

Xpert[®] HPV

REF GXHPV-CE-10

Návod k použití



Prohlášení o ochranných známkách, patentech a autorských právech

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2014–2025 Cepheid.

Cepheid,® logo Cepheid, GeneXpert® a Xpert® jsou ochranné známky společnosti Cepheid registrované v USA a dalších zemích.

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem jejich příslušných vlastníků.

NÁKUPEM TOHOTO PRODUKTU SE NA KUPUJÍCÍHO PŘEVÁDÍ NEPŘEVODITELNÉ PRÁVO PRODUKT POUŽÍVAT V SOULADU S TÍMTO NÁVODEM K POUŽITÍ. NEPŘEVÁDÍ SE ŽÁDNÁ DALŠÍ PRÁVA, A TO VÝSLOVNĚ, NEPŘÍMO ANI PODLE ZÁSADY ESTOPPEL. DÁLE SE S PRODEJEM TOHOTO PRODUKTU NEPŘEVÁDÍ ŽÁDNÁ PRÁVA NA OPAKOVANÝ PRODEJ.

© 2014–2025 Cepheid.

Viz Část 26 Historie revizí pro popis změn.

Xpert[®] HPV

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.

1 Vlastnický název

Xpert[®] HPV

2 Běžný nebo obvyklý název

Test Xpert HPV

3 Určené použití

Test Xpert HPV je kvalitativní *in vitro* test pro detekci regionu E6/E7 virového DNA genomu z vysoce rizikového lidského papillomaviru (HPV) ve vzorcích pacientů. Test provádí multiplexovou amplifikaci cílové DNA pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) 14 vysoce rizikových typů HPV v reálném čase v jediné analýze. Test Xpert HPV specificky identifikuje typy HPV 16 a HPV 18/45 ve dvou různých detekčních kanálech a uvádí 11 dalších vysoce rizikových typů (31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68) ve sloučeném výsledku. Vzorky jsou omezeny na buňky děložního krčku odebrané do roztoku PreservCyt[®] (Hologic Corp.). Vzorky děložního čípku odebrané do roztoku PreservCyt, které byly předem ošetřeny ledovou kyselinou octovou (GAA) k lýze přebytečných červených krvinek pro cytologické vyšetření, byly rovněž validovány pro použití s testem Xpert HPV.

Indikace testu Xpert HPV:

- Test Xpert HPV lze použít se vzorkem Pap k posouzení přítomnosti nebo nepřítomnosti vysoce rizikových typů HPV. Tyto informace, spolu s posouzením anamnézy pacienta lékařem, dalšími rizikovými faktory a odbornými směrnicemi, mohou být použity k řízení péče o pacienta.
- Test Xpert HPV lze použít se vzorkem Pap k posouzení přítomnosti nebo nepřítomnosti genotypů HPV 16 a 18/45. Tyto informace, spolu s posouzením anamnézy pacienta lékařem, dalšími rizikovými faktory a odbornými směrnicemi, mohou být použity k řízení péče o pacienta.

4 Souhrn a vysvětlení

Perzistentní infekce vysoce rizikovými HPV je hlavní příčinou rakoviny děložního krčku a je prekurzorem cervikální intraepiteliální neoplazie (CIN). Přítomnost HPV byla celosvětově spojena s více než 99 % případů rakoviny děložního čípku.¹ HPV je malý neobalený dvouvláknový DNA virus s genomem tvořeným přibližně 8 000 nukleotidy. Existuje více než 150 různých typů HPV a přibližně 40 typů HPV, které mohou infikovat lidskou anogenitální sliznici.² Pouze podskupina přibližně 14 těchto typů je však považována za vysoce rizikovou pro vznik karcinomu děložního krčku a jeho prekurzorových lézí. Nejnovější poznatky naznačují, že screeningové testy a protokoly pro vysoce rizikové typy HPV-DNA by se měly zaměřit na typy HPV 16, 18 a 45.³ V celosvětovém měřítku byly typy HPV 16, 18 a 45 nalezeny u 75 % všech dlaždicových karcinomů a bylo zjištěno, že jsou spojeny s přibližně 80 % všech invazivních karcinomů děložního krčku.^{4,5}

Poznámka V této publikaci „HPV“ nebo „HR HPV“ znamená „vysoce rizikový HPV“, pokud není uvedeno jinak.

5 Princip postupu

Test Xpert HPV je automatizovaný test pro kvalitativní detekci a diferenciaci DNA HPV. Test se provádí na přístrojových systémech Cepheid GeneXpert.

Přístrojové systémy GeneXpert automatizují a integrují zpracování vzorku, lýzu buněk, purifikaci, amplifikaci nukleových kyselin a detekci cílových sekvencí v klinických vzorcích pomocí PCR v reálném čase. Systémy sestávají z přístroje, osobního počítače a předem načeného softwaru pro zpracování testů a zobrazení výsledků. Systémy vyžadují použití jednorázových kazet GeneXpert, které obsahují reagentie PCR, přechovávají vzorek a provádějí zpracování PCR. Protože kazety jsou uzavřené a soběstačné, minimalizuje se tak zkřížená kontaminace mezi vzorky. Úplný popis systémů naleznete v příslušné *Příručce obsluhy pro systém GeneXpert Dx (GeneXpert Dx Operator Manual)* nebo *Příručce obsluhy pro systém GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity Operator Manual)*.

Test Xpert HPV obsahuje reagentie pro detekci vysoce rizikového HPV. Test Xpert HPV je navržený na použití se vzorky děložního krčku odebranými do roztoku PreservCyt buď pomocí prostředku podobnému štětečku, nebo kombinací endocervikálního kartáčku/špachtle. Rovněž lze použít vzorky děložního krčku předem ošetřené určitými metodami používajícími ledovou kyselinou octovou (GAA). Vzorky děložního krčku odebrané do roztoku PreservCyt byly validovány pro použití s testem Xpert HPV. Při odběru vzorků děložního krčku se řiďte pokyny od výrobce.

Kazeta obsahuje také kontrolu adekvátnosti vzorků (Sample Adequacy Control, SAC) a kontrolní systém sondy (Probe Check Control, PCC). Reagentie SAC detekují přítomnost jediné kopie lidského genu a monitorují, zda vzorek obsahuje dostatečné množství lidských buněk, aby mohlo být provedeno kvalitativní zhodnocení stavu HPV. PCC ověřuje rehydrataci reagentie, plnění PCR zkumavky v kazetě, neporušenost sondy a stabilitu barviva.

Kanály obsahují primery a sondy pro detekci následujících specifických genotypů nebo sloučených výsledků: „SAC; primární“ pro kontrolu adekvátnosti vzorku, „HPV 16; primární“ pro HPV 16, „HPV 18_45; primární“ pro sloučený výsledek HPV 18/45, „P3; primární“ pro sloučený výsledek jakéhokoliv z typů HPV 31, 33, 35 52 nebo 58, „P4; primární“ pro sloučený výsledek některého z typů HPV 51 nebo 59 a „P5; primární“ pro sloučený výsledek jakéhokoliv z typů HPV 39, 56, 66 nebo 68. Příklad legendy testu uvádí Obrázek 5.

6 Reagentie a přístroje

6.1 Dodaný materiál

Souprava Xpert HPV (GXHPV-CE-10) obsahuje dostatečné množství reagentií pro zpracování 10 vzorků pro kontrolu kvality a/nebo vzorků.

Obsah soupravy:

Kazety Xpert HPV s integrovanými reakčními zkumavkami	10
• Perličky 1 a 2 (sušené mrazem) • Pufrovací reagentie	1 od každého na kazetu 2,0 ml v každé kazetě
Přenosové pipety (1 mL)	10
CD	1
• Soubory definice analýzy (ADF) • Pokyny k importu souboru ADF do softwaru GeneXpert • Návod k použití (příbalový leták)	

Poznámka Bezpečnostní listy (SDS) jsou k dispozici na adrese www.cepheid.com nebo www.cepheidinternational.com na kartě **SUPPORT (PODPORA)**.

Poznámka Stabilizátor proteinů hovězího původu v perličkách v tomto produktu byl vyroben výhradně z hovězí plazmy pocházející ze Spojených států amerických. Zvířata nebyla krmena bílkovinami pocházejícími z přežvýkavců či jiných zvířat; zvířata prošla testy ante-mortem i post-mortem. V průběhu zpracování nedocházelo k žádnému směšování materiálů s jinými zvířecími materiály.

6.2 Skladování a manipulace

- Kazety a reagentie Xpert HPV skladujte při teplotě 2–28 °C.
- Kazetu neotevírejte, pokud nejste připraveni testovat. Kazetu použijte do 30 minut od otevření víka kazety.
- Nepoužívejte reagentie nebo kazety s prošlým datem expirace.
- Nepoužívejte kazetu, která vytekla.

6.3 Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

- Vzorky děložního krčku odebrané do roztoku PreservCyt buď pomocí prostředku podobnému štětečku, nebo kombinací endocervikálního kartáčku/špachtle
- GeneXpert Dx System nebo GeneXpert Infinity System (katalogové číslo se liší podle konfigurace): Přístroj GeneXpert, počítač, čtečka čárových kódů, příručka obsluhy.
 - GeneXpert Dx System: Software verze 4.3 nebo vyšší.
 - Systémy GeneXpert Infinity-80 a Infinity-48: Software Xpertise verze 6.1 nebo vyšší.
- Příslušná příručka pro obsluhu systému GeneXpert Instrument System
- Tiskárna (Pokud je požadována tiskárna, kontaktujte technickou podporu společnosti Cepheid a sjednejte si nákup doporučené tiskárny.)

7 Varování a bezpečnostní upozornění

7.1 Obecně

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- V klinických vzorcích se mohou nacházet patogenní mikroorganismy, včetně virů hepatitidy a viru lidské imunodeficiency (HIV). Se všemi biologickými vzorky, včetně použitých kazet, zacházejte jako s potenciálně schopnými přenosu infekčních agens. Protože často není možné vědět, které vzorky mohou být infekční, se všemi biologickými vzorky je třeba zacházet se standardními bezpečnostními opatřeními. Pokyny pro manipulaci se vzorky jsou k dispozici od center pro kontrolu a prevenci onemocnění v USA a od Institutu pro klinické a laboratorní standardy.^{6,7}
- Při práci s chemikáliemi a manipulaci s biologickými vzorky dodržujte bezpečnostní postupy vašeho zdravotnického zařízení.
- Biologické vzorky, přenosové prostředky a použité kazety je nutné považovat za schopné přenosu infekčních agens a vyžadující standardní bezpečnostní opatření. Při správné likvidaci použitých kazet a nepoužitých reagentií dodržujte postupy vašeho zdravotnického zařízení pro ekologickou likvidaci odpadu. Tyto materiály mohou vykazovat charakteristiky chemického nebezpečného odpadu vyžadujícího dodržování specifických národních nebo regionálních postupů pro likvidaci. Pokud národní nebo regionální předpisy neobsahují jasné pokyny ke správné likvidaci, biologické vzorky a použité kazety je třeba likvidovat podle pokynů Světové zdravotnické organizace (WHO) k manipulaci se zdravotnickým odpadem a k jeho likvidaci.
- Mezi manipulací se vzorky pacientů se doporučuje dodržovat správnou laboratorní praxi a měnit si rukavice, aby se zabránilo kontaminaci vzorků.

7.2 Odběr, přeprava a skladování vzorků

• Odběr vzorků

Vzorky děložního čípku odebrané do roztoku PreservCyt byly validovány pro použití s testem Xpert HPV. Při odběru vzorků děložního krčku se řiďte pokyny od výrobce.

• Přeprava vzorků

Vzorky děložního krčku odebrané do roztoku PreservCyt mohou být přepravovány při teplotě 2–30 °C. Přeprava vzorků HPV musí splňovat národní, federální, státní a místní předpisy pro přepravu etiologických agens.⁸

• Skladování vzorků

Vzorky děložního krčku odebrané do roztoku PreservCyt mohou být skladovány při teplotě 2–30 °C po dobu až šesti měsíců od data odběru.

7.3 Test/reagencie

- Nenahrazujte reagencie testu Xpert HPV jinými reagenty.
- Neotevírejte víko kazety testu Xpert HPV, dokud nejste připraveni přidat vzorek během testování.
- Kazetu, která vám po vyjmutí z obalu upadla, nepoužívejte.
- S kazetou netřepejte. Třesení nebo upuštění kazety po jejím otevření může způsobit neplatné výsledky.
- Štítek s ID vzorku neumísťujte na víko kazety ani na štítek s čárovým kódem.
- Nepoužívejte kazetu s poškozenou reakční zkumavkou.
- Každá jednorázová kazeta Xpert HPV se používá ke zpracování jednoho testu. Zpracované kazety nepoužívejte opakovaně.
- Mějte na sobě čistý laboratorní plášť a rukavice. Mezi zpracováními každého vzorku si vyměňte rukavice.
- Pokud dojde ke kontaminaci pracovní plochy nebo zařízení vzorky nebo kontrolami, důkladně očistěte kontaminovanou oblast roztokem bělicího prostředku pro domácnost zředěným na koncentraci 1 : 10 a poté roztokem 70% etanolu nebo 70% isopropanolu. Než budete pokračovat v práci, otřete pracovní povrchy zcela dosucha.

8 Chemická nebezpečí^{9,10}

Prísady nejsou považovány za nebezpečné podle směrnic EU pro klasifikaci a označování látek či směsí ani podle globálního harmonizovaného systému pro klasifikaci a označování látek nebo směsí.

9 Postup

Než začnete s těmito postupy, ujistěte se, že přístroj GeneXpert používá software GeneXpert Dx verze 4.3 nebo vyšší nebo software Xpertise verze 6.1 nebo vyšší.

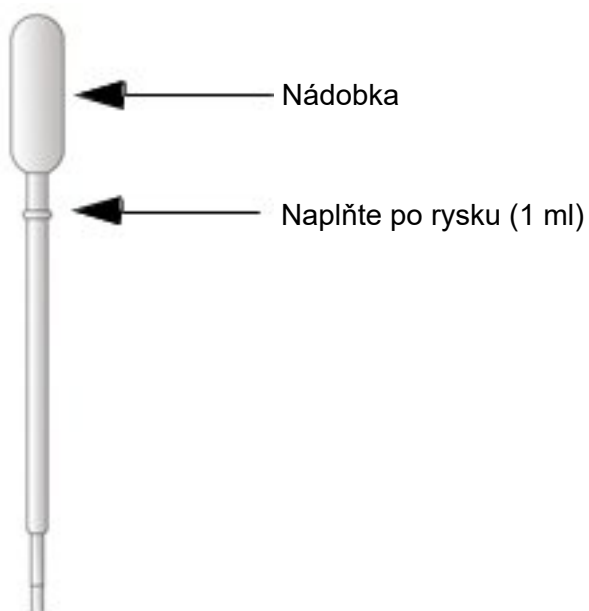
Důležité Spust'te test do 30 minut od otevření víka kazety.

9.1 Příprava kazety

Pro přidání vzorku do kazety Xpert HPV:

1. Získejte následující položky:
 - Kazeta Xpert HPV.
 - Přenosová pipeta (je součástí balení). Ryska na pipetě označuje plnicí objem 1 mL.
 - Vhodně odebraný a označený testovaný vzorek.
2. Zkontrolujte, zda kazeta testu není poškozená. Poškozené kazety nepoužívejte.
3. Otevřete kryt kazety.
4. Promíchejte vzorek jemným převrácením lahvičky se vzorkem 8 až 10krát, nebo ho krátce promíchejte na vortexové míchačce při poloviční rychlosti po dobu 5 sekund.
5. Rozbalte přenosovou pipetu.
6. Otevřete víko lahvičky se vzorkem, stlačte baňku přenosové pipety, vložte pipetu do lahvičky a pusťte baňku tak, aby se přenosová pipeta naplnila po rysku značící 1 ml. Viz Obrázek 1. Pipeta musí být naplněná a nesmí v ní být vzduchové bublinky.

Důležité Nepřidávejte do kazety nadměrné množství hleny.



Obrázek 1. Přenosová pipeta a značka naplnění

7. Vyprázdněte obsah pipety do vzorkové komory kazety. Viz Obrázek 2.



Obrázek 2. Kazeta Xpert HPV (pohled shora)

8. Zavřete víko kazety.

9.2 Spuštění testu

Důležité Před spuštěním testu se ujistěte, že do softwaru byly importovány soubory definice analýzy (ADF) pro Xpert HPV. Tato část uvádí základní kroky provedení testu. Podrobné pokyny viz příručky *GeneXpert Dx System Operator Manual* nebo *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Poznámka Postup se může lišit, pokud správce systému změnil výchozí pracovní postup systému.

Tato část uvádí výchozí kroky k obsluze systému GeneXpert. Podrobné pokyny viz *GeneXpert Dx System Operator Manual* nebo *GeneXpert Infinity System Operator Manual*, v závislosti na modelu, který je používán.

1. Zapněte systém GeneXpert Instrument System:

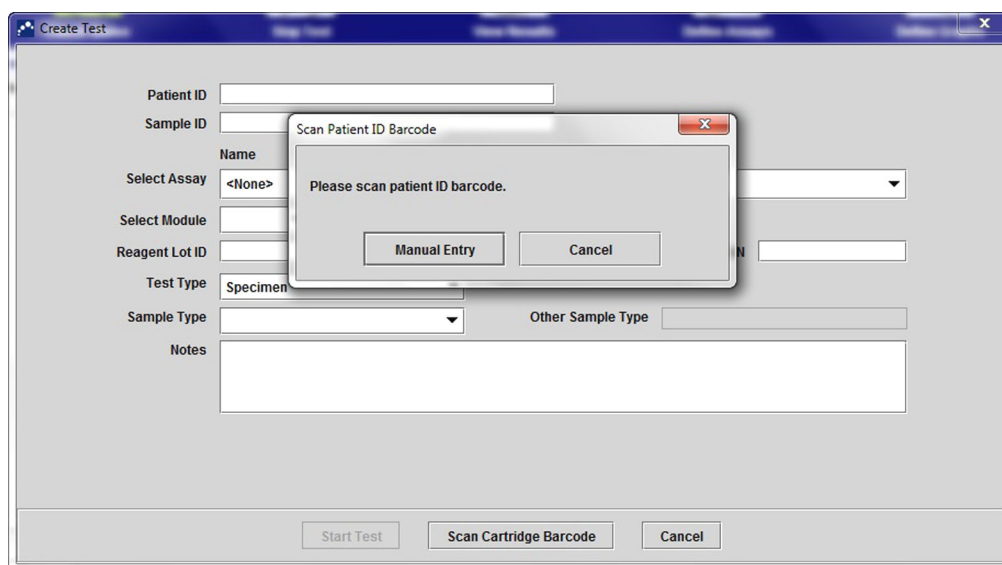
- Pokud používáte přístroj GeneXpert Dx instrument, nejprve zapněte přístroj a poté počítač. Software GeneXpert se spustí automaticky nebo může vyžadovat dvojité kliknutí na ikonu zástupce softwaru GeneXpert Dx na pracovní ploše systému Windows®.

nebo

- Pokud používáte přístroj GeneXpert Infinity, zapněte přístroj. Software GeneXpert se spustí automaticky nebo může vyžadovat dvojité kliknutí na ikonu zástupce softwaru Xpertise na pracovní ploše systému Windows.

2. Pomocí svého uživatelského jména a hesla se přihlaste do softwaru systému GeneXpert Instrument System.

3. V okně systému GeneXpert System klikněte na **Create Test (Vytvořit test)** (GeneXpert Dx) nebo na **Orders (Objednávky)** a **Order Test (Objednat test)** (Infinity). Zobrazí se okno Create Test (Vytvořit test). Viz Obrázek 3.



Obrázek 3. Okno Create Test (Vytvořit test) systému GeneXpert Dx

4. Naskenujte nebo zadejte Patient ID (ID pacienta) (volitelné). Pokud Patient ID (ID pacienta) zadáváte, dbejte, aby bylo zadáno správně. Patient ID (ID pacienta) je spojeno s výsledky testu a je zobrazeno v okně Zobrazení výsledků (View Results).
5. Oskenujte nebo zadejte Sample ID (ID vzorku). Pokud zadáváte Sample ID (ID vzorku), dbejte, aby bylo zadáno správně. ID vzorku je spojeno s výsledky testu a je zobrazeno v okně View Results (Zobrazit výsledky) a ve všech zprávách. Objeví se dialogové okno Scan Cartridge (Naskenovat kazetu).
6. Naskenujte čárový kód na kazetě Xpert HPV. Zobrazí se okno Create Test (Vytvořit test). Pomocí informací z čárového kódu software automaticky vyplní následující pole: Select Assay (Výběr analýzy), Reagent Lot ID (ID šarže reagentie), Cartridge SN (Sériové číslo kazety) a Expiration Date (Datum expirace).

Poznámka Pokud se čárový kód na kazetě Xpert HPV nenaskenuje, opakujte test s novou kazetou podle postupu v Část 14. Postup při opakování testu.

Patient ID: P177834
 Sample ID: S23433

Name	Version
Xpert HPV 16_18-45	1
Xpert HPV HR_16_18-45	1
Xpert HPV HR	1
Xpert HPV 16_18-45	1

Test Type: Specimen
 Sample Type:
 Other Sample Type:
 Notes:
 Start Test Scan Cartridge Barcode Cancel

Obrázek 4. Okno Create Test (Vytvořit test) systému GeneXpert Dx s rozevřacím menu Select Assay (Vybrat analýzu)

7. V rozevřací nabídce **Select Assay (Vybrat analýzu)** (viz Obrázek 4) vyberte příslušný soubor definice analýzy (ADF) pro objednaný test HPV.

Test Xpert HPV lze nakonfigurovat tak, aby automaticky vybíral jeden ze tří souborů ADF dle uvážení laboratoře. Požadavky lékařů na reflexní genotypizaci HPV 16 nebo HPV 18/45 lze objednat pod specifickým testem genotypu HPV nebo je lze spustit v rámci celého testu na vysoké riziko a genotyp, pokud je tak indikováno.

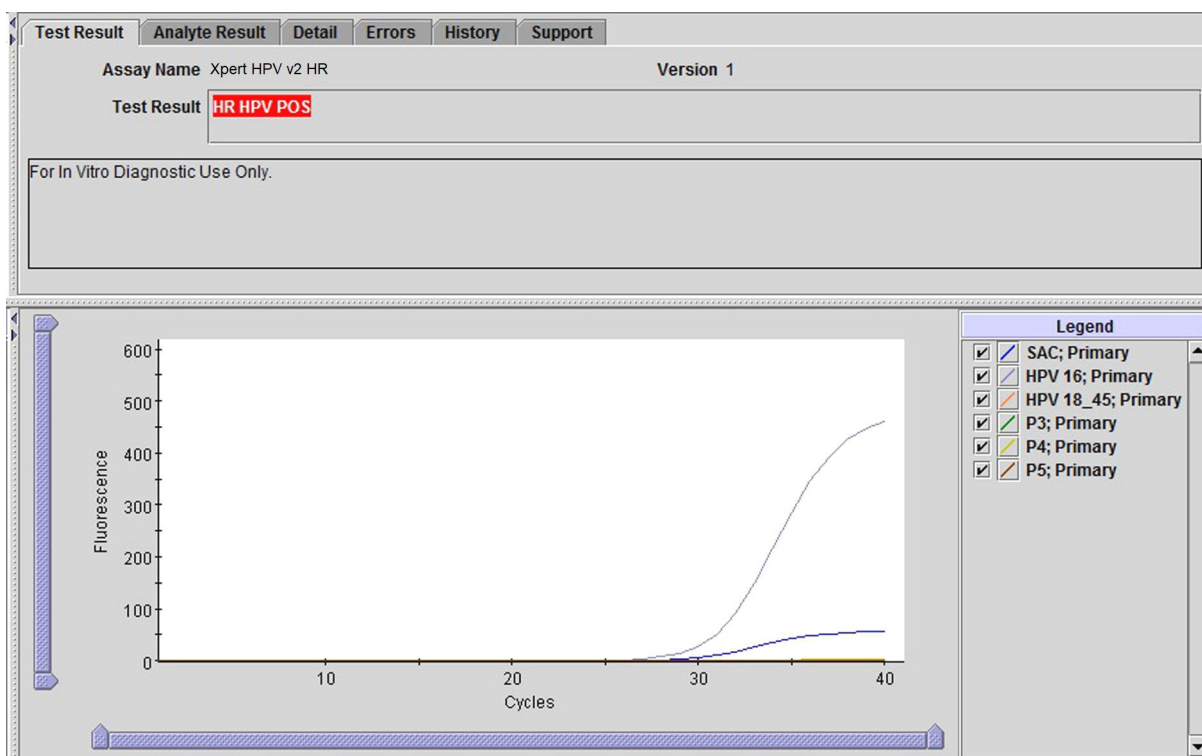
- Pouze test na vysoce rizikový HPV: Vyberte **Xpert HPV HR**, který ohlásí pozitivní nebo negativní celkový výsledek na přítomnost kteréhokoliv ze 14 detekovaných vysoce rizikových typů HPV. Příklad je uveden v Obrázek 5.
- Genotypizační test HPV 16, 18/45: Vyberte **Xpert HPV 16_18-45**, který ohlásí pozitivní nebo negativní výsledek na:
 - HPV 16 a na
 - genotyp HPV 18 nebo HPV 45.

Specifické výsledky pro všechny ostatní typy HPV nejsou ani získávány, ani zobrazovány. Příklad je uveden v Obrázek 6.

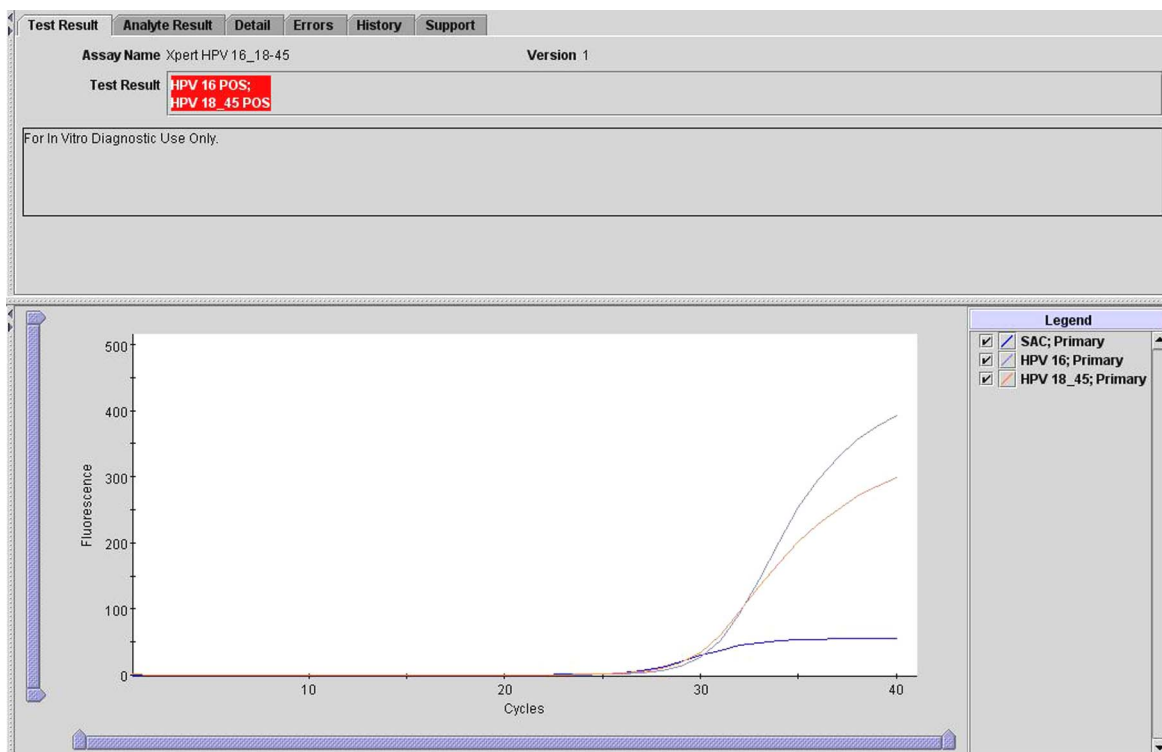
- Kombinovaný test na vysoce rizikové HPV a genotyp HPV: Výběr **Xpert HPV HR_16_18-45** ohlásí pozitivní nebo negativní výsledek na HPV 16, na HPV 18/45 a na přítomnost jakéhokoliv ze zbývajících 11 vysoce rizikových typů jako „Other HR HPV“ (Jiný HR HPV). Příklad je uveden v Obrázek 7.

Poznámka

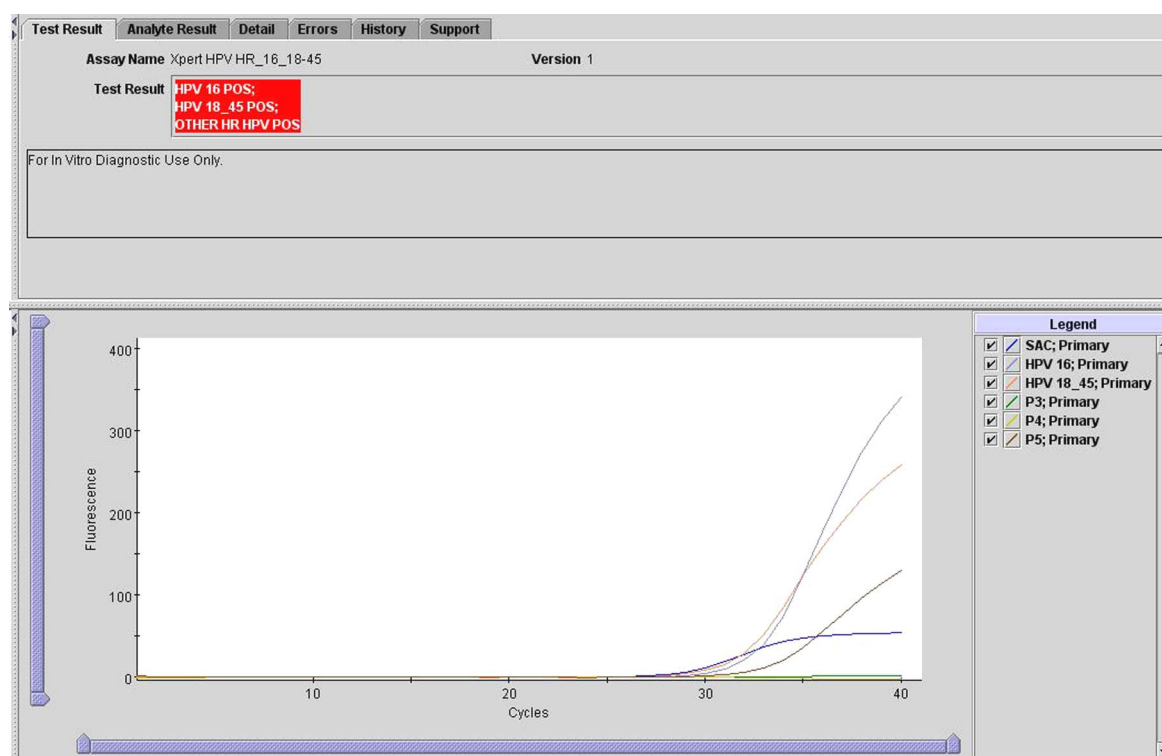
Po zahájení testu bude získán pouze výsledek testu pro test vybraný v tomto kroku. Data, která nebudou nashromážděna, nebude možné získat.



Obrázek 5. HPV HR pozitivní



Obrázek 6. HPV 16_18-45 pozitivní



Obrázek 7. HPV HR_16_18-45 pozitivní

8. Klikněte na **Start Test (Spustit test)** (GeneXpert Dx) nebo **Submit (Odeslat)** (Infinity). Zadejte heslo, pokud je to požadováno.
9. U systému GeneXpert Infinity System vložte kazetu na dopravníkový pás. Kazeta se založí automaticky, proběhne test a použitá kazeta vypadne do odpadové nádoby.

nebo

Pro přístroj GeneXpert Dx Instrument:

- a. Otevřete dvířka modulu přístroje s blikajícím zeleným světlem a založte kazetu.
- b. Zavřete dvířka. Spustí se test a zelené světlo přestane blikat. Po dokončení testu světlo zhasne.
- c. Před otevřením dvířek modulu a vyjmutím kazety počkejte, až systém uvolní zámek dvířek.
- d. Použité kazety by měly být zlikvidovány do vhodných odpadových nádob na vzorky podle standardní praxe vašeho zařízení.

Poznámka Doba do vydání výsledku je přibližně 60 minut.

10 Zobrazení a tisk výsledků

Podrobnější pokyny k zobrazení a tisku výsledků viz *Příručka obsluhy systému GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)* nebo *Příručka obsluhy systému GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity System Operator Manual)*.

11 Kontrola kvality

Každý test zahrnuje kontrolní systém sondy (PCC) a kontrolu adekvátnosti vzorku (SAC).

- **Systém kontroly sondy (PCC):** Před zahájením reakce PCR měří přístrojový systém GeneXpert fluorescenční signál ze sond a monitoruje tak rehydrataci perliček, plnění reakční zkumavky, neporušenost sond a stabilitu barviva. PCC vyhovuje, pokud splňuje validovaná kritéria přijatelnosti.
- **Kontrola adekvátnosti vzorku (SAC):** Reagencie SAC detekují přítomnost jediné kopie lidského genu v jedné kopii na buňku a monitoruje, zda vzorek obsahuje lidskou DNA.
- **Externí kontroly:** Externí kontroly se smí používat v souladu s požadavky místních, státních a federálních akreditačních organizací, pokud je to relevantní.

12 Interpretace výsledků

Výsledky jsou interpretovány přístrojovým systémem GeneXpert z naměřených fluorescenčních signálů a vložených výpočetních algoritmů a jsou zobrazovány na kartě Test Result (Výsledky testu) v okně View Results (Zobrazení výsledků). Test Xpert HPV poskytuje výsledky testu pro cíle HPV v souladu s výsledky a interpretacemi, které uvádí Tabulka 1.

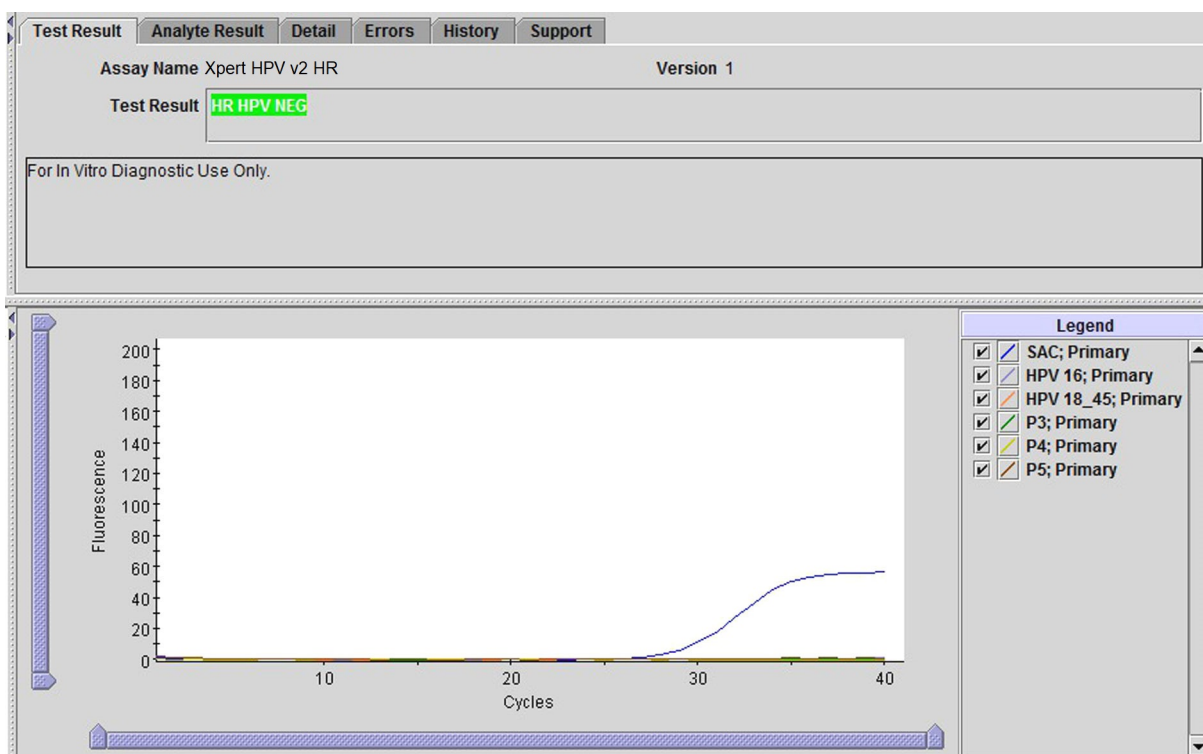
Poznámka Po zahájení testu budou shromážděny výsledky testu pouze pro vybraný test.

Tabulka 1. Výsledky a interpretace testu Xpert HPV

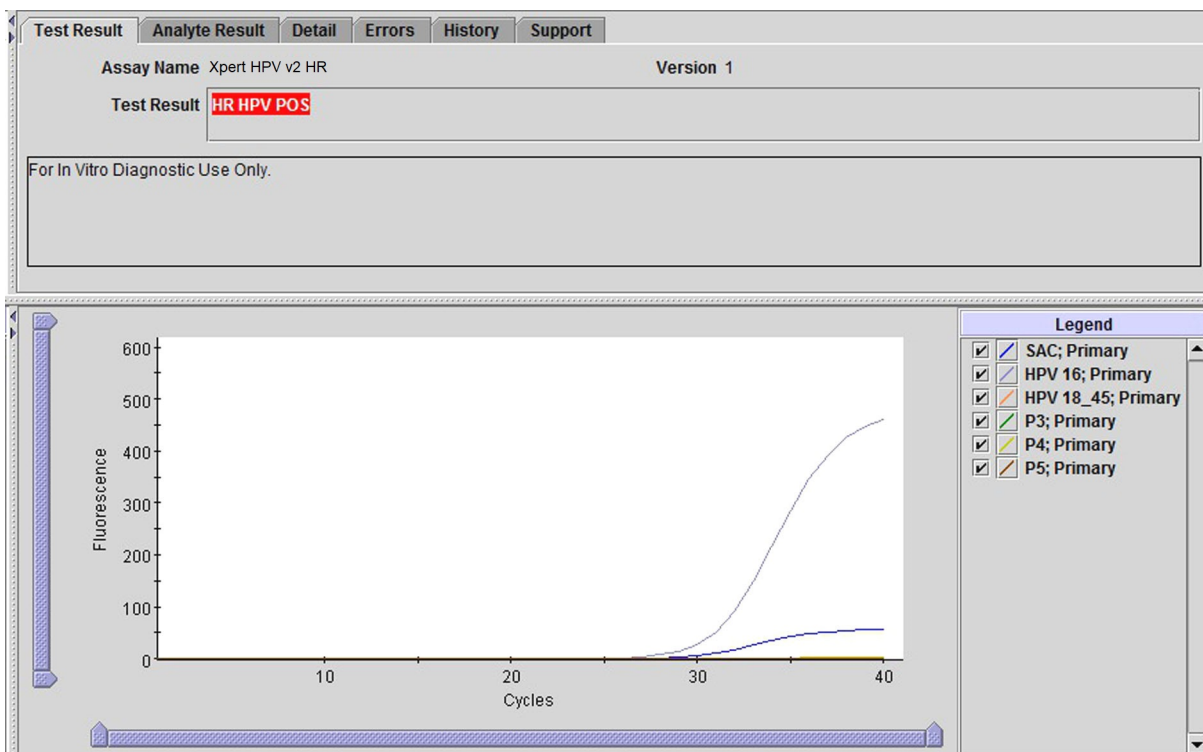
Výsledek	Interpretace
HR HPV POS (HR HPV POZ.) Viz Obrázek 9.	DNA vysoce rizikového HPV je detekována jako pozitivní. • Cílová DNA vysoce rizikového HPV má hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr fluorescence nad nastavenou prahovou hodnotou. • SAC: Neuplatňuje se. SAC se ignoruje, protože amplifikace cíle HPV může soutěžit s touto kontrolou. • PCC: PASS (VYHOVUJE); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
HPV 16 POS (HPV 16 POZ.) Viz Obrázek 11, Obrázek 13 a Obrázek 16.	DNA HPV 16 je detekována jako pozitivní. • Cílová DNA HPV 16 má hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr fluorescence nad nastavenou prahovou hodnotou. • SAC: Neuplatňuje se. SAC se ignoruje, protože amplifikace cíle HPV může soutěžit s touto kontrolou. • PCC: PASS (VYHOVUJE); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
HPV 18_45 POS (HPV 18_45 POZ.) Viz Obrázek 14 a Obrázek 16.	DNA HPV 18_45 je detekována jako pozitivní. • Cílová DNA HPV 18/45 má hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr fluorescence nad nastavenou prahovou hodnotou. • SAC: Neuplatňuje se. SAC se ignoruje, protože amplifikace cíle HPV může soutěžit s touto kontrolou. • PCC: PASS (VYHOVUJE); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
OTHER HR HPV POS (POZ. NA JINÝ HR HPV) Viz Obrázek 15 a Obrázek 16.	Jiná DNA vysoce rizikového HPV je detekována jako pozitivní. • Cílová DNA jiného vysoce rizikového HPV má hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr fluorescence nad nastavenou prahovou hodnotou. • SAC: Neuplatňuje se. SAC se ignoruje, protože amplifikace cíle jiného vysoce rizikového HPV může soutěžit s touto kontrolou. • PCC: PASS (VYHOVUJE); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.

Výsledek	Interpretace
HR HPV NEG (HR HPV NEG.) Viz Obrázek 8.	DNA vysoce rizikového HPV je pod detekční hladinou. • Cílová DNA vysoce rizikového HPV nemá hodnotu Ct v platném rozsahu a/nebo má koncový parametr fluorescence pod nastavenou prahovou hodnotou. • SAC: PASS (VYHOVUJE); PCR amplifikace cíle SAC poskytuje hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr fluorescence nad nastavenou prahovou hodnotou. • PCC: PASS (VYHOVUJE); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
HPV 16 NEG (HPV 16 NEG.) Viz Obrázek 10, Obrázek 12, Obrázek 14 a Obrázek 15.	DNA HPV 16 je pod detekční hladinou. • Cílová DNA HPV 16 nemá hodnotu Ct v platném rozsahu a/nebo má koncový parametr fluorescence pod nastavenou prahovou hodnotou. • SAC: PASS (VYHOVUJE); PCR amplifikace cíle SAC poskytuje hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr fluorescence nad nastavenou prahovou hodnotou. • PCC: PASS (VYHOVUJE); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
HPV 18_45 NEG (HPV 18_45 NEG.) Viz Obrázek 10, Obrázek 11, Obrázek 12, Obrázek 13 a Obrázek 15.	DNA HPV 18-45 je pod detekční hladinou. • Cílová DNA HPV 18/45 nemá hodnotu Ct v platném rozsahu a/nebo má koncový parametr fluorescence pod nastavenou prahovou hodnotou. • SAC: PASS (VYHOVUJE); PCR amplifikace cíle SAC poskytuje hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr fluorescence nad nastavenou prahovou hodnotou. • PCC: PASS (VYHOVUJE); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
OTHER HR HPV NEG (NEG. NA JINÝ HR HPV) Viz Obrázek 12, Obrázek 13 a Obrázek 14.	DNA jiného vysoce rizikového HPV je pod detekční hladinou. • Cílová DNA jiného vysoce rizikového HPV nemá hodnotu Ct v platném rozsahu a/nebo má koncový parametr fluorescence pod nastavenou prahovou hodnotou. • SAC: PASS (VYHOVUJE); PCR amplifikace cíle SAC poskytuje hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr fluorescence nad nastavenou prahovou hodnotou. • PCC: PASS (VYHOVUJE); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
INVALID (NEPLATNÝ) Viz Obrázek 17.	Přítomnost nebo nepřítomnost cílové DNA HPV nelze stanovit. Opakujte test podle pokynů, které uvádí Část 14. Postup při opakování testu. • SAC: FAIL (NEÚSPĚŠNÝ); hodnota Ct SAC není v platném rozsahu a/nebo koncový parametr fluorescence je pod nastavenou prahovou hodnotou. • PCC: PASS (VYHOVUJE); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
ERROR (CHYBA)	Přítomnost nebo nepřítomnost cílové DNA HPV nelze stanovit. Opakujte test podle pokynů, které uvádí Část 14. Postup při opakování testu. • SAC: NO RESULT (ŽÁDNÝ VÝSLEDEK) • PCC: FAIL (NEÚSPĚŠNÝ)*; jeden nebo všechny výsledky kontroly sondy byly neúspěšné. * Pokud kontrola sondy proběhla úspěšně, je chyba způsobena maximálním limitem tlaku přesahujícím přijatelný rozsah nebo selháním součásti systému.
NO RESULT (ŽÁDNÝ VÝSLEDEK)	Přítomnost nebo nepřítomnost cílové DNA HPV nelze stanovit. Opakujte test podle pokynů, které uvádí Část 14. Postup při opakování testu. NO RESULT (ŽÁDNÝ VÝSLEDEK) znamená, že nebylo shromážděno dostatečné množství údajů. Například obsluha zastavila probíhající test nebo došlo k výpadku napájení. • HPV: NO RESULT (ŽÁDNÝ VÝSLEDEK) • SAC: NO RESULT (ŽÁDNÝ VÝSLEDEK) • PCC: NA (neuplatňuje se)

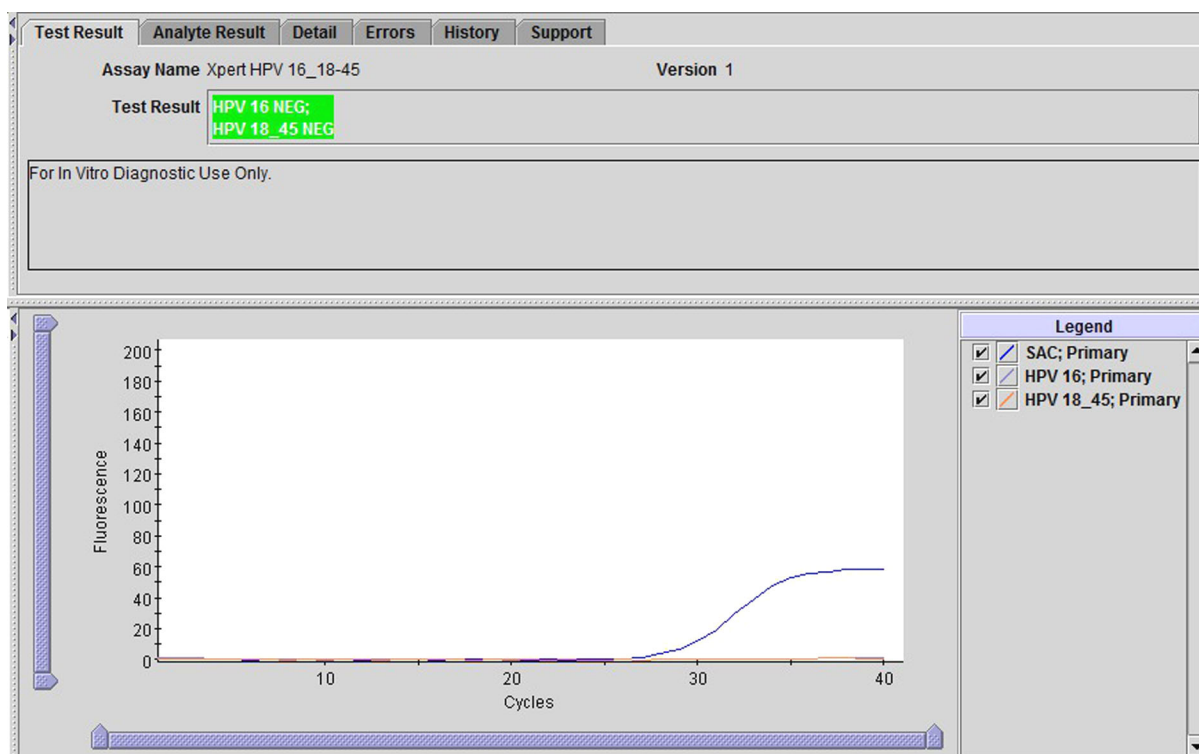
Poznámka Obrazovky uvedené v této části ukazují příklady použití tří testů. Obrázek 8 a Obrázek 9 použijte Xpert HPV HR, Obrázek 10 a Obrázek 11 použijte Xpert HPV 16_18-45, a Obrázek 12 až Obrázek 14 použijte Xpert HPV HR_16_18-45 z rozbalovací nabídky. (Viz Část 9.2. Spuštění testu a rozbalovací nabídka zobrazená v Obrázek 4).



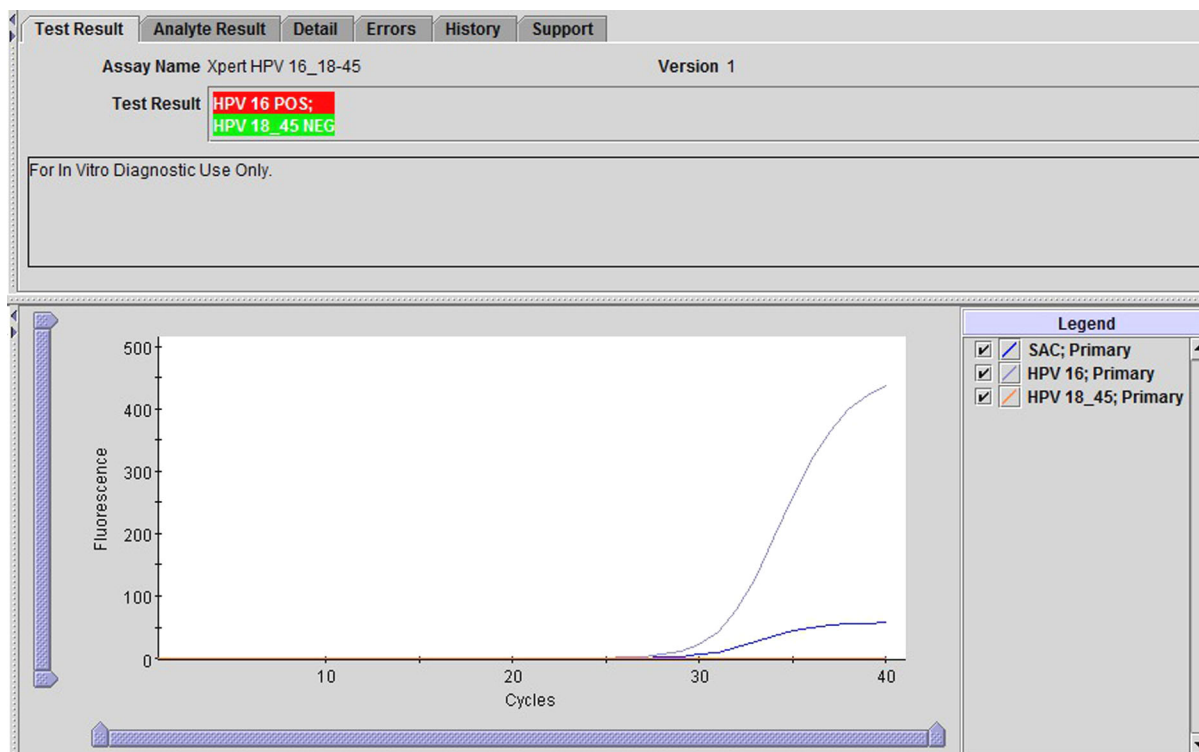
Obrázek 8. Negativní na vysoce rizikový HPV (výsledek s použitím Xpert HPV HR)



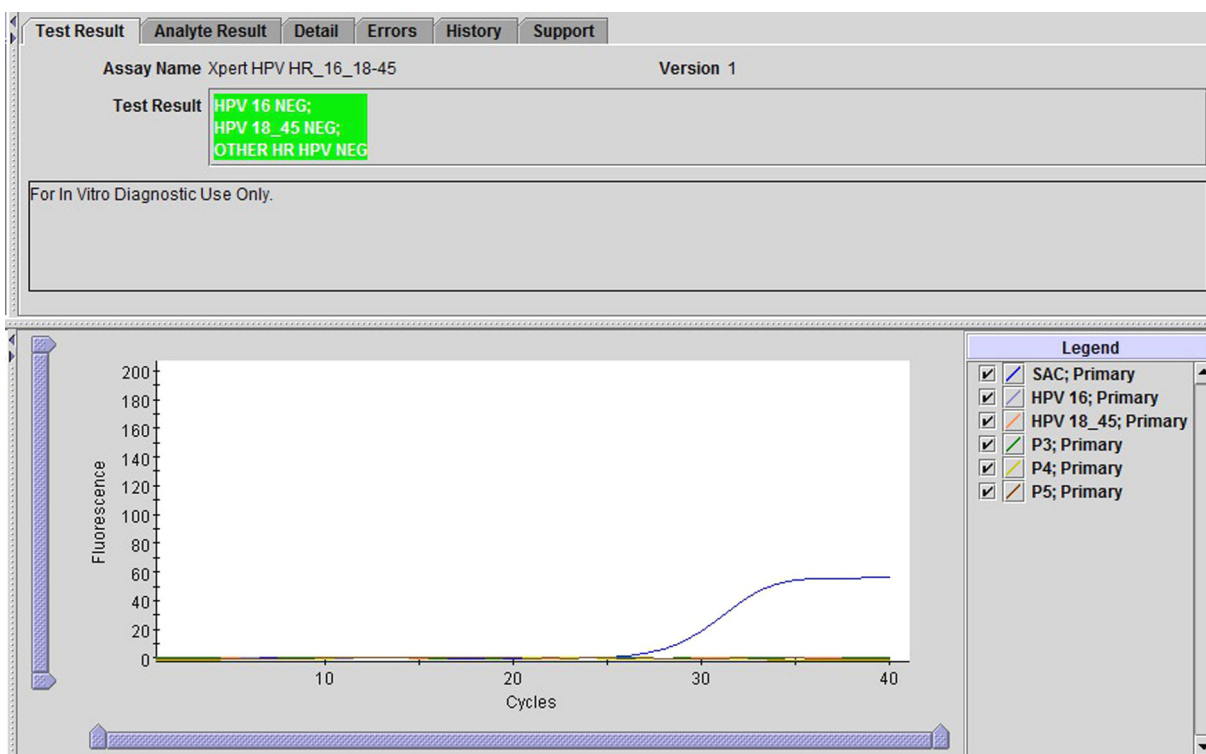
Obrázek 9. Pozitivní na vysoce rizikový HPV (výsledek s použitím Xpert HPV HR)



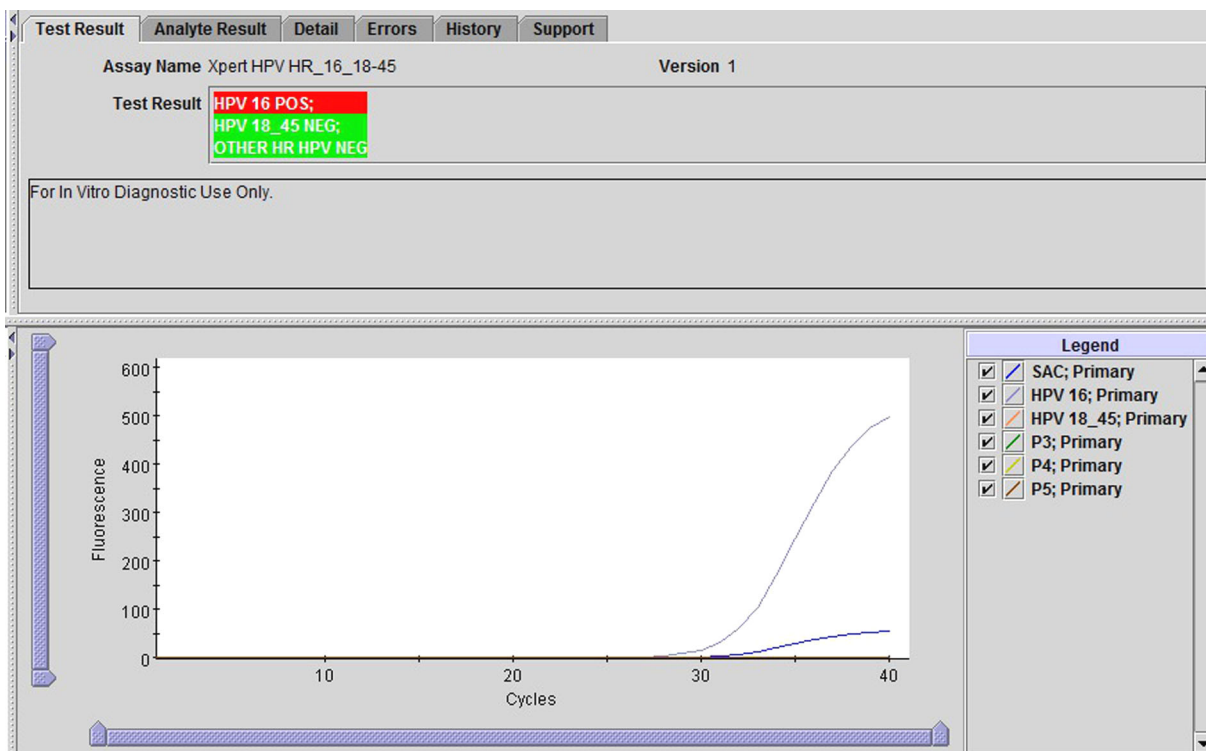
Obrázek 10. HPV 16 negativní; HPV 18-45 negativní (výsledek s použitím Xpert HPV 16_18-45)



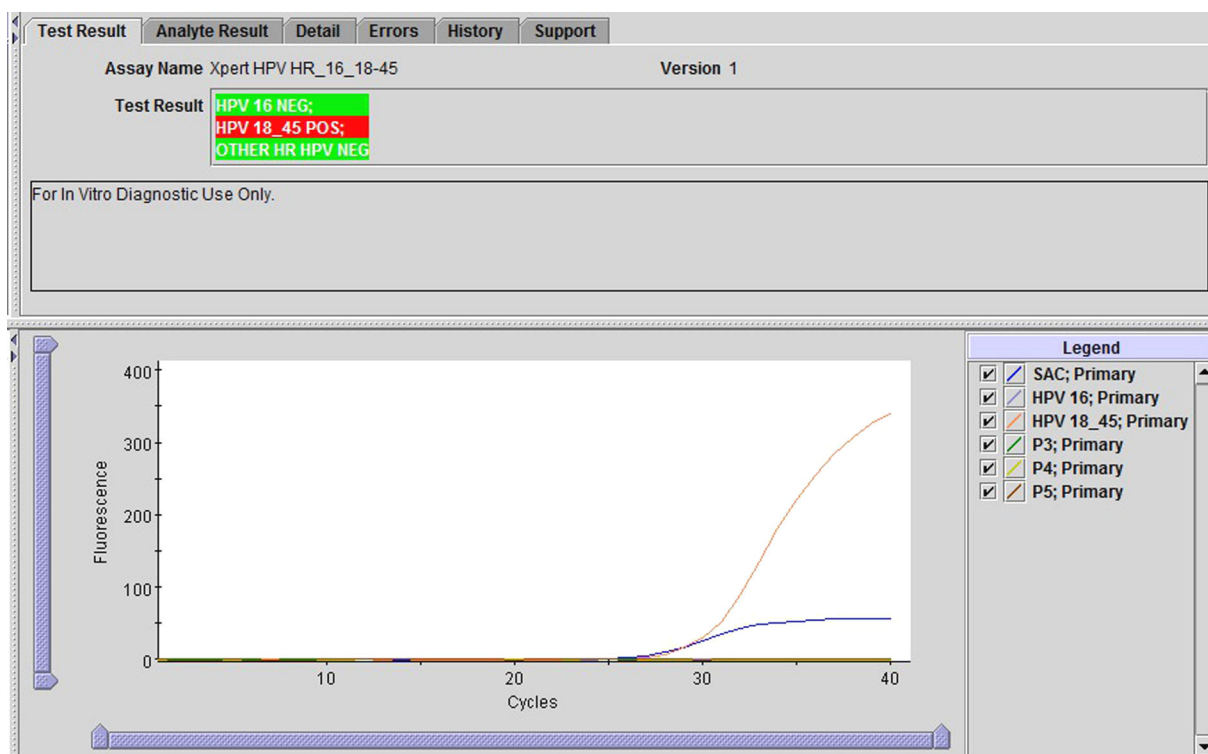
Obrázek 11. HPV 16 pozitivní; HPV 18-45 negativní (výsledek s použitím Xpert HPV 16_18-45)



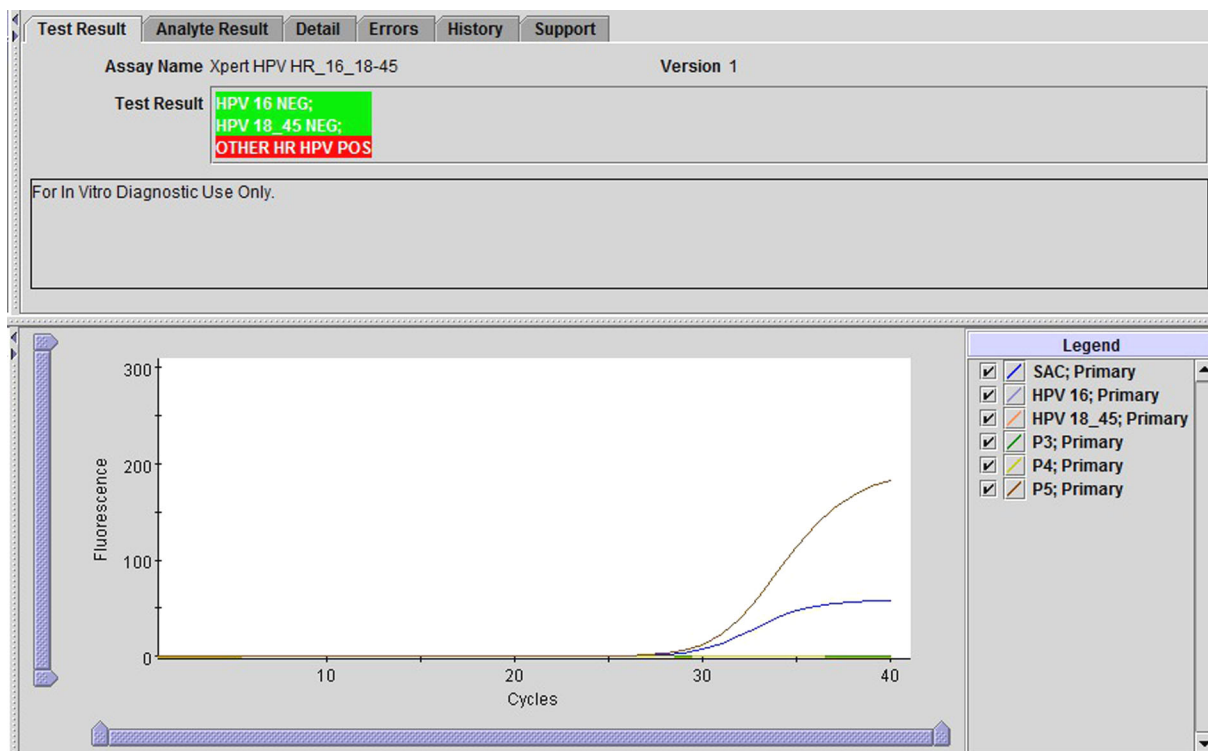
Obrázek 12. HPV 16 negativní; HPV 18-45 negativní; negativní na jiný vysoce rizikový HPV (výsledek s použitím Xpert HPV HR_16_18-45)



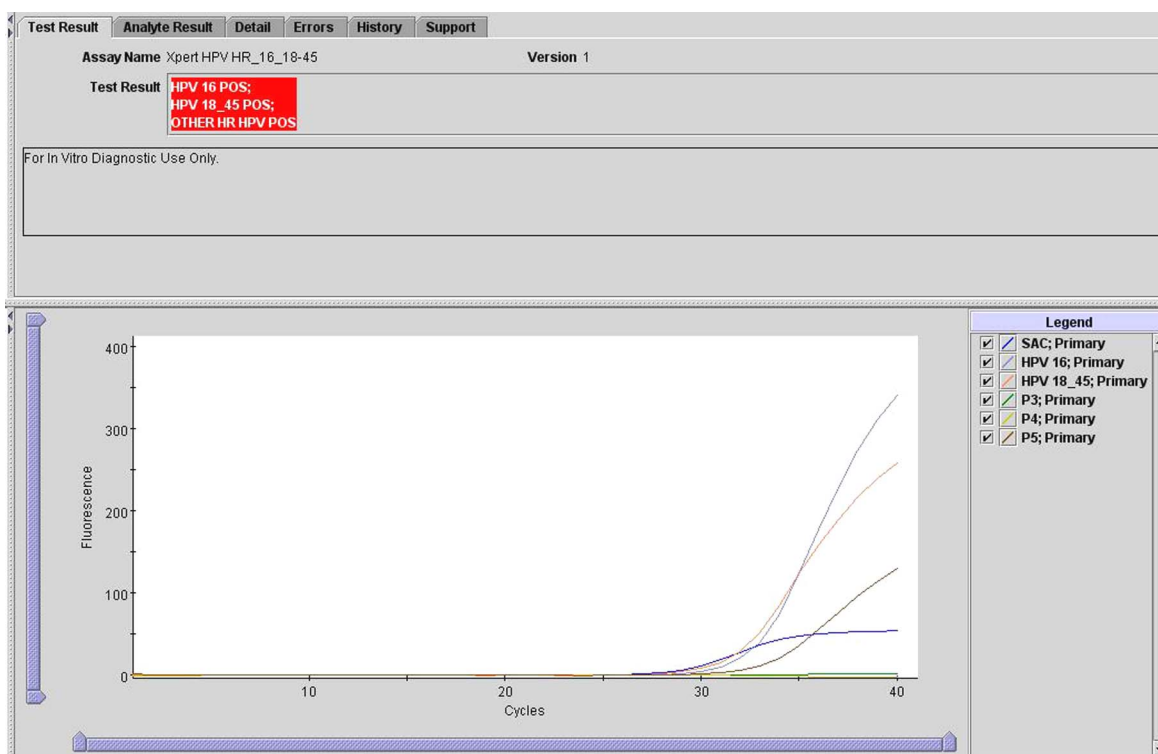
Obrázek 13. HPV 16 pozitivní; HPV 18-45 negativní; Negativní na jiný vysoce rizikový HPV (výsledek s použitím Xpert HPV HR_16_18-45)



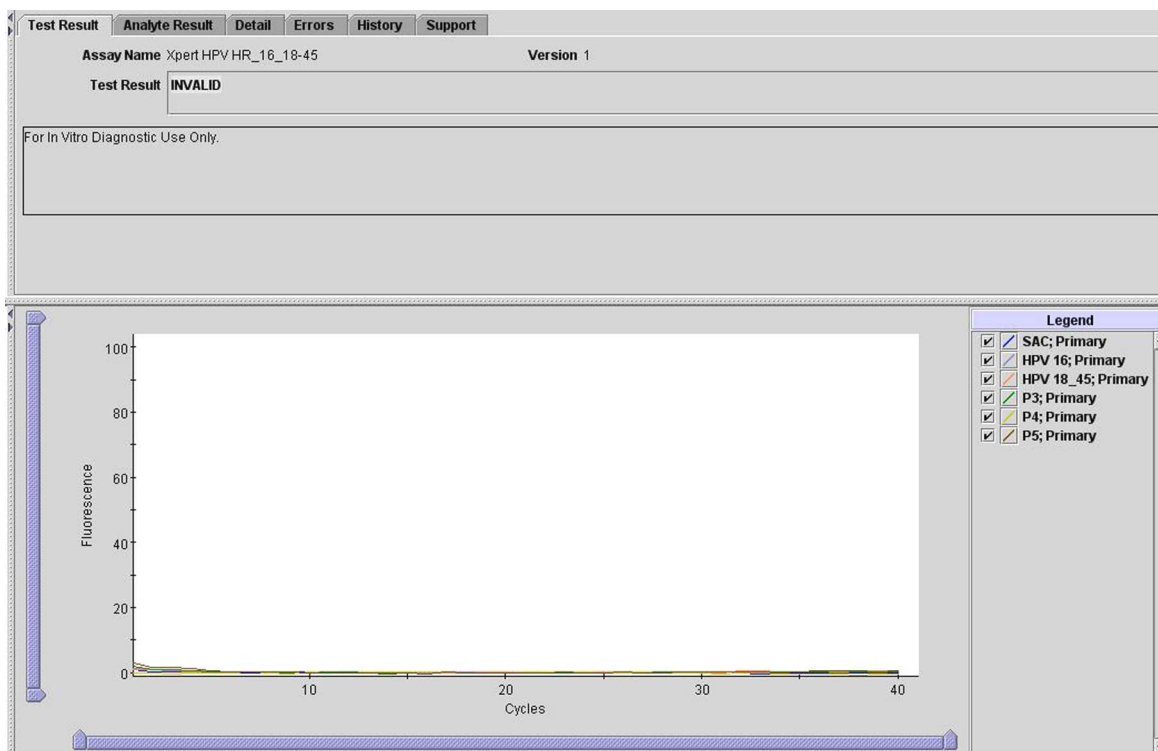
Obrázek 14. HPV 16 negativní; HPV 18-45 pozitivní; Negativní na jiný vysoce rizikový HPV (výsledek s použitím Xpert HPV HR_16_18-45)



Obrázek 15. HPV 16 negativní; HPV 18-45 negativní; Pozitivní na jiný vysoce rizikový HPV (výsledek s použitím Xpert HPV HR_16_18-45)



Obrázek 16. HPV 16 pozitivní, HPV 18-45 pozitivní; Pozitivní na jiný vysoce rizikový HPV (výsledek s použitím Xpert HPV HR_16_18-45)



Obrázek 17. Neplatný HPV HR_16_18-45 (výsledek s použitím Xpert HPV HR_16_18-45)

13 Důvody k opakování testu

Pokud se objeví kterýkoliv z následujících výsledků testu, zopakujte test podle pokynů v Část 14. Postup při opakování testu.

- Výsledek **INVALID** (NEPLATNÝ) značí, že se nezdařila SAC, vzorek nebyl správně zpracován, PCR byla inhibována nebo vzorek nebyl adekvátní.
- Výsledek **ERROR** (CHYBA) značí, že test byl přerušen možná z důvodu nesprávně naplněné reakční zkumavky, z důvodu detekce problému s neporušeností sond, kvůli překročení maximálních limitů tlaku, kvůli selhání kontroly sond nebo kvůli detekci chyby umístění ventilu.
- **NO RESULT** (ŽÁDNÝ VÝSLEDEK) znamená, že nebylo shromážděno dostatečné množství údajů. Například obsluha zastavila probíhající test nebo došlo k výpadku napájení.

14 Postup při opakování testu

- Test opakujte s novou kazetou (kazetu nepoužívejte opakovaně). Viz Část 9. Postup.
- Opatřete si zbylý vzorek.
- Pokud objem zbylého vzorku není dostatečný nebo opakovaný test nadále poskytuje výsledek **NEPLATNÝ (INVALID)**, **CHYBA (ERROR)** nebo **ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)**, odeberte nový vzorek a zopakujte test s novou kazetou.

15 Omezení

- Protože detekce HPV závisí na DNA přítomné ve vzorku, spolehlivé výsledky závisí na správném odběru, správné manipulaci a správném skladování vzorků.
- Test Xpert HPV byl validován pouze se vzorky děložního krčku odebranými do roztoku PreservCyt buď pomocí prostředku podobnému štetce, nebo kombinací endocervikálního kartáčku/špachtle.
- Při nesprávném odběru vzorku, technické chybě, záměně vzorků nebo v případech, kdy je počet kopií DNA HPV pod detekčním limitem testu, může dojít k chybným výsledkům testu.
- Test Xpert HPV byl validován pouze pomocí postupů uvedených v této příbalové informaci. Úprava těchto postupů může ovlivnit funkčnost testu.
- V přítomnosti následujících látek může být pozorována interference testu: plná krev ($\geq 0,25$ % obj./obj.), periferní krevní mononukleární buňky (PBMK) ($\geq 1 \times 10^6$ buněk/ml), *Candida albicans* ($\geq 1 \times 10^8$ buněk/ml), krém Vagisil proti svědění ($\geq 0,25$ % hm./obj.) nebo zvlhčující gel Vagi Gard ($\geq 0,5$ % hm./obj.).
- Přítomnost hustých vaginálních krémů ($> 0,25$ % hm./obj.) ve vzorku může způsobit přerušování analýzy z důvodu tlaku.
- Vliv dalších potenciálních proměnných, jako je vaginální výtok, používání tampónů, výplachy a proměnné při odběru vzorku, nebyl stanoven.
- Test Xpert HPV poskytuje kvalitativní výsledky. Velikost hodnoty Ct nelze dávat do vzájemného vztahu s počtem buněk v infikovaném vzorku.
- Výkon testu Xpert HPV nebyl hodnocen u pacientů mladších 18 let.
- Výkon testu Xpert HPV nebyl hodnocen u žen s provedenou hysterektomií.
- Test Xpert HPV nebyl validován pro použití se vzorky vaginálního výtěru odebranými lékařem nebo pacientem.
- Test Xpert HPV nebyl hodnocen s pacienty, kteří jsou v současné době léčeni antimikrobiálními látkami na infekce, jako jsou chlamydie nebo kapavka.
- Stejně jako je tomu u spousty diagnostických testů, výsledky testu Xpert HPV musí být interpretovány společně s dalšími laboratorními a klinickými údaji, které má lékař k dispozici.
- Výkon testu Xpert HPV nebyl hodnocen u jedinců očkových proti HPV.
- Test Xpert HPV nebyl hodnocen na případech s podezřením na pohlavní zneužívání.
- Prevalence infekce HPV v populaci může mít vliv na výkon.
- Vzorky obsahující méně než 1 ml roztoku PreservCyt jsou považovány za neadekvátní pro test Xpert HPV.
- Výkon testu Xpert HPV nebyl hodnocen na vzorcích děložního krčku, které byly předběžně zpracovány pro cytologické vyšetření pomocí jiných procesorů než ThinPrep 2000.
- Negativní výsledek testu Xpert HPV nevylučuje možnost cytologických abnormalit nebo budoucích či skrytých onemocnění CIN2, CIN3 nebo rakoviny.
- Test Xpert HPV detekuje virovou DNA E6/E7 vysoce rizikových typů HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68. Tento test nedetekuje DNA E6/E7 nízko rizikových typů HPV (např. 6, 11, 42, 43, 44), protože hodnocení

přítomnosti nízko rizikových typů HPV nepřináší žádný klinický prospěch v kontextu screeningu na rakovinu děložního krčku.

- Detekce DNA vysoce rizikových HPV je závislá na počtu kopií, které jsou přítomny ve vzorku, a může být ovlivňována metodami odběru vzorku, faktory pacientů, stádiem infekce a přítomností interferujících látek.
- Použití tohoto výrobku musí být omezeno na personál, který je vyškolený v používání testu Xpert HPV.
- S tímto testem může docházet k falešně pozitivním nebo falešně negativním výsledkům.
- Mutace nebo polymorfismy v regionech vázání primerů nebo sond mohou ovlivnit detekci cílových typů HPV, což může vést k falešně negativnímu výsledku.

16 Klinická účinnost

Charakteristiky klinické účinnosti testu Xpert HPV byly vyhodnoceny ve dvoufázové multicentrické [sedm pracovišť v USA] prospektivní studii, která zahrnovala ženy každého věku, jež byly odkázány na kolposkopické vyšetření kvůli jednomu nebo více dřívějším abnormálním výsledkům Pap testu, abnormálnímu výsledku Pap testu v kombinaci s pozitivním výsledkem testu na vysoce rizikový HPV nebo jinému klinickému podezření na rakovinu děložního čípku. V době kolposkopie byly od každého subjektu odebrány dva vzorky ThinPrep (vzorek A a vzorek B) jako podklad pro cytologické vyšetření a porovnávací testování s testem Xpert HPV a dvěma testy na vysoce rizikový HPV schválenými úřadem FDA. Analýzy s těmito porovnávacími metodami byly provedeny podle příslušných příbalových informací US-IVD. Vzorek A byl zpracován pro cytologické vyšetření a následnou analýzu s testem Xpert HPV. Vzorek B byl vyhrazen pro analýzu HPV s porovnávacími testy HPV a testem Xpert HPV. Oba vzorky byly odebrány kombinací endocervikálního kartáčku/špachtle podle příbalové informace k prostředku ThinPrep. Od každého subjektu byly odebrány minimálně dvě průbojníkové (punch) biopsie děložního krčku a endocervikální kyretáž (ECC) pro vyhodnocení neuspokojivých kolonoskopií, při kterých byla špatná vizualizace skvamokolumnární junkce. Patologické vyšetření vzorků biopsie a ECC bylo nejprve provedeno lokálně pro standardní péči o pacienty a jejich léčbu a poté retrospektivně zaslepeným způsobem panelem tří kontrolních odborných patologů s cílem stanovit konsenzuální konečný stav onemocnění děložního krčku. Do první fáze náboru bylo zařazeno 144 subjektů (věkové rozmezí: 20–70 let) se 31 případy $\geq$ CIN2. Data z fáze I byla použita k odhadnutí souboru klinických hodnot cut-off pro test ve vztahu ke koncovým parametrům onemocnění $\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3 pomocí přístupu provozní charakteristiky přijímače (ROC). Do fáze II náboru bylo zařazeno 564 subjektů (věkové rozmezí: 18–75 let) se 111 případy $\geq$ CIN2. Data z fáze II byla použita k vylepšení klinických hodnot cut-off ve vztahu ke koncovým parametrům onemocnění $\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3 pomocí přístupu ROC. Retrospektivně byla provedena analýza homogenity s cílem potvrdit slučitelnost výsledků z fáze I a fáze II; výsledky jsou slučitelné napříč více parametry populací a vzorků.

Klinická senzitivita a specifita testu Xpert HPV, porovnávací metody 1 a porovnávací metody 2 v souboru dat fáze II ve vztahu ke stavu onemocnění $\geq$ CIN2 jsou shrnuty v Tabulka 2.

Tabulka 2. Klinická účinnost ve vztahu ke stavu onemocnění $\geq$ CIN2^a

	Test Xpert HPV (vzorek A) ^b	Test Xpert HPV (vzorek B) ^c	Porovnávací metoda 1 ^d	Porovnávací metoda 2 ^e
Senzitivita	(99/109) 90,8% (83,8–95,5 %)	(100/110) 90,9% (83,9–95,6 %)	(103/111) 92,8% (86,3–96,8 %)	(96/111) 86,5% (78,7–92,2 %)
Specifická	(182/429) 42,4% (37,7–47,3 %)	(194/446) 43,5% (38,8–48,2 %)	(178/453) 39,3% (34,8–44,0 %)	(212/451) 47,0% (42,3–51,7 %)
Pozitivní prediktivní hodnota	(99/346) 28,6% (23,8–33,7 %)	(100/352) 28,4% (23,8–33,4 %)	(103/378) 27,2% (22,8–32,0 %)	(96/335) 28,7% (23,9–33,8 %)
Negativní prediktivní hodnota	(182/192) 94,8% (90,6–97,5 %)	(194/204) 95,1% (91,2–97,6 %)	(178/186) 95,7% (91,7–98,1 %)	(212/227) 93,4% (89,3–96,3 %)

^a Jsou uvedeny bodové odhady. Intervaly spolehlivosti jsou 95% CI dle Fisherova exaktního testu.

^b n = 538. V devíti případech nebylo dostatečné množství vzorku pro testování Xpert; 17 vzorků QNS neurčitých po prvním a opakovaném testu.

^c n = 556. Osm vzorků neurčitých po prvním a opakovaném testu.

^d n = 564.

^e n = 562. Dva vzorky neurčité po prvním a opakovaném testu.

Klinická senzitivita a specifická testu Xpert HPV, porovnávací metody 1 a porovnávací metody 2 ve fázi II datového souboru ve vztahu ke stavu onemocnění $\geq$ CIN3 jsou shrnuty v Tabulka 3.

Tabulka 3. Klinická účinnost ve vztahu ke stavu onemocnění $\geq$ CIN3^a

	Test Xpert HPV (vzorek A) ^b	Test Xpert HPV (vzorek B) ^c	Porovnávací metoda 1 ^d	Porovnávací metoda 2 ^e
Senzitivita	(68/72) 94,4% (86,4–98,5 %)	(69/73) 94,5% (86,6–98,5 %)	(71/74) 95,9% (88,6–99,2 %)	(64/74) 86,5% (76,5–93,3 %)
Specifická	(187/465) 40,2% (35,7–44,8 %)	(199/482) 41,3% (39,6–45,8 %)	(182/489) 37,2% (32,9–41,7 %)	(216/487) 44,4% (39,9–48,9 %)
Pozitivní prediktivní hodnota	(68/346) 19,7% (15,6–24,2 %)	(69/352) 19,6% (15,6–24,1 %)	(71/378) 18,8% (15,0–23,1 %)	(64/335) 19,1% (15,0–23,7 %)
Negativní prediktivní hodnota	(187/191) 97,9% (94,7–99,4 %)	(199/203) 98,0% (95,0–99,5 %)	(182/185) 98,4% (95,3–99,7 %)	(216/226) 95,6% (92,0–97,9 %)

^a Jsou uvedeny bodové odhady. Intervaly spolehlivosti jsou 95% CI dle Fisherova exaktního testu.

^b n = 537. V devíti případech nebylo dostatečné množství vzorků QNS pro testování Xpert; 17 vzorků neurčitých po prvním a opakovaném testu; u jednoho vzorku nebylo dosaženo konsenzu ohledně stavu CIN2 vs. CIN3.

^c n = 555. Osm vzorků neurčitých po prvním a opakovaném testu; u jednoho vzorku nebylo dosaženo konsenzu ohledně stavu CIN2 vs. CIN3.

^d n = 563. U jednoho vzorku nebylo dosaženo konsenzu ohledně stavu CIN2 vs. CIN3.

^e n = 561. Dva vzorky neurčité po prvním a opakovaném testu; u jednoho vzorku nebylo dosaženo konsenzu ohledně stavu CIN2 vs. CIN3.

Vyhodnocení analytické shody v souboru dat fáze II prokázalo celkovou shodu mezi testem Xpert HPV a jím samým (vzorek A vs. vzorek B; párové porovnání n = 533) 94,6 % (95% CI 92,3–96,3; statistika kappa 0,88). Celková shoda mezi testem Xpert HPV (vzorek B) a porovnávací metodou 1 (párové porovnání n = 556) byla 92,4 % (95% CI 89,9–94,5; statistika kappa 0,83). Celková shoda mezi testem Xpert HPV (vzorek B) a porovnávací metodou 2 (párové porovnání n = 554) byla 87,4 % (95% CI 84,3–90,0; statistika kappa 0,73).

Klinická účinnost testu Xpert HPV pro vzorky A a B z Pap testu, seřazená podle věkových skupin subjektů, byla určena pro oba stavy onemocnění $\geq$ CIN2 a $\geq$ CIN3. Klinická účinnost ve vztahu k onemocnění $\geq$ CIN2 uvádí Tabulka 4 a klinická účinnost ve vztahu k onemocnění $\geq$ CIN3 uvádí Tabulka 5.

Tabulka 4. Účinnost testu Xpert HPV vs. onemocnění $\geq$ CIN2, podle věkových skupin

Věková skupina	Pap A		Pap B	
	Senzitivita (95% CI)	Specifická (95% CI)	Senzitivita (95% CI)	Specifická (95% CI)
20–29	95,7% (85,5–99,5)	25,8% (19,1–33,4)	95,7% (85,5–99,5)	32,1% (24,9–39,9)
30–39	91,7% (77,5–98,2)	46,4% (38,3–54,6)	94,6% (81,8–99,3)	44,3% (36,4–52,4)
40–49	88,9% (65,3–98,6)	44,8% (32,6–57,4)	88,9% (65,3–98,6)	45,8% (34,0–58,0)
50–59	71,4% (29,0–96,3)	62,8% (46,7–77,0)	71,4% (29,0–96,3)	64,4% (48,8–78,1)
≥ 60	100% (2,5–100)	33,3% (9,9–65,1)	100% (2,5–100)	30,8% (9,1–61,4)

Tabulka 5. Účinnost testu Xpert HPV ve srovnání s onemocněním $\geq$ CIN3, podle věkových skupin

Věková skupina	Pap A		Pap B	
	Senzitivita (95% CI)	Specifická (95% CI)	Senzitivita (95% CI)	Specifická (95% CI)
20–29	96,7% (82,8–99,9)	23,8% (17,7–30,9)	100% (88,4–100)	30,1% (23,4–37,5)
30–39	90,9% (70,8–98,9)	43,1% (35,5–51,0)	91,3% (72,0–98,9)	40,7% (33,3–48,4)
40–49	92,9% (66,1–99,8)	43,7% (31,9–56,0)	92,9% (66,1–99,8)	44,7% (33,3–56,6)
50–59	100% (39,8–100)	62,2% (46,5–76,2)	100% (39,8–100)	63,8% (48,5–77,3)
≥ 60	100% (2,5–100)	33,3% (9,9–65,1)	100% (2,5–100)	30,8% (9,1–61,4)

Druhá klinická studie byla provedena s cílem zhodnotit účinnost testu Xpert HPV v populacích, které se více podobají cílovým populacím, na něž se zaměřují organizované screeningové programy na rakovinu děložního čípku. Tato studie byla multicentrickou studií porovnávající metody, která byla odkázána na zbytkové vzorky odebrané do roztoku PreservCyt získané od žen ve věku 20–60 let, jež se účastnily organizovaných screeningových programů na rakovinu děložního krčku ve Spojeném království. Až na vzácné výjimky byly všechny vzorky v této studii odebrány prostředkem podobným štětečku podle příbalové informace k prostředku ThinPrep. Do této studie byly zahrnuty dvě stejné porovnávací metody, přičemž porovnávací metoda 1 byla primární porovnávací metodou a porovnávací metoda 2 byla sekundární porovnávací metodou. Velikosti vzorků pro studii byly vypočteny pro dvě věkové skupiny (ženy ve věku 20–29 let a ženy ve věku 30–60 let), které by podpořily vyhodnocení shody (s 95% CI) a výpočet statistiky kappa (s 95% CI) ve vztahu ke každé porovnávací metodě.

Zbytkové vzorky s výsledky cytologického vyšetření byly v této studii rozděleny na tři alikvoty pro zhodnocení s testem Xpert HPV a porovnávacími metodami 1 a 2. Pořadí odběru alikvotů pro analýzu s testem Xpert HPV a porovnávací metodou 1 bylo randomizováno tak, aby přibližně 50 % prvních alikvotů bylo použito pro analýzu s testem Xpert HPV a

50 % prvních alikvotů bylo použito pro porovnávací metodu 1. Třetí alikvot byl vždy vyhrazen pro analýzu s porovnávací metodou 2. Bez ohledu na pořadí alikvotů byla lahvička se zdrojovým vzorkem před odebráním každého alikvotu promíchána, aby byla zajištěna homogenita vzorku. Analýza s porovnávacími metodami byla provedena podle příslušných příbalových informací CE-IVD, které byly procesně stejné jako příbalové informace US-IVD. Analýza výsledků používá parametry cut-off z příbalových informací US-IVD.

Analýza dat studie prokázala podstatnou shodu mezi testem Xpert HPV a porovnávací metodou 1. Tato shoda je nezávislá na věkové kategorii (věk 20–29 a věk 30–60) a cytologickém stavu subjektů [normální (NILM, negativní na intraepiteliální lézi nebo malignitu) a horší než normální (horší než NILM)]. Souhrn shody mezi testem Xpert HPV a porovnávací metodou 1 je uveden v Tabulka 6.

Tabulka 6. Shoda mezi testem Xpert HPV a porovnávací metodou 1

Porovnání shody	n	Pozitivní procentuální shoda	Negativní procentuální shoda	Celková procentuální shoda	Statistika kappa
Celkem^a	3 418	90,3 % (87,8–92,5 %)	97,1 % (96,4–97,7 %)	95,8 % (95,1–96,5 %)	0,87 (0,85–0,89)
Věk 20–29	833	92,7 % (89,4–95,2 %)	94,9 % (92,6–96,7 %)	94,0 % (92,2–95,5 %)	0,88 (0,84–0,91)
Věk 30–60	2 585	87,8 % (83,7–91,2 %)	97,6 % (96,9–98,2 %)	96,4 % (95,6–97,1 %)	0,84 (0,81–0,87)
Cytologie normální	2 975	85,1 % (81,0–88,6 %)	97,1 % (96,8–98,0 %)	95,8 % (95,2–96,6 %)	0,81 (0,78–0,85)
Cytologie > normální	443	96,7 % (93,9–98,4 %)	91,0 % (85,1–95,1 %)	94,8 % (92,3–96,7 %)	0,88 (0,83–0,93)

^a Jsou uvedeny bodové odhady. Intervaly spolehlivosti jsou 95% CI dle Fisherova exaktního testu.

Analýza dat studie prokázala dobrou shodu mezi testem Xpert HPV a porovnávací metodou 2. Tato shoda je nezávislá na věkové kategorii (věk 20–29 a věk 30–60) a cytologickém stavu subjektů [normální (NILM) a horší než normální (horší než NILM)]. Souhrn shody mezi testem Xpert HPV a porovnávací metodou 2 je uveden v Tabulka 7.

Tabulka 7. Shoda mezi testem Xpert HPV a porovnávací metodou 2

Porovnání shody	n	Pozitivní procentuální shoda	Negativní procentuální shoda	Celková procentuální shoda	Statistika kappa
Celkem^a	3 418	84,5 % (81,8–87,3 %)	96,5 % (95,7–97,2 %)	94,1 % (93,3–94,9 %)	0,82 (0,79–0,84)
Věk 20–29	833	94,2 % (91,1–96,5 %)	93,3 % (90,7–95,3 %)	93,6 % (91,8–95,2 %)	0,87 (0,83–0,90)
Věk 30–60	2 585	76,0 % (71,2–80,3 %)	97,2 % (96,5–97,9 %)	94,2 % (93,3–95,1 %)	0,75 (0,71–0,79)
Cytologie normální	2 975	77,9 % (73,3–82,2 %)	96,6 % (95,9–97,3 %)	94,3 % (93,4–95,1 %)	0,74 (0,70–0,78)
Cytologie > normální	443	92,5 % (89,0–95,1 %)	93,6 % (87,8–97,2 %)	92,8 % (90,0–95,0 %)	0,83 (0,77–0,89)

^a Jsou uvedeny bodové odhady. Intervaly spolehlivosti jsou 95% CI dle Fisherova exaktního testu.

Jako další měřítko analytické shody byla v této studii vyhodnocena míra positivity HPV podle cytologického stavu. V obdobně velkých vzorcích (skupinách) vzorků zhodnocených každou metodou jsou míry positivity HPV hlášené těmito třemi metodami HPV podobné a v obecné shodě s mírami positivity HPV hlášenými v jiných populacích s nízkou prevalencí onemocnění (např. studii ALTS). Souhrn mír positivity HPV měřených každou metodou podle cytologického stavu uvádí Tabulka 8.

Tabulka 8. Pozitivita HPV podle metody a cytologického stavu

Kategorie (Spojené království / USA)	Test Xpert HPV			Porovnávací metoda 1			Porovnávací metoda 2		
	Celkem	Poz.	% poz.	Celkem	Poz.	% poz.	Celkem	Poz.	% poz.
Normální/NILM	2 975	374	12,6	2 975	362	12,2	2 975	367	12,3
Hraniční/ASC-US	215	113	52,6	215	108	50,2	215	120	55,8
Dyskaryóza nízkého stupně (lehká) / LSIL ^a	149	116	77,9	149	120	80,5	149	126	84,6
Dyskaryóza vysokého stupně (střední) / HSIL ^b	28	28	100,0	28	27	96,4	28	28	100,0
Dyskarióza vysokého stupně (těžká) / HSIL	35	35	100,0	35	34	97,1	35	35	100,0
Jiné	16	10	62,5	16	10	62,5	16	9	56,3
Celkem	3 418	676	19,9	3 418	661	19,3	3 418	685	20,0

^a Skvamózní intraepiteliální léze nízkého stupně.

^b Skvamózní intraepiteliální léze vysokého stupně.

Podskupina [245/3 418 (7,2 %)] vzorků zařazených do této studie byla před vyhodnocením testem Xpert HPV a porovnávacími metodami předem ošetřena ledovou kyselinou octovou (GAA). Jedno pracoviště používalo modifikovanou verzi komerční metodiky [70/1 138 (6,2 %)]; CytoLyt, Hologic, Crawley, Spojené království, EU, zatímco zbylá dvě pracoviště používala postupy vyvinuté v laboratoři založené na metodě Espostis [148/1 129 (13,1 %) a 22/1 151 (1,9 %) v tomto pořadí].^{11–13} Test Xpert HPV prokázal dobrou shodu s porovnávacími metodami bez ohledu na stav předběžného ošetření GAA. Viz Tabulka 9 a Tabulka 10.

Tabulka 9. Shoda mezi testem Xpert HPV a porovnávací metodou 1 ve vzorcích předem ošetřených GAA^a

Porovnání shody	n	Pozitivní procentuální shoda	Negativní procentuální shoda	Celková procentuální shoda	Statistika kappa
Předem ošetřeno GAA	245	94,3% (86,0–98,4 %)	96,6 % (92,7–98,7 %)	95,9% (92,6–98,0 %)	0,90 (0,84–0,96)
Neošetřeno	3 173	89,8 % (87,1–92,2 %)	97,2 % (96,5–97,8 %)	95,8 % (95,1–96,5 %)	0,86 (0,84–0,89)

^a Jsou uvedeny bodové odhady. Intervaly spolehlivosti jsou 95% CI dle Fisherova exaktního testu.

Tabulka 10. Shoda mezi testem Xpert HPV a porovnávací metodou 2 ve vzorcích předem ošetřených GAA^a

Porovnání shody	n	Pozitivní procentuální shoda	Negativní procentuální shoda	Celková procentuální shoda	Statistika kappa
Předem ošetřeno GAA	245	87,3 % (72,3–94,0 %)	94,3% (89,7–97,2 %)	92,2% (88,2–95,3 %)	0,81 (0,73–0,89)
Neošetřeno	3 173	84,4 % (81,2–87,0 %)	96,6 % (95,9–97,3 %)	94,3% (93,4–95,0 %)	0,82 (0,79–0,84)

^a Jsou uvedeny bodové odhady. Intervaly spolehlivosti jsou 95% CI dle Fisherova exaktního testu.

17 Limit detekce

Analytická citlivost neboli limit detekce (LoD) testu Xpert HPV byla vyhodnocena pomocí:

1. HPV pozitivních buněčných linií: HPV 16 (SiHa), HPV 18 (HeLa S3), HPV 45 (MS751) a HPV 68 (ME180) v roztoku PreservCyt obsahujícím pozadí HPV negativní buněčné linie (C33A) a
2. DNA plazmidů 14 cílových vysoce rizikových typů HPV v pozadí lidské ženské genomové DNA.

17.1 HPV pozitivní buněčné linie

Limit detekce (LoD) pro HPV 16, HPV 18, HPV 45 a HPV 68 byl odhadnut analýzou 20 replikátů při minimálně šesti koncentracích pro každou buněčnou linii pomocí jedné šarže reagensů testu Xpert HPV. Hodnoty LoD byly odhadnuty analýzou probit. Uvedené hodnoty LoD byly potvrzeny analýzou minimálně 20 replikátů zředěných na odhadované koncentrace LoD pomocí tří šarží reagensů testu Xpert HPV. Uvedená LoD je definována jako koncentrace, při které je pozitivních 95 % z minimálně 20 replikátů na každou šarži reagensie (Tabulka 11).

17.2 DNA plazmidy HPV

Limit detekce (LoD) pro 14 DNA plazmidů vysoce rizikových HPV byl potvrzen s minimálně 60 replikáty napříč dvěma operátory a třemi šaržemi reagensů. Testy byly provedeny v různé dny. Pro každý DNA plazmid HPV byla stanovena hladina (v kopiích na PCR reakci), při které je celkový skutečný pozitivní poměr statisticky vyšší než 95 % sloučený ze tří šarží reagensů (Tabulka 12).

Tabulka 11. Limit detekce: HPV pozitivní buněčné linie

Typ HPV	Odh. LoD dle probit (buňky/ml)	95% CI	99,9% CI	Hladina konc. (buňky/ml)	Šarže reagensie	Poz. z 20 rep.	Prům. Ct (cíl)	Sm. odch. Ct (cíl)	Celkový prům. Ct (cíl)	Celková sm. odch. Ct (cíl)	% poz.	Celkové % poz.
16	71	55–87	52–127	122	Šarže 1	19	35,6	1,0	35,3	1,2	95	95,0
					Šarže 2	19	35,0	1,4			95	
					Šarže 3	19	35,4	1,2			95	
18	46	35–56	33–90	53	Šarže 1	20	36,0	1,2	35,6	1,1	100	96,7
					Šarže 2	19	35,3	0,9			95	
					Šarže 3	19	35,6	1,1			95	
45	180	150–211	142–266	173	Šarže 1	19	37,0	1,2	37,1	1,1	95	96,7
					Šarže 2	20	37,0	1,2			100	
					Šarže 3	19	37,4	0,9			95	
68	267	231–304	221–366	366	Šarže 1	20	35,9	0,6	36,0	0,6	100	96,7
					Šarže 2	19	35,9	0,7			95	
					Šarže 3	20	36,2	0,5			100	

Tabulka 12. Limit detekce: DNA plazmidy HPV

Cíl	Testovaná hladina kopií	Počet vzorků	FN	% poz.	Dolní 1stranný 95% CI	Souhrnný prům. Ct	Sm. odch. Ct
HPV 35	15	60	0	100	95,1%	33,9	0,426
HPV 39	20	60	0	100	95,1%	36,5	0,352
HPV 45	10	100	0	100	97,0%	35,6	0,533
HPV 51	10	100	0	100	97,0%	35,1	0,587
HPV 52	15	60	0	100	95,1%	34,7	0,543
HPV 56	15	101	0	100	97,1%	36,6	0,525
HPV 58	20	60	0	100	95,1%	33,7	0,412
HPV 59	10	100	0	100	97,0%	35,1	0,618
HPV 66	30	60	0	100	95,1%	36,6	0,33
HPV 68	15	100	0	100	97,0%	36,9	0,445
HPV 16	10	100	0	100	97,0%	35,1	0,559
HPV 18	10	141	1	99,3	96,7%	35,9	0,585
HPV 31	10	100	0	100	97,0%	34,2	0,529
HPV 33	10	100	0	100	97,0%	35,0	0,642

18 Preciznost a reprodukovatelnost testu

Přesnost a reprodukovatelnost testu Xpert HPV byly hodnoceny ve 12denní multicentrické studii, ve které dva operátoři na každém ze tří pracovišť zaslepeně testovali dvakrát denně 16členný panel přesnosti. Panel byl tvořen jak umělými vzorky (kultivovanými buňkami obsahujícími různé typy HPV v pozadí kultivovaných buněk neobsahujících HPV), tak sloučenými klinickými vzorky v roztoku PreservCyt. Každé pracoviště používalo jinou konfiguraci systému GeneXpert (jedno pracoviště používalo pouze systémy GX IV, jedno pracoviště používalo systém GX XVI a jedno pracoviště používalo systém Infinity 80). Tři šarže testu HPV byly použity pro každé čtyřdenní období studijního testování. Na konci studie byl každý člen panelu přesnosti vyhodnocený 144krát. Data jsou shrnuta podle kanálu testu, který je vyjádřen jako 16 pro kanál HPV 16, 18/45 pro kanál HPV 18 a HPV 45, 31 pro kanál HPV 31 a dalších typů, 51 pro kanál HPV 51 a HPV 59 a 39 pro kanál HPV 39 a dalších typů. Viz Tabulka 13 a Tabulka 14.

Tabulka 13. Přesnost a reprodukovatelnost testu Xpert HPV: Popis panelu a pozitivní shoda ^{a, b}

Vzorek (cíl a relativní koncentrace)	Kanál testu	Pracoviště 1		Pracoviště 2		Pracoviště 3		Celková shoda
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
Umělý vzorek (HPV 16 vysoce negativní)	16	83,3% (20/24)	91,7% (22/24)	87,5% (21/24)	82,6% (19/23)	100% (23/23)	83,3% (20/24)	88,0% (125/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)

Vzorek (cíl a relativní koncentrace)	Kanál testu	Pracoviště 1		Pracoviště 2		Pracoviště 3		Celková shoda
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
Umělý vzorek (HPV 16 níže pozitivní)	16	87,5% (21/24)	95,7% (22/23)	95,8% (23/24)	100% (23/23)	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	95,1% (135/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
Umělý vzorek (HPV 16 mírně pozitivní)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	99,3% (140/141)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
Umělý vzorek (HPV 18 vysoce negativní)	16	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	18/45	83,3% (20/24)	86,4% (19/22)	79,2% (19/24)	87,5% (21/24)	95,8% (23/24)	91,7% (22/24)	87,3% (124/142)
	31	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)

Vzorek (cíl a relativní koncentrace)	Kanál testu	Pracoviště 1		Pracoviště 2		Pracoviště 3		Celková shoda
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
	39	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
Umělý vzorek (HPV 18 níže pozitivní)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (23/24)	91,7% (22/24)	100% (24/24)	96,5% (139/144)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
Umělý vzorek (HPV 18 mírně pozitivní)	16	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	18/45	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	31	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	51	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	39	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
Umělý vzorek (HPV 68 vysoce negativní)	16	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	18/45	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	31	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	51	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	39	90,9% (20/22)	95,5% (21/22)	100% (24/24)	91,3% (21/23)	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	93,5% (130/139)

Vzorek (cíl a relativní koncentrace)	Kanál testu	Pracoviště 1		Pracoviště 2		Pracoviště 3		Celková shoda
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
Umělý vzorek (HPV 68 níže pozitivní)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	39	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	100% (23/23)	87,0% (20/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	96,5% (136/141)
Umělý vzorek (HPV 68 mírně pozitivní)	16	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	18/45	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	99,3% (141/142)
Umělý vzorek (HPV 16/45/68 níže pozitivní)	16	100% (24/24)	100% (23/23)	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	95,7% (22/23)	100% (24/24)	97,9% (139/142)
	18/45	87,5% (21/24)	95,7% (22/23)	79,2% (19/24)	87,5% (21/24)	95,7% (22/23)	95,8% (23/24)	90,1% (128/142)
	31	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	99,3% (141/142)
	39	91,7% (22/24)	95,7% (22/23)	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	95,7% (22/23)	95,8% (23/24)	93,7% (133/142)
Umělý vzorek (negativní)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)

Vzorek (cíl a relativní koncentrace)	Kanál testu	Pracoviště 1		Pracoviště 2		Pracoviště 3		Celková shoda
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
Sloučený klinický vzorek (HPV 16, HPV 31)	16	50,0% (12/24)	20,8% (5/24)	33,3% (8/24)	18,2% (4/22)	8,3% (2/24)	20,8% (5/24)	25,4% (36/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	20,8% (5/24)	41,7% (10/24)	37,5% (9/24)	50,0% (11/22)	20,8% (5/24)	33,3% (8/24)	33,8% (48/142)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
Sloučený klinický vzorek (HPV 18, HPV 39)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	18/45	16,7% (4/24)	20,8% (5/24)	41,7% (10/24)	25,0% (6/24)	12,5% (3/24)	20,8% (5/24)	22,9% (33/144)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	39	4,2% (1/24)	4,2% (1/24)	0% (0/24)	8,3% (2/24)	0% (0/24)	0% (0/24)	2,8% (4/144)
Sloučený klinický vzorek (HPV 42, HPV 51, HPV 59)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	99,3% (142/143)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (143/143)

Vzorek (cíl a relativní koncentrace)	Kanál testu	Pracoviště 1		Pracoviště 2		Pracoviště 3		Celková shoda
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (143/143)
	51	25,0% (6/24)	33,3% (8/24)	29,2% (7/24)	34,8% (8/23)	12,5% (3/24)	16,7% (4/24)	25,2% (36/143)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (143/143)
Sloučený klinický vzorek (HPV 52)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
	31	20,8% (5/24)	41,7% (10/24)	33,3% (8/24)	41,7% (10/24)	8,7% (2/23)	30,4% (7/23)	29,6% (42/142)
	51	95,8% (23/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
Sloučený klinický vzorek (negativní)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)

a Shoda pro negativní a vysoce negativní vzorky je uvedena jako % negativních; shoda pro nízké a mírně pozitivní vzorky je uvedena jako % pozitivních.

b Studie obsahovala celkem 34 neurčitých výsledků: HPV 16 vysoce neg. (2); HPV 16 nízké poz. (2); HPV 18 mírně poz. (3); HPV 18 vysoce neg. (3); HPV 18 mírně poz. (3); HPV 68 vysoce neg. (5); HPV 68 nízké poz. (3); HPV 68 mírně poz. (2); HPV 16, 45, 68 (2); CP negativní (4); HPV 16, 31 (2); HPV 42, 51, 59 (1); HPV 52 (2); PC negativní (2).

Tabulka 14. Reprodukovatelnost testu Xpert HPV: Variabilita Ct pro členy panelu^a

Vzorek (cíl a relativní koncentrace)	Kanal testu (specifický analyt)	n ^b	Střední hodnota Ct	Mezi pracovišti		Mezi operátory		Mezi šaržemi		Mezi dny		V rámci testu		Celkem	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Umělý vzorek (HPV 16 vysoce negativní)	16 (16)	12	38,4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Umělý vzorek (HPV 16 níže pozitivní)	16 (16)	135	35,4	0	0	0,605	1,7	0,425	1,2	0	0	1,003	2,8	1,246	3,5
Umělý vzorek (HPV 16 mírně pozitivní)	16 (16)	140	34,0	0	0	0,288	0,8	0,211	0,6	0	0	0,972	2,9	1,036	3,0
Umělý vzorek (HPV 18 vysoce negativní)	18/45 (18)	22	39,2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Umělý vzorek (HPV 18 níže pozitivní)	18/45 (18)	139	35,9	0	0	0,408	1,1	0,414	1,2	0	0	1,149	3,2	1,287	3,6
Umělý vzorek (HPV 18 mírně pozitivní)	18/45 (18)	140	34,1	0	0	0	0	0,430	1,3	0,170	0,5	1,049	3,1	1,146	3,4
Umělý vzorek (HPV 68 vysoce negativní)	39 (68)	116	39,5	0	0	0,811	2,1	0,296	0,7	0	0	1,025	2,6	1,340	3,4
Umělý vzorek (HPV 68 níže pozitivní)	39 (68)	141	36,2	0,055	0,2	0,362	1,0	0,099	0,3	0,265	0,7	0,703	1,9	0,843	2,3
Umělý vzorek (HPV 68 mírně pozitivní)	39 (68)	142	34,7	0	0	0,060	0,2	0,196	0,6	0	0	0,789	2,3	0,815	2,3
Umělý vzorek (HPV 16/45/68 níže pozitivní)	16 (16)	140	35,4	0,042	0,1	0,497	1,4	0,124	0,4	0	0	1,171	3,3	1,278	3,6
	18/45 (45)	133	37,2	0	0	0	0	0,454	1,2	0	0	1,586	4,3	1,649	4,4
	39 (68)	141	36,4	0,056	0,2	0	0	0	0	0,280	0,8	0,876	2,4	0,922	2,5
Umělý vzorek (negativní)	Negativní (HMBS)	140	28,9	0,126	0,4	0,323	1,1	0,115	0,4	0	0	0,714	2,5	0,802	2,8
Sloučený klinický vzorek (HPV 16, HPV 31)	16 (16)	41	37,5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	31 (31)	97	38,2	0	0	0	0	0,356	0,9	0,453	1,2	1,411	3,7	1,524	4,0
Sloučený klinický vzorek (HPV 18, HPV 39)	18 (16)	47	39,7	0,643	1,6	0	0	0	0	1,148	2,9	1,388	3,5	1,913	4,8
	39 (39)	61	39,8	0	0	0,741	1,9	0	0	0	0	1,197	3,0	1,408	3,5
Sloučený klinický vzorek (HPV 42, HPV 51, HPV 59)	Nestanoveno (42)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	51 (51)	92	38,9	0,452	1,2	0	0	0	0	0,088	0,2	1,348	3,5	1,424	3,7
	59 (59)	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Sloučený klinický vzorek (HPV 52)	31 (52)	82	38,2	0,307	0,8	0	0	0	0	0	0	2,738	7,2	2,756	7,2
Sloučený klinický vzorek (negativní)	Negativní (HMBS)	142	33,3	0,132	0,4	0	0	0,559	1,7	0	0	0,876	2,6	1,047	3,1

^a NA (neuplatňuje se) značí nedostatek kontinuálních dat pro provedení analýzy ANOVA.^b Výsledky s nenulovými hodnotami Ct ze 144.

19 Analytická specifita

Testem Xpert HPV byl otestován panel 47 mikroorganismů, včetně bakterií, plísní a virů, které se běžně vyskytují v ženském urogenitálním traktu, a 12 blízce příbuzných typů lidského papilomaviru. Všechny organismy byly přidány do HPV negativních buněk (C33A) v roztoku PreservCyt a do HPV negativních buněk obohacených HPV 16 pozitivními buňkami (SiHa) na trojnásobek limitu detekce. Organismy a testované koncentrace uvádí Tabulka 15. Analytická specifita byla 100 % a žádný z organismů neinterferoval s detekcí HPV 16.

Tabulka 15. Panel analytické specifity

Organismus	Testovaná koncentrace	Organismus	Testovaná koncentrace
<i>Bacteriodes fragilis</i>	1 × 10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 × 10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	3 × 10 ⁶ CFU/ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1 × 10 ⁸ CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 × 10 ⁶ CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	4 × 10 ⁶ buněk/ml	Adenovirus	1 × 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml
<i>Candida glabrata</i>	1 × 10 ⁸ buněk/ml	Cytomegalovirus (CMV)	1 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 × 10 ⁸ EB ^a /ml	Virus Epstein-Barr (EBV)	1 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	3 × 10 ⁷ CFU/ml	Virus hepatitidy B (HBV)	3,6 × 10 ⁶ IU/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1 × 10 ⁷ buněk/ml	Virus hepatitidy C (HCV)	7,62 × 10 ² IU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 × 10 ⁸ CFU/ml	Virus lidské imunodeficiency 1 (HIV-1)	1 × 10 ⁶ kopii/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 × 10 ⁸ CFU/ml	Virus herpes simplex 1 (HSV-1)	1 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Escherichia coli</i>	1 × 10 ⁸ CFU/ml	Virus herpes simplex 2 (HSV-2)	1 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	8,7 × 10 ⁷ CFU/ml	Lidský papilomavirus (HPV) 6	1,25 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 × 10 ⁸ CFU/ml	HPV 11	1,25 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 × 10 ⁷ buněk/ml	HPV 26	1,25 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 × 10 ⁷ buněk/ml	HPV 30	1,25 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	1 × 10 ⁷ buněk/ml	HPV 34	1,25 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	3 × 10 ⁷ CFU/ml	HPV 53	1,25 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 × 10 ⁸ CFU/ml	HPV 67	1,25 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1 × 10 ⁸ CFU/ml	HPV 69	1,25 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Proteus mirabilis</i>	1 × 10 ⁸ CFU/ml	HPV 70	1,25 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Proteus vulgaris</i>	1 × 10 ⁸ CFU/ml	HPV 73	1,25 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 × 10 ⁸ CFU/ml	HPV 82	1,25 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 × 10 ⁸ CFU/ml	HPV 85	1,25 × 10 ⁷ kopii/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3 × 10 ⁶ CFU/ml		

^a Elementární tělíska.

20 Interferující látky

Potenciálně interferující endogenní a exogenní látky, které mohou být přítomny ve vzorcích děložního čípku, byly hodnoceny ve vztahu k účinnosti testu Xpert HPV. Látky byly samostatně zředěny do HPV negativních buněk obohacených HPV 16 pozitivními buňkami (SiHa) na trojnásobek limitu detekce. Látky a testované koncentrace uvádí Tabulka 16. Byla pozorována interference s plnou krví (0,25 % obj./obj.) v testovaném vzorku, ale ne s žádnými dalšími endogenními látkami při daných testovaných koncentracích. Interference nebyla pozorována s žádnými exogenními látkami při daných testovaných koncentracích, kromě krému Vagisil proti svědění (0,25 % hm./obj.) a zvlhčujícího gelu Vagi Gard (0,5 % hm./obj.). Husté krémy přítomné v testovaném vzorku při koncentracích vyšších než 0,25 % hm./obj. mohou způsobovat přerušení analýzy z důvodu tlaku.

Tabulka 16. Potenciálně interferující látky

Látka	Koncentrace
Plná krev	0,25% obj./obj.
Hlen	0,15 % obj./obj.
Leukocyty (PBMČ)	1 × 10 ⁵ buněk/ml
Krém Vagisil proti svědění	0,25 % hm./obj.
Vaginální krém Clotrimazol	0,25 % hm./obj.
Krém na hemeroidy Preparation H	0,25 % hm./obj.
Mikonazol 3	0,25 % hm./obj.
Monistat 1	0,25 % hm./obj.
Krém Zovirax na opary	0,25 % hm./obj.
Zvlhčující přípravek Vagisil	10% hm./obj.
Zvlhčující gel Vagi-Gard	0,5% hm./obj.
Osobní lubrikant KY Jelly	10% hm./obj.
Výplach Yeast Gard	10% obj./obj.
Vaginální antikoncepční pěna Delfen	10% hm./obj.
Výplach VH Essentials s léčivou přísadou povidon-jódem	10% obj./obj.
Ženské deodorační čípky Norforms	10% hm./obj.

21 Kontaminace z přenosu

Byla provedena studie, jejímž účelem bylo prokázat, že jednorázové soběstačné kazety GeneXpert zabraňují kontaminaci negativních vzorků přenosem, když jsou testovány po velmi vysoce pozitivních vzorcích ve stejném modulu GeneXpert. Studie byla tvořena negativním vzorkem zpracovaným ve stejném modulu GeneXpert ihned po velmi vysoce HPV 16 pozitivním vzorku (dostatečně vysokém na to, aby přesahoval 95 % výsledků získaných ze vzorků nemocných pacientů v cílové populaci). Toto schéma testování bylo zopakováno 20krát na dvou modulech GeneXpert, celkem tedy 42 cyklů, což mělo za následek 20 pozitivních a 22 negativních vzorků. Všechny 20 pozitivních vzorků bylo správně ohlášeno jako HPV 16 pozitivní a všechny 22 negativních vzorků bylo správně ohlášeno jako HPV negativní.

22 Literatura

1. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999; 189(1):12-19.
2. Division of STD Prevention (1999). Prevention of genital HPV infection and sequelae: report of an external consultants' meeting. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention. Retrieved January 4, 2012.
3. Kjaer SK, van den Brule AJC, Paull G, et al. 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.* 2002; 325(7364): 572-579.
4. De Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al. 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet.* 2010; 11(11): doi:10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
5. Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, Snijders PJF, Clifford GM. 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.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. (Viz poslední vydání.)
7. CLSI Publication M29. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. (Viz poslední vydání.)
8. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 48th Edition. 2007.
9. Přehled pokynů pro bezpečné zacházení, NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1272/2008 ze dne 16. prosince 2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, o změně a zrušení směrnic 67/548/EHS a 1999/45/ES (o změně nařízení (ES)).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012)(29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
11. Coleman DV, Chapman, PA. Preparatory techniques. In *Clinical Cytopathology*. London: Butterworths, 1989: 54.
12. Yam LT, Janckila AJ. A simple method of preparing smears from bloody effusions for cytodiagnosis. *Acta Cytol.* 1983; 27(2):114-118.
13. Bahr GF. Some considerations of basic cell chemistry. In *Compendium on Cytopreparative Techniques*. Tutorials of Cytology. 1974; 3rd Edition: 1.

23 Sídlo společnosti Cepheid

Podniková centrála

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192

www.cepheid.com

24 Technická pomoc

Dříve, než kontaktujete technickou podporu společnosti Cepheid, připravte si následující informace:

- Název produktu
- Číslo šarže
- Sériové číslo přístroje
- Chybová hlášení (pokud je to relevantní)
- Verze softwaru a (pokud je to relevantní) číslo servisního štítku počítače

Technická podpora pro Spojené státy

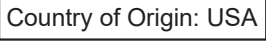
Telefon: + 1 888 838 3222 E-mail: techsupport@cepheid.com

Technická podpora pro Francii

Telefon: + 33 563 825 319 E-mail: support@cepheideurope.com

Kontaktní informace pro všechny kanceláře technické podpory společnosti Cepheid jsou dostupné na našem webu:
www.cepheid.com/en/support/contact-us.

25 Tabulka značek

Symbol	Význam
	Katalogové číslo
	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku <i>in vitro</i>
	Nepoužívat opětovně
	Kód šarže
	Čtěte návod k použití
	Upozornění
	Výrobce
	Země výroby
	Obsahuje dostatečné množství pro <i>n</i> testů
	Kontrola
	Datum expirace
	Označení CE – Evropská shoda
	Teplotní limit
	Biologická rizika
	Varování
	Zplnomocněný zástupce ve Švýcarsku
	Dovozce
	Země původu: Švédsko
	Země původu: Spojené státy americké



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



26 Historie revizí

Oddíl	Popis změny
Souhrn a vysvětlení	Odstraněn obsah specifický pro UKCA.
Dodaný materiál	Byl objasněn živočišný původ proteinového stabilizátoru použitého v produktu.
Test/reagencie	Odstraněn obsah specifický pro UKCA.
Chemická nebezpečí	Odstraněn obsah specifický pro UKCA.
Kontrola kvality	Oprava překlepu.
Interpretace výsledků	Opravena poznámka za tabulkou 1, aby odkazovala na testy.
Klinická účinnost	Odstraněn obsah specifický pro UKCA v textu za tabulkou 5. Aktualizovány tabulky 6, 7, 8, 9 a 10, aby byly v souladu s revidovanou zprávou o klinické studii R082B.
Analytická specifita	Opraveno formátování v tabulce 15.
Sídlo společnosti Cepheid	Odstraněna adresa evropského ústředí.
Technická pomoc	Odstraněn obsah specifický pro UKCA.
Tabulka symbolů	Přidány symboly pro zemi původu: Švédsko a Spojené státy americké. Aktualizovali jsme symboly podle normy EN ISO 15223:1-2021.