

Aptima™ HPV Assay (Panther™ System)

Brugsanvisning
Til *in vitro* diagnostisk brug
Kun til eksport fra USA

Generel information	2
Tilsligtet anvendelse	2
Resumé og forklaring af testen	2
Funktionsprincip	3
Oversigt over sikkerhed og præstation	4
Advarsler og forholdsregler	4
Krav til opbevaring og håndtering af reagenser	6
Indsamling og opbevaring af prøver	7
Panther System	9
Vedlagte reagenser og materialer	9
Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat	10
Valgfri materialer	11
Fremgangsmåde ved testning på Panther System	11
Bemærkninger til fremgangsmåden	13
Kvalitetskontrolprocedurer	14
Fortolkning af test	15
Begrænsninger	16
Panther Systems forventede resultater: Prævalens af højrisiko-HPV mRNA	18
Panther Systems analysepræstation	21
Bibliografi	49
Kontaktinformation og revisionshistorik	51

Generel information

Tilsligtet anvendelse

Aptima HPV Assay (Aptima HPV-analysen) er en targetamplifikationstest med nukleinsyreprobe til *in vitro* kvalitativ detektion af E6/E7 virusbudbringer RNA (mRNA) fra 14 human papillomavirus (HPV) højrisikotyper (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Aptima HPV Assay skelner ikke mellem de 14 højrisikofyldte typer.

- Aptima HPV Assay er indiceret til brug til screening af patienter med ASC-US (atypiske pladeceller af ubestemt betydning) resultater af Pap-test for at fastslå behovet for henvisning til kolposkopi. Resultaterne af denne test har ikke til formål at forhindre kvinder i at fortsætte til kolposkopi.
- Aptima HPV Assay kan anvendes sammen med cervikal cytologi til supplerende screening (samtidig testning) for at vurdere tilstedeværelse eller fravær af højrisiko-typer af HPV. Disse oplysninger sammen med lægens vurdering af den cytologiske anamnese, andre risikofaktorer og professionelle retningslinjer, kan bruges til at vejlede patientbehandling.
- Aptima HPV Assay kan anvendes som en første-linje primær screeningstest, med eller uden cervikal cytologi, til at identificere kvinder med øget risiko for udvikling af cervikal cancer eller tilstedeværelse af en høj grad af sygdom. Disse oplysninger sammen med lægens vurdering af patientens screeningsanamnese, andre risikofaktorer og professionelle retningslinjer, kan bruges til at vejlede patientbehandling.

Aptima HPV Assayet kan anvendes til at teste følgende prøvetyper på Panther System: cervikale prøver udtaget i ThinPrep™ Pap Test-hætteglas, der indeholder PreservCyt™ opløsning før eller efter Pap-behandling, cervikale prøver udtaget med Aptima cervikalt prøveudtagnings- og transportkit eller cervikale prøver udtaget i SurePath konserveringsmiddelvæske.

Resumé og forklaring af testen

Cervikal cancer er en af de mest almindelige kræftformer i verden hos kvinder. HPV er den ætiologiske faktor, der er ansvarlig for mere end 99 % af alle tilfælde af cervikal cancer.^{1, 2, 3} HPV er et hyppigt forekommende seksuelt overført DNA-virus, der består af mere end 100 genotyper.¹

HPV-virusgenomet er et dobbeltstrengt, cirkulært DNA med ca. 7900 basispar i længde. Genomet har otte overlappende åbne læserammer. Der er seks tidlige (E) gener, to sene (L) gener og én utranslateret lang kontrolregion. L1- og L2-generne koder de store og mindre kapsidproteiner. Tidlige gener regulerer replikation af HPV-virus. Generne E6 og E7 fra højrisikofyldte HPV-genotyper er kendte onkogenet. Protein, der er udtrykt fra E6/E7 polycistronisk mRNA ændrer de cellulære funktioner for p53 og retinoblastomprotein, hvilket fører til, at celleyklusens kontrolpunkter forstyrres og det cellulære genom bliver ustabil.^{6, 5}

Fjorten HPV-genotyper betragtes som patogene eller højrisiko for livmoderhals sygdom.⁵ Flere undersøgelser har knyttet genotyperne 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 og 68 til sygdomsprogression.^{2, 6, 7} Kvinder med en vedvarende infektion med én af disse typer har en øget risiko for at udvikle alvorlig dysplasi eller livmoderhalskræft.^{5, 8}

HPV-infektioner er meget almindelige, og HPV-infektioner forsvinder i løbet af 6 til 12 måneder hos de fleste kvinder.^{4, 2, 12} Tilstedeværelsen af HPV-nukleinsyre betyder ikke, at der er cervikal dysplasi eller livmoderhalskræft til stede. En effektiv tilgang til detektion af cervikal sygdom er imidlertid at targettere de onkogeniske elementer af HPV, der fremmer persisterende virusinfektion og cellulær transformation.³

Klinisk præstation af Aptima HPV Assay i primær screening for cervikal cancer

Aptima HPV-assayets kliniske præstation, når det anvendes som primær screeningsmetode, er blevet undersøgt i flere undersøgelser af uafhængige investigatorer. Mindst 25 peer-reviewed publikationer¹¹⁻³⁵ fra 15 separate kliniske undersøgelser rapporterer om Aptima HPV's præstation i primær screening af kvinder, der er blevet tilmeldt i elleve lande (Kina, Canada, Frankrig, Mexico, England, Danmark, Holland, USA, Tyskland, Sverige og Thailand). Dataene fra disse undersøgelser viser, at Aptima HPV har samme kliniske præstation som andre klinisk validerede HPV-tests, når denne anvendes til primær screening for livmoderhalskræft (præ-cancer og cancer).

Funktionsprincip

Aptima HPV Assay omfatter tre hovedtrin, som finder sted i et enkelt reagensglas: target capture, targetamplifikation ved transkriptionsmedieret amplifikation (Transcription-Mediated Amplification, TMA)⁴² og detektion af amplifikationsprodukterne (amplicon) vha. hybridiseringsbeskyttelsesanalysen (Hybridization Protection Assay, HPA).⁴³ Analysen inkorporerer en intern kontrol (IC) til overvågelse af capture, amplifikation og detektion af nukleinsyre, såvel som operatør- eller instrumentfejl.

Prøver opsamles i eller overføres til et reagensglas, som indeholder prøvetransportmedie (STM), der lyserer cellerne, frigiver mRNA'en og beskytter den mod nedbrydning under opbevaring. Når Aptima HPV Assay udføres, isoleres target-mRNA'en fra prøven vha. capture-oligomerer, som er forbundet med magnetiske mikropartikler. Capture-oligomerer indeholder sekvenser, der er komplementære til specifikke regioner i HPV mRNA-target-molekylerne, samt en streng af deoxyadenosinrester. Under hybridiseringstrinnet bindes de sekvensspecifikke capture-oligomerregioner til specifikke HPV mRNA-target-molekyleregioner. Capture-oligomer- og target-komplekset indfanges dernæst fra opløsningen ved at sætte temperaturen på reaktionen ned til stuetemperatur. Denne temperaturreduktion bevirker, at der kan forekomme hybridisering mellem deoxyadenosinregionen på capture-oligomeret og polydeoxythymidin-molekylerne, der er kovalent forbundet med de magnetiske partikler. Mikropartiklerne, inkl. de indfangede HPV mRNA-target-molekyler, der er bundet til dem, trækkes til side i reaktionsglasset med magneter, og supernatanten aspireres. Partiklerne vaskes, så resterende prøvematrix, der kan indeholde amplifikationshæmmere, fjernes.

Når target capture er færdig, amplificeres HPV mRNA via TMA, som er en transkriptionsbaseret nukleinsyreamplifikationsmetode, der anvender to enzymer, MMLV-revers transkriptase og T7 RNA-polymerase. Revers transkriptase bruges til at generere en DNA-kopi af target mRNA-sekvensen, som indeholder en promotorsekvens for T7 RNA-polymerase. T7 RNA-polymerase producerer flere kopier af RNA-amplicon fra DNA-kopiskabelonen.

Detektion af ampliconet opnås af HPA vha. enkeltstrengede nukleinsyreprober med kemiluminescerende mærker, som er komplementære til ampliconet. De mærkede nukleinsyreprober hybridiserer specifikt til ampliconet. Selektionsreagenset skelner mellem hybridiserede og ikke-hybridiserede prober ved at inaktivere mærket på de ikke-hybridiserede prober. På dette detektionstrin måles lys, der afgives fra de mærkede RNA:DNA-hybrider, som foton signaler kaldet relative lysenheder (Relative Light Units, RLU) i et luminometer. De endelige analyseresultater fortolkes på grundlag af analyttens signal-til-cutoff værdi (S/CO).

Interne kontroller (IC) føjes til hver reaktion vha. target capture reagens. Den interne kontrol (IC) overvåger analysens target capture, amplifikation og detektionstrin. Internt kontrolsignal i hver reaktion skelnes fra HPV-signalet vha. differentieret lysemissionskinetik fra prober med forskellige mærker.⁴⁴ Ampliconspecifik for interne kontroller detekteres vha. en probe med hurtig lysemission (flasher). Amplicon specifik for HPV detekteres vha. prober med relativt langsommere lysemissionskinetik (glower). Dual Kinetic Assay (DKA) er en metode, som bruges til at skelne mellem signaler fra flasher- og glowermærkerne.⁴⁴

Oversigt over sikkerhed og præstation

SSP (Summary of Safety and Performance) (Oversigt over sikkerhed og præstation) er tilgængelig i den europæiske database for medicinsk udstyr (Eudamed), hvor den er knyttet til udstyrsidentifikationer (Basis UDI-DI). For at finde SSP'en for Aptima HPV skal du henvise til BUDI (Basis unik udstyrsidentifikation), som er: **54200455DIAGAPTHPVBR**.

Advarsler og forholdsregler

- A. Til *in vitro* diagnostisk brug.
- B. Til professionel brug.
- C. For yderligere specifikke advarsler og forholdsregler henvises til *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Brugervejledningen til Panther/Panther Fusion System).

Vedrørende laboratoriet

- D. Brug kun medfølgende eller specificerede laboratorieartikler til engangsbrug.
- E. Rutinemæssige laboratorieforholdsregler skal følges. Der må hverken spises, drikkes eller ryges i arbejdsområderne. Brug engangshandsker uden pudder, beskyttelsesbriller og laboratoriekittel ved håndtering af prøver og kitreagenser. Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og kitreagenser.
- F. **Advarsel: Irritant og ætsende stof:** Undgå, at Auto Detect 2 kommer i kontakt med huden, øjnene og slimhinderne. Hvis denne væske kommer i kontakt med huden eller øjnene, vaskes det pågældende sted med vand. Hvis denne væske spildes, skal den fortyndes med vand, inden den tørres op.
- G. Arbejdsflader, pipetter og andet udstyr skal regelmæssigt dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning. Se *Fremgangsmåde ved testning på Panther System* for flere oplysninger.

Vedrørende prøver


- H. Under forsendelse og opbevaring af prøver skal korrekte temperaturforhold bevares for at sikre prøvens integritet. Prøvernes stabilitet er ikke blevet evalueret under andre forsendelses- og opbevaringsforhold end de anbefalede.
- I. Udløbsdatoer angivet på prøveudtagnings-/overførselskit og reagensglas vedrører udtagnings-/overførselsstedet og ikke testlaboratoriet. Prøver, der udtages/overføres på et tidspunkt før disse udløbsdatoer, er gyldige til testning, forudsat at de er blevet transporteret og opbevaret i overensstemmelse med den relevante indlægsseddel, også selv om disse udløbsdatoer er passeret.
- J. Prøver kan være infektiøse. Der skal tages generelle forholdsregler ved udførelse af denne analyse. Korrekte håndterings- og bortskaffelsesmetoder bør etableres af laboratorielederen. Kun personale, der er korrekt oplært i håndtering af infektiøse materialer, bør have tilladelse til at udføre denne procedure.
- K. Undgå krydskontaminering under prøvehåndteringstrinnene. Pas på, at prøvebeholdere ikke rører hinanden, og bortskaf brugte materialer uden at føre dem hen over åbne beholdere. Skift handsker, hvis de kommer i kontakt med prøvemateriale.
- L. Under visse forhold kan der løbe væske ud fra hætterne på reagensglassene ved gennemboringen. Se *Fremgangsmåde ved testning på Panther System* for flere oplysninger.

- M. ThinPrep væskebaserede cytologiprøver og prøver fra prøveudtagnings- og transportkit til cervikale prøver (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) skal afvises, hvis en opsamlingsanordning er blevet efterladt i prøvereagensglasset.
- N. SurePath væskebaserede cytologiprøver skal afvises, hvis der ikke er en opsamlingsenhed i hætteglasset.

Vedrørende analyse

- O. Opbevar reagenserne ved de angivne temperaturer. Analysens præstation kan påvirkes, hvis der anvendes forkert opbevarede reagenser.
- P. Undgå mikrobiel og ribonukleasekontaminering af reagenser.
- Q. Kittet må ikke anvendes efter udløbsdatoen.
- R. Prøvereagenser eller kalibratorer fra kit med forskellige lotnumre må ikke byttes om med hinanden, blandes eller kombineres.
- S. Aptima Assay-væsker og Aptima Auto Detect-reagenser er ikke en del af hovedlottet, så der kan anvendes et hvilket som helst lot.
- T. Grundig blanding af analysereagenserne er nødvendig for at opnå nøjagtige analyseresultater.
- U. Der skal anvendes spidser med hydrofobiske propper.
- V. Visse af reagenserne i dette kit er mærket med risiko- og faresymboler.

Bemærkning: Farekommunikation afspejler EU-sikkerhedsdatabladenes (SDS) klassificeringer. For fareoplysninger, der er specifikke for en given region, henvises der til det regionsspecifikke sikkerhedsdatablad i Safety Data Sheet Library (Sikkerhedsdatabladsbiblioteket) på www.hologic.com/sds. For mere information om symbolerne henvises til symbolforklaringen på <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Fareerklæring EU	
	<p>Selection Reagent BORIC ACID 1 – 5%</p> <p>ADVARSEL H315 - Forårsager hudirritation H319 - Forårsager alvorlig øjenirritation</p>
—	<p>Target Capture Reagent HEPES 5 – 10 % EDTA 1-5 % Lithiumhydroxid, monohydrat 1 – 5 %</p> <p>—</p> <p>H412 – Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger P273 – Undgå udledning til miljøet P280 – Bær øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse</p>
—	<p>Amplification Reagent HEPES 25 - 30%</p> <p>—</p> <p>H412 - Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger P273 - Undgå udledning til miljøet P280 - Bær øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse</p>

—	—	<p>Enzyme Reagent <i>HEPES 1 - 5%</i></p> <p>H412 - Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P273 - Undgå udledning til miljøet P280 - Bær øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.</p>
—	—	<p>Probe Reagent <i>LAURYL SULFATE LITHIUM SALT 35 - 40%</i> <i>SUCCINSYRE 10-15 %</i> <i>LITHIUM HYDROXIDE MONOHYDRATE 10 - 15%</i></p> <p>H412 - Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger P273 - Undgå udledning til miljøet P280 - Bær øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse</p>

Krav til opbevaring og håndtering af reagenser

Brug ikke reagenser efter udløbsdatoen angivet på reagensglassene. Se herunder for yderligere opbevaringsanvisninger.

- A. Følgende reagenser opbevares ved 2 °C til 8 °C (nedkølet) ved modtagelsen:
 - Amplifikationsreagens til HPV
 - Enzymreagens til HPV
 - Probereagens til HPV
 - HPV-reagens til intern kontrol
 - Positive kalibratorer til HPV og negative kalibratorer
- B. Følgende reagenser opbevares ved 15 °C til 30 °C (stuetemperatur):
 - Amplifikationsrekonstitutionsopløsning til HPV
 - HPV-enzymrekonstitutionsopløsning
 - HPV-proberekonstitutionsopløsning
 - HPV-target capture-reagens
 - HPV-selektionsreagens
- C. Efter rekonstituering er følgende reagenser stabile i 30 dage ved opbevaring ved 2 °C til 8 °C:
 - Amplifikationsreagens til HPV
 - Enzymreagens til HPV
 - Probereagens til HPV
- D. Target capture arbejdsreagenset (working Target Capture Reagent, wTCR) er stabilt i 30 dage ved opbevaring ved 15 °C til 30 °C. Må ikke sættes i køleskab.
- E. Bortskaf alle ubrugte rekonstituerede reagenser og wTCR efter 30 dage eller efter hovedlottets udløbsdato, alt efter hvilken, der kommer først.
- F. Aptima HPV assayreagenser er stabile i sammenlagt 72 timer, når de opbevares i Panther System.
- G. Probereagens og rekonstitueret probereagens er lysfølsomme. Reagenserne skal opbevares beskyttet mod lys.

H. Reagenserne må ikke fryses.**Indsamling og opbevaring af prøver****A. Udtagning og behandling af prøver***ThinPrep væskebaserede cytologiprøver*

1. Udtag cervikale prøver i ThinPrep Pap testhætteglas indeholdende PreservCyt opløsning med udtagningsanordninger af den kostlignende type eller typen med cytobørste/spatel i henhold til producentens anvisninger.
2. Før eller efter behandling med ThinPrep 2000-processoren, ThinPrep 5000-processoren, ThinPrep 5000-processoren med autoloader eller ThinPrep Genesis-processoren skal du overføre 1 mL af ThinPrep væskebaseret cytologiprøve til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel iht. anvisningerne på indlægssedlen til Aptima prøveoverførselskittet og Aptima prøveoverførselsopløsning.

SurePath væskebaserede cytologiprøver

1. Udtag en SurePath væskebaseret cytologiprøve i henhold til brugsanvisningen til SurePath Pap Test og/eller PrepStain System.
2. Overfør den væskebaserede SurePath-cytologiprøve til et Aptima reagensglas til prøveoverførsel iht. anvisningerne på indlægssedlen til Aptima prøveoverførselskittet og Aptima prøveoverførselsopløsning.

Aptima prøveudtagnings- og transportkit til cervikale prøver

Udtag prøverne ifølge brugsanvisningen i Aptima CSCT-kittet.

B. Transport og opbevaring inden testning:*ThinPrep væskebaserede cytologiprøver*

1. Transportér ThinPrep væskebaserede cytologiprøver ved 2 °C til 30 °C.
2. Prøverne skal overføres til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel i løbet af 105 dage efter udtagning.
3. Før overførsel skal ThinPrep væskebaserede cytologiprøver opbevares ved 2 °C til 30 °C, med højst 30 dage ved temperaturer over 8 °C.
4. ThinPrep væskebaserede cytologiprøver, der er blevet overført til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel, kan opbevares ved 2 °C til 30 °C i op til 60 dage.
5. Hvis længere opbevaring er nødvendig, kan ThinPrep væskebaseret cytologiprøve eller ThinPrep væskebaseret cytologiprøve fortyndet i reagensglasset til prøveoverførsel opbevares ved -20 °C eller koldere i op til 24 måneder.

SurePath væskebaserede cytologiprøver

1. Transportér SurePath væskebaserede cytologiprøver ved 2 °C til 25 °C.
2. Prøverne skal overføres til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel i løbet af 7 dage efter udtagning.
3. Inden overførsel skal SurePath væskebaserede cytologiprøver opbevares ved 2 °C til 25 °C.
4. SurePath væskebaserede cytologiprøver, der er blevet overført til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel, kan opbevares ved 2 °C til 25 °C i op til 7 dage.

Aptima prøveudtagnings- og transportkit til cervikale prøver

1. Transportér og opbevar prøver ved 2 °C til 30 °C i op til 60 dage.
2. Hvis længere opbevaring er nødvendig, kan transportkitprøver opbevares ved -20 °C eller koldere i op til 24 måneder.

C. SurePath væskebaseret cytologiprøve

Bemærk: SurePath væskebaserede cytologiprøver skal behandles med Aptima-overførselsopløsning før testning med Aptima HPV Assay.

1. Aptima-overførselsopløsning

Behandlede prøver kan opbevares ved 2 °C til 8 °C i op til 17 dage før testning med Aptima HPV assayet. Der henvises til indlægsseddel for Aptima prøveoverførselskittet og Aptima prøveoverførselsopløsning for flere oplysninger.

D. Opbevaring af prøver efter testning

1. Prøver, der er blevet analyseret, skal opbevares lodret i et stativ.
2. Prøveglass skal dækkes med en ny og ren plast- eller foliebarriere.
3. Hvis de analyserede prøver skal fryses eller sendes, tages de gennemtrængelige hætter af prøveglassene, og der sættes nye uigennemtrængelige hætter på. Hvis prøver skal sendes til testning på et andet laboratorium, skal de angivne temperaturer opretholdes. Inden hættens tages af tidligere testede prøver og inden hættens tages af prøver, der har fået sat hættens på igen, skal prøveglas centrifugeres i 5 minutter ved 420 relativ centrifugalkraft (Relative Centrifugal Force (RCF)) for at bringe al væsken ned i bunden af reagensglasset.

Bemærk: Prøver skal forsendes i henhold til gældende nationale og internationale transportregulativer.

Panther System

Reagenser til Aptima HPV Assay er angivet nedenfor for Panther System.
Reagenssymbolerne er ligeledes angivet ved siden af reagensbetegnelsen.

Vedlagte reagenser og materialer

Aptima HPV Assay, 250 test, kat. nr. 303093 (3 æsker)

Aptima HPV Assay, 100 test, kat. nr. 302929 (3 æsker)

Kalibratorer kan anskaffes separat. Se de enkelte katalognumre nedenfor.

Aptima HPV-nedkølet æske (opbevares ved 2 °C til 8 °C efter modtagelse)

Symbol	Komponent	Kvantitet
A	Amplifikationsreagens til HPV <i>Ikke-infektiose nukleinsyrer tørret i bufferopløsning, der indeholder < 5 % volumenforøgende middel.</i>	1 hætteglas
E	Enzymreagens til HPV <i>Revers transkriptase og RNA-polymerase tørret i HEPES-bufferopløsning, der indeholder < 10 % volumenforøgende middel.</i>	1 hætteglas
P	Probereagens til HPV <i>Ikke-infektiose kemiluminiserende DNA-prober (< 500 ng/hætteglas) tørret i succinat-bufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	1 hætteglas
IC	HPV-reagens til intern kontrol <i>Ikke-infektioøst RNA-transkript i en bufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	1 hætteglas

Aptima HPV-stuetemperaturæske (opbevares ved stuetemperatur, 15 °C til 30 °C efter modtagelse)

Symbol	Komponent	Kvantitet
AR	Amplifikationsrekonstitutionsopløsning til HPV <i>Vandig opløsning, der indeholder konserveringsmidler.</i>	1
ER	HPV-enzymrekonstitutionsopløsning <i>HEPES-bufferopløsning, der indeholder et overfladeaktivt stof og glycerol.</i>	1
PR	HPV-proberekonstitutionsopløsning <i>Succinatbufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	1
S	HPV-selektionsreagens <i>600 mM boratbufferopløsning, der indeholder overfladeaktivt stof.</i>	1
TCR	HPV-target capture reagens <i>Bufferopløsning, der indeholder fastfase og capture-oligomere (<0,5 mg/mL).</i>	1
	Rekonstitueringsmanchetter	3
	Stregkodeliste for hovedlot	1 liste

Aptima HPV-kalibratoræske (kat. nr. 302554)
(opbevares ved 2 °C til 8 °C efter modtagelse)

Symbol	Komponent	Kvantitet
PCAL	Positiv kalibrator til HPV <i>Ikke-infektøs HPV 16 in vitro transkript til 1000 kopier pr. ml i en bufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	5 hætteglas
NCAL	HPV-negativ kalibrator <i>Bufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	5 hætteglas

Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat

Bemærk: For materialer, der fås fra Hologic, er katalognummeret anført, med mindre andet er angivet.

Materiale	Kat. nr.
Panther System	303095
Panther System kontinuerlig væske og affald (Panther Plus)	PRD-06067
Panther kørselskit	303096
<i>Aptima Assay væskekit</i>	303014
<i>(Aptima vaskeopløsning, Aptima buffer til deaktiveringsvæske, Aptima oliereagens)</i>	
<i>Aptima Auto Detect Kit</i>	303013
<i>Multireagensglasenheder (Multi-tube units, MTU'er)</i>	104772-02
<i>Panther affaldsposekit</i>	902731
<i>Panther affaldsbin-afdækning</i>	504405
Spidser, 1000 µL, filtrerede, ledende, væskeregistrerende og til engangsbrug	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Ikke alle produkter er tilgængelige i alle regioner. Kontakt din repræsentant for regionsspecifik information</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Aptima prøveoverførselskit	301154C
Aptima prøveoverførselskit — kan udskrives	PRD-05110
Aptima Cervikal prøveudtagnings- og transportkit	302657
Aptima gennemtrængelige hætter	105668
Uigennemtrængelige udskiftningshætter	103036A
Reservehætter til kit med 250 test:	—
<i>Rekonstitutionsopløsninger til amplifikationsreagens og probereagens</i>	CL0041
<i>Enzymreagensrekonstitutionsopløsning</i>	501616
<i>TCR og selektionsreagens</i>	CL0040
Reservehætter til kit med 100 test:	—
<i>Rekonstitutionsopløsninger til amplifikationsreagens og probereagens</i>	CL0041
<i>Enzymreagensrekonstitutionsopløsning</i>	CL0041
<i>TCR og selektionsreagens</i>	501604
Blegemiddel 5,0 % til 8,25 % (0,7 M til 1,16 M) natriumhypochloritopløsning	—
Engangshandsker	—
Aptima Overførselsopløsningskit (kun til SurePath-prøver)	303658

Valgfri materialer

Materiale	Kat. nr.
Rengøringsforstærker til rengøring	302101

Fremgangsmåde ved testning på Panther System

Bemærkning: Se brugervejledning til Panther/Panther Fusion System for yderligere oplysninger om proceduren for Panther System.

A. Klargøring af arbejdsområde

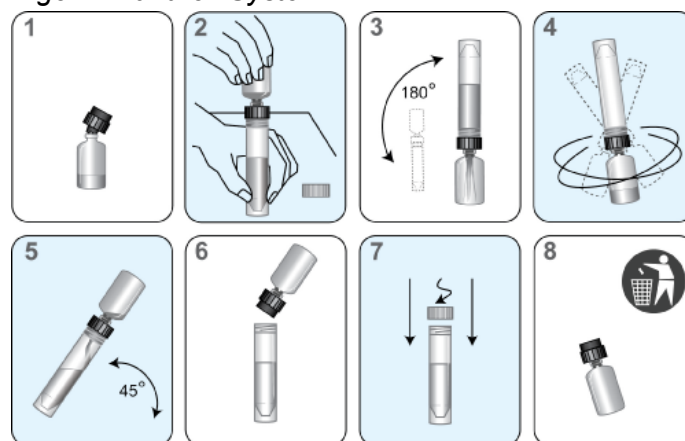
Rengør de arbejdsoverflader hvor reagenser og prøver skal klargøres. Tør arbejdsoverfladerne af med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5M) natriumhypochloritopløsning. Lad natriumhypochloritopløsningen blive på kontaktfladerne i mindst 1 minut, og skyl dernæst efter med vand. Natriumhypochloritopløsningen må ikke tørre. Dæk bordoverfladen, hvor reagenserne og prøverne skal klargøres, med rene, absorberende afdækningsstykker med plastbagbeklædning til laboratorieborde.

B. Reagensklargøring af et nyt kit

Bemærk: Reagensrekonstituering bør udføres, inden der påbegyndes arbejde på Panther System.

1. Til rekonstituering af amplifikations-, enzym- og probereagenser kombineres flaskerne med frysetørret reagens og rekonstitutionsopløsningen. Hvis rekonstituerede opløsninger er i køleskab, skal de have stuetemperatur inden brug.
 - a. Anbring hver enkelt rekonstitutionsopløsning parvist med det tilhørende frysetørrede reagens. Kontrollér, at rekonstitutionsopløsningen og reagenset har samme etiketfarve, inden rekonstitueringsmanchetten sættes på.
 - b. Kontrollér lotnumrene på hovedlotstregkodelisten for at sikre, at de korrekte reagenser er grupperet.
 - c. Åbn hætteglasset med frysetørret reagens, og sæt rekonstitueringsmanchettens ende med fordybning godt fast i hætteglasåbningen (figur 1, trin 1).
 - d. Åbn den tilhørende flaske med rekonstitutionsopløsning, og læg låget på et rent, afdækket arbejdsbord.
 - e. Hold flasken med rekonstitutionsopløsning på bordet, og sæt den anden ende af rekonstitueringsmanchetten i flasken med fast hånd (figur 1, trin 2).
 - f. Vend langsomt op og ned på de samlede flasker. Vent på, at opløsningen flyder fra flasken over i hætteglasset (figur 1, trin 3).
 - g. Hvirvl forsigtigt opløsningen rundt i flasken, så den blandes omhyggeligt. Undgå, at der dannes skum, når flasken hvirvles rundt (figur 1, trin 4).
 - h. Vent på, at det frysetørrede reagens går i opløsning, og vend dernæst de samlede flasker op og ned igen, idet de hældes til en vinkel på 45°, så der dannes mindst muligt skum (figur 1, trin 5). Vent på, at al væsken går tilbage i plastflasken.
 - i. Fjern rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (figur 1, trin 6).
 - j. Sæt låg på plastflasken igen. Skriv operatørens initialer og rekonstitutionsdatoen på alle rekonstituerede reagenshætteglas (figur 1, trin 7).
 - k. Bortskaf rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (figur 1, trin 8).

Advarsel: Undgå, at der dannes skum, når reagenserne rekonstitueres. Skum påvirker niveauregistreringen i Panther System.



Figur 1. Rekonstitueringsbehandling på Panther System

2. Klargør target capture arbejdsreagenset (working Target Capture Reagent, wTCR):
 - a. Anbring de korrekte TCR- og IC-flasker parvist.
 - b. Kontrollér reagenslotnumrene på hovedlotstregkodelisten for at sikre, at de korrekte reagenser i kittet er grupperet.
 - c. Åbn flasken med TCR, og læg låget på en ren, afdækket arbejdsoverflade.
 - d. Åbn flasken med IC, og hæld hele indholdet på flasken med TCR. Det kan forventes, at der bliver en lille mængde væske tilbage i flasken med IC.
 - e. Sæt låg på flasken med TCR, og hvirvl forsigtigt opløsningen rundt, så den blandes. Pas på, at der ikke dannes skum i dette trin i processen.
 - f. Skriv operatørens initialer og dags dato på etiketten.
 - g. Bortskaf IC-flasken og låget.
 - h. Der kan dannes udfældning i wTCR, hvilket kan give ugyldige resultater pga. fejl i volumenkontrol. Udfældning kan opløses ved at opvarme wTCR ved 42 °C til 60 °C i op til 90 minutter. Vent på, at wTCR når stuetemperatur inden brug. Må ikke anvendes, hvis der stadig er udfældning.
3. Klargør selektionsreagens
 - a. Kontrollér reagenslotnummeret på hovedlotstregkodelisten for at sikre, at det hører til kittet.
 - b. Hvis selektionsreagenset har udfældning, opvarmes selektionsreagenset ved 60 °C ± 1 °C i op til 45 minutter for at lette opløsning af udfældning. Bland forsigtigt flasken hvert 5. til 10. minut. Vent på, at selektionsreagenset når stuetemperatur inden brug. Må ikke anvendes, hvis der stadig er udfældning eller uklarhed.

Bemærk: Bland omhyggeligt ved at vende alle reagenser forsigtigt om, inden de sættes i systemet. Pas på, der ikke dannes skum, mens reagenserne vendes om.

- C. Klargøring af reagens for tidligere rekonstituerede reagenser
 1. Tidligere rekonstituerede amplifikations-, enzym- og probereagenser skal have stuetemperatur (15 °C til 30 °C), inden analysen påbegyndes.
 2. Hvis det rekonstituerede probereagens har udfældning, der ikke bliver opløst ved stuetemperatur, opvarmes det ved en temperatur på højst 60 °C i 1 til 2 minutter. Må ikke anvendes, hvis der er udfældning eller uklarhed.

3. Hvis wTCR har udfældning, opvarmes wTCR ved 42 °C til 60 °C i op til 90 minutter. Vent på, at wTCR når stuetemperatur inden brug. Må ikke anvendes, hvis der stadig er udfældning.
4. Hvis selektionsreagenset har udfældning, opvarmes selektionsreagenset ved 60 °C ± 1 °C i op til 45 minutter for at lette opløsning af udfældning. Bland forsigtigt flasken hvert 5. til 10. minut. Vent på, at selektionsreagenset når stuetemperatur inden brug. Må ikke anvendes, hvis der stadig er udfældning eller uklarhed.
5. Bland hvert reagens omhyggeligt ved at vende det forsigtigt om, inden det sættes i systemet. Pas på, der ikke dannes skum, mens reagenserne vendes om.
6. Der må ikke tilføjes reagens til reagensflaskerne. Panther System vil genkende og afvise flasker, der har fået reagens tilføjet.

D. Prøvehåndtering

1. Vent på, at kalibrаторer og prøver når stuetemperatur, inden behandlingen påbegyndes.
2. **Bland ikke prøver på vortexmixer.**
3. Efterse prøvereagensglassene, inden de sættes i stativet. Hvis der er bobler eller en mindre mængde i prøveglasset, end der normalt er, centrifugeres glasset i 5 minutter ved 420 RCF for at sikre, at der ikke er væske i hættten.

Bemærk: Hvis trin 3 ikke følges, kan det resultere i væskeudslip fra hættten på prøvereagensglasset.

E. Klargøring af systemet

1. Sæt systemet op iht. vejledningen i *Panther System Operator's Manual* (brugervejledningen til Panther System) og afsnittet *Bemærkninger til fremgangsmåden* nedenfor. Sørg for, at der anvendes reagensstativer og TCR-adaptore af passende størrelse.
2. Isæt prøverne.

Bemærkninger til fremgangsmåden

A. Kalibrаторer

1. For at kunne virke korrekt sammen med Aptima HPV Assay softwaren på Panther System kræves der tre replikater af den positive kalibrатор og tre replikater af den negative kalibrатор. Et hætteglas af hver kalibrатор kan isættes i enhver position i stativet i enhver prøvebås på Panther System. Pipettering af prøver begynder, når ét af de to følgende forhold er blevet opfyldt:
 - a. En positiv og negativ kalibrатор bliver i øjeblikket behandlet i systemet.
 - b. Der er registreret gyldige resultater for kalibrаторerne i systemet.
2. Når kalibrаторglassene er blevet pipetteret og behandles for et specifikt reagenskit, kan prøverne køres med det tilknyttede analysereagenskit i op til 24 timer, medmindre:
 - a. Kalibrаторens resultater er ugyldige.
 - b. Det tilknyttede analysereagenskit fjernes fra systemet.
 - c. Det tilknyttede analysereagenskit har overskredet stabilitetsgrænserne.
3. Forsøg på at pipettere mere end tre replikater fra et kalibrаторglas kan føre til behandlingsfejl.

B. Temperatur

Stuetemperatur vil sige 15 °C til 30 °C.

C. Handskepudder

Som i alle reagenssystemer kan for meget pudder på visse handsker forårsage kontaminering af åbnede reagensglas. Det anbefales at bruge handsker uden pudder.

Kvalitetskontrolprocedurer

A. Kriterier for kørselsvaliditet

Softwaren evaluerer automatisk kørsels validitet. Softwaren ugyldiggør en kørsel, hvis ét eller flere af følgende forhold forekommer:

- Flere end ét ugyldigt negativt kalibratorreplikat.
- Flere end ét ugyldigt positivt kalibratorreplikat.

En kørsel kan blive ugyldiggjort af en operatør, hvis der observeres og dokumenteres tekniske, operatørmæssige eller instrumentmæssige vanskeligheder, mens analysen udføres.

En ugyldig kørsel skal gentages. Afbrudte kørsler skal gentages.

B. Kriterier for godkendelse af kalibrator

Nedenstående tabel definerer RLU-kriterierne for de negative og de positive kalibratorreplikater.

Negativ kalibrator	
Analyt	≥ 0 og ≤ 45.000 RLU
IC	≥ 75.000 og ≤ 400.000 RLU
Positiv kalibrator	
Analyt	≥ 480.000 og $\leq 1.850.000$ RLU
IC	≤ 450.000 RLU

C. IC-cutoff-beregning

IC-cutoff bestemmes fra IC-signalet (flasher) fra de gyldige negative kalibratorreplikater.

$$\text{IC-cutoff} = 0,5 \times [\text{gennemsnitlig IC RLU for gyldige negative kalibratorreplikater}]$$

D. Beregning af analyt-cutoff

Analyt-cutoff bestemmes fra analytsignalet (glower) fra de gyldige negative kalibratorreplikater såvel som analytsignalet fra de gyldige positive kalibratorreplikater.

$$\text{Analyt-cutoff} = [\text{middelanalyt-RLU for gyldige negative kalibratorreplikater}] + [0,09 \times \text{middelanalyt-RLU for gyldige positive kalibratorreplikater}]$$

E. Beregning af analytsignal-til-cutoff-værdi (S/CO)

Analyt-S/CO'en bestemmes ud fra analyt-RLU'en af testprøven og analyt-cutoff'en for kørslen.

$$\text{Analyt-S/CO} = \frac{\text{testprøveanalyt-RLU}}{\text{analyt-cutoff}}$$

Fortolkning af test

Analysetestresultater bestemmes automatisk af analysesoftwarens. Et testresultat kan være negativt, positivt eller ugyldigt ifølge bestemmelse af IC RLU og S/CO for analytten. Et testresultat kan også være ugyldigt pga. andre parametre (unormal kinetisk kurveform) uden for de normalt forventede områder. Test, der første gang er ugyldige, skal gentages.

Prøver fra Aptima CSCT-kittet kan fortyndes for at undgå mulige hæmmende stoffer. Fortynd 1 del af den ugyldige prøve i 8 dele prøvetransportmedie (opløsningen i CSCT-kitglassene); f. eks. 560 µl prøve i et nyt CSCT-kitglas, som indeholder 4,5 ml prøvetransportmedie. Vend forsigtigt den fortyndede prøve om for at blande den. Undgå at danne skum. Test den fortyndede prøve ifølge standard analyseproceduren.

Bemærk: Der kræves en minimumsvolumen på 1,7 ml for at teste 1 afmålt portion af prøven. En ugyldig fortyndet prøve må ikke fortyndes. Hvis en fortyndet prøve giver et ugyldigt resultat, skal der indhentes en ny prøve fra patienten.

Aptima HPV Assay resultat	Kriterier
Negativ	<i>Analyt S/CO < 0,50 IC ≥ IC-cuttoff IC ≤ 2.000.000 RLU</i>
Positiv	<i>Analyt S/CO ≥ 0,50 IC ≤ 2.000.000 RLU Analyt ≤ 13.000.000 RLU</i>
Ugyldig	<i>IC > 2.000.000 RLU eller Analyt-S/CO < 0,50 og IC < IC-cuttoff eller Analyt > 13.000.000 RLU</i>

Begrænsninger

- A. Der er ikke evalueret andre prøvetyper end dem, der er identificeret til den tilsigtede anvendelse.
- B. Præstationen af Aptima HPV Assay er ikke blevet evalueret hos personer vaccineret imod HPV.
- C. Aptima HPV Assay er ikke blevet evalueret i tilfælde af mistænkt seksuelt misbrug.
- D. Prævalensen af HPV-infektion i en population kan påvirke præstationen. Positive prædiktive værdier falder, når populationer med lav prævalens eller personer uden infektionsrisiko testes.
- E. ThinPrep væskebaserede cytologiprøver indeholdende mindre end 1 ml efter klargøring af et ThinPrep Pap-testslide betragtes som utilstrækkelige til Aptima HPV Assay.
- F. Fjernelse af 1 ml af en SurePath væskebaseret cytologiprøve inden cytologisk behandling er ikke blevet evalueret for indvirkning på det cytologiske resultat.
- G. Testresultater kan blive påvirket af forkert prøveudtagning, opbevaring eller prøvebehandling.
- H. Den interne kontrol overvåger trinene for target capture, amplifikation og detektion i analysen. Kontrollen er ikke beregnet til at kontrollere tilstrækkeligheden af cervikal prøvetagning.
- I. Et negativt Aptima HPV Assay resultat udelukker ikke muligheden for cytologiske abnormaliteter eller senere eller tilgrundliggende CIN2, CIN3 eller cancer.
- J. Personlige smøremidler, der indeholder polyquaternium 15, kan indvirke på analysens præstation, hvis de er til stede i koncentrationer, der er større end 0,025 % (v/v eller w/v) i en testprøve.
- K. Antimykotika, der indeholder tioconazol, kan indvirke på analysens præstation, hvis den er til stede i koncentrationer, der er større end 0,075 % (w/v) i en testprøve.
- L. Aptima HPV Assay leverer kvalitative resultater. Der kan derfor ikke påvises korrelation mellem størrelsen af et positivt analysesignal og ekspressionsniveauet af mRNA i en prøve.
- M. Detektion af højrisiko-HPV mRNA afhænger af antallet af kopier, der er til stede i prøven, og kan påvirkes af prøveudtagningsmetoder, patientrelaterede faktorer, infektionsstadiet og forekomst af interfererende stoffer.
- N. Infektion med HPV er ikke et tegn på cytologisk HSIL eller en tilgrundliggende høj grad af CIN, og betyder heller ikke, at patienten vil udvikle CIN2, CIN3 eller cancer. De fleste kvinder, der smittes med én eller flere typer højrisiko-HPV, udvikler ikke CIN2, CIN3 eller cancer.
- O. Virkningerne af andre mulige variabler såsom udflåd, brug af tamponer, udskylning osv. samt prøveudtagningsvariabler er ikke blevet evalueret.
- P. Anvendelsen af dette produkt skal begrænses til personale, som er oplært i brugen af Aptima HPV Assay.

- Q. Krydskontaminering af prøver kan forårsage falsk positive resultater. Overførselsgraden for Aptima HPV assay på Panther System er blevet bestemt i et ikke-klinisk studie til at være 0,7%.
- R. Aptima HPV Assay bør fortolkes sammen med andre kliniske og laboratoriedata, som klinikerer har til rådighed.
- S. Der kan forekomme falsk positive resultater med denne test. *In vitro* transkripter fra lavrisiko-HPV-genotyperne 26, 67, 70 og 82 udviste krydsreaktivitet med Aptima HPV Assay.

Panther Systems forventede resultater: Prævalens af højrisiko-HPV mRNA

Prævalensen af infektion med højrisiko-HPV varierer betydeligt og er påvirket af adskillige faktorer, af hvilke alder er den vigtigste.^{36,38} Mange studier har undersøgt HPV-prævalens som bestemt ved detektion af HPV DNA, men få studier rapporterer prævalensen baseret på detektion af HPV-onkogen mRNA. Kvinder fra mange forskellige klinikker (n=18), der dækkede et bredt geografisk område og en forskelligartet population (10 stater i USA), blev tilmeldt en prospektiv klinisk undersøgelse ved navn CLEAR-forsøget.³⁸ Som bestemt af Aptima HPV Assay på Panther System blev prævalensen af HPV mRNA-positive prøver, der er observeret i dette kliniske forsøg, kategoriseret generelt efter aldersgruppe og teststed. Resultaterne er vist i Tabel 1 for populationer med ASC-US (atypiske pladeceller af ubestemt betydning) og NILM (negative for intraepitelial læsion eller malignitet).

Tabel 1: Prævalens af højrisiko-HPV mRNA efter aldersgruppe, teststed og alle kombineret

	Positivitetsrate % (x/n)	
	ASC-US-population (≥ 21 år)	NILM-population (≥ 30 år)
Alle	42,3 (404/956)	4,7 (512/10.860)
Aldersgruppe (år)		
21 til 29	60,0 (251/418)	Ikke relevant
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)

Design for den kliniske undersøgelse af Aptima HPV Assay med ThinPrep væskebaserede cytologiprøver

Aptima HPV Assay på Panther systemet blev evalueret ved brug af residuale cytologiske henvisningsprøver udtaget fra samtykkende kvinder under det amerikanske prospektiv, multicenter forsøg kaldet CLEAR-undersøgelsen.³⁸

Aptima HPV assayet blev første gang lanceret på Tigris™ DTS system i 2008. I 2011 blev indikationerne udvidet til at bruge Aptima HPV assayet på Panther System. Panther System er en alternativ, mindre instrumentplatform til Tigris DTS System. Begge systemer er beregnet til fuldt ud at automatisere amplifieret nukleinsyretestning i diagnostiske assays. Testning af udvalgte assaypræstationer udført på Tigris DTS System blev anvendt til at understøtte assaypræstation på Panther System.

CLEAR uundersøgelsen – Baseline-evaluering

CLEAR undersøgelsen – Baseline-evaluering CLEAR-undersøgelsen blev udført for at bestemme den kliniske præstation af Aptima HPV Assay på Tigris DTS Systemet til detektion af cervikal intraepitelial neoplasie grad 2 eller mere alvorlig cervikal sygdom (\geq CIN2). CLEAR-undersøgelsen inkluderede en baseline-evaluering og en opfølgende evaluering efter 3 år. Kvinderne deltog enten ASC-US-undersøgelsen eller NILM-undersøgelsen afhængigt af cytologiske resultater af rutinemæssig screening for livmoderhalskræft. ASC-US undersøgelsespopulationen inkluderede kvinder i alderen 21 år og over med cytologiske ASC-US resultater, og NILM undersøgelsespopulationen inkluderede kvinder på eller over 30 år med cytologiske NILM resultater. NILM-undersøgelsen blev udarbejdet for at understøtte det ekstra krav om screening for kvinder på 30 år eller ældre, da kvinder i denne aldersgruppe med cytologiretultater, der er højere end ASC-US, skal fortsætte til kolposkopi uanset deres HPV-status.³⁹

Kvinder fra 18 klinikker, primært obstetriske og gynækologiske klinikker, der dækkede et bredt geografisk område og en forskelligartet population, deltog. Kvalificerede kvinder fik tildelt ASC-US-undersøgelsen eller NILM-undersøgelsen baseret på den ThinPrep væskebaserede cytologiske prøve, de var blevet henvist til. Ved baseline blev residuale henvisningsprøver fra kvinder i ASC-US-undersøgelsen og i NILM-undersøgelsen indledningsvist testet med både Aptima HPV Assay på Tigris DTS System og en kommercielt tilgængelig HPV DNA-test. Prøverne blev derefter arkiveret og opbevaret ved -70 °C, indtil de blev testet med Aptima HPV Assay på Panther System.

Alle kvinder i ASC-US undersøgelsen blev ved baseline i CLEAR-forsøget (baseline-fase) henvist til kolposkopi uanset resultaterne af deres HPV-test. Der blev foretaget endocervikal abrasio (ECC) og cervikal stansebiopsi (1 biopsi fra hver af de 4 kvadranter). Hvis en læsion var synlig, blev der foretaget stansebiopsi (direkte metode, 1 biopsi pr. læsion) og biopsi af kvadranter uden synlig læsion ved overgangen mellem pladeepitelet og det endocervikale cylinderepitel (squamocolumnar junction) (vilkårlig metode).

I NILM-undersøgelsen blev kvinder med positive Aptima HPV Assay resultater på Tigris DTS System og/eller den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test, såvel som vilkårligt udvalgte kvinder, som var negative med begge analyser, henvist til kolposkopi til baseline-evaluering. De vilkårligt valgte kvinder, som var negative for begge analyser, blev inkluderet for at korrigere for verifikationsbias med justerede præstationsestimater, der blev genereret med en multipel imputationsmetode. En ECC-biopsi blev indhentet fra hver kvinde, som fik foretaget kolposkopi. Der blev kun indhentet stansebiopsier fra synlige læsioner (vejledt metode, 1 biopsi pr. læsion).

Sygdomsstatus blev bestemt på grundlag af Konsensus fra et histologisk evalueringsudvalg baseret på overensstemmelse mellem mindst 2 patologer med ekspertviden. Disse patologer havde ikke kendskab til kvindernes HPV-status og ej heller til deres indbyrdes histologiske diagnoser. Hvis de 3 patologer var uenige, gennemgik alle 3 patologer objektglassene under et mikroskop med flere hoveder for at opnå konsensus. Investigatorer, klinikere og kvinderne blev holdt ubevidste om resultaterne af HPV-testen, indtil efter den fuldførte kolposkopikonsultation for at undgå bias. Klinisk præstation af Aptima HPV Assay ved baseline til detektion af \geq CIN2 og cervikal intraepitelial neoplasi grad 3 eller mere alvorlig cervikal sygdom (\geq CIN3) blev bestemt. Den kliniske præstation af Aptima HPV Assay blev også bestemt i direkte sammenligning med kommercielt tilgængelige HPV DNA-test.

CLEAR-forsøget – Opfølgende evaluering

Kvinder i NILM-undersøgelsen fra 14 kliniske centre var egnede til at deltage i undersøgelsens 3-årige opfølgingsfase, hvis: i) de havde et kolposkopi-besøg ved baseline og ikke havde \geq CIN2, eller hvis ii) de havde ikke et kolposkopi-besøg ved baseline. Undersøgelsens opfølgingsfase bestod af årlige besøg. Ved disse besøg blev der taget cervikale prøver til cytologi for hver enkelt kvinde. Endvidere blev nogle kvinder testet med en kommercielt tilgængelig HPV-test. Kvinder med ASC-US eller mere alvorlige cytologiske resultater i opfølgingsperioden blev henvist til kolposkopi med brug af de samme procedurer for biopsi og histologisk undersøgelse, som blev fulgt for NILM-undersøgelsens baselineevaluering. Cervikal sygdomsstatus blev betragtet som "negativ" under et opfølgingsbesøg baseret på NILM-cytologi eller, for kvinder med unormale cytologiske testresultater på normale resultater eller CIN1-resultater ifølge Konsensus fra histologisk evalueringspanel. Kvinder, som fik detekteret \geq CIN2 i opfølgingsperioden blev betragtet som at have fuldført opfølgning og kom ikke til besøg efter \geq CIN2 blev detekteret. Kvinder, som ikke fik detekteret \geq CIN2 i opfølgingsperioden, men som kom til et undersøgelsesbesøg i opfølgingsår 1 og/eller opfølgingsår 2, og som kom til et undersøgelsesbesøg i opfølgningssår 3, blev betragtet som at have fuldført opfølgning.

Formålet med den opfølgende undersøgelse var at sammenligne den kumulative 3-års risiko for cervikal sygdom hos kvinder med positive Aptima HPV Assay resultater ved baseline med den kumulative 3-års risiko for cervikal sygdom hos kvinder med negative Aptima HPV Assay resultater ved baseline. Den 3-års cervikale sygdomsstatus blev bestemt som følger:

- Positiv cervikal sygdomsstatus (\geq CIN2 og/eller \geq CIN3) – Kvinder, som fik detekteret \geq CIN2 ved baseline eller under opfølgning.
- Negativ cervikal sygdomsstatus ($<$ CIN2) – Kvinder, som fuldførte opfølgning uden detektering af \geq CIN2, og som ikke blevet betragtet som at have "ubestemt" cervikal sygdomsstatus.
- Ubestemt cervikal sygdomsstatus – Kvinder, som havde unormale cytologiske testresultater under opfølgning, og som ikke havde et efterfølgende resultat baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel, eller kvinder med utilstrækkelig cytologi under deres sidste besøg.
- Tabt for opfølgning – Kvinder, som ikke fuldførte opfølgning, og som ikke blev betragtet som at have "ubestemt" cervikal sygdomsstatus.

Klinisk præstation af Aptima HPV Assay til detektering af \geq CIN2 og \geq CIN3 blev evalueret i forhold til den cervikale sygdomsstatus efter 3 år.

Panther Systems analysepræstation

ASC-US ≥ 21 års population: Klinisk præstation af Aptima HPV Assay

Der var i alt tilmeldt 1252 kvinder på 21 år eller ældre med ASC-US-cytologiresultater til ASC-US-undersøgelsen. Af disse blev 294 kvinder trukket tilbage. De resterende 958 kvinder var kvalificerede til testning på Panther System. To kvinder manglede prøver, og 19 havde ubestemte sygdomsdiagnoser. Alle blev ekskluderet fra analyse. De resterende 937 evaluerbare kvinder var 21 år og ældre med ASC-US-cytologiresultater, Aptima HPV Assay resultater på Panther System og konklusiv sygdomsstatus. Enoghalvfems (91) kvinder havde ≥CIN2 og enogfyrre (41) havde ≥CIN3. Prævalens af ≥CIN2 og ≥CIN3 hos evaluerbare kvinder med cytologiske ASC-US-resultater var hhv. 9,7 % og 4,4 %. Resultaterne af Aptima HPV Assay ifølge konsensus fra histologisk evalueringspanel er vist i diagnose i Tabel 2.

Tabel 2: ASC-US ≥ 21 års population: Resultaterne af Aptima HPV Assay ifølge diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel

Aptima HPV Assay resultat*	HPV DNA-test	Diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel						
		Ubestemt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	I alt
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
I alt		19	648	198	50	40	1****	956

*Samtlige prøver havde endelige gyldige resultater (efter initial testning eller efter afklaring af initielt ugyldige resultater i proceduren).

**19 kvinder deltog i kolposkopikonsultationen, men en diagnose kunne ikke fastlægges af følgende årsager: <5 biopsiprøver indsamlet alle med histologiske resultater på Normal/CIN1 (n=15), ingen biopsier indsamlet (n=3) og biopsipræparatglas tabt (n=1).

***77 kvinder med Aptima HPV Assay resultater havde ikke HPV DNA-testresultater, primært som følge af en utilstrækkelig mængde cytologisk prøvemateriale.

****En forsøgsperson havde adenocarcinom in situ (AIS).

Estimater for klinisk præstation for Aptima HPV Assay, der indeholder sensitivitet, specificitet, positiv prædiktiv værdi (PPV) og negativ prædiktiv værdi (NPV) til detektion af ≥CIN2 og ≥CIN3 baseret på evaluering af alle biopsier og kun indeholdende vejledte biopsier, er vist i Tabel 3 sammen med estimerne for den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test.

Table 3: ASC-US ≥ 21 års population: Præstation af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test til detektion af ≥CIN2 og ≥CIN3

	Præstation	Aptima HPV Assay N=937		HPV DNA-test N=863*	
		Estimat	(95 % CI)	Estimat	(95 % CI)
≥CIN2	Alle biopsier				
	Sensitivitet (%)	84,6 (77/91)	(75,8, 90,6)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)
	Specificitet (%)	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)
	Prævalens (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
	Vejlede biopsier**				
	Sensitivitet (%)	90,0 (54/60)	(79,9, 95,3)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)
	Specificitet (%)	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)
	Prævalens (%)	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)
	Specificitet (%)	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)
	Prævalens (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	
	Vejlede biopsier**				
	Sensitivitet (%)	93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)
	Specificitet (%)	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)
	Prævalens (%)	3,1 (29/935)		3,2 (28/862)	

*74 kvinder med Aptima HPV Assay resultater havde ikke HPV DNA-testresultater, primært som følge af en utilstrækkelig mængde cytologisk prøvemateriale.

**Histologisk konsensusresultat blev udledt udelukkende med brug af resultater fra vejlede biopsier. Kvinder uden vejlede biopsier viser en normal kolposkopi og inkluderes i disse analyser som ikke-sygdomsramte (<CIN2 eller <CIN3 efter relevans). Der blev ikke altid nået konsensus, når der kun blev inkluderet vejlede biopsier.

Ved evaluering af alle biopsier var estimer for klinisk sensitivitet af Aptima HPV Assay og den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test til detektion af \geq CIN2 og \geq CIN3, hvor begge analyseresultater er tilgængelige, ens (forskelle i sensitivitetsestimer var ikke statistisk signifikante). For \geq CIN2 var sensitivitetsforskellen -4,5 % (95 % CI: -12,2 %, 2,5 %). Estimer af klinisk specificitet af Aptima HPV Assay til detektion af \geq CIN2 og \geq CIN3 var højere end dem fra den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test (forskelle i specificitetsestimer var statistisk signifikante). For \geq CIN2 var specificitetsforskellen 6.1 % (95 % CI: 4.2 %, 8.2 %). NPV'er var ens, men til detektion af \geq CIN2 var PPV for Aptima HPV Assay lidt højere end PPV for den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test (19,3 % vs 18,8 %).

Af de 91 \geq CIN2-tilfælde blev 60 (65,9 %) identificeret i vejledte biopsier og 31 (34,1 %) blev identificeret fra vilkårlige og/eller ECC-biopsier (dvs ikke i vejledte biopsier). Disse fund er sammenlignelige med resultater fra offentliggjorte undersøgelser, hvor ca. 25-40 % af \geq CIN2-tilfældene kun blev identificeret fra vilkårlige og/eller ECC-biopsiprøver.^{40,41} Kun med brug af vejledte biopsier til at bestemme sygdomsstatus (under forudsætning af, at kvinder uden vejledte biopsier havde normale histologiresultater, fordi der ikke var synlige læsioner til stede) var prævalensen af \geq CIN2 og \geq CIN3 i undersøgelsen henholdsvis 6,4 % og 3,1 %. Estimerne af klinisk sensitivitet til detektion af \geq CIN2 og \geq CIN3 var højere for begge test med brug udelukkende af vejledte biopsier end estimerne, der blev beregnet vha. alle biopsier. For begge analyser var klinisk specificitet med brug udelukkende af vejledte biopsier den samme som den specificitet, der blev opnået med alle biopsier inkluderet. Ved brug udelukkende af vejledte biopsier var Aptima HPV Assay specificitet følgelig signifikant højere end specificiteten i den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test.

Estimer af klinisk præstation for Aptima HPV Assay og den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test vises efter aldersgruppe i Tabel 4 og Tabel 5 (henholdsvis \geq CIN2 og \geq CIN3 baseret på evaluering af alle biopsier).

Table 4: ASC-US ≥ 21 års population: Præstation af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test til detektion af ≥CIN2 efter aldersgruppe

	Præstation	Aptima HPV Assay N=937		HPV DNA-test N=863*	
		Estimat	(95 % CI)	Estimat	(95 % CI)
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)
	Specificitet (%)	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)
	Prævalens (%)	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)
	Specificitet (%)	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)
	Prævalens (%)	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)
	Specificitet (%)	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)
	Prævalens (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	

*74 kvinder med Aptima HPV Assay resultater havde ikke HPV DNA-testresultater, primært som følge af en utilstrækkelig mængde cytologisk prøvemateriale.

Table 5: ASC-US ≥ 21 års population: Præstation af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test til detektion af ≥CIN3 efter aldersgruppe

	Præstation	Aptima HPV Assay N=937		HPV DNA-test N=863*	
		Estimat	(95 % CI)	Estimat	(95 % CI)
21 til 29 år		N=415		N=389	
	Sensitivitet (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Specificitet (%)	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)
	Prævalens (%)	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)
	Specificitet (%)	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)
	Prævalens (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
≥ 40 år		N=261		N=236	
	Sensitivitet (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Specificitet (%)	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)
	Prævalens (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 kvinder med Aptima HPV Assay resultater havde ikke HPV DNA-testresultater, primært som følge af en utilstrækkelig mængde cytologisk prøvemateriale.

Den absolutte sygdomsrisiko (\geq CIN2 og \geq CIN3 baseret på evaluering af alle biopsier) efter Aptima HPV Assay resultater og den relative sygdomsrisiko for positive versus negative Aptima HPV Assay resultater vises i Tabel 6 sammen med estimaterne for den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test. Den relative risiko for \geq CIN2 var 7,4 (95 % CI: 4,3, 13,0), hvilket angiver, at en kvinde, der fik et positivt Aptima HPV Assay resultat, har 7,4 gange så stor sandsynlighed for at have \geq CIN2 som en kvinde med et negativt Aptima HPV Assay resultat. Den relative risiko for \geq CIN3 var 12,5 (95 % CI: 4,5, 34,9).

Tabel 6: ASC-US \geq 21 års population: Absolutte og relative risici for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test

	Analyseresultat	Aptima HPV Assay N=937		HPV DNA-test N=863*	
		Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
\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)	
	Prævalens (%)	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)	
	Prævalens (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

*74 kvinder med Aptima HPV Assay resultater havde ikke HPV DNA-testresultater, primært som følge af en utilstrækkelig mængde cytologisk prøvemateriale.

Estimater for absolutte og relative sygdomsrisici (\geq CIN2 og \geq CIN3 baseret på evaluering af alle biopsier) for Aptima HPV Assay og den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test vises efter aldersgruppe i Tabel 7.

Tabel 7: ASC-US \geq 21 års population: Absolutte og relative risici for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test efter aldersgruppe

	Alder	Analyseresultat	Aptima HPV Assay N=937		HPV DNA-test N=863*	
			Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
\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)	
		Prævalens (%)	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)	
		Prævalens (%)	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)		
Prævalens (%)		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)	
		Prævalens (%)	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)	
		Prævalens (%)	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)		
Prævalens (%)		1,9 (5/261)		2,1 (5/236)		

*74 kvinder med Aptima HPV Assay resultater havde ikke HPV DNA-testresultater, primært som følge af en utilstrækkelig mængde cytologisk prøvemateriale.

NILM ≥ 30 års population: Klinisk præstation af Aptima HPV Assay med ThinPrep væskebaserede cytologiprøver ved baseline

Der var i alt tilmeldt 11.644 kvinder med NILM-cytologiresultater i NILM-undersøgelsen. Af disse blev 773 kvinder trukket tilbage. De resterende 10.871 kvinder var kvalificerede til testning på Panther System. Elleve kvinder manglede prøver og blev ekskluderet fra baseline-evalueringen af Aptima HPV Assay på Panther Systemet. De resterende 10.860 evaluerbare kvinder var 30 år og ældre med NILM-cytologiresultater og Aptima HPV Assay resultater på Panther System. Af de 512 kvinder med positive Aptima HPV Assay resultater på Panther System fik 284 foretaget kolposkopi ved baseline. Af de 10.348 kvinder med negative Aptima HPV Assay resultater fik 580 foretaget kolposkopi ved baseline. Tyve (20) kvinder havde ≥CIN2 og elleve (11) havde ≥CIN3. 798 kvinder havde normal/CIN1-histologi. 46 kvinder havde ubestemt sygdomsstatus. Resultaterne af Aptima HPV Assay på Panther Systemet ifølge diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel ved baseline er vist i Tabel 8.

Tabel 8: NILM ≥ 30 års population: Resultaterne af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test ifølge diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel ved baseline

Aptima HPV Assay resultat*	HPV DNA-test	Diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel						
		Ubestemt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	I alt
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
I alt		46	769	29	9	8	3****	864

*Samtlige prøver havde endelige gyldige resultater (efter initial testning eller efter afklaring af initielt ugyldige resultater i proceduren).

**46 kvinder deltog i kolposkopikonsultationen, men en diagnose kunne ikke fastlægges af følgende årsager: biopsiprøver bestemt til at være utilstrækkelige (n=29), ingen biopsier indsamlet (n=15) og biopsipræparatglas tabt (n=2).

***21 kvinder med Aptima HPV Assay resultater havde ikke HPV DNA-testresultater, primært som følge af en utilstrækkelig mængde cytologisk prøvemateriale.

****Tre kvinder havde adenocarcinom in situ (AIS).

I alt havde 10.042 kvinder ikke-verificeret (inklusive ikke-fastlagt) sygdomsstatus ved baseline (Tabel 9). Fordi kun vilkårligt udvalgte kvinder med negative resultater for både Aptima HPV Assay på Tigris DTS System og den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test blev henvist til kolposkopi, var proportionen af kvinder med ikke-verificeret sygdomsstatus høj i denne gruppe (96,6 %). For at justere for denne verificeringsbias anvendtes der multipel imputation til at estimere antallet af kvinder med sygdom, der ville være blevet identificeret, hvis alle kvinder havde fået foretaget kolposkopi. Såvel de justerede præstationsestimater for verifikationsbias og de ikke-justerede præstationsestimater baseret på de 818 kvinder med verificeret sygdomsstatus ved baseline er vist.

Tabel 9: NILM ≥ 30 års population: Klassifikation af evaluerbare NILM-kvinder ifølge Aptima HPV Assay og HPV DNA-testresultater, sygdomsstatus (≥CIN2 og ≥CIN3) og verifikation af sygdomsstatus

Aptima HPV Assay resultat*		HPV DNA-test	Kvinder i alt	Verificeret sygdomsstatus: ≥CIN2		Verificeret sygdomsstatus: ≥CIN3		Ikke-verificeret sygdomsstatus
Panther System	Tigris DTS-system			Sygdomsramte kvinder (≥CIN2)	Ikke-sygdomsramte kvinder (< CIN2)	Sygdomsramte kvinder (≥CIN3)	Ikke-sygdomsramte kvinder (<CIN3)	
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 %)
I alt			10.860	20	798	11	807	10.042 (92,5 %)

*Samtlige prøver havde endelige resultater (efter initial testning eller efter afklaring af initielt ugyldige resultater i proceduren).

**631 kvinder med Aptima HPV Assay resultater havde ikke HPV DNA-testresultater, primært som følge af en utilstrækkelig mængde cytologisk prøvemateriale.

Den justerede prævalens af \geq CIN2 og \geq CIN3 hos kvinder med cytologiske NILM-resultater var hhv. 0,9 % og 0,4 %. Estimer for justerede absolutte og relative risici til detektion af \geq CIN2 og \geq CIN3 ved baseline vises i Tabel 10. Den justerede relative risiko for \geq CIN2 var 7,5 (95 % CI: 2,1, 26,3), hvilket angiver, at en kvinde, der får et positivt Aptima HPV Assay resultat, har 7,5 gange så stor sandsynlighed for at have \geq CIN2 som en kvinde med et negativt Aptima HPV Assay resultat. Den justerede relative risiko for \geq CIN3 var 24,9 (95 % CI: 2,0, 307,0). Estimer for ikke-justerede absolutte og relative risici til detektion af \geq CIN2 og \geq CIN3 ved baseline vises generelt i Tabel 11 og efter aldersgruppe i Tabel 12.

Tabel 10: NILM \geq 30 års population: Absolutte og relative risici for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test (justerede estimer for verifikationsbias) ved baseline

	Analyseresultat	Aptima HPV Assay		HPV DNA-test	
		Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
\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)	
	Prævalens (%)	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)	
	Prævalens (%)	0,4		0,4	

Tabel 11: NILM \geq 30 års population: Absolutte og relative risici for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test (ikke-justerede estimer) ved baseline

	Analyseresultat	Aptima HPV Assay N=818		HPV DNA-test N=800*	
		Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
\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)	
	Prævalens (%)	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)	
	Prævalens (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 kvinder med Aptima HPV Assay resultater havde ikke HPV DNA-testresultater, primært som følge af en utilstrækkelig mængde cytologisk prøvemateriale.

Table 12: NILM ≥ 30 års population: Absolutte og relative risici for ≥CIN2 og ≥CIN3 for resultater af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test efter aldersgruppe (ikke-justerede estimer) ved baseline

	Alder	Analyseresultat	Aptima HPV Assay N=818		HPV DNA-test N=800*	
			Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
≥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)	
		Prævalens (%)	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)	
		Prævalens (%)	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)	
		Prævalens (%)	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)	
		Prævalens (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*18 kvinder med Aptima HPV Assay resultater havde ikke HPV DNA-testresultater, primært som følge af en utilstrækkelig mængde cytologisk prøvemateriale.

Estimater for justeret klinisk præstation for Aptima HPV Assay, der indeholder sensitivitet, specificitet, PPV og NPV til detektion af \geq CIN2 og \geq CIN3 ved baseline, er vist i Tabel 13 sammen med estimerne for den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test. Estimer for ikke-justeret klinisk præstation er vist i Tabel 14. Aptima HPV Assay og den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test havde ens sensitivitet, hvorimod specificiteten var signifikant højere for Aptima HPV Assay (ikke-overlappende 95 % CI'er). Estimer for prædiktive værdier for Aptima HPV Assay var klinisk relevante og svarede til estimerne for den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test. NPV'er var ens, men til detektion af \geq CIN2 var PPV for Aptima HPV Assay lidt højere end PPV for den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test (4,5 % vs 3,7 %).

Tabel 13: NILM \geq 30 års population: Præstation af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test til detektion af \geq CIN2 og \geq CIN3 (justerede estimer for verifikationsbias) ved baseline

	Præstation	Aptima HPV Assay		HPV DNA-test	
		Estimat	(95 % CI)	Estimat	(95 % CI)
\geq CIN2	Sensitivitet (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Specificitet (%)	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)
	Prævalens (%)	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)
	Specificitet (%)	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)
	Prævalens (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Tabel 14: NILM ≥ 30 års population: Præstation af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test til detektion af ≥CIN2 og ≥CIN3 (ikke-justerede estimater) ved baseline

	Præstation	Aptima HPV Assay N=818		HPV DNA-test N=800*	
		Estimat	(95 % CI)	Estimat	(95 % CI)
≥CIN2	Sensitivitet (%)	70,0 (14/20)	(48,1, 85,5)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Specificitet (%)	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)
	Prævalens (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
≥CIN3	Sensitivitet (%)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Specificitet (%)	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)
	Prævalens (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 kvinder med Aptima HPV Assay resultater havde ikke HPV DNA-testresultater, primært som følge af en utilstrækkelig mængde cytologisk prøvemateriale.

Direkte sammenligning mellem Aptima HPV Assay på Panther systemet og den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test samme sensitivitet og statistisk signifikant forbedret specificitet for Aptima HPV Assay over den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test til detektion af ≥CIN2 som vist af forholdet mellem sande positive og falske positive frekvenser (Tabel 15 og Tabel 16 henholdsvis).

Tabel 15: NILM ≥ 30 års population: Forhold mellem sande positive frekvenser (Aptima HPV Assay/ HPV DNA-test) for kvinder med ≥CIN2 (ikke-justerede estimater) ved baseline

		HPV DNA-test		I alt
		Positiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Positiv	13	1	14 (73,7 %)
	Negativ	3	2	5
	I alt	16 (84,2 %)	3	19
Forhold mellem sande positive frekvenser = 0,88 (14/16) (95 % CI: 0,65, 1,10)				

Tabel 16: NILM \geq 30 års population: Forhold mellem falske positive frekvenser (Aptima HPV Assay/ HPV DNA-test) for kvinder med <CIN2 (ikke-justerede estimater) ved baseline

		HPV DNA-test		I alt
		Positiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Positiv	223	19	242 (31,0 %)
	Negativ	177	362	539
	I alt	400 (51,2 %)	381	781
Forhold mellem falske positive frekvenser = 0,61 (242/400) (95 % CI: 0,55, 0,66)				

NILM \geq 30 års population: Aptima HPV Assay på Panther Systemet klinisk præstation efter 3 års opfølgning

Der var 10.843 kvinder på 30 år eller mere med NILM-cytologieresultater og gyldige Aptima HPV Assay resultater på Panther Systemet ved baseline, som var kvalificeret til opfølgningssfasen. Ud af kvinderne uden \geq CIN2 fuldførte 67,0 % (7.247/10.823) af kvinderne Pap-opfølgningssbesøget efter 1 år, 60,3 % (6.517/10.814) besøget efter 2 år, og 58,7 % (6.339/10.807) besøget efter 3 år. I alt fuldførte 58,8 % (6.375/10.843) af kvinderne forsøget (havde \geq CIN2 ved baseline eller under opfølgning, og/eller fuldførte påkrævede besøg).

Af de 10.843 evaluerbare kvinder havde 511 (4,7 %) positive Aptima HPV Assay resultater på Panther Systemet ved baseline. Af disse 511 kvinder, havde 255 (49,9 %) enten positiv eller negativ sygdomsstatus efter 3 år baseret på cytologiske resultater eller resultater af kolposkopi/biopsi. De resterende 10.332 kvinder havde negative Aptima HPV Assay resultater på Panther Systemet ved baseline. Af disse 10.332 kvinder havde 5.946 (57,5 %) enten positiv eller negativ sygdomsstatus efter 3 år. Ud af de 6.201 kvinder med sygdomsstatus efter 3 år, havde 47 kvinder \geq CIN2 herunder 23 med \geq CIN3; 6.154 kvinder havde normal/CIN1 ifølge Konsensus fra histologisk evalueringspanel. Baseline-resultaterne af Aptima HPV Assay og en kommercielt tilgængelig HPV DNA-analyse og sygdomsstatusen efter 3 år (inkluderer baseline- and opfølgningsevaluering) ifølge Konsensus fra histologisk evalueringspanel vises i Tabel 17.

Tabel 17: NILM ≥ 30 års population: Klassificering af kvinder kvalificeret til opfølgingsfasen ved baseline Aptima HPV Assay resultater, baseline HPV-DNA testresultater og sygdomsstatus (≥ CIN2, ≥ CIN3, ubekræftet) bestemt ved baseline og opfølgingsfaserne

Aptima HPV Assay resultat	HPV-DNA test	Kvinder i alt	Bekræftet sygdomsstatus: ≥ CIN2		Bekræftet sygdomsstatus: ≥ CIN3		Ubekræftet sygdomsstatus	
			Sygdomsramte kvinder (≥ CIN2)	Ikke sygdomsramte kvinder (< CIN2)	Sygdomsramte kvinder (≥ CIN3)	Ikke sygdomsramte kvinder (< CIN3)	Tabt for opfølgning	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
Total		10.843	47	6.154	23	6.178	4.378	264

*Kvinder, som havde unormale cytologiske testresultater under opfølgning, og som ikke havde et efterfølgende resultat ifølge Konsensus histologisk evalueringspanel, og kvinder med utilstrækkelig cytologi under deres sidste besøg. 174 kvinder med ubestemt sygdomsstatus fuldførte opfølgning ifølge protokollen.

**631 kvinder med Aptima HPV Assay resultater havde ingen HPV DNA-testresultater primært på grund af utilstrækkeligt cytologisk prøvevolumen.

Den kumulative sygdomsrisiko efter 3 år (≥ CIN2 og ≥ CIN3) er baseret på Kaplan-Meier estimering (overlevelsestavle) og inkluderer sygdom detekteret ved baseline eller under opfølgning. Kvinder med nogle sygdomstegn (ASC-US eller mere alvorlige cytologiske resultater), men uden et resultat baseret på Konsensus histologisk evalueringspanel, var inkluderet i analysen ved at bruge en metode med flere modregninger til at forudsige antallet af kvinder med sygdom, som ville være blevet identificeret, hvis kvinderne havde gennemgået kolposkopi.

De kumulative estimater af absolut og relativ risiko til detektering af ≥ CIN2 og ≥ CIN3 er vist i Tabel 18.

Table 18: NILM ≥ 30 års population: Kumulativ absolut og relativ risiko* for ≥ CIN2 og ≥ CIN3 efter 3 år for resultater af Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test ved baseline

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

*De kumulative risici efter 3 år justeret for andre mulige bias svarede til risiciene i denne tabel. På grund af de forventede forskelle i risici efter 1 år og 2 år for de to grupper af kvinder i opfølgingsforsøget (dem med kolposkopi ved baseline og dem uden kolposkopi ved baseline, er kun blevet rapporteret den kumulative risiko for de kombinerede grupper efter 3 år.

Den kumulative prævalens af ≥ CIN2 og ≥ CIN3 efter 3 år hos kvinder med NILM cytologiske resultater ved baseline var hhv. 0,68 % og 0,34 %. Den relative risiko for ≥ CIN2 var 24,45 (95 % KI: 13,85, 43,15), hvilket angiver, at en kvinde med en positiv Aptima HPV Assay har 24,45 gange større sandsynlighed for at have ≥ CIN2 end en kvinde med en negativ Aptima HPV Assay. Den relative risiko for ≥ CIN3 var 57,11 (95% CI: 21,09, 154,62).

Klinisk præstation af Aptima HPV Assay med SurePath væskebaserede cytologiprøver

Der blev indsamlet SurePath væskebaserede cytologiprøver fra canadiske kvinder (n=558), som blev henvist til opfølgning på grund af en eller flere unormale Pap-test, en HPV-infektion eller anden årsag. Der blev overført en afmålt portion (0,5 ml) af hver prøve til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel, og den portion blev derefter behandlet med Aptima-overførselsopløsning. Et enkelt replikat af hver prøve blev testet med Aptima HPV Assay. Der blev fjernet en separat afmålt portion (1 ml) af hver prøve til evaluering med en kommercielt tilgængelig HPV PCR-test. Den kliniske sensitivitet til detektion af sygdom, defineret som et \geq CIN3-histologiresultat, blev beregnet for både Aptima HPV Assay og HPV PCR-testen, som vist i Tabel 19, med de positive og negative prædiktive værdier.

Tabel 19: Præstation af Aptima HPV Assay og en HPV PCR-test til detektion af \geq CIN3

Præstation	Aptima HPV Assay N=558		HPV PCR-test N=558	
	Estimat	(95 % CI)	Estimat	(95 % CI)
Sensitivitet (%)	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

Klinisk præstation for Aptima HPV Assay med cervikal prøveudtagning og transportprøver

Der blev udtaget parrede væskebaserede ThinPrep-cytologiprøver og Aptima CSCT Kit-prøver fra 735 personer. En milliliter (1,0 mL) af hver væskebaseret ThinPrep-cytologiprøve blev fortyndet ned i 2,9 mL Aptima-prøvetransportmedier, og et enkelt replikat blev testet med Aptima HPV assayet på Tigris DTS System. Et enkelt replikat af hver CSCT-prøve blev også testet med Aptima HPV assayet. Aptima HPV assayets procentvise overensstemmelse mellem den væskebaserede ThinPrep-cytologiprøve og CSCT-prøven blev bestemt, og resultaterne er vist i Tabel 20.

Den procentvise positive overensstemmelse var 95,9 % (95 % CI: 92,6-97,8); Den procentvise negative overensstemmelse var 95,5 % (95 % CI: 93,3-97,0); og den samlede overensstemmelse var 95,6 % (95 % CI: 93,9- 96,9). Der blev iagttaget en stærk korrelation mellem de væskebaserede cytologiprøver og transportkitprøverne (kappa = 0,90).

Tabel 20: Samlet overensstemmelse mellem Aptima HPV assayresultater fra væskebaserede ThinPrep-cytologiprøver og Aptima-prøver fra cervikal prøveudtagning og transportkitprøver testet på Tigris DTS Systemet

		ThinPrep væskebaseret cytologiprøve		I alt
		Positive	Negative	
Aptima CSCT kit-prøve	Positive	234	22	256
	Negative	10	469	479
	I alt	244	491	735

Positiv overensstemmelse = 95,9 % (92,6-97,8)
 Negativ overensstemmelse = 95,5 % (93,3-97,0)
 Samlet overensstemmelse = 95,6 % (93,9-96,9)
 Kappakoefficient = 0,90

Højrisiko-HPV-positive og højrisiko-HPV-negative kliniske prøver, der blev indsamlet fra populationer via både screening (rutinekonsultation) og henvisning (kolposkopikonsultation) med Aptima CSCT-kittet, blev testet med Aptima HPV Assay på Panther- og Tigris DTS Systems med to reagenslot. Der vises overensstemmelse mellem Panther og Tigris DTS Systems for CSCT-prøver i Tabel 21.

For CSCT-prøverne var den samlede overensstemmelse mellem Panther- og Tigris DTS System > 98 % som vist i Tabel 21. Af de 632 kliniske prøver, der blev testet, var 69 CIN2+ og 38 CIN3+. Aptima HPV Assay sensitivitet til detektion af CIN2+ var 97,1 % (95 % C.I. 90,0 %-99,2 %) på Panther System og 98,6 % (95 % CI: 92,2-99,7) på Tigris DTS System. Sensitivitet til detektion af CIN3+ var 100 % (CI: 90,8 %-100 %) på både Panther- og Tigris DTS Systems.

Tabel 21: Overensstemmelse for Aptima HPV Assay resultater fra Aptima CSCT-prøver testet på Tigris DTS og Panther Systems

		Tigris DTS-system		I alt
		Positiv	Negativ	
Panther System	Positiv	490	3	493
	Negativ	9	130	139
	I alt	499	133	632

Samlet overensstemmelse = 98,1 % (CI 96,7-98,9)
 Positiv overensstemmelse = 98,2 % (CI 96,6-99,0)
 Negativ overensstemmelse = 97,7 % (CI 93,6-99,2)

Analytisk sensitivitet

Detektionsgrænsen (LoD) ved det kliniske cutoff er koncentrationen af HPV RNA, der giver et positivt resultat (over det kliniske cutoff) 95 % af gangene. Detektionsgrænsen for Aptima HPV Assay blev bestemt ved at teste fortyndingspaneler af *in vitro* transkripter (IVT) for alle 14 højrisikofyldte genotyper og 4 HPV-inficerede cellelinjer: SiHa, HeLa, MS751 og ME180 (ATCC, Manassas, Virginia). For IVT-panelerne blev prøvetransportmedier spiket med IVT ved forskellige koncentrationer og derefter fortyndet med individuelle negative ThinPrep væskebaserede cytologiprøver før testning. For de HPV-inficerede cellepaneler blev pools af HPV-negative ThinPrep væskebaserede cytologiprøver spiket med HPV-inficerede celler ved forskellige koncentrationer og derefter fortyndet med prøvetransportmedier før testning. Tredive replikater af hvert kopiniveau blev testet med hvert to reagenslots for i alt 60 replikater. Testningen fandt sted over 17 dage, med 1 til 12 kørsler udført pr. dag og 5 replikater af en

bestemt genotype og koncentration testet i hver kørsel. Detektionsgrænsen på 95 % blev beregnet med en Probit-regressionsanalyse af positivitetsresultaterne for hvert fortyndingspanel.

Probit-analyseresultaterne i Tabel 22, viser, at HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 og 68 havde 95 % detektionsgrænser på mindre end 100 kopier/reaktion. Og type 52, 58 og 66 havde 95 % detektionsgrænser på mellem 100 og 500 kopier/reaktion. De fire testede cellelinjer havde 95 % detektionsgrænser på mindre end 1 celle/reaktion.

Tabel 22: Detektionsgrænsen ved det kliniske cutoff for Aptima HPV Assay

Target	Detektionsgrænse* (95 % CI)
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 pr. reaktion for *in vitro* transkripter og celler pr. reaktion for cellelinjer

Analysepræcision

Præcisionen af Aptima HPV Assay blev evalueret i to undersøgelser vha. det samme 20-elementspanel. Undersøgelse 1 blev foretaget på 3 steder, 2 eksterne og 1 internt, og undersøgelse 2 blev foretaget internt. Panelet inkluderede 13 HPV positive elementer med koncentrationer på eller over analysens detektionsgrænse (forventet positivitet: $\geq 95\%$), 3 HPV-positive elementer med koncentrationer under analysens detektionsgrænse (forventet positivitet: $>0\%$ til $<25\%$) og 4 HPV-negative elementer. HPV-positive panelelementer blev forberedt ved at spike *in vitro* RNA-transkripter (IVT) i PreservCyt-opløsning fortyndet med prøvetransportmedium (STM) eller HPV-inficerede dyrkede celler (SiHa, HeLa og MS751; ATCC, Manassas, Virginia) i poolede negative ThinPrep væskebaserede cytologiprøver, der var fortyndet med STM. HPV-negative panelelementer blev klargjort med PreservCyt-opløsning eller poolede negative ThinPrep væskebaserede cytologiprøver, der var fortyndet med STM.

I undersøgelse 1 foretog 2 operatører på hvert af de 3 teststeder (1 instrument pr. sted) 2 Aptima HPV Assay arbejdslistes pr. dag (1 med hvert reagenslot) over 3 dage. Hver arbejdsliste indeholdt 3 replikater af hvert reproducerbarhedspanelmedlem. Ethundredeotte (108) individuelle prøvereagensglas blev testet for hvert panelelement (3 steder x 1 instrument x 2 operatører x 2 lot x 3 arbejdslistes x 3 replikater). I undersøgelse 2 fandt testningen sted internt over 13 dage med i alt 162 reaktioner testet for hvert panelmedlem (1 sted x 3 instrumenter x 3 operatører x 3 lot x 2 arbejdslistes x 3 replikater).

Panelelementerne er beskrevet i Tabel 23a (panelelementer med forventede positive resultater) og Tabel 23b (panelelementer med forventede negative resultater) sammen med en oversigt over overensstemmelsen med forventede resultater og analyt-S/CO-værdier ved 2,5., 50. og 97,5. percentil af S/CO-fordelingen. Analyt-S/CO-variabiliteten for panelelementerne med forventede positive resultater er vist i Tabel 24 for undersøgelse 1 og Tabel 25 for undersøgelse 2.

Table 23a: Aptima HPV Assay precision study 1 and 2: Panel description, positive agreement and percent distribution of analyt-S/CO values for panel elements with expected positive results

Panel description (copies or cells/ reaction)	Study 1 (3 test laboratories)			Study 2 (1 test laboratory)				
	% positive agreement (95% CI)	Analyt S/CO Percentile			% positive agreement (95% CI)	Analyt S/CO Percentile		
		2.5.	50.	97.5.		2.5.	50.	97.5.
HPV high positive clinical test 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 high positive clinical test 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 copies)	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 copies)	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 low positive clinical test 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 low positive clinical test 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 low positive clinical test 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 low positive clinical test 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 copies)	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 copies)	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-cells (0,63 cells)	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 cells (0,35 cells)	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 cells (0,90 cells)*	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 transcript

* Expected % positive agreement ~95%; observed lower, possibly due to variability in the preparation of panel members

Tablet 23b: Aptima HPV Assay præcisionsundersøgelse 1 og 2: Panelbeskrivelse, negativ overensstemmelse og percentilfordeling af analyt-S/CO-værdier for panelelementer med forventede negative resultater

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/ reaktion)	Undersøgelse 1 (3 testlaboratorier)			Undersøgelse 2 (1 testlaboratorium)				
	% negativ overensstemmelse (95 % CI)	Analyt S/CO Percentil			% negativ overensstemmelse (95 % CI)	Analyt S/CO Percentil		
		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 opløsning 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 opløsning 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

Table 24: Aptima HPV Assay precision study 1: Signal variability for panel elements with expected positive results

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaktion)	n	Middel S/CO	Instrumenter imellem		Operatører imellem		Lot imellem		Arbejdslistes imellem		Inden for arbejdslistes		I alt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV-højpositiv 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
HPV-højpositiv 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
HPV-lavpositiv 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
HPV-lavpositiv 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
HPV-lavpositiv 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
HPV-lavpositiv 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 = variationskoefficient; IVT = in vitro transkript; SD = standardafvigelse

*Tolv prøver havde ugyldige Aptima HPV Assay resultater (1 for HPV-højpositiv klinisk prøve 1, 1 for HPV-højpositiv klinisk prøve 2, 1 for HPV 16 IVT (1830 kopier), 1 for HPV 18 IVT (1550 kopier), 1 for HPV-lavpositiv klinisk prøve 1, 6 for HPV 16 IVT (183 kopier) og 1 for SiHa-celler (0,90 celler)).

Bemærk: Variabiliteten fra nogle faktorer kan være numerisk negative. Dette kan forekomme, hvis variabiliteten grundet disse faktorer er meget lille. I disse tilfælde blev SD og CV angivet som nul.

Table 25: Aptima HPV Assay præcisionsundersøgelse 2: Signalvariabilitet for panelelementer med forventede positive resultater

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaktion)	n	Middel S/CO	Instrumenter imellem		Operatører imellem		Lot imellem		Arbejdslister imellem		Inden for arbejdslister		I alt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV-højpositiv 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
HPV-højpositiv 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
HPV-lavpositiv 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
HPV-lavpositiv 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
HPV-lavpositiv 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
HPV-lavpositiv 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 = variationskoefficient; IVT = in vitro transkript; SD = standardafvigelse

*Seks prøver havde ugyldige Aptima HPV Assay resultater (1 for HPV-højpositiv klinisk prøve 1, 1 for HPV 16 IVT (1830 kopier), 1 for HPV-lavpositiv klinisk prøve 3, 3 for HPV 18 IVT (155 kopier)).

Bemærk: Variabiliteten fra nogle faktorer kan være numerisk negative. Dette kan forekomme, hvis variabiliteten grundet disse faktorer er meget lille. I disse tilfælde blev SD og CV angivet som nul.

Krydsreaktivitet

Bemærkning: Test med potentielt krydsreaktive organismer for Aptima HPV-assayet blev udført vha. Tigris DTS System. Aptima HPV assayet blev første gang lanceret på Tigris DTS System i 2008. I 2011 blev indikationerne udvidet til at bruge Aptima HPV assayet på Panther System. Panther System er en alternativ, mindre instrumentplatform til Tigris DTS System. Begge systemer er beregnet til fuldt ud at automatisere amplifieret nukleinsyretestning i diagnostiske assays. Testning af udvalgte assaypræstationer udført på Tigris DTS System blev anvendt til at understøtte assaypræstation på Panther System.

Aptima HPV assayets analytiske specificitet blev evalueret med PreservCyt opløsningsmedier fortyndet 1:2,9 i STM og tilsat dyrkede bakterier, gær eller svampe; dyrket virus; eller lavrisiko-HPV *in vitro* transkripter Organismer og testkoncentrationer er angivet i Tabel 26. Undersøgelseskriterierne til vurdering af virkningen af tilstedeværelsen

af mikroorganismer på assayets specificitet var baseret på positivitet. Der blev iagttaget krydsreaktivitet med lavrisiko-HPV-genotyperne 26, 67, 70 og 82, men ikke med nogen af de andre testede organismer.

Tabel 26: Panel til analytisk specificitet: Organismer og koncentration uden krydsreaktivitet

Organisme	Test Koncentration uden krydsreaktivitet	Organisme	Test Koncentration uden krydsreaktivitet
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</i> og <i>Chlamydia trachomatis</i>	2,5x10 ⁷ CFU/mL 2,3x10 ⁶ 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		
Gær/protozoer			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ celler/mL
Vira			
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

Tabel 26: Panel til analytisk specificitet: Organismer og koncentration uden krydsreaktivitet (*fortsat*)

Organisme	Test Koncentration uden krydsreaktivitet	Organisme	Test Koncentration uden krydsreaktivitet
Epstein-Barr virus	4,3x10 ⁶ vp/mL	SV40	1,2 x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL
HIV-1	1,0x10 ⁶ kopier/mL		
Ikke-målede HPV-genotyper			
HPV 6	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL	HPV 61	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL
HPV 11	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL	HPV 67	1 kopi/mL
HPV 26	2,5 kopier/mL	HPV 69	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL
HPV 30	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL	HPV 70	1 kopi/mL
HPV 34	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL	HPV 71	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL
HPV 42	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL	HPV 73	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL
HPV 43	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL	HPV 81	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL
HPV 44	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL	HPV 82	1 kopi/mL
HPV 53	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL	HPV 85	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL
HPV 54	2,5 x 10 ⁶ kopier/mL		

vp = virale partikler; CFU = kolonidannende enheder; TCID₅₀ = vævskulturinicerende dosis 50

Bemærkning: Fed skrift angiver typer, hvor der blev iagttaget krydsreaktivitet (> 5 % positivitet) ved testning ved koncentrationer, der var større end de, der var angivet i tabellen.

Den analytiske sensitivitet af Aptima HPV assayet i nærvær af mikroorganismer blev evalueret med det samme panel, som er beskrevet i Tabel 26, som også havde fået tilsat en lav koncentration af HPV-inficerede SiHa-celler (1 celle pr. reaktion).

Undersøgelseskriterierne til vurdering af virkningen af tilstedeværelsen af mikroorganismer på assayets sensitivitet var baseret på positivitet. Aptima HPV assayets sensitivitet blev ikke påvirket af nogen af de testede organismer.

Interferens

Bemærkning: Test med potentielle interfererende stoffer for Aptima HPV assay blev udført vha. Tigris DTS System. Aptima HPV assayet blev første gang lanceret på Tigris DTS system i 2008. I 2011 blev indikationerne udvidet til at bruge Aptima HPV assayet på Panther System. Panther System er en alternativ, mindre instrumentplatform sammenlignet med Tigris DTS System. Begge systemer er beregnet til fuldt ud at automatisere amplifieret nukleinsyretestning i diagnostiske assays. Testning af udvalgte assaypræstationer udført på Tigris DTS System blev anvendt til at understøtte assaypræstation på Panther System.

De stoffer, der er beskrevet i Tabel 27, blev individuelt tilsat PreservCyt opløsning i koncentrationer på 1 % og 10 % v/v eller w/v, fortyndet med STM og derefter testet med Aptima HPV assayet. Alle stoffer blev testet i tilstedeværelse og fravær af HPV-inficerede dyrkede celler (SiHa, 3 celler/reaktion). Der blev observeret interferens med to af de syv glidecremer, der indeholdt Polyquaternium 15, og ét af de fem anti-svampemidler, der indeholdt tioconazol. Der blev ikke iagttaget interferens med nogen af de andre testede stoffer.

Table 27: Stoffer, der blev testet for mulig interferens med Aptima HPV Assay

Produktkategori	Produktmærke eller -type	Den højeste testede koncentration, der ikke interfererede med assayets præstation
Glidecreme	KY Sensual Mist	10 % v/v
	KY Warming Jelly	10 % w/v
	KY Warming Liquid	10 % v/v
	CVS Brand Personal Lubricant	10 % w/v
	Target Brand Warming Massage Lotion and Personal Lubricant	10 % v/v
	Astroglide Personal Lubricant	0,3 % w/v (0,075 % w/v testprøve)
	Target Brand Lubricating Liquid	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
Anti-svampe-/ anti-kløe-medicin	Vagisil Maximum Strength	10 % w/v
	Monistat Soothing Care	10 % w/v
	Monistat 3 Combination Pack	10 % w/v
	Target Brand Tioconazole 1	0,3 % w/v (0,075 % w/v testprøve)
	Target Brand Miconazole 3	10 % w/v
Glacial Acetic Acid	EMD M/N AX0073-11	10 % v/v
Fuldblod	Fuldblod	10 % v/v

* Intime glidecremer, der indeholder Polyquaternium 15.

Præ- og postcytologiske ThinPrep væskebaserede cytologiprøver behandlet på ThinPrep 2000-processoren

Der blev gennemført tests for at påvise ækvivalensen af ThinPrep liquid Pap kliniske prøver med alikvoter, der blev fjernet før og efter behandling på ThinPrep 2000-processoren. Halvtreds (50) prøvepar før og efter behandling blev testet med hvert af de tre reagenslots for i alt 150 prøvesæt. Den samlede overensstemmelse mellem prøver før og efter behandling var 96,0 % (CI 95 %: 91,6 % - 98,2 %). Den positive overensstemmelse (ved brug af efterbehandlede prøver som reference) var 95,6 % (CI 95 %: 89,2% - 98,3%) og den negative overensstemmelse var 96,6% (CI 95 %: 88,5% - 99,1%). Kappaoefficienten var 0,92.

Præ- og postcytologiske ThinPrep væskebaserede cytologiprøver behandlet på ThinPrep 5000-processoren

Der blev udført tests for at bestemme overensstemmelsen mellem ThinPrep liquid cytologiprøver i PreservCyt opløsning testet på Aptima HPV Assay før og efter behandling på ThinPrep 5000-processoren. I alt 200 konstruerede ThinPrep liquid cytologiprøver (100 HPV-positive og 100 HPV-negative) blev evalueret i Aptima HPV assayet før og efter behandling på ThinPrep 5000-processoren. Undersøgelsen viste sammenlignelig præstation mellem præ- og post-cytologiprøver ved alle testede koncentrationer (Tabel 28).

Tabel 28: Prøveresultater for præ- og post-cytologiprøver

		Præ-cytologi				
		Positive prøver (over C95)		Negative prøver (under C95)		
		Tilsat HeLa ved ~10 X LoD (95 % CI)	Tilsat HeLa ved 1,5-3 X LoD (95 % CI)	Tilsat HeLa ved 0,05 X LoD (95 % CI)	Ikke tilsat (95 % CI)	
Post- cytologi	Positiv procent Overensstemmelse	100,0	98,7	0,0	Udfyldes ikke	
		(83,9; 100,0)	(93,2; 99,8)	(0,0; 79,3)		
		20/20	78/79	0/1		
	Negativ procentoverensstemmelse	Udfyldes ikke		0,0	97,4	100,0
				(0,0; 79,3)	(86,8; 99,5)	(94,0; 100,0)
				0/1	38/39	60/60
I alt		20	80	40	60	

CI = konfidensinterval

Præ- og post-cytologiske ThinPrep væskebaserede cytologiprøver behandlet på Genesis-processor

Der blev gennemført tests for at påvise ækvivalensen af ThinPrep liquid Pap kliniske prøver med alikvoter, der blev fjernet før og efter behandling på Genesis-processoren. Fra hver forbehandlingsprøve blev der testet to unikke alikvoter. For prøver, hvor resultaterne fra begge forbehandlingsaliquoter var i overensstemmelse, blev der derefter anvendt et sammensat forbehandlingsreferenceresultat til at beregne overensstemmelsen med et efterbehandlingsaliquot fra den samme prøve. For 2068 prøver med et sammensat referenceresultat var den samlede overensstemmelse mellem resultaterne fra før- og efterbehandlingen 98,2 % (95 % CI 97,5-98,7 %). Den positive overensstemmelse var 97,9 % (95 % CI 94,7-99,2 %), og den negative overensstemmelse var 98,2 % (95 % CI: 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., Pauli, 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, Ererson 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, Schlaberg 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, Sciarone 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.

Kontaktinformation og revisionshistorik



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 e-mailadresse og telefonnummer til landespecifik Teknisk support og Kundeservice henvises til www.hologic.com/support.

Alvorlige hændelser, der opstår i forbindelse med udstyret i EU, bør rapporteres til producenten og den relevante myndighed i det medlemsland, hvor brugeren og/eller patienten er etableret.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris og tilhørende logoer er varemærker eller registrerede varemærker, tilhørende Hologic, Inc. og/eller dets datterselskaber i USA og/eller andre lande.

SurePath og PrepStain er varemærker, tilhørende TriPath Imaging, Inc.

Alle andre varemærker, der måtte findes i denne indlægsseddel, tilhører deres respektive ejere.

Dette produkt kan være omfattet af et eller flere amerikanske patenter, der findes på www.hologic.com/patents

©2016-2023 Hologic, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

AW-22202-1901 Rev. 001

2023-03

Revisionshistorik	Dato	Beskrivelse
AW-22202 Rev. 001	Marts 2023	<ul style="list-style-type: none"> • Brugsanvisning AW-22202 Rev. 001 til Aptima™ HPV Assay (Panther™ System) assay er udarbejdet på basis af AW-14517 Rev. 007 for overholdelse af myndighedskrav til IVDR. • Den tilsigtede anvendelse er opdateret ved at fjerne referencen til brug på Tigris DTS System. • Oversigt over sikkerhed og præstation er tilføjet. • Fareoplysninger ifølge EU-krav er opdateret. • Opdaterede afsnit: Advarsler og forholdsregler, Krav til reagensopbevaring og -håndtering, Prøvetagning og -opbevaring, Medfølgende materialer, Materialer, der er påkrævet, men fås separat, Testprocedure til Panther System, Begrænsninger, Assay præcisionstabeller, Krydsreaktivitet, Interferens og Bibliografi. • Opdateret kontaktinformation, herunder: Information om EU-repræsentant, CE-mærke, australsk repræsentant og teknisk support. • Diverse stil- og formateringsopdateringer.