

Aptima™ HPV Assay (Panther™ System)

Bruksanvisning
For *in vitro*-diagnostikk
Kun til eksport fra USA

Allmenn informasjon	2
Beregnet bruk.	2
Oppsummering og forklaring på testen	2
Prinsipper for prosedyren	3
Sammendrag av sikkerhet og ytelse	4
Advarsler og forholdsregler	4
Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser	6
Oppsamling og oppbevaring av prøver	7
Panther System	9
Reagenser og materialer som følger med	9
Materialer som er nødvendige, men leveres separat	10
Alternative materialer	11
Testprosedyre for Panther System	11
Prosedyremerknader	13
Kvalitetskontrollprosedyrer	14
Testtolking	15
Begrensninger	16
Forventede resultater for Panther System: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA	17
Populasjonen ASC-US ≥ 21 år: Klinisk ytelse av Aptima HPV Assay	20
Bibliografi	47
Kontaktinformasjon og revisjonshistorikk	49

Allmenn informasjon

Beregnet bruk

Aptima HPV assay er en målampifiserende nukleinsyre-probetest for *in vitro* kvalitativ deteksjon av E6/E7 viralt budbringer-RNA (messenger RNA, mRNA) fra 14 høyrisiko typer av humant papillomavirus (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Aptima HPV assay skjeler ikke mellom de 14 høyrisikotypene.

- Aptima HPV assay indiseres til bruk ved screening av pasienter med ASC-US (atypiske skvamøse celler av ubestemt signifikans), Pap-test gir resultater til å bestemme behovet for henvisning til kolposkopi. Resultatene av denne testen er ikke beregnet til å forhindre kvinner fra å gå videre med kolkoskopi.
- Aptima HPV assay kan brukes med cervikal cytology for å samtidig screene (samteste/co-teste) for å vurdere tilstedeværelse eller fravær av høyrisiko HPV-typer. Denne informasjonen, i tillegg til legens vurdering av cytologihistorikk, andre risikofaktorer og profesjonelle retningslinjer, kan brukes til å veilede pasienthåndtering.
- Aptima HPV assay kan brukes som en første primær screeningstest, med eller uten cervikal cytologi, for å identifisere kvinner som er utsatt for utvikling av livmorhalskreft eller tilstedeværelse av høygradig sykdom. Denne informasjonen, i tillegg til legens vurdering av pasientens screeninghistorikk, andre risikofaktorer og profesjonelle retningslinjer, kan brukes til å veilede pasienthåndtering.

Aptima HPV-assayet kan brukes til å teste følgende prøvetyper på Panther-systemet: cervikale prøver innsamlet i ThinPrep™ Pap-hetteglass som inneholder PreservCyt™ Solution før og etter Pap-prosessering, cervikale prøver innsamlet med Aptima cervikal prøveinnsamling og transportsett eller cervikale prøver innsamlet i SurePath-konserveringsvæske.

Oppsummering og forklaring på testen

Livmorhalskreft er en av de mest vanlige kvinnelige kreftypene i verden. HPV er den etiologiske agensen som er ansvarlig for over 99 % av alle tilfeller av livmorhalskreft.^{1, 2, 3} HPV er et vanlig seksuelt overførbart DNA-virus som består av over 100 genotyper.¹

HPV-virusgenomet er en dobbeltrådet, sirkulær DNA, med en lengde på omtrent 7900 basepar. Genomet har åtte overlappende åpne leserammer. Det er seks tidlige (E) gener, to sene (L) gener og én ikke-oversatt lang kontrollregion. L1- og L2-genene koder store og mindre kapsidproteiner. Tidlige gener regulerer HPV-virusreplikasjon. E6- og E7-genene fra høyrisiko HPV-genotyper er kjente onkogener. Proteiner uttrykt fra E6/E7 polycistronisk mRNA, endrer cellulær p53 og retinoblastom protein-funksjoner som fører til forstyrrelse i kontrollpunktene i celledyklusen og ustabilitet i cellegenomet.^{6, 5}

Fjorten HPV-genotyper anses som patogene eller har høy risiko for cervikal sykdom.⁵ Flere studier har genotyper 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 og 68 som er koblet til sykdomsprogresjon.^{2, 6, 7} Kvinner med en persistent infeksjon med en av disse typene har økt risiko for å utvikle alvorlig dysplasi eller livmorhalskreft.^{5, 8}

HPV-infeksjoner er svært vanlig, og de fleste kvinner blir kvitt HPV-infeksjon i løpet av 6 til 12 måneder.^{4, 2} Tilstedeværelsen av HPV-nukleinsyre betyr ikke nødvendigvis at det finnes dysplasi eller kreft i livmorhalsen. Imidlertid er en effektiv metode for deteksjon av sykdom i livmorhalsen å fokusere på de onkogeniske elementene i HPV som fostrer persistent virusinfeksjon og celletransformasjon.³

Aptima HPV Assay klinisk ytelse i primær screening av livmorhalskreft

Den kliniske ytelsen til Aptima HPV-assayet når det brukes i en primær screening-modalitet, har blitt forsket i flere studier av uavhengige etterforskere. Minst 25 publikasjoner som har blitt gjennomgått av kolleger¹¹⁻³⁵ fra 15 separate kliniske studier, rapporterte ytelsen til Aptima HPV ved primær screening hos kvinner innmeldt i elleve land (Kina, Canada, Frankrike, Mexico, England, Danmark, Nederland, USA, Tyskland, Sverige og Thailand). Dataene fra disse studiene viser at Aptima HPV har lignende klinisk ytelse sammenlignet med andre klinisk validerte HPV-tester når brukt ved primær screening for cervikal precancer og cancer.

Prinsipper for prosedyren

Aptima HPV assay involverer tre hovedtrinn, som finner sted i ett enkelt rør: målinnfanging, mål-amplifisering med transkripsjonsmediert amplifikasjon (Transcription-Mediated Amplification, TMA),⁴² og deteksjon av amplifikasjonsproduktene (amplikon) med hybridiseringsvernanalyse (Hybridization Protection Assay, HPA).⁴³ Analysen innbefatter en internkontroll (Internal Control, IC) for å overvåke innfanging, amplifisering og deteksjon av nukleinsyre så vel som operatør- eller instrumentfeil.

Prøvene oppsamles i eller overføres til et rør som inneholder prøvetransportmiddel (Specimen Transport Media, STM) som lyserer cellene, frigjør mRNA og beskytter det mot nedbryting under oppbevaring. Når Aptima HPV assay utføres, blir mål-mRNA isolert fra prøven ved hjelp av oppfangete oligomere som er koblet til magnetiske mikropartikler. De oppfangete oligomerne inneholder sekvenser som er komplementære til spesifikke regioner på HPV mRNA-målmolekylene, i tillegg til en streng av deoksyadenosin-rester. På hybridiseringstrinnet binder de sekvensspesifikke regionene på de oppfangete oligomerene seg til spesifikke regioner på HPV mRNA-målmolekylene. Det oppfangete oligomer:målmolekylet blir deretter oppfanget fra løsningen ved å redusere temperaturen på reaksjonen til romtemperatur. Denne temperaturreduksjonen medfører at det oppstår hybridisering mellom deoksyadenosin-regionen på det oppfangete oligomeret, og polydeoksytymidin-molekylene som er kovalent festet til de magnetiske partiklene. Mikropartiklene, inkludert de oppfangete HPV mRNA-målmolekylene bundet til dem, trekkes til side av reaksjonsrøret ved hjelp av magneter og supernatanten aspireres. Partiklene vaskes for å fjerne resterende prøvematrix som kan inneholde amplifiseringsinhibitorer.

Etter at målinnfangingen er ferdig, blir HPV mRNA amplifisert ved hjelp av TMA, som er en transkripsjonsbasert nukleinsyre-amplifiseringsmetode som bruker to enzymer, MMLV revers transkriptase og T7 RNA polymerase. Revers transkriptase brukes til å generere en DNA-kopi av mål-mRNA-sekvensen som inneholder en promotersekvens for T7 RNA polymerase. T7 RNA polymerase produserer flere kopier av RNA-amplikon fra DNA-kopimalen.

Deteksjon av amplikon oppnås ved at HPA bruker enkelttrådede nukleinsyreprober med kjemiluminescente etiketter som er komplementære til amplikonet. De merkede nukleinsyreprobene hybridiserer spesifikt til amplikonet. Valgt reagens differensierer mellom hybridiserte og uhybridiserte prober ved å inaktivere etiketten på de uhybridiserte probene. Under deteksjonstrinnet blir lys som avgis fra de merkede RNA:DNA-hybridene målt som foton signaler kalt relative lysenheter (Relative Light Units, RLU) i et luminometer. De endelige analyseresultatene tolkes basert på analyttens signal-til-cuttoff (S/CO).

IC (Internal Control – internkontroll) legges til hver reaksjon via målinnfangingsreagensen. Internkontrollen overvåker trinnene for målinnfanging, -amplifisering og -deteksjon i analysen. Signalet for internkontrollen i hver reaksjon skjernes fra HPV-signalet gjennom differensialkinetikk av lysemisjoner fra prober med forskjellige etiketter.⁴⁴ Amplikon som er spesifikt for internkontrollen detekteres ved bruk av en probe med rask emisjon av lys (flasher). Amplikonet som er spesifikt for HPV detekteres med prober med relativt langsommere lysemisjonskinetikk (glower). Dobbel kinetisk analyse (Dual Kinetic Assay, DKA) er en metode som brukes til å differensiere mellom signaler fra flasher- og glower-etikettene.⁴⁴

Sammendrag av sikkerhet og ytelse

SSP (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) er tilgjengelig i den europeiske databasen om medisinsk utstyr (Eudamed), som er koblet til utstyrsidentifikatorene (Basic UDI-DI). Se BUDI (Basic Unique Device Identifier) for å finne SSP (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) for Aptima HPV: **54200455DIAGAPTHPVBR**.

Advarsler og forholdsregler

- A. Til bruk ved *in vitro*-diagnose.
- B. Til bruk av fagfolk.
- C. Se håndbøker for Panther-/Panther Fusion-systemet for å finne flere spesifikke advarsler og forholdsregler.

Laboratorierelatert

- D. Bruk bare levert eller spesifisert engangs laboratorievare.
- E. Bruk rutinemessige forholdsregler for laboratoriet. Ikke spis, drikk eller røyk i utpekte arbeidsområder. Bruk engangs pulverfrie hansker, vernebriller og laboratoriefrakker ved håndtering av prøver og settreagenser. Vask hendene grundig etter å ha håndtert prøver og settreagenser.
- F. **Advarsel: Irritanter og etsende stoffer:** Påse at Auto Detect 2 ikke kommer i kontakt med hud, øyne og slimhinner. Hvis denne væsken kommer i kontakt med hud eller øyne, skal disse stedene vaskes med vann. Fortynn eventuelt væskesøl med vann før du tørker det opp.
- G. Arbeidsflater, pipetter og annet utstyr skal jevnlig dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. Se *Testprosedyre for Panther System* for mer informasjon.

Prøverelatert


- H. Oppretthold riktige temperaturforhold under prøvetransport og -oppbevaring for å sikre prøvens integritet. Prøvestabiliteten har ikke blitt evaluert under andre transport- og oppbevaringsforhold enn de som er anbefalt.
- I. Utløpsdatoene på prøveoppsamling/overføringssettene og rørene gjelder oppsamlings-/overførings-stedet og ikke testingsinstitusjonen. Prøver som er oppsamlet/overført før disse utløpsdatoene er gyldige for testing, forutsatt at de har blitt transportert og oppbevart i samsvar med det aktuelle pakningsvedlegget, selv om disse utløpsdatoene er passert.
- J. Prøver kan være smittsomme. Bruk generelle forholdsregler ved utførelsen av denne analysen. Riktig håndterings- og avhendingsmetoder skal opprettes av laboratorielederen. Bare personell som har tilfredsstillende opplæring i håndtering av smittsomt materiale skal ha tillatelse til å utføre denne prosedyren.
- K. Unngå krysskontaminasjon under håndteringen av prøven. Sørg for at prøvebeholderne ikke kommer i kontakt med hverandre, og kast brukt materiale slik at det ikke holdes/føres over åpne beholdere. Bytt hansker hvis de kommer i kontakt med prøven.
- L. Når det lages et hull, kan det komme noe væske fra hettene under visse forhold. Se *Testprosedyre for Panther System* for mer informasjon.

- M. ThinPrep flytende cytologiprøver og livmorhalsprøver oppsamlet for transport (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) skal ikke brukes hvis en oppsamlingsenhet ligger igjen i prøverøret.
- N. SurePath flytende cytologiprøver skal ikke brukes hvis det ikke finnes en oppsamlingsenhet i ampullen.

Analysereelatert

- O. Oppbevar reagensene ved angitte temperaturer. Utførelsen av analysen kan bli påvirket ved feil oppbevaring av reagenser.
- P. Unngå mikrobisk og ribonuklease-kontaminering av reagenser.
- Q. Ikke bruk settet etter utløpsdatoen.
- R. Ikke veksle, bland eller kombiner analysereagenser eller kalibratorer fra sett med forskjellig partinummer.
- S. Aptima-assayvæsker og Aptima Auto Detect-reagenser er ikke en del av hovedpartiet. Hvilket som helst parti kan brukes.
- T. Det er nødvendig å blande analysereagensene grundig for å få nøyaktige analyseresultater.
- U. Spisser med vannavvisende plugg må brukes.
- V. Noen av reagensene i dette settet er merket med risiko- og sikkerhetssymboler.

Merknad: Farekommunikasjon avspeiler klassifikasjonene i EUs sikkerhetsdatablad (SDS). For informasjon om kommunikasjon av farer som gjelder spesifikt for din region, se det regionsspesifikke Safety Data Sheet Library (HMS-biblioteket) på www.hologic.com/sds. Se symbolforklaringen på <https://www.hologic.com/package-inserts> for å finne ytterligere informasjon om symbolene.

EU fareinformasjon	
	<p>Utvalgsreagens BORSYRE 1–5 %</p> <p>ADVARSEL H315 – Irriterer huden H319 – Gir alvorlig øyeirritasjon</p>
—	<p>Målinnfangingsreagens HEPES 5–10 % EDTA 1–5 % Litiumhydroksid, monohydrat 1–5 %</p> <p>—</p> <p>H412 – Skadelig med langtidsvirkning for liv i vann P273 – Unngå utslipp til miljøet P280 – Benytt vernebriller/ansiktsskjerm</p>
—	<p>Amplifikasjonsreagens HEPES 25–30 %</p> <p>—</p> <p>H412 – Skadelig med langtidsvirkning for liv i vann P273 – Unngå utslipp til miljøet P280 – Benytt vernebriller/ansiktsskjerm</p>

—	—	Enzymreagens <i>HEPES 1–5 %</i>
		H412 – Skadelig med langtidsvirkning for liv i vann P273 – Unngå utslipp til miljøet P280 – Benytt vernebriller/ansiktsskjerm
—	—	Probereagens <i>LAURYL SULFAT LITIUMSALT 35–40 %</i> <i>RAVSYRE 10–15 %</i> <i>LITIU MHYDROKSID MONOHYDRAT 10–15 %</i>
		H412 – Skadelig med langtidsvirkning for liv i vann P273 – Unngå utslipp til miljøet P280 – Benytt vernebriller/ansiktsskjerm

Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser

Ikke bruk reagenser etter utløpsdatoen som står på ampullene. Se nedenfor for flere oppbevaringsinstruksjoner.

A. Følgende reagenser skal oppbevares ved 2 °C til 8 °C (i kjøleskap) ved mottak:

- HPV amplifiseringsreagens
- HPV enzymreagens
- HPV probereagens
- HPV internkontrollreagens
- HPV positive kalibratorer og negative kalibratorer

B. Følgende reagenser skal oppbevares ved 15 °C til 30 °C (romtemperatur):

- HPV amplifiseringsrekonstitusjonsløsning
- HPV enzymrekonstitusjonsløsning
- HPV proberekonstitusjonsløsning
- HPV målinnfangingsreagens
- HPV valgreagens

C. Etter rekonstituering er følgende reagenser stabile i 30 dager når de oppbevares ved 2 °C til 8 °C:

- HPV amplifiseringsreagens
- HPV enzymreagens
- HPV probereagens

D. Arbeidsmålinnfangingsreagensen (working Target Capture Reagent, wTCR) er stabil i 30 dager når den oppbevares ved 15 °C til 30 °C. Skal ikke kjøles.

E. Kasser eventuelle ubrukte rekonstituerte reagenser og wTCR etter 30 dager eller etter hovedpartiets utløpsdato, det som kommer først gjelder.

F. Aptima HPV-assayreagensene er stabile i en samlet periode på 72 timer når de oppbevares på Panther-systemet.

G. Probereagensen og rekonstituert probereagens er lysfølsomme. Oppbevar reagensene beskyttet mot lys.

H. **Reagensene skal ikke fryses.**

Oppsamling og oppbevaring av prøver

A. Prøveoppsamling og -behandling

ThinPrep flytende cytologiprøver

1. Cervikale prøver tas i ThinPrep Pap-testhetteglass som inneholder PreservCyt Solution med prøvetakingsenheter av typen kost eller cytobørste/spatel, i henhold til produsentens instruksjoner.
2. Før eller etter prosessering med ThinPrep 2000-prosessoren, ThinPrep 5000-prosessoren, ThinPrep 5000-prosessoren med autoloader eller ThinPrep Genesis-prosessoren overføres 1 ml med ThinPrep væskecytologiprøven til et Aptima-prøveoverføringsrør i henhold til instruksjonene i Aptima-prøveoverføringssettet og i pakningsvedlegget for Aptima-overføringsløsningen.

SurePath flytende cytologiprøver

1. Ta en SurePath flytende cytologiprøve i henhold til bruksanvisningen for SurePath Pap-testen og/eller PrepStain-systemet.
2. Overfør SurePath flytende cytologiprøve til et Aptima-prøveoverføringsrør i henhold til instruksjonene i Aptima-prøveoverføringssettet og i pakningsvedlegget for Aptima-overføringsløsningen.

Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver

Samle opp prøven i henhold til bruksanvisningen for Aptima CSCT-sett.

B. Transport og oppbevaring før testing

ThinPrep flytende cytologiprøver

1. Transporter ThinPrep flytende cytologiprøver ved 2 °C til 30 °C.
2. Prøvene skal overføres til Aptima prøveoverføringsrør innen 105 dager etter oppsamling.
3. Før overføringen skal ThinPrep flytende cytologiprøver oppbevares ved 2 °C til 30 °C, og ikke i mer enn 30 dager ved temperaturer over 8 °C.
4. ThinPrep flytende cytologiprøver overført til et Aptima prøveoverføringsrør kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C i opptil 60 dager.
5. Hvis lenger oppbevaring er nødvendig, kan ThinPrep flytende cytologiprøve eller ThinPrep flytende cytologiprøve fortynnet i prøveoverføringsrøret oppbevares ved -20 °C eller kaldere i opptil 24 måneder.

SurePath flytende cytologiprøver

1. Transporter SurePath flytende cytologiprøver ved 2 °C til 25 °C.
2. Prøvene skal overføres til Aptima prøveoverføringsrør innen 7 dager etter oppsamling.
3. Før overføring skal SurePath flytende cytologiprøver oppbevares ved 2 °C til 25 °C.
4. SurePath flytende cytologiprøver overført til et Aptima prøveoverføringsrør kan oppbevares ved 2 °C til 25 °C i opptil 7 dager.

Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver

1. Transporter og oppbevar prøver ved 2 °C til 30 °C i opptil 60 dager.
2. Hvis lenger oppbevaring er nødvendig, kan transportsettprøver oppbevares ved -20 °C eller kaldere i opptil 24 måneder.

C. Behandling av SurePath flytende cytologiprøve

Merknad: SurePath flytende cytologiprøver må behandles med Aptima overføringsløsning før testing med Aptima HPV assay.

1. Aptima overføringsløsning

Behandlede prøver kan oppbevares ved 2 °C til 8 °C i inntil 17 dager før testing med Aptima HPV-assayet. Se Aptima-prøveroverføringssettet og pakningsvedlegget for Aptima-overføringsløsningen for å finne mer informasjon.

D. Oppbevaring av prøver etter testing

1. Prøver som har blitt analysert må oppbevares stående i et stativ.
2. Prøverør skal dekkes med en ny, ren plast- eller foliebarriere.
3. Hvis analyserte prøver skal fryses eller sendes, skal den gjennomstikkbare hetten fjernes og en ny ugjennomstikkbar hette settes på prøverørene. Hvis prøvene skal sendes til testing på et annet sted, må de angitte temperaturene opprettholdes. Før man tar av hettene på prøver som tidligere har blitt testet og fått hettene satt tilbake på plass, skal prøverørene sentrifugeres i 5 minutter ved 420 relativ sentrifugalkraft (Relative Centrifugal Force, RCF) for å senke all væsken til bunnen på røret.

Merknad: Prøvematerialer må forsendes i tråd med gjeldende nasjonale og internasjonale transportbestemmelser.

Panther System

Reagensene til Aptima HPV assay er oppført nedenfor for Panther System. Identifikasjonssymbolene for reagensene er også oppført ved siden av reagensnavnet.

Reagenser og materialer som følger med

Aptima HPV assay, 250 tester, katalognr. 303093 (3 esker)

Aptima HPV assay, 100 tester, katalognr. 302929 (3 esker)

Kalibratorer kan kjøpes separat. Se de individuelle katalognumrene nedenfor.

Aptima HPV kjøleeske (oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
A	HPV amplifiseringsreagens <i>Ikke-infeksiøse nukleinsyrer tørket i bufret løsning som inneholder < 5 % fyllmiddel.</i>	1 ampulle
E	HPV enzymreagens <i>Revers transkriptase og RNA-polymerase tørket i HEPES bufret løsning som inneholder < 10 % fyllingsreagens.</i>	1 ampulle
P	HPV probereagens <i>Ikke-infeksiøse kjemiluminescente DNA-prober (< 500 ng/ ampulle) tørket i suksinatbufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	1 ampulle
IC	HPV internkontrollreagens <i>Ikke-infeksiøs RNA-transkript i bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	1 ampulle

Aptima HPV romtemperatureske (oppbevares ved romtemperatur, 15 °C til 30 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
AR	HPV amplifiseringsrekonstitusjonsløsning <i>Vannholdig løsning som inneholder konserveringsmidler.</i>	1
ER	HPV enzymrekonstitusjonsløsning <i>HEPES bufret løsning som inneholder overflateaktivt stoff og glyserol.</i>	1
PR	HPV proberekonstitusjonsløsning <i>Suksinatbufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	1
S	HPV valgreagens <i>600 mM boratbufret løsning som inneholder overflateaktivt stoff.</i>	1
TCR	HPV-målinnfangingsreagens <i>Bufret løsning som inneholder fastfase og innfangingsoligomerer (< 0,5 mg/ml).</i>	1
	Rekonstitusjonskrager	3
	Strekkodeark for hovedparti	1 ark

Aptima HPV kalibratoreske (katalognr. 302554)
(oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
PCAL	HPV positiv kalibrator <i>Ikke-infeksiøs HPV 16 in vitro-transkript ved 1000 kopier per ml i en bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	5 ampuller
NCAL	HPV negativ kalibrator <i>Bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	5 ampuller

Materialer som er nødvendige, men leveres separat

Merknad: Materialer tilgjengelige fra Hologic har oppførte katalognumre, med mindre annet er angitt.

Merknad:

Materiale	Kat. nr.
Panther System	303095
Panther System Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Panther Run Kit	303096
<i>Aptima Assay Fluids Kit</i>	303014
<i>(Aptima Wash Solution, Aptima Buffer for Deactivation Fluid, og Aptima Oil Reagent)</i>	
<i>Aptima Auto Detect Kit</i>	303013
<i>Multirørenheter (MTU-er)</i>	104772-02
<i>Panther avfallspose-sett</i>	902731
<i>Panther avfallsbeholder, deksel</i>	504405
Spisser, 1000 µl filtrerte, ledende, væskefølsomme og til engangsbruk	901121 (10612513 Tecan)
<i>Ikke alle produktene er tilgjengelige i alle regioner. Kontakt representanten din for regionspesifikk informasjon</i>	903031 (10612513 Tecan)
	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Aptima Specimen Transfer Kit	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit - kan kopieres	PRD-05110
Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit	302657
Aptima penetrerbare hetter	105668
Ekstra ikke-penetrerbare hetter	103036A
Ekstra hetter til 250-test-settene:	—
<i>Rekonstitusjonsløsninger for amplifikasjonsreagens og probereagens</i>	CL0041
<i>Rekonstitusjonsløsning for enzymreagens</i>	501616
<i>TCR og utvalgsreagens</i>	CL0040
Ekstra hetter til 100-test-settene:	—
<i>Rekonstitusjonsløsninger for amplifikasjonsreagens og probereagens</i>	CL0041
<i>Rekonstitusjonsløsning for enzymreagens</i>	CL0041
<i>TCR og utvalgsreagens</i>	501604
Blekemiddel 5,0 % til 8,25 % (0,7 M til 1,16 M) natriumhypoklorittløsning	—
Engangshansker	—
Aptima Transfer Solution Kit (kun for SurePath-prøver)	303658

Alternative materialer

Materiale	Kat. nr.
Bleach Enhancer for Cleaning	302101

Testprosedyre for Panther System

Merknad: Se håndboken for Panther/Panther Fusion-systemet for mer prosedyreinformasjon om Panther-systemet.

A. Klargjøre arbeidsområdet

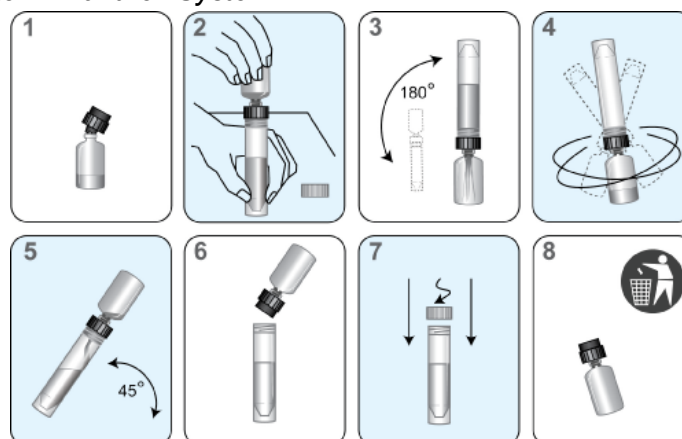
Rengjør arbeidsflater der reagenser og prøver blir tilberedt. Tørk av arbeidsflatene med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La natriumhypoklorittløsningen komme i kontakt med flatene i minst ett minutt og skyll deretter med vann. Pass på at ikke natriumhypoklorittløsningen tørker. Dekk til benkeflatene der reagensene og prøvene skal tilberedes med rene, plastforete, absorberende benkeovertrekk for laboratorier.

B. Reagenstilberedelse med et nytt sett

Merknad: Rekonstitusjon av reagensen skal utføres før noe arbeid på Panther System begynner.

1. For å rekonstituere amplifikasjon-, enzym- og probereagenser blandes flaskene med lyofilisert reagens med rekonstitusjonsløsningen. Hvis de har vært oppbevart i kjøleskap, skal rekonstitusjonsløsningene komme opp til romtemperatur før de brukes.
 - a. Ordne parvis hver rekonstitusjonsløsning med sin lyofiliserte reagens. Sørg for at rekonstitusjonsløsningen og reagensen har samsvarende etikettfarger før rekonstitusjonskragen påsettes.
 - b. Kontroller partinumrene på strekkodearket for hovedpartier for å påse at de riktige reagensene blir ordnet parvis.
 - c. Åpne ampullen med lyofilisert reagens og sett enden med hakket på rekonstitusjonskragen godt inn i ampulleåpningen (figur 1, trinn 1).
 - d. Åpne den tilsvarende rekonstitusjonsløsningen og legg hetten på en ren, tildekket arbeidsflate.
 - e. Mens du holder flasken med løsning på benken, sett den andre enden av rekonstitusjonskragen godt inn i flasken (figur 1, trinn 2).
 - f. Snu de monterte flaskene langsomt. La løsningen tømmes fra flasken inn i glassampullen (figur 1, trinn 3).
 - g. Bland grundig ved å virvle løsningen forsiktig i flasken. Unngå at det dannes skum mens du virvler flasken (figur 1, trinn 4).
 - h. Vent til den lyofiliserte reagensen er opptatt i løsningen, og inverter deretter de sammenmonterte flaskene på nytt. Sett dem i 45° vinkel for å minimere skum (figur 1, trinn 5). La all væske renne tilbake i plastflasken.
 - i. Fjern rekonstitusjonskragen og glassampullen (figur 1, trinn 6).
 - j. Sett hetten tilbake på plastflasken. Noter operatørinitialene og rekonstitusjonsdatoen på alle rekonstituerte reagensampuller (figur 1, trinn 7).
 - k. Fjern rekonstitusjonskragen og ampullen (figur 1, trinn 8).

Advarsel: Unngå skumdannelse når reagensene rekonstitueres. Skum ødelegger nivåfølsomheten i Panther System.



Figur 1. Rekonstitusjonsprosessen i Panther System

2. Klargjør arbeidsmålinnfangingsreagensen (working Target Capture Reagent, wTCR):
 - a. Ordne de aktuelle flaskene med TCR og internkontroll parvis.
 - b. Kontroller reagensens partinumre på strekkodearket for hovedpartier for å påse at de riktige reagensene i settet blir ordnet parvis.
 - c. Åpne TCR-flasken og legg hetten på en ren, tildekket arbeidsflate.
 - d. Åpne flasken med internkontroll og tøm alt innholdet inn i TCR-flasken. Det kan forventes at en liten mengde væske forblir i internkontrollflasken.
 - e. Sett hetten på TCR-flasken og virvle løsningen forsiktig for å blande innholdet. Unngå skumdannelse på dette trinnet.
 - f. Noter operatørinitialene og dagens dato på etiketten.
 - g. Kasser internkontrollflasken og hetten.
 - h. Det kan dannes bunnfall i wTCR, som kan gi ugyldige resultater på grunn av feil ved volumverifiseringen. Bunnfallet kan løses opp ved å varme opp wTCR ved 42 °C til 60 °C i opptil 90 minutter. La wTCR komme til romtemperatur før det tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet vedvarer.
3. Klargjøre valgreagensen
 - a. Kontroller reagenspartinummeret på strekkodearket for hovedpartier for å være sikker på at det tilhører settet.
 - b. Hvis valgreagensen inneholder bunnfall, varmes valgreagensen ved 60 °C ± 1 °C i opptil 45 minutter for å lette oppløsning av bunnfallet. Bland flasken forsiktig hvert 5. til 10. minutt. La valgreagensen komme til romtemperatur før den tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet eller tåkedannelsen vedvarer.

Merknad: Blandes grundig ved forsiktig snuing av alle reagensene før de settes inn i systemet. Unngå skumdannelse når reagensene inverteres.

- C. Klargjøre reagensen for tidligere rekonstituerte reagenser
 1. Tidligere rekonstituerte amplifikasjons-, enzym- og probereagenser må nå romtemperatur (15 °C til 30 °C) før analysen startes.
 2. Hvis den rekonstituerte probereagensen inneholder bunnfall som ikke går tilbake til løsning ved romtemperatur, skal den oppvarmes ved en temperatur som ikke overstiger 60 °C i 1 til 2 minutter. Skal ikke brukes hvis bunnfall eller tåkedannelse finnes.

3. Hvis wTCR har bunnfall, varmes wTCR opp ved 42 °C til 60 °C i opptil 90 minutter. La wTCR komme til romtemperatur før det tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet vedvarer.
4. Hvis valgreagensen inneholder bunnfall, varmes valgreagensen ved 60 °C ± 1 °C i opptil 45 minutter for å lette oppløsning av bunnfallet. Bland flasken forsiktig hvert 5. til 10. minutt. La valgreagensen komme til romtemperatur før den tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet eller tåkedannelsen vedvarer.
5. Hver reagens blandes grundig ved å snu dem forsiktig før de settes inn i systemet. Unngå skumdannelse når reagensene inverteres.
6. Ikke fyll opp reagensflaskene. Panther System gjenkjenner og forkaster flasker som har blitt fylt helt opp.

D. Håndtere prøver

1. La prøvene (kalibratorene og prøvene) komme til romtemperatur før prosessering.
2. **Ikke virvelbland prøvene.**
3. Kontroller prøverørene før de settes i stativet. Hvis et prøverør inneholder bobler eller har mindre mengde enn det som vanligvis observeres, skal røret sentrifugeres i 5 minutter ved 420 RCF for å sikre at det ikke finnes væske i hetten.

Merknad: Dersom instruksjonene i trinn 3 ikke følges, kan det oppstå væskeutstrømming fra prøverørheten.

E. Klargjøre systemet

1. Sett opp systemet i samsvar med instruksjonene i *Panther System Operator's Manual* (brukerhåndboken for Panther System) og avsnittet *Prosedyremerknader* nedenfor. Påse at det brukes reagensstativer og TCR-adaptorer av riktig størrelse.
2. Sett inn prøvene.

Prosedyremerknader

A. Kalibratorer

1. For å arbeide riktig med Aptima HPV assay-programvaren på Panther System kreves tre replikater av den positive kalibratoren og tre replikater av den negative kalibratoren. En ampulle av hver kalibrator kan plasseres i hvilken som helst stativposisjon i hvilken som helst prøvebane i Panther System. Prøvepipettering begynner når én av følgende to forhold er oppfylt:
 - a. En positiv og negativ kalibrator blir i øyeblikket prosessert av systemet.
 - b. Gyldige resultater for kalibratorer er registrert på systemet.
2. Når kalibratorrørene har blitt pipettert og blir prosessert for et spesifikt reagenssett, kan prøvene kjøres med det tilhørende analysereagenssettet i opptil 24 timer, med mindre:
 - a. Kalibratorresultater er ugyldige.
 - b. Det tilhørende analysereagenssettet fjernes fra systemet.
 - c. Det tilhørende analysereagenssettet har overskredet stabilitetsgrensene.
3. Forsøk på å pipettere mer enn tre replikater fra et kalibratorrør kan føre til prosesseringsfeil.

B. Temperatur

Romtemperatur defineres som 15 °C til 30 °C.

C. Hanskepulver

Som i alle reagenssystemer, kan for mye pulver på hanskene føre til kontaminering av åpne rør. Pulverfrie hansker anbefales.

Kvalitetskontrollprosedyrer

A. Kriterier for kjøringsvaliditet

Programvaren bestemmer automatisk kjøringsvaliditeten. Programvaren vil ugyldiggjøre en kjøring hvis noe av det følgende forekommer:

- Mer enn ett ugyldig negativt kalibratorreplikat.
- Mer enn ett ugyldig positivt kalibratorreplikat.

En kjøring kan ugyldiggjøres av en operatør hvis tekniske, operatørmessige, eller instrumentvanskeligheter observeres og dokumenteres ved gjennomføringen av analysen.

En ugyldig kjøring skal gjentas. Avbrutte kjøring må gjentas.

B. Kriterier for kalibratorgodkjennelse

Tabellen nedenfor definerer RLU-kriteriene for de negative og positive kalibratorreplikatene.

Negativ kalibrator	
Analytt	≥ 0 og $\leq 45\ 000$ RLU
IC	$\geq 75\ 000$ og $\leq 400\ 000$ RLU
Positiv kalibrator	
Analytt	$\geq 480\ 000$ og $\leq 1\ 850\ 000$ RLU
IC	$\leq 450\ 000$ RLU

C. Beregne internkontroll-cutoff

Internkontroll-cutoff bestemmes ut fra internkontroll (flasher)-signalet fra de gyldige negative kalibratorreplikatene.

$$\text{Internkontroll-cutoff} = 0,5 \times [\text{middelverdien for internkontroll-RLU i de gyldige negative kalibratorreplikatene}]$$

D. Beregne analytt-cutoff

Analytt-cutoff bestemmes ut fra analytt (glower)-signalet fra de gyldige negative kalibratorreplikatene så vel som de gyldige positive kalibratorreplikatene.

$$\text{Analytt-cutoff} = \frac{[\text{middelverdien for analytt-RLU i de gyldige negative kalibratorreplikatene}] + [0,09 \times \text{middelverdien for analytt-RLU i de gyldige positive kalibratorreplikatene}]}{}$$

E. Beregne analyttens signal-til-cutoff (S/CO)

Analytt-S/CO bestemmes ut fra analytt-RLU i testprøven og analytt-cutoff for kjøringen.

$$\text{Analytt-S/CO} = \frac{\text{analytt-RLU i testprøve}}{\text{analytt-cutoff}}$$

Testtolking

Resultatene av analysetestene blir automatisk bestemt av analyseprogramvaren. Et testresultat kan være negativt, positivt eller ugyldig, som bestemt av internkontroll-RLU og S/CO for analytten. Et testresultat kan også være ugyldig på grunn av andre parametre (unormal kinetisk kurveform) som ligger utenfor normalt forventede områder. Innledende ugyldige testresultater skal gjentas.

Prøver i Aptima CSCT-settet kan fortynnes for å overvinne eventuelle hemmende substanser. Fortynn 1 del av den ugyldige prøven til 8 deler av prøvetransportmiddel (løsningen i CSCT-settrørene), for eksempel 560 µl av prøven opp i et nytt CSCT-settrør som inneholder 4,5 ml prøvetransportmiddel. Snu forsiktig den fortynnede prøven for å blande den og unngå skumdannelse. Test de fortynnede prøvene i samsvar med standard analyseprosedyre.

Merknad: Et minstevolum på 1,7 ml kreves for å teste 1 alikvot av prøven. Ikke fortynn en ugyldig fortynnet prøve. Hvis en fortynnet prøve gir ugyldig resultat, skal en ny prøve tas fra pasienten.

Resultat fra Aptima HPV Assay	Kriterier
Negativ	<i>Analytt S/CO < 0,50 Internkontroll ≥ Internkontroll-cuttoff Internkontroll ≤ 2 000 000 RLU</i>
Positiv	<i>Analytt S/CO ≥ 0,50 Internkontroll ≤ 2 000 000 RLU Analytt ≤ 13 000 000 RLU</i>
Ugyldig	<i>Internkontroll > 2 000 000 RLU eller Analytt-S/CO < 0,50 og Internkontroll < Internkontroll-cuttoff eller Analytt > 13 000 000 RLU</i>

Begrensninger

- A. Andre prøvetyper enn de som er identifisert i den beregnede bruken, har ikke blitt evaluert.
- B. Ytelsen til Aptima HPV assay har ikke blitt evaluert for HPV-vaksinerte personer.
- C. Aptima HPV assay har ikke blitt evaluert i tilfeller med mistenkt seksuell mishandling.
- D. Prevalens av HPV-infeksjon i en populasjon kan påvirke ytelsen. Positive prediktive verdier reduseres når populasjoner med lav forekomst eller personer uten risiko for infeksjon blir testet.
- E. ThinPrep flytende cytologiprøver som inneholder mindre enn 1 ml etter klargjøring av objektglass for ThinPrep celleprøve, er ansett å være inadekvate for Aptima HPV assay.
- F. Fjerning av 1 ml av en SurePath flytende cytologiprøve før cytologisk behandling har ikke blitt evaluert for innvirkning på cytologieresultatet.
- G. Testresultatene kan påvirkes av uriktig prøveoppsamling, oppbevaring eller prøvebehandling.
- H. Den interne kontrollen overvåker målinnfangings-, amplifiserings- og deteksjonstrinnene i analysen. Den er ikke ment å kontrollere om prøvetakingen fra livmorhalsen er adekvat.
- I. Et negativt Aptima HPV assay-resultat ekskluderer ikke muligheten for cytologiske abnormiteter eller fremtidig eller underliggende CIN2, CIN3 eller kreft.
- J. Personlige smøremidler som inneholder polykvaternium 15, kan forstyrre analyseytelsen når det finnes i konsentrasjoner større enn 0,025 % (v/v eller w/v) i en testprøve.
- K. Antifungale legemidler som inneholder tiokonazol, kan forstyrre analyseytelsen når det finnes i konsentrasjoner større enn 0,075 % (w/v) i en testprøve.
- L. Aptima HPV assay gir kvalitative resultater. Det kan derfor ikke gjøres en korrelasjon mellom størrelsen på et positivt analysesignal og uttrykksnivået på mRNA i en prøve.
- M. Deteksjon av høyrisiko HPV-mRNA er avhengig av antallet kopier som finnes i prøven, og kan påvirkes av prøveoppsamlingsmetoder, pasientfaktorer, infeksjonsstadium og tilstedeværelse av interfererende stoffer.
- N. Infeksjon med HPV er ikke en indikator på cytologisk HSIL eller underliggende høygrads CIN, og tyder heller ikke på at det vil utvikle seg CIN2, CIN3 eller kreft. De fleste kvinner infisert med én eller flere høyrisiko HPV-typer utvikler ikke CIN2, CIN3 eller kreft.
- O. Virkningene av andre potensielle variabler, f.eks. vaginal utflod, bruk av tamponger, vaginal skylling osv. samt prøveoppsamlingsvariabler har ikke blitt evaluert.
- P. Bruk av dette produktet må begrenses til personell som er opplært i bruken av Aptima HPV assay.
- Q. Krysskontaminasjon av prøver kan forårsake falske positive resultater. Frekvensen for overføring for Aptima HPV-assayet på Panther-systemet er blitt bestemt til 0,7 % i en ikke-klinisk studie.
- R. Resultatene fra Aptima HPV assay skal tolkes i samhold med andre laboratoriedata og kliniske data som er tilgjengelig for klinikerens.
- S. Falskt positive resultater kan forekomme med denne testen. *In vitro*-transkripter fra lavrisiko HPV-genotyper 26, 67, 70 og 82 utviste kryssreaktivitet med Aptima HPV assay.

Forventede resultater for Panther System: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA

Prevalensen av høyrisiko HPV-infeksjon varierer mye og påvirkes av flere faktorer, hvor alder er den største medvirkeren.^{36,38} Mange studier har undersøkt HPV-prevalensen som fastslått gjennom deteksjon av HPV-DNA, men få studier rapporterer prevalens basert på deteksjon av HPV-onkogen mRNA. Kvinner fra en rekke kliniske steder (n = 18), og som representerte en bred geografisk distribusjon og en mangfoldig populasjon (10 delstater i USA), ble registrert i en prospektiv klinisk studie kjent som CLEAR-studien.³⁸ Prevalensen av HPV-mRNA-positive prøver observert i den kliniske studien, som fastslått av Aptima HPV assay på Panther System, ble kategorisert samlet, etter aldersgruppe og teststed. Resultatene vises i Tabell 1 for populasjonene atypiske plateepitelceller av ubestemt signifikans (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) og negativ for intraepitelial lesjon eller malignitet (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM).

Tabell 1: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA etter aldersgruppe, teststed og alle kombinert

	Positivitetsfrekvens % (x/n)	
	Populasjonen ASC-US (≥ 21 år)	Populasjonen NILM (≥ 30 år)
Alle	42,3 (404/956)	4,7 (512/10 860)
Aldersgruppe (år)		
21 til 29	60,0 (251/418)	I/A
30 til 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
Teststed		
1	41,5 (134/323)	3,7 (304/8286)
2	43,1 (137/318)	9,2 (118/1285)
3	42,2 (133/315)	7,0 (90/1289)

I/A = ikke aktuelt

Oppsett for klinisk studie av Aptima HPV Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver

Aptima HPV assay på Panther System ble evaluert ved bruk av resterende henvisningscytologiprøver innhentet fra kvinner som har avgitt sitt samtykke til dette under den prospektive, flersenters kliniske studien i USA kjent som CLEAR-studien.³⁴

Aptima HPV-assayet ble først lansert på Tigris™ DTS-systemet i 2008. I 2011 ble indikasjonene utvidet til å bruke Aptima HPV-assayet på Panther-systemet. Panther-systemet er en alternativ, mindre instrumentplattform til Tigris DTS-systemet. Begge systemene er tiltenkt å helautomatisere amplifisert nukleinsyrestesting av diagnostiske assayer. Utvalgt assaytelsestesting fullført på Tigris DTS-systemet, ble utnyttet for å støtte assaytelse på Panther-systemet.

CLEAR-studien - baseline-evaluering

CLEAR-studien ble utført for å fastslå den kliniske ytelsen til Aptima HPV assay på Tigris DTS System for deteksjon av intraepitelial neoplasia grad 2 i livmorhalsen eller alvorligere livmorhals sykdom (\geq CIN2). CLEAR-studien inkluderte en baseline-evaluering og en 3-års oppfølgingsevaluering. Kvinner ble registrert i enten ASC-US-studien eller NILM-studien basert på cytologieresultater fra rutinemessig kreftscreening av livmorhals. Populasjonen i ASC-US-studien inkluderte kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater, og populasjonen i NILM-studien inkluderte kvinner 30 år og eldre med NILM-cytologieresultater. NILM-studien ble satt opp for å støtte tilleggskravet til screening for kvinner 30 år og eldre, da kvinner i denne aldersgruppen med cytologieresultater høyere enn ASC-US bør få kolposkopi uansett HPV-status.³⁹

Kvinner fra 18 kliniske steder, hovedsakelig obstetriske/gynekologiske klinikker, som dekket en bred geografisk distribusjon og en mangfoldig populasjon, ble tatt opp i studien. Kvalifiserte kvinner ble tilordnet ASC-US-studien eller NILM-studien basert på deres henviste ThinPrep væskebaserte cytologiprøve. Ved baseline ble residuale henvisningsprøver fra kvinner i ASC-US-studien og i NILM-studien innledningsvis testet med både Aptima HPV assay på Tigris DTS System og en kommersielt tilgjengelig HPV-DNA-test. Prøvene ble deretter arkivert og oppbevart ved -70 °C inntil testing med Aptima HPV assay på Panther System.

Ved baseline i CLEAR-studien (baselinefasen) ble alle kvinner i ASC-US-studien henvist til kolposkopi, uansett HPV-testresultat. En endocervikal utskrapningsbiopsi (endocervical curettage biopsy, ECC) og cervikale stansebiopsier (1 biopsi fra hver av de 4 kvadrantene) ble tatt. Hvis en lesjon var synlig, ble det tatt en stansebiopsi (rettet metode, 1 biopsi per lesjon), og det ble tatt biopsier fra kvadranter uten synlig lesjon i transformasjonssonen (tilfeldig metode).

I NILM-studien ble kvinner som var positive med Aptima HPV assay på Tigris DTS System og/eller den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen, så vel som tilfeldig utvalgte kvinner som var negative med begge analyser, henvist til kolposkopi for baseline-evaluering. De tilfeldig utvalgte kvinnene som var negative for begge analyser, ble inkludert for å korrigere for verifikasjonsbias med justerte ytelsesestimer generert ved hjelp av en multippel imputering-metode. En ECC-biopsi ble tatt fra alle kvinner som deltok på kolposkopien. Stansebiopsier ble tatt fra kun synlige lesjoner (rettet metode, 1 biopsi per lesjon).

Sykdomsstatusen ble fastslått ut fra et konsensus-histologisk granskningspanel, som var basert på enighet mellom minst 2 ekspertpatologer. Ekspertpatologene var blindet overfor kvinnens HPV- status. De var også blindet overfor cytologistatus, samt hverandres histologidiagnoser. Hvis alle 3 patologer var uenige, gjennomgikk alle 3 patologer

objektglassene ved et flerhodet mikroskop for å bli enige. hverandres histologidiagnoser. Utprøvere, klinikere og kvinner var blindet overfor HPV-testresultatene til etter fullføring av kolposkopibesøket, for å unngå bias. Ved baseline ble klinisk ytelse av Aptima HPV assay for deteksjon av \geq CIN2 og intraepitelial neoplasi grad 3 i livmorhalsen eller alvorligere livmorhalssykdom (\geq CIN3) vurdert i forhold til den statusen på livmorhalssykdommen som ble bestemt ved baseline. Klinisk ytelse for den kommersielt tilgjengelige HPV DNA-testen ble også fastslått for direkte sammenligning med Aptima HPV assay-resultatene.

CLEAR-studien - Oppfølgingsvurdering

Kvinner i NILM-studien fra 14 kliniske områder var kvalifisert til å delta i den 3-årige oppfølgingsfasen av studien dersom: i) de hadde et kolposkopibesøk ved baseline, og de ikke hadde \geq CIN2, eller ii) de ikke hadde et kolposkopibesøk ved baseline. Oppfølgingsfasen av studien besto av årlige besøk. På disse besøkene ble cervikal prøvetaking for cytologi utført for hver kvinne, og noen kvinner ble undersøkt med en kommersielt tilgjengelig HPV-test. Kvinner med ASC-US eller mere alvorlige cytologieresultater under oppfølgingsperioden ble henvist til kolposkopi ved bruk av samme biopsi og histologiske undersøkelsesprosedyrer utført for NILM studiens baseline vurdering. Status for livmorhalssykdom på et oppfølgingsbesøk ble ansett som "negativ", basert på NILM-cytologi, eller for kvinner med unormale cytologi testresultater, basert på normale CIN1 konsensushistologisk granskningspanel. Kvinner der \geq CIN2 ble oppdaget under oppfølgingsperioden ble ansett for å ha gjennomført oppfølgingen og deltok ikke i noen besøk etter at \geq CIN2 ble oppdaget. Kvinner som ikke hadde \geq CIN2 oppdaget under oppfølgingsperioden, men som deltok på et studiebesøk i oppfølgingsår 1 og/eller oppfølgingsår 2 og som deltok på et studiebesøk på oppfølgingsår 3, ble ansett for å ha fullført oppfølgingen.

Målet med oppfølgingsstudien var å sammenligne den kumulative 3-årige risikoen for livmorhalssykdom hos kvinner med baseline positive Aptima HPV assay-resultater med den kumulative 3-årige risikoen for livmorhalssykdom hos kvinner med baseline negative Aptima HPV assay-resultater. Den 3-årige statusen for livmorhalssykdom ble fastsatt som følger:

- Positiv livmorhalssykdom (\geq CIN2 og eller \geq CIN3) - Kvinner som hadde \geq CIN2 oppdaget ved baseline eller under oppfølging.
- Negativ status for livmorhalssykdoms (\geq CIN2) - Kvinner som fullførte oppfølging uten påvisning av \geq CIN2 og som ikke ble ansett for å ha "ubestemmelig" status for livmorhalssykdom.
- Ubestemmelig status for livmorhalssykdom - Kvinner som hadde unormale cytologi testresultater under oppfølging og som ikke hadde påfølgende CRHP- resultater, eller kvinner med utilstrekkelig cytologi på siste besøk.
- Manglet for oppfølging - Kvinner som ikke fullførte oppfølging og som ikke ble ansett for å ha "ubestemmelig" status for livmorhalssykdom.

Klinisk ytelse av Aptima HPV assay for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 ble evaluert i forhold til den 3-årige statusen for livmorhalssykdom.

Analyseytelse for Panther System

Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Klinisk ytelse av Aptima HPV Assay

Det var totalt 1252 kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater registrert i ASC-US-studien. Av disse ble 294 kvinner avregistrert. De gjenværende 958 kvinnene var kvalifisert for testing på Panther System. To kvinner manglet prøver, og 19 hadde en ubestemt sykdomsdiagnose. Alle ble ekskludert fra analysen. De gjenværende 937 evaluerbare kvinnene var 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater, Aptima HPV assay-resultater på Panther System og bestemt sykdomsstatus. Nittien (91) kvinner hadde \geq CIN2, og førtien (41) hadde \geq CIN3. Prevalensen av \geq CIN2 og \geq CIN3 hos evaluerbare kvinner med ASC-US-cytologieresultater var henholdsvis 9,7 % og 4,4 %. Resultatene av Aptima HPV assay i henhold til diagnosene fra det konsensus-histologiske granskningspanelet vises i Tabell 2.

Tabell 2: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Resultater av Aptima HPV Assay i henhold til diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel

Resultat fra Aptima HPV Assay*	HPV-DNA-test	Diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel						
		Ubestemt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Kreft	Totalt
Positiv	Positiv	6	178	110	40	32	1	367
Positiv	Negativ	0	5	2	0	2	0	9
Positiv	Intet resultat***	0	15	11	0	2	0	28
Negativ	Positiv	0	39	15	3	3	0	60
Negativ	Negativ	10	372	53	7	1	0	443
Negativ	Intet resultat***	3	39	7	0	0	0	49
Totalt		19	648	198	50	40	1****	956

*Alle prøver hadde gyldige endelige resultater (ved innledende testing eller etter korrigerings av ugyldige innledende resultater ifølge prosedyre).

**19 pasienter møtte opp til kolposkopi, men en diagnose kunne ikke stilles pga. følgende: < 5 biopsiprøver tatt, alle med histologieresultater på Normal/CIN1 (n = 15), ingen biopsier tatt (n = 3), og biopsiglass tapt (n = 1).

***77 kvinner med Aptima HPV assay-resultater fikk ingen HPV-DNA-testresultater, hovedsakelig pga. utilstrekkelig cytologiprøvevolum.

****En pasient hadde adenokarsinom in situ (AIS).

Kliniske ytelsesestimater for Aptima HPV assay, inkludert sensitivitet, spesifisitet, positiv prediktiv verdi (PPV) og negativ prediktiv verdi (NPV) for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 basert på evaluering av alle biopsier og inkludering av kun rettede biopsier, vises i Tabell 3, og det samme gjelder estimater for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen.

Tabell 3: Populasjonen ASC-US ≥ 21 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av ≥ CIN2 og ≥ CIN3

	Ytelse	Aptima HPV Assay N=937		HPV-DNA-test N=863*	
		Estimat	(95 % KI)	Estimat	(95 % KI)
≥ CIN2	Alle biopsier				
	Sensitivitet (%)	84,6 (77/91)	(75,8, 90,6)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)
	Spesifisitet (%)	62,1 (525/846)	(58,7, 65,3)	55,8 (432/774)	(52,3, 59,3)
	PPV (%)	19,3 (77/398)	(17,3, 21,2)	18,8 (79/421)	(17,0, 20,4)
	NPV (%)	97,4 (525/539)	(96,0, 98,5)	97,7 (432/442)	(96,2, 98,8)
	Prevalens (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
	Rettede biopsier**				
	Sensitivitet (%)	90,0 (54/60)	(79,9, 95,3)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)
	Spesifisitet (%)	60,8 (531/874)	(57,5, 63,9)	54,5 (437/802)	(51,0, 57,9)
	PPV (%)	13,6 (54/397)	(12,0, 15,0)	13,1 (55/420)	(11,7, 14,2)
	NPV (%)	98,9 (531/537)	(97,8, 99,6)	99,1 (437/441)	(97,9, 99,7)
	Prevalens (%)	6,4 (60/934)		6,9 (59/861)	
≥ CIN3	Alle biopsier				
	Sensitivitet (%)	90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
	Spesifisitet (%)	59,7 (535/896)	(56,5, 62,9)	53,3 (439/824)	(49,9, 56,7)
	PPV (%)	9,3 (37/398)	(8,0, 10,3)	8,6 (36/421)	(7,4, 9,4)
	NPV (%)	99,3 (535/539)	(98,3, 99,8)	99,3 (439/442)	(98,3, 99,8)
	Prevalens (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	
	Rettede biopsier**				
	Sensitivitet (%)	93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)
	Spesifisitet (%)	59,1 (535/906)	(55,8, 62,2)	52,8 (440/834)	(49,4, 56,1)
	PPV (%)	6,8 (27/398)	(5,7, 7,5)	6,4 (27/421)	(5,5, 7,0)
	NPV (%)	99,6 (535/537)	(98,8, 100)	99,8 (440/441)	(98,9, 100)
	Prevalens (%)	3,1 (29/935)		3,2 (28/862)	

*74 kvinner med Aptima HPV assay-resultater fikk ingen HPV-DNA-testresultater, hovedsakelig pga. utilstrekkelig cytologiprøvevolum.

**Konsensus-histologisk resultat ble utledet basert på kun resultater fra rettede biopsier. Kvinner uten rettede biopsier gjenspeiler en normal kolposkopi og er inkludert i disse analysene som ikke-syke (< CIN2 eller < CIN3 etter hva som er aktuelt). En konsensus ble ikke alltid nådd når kun rettede biopsier var inkludert.

Ved evaluering av alle biopsier var de kliniske sensitivitetsestimatene for Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen lignende for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 (forskjellene i sensitivitetsestimater var ikke statistisk signifikante). For \geq CIN2 var sensitivitetsforskjellen -4,5 % (95 % KI: -12,2 %, 2,5 %). Kliniske spesifisitetsestimater for Aptima HPV assay for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 var høyere enn de for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen (forskjeller i spesifisitetsestimater var statistisk signifikante). For \geq CIN2 var spesifisitetsforskjellen 6,1 % (95 % KI: 4,2 %, 8,2 %). NPV var lignende, men for deteksjonen av \geq CIN2 var PPV for Aptima HPV assay litt høyere enn PPV for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen (19,3 % mot 18,8 %).

Av de 91 tilfellene \geq CIN2 ble 60 (65,9 %) identifisert i rettede biopsier og 31 (34,1 %) identifisert fra tilfeldige og/eller ECC-biopsier (dvs. ikke i rettede biopsier). Disse funnene er tilsvarende resultatene fra publiserte studier, der ca. 25 % til 40 % av tilfeller \geq CIN2 ble identifisert fra kun tilfeldige og/eller ECC-biopsiprøver.^{40,41} Ved bruk av kun rettede biopsier til å fastslå sykdomsstatus (forutsatt at kvinner uten rettede biopsier hadde normale histologieresultater fordi ingen synlige lesjoner var til stede) var prevalensen av \geq CIN2 og \geq CIN3 i studien henholdsvis 6,4 % og 3,1 %. De kliniske sensitivitetsestimatene for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 var høyere for begge tester ved bruk av kun rettede biopsier enn estimater beregnet ved bruk av alle biopsier. For begge analyser var den kliniske spesifisiteten ved bruk av kun rettede biopsier lignende spesifisiteten oppnådd med alle biopsier inkludert. Følgelig, når kun rettede biopsier ble brukt, var spesifisiteten for Aptima HPV assay signifikant høyere enn den for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen.

Kliniske ytelsesestimater for Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen vises etter aldersgruppe i Tabell 4 og Tabell 5 (henholdsvis \geq CIN2 og \geq CIN3, basert på evaluering av alle biopsier).

Tabell 4: Populasjonen ASC-US ≥ 21 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av ≥ CIN2 etter aldersgruppe

	Ytelse	Aptima HPV Assay N=937		HPV-DNA-test N=863*	
		Estimat	(95 % KI)	Estimat	(95 % KI)
21 til 29 år		N=415		N=389	
	Sensitivitet (%)	88,5 (54/61)	(78,2, 94,3)	94,9 (56/59)	(86,1, 98,3)
	Spesifisitet (%)	44,9 (159/354)	(39,8, 50,1)	35,5 (117/330)	(30,5, 40,8)
	PPV (%)	21,7 (54/249)	(19,3, 23,9)	20,8 (56/269)	(19,0, 22,5)
	NPV (%)	95,8 (159/166)	(92,3, 98,1)	97,5 (117/120)	(93,6, 99,4)
	Prevalens (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
30 til 39 år		N=261		N=238	
	Sensitivitet (%)	85,0 (17/20)	(64,0, 94,8)	80,0 (16/20)	(58,4, 91,9)
	Spesifisitet (%)	66,4 (160/241)	(60,2, 72,1)	61,9 (135/218)	(55,3, 68,1)
	PPV (%)	17,3 (17/98)	(13,1, 21,1)	16,2 (16/99)	(11,8, 19,8)
	NPV (%)	98,2 (160/163)	(95,7, 99,6)	97,1 (135/139)	(94,1, 99,1)
	Prevalens (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
≥ 40 år		N=261		N=236	
	Sensitivitet (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	Spesifisitet (%)	82,1 (206/251)	(76,9, 86,3)	79,6 (180/226)	(73,9, 84,4)
	PPV (%)	11,8 (6/51)	(5,6, 17,7)	13,2 (7/53)	(6,9, 18,7)
	NPV (%)	98,1 (206/210)	(96,6, 99,4)	98,4 (180/183)	(96,6, 99,6)
	Prevalens (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	

*74 kvinner med Aptima HPV assay-resultater fikk ingen HPV-DNA-testresultater, hovedsakelig pga. utilstrekkelig cytologiprøvevolum.

Tabell 5: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av \geq CIN3 etter aldersgruppe

	Ytelse	Aptima HPV Assay N=937		HPV-DNA-test N=863*	
		Estimat	(95 % KI)	Estimat	(95 % KI)
21 til 29 år		N=415		N=389	
	Sensitivitet (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Spesifisitet (%)	42,5 (165/388)	(37,7, 47,5)	33,0 (120/364)	(28,3, 38,0)
	PPV (%)	10,4 (26/249)	(9,0, 11,5)	9,3 (25/269)	(8,2, 10,0)
	NPV (%)	99,4 (165/166)	(97,2, 100)	100 (120/120)	(97,5, 100)
	Prevalens (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
30 til 39 år		N=261		N=238	
	Sensitivitet (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Spesifisitet (%)	64,3 (162/252)	(58,2, 69,9)	59,8 (137/229)	(53,4, 66,0)
	PPV (%)	8,2 (8/98)	(5,0, 10,1)	7,1 (7/99)	(4,0, 9,2)
	NPV (%)	99,4 (162/163)	(97,6, 100)	98,6 (137/139)	(96,4, 99,8)
	Prevalens (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
\geq 40 år		N=261		N=236	
	Sensitivitet (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Spesifisitet (%)	81,3 (208/256)	(76,0, 85,6)	78,8 (182/231)	(73,1, 83,6)
	PPV (%)	5,9 (3/51)	(1,6, 9,7)	7,5 (4/53)	(2,9, 10,7)
	NPV (%)	99,0 (208/210)	(98,0, 99,9)	99,5 (182/183)	(98,2, 100)
	Prevalens (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 kvinner med Aptima HPV assay-resultater fikk ingen HPV-DNA-testresultater, hovedsakelig pga. utilstrekkelig cytologiprøvevolum.

Den absolutte risikoen for sykdom (\geq CIN2 og \geq CIN3, basert på evaluering av alle biopsier) i henhold til Aptima HPV assay-resultat og den relative risikoen for sykdom, for positive kontra negative Aptima HPV assay-resultater vises i Tabell 6, og det samme gjelder estimatene for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen. Den relative risikoen for \geq CIN2 var 7,4 (95 % KI: 4,3, 13,0), som indikerer at en kvinne som var Aptima HPV assay-positiv hadde 7,4 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 sammenlignet med en kvinne som var Aptima HPV assay-negativ. Den relative risikoen for \geq CIN3 var 12,5 (95 % KI: 4,5, 34,9).

Tabell 6: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test

	Assay-resultat	Aptima HPV Assay N=937		HPV-DNA-test N=863*	
		Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
\geq CIN2	Positiv	19,3 (77/398) (17,3, 21,2)	7,4 (4,3, 13,0)	18,8 (79/421) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Negativ	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prevalens (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
\geq CIN3	Positiv	9,3 (37/398) (8,0, 10,3)	12,5 (4,5, 34,9)	8,6 (36/421) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Negativ	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prevalens (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

*74 kvinner med Aptima HPV assay-resultater fikk ingen HPV-DNA-testresultater, hovedsakelig pga. utilstrekkelig cytologiprøvevolum.

Absolutte og relative risikoestimer for sykdom (\geq CIN2 og \geq CIN3, basert på evaluering av alle biopsier) for Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen vises etter aldersgruppe i Tabell 7.

Tabell 7: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test etter aldersgruppe

	Alder	Assay-resultat	Aptima HPV Assay N=937		HPV-DNA-test N=863*	
			Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
\geq CIN2	21 til 29 år		N=415		N=389	
		Positiv	21,7 (54/249) (19,3, 23,9)	5,1 (2,4, 11,0)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)
		Negativ	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalens (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 til 39 år		N=261		N=238	
		Positiv	17,3 (17/98) (13,1, 21,1)	9,4 (2,8, 31,3)	16,2 (16/99) (11,8, 19,8)	5,6 (1,9, 16,3)
		Negativ	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalens (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	\geq 40 år		N=261		N=236	
		Positiv	11,8 (6/51) (5,6, 17,7)	6,2 (1,8, 21,1)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,1)
		Negativ	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)	
		Prevalens (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	
\geq CIN3	21 til 29 år		N=415		N=389	
		Positiv	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Kan ikke beregnes
		Negativ	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalens (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 til 39 år		N=261		N=238	
		Positiv	8,2 (8/98) (5,0, 10,1)	13,3 (1,7, 105)	7,1 (7/99) (4,0, 9,2)	4,9 (1,0, 23,2)
		Negativ	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalens (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	\geq 40 år		N=261		N=236	
		Positiv	5,9 (3/51) (1,6, 9,7)	6,2 (1,1, 36,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,8 (1,6, 121)
		Negativ	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)	
		Prevalens (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 kvinner med Aptima HPV assay-resultater fikk ingen HPV-DNA-testresultater, hovedsakelig pga. utilstrekkelig cytologiprøvevolum.

Populasjonen NILM \geq 30 år: Klinisk ytelse av Aptima HPV Assay med ThinPrep væskecytologi prøver ved baseline

Totalt 11 644 kvinner med NILM-cytologiresultater ble registrert i NILM-studien. Av disse ble 773 avregistrert. De gjenværende 10 871 kvinnene var kvalifisert for testing på Panther System. Elleve kvinner manglet prøver og ble ekskludert fra baseline-evalueringen av Aptima HPV assay på Panther System. De gjenværende 10 860 evaluerbare kvinnene var 30 år og eldre med NILM-cytologiresultater og Aptima HPV assay-resultater på Panther System. Av de 512 kvinnene med positive Aptima HPV assay-resultater på Panther System fikk 284 kolposkopi ved baseline. Av de 10 348 kvinnene med negative Aptima HPV assay-resultater fikk 580 kolposkopi ved baseline. Tjue (20) kvinner hadde \geq CIN2, og elleve (11) hadde \geq CIN3; 798 kvinner hadde normal/CIN1-histologi; 46 kvinner hadde ubestemt sykdomsstatus. Resultatene av Aptima HPV assay på Panther System i henhold til diagnosen fra det konsensus-histologiske granskningspanelet ved baseline vises i Tabell 8.

Tabell 8: Populasjonen NILM \geq 30 år: Resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test i henhold til diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel ved baseline

Resultat fra Aptima HPV Assay*	HPV-DNA-test	Diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel						
		Ubestemt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Kreft	Totalt
Positiv	Positiv	11	211	12	4	7	2	247
Positiv	Negativ	2	19	0	0	0	1	22
Positiv	Intet resultat***	2	12	1	0	0	0	15
Negativ	Positiv	10	170	7	2	1	0	190
Negativ	Negativ	20	353	9	2	0	0	384
Negativ	Intet resultat***	1	4	0	1	0	0	6
Totalt		46	769	29	9	8	3****	864

*Alle prøver hadde gyldige endelige resultater (ved innledende testing eller etter korrigering av ugyldige innledende resultater ifølge prosedyre).

**46 pasienter møtte opp til kolposkopi, men en diagnose kunne ikke stilles pga. følgende: biopsiprøver fastslått å være inadequate (n = 29), ingen biopsier tatt (n = 15), og biopsiglass tapt (n = 2).

***21 kvinner med Aptima HPV assay-resultater fikk ingen HPV-DNA-testresultater, hovedsakelig pga. utilstrekkelig cytologi prøvevolum.

****Tre kvinner hadde adenokarsinom in situ (AIS).

Totalt 10 042 kvinner hadde uverifisert (inkludert ubestemt) sykdomsstatus ved baseline (Tabell 9). Fordi kun tilfeldig utvalgte kvinner med negativt resultat for både Aptima HPV assay på Tigris DTS System og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen ble henvist til kolposkopi, var andelen kvinner med uverifisert sykdomsstatus høy i denne gruppen (96,6 %). For å justere for denne verifikasjonsbiasen ble det brukt en multippel imputering-metode til å estimere antallet kvinner med sykdom som ville ha blitt identifisert hvis alle kvinner hadde fått kolposkopi. Både verifikasjonsbiasjusterte ytelsesestimerer og ujusterte ytelsesestimerer, basert på de 818 kvinnene med verifisert sykdomsstatus ved baseline vises.

Tabell 9: Populasjonen NILM \geq 30 år: Klassifisering av evaluerbare NILM-kvinner i henhold til resultater fra Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test, sykdomsstatus (\geq CIN2 og \geq CIN3) og sykdomsverifikasjonsstatus

Resultat fra Aptima HPV Assay*		HPV-DNA-test	Totalt antall kvinner	Verifisert sykdomsstatus: \geq CIN2		Verifisert sykdomsstatus: \geq CIN3		Uverifisert sykdomsstatus
Panther System	Tigris DTS System			Kvinner med sykdom (\geq CIN2)	Kvinner uten sykdom ($<$ CIN2)	Kvinner med sykdom (\geq CIN3)	Kvinner uten sykdom ($<$ CIN3)	Kvinner med ukjent sykdomsstatus (% ukjente)
Positiv	Positiv	Positiv	313	13	189	9	193	111 (35,5 %)
Positiv	Positiv	Negativ	37	1	18	1	18	18 (48,6 %)
Positiv	Positiv	Intet resultat**	22	0	13	0	13	9 (40,9 %)
Positiv	Negativ	Positiv	70	0	34	0	34	36 (51,4 %)
Positiv	Negativ	Negativ	60	0	1	0	1	59 (98,3 %)
Positiv	Negativ	Intet resultat**	10	0	0	0	0	10 (100 %)
Negativ	Positiv	Positiv	46	0	33	0	33	13 (28,3 %)
Negativ	Positiv	Negativ	113	1	41	0	42	71 (62,8 %)
Negativ	Positiv	Intet resultat**	8	0	4	0	4	4 (50,0 %)
Negativ	Negativ	Positiv	236	3	144	1	146	89 (37,7 %)
Negativ	Negativ	Negativ	9354	1	321	0	322	9032 (96,6 %)
Negativ	Negativ	Intet resultat**	591	1	0	0	1	590 (99,8 %)
Totalt			10 860	20	798	11	807	10 042 (92,5 %)

*Alle prøver hadde endelige resultater (ved innledende testing eller etter korrigerings av ugyldige innledende resultater ifølge prosedyre).

**631 kvinner med Aptima HPV assay-resultater fikk ingen HPV-DNA-testresultater, hovedsakelig pga. utilstrekkelig cytologiprøvevolum.

Den justerte prevalensen av \geq CIN2 og \geq CIN3 hos kvinner med NILM-cytologieresultater var henholdsvis 0,9 % og 0,4 %. De justerte absolutte og relative risikoestimatene for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 ved baseline vises i Tabell 10. Den justerte relative risikoen for \geq CIN2 var 7,5 (95 % KI: 2,1, 26,3), som indikerer at en kvinne som var Aptima HPV assay-positiv hadde 7,5 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 sammenlignet med en kvinne som var Aptima HPV assay-negativ. Den justerte relative risikoen for \geq CIN3 var 24,9 (95 % KI: 2,0, 307,0). De ujusterte absolutte og relative risikoestimatene for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 ved baseline vises samlet i Tabell 11 og etter aldersgruppe i Tabell 12.

Tabell 10: Populasjonen NILM \geq 30 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test (verifikasjonsbiasjusterte estimer) ved baseline

	Assay-resultat	Aptima HPV Assay		HPV-DNA-test	
		Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
\geq CIN2	Positiv	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negativ	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalens (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Positiv	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negativ	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalens (%)	0,4		0,4	

Tabell 11: Populasjonen NILM \geq 30 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test (ujusterte estimer) ved baseline

	Assay-resultat	Aptima HPV Assay N=818		HPV-DNA-test N=800*	
		Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
\geq CIN2	Positiv	5,2 (14/269) (3,5, 6,6)	4,8 (1,9, 12,3)	3,8 (16/416) (2,9, 4,5)	4,9 (1,4, 16,8)
	Negativ	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalens (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
\geq CIN3	Positiv	3,7 (10/269) (2,5, 4,3)	20,4 (2,6, 159)	2,4 (10/416) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,8)
	Negativ	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalens (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 kvinner med Aptima HPV assay-resultater fikk ingen HPV-DNA-testresultater, hovedsakelig pga. utilstrekkelig cytologiprøvevolum.

Tabell 12: Populasjonen NILM ≥ 30 år: Absolutte og relative risikoer for ≥ CIN2 og ≥ CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test etter aldersgruppe (ujusterte estimater) ved baseline

	Alder	Assay-resultat	Aptima HPV Assay N=818		HPV-DNA-test N=800*	
			Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
≥ CIN2	30 til 39 år		N=383		N=376	
		Positiv	4,6 (7/153) (2,5, 5,9)	5,3 (1,1, 25,0)	3,3 (7/215) (1,8, 4,1)	2,6 (0,6, 12,4)
		Negativ	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Prevalens (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 år		N=435		N=424	
		Positiv	6,0 (7/116) (3,2, 8,5)	4,8 (1,4, 16,1)	4,5 (9/201) (2,9, 5,3)	10,0 (1,3, 78,1)
		Negativ	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
		Prevalens (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥ CIN3	30 til 39 år		N=383		N=376	
		Positiv	3,3 (5/153) (1,6, 4,1)	7,5 (0,9, 63,7)	2,3 (5/215) (1,1, 2,9)	3,7 (0,4, 31,7)
		Negativ	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
		Prevalens (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	≥ 40 år		N=435		N=424	
		Positiv	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Kan ikke beregnes	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Kan ikke beregnes
		Negativ	0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
		Prevalens (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*18 kvinner med Aptima HPV assay-resultater fikk ingen HPV-DNA-testresultater, hovedsakelig pga. utilstrekkelig cytologi-prøvevolum.

Justerte kliniske ytelsesestimater for Aptima HPV assay, inkludert sensitivitet, spesifisitet, PPV og NPV for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3, vises i Tabell 13, og det samme gjelder estimater for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen. Ujusterte kliniske ytelsesestimater vises i Tabell 14. Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen hadde lignende sensitivitet, mens spesifisiteten var signifikant høyere for Aptima HPV assay (ikke-overlappende 95 % KI-er). Prediktive verdiestimater for Aptima HPV assay var klinisk relevante og lignende estimatene for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen. NPV var lignende, men for deteksjonen av \geq CIN2 var PPV for Aptima HPV assay litt høyere enn PPV for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen (4,5 % mot 3,7 %).

Tabell 13: Populasjonen NILM \geq 30 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 (verifikasjonsbiasjusterte estimater) ved baseline

	Ytelse	Aptima HPV Assay		HPV-DNA-test	
		Estimat	(95 % KI)	Estimat	(95 % KI)
\geq CIN2	Sensitivitet (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Spesifisitet (%)	95,5	(95,1, 95,9)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,5	(2,7, 7,4)	3,7	(2,3, 6,1)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Prevalens (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
\geq CIN3	Sensitivitet (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Spesifisitet (%)	95,4	(95,0, 95,8)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,0	(1,6, 5,5)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,3, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prevalens (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Tabell 14: Populasjonen NILM \geq 30 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 (ujusterte estimater) ved baseline

	Ytelse	Aptima HPV Assay N=818		HPV-DNA-test N=800*	
		Estimat	(95 % KI)	Estimat	(95 % KI)
\geq CIN2	Sensitivitet (%)	70,0 (14/20)	(48,1, 85,5)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Spesifisitet (%)	68,0 (543/798)	(64,7, 71,2)	48,8 (381/781)	(45,3, 52,3)
	PPV (%)	5,2 (14/269)	(3,5, 6,6)	3,8 (16/416)	(2,9, 4,5)
	NPV (%)	98,9 (543/549)	(98,1, 99,5)	99,2 (381/384)	(98,1, 99,8)
	Prevalens (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
\geq CIN3	Sensitivitet (%)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Spesifisitet (%)	67,9 (548/807)	(64,6, 71,0)	48,5 (383/789)	(45,1, 52,0)
	PPV (%)	3,7 (10/269)	(2,5, 4,3)	2,4 (10/416)	(1,6, 2,7)
	NPV (%)	99,8 (548/549)	(99,2, 100)	99,7 (383/384)	(98,9, 100)
	Prevalens (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 kvinner med Aptima HPV assay-resultater fikk ingen HPV-DNA-testresultater, hovedsakelig pga. utilstrekkelig cytologiprøvevolum.

Direkte sammenligning av Aptima HPV assay på Panther System og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen demonstrerer lignende sensitivitet og statistisk signifikant forbedret spesifisitet for Aptima HPV assay sammenlignet med den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen for deteksjon av \geq CIN2, som vist av forholdstallene for sant positive og falskt positive forekomster (henholdsvis Tabell 15 og Tabell 16).

Tabell 15: Populasjonen NILM \geq 30 år: Forholdstall for sant positive forekomster (Aptima HPV Assay/ HPV-DNA-test) for kvinner med \geq CIN2 (ujusterte estimater) ved baseline

		HPV-DNA-test		Totalt
		Positiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Positiv	13	1	14 (73,7 %)
	Negativ	3	2	5
	Totalt	16 (84,2 %)	3	19
Forholdstall for sant positive forekomster = 0,88 (14/16) (95 % KI: 0,65, 1,10)				

Tabell 16: Populasjonen NILM \geq 30 år: Forholdstall for falskt positive forekomster (Aptima HPV Assay/ HPV-DNA-test) for kvinner med $<$ CIN2 (justerte estimater) ved baseline

		HPV-DNA-test		Totalt
		Positiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Positiv	223	19	242 (31,0 %)
	Negativ	177	362	539
	Totalt	400 (51,2 %)	381	781
Forholdstall for falskt positive forekomster = 0,61 (242/400) (95 % KI: 0,55, 0,66)				

NILM \geq 30 års populasjon: Aptima HPV assay klinisk ytelse Panther-systemets kliniske ytelse etter 3 års oppfølging

Det var 10843 kvinner på 30 år eller eldre med NILM cytologieresultater og gyldige Aptima HPV assay-resultater på Panther-systemet ved baseline som var godkjent for oppfølgingsfasen. Av kvinner uten \geq CIN2 fullførte 67,0 % (7247/10823) av kvinnene år 1 oppfølgings PAP-besøk, 60,3 % (6517/10814) år 2 og 58,7 % (6339/10807) for år 3. Generelt fullførte 58,8 % (6375/10843) av kvinnene studien (hadde \geq CIN2 ved baseline eller under oppfølging, og/eller fullførte nødvendige besøk).

Av de 10843 vurderbare kvinnene hadde 511 (4,7 %) positive Aptima HPV assay-resultater på Panther-systemet ved baseline. Av disse 511 kvinnene hadde 255 enten positiv eller negativ 3-årig sykdomsstatus basert på resultatene fra cytologi eller kolposkopi. De gjenværende 10332 kvinnene hadde negative resultater for Aptima HPV assay på Panther-systemet ved baseline. Av disse 10332 kvinnene hadde 5946 (57,5 %) enten positiv eller negativ 3-årig sykdomsstatus. Av de 6201 av kvinnene med 3-årig sykdomsstatus hadde 47 kvinner \geq CIN2 deriblant 23 med \geq CIN3; 6154 kvinner hadde normal CIN1 fra konsensus-histologisk granskningspanel. Baselineresultater fra Aptima HPV assay på Panther-systemet og kommersielt tilgjengelig HPV DNA assay, og den 3-årige sykdomsstatusen (inkluderer baseline og oppfølgingsvurdering) fra konsensus-histologisk granskningspanel er presentert i Tabell 17.

Tabell 17: NILM \geq 30 års populasjon: Klassifisering av godkjente kvinner for oppfølgingsfasen av baseline Aptima HPV assay-resultater, baseline HPV DNA prøveresultater og sykdomsstatus (\geq CIN2, \geq CIN3, ubekreftet) avgjort i baseline og oppfølgingsfaser

Aptima HPV Assay-resultater	HPV DNA-prøve	Totalt ant. Kvinner	Uten sykdomsstatus \geq CIN2		Bekreftet sykdomsstatus \geq CIN3		Ubekreftet sykdomsstatus	
			Syke kvinner (\geq CIN2)	Ikke syke kvinner (\geq CIN3)	Syke kvinner (\geq CIN2)	Ikke syke kvinner (\geq CIN3)	Manglet oppfølging	Ubestemt*
Positiv	Positiv	382	23	171	16	178	167	21
Positiv	Negativ	97	1	48	1	48	44	4
Positiv	Intet resultat**	32	2	10	1	11	17	3
Negativ	Positiv	281	5	129	2	132	130	17
Negativ	Negativ	9 452	15	5 476	3	5 488	3 756	205
Negativ	Intet resultat**	599	1	320	0	321	264	14
Totalt		10 843	47	6 154	23	6 178	4 378	264

*Kvinner som hadde unormale cytologi testresultater under oppfølging og som ikke etterpå hadde et etterfølgende resultat for konsensus-histologisk granskningspanel, og kvinner med utilstrekkelig cytologi på siste besøk. 174 kvinner med ubestemt sykdomsstatus gjennomførte oppfølging i.h.t. protokoll.

**631 kvinner med Aptima HPV assay-resultater hadde ikke HPV DNA-testresultater, primært på grunn av utilstrekkelig volum av cytologprøver.

Den 3-årige kumulative sykdomsrisikoen for (\geq CIN2 og \geq CIN3) er basert på Kaplan-Meier estimat (overlevelsesanalysr) og inkluderer sykdom oppdaget ved baseline eller oppfølging. Kvinner som hadde en viss sykdomsindikasjon (ASC-US eller mer alvorlige cytologieresultater), men uten resutater fra konsensus-historisk granskningspanel, ble inkludert i analysen ved hjelp av multippel imputeringsmetode for å forutsi antallet kvinner med sykdom som ville ha blitt identifisert hvis kvinnene hadde gjennomgått kolposkopi.

De 3-årige kumulative absolutte og relative risikoestimer for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 er vist i Tabell 18.

Tabell 18: NILM \geq 30 års populasjon: 3-årige kumulative absolutte og relative risikoestimer* for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV DNA-prøve ved baseline

	Assay-resultater	Aptima HPV Assay		HPV DNA-prøve	
		Absolutt risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)	Absolutt risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
\geq CIN2	Positive	7,90 (5,50, 11,27)	24,45 (13,85, 43,15)	6,43 (4,50, 9,14)	22,71 (12,20, 42,30)
	Negative	0,32 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Utbredelse (%)	0,68		0,68	
\geq CIN3	Positive	5,23 (3,34, 8,13)	57,11 (21,09, 154,62)	4,14 (2,62, 6,52)	51,34 (17,74, 148,58)
	Negative	0,09 (0,04, 0,23)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Utbredelse (%)	0,34		0,35	

*De 3-års kumulative risikoer justert for andre mulige skjevheter var lik risikoen i denne tabellen. På grunn av forutsette risikoforskjeller ved år 1 og år 2 for de to gruppene av kvinner i oppfølgingsstudien (de med kolposkopi ved baseline og de uten kolposkopi ved baseline) ble bare den 3-års kumulative risikoen for de kombinerte gruppene rapportert.

Den 3-års kumulerte utbredelsen av \geq CIN2 og \geq CIN3 hos kvinner med resultater for NILM cytologi ved baseline var henholdsvis 0,68 % og 0,34 %. Den relative risikoen for \geq CIN2 var 24,45 (95 % CI: 13.85, 43.15), noe som indikerer at en kvinne som er Aptima HPV assay-positiv på Panther-systemet er 24,45 ganger mer sannsynlig å ha \geq CIN2 enn en kvinne som er Aptima HPV assay-negativ. Den relative risikoen for \geq CIN3 var 57,11 (95 % CI: 21.09, 154.62).

Klinisk ytelse for Aptima HPV Assay med SurePath flytende cytologiprøver

SurePath flytende cytologiprøver ble oppsamlet fra canadiske kvinner (n = 558) som ble henvist til oppfølging på grunn av én eller flere unormale celleprøver, en HPV-infeksjon eller andre grunner. En alikvot (0,5 ml) av hver prøve ble overført til et Aptima prøveoverføringsrør og deretter behandlet med Aptima overføringsløsning. Ett enkelt replikat av hver prøve ble testet med Aptima HPV assay. En separat alikvot (1 ml) av hver prøve ble fjernet for evaluering med en kommersielt tilgjengelig HPV-PCR-test. Den kliniske sensitiviteten for deteksjon av sykdom, definert som et histologireultat \geq CIN3, ble beregnet for både Aptima HPV assay og HPV-PCR-testen, som vist i Tabell 19, med de positive og negative prediktive verdiene.

Tabell 19: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-PCR-test for deteksjon av \geq CIN3

Ytelse	Aptima HPV Assay N=558		HPV-PCR-test N=558	
	Estimat	(95 % KI)	Estimat	(95 % KI)
Sensitivitet (%)	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)
Spesifisitet (%)	58,7 (311/530)	(54,4 - 62,8)	49,1 (260/530)	(44,8 - 53,3)
PPV (%)	10,2 (25/244)	(8,4 - 11,7)	8,5 (25/295)	(7,0 - 9,5)
NPV (%)	99,0 (311/314)	(97,6 - 99,8)	98,9 (260/263)	(97,2 - 99,7)
Prevalens (%)	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

Ytelse av Aptima HPV-assay med prøvetaking og transport av cervikale prøver

Parede ThinPrep væskecytologiprøver og Aptima CSCT-settprøver ble innsamlet fra 735 deltakere. Én millimeter (1,0 ml) med hver ThinPrep væskecytologiprøve ble fortynnet med 2,9 ml Aptima prøvetransportmedium og et enkelt replikat med Aptima HPV-assayet på Tigris DTS-systemet. Ett enkelt replikat av hver CSCT-prøve ble testet med Aptima HPV-assayet. Aptima HPV-assayets prosentvise samsvar mellom ThinPrep væskecytologiprøven og CSCT-prøven ble bestemt, og resultatet vises i Tabell 20.

Det prosentvise positive samsvaret var 95,9 % (95 % KI: 92,6–97,8). Det prosentvise negative samsvaret var 95,5 % (95 % KI: 93,3–97,0). Det totale samsvaret var 95,6 % (95 % KI: 93,9–96,9). En sterk korrelasjon mellom væskecytologi- og transportsettprøver ble observert (kappa = 0,90).

Tabell 20: Totalt samsvar til Aptima HPV-assayresultater fra ThinPrep væskecytologiprøver og Aptima cervikale prøvetakings- og transportsett testet på Tigris DTS-systemet

		ThinPrep væskecytologiprøver		Samlet
		Positiv	Negativ	
Aptima CSCT-settprøve	Positiv	234	22	256
	Negativ	10	469	479
	Samlet	244	491	735

Positivt samsvar = 95,9 % (92,6–97,8)

Negativt samsvar = 95,5 % (93,3–97,0)

Totalt samsvar = 95,6 % (93,9–96,9)

Kappa-koeffisient = 0,90

Høyrisiko HPV-positive og høyrisiko HPV-negative kliniske prøver oppsamlet fra både screening- (rutinemessig besøk) og henviste (kolposkopibesøk) populasjoner med Aptima CSCT-sett, ble testet med Aptima HPV Assay på Panther og Tigris DTS System ved bruk av to reagenspartier. Samsvaret mellom Panther og Tigris DTS System for CSCT-prøver vises i Tabell 21.

For CSCT-prøver var det totale samsvaret mellom Panther og Tigris DTS Systems > 98 %, som vist i Tabell 21. Av de 632 kliniske prøvene som ble testet, var 69 CIN2+ og 38 var CIN3+. Sensitiviteten i Aptima HPV assay for deteksjon av CIN2+ var 97,1 % (95 % KI: 90,0-99,2 %) på Panther System og 98,6 % (95 % KI: 92,2-99,7) på Tigris DTS System. Sensitivitet for deteksjon av CIN3+ var 100 % (KI: 90,8-100 %) på både Panther og Tigris DTS Systems.

Tabell 21: Samsvar mellom Aptima HPV Assay-resultater fra Aptima CSCT-prøver testet på Tigris DTS og Panther Systems

		Tigris DTS System		Totalt
		Positiv	Negativ	
Panther System	Positiv	490	3	493
	Negativ	9	130	139
	Totalt	499	133	632

Generelt samsvar = 98,1 % (KI 96,7-98,9)

Positivt samsvar = 98,2 % (KI 96,6-99,0)

Negativt samsvar = 97,7 % (KI 93,6-99,2)

Analytisk sensitivitet

Deteksjonsgrensen (Limit of Detection, LoD) ved den kliniske cutoff er konsentrasjonen av HPV-RNA som gir et positivt resultat (over den kliniske cutoff) 95 % av tiden. Deteksjonsgrensen for Aptima HPV assay ble fastslått ved å teste fortynningspaneler med *in vitro*-transkripter (IVT) for alle 14 høyrisiko genotyper og 4 HPV-infiserte cellelinjer: SiHa, HeLa, MS751 og ME180 (ATCC, Manassas, Virginia, USA). For IVT-panelene ble prøvetransportmidler tilsatt IVT i ulike konsentrasjoner og deretter fortennet med individuelle negative ThinPrep flytende cytologiprøver før testing. For de HPV-infiserte cellepanelene ble sett med HPV-negative ThinPrep flytende cytologiprøver tilsatt HPV-infiserte celler i ulike konsentrasjoner og deretter fortennet med prøvetransportmiddel før testing. Tretti replikater for hvert kopinivå ble testet med hvert av to reagenspartier for totalt 60 replikater. Testing ble utført over 17 dager, med 1 til 12 kjøring per dag og 5 replikater for en gitt genotype og konsentrasjon testet i hver kjøring. 95 % deteksjonsgrensen ble beregnet ut fra Probit-regresjonsanalyse av positivitetsresultatene for hvert fortynningspanel.

Probit-analysresultatene i Tabell 22 viser at HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 og 68 hadde 95 % deteksjonsgrenser på under 100 kopier/reaksjon, og type 52, 58 og 66 hadde 95 % deteksjonsgrenser på mellom 100 og 500 kopier/reaksjon. De fire cellelinjene som ble testet, hadde 95 % deteksjonsgrenser på under 1 celle/reaksjon.

Tabell 22: Deteksjonsgrense ved klinisk cutoff for Aptima HPV Assay

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

*Kopier per reaksjon for *in vitro*-transkripter og celler per reaksjon for cellelinjer

Analysens presisjon

Presisjonen til Aptima HPV assay ble evaluert i to studier ved bruk av samme 20-elementers panel. Studie 1 ble utført på 3 steder, 2 eksterne og 1 internt, og studie 2 ble utført internt. Panelet inkluderte 13 HPV-positive elementer med konsentrasjoner ved eller over deteksjonsgrensen for analysen (forventet positivitet: $\geq 95\%$), 3 HPV-positive elementer med konsentrasjoner under deteksjonsgrensen for analysen (forventet positivitet: $> 0\%$ til $< 25\%$), og 4 HPV-negative elementer. HPV-positive panelementer ble tilberedt ved å tilsette *in vitro* RNA-transkripter (IVT) i PreservCyt-løsning fortynnet med prøvetransportmiddel (Specimen Transport Media, STM) eller HPV-infiserte kultiverte celler (SiHa, HeLa og MS751; ATCC, Manassas, Virginia, USA) i samlede negative ThinPrep flytende cytologi prøver fortynnet med STM. HPV-negative panelementer ble tilberedt med PreservCyt-løsning eller samlede negative ThinPrep flytende cytologi prøver fortynnet med STM.

I studie 1 utførte 2 operatører på hvert av de 3 teststedene (1 instrument per sted) 2 Aptima HPV assay-arbeidslister per dag (1 med hvert reagensparti) over 3 dager. Hver arbeidsliste inneholdt 3 replikater av hvert av elementene i reproducerbarhetspanelet. Ett hundre og åtte (108) individuelle prøverør ble testet for hvert panelement (3 steder x 1 instrument x 2 operatører x 2 partier x 3 arbeidslister x 3 replikater). I studie 2 ble testing utført internt over 13 dager med totalt 162 reaksjoner testet for hvert panelement (1 sted x 3 instrumenter x 3 operatører x 3 partier x 2 arbeidslister x 3 replikater).

Panelementene er beskrevet i Tabell 23a (panelementer med forventet positivt resultat) og Tabell 23b (panelementer med forventet negativt resultat), sammen med et sammendrag av samsvaret mellom forventede resultater og analytt S/CO-verdier ved 2,5., 50. og 97,5. persentil i S/CO-distribusjonen. Analytt S/CO-variabilitet for panelementene med forventet positivt resultat vises i Tabell 24 for studie 1 og Tabell 25 for studie 2.

Tabell 23a: Presisjonsstudie 1 og 2 for Aptima HPV Assay: Panelbeskrivelse, positiv-samsvar og persentildistribusjon av analytt S/CO-verdier for panelelementer med forventet positivt resultat

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/ reaksjon)	Studie 1 (3 teststeder)			Studie 2 (1 teststed)				
	% positivt samsvar (95 % KI)	Analytt S/CO persentil			% positivt samsvar (95 % KI)	Analytt S/CO persentil		
		2,5.	50.	97,5.		2,5.	50.	97,5.
HPV høy positiv klinisk prøve 1	100 (107/107) (96,5, 100)	21,16	29,64	33,63	100 (161/161) (97,7, 100)	22,50	26,84	30,67
HPV høy positiv klinisk prøve 2	100 (107/107) (96,5, 100)	25,98	29,77	36,03	100 (162/162) (97,7, 100)	25,00	28,61	33,99
HPV 16 IVT (1830 kopier)	100 (107/107) (96,5, 100)	10,45	11,18	12,40	100 (161/161) (97,1, 100)	10,40	11,07	11,75
HPV 18 IVT (1550 kopier)	100 (107/107) (96,5, 100)	13,09	14,55	18,08	100 (162/162) (97,7, 100)	11,26	13,47	15,63
HPV lav positiv klinisk prøve 1	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	0,00	9,93	11,03	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)	0,00	9,53	10,95
HPV lav positiv klinisk prøve 2	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	0,00	7,30	16,63	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)	0,00	7,56	19,67
HPV lav positiv klinisk prøve 3	100 (108/108) (96,6, 100)	2,80	10,19	17,08	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)	1,14	9,53	15,38
HPV lav positiv klinisk prøve 4	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	0,00	4,48	11,16	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)	0,00	4,66	12,00
HPV 16 IVT (183 kopier)	100 (102/102) (96,4, 100)	10,03	11,14	11,97	100 (162/162) (97,7, 100)	10,24	11,05	11,85
HPV 18 IVT (155 kopier)	100 (108/108) (96,6, 100)	4,87	12,01	15,21	100 (159/159) (97,6, 100)	7,82	11,59	13,84
MS751 celler (0,63 celler)	100 (108/108) (96,6, 100)	5,90	10,99	14,00	100 (162/162) (97,7, 100)	5,61	10,14	12,26
HeLa celler (0,35 celler)	100 (108/108) (96,6, 100)	1,43	6,19	13,28	100 (162/162) (97,7, 100)	3,24	7,88	12,58
SiHa celler (0,90 celler)*	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	0,00	9,80	11,04	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)	0,00	9,19	10,94

IVT = in vitro transkript

*Forventet % positivt samsvar ~95 %. Er muligens observert lavere pga. fremstillingsvariabilitet til panelmedlemmet.

Tabell 23b: Presisjonsstudie 1 og 2 for Aptima HPV Assay: Panelbeskrivelse, negativ-samsvar og persentildistribusjon av analytt S/CO-verdier for panelelementer med forventet negativt resultat

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/ reaksjon)	Studie 1 (3 teststeder)			Studie 2 (1 teststed)				
	% negativt samsvar (95 % KI)	Analytt S/CO persentil			% negativt samsvar (95 % KI)	Analytt S/CO persentil		
		2,5.	50.	97,5.		2,5.	50.	97,5.
MS751 celler (0,005 celler)	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	0,00	0,00	4,37	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	0,00	0,00	2,25
SiHa celler (0,008 celler)	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	0,00	0,00	1,53	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)	0,00	0,00	7,56
HeLa celler (0,02 celler)	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	0,00	0,00	3,95	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)	0,00	0,12	6,35
HPV-negativ klinisk prøve 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,33	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,07
HPV-negativ klinisk prøve 2	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	0,00	0,00	1,21	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,05
PreservCyt Solution 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,15	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,06
PreservCyt Solution 2	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,22	100 (161/161) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,09

Tabell 24: Presisjonsstudie 1 for Aptima HPV Assay: Signalvariabilitet for panelelementer med forventet positivt resultat

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon)	n	Gjen- nom- snittlig S/CO	Mellom instrumenter		Mellom operatører		Mellom partier		Mellom arbeidslister		Innen arbeidslister		Totalt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Høyt HPV-positiv klinisk prøve 1	107*	29,34	0,00	0,0	0,00	0,0	1,43	4,9	1,87	6,4	1,49	5,1	2,79	9,5
Høyt HPV-positiv klinisk prøve 2	107*	30,09	0,55	1,8	0,00	0,0	1,06	3,5	0,73	2,4	2,21	7,3	2,61	8,7
HPV 16 IVT (1830 kopier)	107*	11,20	0,09	0,8	0,16	1,4	0,03	0,3	0,14	1,3	0,46	4,1	0,52	4,6
HPV 18 IVT (1550 kopier)	107*	14,89	0,18	1,2	0,00	0,0	0,20	1,3	0,14	0,9	1,53	10,3	1,56	10,5
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 1	107*	8,24	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,23	39,2	3,23	39,2
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 2	108	7,07	0,00	0,0	0,41	5,8	0,00	0,0	0,00	0,0	4,57	64,7	4,59	65,0
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 3	108	10,23	0,26	2,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,32	12,9	3,23	31,6	3,49	34,2
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 4	108	4,68	0,50	10,7	0,20	4,2	0,00	0,0	0,99	21,1	3,02	64,6	3,22	68,9
HPV 16 IVT (183 kopier)	102*	11,09	0,08	0,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	2,3	0,54	4,9	0,61	5,5
HPV 18 IVT (155 kopier)	108	11,78	0,00	0,0	0,43	3,7	0,00	0,0	1,12	9,5	1,97	16,7	2,30	19,6
MS751-celler (0,63 celler)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
HeLa-celler (0,35 celler)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
SiHa-celler (0,90 celler)	107*	7,74	0,37	4,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,85	49,8	3,87	50,1

CV = variasjonskoeffisient; IVT = in vitro transkript ; SD = standardavvik

*Tolv prøver hadde ugyldige Aptima HPV assay-resultater (1 for høyt HPV-positiv klinisk prøve 1, 1 for høyt HPV-positiv klinisk prøve 2, 1 for HPV 16 IVT (1830 kopier), 1 for HPV 18 IVT (1550 kopier), 1 for lavt HPV-positiv klinisk prøve 1, 6 for HPV 16 IVT (183 kopier) og 1 for SiHa-celler (0,90 celler)).

Merknad: Variabiliteten fra noen faktorer kan være numerisk negative. Dette kan skje hvis variabiliteten på grunn av disse faktorene var svært liten. I disse tilfellene er SD og CV angitt som null.

Tabell 25: Presisjonsstudie 2 for Aptima HPV Assay: Signalvariabilitet for panelementer med forventet positivt resultat

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon)	n	Gjennom- snittlig S/CO	Mellom instrumenter		Mellom operatører		Mellom partier		Mellom arbeidslister		Innen arbeidslister		Totalt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Høyt HPV-positiv klinisk prøve 1	161*	26,81	0,75	2,8	0,00	0,0	0,91	3,4	0,48	1,8	1,84	6,9	2,24	8,3
Høyt HPV-positiv klinisk prøve 2	162	28,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,96	3,3	0,65	2,3	2,35	8,2	2,62	9,1
HPV 16 IVT (1830 kopier)	161*	11,07	0,14	1,2	0,00	0,0	0,05	0,5	0,16	1,4	0,32	2,9	0,39	3,5
HPV 18 IVT (1550 kopier)	162	13,34	0,14	1,1	0,12	0,9	1,00	7,5	0,31	2,3	0,75	5,6	1,31	9,8
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 1	162	7,57	0,56	7,5	0,55	7,3	0,63	8,3	0,00	0,0	3,61	47,7	3,75	49,5
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 2	162	7,59	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	5,25	69,2	5,25	69,2
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 3	161*	8,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	3,0	0,00	0,0	3,48	39,4	3,49	39,5
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 4	162	4,95	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	15,2	0,00	0,0	3,35	67,6	3,43	69,3
HPV 16 IVT (183 kopier)	162	11,02	0,13	1,2	0,11	1,0	0,12	1,1	0,13	1,2	0,54	4,9	0,59	5,4
HPV 18 IVT (155 kopier)	159*	11,40	0,16	1,4	0,17	1,5	1,21	10,6	0,23	2,0	1,17	10,3	1,72	15,0
MS751-celler (0,63 celler)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
HeLa-celler (0,35 celler)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
SiHa-celler (0,90 celler)	162	7,30	0,32	4,3	0,00	0,0	0,93	12,7	1,04	14,3	3,49	47,8	3,77	51,7

CV = variasjonskoeffisient; IVT = in vitro transkript ; SD = standardavvik

*Seks prøver hadde ugyldige Aptima HPV assay-resultater (1 for høyt HPV-positiv klinisk prøve 1, 1 for HPV 16 IVT (1830 kopier), 1 for lavt HPV-positiv klinisk prøve 3, 3 for HPV 18 IVT (155 kopier).

Merknad: Variabiliteten fra noen faktorer kan være numerisk negative. Dette kan skje hvis variabiliteten på grunn av disse faktorene var svært liten. I disse tilfellene er SD og CV angitt som null.

Kryssreaktivitet

Merknad: Testing med mulige kryssreaktive organismer for Aptima HPV-assayet ble utført med Tigris DTS-systemet. Aptima HPV-assayet ble først lansert på Tigris DTS-systemet i 2008. I 2011 ble indikasjonene utvidet til å bruke Aptima HPV-assayet på Panther-systemet. Panther-systemet er en alternativ, mindre instrumentplattform til Tigris DTS-systemet. Begge systemene er tiltenkt å helautomatisere amplifisert nukleinsyretesting av diagnostiske assayer. Utvalgt assay-ytelsestesting fullført på Tigris DTS-systemet ble utnyttet for å støtte assayytelse på Panther-systemet.

Den analytiske spesifisiteten til Aptima HPV-assayet ble evaluert med PreservCyt Solution-medium fortynnet 1:2,9 i STM og tilsatt dyrket bakterie, gjær eller sopp, dyrket virus eller *in vitro* HPV-transkripter med lav risiko. Organismene og testkonsentrasjonene identifiseres i Tabell 26. Studiekriteriene for å vurdere effekten av tilstedeværelse av

mikroorganisme på spesifisiteten i assayet, var basert på positivitet. Kryssreaktivitet ble observert med lavrisiko HPV-genotyper 26, 67, 70 og 82, men ikke med andre organismer som ble testet.

Tabell 26: Analytisk spesifisitetspanel: Organismer og konsentrasjon uten kryssreaktivitet

Organisme	Testkonsentrasjon Konsentrasjon med ingen Kryssreaktivitet	Organisme	Testkonsentrasjon Konsentrasjon med ingen kryssreaktivitet
Bakterier			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Micrococcus luteus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2x10 ⁷ CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	5x10 ⁷ CFU/mL	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Bacillus cereus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5x10 ⁷ CFU/mL
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	5x10 ⁷ CFU/mL
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae og Chlamydia trachomatis</i>	2,5x10 ⁷ CFU/ml 2,3x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3,2x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	6x10 ⁷ CFU/mL	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Providencia stuartii</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Ruminococcus productus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Fingoldia magna</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Serratia marcescens</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1x10 ⁸ CFU/ml		
Gjær/protozoer			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ celler/ml
Virus			
Adenovirus 2	1x10 ⁷ vp/ml	Herpes simplex virus 1	2,5x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
Cytomegalovirus	5,6x10 ² TCID ₅₀ /ml	Herpes simplex virus 2	5x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml

Tabell 26: Analytisk spesifisitetspanel: Organismer og konsentrasjon uten kryssreaktivitet (*fortsett*)

Organisme	Testkonsentrasjon Konsentrasjon med ingen Kryssreaktivitet	Organisme	Testkonsentrasjon Konsentrasjon med ingen kryssreaktivitet
Epstein-Barr-virus	4,3x10 ⁶ vp/ml	SV40	1,2 x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
HIV-1	1,0x10 ⁶ kopier/ml		
Ikke målrettede HPV-genotyper			
HPV 6	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 61	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 11	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 67	1 kopi/ml
HPV 26	2,5 kopier/ml	HPV 69	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 30	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 70	1 kopi/ml
HPV 34	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 71	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 42	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 73	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 43	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 81	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 44	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 82	1 kopi/ml
HPV 53	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 85	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 54	2,5x10 ⁶ kopier/ml		

vp = virale partikler, CFU = koloniformende enheter, TCID₅₀ = vevskulturinfeksiøs dose 50

Merknad: Uthevet tekst indikerer typer der kryssreaktivitet (> 5 % positivitet) ble observert når testet ved konsentrasjoner som var større enn den som står anmerket i tabellen.

Den analytiske sensitiviteten til Aptima HPV-assayet ved tilstedeværelse av mikroorganismer ble evaluert med det samme panelet som er beskrevet i Tabell 26, som også ble tilsatt en lav konsentrasjon av HPV-infiserte SiHa-celler (1 celle per reaksjon). Studiekriteriene for å vurdere effekten av tilstedeværelse av mikroorganisme på sensitiviteten i assayet var basert på positivitet. Sensiviteten til Aptima HPV-assayet ble ikke påvirket av noen av organismene som ble testet.

Interferens

Merknad: Testing med mulige interfererende stoffer for Aptima HPV-assayet ble utført med Tigris DTS-systemet. Aptima HPV-assayet ble først lansert på Tigris DTS-systemet i 2008. I 2011 ble indikasjonene utvidet til å bruke Aptima HPV-assayet på Panther-systemet. Panther-systemet er en alternativ, mindre instrumentplattform sammenlignet med Tigris DTS-systemet. Begge systemene er tiltenkt å helautomatisere amplifisert nukleinsyrestesting av diagnostiske assayer. Utvalgt assay-ytelsestesting fullført på Tigris DTS-systemet ble utnyttet for å støtte assay-ytelse på Panther-systemet.

Stoffene som beskrives i Tabell 27, ble tilsatt enkeltvis i PreservCyt Solution med 1 % og 10 % v/v eller w/v, fortynnet med STM og deretter testet med Aptima HPV-assayet. Alle stoffer ble testet med tilstedeværelse eller uteblivelse av HPV-infiserte dyrkede celler (SiHa, 3 celler/reaksjon). Interferens ble observert ved to av de sju glidemidlene som inneholdt polyquaternium 15 og ett av de fem antifungale legemidlene som inneholdt tiokonazol. Interferens ble ikke observert med noen av de andre stoffene som ble testet.

Tabell 27: Stoffer testet for mulig interferens med Aptima HPV-assayet

Produktkategori	Produktmerke eller -type	Høyeste konsentrasjon* testet som ikke interfererer med assay- ytelsen
Glidemiddel	KY Sensual Mist	10 % v/v
	KY Warming Jelly	10 % w/v
	KY Warming Liquid	10 % v/v
	Personal Lubricant med CVS-merke	10 % w/v
	Warming Massage Lotion og Personal Lubricant med Target-merke	10 % v/v
	Astroglide Personal Lubricant	0,3 % w/v (0,075 % w/v testprøve)
	Lubricating Liquid med Brand-merke	0,1 % v/v (0,025 % v/v testprøve)
Spermicid	Gynol II Vaginal Contraceptive Original Formula	10 % w/v
	Gynol II Vaginal Contraceptive Extra Strength	10 % w/v
	Delfen Vaginal Contraceptive Foam	10 % w/v
	Encare Vaginal Contraceptive	10 % w/v
	Conceptrol Vaginal Contraceptive	10 % w/v
Antifungal/ Antikløe medikament	Vagisil Maximum Strength	10 % w/v
	Monistat Soothing Care	10 % w/v
	Monistat 3 kombinasjonspakke	10 % w/v
	Target-merke tiokonazol 1	0,3 % w/v (0,075 % w/v testprøve)
	Target-merke miconazol 3	10 % w/v
Iseddik	EMD M/N AX0073-11	10 % v/v
Fullblod	Fullblod	10 % v/v

*Personlige glidemidler som inneholder polykvaternium 15.

Pre- og postcytologi ThinPrep væskecytologiprøver prosessert på ThinPrep 2000-prosessor

Testing ble utført for å demonstrere ekvivalensen til kliniske ThinPrep væskebaserte utstryksprøver med alikvoter fjernet før og etter prosessering på ThinPrep 2000-prosessor. Femti (50) pre- og postprosesserte prøvepar ble testet med hvert av de tre reagenspartiene, totalt 150 prøvesett. Totalt samsvar mellom de pre- og postprosesserte prøvene var 96,0 % (KI 95 %: 91,6 %–98,2 %). Det positive samsvaret (ved bruk av postprosesserte prøver som referanse) var 95,6 % (KI 95 %: 89,2 %–98,3 %) og det negative samsvaret var 96,6 % (KI 95 %: 88,5 %–99,1 %). Kappa-koeffisienten var 0,92.

Pre- og postcytologi ThinPrep væskecytologiprøver prosessert på ThinPrep 5000-prosessor

Testing ble utført for å bestemme samsvaret til ThinPrep væskecytologiprøver i PreservCyt Solution testet på Aptima HPV-assayet før og etter prosessering på ThinPrep 5000-prosessen. Totalt 200 fabrikkerte ThinPrep væskecytologiprøver (100 HPV-positive, 100 HPV-negative) ble evaluert i Aptima HPV-assayet før og etter prosessering på ThinPrep 5000-prosessen. Studien viste sammenlignbar ytelse mellom pre- og postcytologiske prøver ved alle konsentrasjonene som ble testet (Tabell 28).

Tabell 28: Pre- og postcytologiske prøveresultater

		Precytologi			
		Positive prøver (over C95)		Negative prøver (under C95)	
		Tilsatt HeLa ved ~10X LoD (95 % KI)	Tilsatt HeLa ved 1,5–3X LoD (95 % KI)	Tilsatt HeLa ved 0,05X LoD (95 % KI)	Uten tilsetning (95 % KI)
Postcytologi	Positivt prosentvist samsvar	100,0	98,7	0,0	I/R
		(83,9, 100,0)	(93,2, 99,8)	(0,0, 79,3)	
		20/20	78/79	0/1	
	Negativt prosentvist samsvar	I/R	0,0	97,4	100,0
			(0,0, 79,3)	(86,8, 99,5)	(94,0, 100,0)
			0/1	38/39	60/60
Samlet		20	80	40	60

KI = konfidensintervall

Pre- og postcytologi ThinPrep væskecytologiprøver prosessert på Genesis-prosessor

Testing ble utført for å demonstrere ekvivalensen til kliniske ThinPrep væskebaserte utstryksprøver med alikvoter fjernet før og etter prosessering på Genesis-prosessen. To unike alikvoter ble testet fra hver preprosessert prøve. Fra prøver der resultater fra begge preprosesserte alikvoter samsvarte, ble et sammensatt preprosessert referanserresultat deretter brukt til å beregne samsvar med en postprosessert alikvot fra samme prøven. Ved 2068 prøver med et sammensatt referanserresultat, var det totale samsvaret mellom preprosesserings- og postprosesseringsresultater 98,2 % (95 % KI 97,5–98,7 %). Det positive samsvaret var 97,9 % (95 KI 94,7–99,2 %) og det negative samsvaret var 98,2 % (95 % KI: 97,5–98,7 %).

Bibliografi

1. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)*. **110(5)**:525-41.
2. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer*. **108(3)**:329-33. Erratum in: *Int J Cancer*. **108(6)**:945.
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., S. Franceschi, R. Howell-Jones, P. J. Snijders, G. M. Clifford.** 2010. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*, n/a. doi: 10.1002/ijc.25396.
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. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol*. **32 Suppl 1**:S16-24.
10. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer*. **64(3)**:211-5.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2010; **20(8)**:1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011; **49(2)**:557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer*. 2011;**129**:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology*. 2012;**125**:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2013;**23(3)**:513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer*. 2013;**108**:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, Lyng E.** Prevalence of human papillomavirus infection in unselected SurePath samples using the APTIMA HPV mRNA assay. *The Journal of Molecular Diagnostics*:2013;**15(5)**:670-7.
18. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lyng E.** A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer*. 2015;**51**:1456-66.
19. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lyng E.** Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above. *PLoS One*. 2016 Jan 20;**11(1)**:e0147326.
20. **Preisler S, Rebolj M, Ejegod DM, Lyng E, Rygaard C, Bonde J.** Cross-reactivity profiles of hybrid capture II, cobas, and APTIMA human papillomavirus assays: split-sample study. *BMC Cancer*. 2016;**16**:510.
21. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lyng E.** Differential Detection of Human Papillomavirus Genotypes and Cervical Intraepithelial Neoplasia by Four Commercial Assays. *Journal of Clinical Microbiology*. 2016;**54(11)**:2669-2675.
22. **Rebolj M, Njor S, Lyng E, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Bonde J.** Referral population studies underestimate differences between human papillomavirus assays in primary cervical screening. *Cytopathology*. 2017;**28(5)**:419-428.
23. **Heideman DAM, Hesselink AT, van Kemenade FJ, Iftner T, Berkhof J, Topal F, et al.** The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013;**51(11)**:3653-7.
24. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlager R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods*. 2015;**221**:95-9.
25. **Iftner T, Becker S, Neis KJ, Castanon A, Iftner A, Holz B, et al.** Head-to-Head Comparison of the RNA368 Based Aptima Human Papillomavirus (HPV) Assay and the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in a Routine Screening Population of Women Aged 30 to 60 Years in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015;**53**:2509-16.

26. **Iftner T, Neis KJ, Castanon A, Landy R, Holz B, Woll-Herrmann A, et al.** Longitudinal Clinical Performance of the RNA-Based Aptima Human Papillomavirus (AHPV) Assay in Comparison to the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in Two Consecutive Screening Rounds with a 6-Year Interval in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*. 2019;57(1):e01177-18.
27. **Maggino T, Sciarrone R, Murer B, Dei Rossi MR, Fedato C, Maran M, et al.** Screening women for cervical cancer carcinoma with a HPV mRNA test: first results from the Venice pilot program. *British Journal of Cancer* volume 115, pages 525-532(2016).
28. **Zorzi M, Del Mistro A, Giorgi Rossi P, Laurino L, Battagello J, Lorio M, et al.** Risk of CIN2 or more severe lesions after negative HPVmRNA E6/E7 overexpression assay and after negative HPV-DNA test: Concurrent cohorts with a 5-year follow-up. *International Journal of Cancer*. 2020 Jun 1;146(11):3114-3123.
29. **Cook DA, Smith LW, Law J, Mei W, van Niekerk DJ, Ceballos K, et al.** Aptima HPV Assay versus Hybrid Capture® 2 HPV test for primary cervical cancer screening in the HPV FOCAL trial. *Journal of clinical virology* 2017;87:23-29.
30. **Cook DA, Smith LW, Law JH, Mei W, Gondara L, van Niekerk DJ, et al.** Comparative performance of human papillomavirus messenger RNA versus DNA screening tests at baseline and 48 months in the HPV FOCAL trial. *Journal of Clinical Virology*. 2018;108:32-37.
31. **Huijsmans CJ, Geurts-Giele WR, Leeijen C, Hazenberg HL, van Beek J, de Wild C, et al.** HPV Prevalence in the Dutch cervical cancer screening population (DuSC study): HPV testing using automated HC2, cobas and Aptima workflows. *BMC Cancer*. 2016;16(1):922.
32. **Loonen AJM, Huijsmans CJJ, Geurts-Giele WRR, Leeijen C, van der Linden JC, van den Brule, AJC.** Performance analysis of high-throughput HPV testing on three automated workflows. *APMIS* 2020; 128: 497- 505.
33. **Lindroth Y, Borgfeldt C, Thorn G, Bodelsson G, Forslund O.** Population-based primary HPV mRNA cervical screening compared with cytology screening. *Preventative Medicine*. 2019;124:61-66.
34. **Forslund O, Miriam Elfström K, Lamin H, Dillner J.** HPV-mRNA and HPV-DNA detection in samples taken up to seven years before severe dysplasia of cervix uteri. *International Journal of Cancer*. 2019 Mar 1;144(5):1073-1081.
35. **Sangrajrang S, Laowahutanont P, Wongsena M, Muwonge R, Imsamran W, Ploysawang P, Basu P.** Human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA primary cervical cancer screening: Evaluation and triaging options for HPV-positive women. *Journal of Medical Screening*. 2019 Dec;26(4):212-218.
36. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. *Annals Int Med*. **148**:493.
37. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet*. **366**, 991.
38. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** 2013. Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. **208(2)**:144-145.
39. **Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D.** 2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests. 2007. *Am J Obstet Gynecol* 197 (4); 346-355.
40. **Pretorius R.G., W. H. Zhang, J. L. Belinson, et al.** Colposcopically directed biopsy, random cervical biopsy, and endocervical curettage in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia II or worse. 2004. *Am J Obstet Gynecol*. **191**:430-434.
41. **Pretorius R.G., R. J. Kim, J. L. Belinson, P. Elson, Y-L Qiao.** Inflation of sensitivity of cervical cancer screening tests secondary to correlated error in colposcopy. 2006. *J Low Genit Tract Dis*. **10(1)**:5-9.
42. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
43. **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.
44. **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.

Kontaktinformasjon og revisjonshistorikk



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

For å finne e-postadressen og telefonnummeret til landsspesifikk teknisk støtte og kundeservice besøk www.hologic.com/support.

Dersom det skjer alvorlige hendelser i forbindelse med enheten i EU, bør det rapporteres til produsenten og den ansvarlige myndigheten i medlemslandet der brukeren og/eller pasienten er etablert.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris og tilhørende logoer, er varemerker og/eller registrerte varemerker som tilhører Hologic, Inc. og/eller deres datterselskaper i USA og/eller andre land.

SurePath og PrepStain er varemerker som tilhører TriPath Imaging, Inc.

Alle andre varemerker som kan forekomme i dette pakningsvedlegget, tilhører sine respektive eiere.

Dette produktet kan være dekket av en eller flere USA-patenter, angitt på www.hologic.com/patents.

©2016-2023 Hologic, Inc. Med enerett.

AW-22202-1801 rev. 001

2023-03

Revisjonshistorikk	Dato	Beskrivelse
AW-22202 rev. 001	Mars 2023	<ul style="list-style-type: none"> • Utarbeidet bruksanvisning for Aptima™ HPV-assayet (Panther™-system) AW-22202 rev. 001 basert på AW-14517 rev. 007 for regulatorisk samsvar med IVDR. • Oppdaterte Tiltenkt bruk ved å fjerne henvisning til bruk av Tigris DTS-systemet. • Tilføyde Sammendrag av sikkerhet og ytelse. • Oppdaterte fareinformasjon som gjelder EU. • Oppdaterte delene Advarsler og forholdsregler, Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser, Prøvetaking og oppbevaring, Reagenser og materialer som leveres, Nødvendige materialer, men som er tilgjengelig separat, Testeprosedyre for Panther-systemet, Begrensinger, Assaypresisjonstabeller, Kryssreaktivitet, Interferens og Bibliografi. • Oppdaterte kontaktinformasjon inkludert: EU-representant, CE-merke, informasjon om den australske representanten og teknisk støtte. • Diverse oppdateringer stil og format.