV WR ujemny	14,4 (5,3-39,5)
Częstość występowania	4,2%	Częstość występowania	4,6%

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

Próbki CSCT zostały pobrane od kobiet podczas rutynowych badań przesiewowych lub wizyt kontrolnych i zbadane testem Aptima HPV. Pozostałe próbki CSCT (n=378) z dodatnim wynikiem testu Aptima HPV zostały zbadane testem genetycznym Aptima HPV 16 18/45 w systemie Tigris DTS. Genotyp HPV w każdej próbce był określany przy użyciu testu genotypowania DNA. Próbki z rozbieżnymi wynikami testów genetycznych (DNA i test genotypujący Aptima HPV 16 18/45) zostały zbadane przy użyciu zatwierdzonego testu sekwencjonowania PCR z odwrotną transkryptazą w celu określenia ich stanu HPV 16, HPV 18 i HPV 45. Określono zgodność kliniczną (wyników dodatnich i ujemnych) testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w wykrywaniu wirusa HPV 16, 18 i 45 wysokiego ryzyka. Wyniki przedstawiono w Tabeli 20.

Tabela 20: Zgodność kliniczna wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w systemie Tigris DTS w wykrywaniu wirusa HPV 16, 18 i 45 wysokiego ryzyka w próbkach CSCT

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

Dodat. = Dodatni, Ujem = Ujemny

Zgodność wyników dodatnich: 98,3% (176/179) (95-procentowy przedział ufności: 95,2, 99,4)

Zgodność wyników ujemnych: 99,0% (197/199) (95-procentowy przedział ufności: 96,4, 99,7)

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

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

Zgodność kliniczna wyników testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 do wykrywania wirusa HPV 16, 18 i 45 wysokiego ryzyka dla Panther System została określona na podstawie wyników z systemu Tigris DTS jako metody referencyjnej. Obliczono procentową zgodność wyników dodatnich i ujemnych oraz związane z tym 95-procentowe przedziały ufności. Wyniki przedstawiono w Tabeli 21.

Tabela 21: Zgodność kliniczna wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 w systemie Panther System w wykrywaniu wirusa HPV 16, 18 i 45 wysokiego ryzyka w próbkach CSCT

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

Dodat. = Dodatni, Ujem = Ujemny

Zgodność wyników dodatnich: 98,7% (235/238) (95-procentowy przedział ufności: 96,4, 99,6)

Zgodność wyników ujemnych: 98,3% (173/176) (95-procentowy przedział ufności: 95,1, 99,4)

Porównanie wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 wykonywanego w systemie Panther System dla próbek klinicznych przed obróbką i po obróbce w procesorze ThinPrep w celu badania cytologicznego

Przeprowadzono badanie w celu oceny zgodności wyników testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 wykonywanego w systemie Panther System na próbkach z szyjki macicy badanych przed obróbką lub po obróbce w procesorze ThinPrep 5000 w celu badania cytologicznego.

Próbki pochodziły od kobiet, od których w ramach standardowych badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy pobrano próbki z szyjki macicy i zanurzono je w roztworze w fiolkach ThinPrep Pap Test.

W przypadku każdej z kobiet dwie porcje o objętości 1 mL pozyskane z przechowywanej w fiolce ThinPrep Pap Test próbki z szyjki macicy były ręcznie przenoszone do próbki do przenoszenia próbek Aptima (próbka A i próbka B przed obróbką w celu badania cytologicznego). Po przetworzeniu za pomocą procesora ThinPrep 5000 jedna próbka resztkowa ThinPrep o objętości 1 mL była przenoszona do próbki do przenoszenia próbek Aptima (próbka C po obróbce w celu badania cytologicznego).

Łącznie 214 próbek z dodatnimi wynikami testu Aptima HPV oceniono przy użyciu testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45. Częstość występowania wirusa HPV 16 i/lub HPV 18/45 wykrytego za pomocą testu przedstawiono w tabelach: Tabela 22 dla całej populacji, Tabela 23 dla populacji NILM (≥ 30 lat) oraz Tabela 24 dla populacji ASC-US (≥ 21 lat). Do analizy włączono tylko próbki z dodatnimi wynikami testu Aptima HPV dla próbki A lub próbki B oraz dodatnim wynikiem testu dla próbki C.

Tabela 22: Cała populacja¹: częstość występowania genotypów 16 i/lub 18/45 wirusa HPV wykrytych za pomocą testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 w próbkach przed obróbką i po obróbce w celu badania cytologicznego

		Próbki A i B przed obróbką w celu badania cytologicznego			
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Inne HPV ³ WR dodat., HPV 16/18/45 ujem.	Nie określono ⁴
Próbka C ² po obróbce w celu badania cytologicznego	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	18	0	0	2
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	0	9	2	4
	HPV 16 dodat. i HPV 18/45 dodat.	0	0	0	1
	Inne HPV ³ WR dodat., HPV 16/18/45 ujem.	0	0	175	3

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

¹ Cała populacja obejmuje: >ASC-US, NILM, ASC-US.

² Wszystkie próbki posiadają komplet wyników dla materiału badanego uzyskanych w teście genotypującym Aptima HPV 16 18/45.

³ Genotypy 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 i/lub 68 wirusa HPV.

⁴ Obejmuje próbki, w przypadku których co najmniej jedna próbka przed obróbką w celu badania cytologicznego (A lub B) jest ujemna pod względem wirusa HPV 16 i/lub wirusa HPV 18/45.

Tabela 23: Populacja NILM w wieku ≥ 30 lat: częstość występowania genotypów 16 i/lub 18/45 wirusa HPV wykrytych za pomocą testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 w próbkach przed obróbką i po obróbce w celu badania cytologicznego

		Próbki A i B przed obróbką w celu badania cytologicznego			
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Inne HPV ² WR dodat., HPV 16/18/45 ujem.	Nie określono ³
Próbka C ¹ po obróbce w celu badania cytologicznego	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	5	0	0	2
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	0	1	0	1
	Inne HPV ² WR dodat., HPV 16/18/45 ujem.	0	0	71	2

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

¹ Wszystkie próbki posiadają komplet wyników dla materiału badanego uzyskanych w teście genotypującym Aptima HPV 16 18/45.

² Genotypy 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 i/lub 68 wirusa HPV.

³ Obejmuje próbki, w przypadku których co najmniej jedna próbka przed obróbką w celu badania cytologicznego (A lub B) jest ujemna pod względem wirusa HPV 16 i/lub wirusa HPV 18/45.

Tabela 24: Populacja ASC-US w wieku ≥ 21 lat: częstość występowania genotypów 16 i/lub 18/45 wirusa HPV wykrytych za pomocą testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 w próbkach przed obróbką i po obróbce w celu badania cytologicznego

		Próbki A i B przed obróbką w celu badania cytologicznego			
		HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	Inne HPV ² WR dodat., HPV 16/18/45 ujem.	Nie określono ³
Próbka C ¹ po obróbce w celu badania cytologicznego	HPV 16 dodat., HPV 18/45 ujem.	3	0	0	0
	HPV 16 ujem., HPV 18/45 dodat.	0	3	1	1
	Inne HPV ² WR dodat., HPV 16/18/45 ujem.	0	0	48	0

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

¹ Wszystkie próbki posiadają komplet wyników dla materiału badanego uzyskanych w teście genotypującym Aptima HPV 16 18/45.

² Genotypy 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 i/lub 68 wirusa HPV.

³ Obejmuje próbki, w przypadku których co najmniej jedna próbka przed obróbką w celu badania cytologicznego (A lub B) jest ujemna pod względem wirusa HPV 16 i/lub wirusa HPV 18/45.

Czułość analityczna

Granica wykrywalności (LoD) przy klinicznej wartości granicznej to stężenie, które w 95% przypadków generuje wynik dodatni (powyżej klinicznej wartości granicznej). Wartość LoD testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 oszacowano na podstawie badania pojedynczych ujemnych klinicznych próbek do badań cytologicznych na płynnym podłożu ThinPrep, do których dodano transkrypty HPV *in vitro* lub wyhodowane komórki zainfekowane HPV (SiHa, HeLa i MS751; ATCC, Manassas, Virginia) w różnych stężeniach, lub pul takich próbek. W przypadku panelu transkryptów *in vitro* przebadano po 60 replikatów każdego poziomu kopii z dwiema partiami odczynników, co dało łącznie 120 replikatów. W przypadku paneli komórek przebadano po 30 replikatów każdego poziomu kopii z dwiema partiami odczynników, co dało łącznie 60 replikatów. Badania przy użyciu testu wykonywano w okresie ośmiu dni. W jednym dniu wykonano minimum trzy serie, a w każdej serii badano pięć replikatów jednej kombinacji genotypu. Granica wykrywalności z prawdopodobieństwem 95% (Tabela 25) została obliczona na podstawie analizy regresji probitowej wyników dodatnich dla każdego panelu rozcieńczeń.

Tabela 25: Granica wykrywalności testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 przy klinicznej wartości granicznej

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

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

Precyzja testu

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

W badaniach 1 i 2 operatorzy w każdym z 3 ośrodków (1 aparat na ośrodek) wykonywali 2 listy robocze testów genetycznych Aptima HPV 16 18/45 dziennie przez 3 dni. Badania wykonywano przy użyciu 2 partii odczynników. Każda lista robocza zawierała 3 powtórzenia każdego z elementów panelu do badania odtwarzalności. Przebadano po sto osiem (108) próbek z próbkami zawierającymi każdy element panelu (3 ośrodki x 1 aparat x 2 operatorów x 2 partie x 3 dni x 3 replikaty). Testy w badaniu 2 wykonywano samodzielnie w okresie 13 dni. Wykonano łącznie 162 badania reakcji z udziałem każdego elementu panelu (1 ośrodek x 3 aparaty x 3 operatorzy x 3 serie x 2 listy robocze x 3 powtórzenia).

Tabela 26a oraz Tabela 26b przedstawiają elementy panelu, wraz z podsumowaniem zgodności wyników z wynikami oczekiwanymi odpowiednio w kierunku HPV 16 oraz HPV 18/45. Tabela 27 przedstawia wartości S/CO analitów HPV 16 i HPV 18/45 w 2,5., 50. i 97,5. percentylu rozkładu wartości S/CO. Zmienność wartości S/CO analitu HPV 16 przedstawiono w tabelach: Tabela 28 dla badania 1 i Tabela 29 dla badania 2 dla elementów panelu z oczekiwanym wynikiem dodatnim w kierunku wirusa HPV 16. Zmienność wartości S/CO analitu HPV 18/45 przedstawiono w tabelach: Tabela 30 dla badania 1 i Tabela 31 dla badania 2 dla elementów panelu z oczekiwanym wynikiem dodatnim w kierunku wirusa HPV 18/45.

Tabela 26a: Badanie 1 i 2 precyzji testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45: opis panelu i procentowa zgodność z oczekiwanymi wynikami dla wirusa HPV 16

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/reakcję)	HPV 16 Wynik oczekiwany	Procentowa zgodność (95% CI)	
		Badanie 1 (3 ośrodki)	Badanie 2 (1 ośrodek)
IVT HPV 16 (240 kopii) Wysokododatnie	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
IVT HPV 18 (260 kopii) Wysokododatnie	Ujemny	100 (107/107) (96,5; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
IVT HPV 45 (350 kopii) Wysokododatnie	Ujemny	99,1 (107/108) (94,9; 99,8)	99,4 (161/162) (96,6; 99,9)
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 16 Wysokododatnie	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 18/45 Wysokododatnie	Ujemny	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (161/161) (97,7; 100)
Komórki SiHa (4 komórki) — wysokododatnie oraz komórki HeLa (0,7 komórki) — niskododatnie	Dodatni	100 (108/108) (96,6; 100)	100 (162/162) (97,7; 100)
Komórki SiHa (0,4 komórki) — niskododatnie oraz komórki HeLa (7 komórek) — wysokododatnie	Dodatni	99,1 (107/108) (94,9; 99,8)	97,5 (158/162) (94,0; 99,1)

Tabela 26a: Badanie 1 i 2 precyzji testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45: opis panelu i procentowa zgodność z oczekiwanymi wynikami dla wirusa HPV 16 (ciąg dalszy)

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

CI = Przedział ufności wyniku

Uwaga: Na zgodność procentową mogły mieć wpływ różnice w dodawaniu materiału HPV, rozcieńczeniu i/lub porcjowaniu.

Tabela 26b: Badanie 1 i 2 precyzji testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45: opis panelu i procentowa zgodność z oczekiwanymi wynikami dla wirusa HPV 18/45

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

CI = Przedział ufności wyniku

Uwaga: Na zgodność procentową mogły mieć wpływ różnice w dodawaniu materiału HPV, rozcieńczaniu i/lub porcjowaniu.

Tabela 27: Badanie 1 i 2 precyzji testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45: rozkład percentyli wartości S/CO analizów HPV 16 i HPV 18/45

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/reakcję)	Analit HPV 16 — percentyl wartości S/CO						Analit HPV 18/45 — percentyl wartości S/CO					
	Badanie 1 (3 ośrodki)			Badanie 2 (1 ośrodek)			Badanie 1 (3 ośrodki)			Badanie 2 (1 ośrodek)		
	2,5.	50.	97,5.	2,5.	50.	97,5.	2,5.	50.	97,5.	2,5.	50.	97,5.
IVT HPV 16 (240 kopii) Wysokododatnie	2,86	3,26	3,53	2,92	3,30	3,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IVT HPV 18 (260 kopii) Wysokododatnie	0,00	0,30	0,59	0,13	0,34	0,51	5,22	5,66	8,86	5,24	5,53	6,17
IVT HPV 45 (350 kopii) Wysokododatnie	0,00	0,22	0,43	0,08	0,24	0,41	4,37	4,92	8,78	4,40	5,05	5,99
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 16 Wysokododatnie	2,49	3,12	3,34	2,67	3,10	3,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 18/45 Wysokododatnie	0,00	0,30	0,56	0,15	0,33	0,50	4,95	6,67	8,95	4,49	6,22	8,27
Komórki SiHa (4 komórki) — wysokododatnie oraz komórki HeLa (0,7 komórki) — niskododatnie	2,48	3,26	3,60	2,83	3,29	3,62	3,76	4,64	6,16	4,12	4,58	5,28
Komórki SiHa (0,4 komórki) — niskododatnie oraz komórki HeLa (7 komórek) — wysokododatnie	1,14	2,77	3,40	1,25	2,95	3,47	4,01	4,87	6,73	4,36	4,70	5,34
Komórki SiHa (0,4 komórki) Niskododatnie	1,60	2,81	3,24	1,13	2,70	3,26	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00
Komórki HeLa (0,7 komórki) Niskododatnie	0,00	0,31	0,56	0,17	0,33	0,52	3,63	5,11	7,17	4,15	5,15	5,66
Komórki MS751 (0,2 komórek) Niskododatnie	0,00	0,26	0,41	0,12	0,28	0,38	1,33	4,23	6,28	0,34	3,34	5,38
IVT HPV 16 (24 kopii) Niskododatnie	1,56	3,16	3,43	0,99	3,16	3,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IVT HPV 18 (26 kopii) Niskododatnie	0,00	0,30	0,52	0,14	0,30	0,51	4,76	5,48	8,01	4,47	5,42	5,86
IVT HPV 45 (35 kopii) Niskododatnie	0,00	0,24	0,43	0,12	0,24	0,39	1,57	4,81	8,91	2,04	4,80	5,85
Próbka kliniczna 2 w kierunku HPV 16 Niskododatnie	1,37	2,95	3,51	1,25	2,90	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Próbka kliniczna 3 w kierunku HPV 16 Niskododatnie	1,80	2,96	3,58	1,15	2,84	3,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Próbka kliniczna 2 w kierunku HPV 8/45 Niskododatnie	0,03	0,28	0,46	0,16	0,33	0,46	2,50	4,20	7,04	0,69	3,60	4,85
Próbka kliniczna 3 w kierunku HPV 18/45 Niskododatnie	0,00	0,32	0,54	0,14	0,32	0,48	2,37	4,83	8,07	1,68	4,08	7,21
Komórki SiHa (0,001 komórki) Wysokoujemne	0,28	0,32	1,12	0,28	0,31	0,43	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,02
Komórki HeLa (0,001 komórki) Wysokoujemne	0,28	0,33	0,43	0,29	0,32	0,36	0,00	0,00	1,28	0,00	0,00	0,87
Komórki MS751 (0,006 komórek) Wysokoujemne	0,17	0,32	0,35	0,27	0,32	0,36	0,00	0,01	4,32	0,00	0,01	2,03
Próbka kliniczna 1 ujemna w kierunku HPV	0,24	0,32	0,35	0,28	0,31	0,35	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,02
Próbka kliniczna 2 ujemna w kierunku HPV	0,27	0,32	0,35	0,29	0,32	0,34	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,03
PreservCyt 1 ujemny w kierunku HPV	0,27	0,33	0,37	0,30	0,33	0,36	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02
PreservCyt 2 ujemny w kierunku HPV	0,29	0,33	0,37	0,30	0,33	0,35	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,01

Tabela 28: Badanie 1 precyzji testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45: zmienność sygnału analitu HPV 16 dla elementów panelu z oczekiwanym wynikiem dodatnim w kierunku HPV 16

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/ reakcję)	N	Średnia wartość S/CO	Między ośrodkami		Między operatorami		Między seriami		Między listami roboczymi		W obrębie list roboczych		Ogółem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
IVT HPV 16 (240 kopii) Wysokododatnie	108	3,23	0,06	2,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,09	2,9	0,14	4,2	0,18	5,5
Próbka kliniczna 1 wysokododatnia w kierunku HPV 16	108	3,07	0,07	2,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,11	3,6	0,16	5,2	0,21	6,8
Komórki SiHa (4 komórki) — wysokododatnie oraz komórki HeLa (0,7 komórki) — niskododatnie	108	3,22	0,10	3,2	0,02	0,6	0,00	0,0	0,08	2,4	0,21	6,5	0,25	7,6
Komórki SiHa (0,4 komórki) — niskododatnie oraz komórki HeLa (7 komórek) — wysokododatnie	108	2,63	0,05	1,8	0,00	0,0	0,00	0,0	< 0,0 1	0,0	0,58	22,3	0,59	22,3
Komórki SiHa (0,4 komórki) Niskododatnie	108	2,65	0,00	0,0	0,00	0,0	0,12	4,6	0,00	0,0	0,44	16,6	0,46	17,3
IVT HPV 16 (24 kopii) Niskododatnie	107*	3,01	0,06	2,1	0,05	1,5	0,05	1,6	0,00	0,0	0,44	14,6	0,45	14,9
Próbka kliniczna 2 w kierunku HPV 16 Niskododatnie	107*	2,88	0,08	2,8	0,00	0,0	0,08	2,9	0,17	5,9	0,39	13,7	0,44	15,4
Próbka kliniczna 3 w kierunku HPV 16 Niskododatnie	108	2,89	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,14	4,8	0,39	13,5	0,41	14,4

CV = współczynnik zmienności; SD = odchylenie standardowe

*Dla dwóch próbek uzyskano nieważne wyniki testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 i nie włączono ich do analiz.

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

Tabela 29: Badanie 2 precyzji testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45: zmienność sygnału analitu HPV 16 dla elementów panelu z oczekiwanym wynikiem dodatnim w kierunku HPV 16

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/ reakcję)	N	Średnia wartość S/CO	Między aparaturami		Między operatorami		Między seriami		Między listami roboczymi		W obrębie list roboczych		Ogółem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
IVT HPV 16 (240 kopii) Wysokododatnie	162	3,28	0,05	1,5	0,02	0,5	0,12	3,8	0,17	5,3	0,13	3,8	0,25	7,7
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 16 Wysokododatnie	162	3,08	0,04	1,2	0,00	0,0	0,08	2,6	0,07	2,3	0,19	6,2	0,22	7,2
Komórki SiHa (4 komórki) — wysokododatnie oraz komórki HeLa (0,7 komórki) — niskododatnie	162	3,27	0,05	1,6	0,00	0,0	0,05	1,4	0,13	4,0	0,18	5,5	0,23	7,2
Komórki SiHa (0,4 komórki) — niskododatnie oraz komórki HeLa (7 komórek) — wysokododatnie	162	2,78	0,08	2,8	0,04	1,3	0,28	10,2	0,20	7,1	0,53	18,9	0,64	22,8
Komórki SiHa (0,4 komórki) Niskododatnie	162	2,54	0,16	6,2	0,05	2,0	0,29	11,4	0,25	9,9	0,47	18,6	0,63	24,8
IVT HPV 16 (24 kopii) Niskododatnie	162	3,04	0,03	1,0	0,05	1,5	0,20	6,5	0,34	11,3	0,36	11,8	0,54	17,7
Próbka kliniczna 2 w kierunku HPV 16 Niskododatnie	162	2,77	0,08	2,9	0,00	0,0	0,23	8,3	0,21	7,5	0,37	13,3	0,49	17,7
Próbka kliniczna 3 w kierunku HPV 16 Niskododatnie	162	2,67	0,03	1,1	0,04	1,6	0,22	8,1	0,25	9,2	0,49	18,2	0,59	22,0

CV = współczynnik zmienności; SD = odchylenie standardowe

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

Tabela 30: Badanie 1 precyzji testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45: zmienność sygnału analitu HPV 18/45 dla elementów panelu z oczekiwanym wynikiem dodatnim w kierunku HPV 18/45

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/ reakcję)	N	Średnia wartość S/CO	Między ośrodkami		Między operatorami		Między seriami		Między listami roboczymi		W obrębie list roboczych		Ogółem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
IVT HPV 18 (260 kopii) Wysokododatnie	107*	5,88	0,33	5,5	0,52	8,9	0,00	0,0	0,43	7,4	0,17	2,8	0,77	13,1
IVT HPV 45 (350 kopii) Wysokododatnie	108	5,12	0,43	8,4	0,47	9,2	0,31	6,1	0,58	11,3	0,18	3,6	0,93	18,2
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 18/45 Wysokododatnie	108	6,71	0,66	9,8	0,58	8,7	0,50	7,5	0,42	6,2	0,94	14,0	1,44	21,5
Komórki SiHa (4 komórki) — wysokododatnie oraz komórki HeLa (0,7 komórki) — niskododatnie	108	4,69	0,22	4,7	0,10	2,1	0,08	1,7	0,10	2,2	0,54	11,4	0,60	12,8
Komórki SiHa (0,4 komórki) — niskododatnie oraz komórki HeLa (7 komórek) — wysokododatnie	108	4,94	0,28	5,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,38	7,7	0,42	8,4	0,63	12,7
Komórki HeLa (0,7 komórki) Niskododatnie	108	5,17	0,38	7,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,40	7,6	0,56	10,8	0,78	15,1
Komórki MS751 (0,2 komórek) Niskododatnie	108	4,00	0,62	15,4	0,00	0,0	0,38	9,5	0,47	11,8	0,94	23,5	1,28	31,9
IVT HPV 18 (26 kopii) Niskododatnie	108	5,52	0,21	3,8	0,15	2,7	0,00	0,0	0,37	6,7	0,60	10,9	0,75	13,7
IVT HPV 45 (35 kopii) Niskododatnie	108	4,71	0,34	7,1	0,41	8,6	0,15	3,1	0,69	14,6	0,88	18,6	1,24	26,3
Próbka kliniczna 2 w kierunku HPV 18/45 Niskododatnie	107*	4,29	0,17	4,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,38	8,9	1,05	24,6	1,13	26,5
Próbka kliniczna 3 w kierunku HPV 18/45 Niskododatnie	108	5,12	0,38	7,5	0,00	0,0	0,38	7,4	0,00	0,0	1,37	26,8	1,47	28,8

CV = współczynnik zmienności; SD = odchylenie standardowe

*Dla dwóch próbek uzyskano nieważne wyniki testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 i nie włączono ich do analiz.

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

Tabela 31: Badanie 2 precyzji testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45: zmienność sygnału analitu HPV 18/45 dla elementów panelu z oczekiwanym wynikiem dodatnim w kierunku HPV 18/45

Opis panelu (liczba kopii lub komórek/ reakcję)	N	Średnia wartość S/CO	Między aparaturami		Między operatorami		Między seriami		Między listami roboczymi		W obrębie list roboczych		Ogółem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
IVT HPV 18 (260 kopii) Wysokododatnie	162	5,56	0,08	1,5	0,06	1,1	0,05	0,9	0,13	2,4	0,14	2,6	0,23	4,1
IVT HPV 45 (350 kopii) Wysokododatnie	162	5,09	0,16	3,1	0,00	0,0	0,54	10,6	0,46	9,1	0,12	2,3	0,74	14,5
Próbka kliniczna 1 w kierunku HPV 18/45 Wysokododatnie	161*	6,22	0,10	1,7	0,00	0,0	0,26	4,2	0,00	0,0	1,06	17,1	1,10	17,7
Komórki SiHa (4 komórki) — wysokododatnie oraz komórki HeLa (0,7 komórki) — niskododatnie	162	4,59	0,00	0,0	0,07	1,5	0,07	1,4	0,20	4,3	0,23	5,0	0,32	6,9
Komórki SiHa (0,4 komórki) — niskododatnie oraz komórki HeLa (7 komórek) — wysokododatnie	162	4,78	0,00	0,0	0,08	1,7	0,00	0,0	0,30	6,3	0,24	5,0	0,39	8,2
Komórki HeLa (0,7 komórki) Niskododatnie	162	5,08	0,08	1,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,15	3,0	0,31	6,1	0,35	7,0
Komórki MS751 (0,2 komórek) Niskododatnie	159*	3,19	0,18	5,7	0,36	11,2	0,71	22,4	0,15	4,7	1,36	42,6	1,59	50,0
IVT HPV 18 (26 kopii) Niskododatnie	162	5,38	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,23	4,4	0,25	4,7	0,35	6,4
IVT HPV 45 (35 kopii) Niskododatnie	162	4,79	0,31	6,4	0,11	2,3	0,55	11,4	0,62	13,0	0,50	10,5	1,02	21,4
Próbka kliniczna 2 w kierunku HPV 18/45 Niskododatnie	162	3,21	0,00	0,0	0,02	0,8	0,36	11,1	0,00	0,0	1,14	35,5	1,20	37,2
Próbka kliniczna 3 w kierunku HPV 18/45 Niskododatnie	162	4,09	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,15	3,6	1,33	32,6	1,34	32,8

CV = współczynnik zmienności; SD = odchylenie standardowe

*Dla dwóch próbek uzyskano nieważne wyniki testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 i nie włączono ich do analiz.

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

Reaktywność krzyżowa

Uwaga: Badania przy użyciu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w obecności mikroorganizmów potencjalnie powodujących reaktywność krzyżową wykonywano w systemie Tigris DTS. Test genotypujący Aptima HPV 16 18/45 po raz pierwszy wprowadzono na rynek w 2012 roku jako test wykonywany w systemie Tigris DTS System. W 2013 roku rozszerzono wskazania do stosowania testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45, umożliwiając wykonywanie go w systemie Panther System. Panther System to aparat, który stanowi alternatywę dla systemu Tigris DTS System i jest od niego mniejszy. Oba systemy są przeznaczone do całkowitej automatyzacji diagnostycznych testów zamplikowanych kwasów nukleinowych. Wybrane badania pod kątem skuteczności działania testu przeprowadzone w systemie Tigris DTS System wykorzystano do potwierdzenia charakterystyki działania testu w systemie Panther System.

Swoistość analityczną testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 oceniano przy użyciu pul reszkowych próbek do badań cytologicznych na podłożu płynnym ThinPrep rozcieńczonych w stosunku 1:2,9 w podłożu STM (porównywalnych do próbek przenoszonych do probówki do przenoszenia próbek Aptima), do których dodawano wyhodowane bakterie, drożdże lub grzyby; wyhodowane wirusy; lub transkrypty *in vitro* HPV, na które nie jest ukierunkowany test. Mikroorganizmy i badane stężenia, dla których nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej, przedstawia Tabela 32. Przyjęte w badaniu kryteria oceny wpływu obecności mikroorganizmu na swoistość testu oparte były na wynikach dodatnich.

Tabela 32: Panel do badania swoistości analitycznej: mikroorganizmy i stężenia niepowodujące reaktywności krzyżowej

Mikroorganizm	Badane Stężenie bez stwierdzonej reaktywności krzyżowej	Mikroorganizm	Badane Stężenie bez stwierdzonej reaktywności krzyżowej
Bakterie			
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Atopobium vaginae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Mycoplasma genitalium*</i>	2,5x10 ⁶ kopii/mL
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter jejuni</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 ⁵ IFU/mL	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium difficile</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Prevotella bivia</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL		
Nieskierowane genotypy HPV wysokiego ryzyka*			
HPV 31	2,5x10 ⁶ kopii/ml	HPV 56	2,5x10 ⁶ kopii/ml
HPV 33	2,5x10 ⁶ kopii/ml	HPV 58	2,5x10 ⁶ kopii/ml

Tabela 32: Panel do badania swoistości analitycznej: mikroorganizmy i stężenia niepowodujące reaktywności krzyżowej

Mikroorganizm	Badane Stężenie bez stwierdzonej reaktywności krzyżowej	Mikroorganizm	Badane Stężenie bez stwierdzonej reaktywności krzyżowej
HPV 35	2,5x10 ⁶ kopii/ml	HPV 59	2,5x10 ⁶ kopii/ml
HPV 39	2,5x10 ⁶ kopii/ml	HPV 66	2,5x10 ⁶ kopii/ml
HPV 51	2,5x10 ⁶ kopii/ml	HPV 68	2,5x10 ⁶ kopii/ml
HPV 52	2,5x10 ⁶ kopii/ml		
Drożdże/pierwotniaki			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i> **	1x10 ⁵ komórek/mL
Wirusy			
Adenowirus	5,25x10 ⁷ PFU/mL	HIV-1	2,5x10 ⁶ kopii/mL
Cytomegalowirus	1,58x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	Wirus opryszczki pospolitej typu 1	3,39x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL
Wirus Epsteina-Barr	1,59x10 ⁵ TD ₅₀ /mL	Wirus opryszczki pospolitej typu 2	2,29x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL
Inne nieskierowane genotypy HPV*			
HPV 6	2,5x10 ⁶ kopii/ml	HPV 53	2,5x10 ⁶ kopii/ml
HPV 11	2,5x10 ⁶ kopii/ml	HPV 67	2,5x10 ⁶ kopii/ml
HPV 26	2,5x10 ⁶ kopii/ml	HPV 69	2,5x10 ⁶ kopii/ml
HPV 30	2,5x10 ⁶ kopii/ml	HPV 70	2,5x10 ⁶ kopii/ml
HPV 34	2,5x10 ⁶ kopii/ml	HPV 73	2,5x10 ⁶ kopii/ml
HPV 42	2,5x10 ⁶ kopii/ml	HPV 82	2,5x10 ⁶ kopii/ml
HPV 43	2,5x10 ⁶ kopii/ml	HPV 85	2,5x10 ⁶ kopii/ml
HPV 44	2,5x10 ⁶ kopii/ml		

CFU = Jednostki tworzące kolonie, PFU = Jednostki tworzące łysinki, TD₅₀ = Dawka przekształcająca dla 50% komórek, TCID₅₀ = Dawka zakaźna dla 50% hodowli komórkowych

*Zbadano transkrypt *in vitro*.

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

Czułość analityczna testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 w obecności mikroorganizmów została zbadana przy użyciu tego samego panelu (patrz Tabela 32), do którego dodano (w niskim stężeniu) komórki SiHa zakażone HPV (1,6 komórki na reakcję) oraz komórki HeLa zakażone HPV (0,3 komórki na reakcję). Przyjęte w badaniu kryteria oceny wpływu obecności mikroorganizmu na czułość testu oparte były na wynikach dodatnich. Obecność mikroorganizmów nie zakłócała testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 z wyjątkiem *Trichomonas vaginalis* (TV). Zaobserwowano zakłócenia przy TV w stężeniach wyższych niż 3x10⁴ komórek/mL.

Zakłócenia

Uwaga: Badania przy użyciu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w obecności substancji potencjalnie powodujących zakłócenia wykonywano w systemie Tigris DTS. Test genotypujący Aptima HPV 16 18/45 po raz pierwszy wprowadzono na rynek w 2012 roku jako test wykonywany w systemie Tigris DTS System. W 2013 roku rozszerzono wskazania do stosowania testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45, umożliwiając wykonywanie go w systemie Panther System. Panther System to aparat, który stanowi alternatywę dla systemu Tigris DTS System i jest od niego mniejszy. Oba systemy są przeznaczone do całkowitej automatyzacji diagnostycznych testów zamplifikowanych kwasów nukleinowych. Wybrane badania pod kątem skuteczności działania testu przeprowadzone w systemie Tigris DTS System wykorzystano do potwierdzenia charakterystyki działania testu w systemie Panther System.

Substancje opisane w Tabeli 33 były indywidualnie wprowadzane do pul próbek do badań cytologicznych na płynnym podłożu ThinPrep rozcieńczonych w stosunku 1:2,9 w podłożu STM w stężeniach określonych w tabeli. Wszystkie substancje były badane przy użyciu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45 w obecności i bez obecności zakażonych HPV komórek z hodowli (SiHa, 1,6 komórki/reakcję i HeLa, 0,3 komórki/reakcję). Zakłócenia zaobserwowano w przypadku obecności następujących substancji w stężeniach wyższych niż wskazane: środki nawilżające do pochwy (zawierające Polikwaternium 15) w stężeniu 1% masowo-obj., krem przeciwgrzybiczy (zawierający tioconazole) w stężeniu 0,03% masowo-obj., śluz w stężeniu 0,3% masowo-obj., hormony dopochwowe (zawierające progesteron) w stężeniu 1% masowo-obj.

Tabela 33: Substancje badane pod kątem wywoływania zakłóceń w działaniu testu genetycznego Aptima HPV 16 18/45

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

*Stężenie w badanej próbce; próbka do badania cytologicznego na podłożu płynnym ThinPrep rozcieńczona w stosunku 1:2,9 w podłożu STM (porównywalna do próbek przenoszonych do probówki do przenoszenia próbek Aptima)

**Lubrykant osobisty zawierający Polikwaternium 15.

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

[^]Roztwór do płukania na bazie lodowatego kwasu octowego przygotowany poprzez wymieszanie 1 części lodowatego kwasu octowego i 9 części roztworu Cytolyt, zgodnie ze wskazaniem w Instrukcji obsługi aparatu ThinPrep System.

Bibliografia

1. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)*. 110(5):525-41.
2. **Monsonego J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan i C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer*. 108(3):329-33. Errata w: *Int J Cancer*. 108(6):945.
3. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*. 189:12-19.
4. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 90(12):5583-7.
5. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ*. 325(7364): 572-579.
6. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*. 16(1):1-17.
7. **Li N., 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.
8. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol*. 73(1): 65-70.
9. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely i G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer*. 64(3):211-5.
10. **De Sanjose S. i in.** 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet*. DOI 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
11. **Burger R.A., B. J. Monk, T. Kurosaki, H. Anton-Culver, S. Vasilv, M. L. Berman i S.P. Wilczynski.** 1996. Human Papillomavirus Type 18: Association with poor prognosis in early stage cervical cancer. *J. Nat. Cancer institute*. 88(19): 1361-1368.
12. **Safaeian M., M. Schiffman, J. Gage, D. Solomon, C. Wheeler i P. Castle.** 2009. Detection of Precancerous Cervical Lesions Is Differential by Human Papillomavirus Type. *Cancer Res*. 69(8): 3262-3266.
13. **Khan, M.J., P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder, M. Sherman, D.R. Scott, B.B. Rush, A.G. Glass i M. Schiffman.** 2005. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J. Natl. Cancer Inst*. 97(14): 1072-1079.
14. **ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.** HPV Genotyping Clinical Update. 2009. http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical_update_20090408.pdf. Dostęp z dnia 22 marca 2012 r.
15. **Wright T.C., S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E.J. Wilkinson i D. Solomon.** 2007. 2006 Consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *Journal of Lower Genital Tract Disease*. 11(4):201-222.
16. **Kacian, D.L. i T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
17. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem*. 35: 1588-1594.
18. **Nelson, N.C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem*. 35:8429-8438.

Dane kontaktowe i historia wersji



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



Adres australijskiego sponsora:
Hologic (Australia i Nowa Zelandia) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

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

W Unii Europejskiej należy zgłaszać poważne incydenty, które wystąpiły w związku z wyrobem, do producenta i właściwego organu państwa członkowskiego, w którym użytkownik i/lub pacjent ma siedzibę/miejsce zamieszkania.

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

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

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

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

© 2007-2022 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.
AW-22203-3401 Wer. 001
2022-09

Historia wersji	Data	Opis
AW-22203 Wer. 001	Wrzesień 2022 r.	<ul style="list-style-type: none"> • Utworzono Instrukcję użycia testu Aptima HPV-GT AW-22203 Wer. 001 na podstawie dokumentu AW-11504 Wer. 010 w celu zapewnienia zgodności z rozporządzeniem IVDR. • Zaktualizowano informacje o zagrożeniach zgodnie z wymogami UE. • Zaktualizowano następujące części: Przeznaczenie w Informacjach ogólnych, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi, Procedury kontroli jakości, Pobieranie i przechowywanie próbek, Dostarczone odczynniki i materiały, Materiały wymagane, ale dostępne osobno oraz Skuteczność testu w Panther System. • Zaktualizowano tabele 18 i 19 w części Skuteczność kliniczna testu genotypującego Aptima HPV 16 18/45 z próbkami do badań cytologicznych na podłożu płynnym SurePath. • Zaktualizowano informacje zawarte w części poświęconej danym kontaktowym, w tym dane przedstawiciela na terenie WE, znak CE, dane przedstawiciela australijskiego i dane działu pomocy technicznej.