

Aptima-analys för HPV (Panther-systemet)

Bruksanvisning
För diagnostisk *in vitro*-användning
Endast för export från USA.

Allmän information	2
Avsedd användning	2
Sammanfattning och förklaring av analysen	2
Metodprinciper	3
Sammanfattning av säkerhet och prestanda	4
Varningar och försiktighetsåtgärder	4
Förvaring och hantering av reagenser	7
Provtagning och provförvaring	7
Panther-systemet	10
Tillhandahållna reagenser och material	10
Material som krävs men som införskaffas separat	11
Valfritt material	12
Analysmetod för Panther-system	12
Metodanmärkingar	15
Kvalitetskontrollförfaranden	16
Analystolkning	17
Begränsningar	18
Förväntade resultat med Panther-systemet: Prevalens av högrisk-HPV-mRNA	20
Analysprestanda för Panther-systemet	23
Litteratur	54
Kontaktinformation och revisionshistorik	56

Allmän information

Avsedd användning

Aptima-analysen för HPV är en sondanalys för amplifiering av målnukleinsyresekvens för kvalitativ detektering *in vitro* av E6/E7 viralt messenger-RNA (mRNA) från 14 högrisktyper av humant papillomvirus (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Aptima-analysen för HPV skiljer inte mellan de 14 högrisktyperna.

- Aptima HPV Assay är indicerad för användning vid screening av patienter med ASCUS (atypiska skivepitelceller av obestämt betydelse) Testresultaten från cellprovtagningen görs för att fastställa behovet av en remiss för att genomföra en kolposkopiundersökning. Resultaten av detta test är inte avsedda för att hindra kvinnor från att fortsätta till att genomgå en kolposkopiundersökning.
- Aptima-analysen för HPV kan användas tillsammans med cervikal cytologi för att göra en kompletterande screening (medprovning) för att bedöma förekomsten eller frånvaron av högrisktyper av HPV. Denna information kan tillsammans med läkarens bedömning av cytologihistoriken, andra riskfaktorer och professionella riktlinjer användas för att vägleda patientens behandling.
- Aptima HPV Assay kan användas som ett första linjens primära screeningtest, med eller utan cervixcytologi, för att identifiera kvinnor med en förhöjd risk för utveckling av livmoderhalscancer eller andra högt utvecklade sjukdomar. Denna information kan, tillsammans med läkarens bedömning av patientens screeninghistorik, andra riskfaktorer, och professionella riktlinjer, användas som vägledning för patientens behandling.

Aptima HPV-analysen kan användas för att testa följande provmaterialtyper på Panther-systemet: cervixprovmaterial som samlats in av kliniker i ThinPrep Pap-testflaskor som innehåller PreservCyt-lösning före eller efter behandling av bearbetning av celltest, cervixprovmaterial som samlats in med Aptima provtagnings- och transportkit för cervikalprovmaterial, cervixprovmaterial som samlats in i SurePath-konserveringsmedelvätska, eller självinsamlat vaginalt provmaterial som samlats in i Aptima multitestsats för insamling av pinnprovmaterial.

Sammanfattning och förklaring av analysen

Cervixcancer är en av de vanligast förekommande cancerformerna i världen hos kvinnor. HPV är den etiologiska agensen som är ansvarig för mer än 99 % av all cervixcancer.^{1, 2, 3} HPV är ett vanligt sexuellt överförbart DNA-virus som består av mer än 100 genotyper.⁴

Virusgenomet hos HPV är ett dubbelsträngat cirkulärt DNA med en ungefärlig längd på 7 900 baspar. Genomet har åtta överlappande öppna läsramar. Det finns sex tidiga (E) gener, två sena (L) gener och en icke-translaterad lång kontrollregion. Generna L1 och L2 kodar för de större och mindre kapsidproteinerna. Tidiga gener reglerar HPV-virusreplikation. E6- och E7-generna från HPV-genotyper av högrisktyp är kända onkogener. Proteiner som uttrycks från E6/E7 polycistroniskt mRNA förändrar funktionerna hos cellulärt p53- och retinoblastomprotein, vilket leder till störning av cellcykelns kontrollpunkter och cellgenominstabilitet.^{1, 4}

Fjorton HPV-genotyper anses vara patogena eller med hög risk för cervixsjukdom.⁵ Flera studier har kopplat genotyp 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 och 68 till sjukdomsutveckling.^{2, 6, 7} Kvinnor med en ihållande infektion med någon av dessa typer har en ökad risk för att utveckla svår dysplasi eller livmoderhalscancer.^{5, 8}

HPV-infektioner är mycket vanliga och för de flesta kvinnor försvinner HPV-infektioner inom 6 till 12 månader.^{2, 9} Förekomsten av HPV-nukleinsyra betyder inte att cervikal dysplasi eller cervical cancer föreligger. En effektivare metod för detektering av cervixsjukdom är dock att fokusera på dessa onkogena HPV-element som gynnar persistent virusinfektion och celltransformation.¹⁰

Aptima HPV Assay av kliniska prestanda i primärscreening för livmoderhalscancer

Den kliniska prestandan hos Aptima-analysen för HPV när den används som primär screening har undersökts i flera studier av oberoende prövare. Minst 25 fackgranskade publikationer^{11–35} från 15 separata kliniska studier – rapporterar om prestandan hos Aptima HPV vid primär screening av kvinnor i elva länder (Kina, Kanada, Frankrike, Mexiko, England, Danmark, Nederländerna, USA, Tyskland, Sverige och Thailand). Data från dessa studier visar att Aptima HPV har liknande kliniska prestanda som andra kliniskt validerade HPV-tester när de används för primär screening av livmoderhalscancer och förstadium till cancer.

Metodprinciper

Aptima HPV Assay består av tre huvudsteg som sker i ett och samma provrör: målsekvensinfångning, målamplifiering genom transkriptionsmedierad amplifiering (TMA),⁴² och detektering av amplifieringsprodukterna (amplicon) med hjälp av hybridiserings-skyddsassayen (HPA).⁴³ Assayen har en intern kontroll (IC) som övervakar nukleinsyrainfångning, amplifiering och detektering, såväl som operatörs- eller instrumentfel.

Provmaterial samlas i eller överförs till ett rör innehållande provmaterialtransportmedium (STM) som lyserar cellerna, frigör mRNA och skyddar det från nedbrytning vid förvaring. När Aptima-analysen för HPV genomförs isoleras mRNA från provmaterialet genom infångningsoligomerer som är kopplade till magnetiska mikropartiklar. Infångningsoligomerer innehåller sekvenser som är komplementära till specifika områden av HPV-mRNA-målmolekylerna samt en sträng av deoxiadenosinrester. Under hybridiseringssteget binder sekvensspecifika områden av infångningsoligomererna till specifika områden av HPV-mRNA-målmolekylen. Infångningsoligomer:mål-komplexet fångas sedan ut ur lösningen genom att reaktionens temperatur minskas till rumstemperatur. Den här temperaturminskningen möjliggör hybridisering mellan deoxiadenosinområdet på infångningsoligomern och polydeoxitymidinmolekyler som är kovalent fästa vid magnetpartiklarna. Mikropartiklarna, inklusive de infångade HPV-mRNA-målmolekylerna som är bundna till dem, dras till sidan av reaktionsröret med hjälp av magneter, och supernatanten aspireras. Partiklarna rengörs i syfte att avlägsna restprovmatrix som kan innehålla amplifieringshämmare.

När målsekvensinfångning har utförts amplifieras HPV:s mRNA med TMA, som är en transkriptionsbaserad nukleinsyraamplifieringsmetod som utnyttjar två enzymer, MMLV omvänt transkriptas och T7 RNA-polymeras. Det omvända transkriptaset används för att skapa en DNA-kopia av mål-mRNA-sekvensen som innehåller promotorsekvensen för T7 RNA-polymeras. T7 RNA-polymeras producerar flera kopior av RNA-amplicon från DNA-mallen.

Detektering av ampliconet uppnås med HPA och användning av enkelsträngade nukleinsyrasonder med kemiluminiscenta märken som är komplement till ampliconet. De märkta nukleinsyrasonderna hybridiserar specifikt till ampliconet. Selektionsreagenset skiljer ut hybridiserade och ohybridiserade sonder genom att inaktivera märket på de ohybridiserade sonderna. Under detekteringssteget mäts ljus som avges från de märkta RNA:DNA-hybriderna som fotonsignaler, vilka kallas relativa ljus enheter (RLU) i en luminometer. Slutliga assayresultat tolkas utifrån analytens signal-till-cutoff (S/CO).

Intern kontroll tillsätts varje reaktion via reagensen för målsekvensinfångning. Den interna kontrollen övervakar målsekvensinfångningen, amplifieringen och stegen för detektering i assayen. Den interna kontrollsignalen i varje reaktion åtskiljs från HPV-signalen genom ljusemissionens differentialkinetik från sonder med olika märken.⁴⁴ Amplicon specifikt för intern kontroll detekteras med användning av en sond med en snabb ljusemission (blinksignal). Amplicon som är specifikt för HPV detekteras med hjälp av sonder med en förhållandevis långsammare ljusemissionskinetik ("glödsignal"). Dual Kinetic assay (DKA) är en metod som används för att skilja på signaler från märkena med blinksignal och glödsignal.⁴⁴

Sammanfattning av säkerhet och prestanda

SSP (Sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns i den europeiska databasen för medicintekniska produkter (Eudamed), där den är kopplad till produktidentifierare (grundläggande UDI-DI). För att hitta SSP för Aptima HPV, se Grundläggande unik produktidentifierare (BUDI), nämligen: **54200455DIAGAPTHPVBR**.

Varningar och försiktighetsåtgärder

- A. För *in vitro*-diagnostiskt bruk.
- B. För professionell användning.
- C. Se användarhandledningen för *Panther-/Panther Fusion-systemet* för ytterligare specifika varningar och försiktighetsåtgärder.

Laboratorierelaterad information

- D. Använd endast tillhandahållet eller specificerat laboratoriematerial för engångsbruk.
- E. Iaktta sedvanliga försiktighetsåtgärder för laboratoriet. Ät, drick och rök inte i områden som är avsedda för laboratoriearbete. Bär puderfria engångshandskar, skyddsglasögon och laboratorierockar vid hantering av prover och satsreagenser. Tvätta händerna ordentligt efter hantering av prover och satsreagenser.
- F. **Varning: Irriterande och frätande:** Undvik hud-, ögon- och slemhinnekontakt med Auto Detect 2. Om dessa vätskor kommer i kontakt med huden eller ögonen ska de påverkade områdena tvättas med vatten. Om du spiller ut dessa vätskor, späder du spillet med vatten innan du torkar torrt.
- G. Arbetsytor, pipetter och annan utrustning måste regelbundet desinficeras med 2,5 % till 3,5 % (0,35 till 0,5 M) natriumhypokloritlösning. Mer information finns i *Analysmetod för Panther-system*.
- H. Använd god standardpraxis för molekylärbiologiska laboratorier inklusive miljöövervakning.

Provrelaterad information

- I. Upprätthåll korrekta temperaturförhållanden vid transport och förvaring av prover för att säkerställa provernas integritet. Provstabilitet har inte utvärderats under andra transport- och förvaringsförhållanden än de rekommenderade.
- J. Utgångsdatum som anges på provtagnings-/överföringssatser och provrör avser provtagnings-/överföringsplatsen och inte analysplatsen. Prover som tagits/överförts vid någon tidpunkt före dessa utgångsdatum kan användas för analys under förutsättning att de har transporterats och förvarats enligt respektive bipacksedel, även om utgångsdatumen har passerats.

- K. Följ universella försiktighetsåtgärder och etablerade laboratorieprotokoll för säker hantering, kassering och förebyggande av korskontaminering. Endast personal med adekvat utbildning i hantering av smittförande ämnen får hantera prover.
- L. Byt handskar omedelbart om de kommer i kontakt med provmaterial. För att förhindra korskontaminering ska använda material kasseras och inte föras över någon annan behållare.
- M. Vid genomträngning kan vätska under vissa förhållanden tränga ut genom locken. Följ anvisningarna i *Analysmetod för Panther-system* för att förhindra att detta inträffar.
- N. Prover med ThinPrep-vätskecytologi och provtagnings- och transportsats för cervixprover (CSCT) ska förkastas om ett provtagningsinstrument har lämnats kvar i provröret.
- O. SurePath-vätskecytologiprover ska förkastas om det inte finns ett provtagningsinstrument i ampullen.
- P. Om laboratoriet tar emot ett Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit transport-rör utan provpinne, med två provpinnar, en rengöringspinne eller en provpinne som inte kommer från Hologic måste provet avvisas.

Assayrelaterad information

- Q. Vidta allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder.
- R. Förvara reagenser vid angivna temperaturer. Assayprestanda kan påverkas om felaktigt förvarade reagenser används.
- S. Undvik att förorena reagenser med mikrobiellt material eller ribonukleas.
- T. Använd inte satsen efter utgångsdatum.
- U. Assayreagenser eller kalibratorer från satser med olika batchnummer får inte växlas, blandas eller kombineras.
- V. Aptima-analysvätskor och Aptima Auto Detect-reagenser ingår inte i huvudsatsen. Vilken batch som helst kan användas.
- W. För att uppnå korrekt assayresultat måste assayreagenserna blandas mycket noga.
- X. Spetsar med hydrofoba pluggar måste användas.
- Y. Vissa reagens i detta kit är märkta med risk- och säkerhetssymboler.

Obs! Farokommunikation återspeglar klassificeringar i EU-säkerhetsdatablad (SDS). För information om farokommunikation specifik för ditt område, se områdets specifika SDS i Safety Data Sheet Library (bibliotek med säkerhetsdatablad) på www.hologic.com. Mer information om symbolerna finns i symbolförklaringen på <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Faroangivelse för EU	
 	Selektionsreagens <i>Borsyra 1–5 %</i> <i>Triton X-100 1–5 %</i> <i>Natriumhydroxid <1 %</i> FARA H315 – Irriterar huden. H360FD – Kan skada fertiliteten. Kan skada det ofödda barnet. P264 – Tvätta ansiktet, händerna och exponerad hud grundligt efter användning. P280 – Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. P302 + P352 – VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket vatten och tvål. P332 + P313 – Vid hudirritation: Sök läkarhjälp. P362 + P364 – Ta av nedstänkta kläder och tvätta dem innan de används igen. P201 – Inhämta särskilda instruktioner före användning. P202 – Använd inte produkten innan du har läst och förstått säkerhetsanvisningarna. P308 + P313 – Vid exponering eller misstanke om exponering: Sök läkarhjälp. P405 – Förvaras inlåst. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till godkänd avfallsanläggning.
	Target Capture Reagent <i>HEPES 5–10 %</i> <i>EDTA 1–5 %</i> <i>Litiumhydroxid, monohydrat 1–5 %</i> — H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till godkänd avfallsanläggning.
—	Amplification Reagent <i>HEPES 25–30 %</i> — H402 – Skadligt för vattenlevande organismer. H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till godkänd avfallsanläggning.
—	Enzyme Reagent <i>HEPES 1–5 %</i> <i>Triton X-100 1–5 %</i> — H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till godkänd avfallsanläggning.
—	Probe Reagent <i>LITIUMSALT MED DODECYLSULFAT 35–40 %</i> <i>BÄRNSTENSSYRA 10–15 %</i> — H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till godkänd avfallsanläggning.
—	Enzyme Reconstitution Solution <i>Glycerol 20–25 %</i> <i>Triton X-100 5–10 %</i> <i>HEPES 1–5 %</i> — H412 – Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P273 – Undvik utsläpp till miljön. P501 – Innehållet/behållaren lämnas till godkänd avfallsanläggning.

Förvaring och hantering av reagenser

Använd inte reagenser efter det utgångsdatum som anges på ampullen. Se nedan för ytterligare förvaringsanvisningar.

A. Följande reagenser förvaras vid 2 °C till 8 °C (i kylskåp) efter leverans:

- HPV-amplifieringsreagens
- HPV-enzymreagens
- HPV-sondreagens
- HPV-intern kontrollreagens
- HPV-positiva kalibratorer och negativa kalibratorer

B. Följande reagenser förvaras vid 15 °C till 30 °C (rumstemperatur):

- HPV-amplifieringsrekonstitutionslösning
- HPV-enzymrekonstitutionslösning
- HPV-sondkonstitutionslösning
- HPV-reagens för målsekvensinfångning
- HPV-selektionsreagens

C. Efter rekonstitution är följande reagenser stabila i 30 dagar när de förvaras vid 2 till 8 °C:

- HPV-amplifieringsreagens
- HPV-enzymreagens
- HPV-sondreagens

D. Arbetsmålsekvensinfångningsreagens (wTCR) är stabilt i 30 dagar när det förvaras vid 15 till 30 °C. Får ej förvaras i kylskåp.

E. Kassera alla oanvända rekonstituerade reagenser och wTCR efter 30 dagar eller, om detta inträffar först, efter att huvudsatsens utgångsdatum passerats.

F. Reagenserna i Aptima-analysen för HPV är stabila i sammanlagt 72 timmar när de förvaras laddade i Panther-systemet.

G. Sondreagens och rekonstituerat sondreagens är ljuskänsliga. Förvara reagenserna skyddade från ljus.

H. **Frys inte reagenser.**

Provtagning och provförvaring

OBS! Hantera alla provmaterial som om de innehåller potentiellt smittförande ämnen. Vidta allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder.

A. Provtagning och provbehandling

ThinPrep-vätskecytologiprover

1. Samla cervikala prover i ThinPrep Pap Test-ampullerna som innehåller PreservCyt-lösning med kvasttyp eller cytoborste-/spateluppsamlingsanordningar enligt tillverkarens instruktioner.
2. Före eller efter behandling med ThinPrep 2000-processorn, ThinPrep 5000-processorn, ThinPrep 5000-processorn med autoloader, eller ThinPrep Genesis-processorn, överför 1 mL av ThinPrep-vätskecytologiprovmaterial till ett Aptima-rör för överföring av provmaterial enligt anvisningarna i Aptima-kitet för överföring av provmaterial och bipacksedeln till Aptima överföringslösning.

SurePath-vätskecytologiprover

1. Samla in ett SurePath-vätskecytologiprov enligt SurePath Pap Test och/eller PrepStain-systemets bruksanvisning.
2. Överför SurePath-vätskecytologiprover till ett Aptima-rör för överföring av provmaterial enligt anvisningarna i Aptima-kitet för överföring av provmaterial och bipacksedeln till Aptima överföringslösning.

Prover med Aptima provtagnings- och transportsats för cervixprover

1. Ta ett prov enligt bruksanvisningen för Aptima CSCT-satsen.

Provmaterial från Aptima multitestsats för insamling av pinnprovmaterial

1. Samla in provet enligt bruksanvisningen för Aptima multitestsats för insamling av pinnprovmaterial.

B. Transport och förvaring före analys*ThinPrep-vätskecytologiprover*

1. Transportera ThinPrep-vätskecytologiprover vid 2 till 30 °C.
2. Prover ska överföras till ett Aptima-provöverföringsrör inom 105 dagar efter provtagning.
3. Före överföringen ska ThinPrep-vätskecytologiprover förvaras vid 2 till 30 °C, med högst 30 dagar vid temperaturer över 8 °C.
4. ThinPrep-vätskecytologiprover som överförts till ett Aptima-provöverföringsrör kan förvaras vid 2 till 30 °C i upp till 60 dagar.
5. Om längre förvaring behövs kan ThinPrep-vätskecytologiprovet eller ThinPrep-vätskecytologiprovet som späts ut i provöverföringsröret förvaras vid -20 °C eller kallare i upp till 24 månader.

SurePath-vätskecytologiprover

1. Transportera SurePath-vätskecytologiprover vid 2 till 25 °C.
2. Prover ska överföras till ett Aptima-provöverföringsrör inom 7 dagar efter provtagning.
3. Före överföring ska SurePath-vätskecytologiprover förvaras vid 2 till 25 °C.
4. SurePath-vätskecytologiprover som överförts till ett Aptima-provöverföringsrör kan förvaras vid 2 till 25 °C i upp till 7 dagar.

Prover med Aptima provtagnings- och transportsats för cervixprover

1. Transportera och förvara prover vid 2 till 30 °C i upp till 60 dagar.
2. Om längre förvaring behövs kan transportsatsprover förvaras vid -20 °C eller kallare i upp till 24 månader.

Provmaterial från Aptima multitestsats för insamling av pinnprovmaterial

1. Transport av provmaterial
 - a. Transportera provmaterial i 2 °C till 30 °C.
 - b. Proverna ska vara laboratoriet tillhanda inom 5 dagar från insamlingstillfället.
2. Provförvaring före analys
 - a. Alternativ 1: Proverna kan förvaras mellan 2 °C och 8 °C i upp till 30 dagar.
 - b. Alternativ 2: Proverna kan förvaras mellan 15 °C och 30 °C i upp till 30 dagar.

C. Behandling av SurePath-vätskecytologiprover

Anm. SurePath vätskecytologiprover måste behandlas med Aptima överföringslösning före analys med Aptima HPV Assay.

1. Aptima-överföringslösning

Behandlade prover kan förvaras vid 2–8 °C i upp till 17 dagar före analys med Aptima-analysen för HPV. Ytterligare detaljer finns i Aptima-kitet för överföring av provmaterial och bipacksedeln till Aptima överföringslösning.

D. Provförvaring efter analys

1. Prover som har analyserats måste förvaras stående i ett ställ.
2. Provrören ska täckas med en ny, ren plast- eller foliebarriär.
3. Om analyserade prover behöver frysas eller fraktas, ska de genomträngliga locken tas av, och nya, ogenomträngliga lock sättas på provrören. Om prover behöver fraktas för analys vid en annan inrättning, måste angivna temperaturer bibehållas. Innan locken tas av från tidigare analyserade prover och med nya lock, måste provrören centrifugeras i 5 minuter vid 420 RCF (relativ centrifugalkraft) för att pressa ned all vätska till rörets botten.

Anm. Prover måste fraktas i enlighet med gällande nationella och internationella transportföreskrifter.

Panther-systemet

Reagenser för Aptima HPV Assay anges nedan för Panther-systemet. Reagens-ID-symboler anges även bredvid respektive reagensnamn.

Tillhandahållna reagenser och material

Aptima HPV Assay, 250 analyser, artikelnr 303093 (3 kartonger)

Aptima HPV Assay, 100 analyser, artikelnr 302929 (3 kartonger)

Kalibratorer kan köpas separat. Se de enskilda artikelnumren nedan.

Aptima HPV-kartong för förvaring i kylskåp (förvaras vid 2 till 8 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
A	HPV-amplifieringsreagens <i>Icke-smittförande nukleinsyror torkade i buffrad lösning innehållande < 5 % bulkmedel.</i>	1 ampull
E	HPV-enzymreagens <i>Omvänt transkriptas och RNA-polymeras torkade i HEPES-buffrad lösning innehållande < 10 % bulkmedelreagens.</i>	1 ampull
P	HPV-sondreagens <i>Icke-smittförande kemiluminiscens-DNA-sonder (< 500 ng/ampull) torkade i succinatbuffrad lösning innehållande < 5 % rengöringsmedel.</i>	1 ampull
IC	HPV-intern kontrollreagens <i>Icke-smittförande RNA-transkript i buffrad lösning innehållande < 5 % rengöringsmedel.</i>	1 ampull

Aptima HPV-kartong för förvaring i rumstemperatur (förvaras vid rumstemperatur, 15 till 30 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
AR	HPV-amplifieringsrekonstitutionslösning <i>Vattenhaltig lösning innehållande konserveringsmedel.</i>	1
ER	HPV-enzymrekonstitutionslösning <i>HEPES-buffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne och glycerol.</i>	1
PR	HPV-sondkonstitutionslösning <i>Succinatbuffrad lösning innehållande < 5 % rengöringsmedel.</i>	1
S	HPV-selektionsreagens <i>600 mM boratbuffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne.</i>	1
TCR	HPV-reagensen för målsekvensinfångning <i>Buffrad lösning innehållande fastfas- och infångningsoligomerer (< 0,5 mg/mL).</i>	1
	Rekonstitutionskragar	3
	Strekkodsblad för huvudsatsen	1 blad

Kartong med Aptima HPV-kalibratorer (artikelnummer 302554)
(förvaras vid 2 till 8 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
PCAL	HPV-positiv kalibrator <i>Icke-smittförande HPV 16 in vitro-transkription vid 1 000 kopior per ml i en buffrad lösning innehållande < 5 % rengöringsmedel.</i>	5 ampuller
NCAL	HPV-negativ kalibrator <i>Buffrad lösning som innehåller < 5 % rengöringsmedel.</i>	5 ampuller

Material som krävs men som införskaffas separat

Anm. Materiel tillgängligt från Hologic anges med artikelnummer, såvida det inte specificeras på annat sätt.

Material	Art. nr.
Panther-systemet	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Panther-systemet, kontinuerlig vätska och avfall (Panther Plus)	PRD-06067
Körningssats för Panther	303096
<i>Aptima analysvätskekit</i>	303014
<i>(Aptima tvättlösning, Aptima buffert för inaktiveringsvätska och Aptima oljereagens)</i>	
<i>Aptima autotetekteringssats</i>	303013
<i>Multirörsenheter (MTU-enheter)</i>	104772-02
<i>Panther avfallspåse, sats</i>	902731
<i>Panther avfallspåse, lock</i>	504405
Spetsar, 1 000 µL filtrerade, ledande, vätskeavkännande och för engångsbruk	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Alla produkter är inte tillgängliga i alla regioner. Kontakta din representant för regionsspecifik information</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Aptima-kit för överföring av provmaterial	301154C
Aptima-kit för överföring av provmaterial – utskrivbar	PRD-05110
Aptima provtagnings- och transportkit för cervikalprovmaterial	302657
Aptima multitestersats för insamling av pinnprovmaterial	PRD-03546
Aptima penetrerbara lock	105668
Ogenomträngliga utbyteslock	103036A
Extralock till 250 testkit:	—
<i>Rekonstitutionslösningar för amplifieringsreagens och sondreagens</i>	CL0041
<i>Rekonstitutionslösning för enzymreagens</i>	501616
<i>TCR- och selektionsreagens</i>	CL0040
Extralock till 100 testkit:	—
<i>Rekonstitutionslösningar för amplifieringsreagens och sondreagens</i>	CL0041
<i>Rekonstitutionslösning för enzymreagens</i>	CL0041
<i>TCR- och selektionsreagens</i>	501604
Blekmedel, 5,0 % till 8,25 % (0,7 M till 1,16 M) natriumhypokloritlösning	—
Engångshandskar	—
Aptima-överföringslösningsskit (endast för SurePath-provmaterial)	303658

Valfritt material

Material	Art. nr
Hologic blekmedelsförstärkare för rengöring	302101
Värmeblock	—
Provrörsvagga	—

Analysmetod för Panther-system

Anm. Se Användarhandledning för Panther-/Panther Fusion-systemet för ytterligare information om förfaranden.

A. Förberedelse av arbetsyta

1. Rengör arbetsytor där reagens ska beredas. Torka av arbetsytorna med 2,5 % till 3,5 % (0,35 M till 0,5 M) natriumhypokloritlösning. Låt natriumhypokloritlösningen verka minst 1 minut på arbetsytorna och skölj sedan med avjoniserat vatten (DI). Låt inte natriumhypokloritlösningen torka. Täck bänkytan där reagens och prover ska beredas med rena och absorberande skyddspapper för laboratoriebank med plastad baksida.
2. Rengör en separat bänkyta för beredning av prover. Följ proceduren som beskrivs ovan (steg A.1).
3. Rengör eventuella pipetter. Följ rengöringsproceduren som beskrivs ovan (steg A.1).

B. Reagensförberedelse av en ny sats

Anm. Reagensrekonstitution ska utföras innan något arbete påbörjas på Panther-systemet.

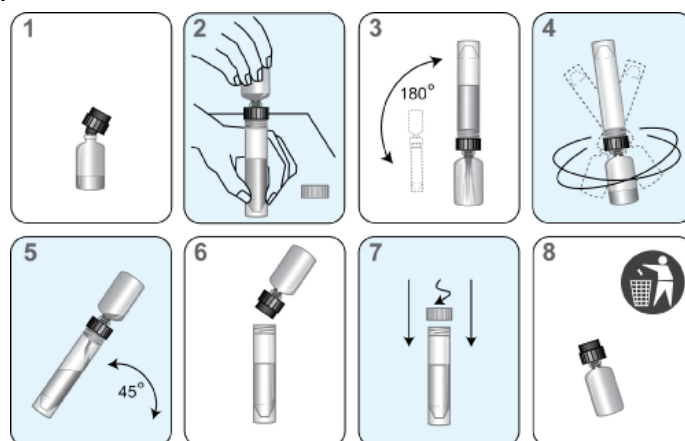
1. Före analys måste amplifierings-, enzym- och sondreagens rekonstitueras genom att innehållet i flaskorna med frystorkat reagens kombineras med passande rekonstitutionslösning.
 - a. Låt de frystorkade reagensen nå rumstemperatur (15 °C till 30 °C) före användning.
 - b. Para ihop varje rekonstitutionslösning med respektive frystorkat reagens. Innan rekonstitutionskragen appliceras ska du se till att rekonstitutionslösningen och reagenset har matchande etikettsymboler.
 - c. Kontrollera batchnumret på huvudsatsens streckodsblad så att korrekta reagens paras ihop. Märk locken på flaskor med rekonstitutionslösning.
 - d. Öppna glasampullen med frystorkat reagens och för bestämt in den skårade änden av rekonstitutionskragen i glasampullens öppning (figur 1, steg 1).
 - e. Öppna motsvarande flaska med rekonstitutionslösning och lägg locket på en ren, täckt arbetsyta.
 - f. För bestämt in den andra änden av rekonstitutionskragen i flaskans öppning samtidigt som du håller i flaskan med lösning på bänken (figur 1, steg 2).
 - g. Invertera långsamt de hopsatta flaskorna. Låt lösningen rinna ur flaskan in i glasampullen (figur 1, steg 3).
 - h. Plocka upp de hopmonterade flaskorna och snurra dem för att blanda ordentligt. Undvik skumbildning när du snurrar flaskan (figur 1, steg 4).
 - i. Se till att det frystorkade reagenset går helt i lösning. Snurra flaskorna igen och vagga sedan lösningen något i glasampullen, fram och tillbaka så att den blandas ordentligt.

- j. Kontrollera visuellt att reagenset är helt blandat med lösning utan pulver, klumpar eller vågiga linjer.
- k. Luta långsamt de hopmonterade flaskorna på nytt så att all lösning rinner tillbaka in i flaskan med rekonstitutionslösning (figur 1, steg 5).
- l. Avlägsna rekonstitutionskragen och glasampullen (figur 1, steg 6).
- m. Sätt på antingen det sparade, märkta locket som motsvarar reagenset eller ett nytt lock på plastflaskan. Använd inte olika lock. Notera operatörens initialer och rekonstitutionsdatum på etiketten (figur 1, steg 7).
- n. Kassera rekonstitutionskragen och glasampullen (figur 1, steg 8).
- o. Blanda noggrant alla reagens genom att invertera dem försiktigt innan de laddas i Panther-systemet.

Alternativ: Ytterligare blandning av amplifierings-, enzym- och sondreagenset är tillåten genom att placera de åter lockförsedda plastflaskorna på en provrörsvagga inställd på en måttlig hastighet och luta dem i minst 5 minuter. Se till att reagensen blandas noggrant.

Varning: Undvik att skapa skum vid rekonstitution av reagenser. Skum äventyrar nivåavkänning i Panther-system.

Varning: Adekvat blandning av reagensen är nödvändig för att uppnå förväntade analysresultat.



Figur 1. Rekonstitutionsförfarande för Panther-system

- 2. Förbered arbetsmålsekvensinfångningsreagens (wTCR):
 - a. Para ihop de lämpliga flaskorna med TCR och IC.
 - b. Kontrollera reagensbatchnummer på huvudsatsens streckkodsblad, så att korrekta reagenser i satsen paras ihop.
 - c. Öppna TCR-flaskan och lägg locket på en ren, täckt arbetsyta.
 - d. Öppna IC-flaskan och häll ut hela dess innehåll i en flaska med TCR. En liten mängd vätska brukar bli kvar i IC-flaskan.
 - e. Sätt på locket på flaskan med TCR och rör försiktigt om lösningen för att blanda innehållet. Undvik att skapa skum under detta steg.
 - f. Anteckna operatörens initialer och dagens datum på etiketten.
 - g. Kassera IC-flaskan och locket.

- h. Utfällningar kan bildas i wTCR vilket kan leda till ogiltiga resultat på grund av volymverifieringsfel. Utfällningar kan lösas upp genom att wTCR värms vid 42 till 60 °C i upp till 90 minuter. Låt wTCR utjämnas till rumstemperatur innan det används. Får ej användas om utfällning kvarstår.
3. Förbered selektionsreagenset
 - a. Kontrollera reagensbatchnumret på huvudsatsens streckkodsblad för att säkerställa att det tillhör satsen.
 - b. Om selektionsreagenset innehåller utfällningar ska selektionsreagenset värmas vid 60 °C ± 1 °C i upp till 45 minuter för att underlätta upplösning av utfällningen. Blanda försiktigt innehållet i flaskan var 5:e till 10:e minut. Låt selektionsreagenset uppnå rumstemperatur innan det används. Får ej användas om utfällning eller grumlighet kvarstår.

Anm. Blanda noga genom att invertera alla reagenser innan de laddas i systemet. Undvik att skapa skum när reagenserna inverteras.

C. Reagensförberedelse för tidigare rekonstituerade reagenser

1. Tidigare rekonstituerade amplifierings-, enzym- och sondreagenser måste uppnå rumstemperatur (15 till 30 °C) innan assayen påbörjas.

Alternativ: De lockförsedda plastflaskorna med rekonstituerat amplifierings-, enzym- och sondreagens kan placeras i en provrörsvagga med måttlig hastighet och lutas i minst 25 minuter för att säkerställa att reagensen når rumstemperatur och blandas ordentligt.

2. Om rekonstituerat sondreagens innehåller utfällning som inte löses upp igen vid rumstemperatur, ska lösningen värmas vid en temperatur på högst 60 °C i 1 till 2 minuter. Får ej användas om utfällning eller grumlighet förekommer.
3. Om wTCR innehåller utfällning ska wTCR värmas vid 42 till 60 °C i upp till 90 minuter. Låt wTCR utjämnas till rumstemperatur innan det används. Får ej användas om utfällning kvarstår.
4. Om selektionsreagenset innehåller utfällningar ska selektionsreagenset värmas vid 60 °C ± 1 °C i upp till 45 minuter för att underlätta upplösning av utfällningen. Blanda försiktigt innehållet i flaskan var 5:e till 10:e minut. Låt selektionsreagenset uppnå rumstemperatur innan det används. Får ej användas om utfällning eller grumlighet kvarstår.
5. Blanda varje reagens noga genom att invertera dem försiktigt innan de laddas i systemet. Undvik att skapa skum när reagenserna inverteras.
6. Toppfyll inte reagensflaskor. Panther-systemet känner av och kasserar flaskor som är toppfyllda.

D. Provhantering

1. För varje prov som samlats in med Aptima multitestsats för insamling av pinnprovmaterial, utför följande steg:
 - a. Bekräfta visuellt att det finns en rosa Aptima multitestprovpinne i insamlingsröret.
 - b. Värm Aptima Multitest pinnprover till 90 °C i 75 minuter före testning. Provmaterial ska vara försett med lock under denna process.
2. Låt proverna (kalibratorer och prover) uppnå rumstemperatur före behandling.
3. **Blanda inte prover i vortexblandare.**
4. Kontrollera provrör innan de laddas i stället. Om ett provrör innehåller bubblor eller en mindre volym än normalt, ska röret centrifugeras i 5 minuter vid 420 RCF för att säkerställa att det inte finns någon vätska i locket.

OBS! Om steg 4 inte följs finns det risk för vätskeutströmning från locket på provmaterialröret.

E. Systemförberedelse

1. Ställ i ordning instrumentet enligt anvisningarna i *Panther System Operator's Manual* (användarmanual för Panther-systemet) och i avsnittet *Metodanmärkningar* nedan. Kontrollera att reagensställena och TCR-adaptrarna med lämplig storlek används.
2. Ladda prover.

Metodanmärkningar**A. Kalibratorer**

1. För att fungera på rätt sätt med programvaran för Aptima HPV Assay på Panther-systemet krävs tre replikat av den positiva kalibratoren och tre replikat av den negativa kalibratoren. En ampull med varje kalibrator kan laddas i valfri ställposition i valfri provfack på Panther-systemet. Provpipettering inleds när ett av följande två villkor är uppfyllt:
 - a. En positiv och en negativ kalibrator behandlas just nu av systemet.
 - b. Giltiga resultat för kalibratorerna är registrerade på systemet.
2. När kalibratorrören har pipetterats och behandlas för en specifik reagenssats kan prover köras med den tillhörande assayreagenssatsen i upp till 24 timmar såvida inte:
 - a. Kalibratorresultaten är ogiltiga.
 - b. Den tillhörande assayreagenssatsen avlägsnas från systemet.
 - c. tillhörande assayreagenssatsen har passerat stabilitetsgränserna.
3. Försök att pipettera mer än tre replikat från ett kalibratorrör kan leda till behandlingsfel.

B. Temperatur

Rumstemperatur definieras som 15 till 30 °C.

C. Handskpuder

Som med alla reagenssystem kan för mycket puder på vissa handskar orsaka kontamination av öppna rör. Puderfria handskar rekommenderas.

Kvalitetskontrollförfaranden

A. Kriterier för giltig körning

Programmet fastställer automatiskt analysomgångens giltighet. Programmet ogiltigförklarar en analysomgång om något av följande villkor uppkommer:

- Fler än ett ogiltigt replikat av negativ kalibrator.
- Fler än ett ogiltigt replikat av positiv kalibrator.

En körning kan ogiltigförklaras av en operatör om tekniska problem, operatörsproblem eller instrumentproblem observeras och dokumenteras medan assayen utförs.

En ogiltig körning måste upprepas.

B. Acceptanskriterier förkalibrator

I tabellen definieras RLU-kriterierna för replikat av negativa och positiva kalibratorer.

Negativ kalibrator

Analyt	≥ 0 och $\leq 45\,000$ RLU
IC	$\geq 75\,000$ och $\leq 400\,000$ RLU

Positiv kalibrator

Analyt	$\geq 480\,000$ och $\leq 1\,850\,000$ RLU
IC	$\leq 450\,000$ RLU

C. Beräkning av IC-cutoff

IC-Cutoff fastställs baserat på IC-signalen (blinksignal) från de giltiga negativa kalibratorreplikaten.

$$\text{IC-cutoff} = 0,5 \times [\text{medel-IC RLU av de giltiga negativa kalibratorreplikaten}]$$

D. Beräkning av analyt-cutoff

Analyt-cutoff fastställs baserat på analytsignalen (glödsignal) från de giltiga negativa kalibratorreplikaten såväl som på analytsignalen från de giltiga positiva kalibratorreplikaten.

$$\text{Analyt-cutoff} = \frac{[\text{medelanalyt RLU av de giltiga negativa kalibratorreplikaten}]}{[0,09 \times \text{medelanalyt RLU av de giltiga positiva kalibratorreplikaten}]}$$

E. Beräkning av analytens signal till cutoff (S/CO)

Analytens S/CO fastställs baserat på analytens RLU för analysprovet och analyt-cutoff för körningen.

$$\text{Analytens S/CO} = \frac{\text{analytens RLU för analysprovet}}{\text{analyt-cutoff}}$$

Analystolkning

Analysresultaten fastställs automatiskt av analysprogramvaran. Ett testresultat kan vara negativt, positivt eller ogiltigt i enlighet med IC RLU och S/CO för analyten. Det första giltiga resultatet är det resultat som ska rapporteras. Ett analysresultat kan också vara ogiltigt på grund av att andra parametrar (onormal kinetisk kurvform) ligger utanför de normala förväntade intervallen. Ogiltiga analysresultat måste analyseras på nytt. Om resultatet är ogiltigt vid upprepad analys ska nytt provmaterial tas.

Prover från Aptima CSCT-sats kan spädas ut för att övervinna eventuella hämmande ämnen. Späd 1 del av det ogiltiga provet till 8 delar provtransportmedium (lösningen i CSCT-satsrören); t.ex. 560 µl prov i ett nytt CSCT-satsrör innehållande 4,5 ml provtransportmedium. Invertera försiktigt för att blanda det utspädda provet; undvik att skapa skum. Analysera det utspädda provet enligt standardassayförfarandet.

Anm. En minsta volym på 1,7 ml krävs för att analysera 1 alikvot av provet. Späd inte ett ogiltigt utspädd prov. Om ett utspädd prov ger ett ogiltigt resultat, ska ett nytt prov tas på patienten.

Aptima HPV Assay-resultat	Kriterier
Negativt	<i>Analyt S/CO < 0,50 IC ≥ IC cutoff IC ≤ 2 000 000 RLU</i>
Positivt	<i>Analyt S/CO ≥ 0,50 IC ≤ 2 000 000 RLU Analyt ≤ 13 000 000 RLU</i>
Ogiltigt	<i>IC > 2 000 000 RLU eller Analyt S/CO < 0,50 och IC < IC cutoff eller Analyt > 13 000 000 RLU</i>

Begränsningar

- A. Provtyper andra än de som identifieras i den avsedda användningen har inte utvärderats.
- B. Prestanda för Aptima HPV Assay har inte utvärderats för HPV-vaccinerade individer.
- C. Aptima HPV Assay har inte utvärderats i fall av misstänkta sexuella övergrepp.
- D. Prevalens av HPV-infektion i en befolkning kan påverka prestandan. Positiva prediktiva värden minskar vid analys av populationer med låg prevalens eller individer utan risk för infektion.
- E. ThinPrep-vätskecytologiprover som innehåller mindre än 1 ml efter beredning av objektglas för ThinPrep Pap-smear anses som inadekvata för Aptima HPV Assay.
- F. Borttagning av 1 ml av ett SurePath-vätskecytologiprov före cytologisk behandling har inte utvärderats avseende påverkan på cytologiresultatet.
- G. Analysresultat kan påverkas av olämplig provtagning, förvaring eller provbehandling.
- H. Med hjälp av den interna kontrollen övervakas de olika analysstegen för målsekvensinfångning, amplifiering och detektion. Den är inte avsedd att kontrollera cervixprovtagningens lämplighet.
- I. Ett negativt Aptima HPV Assay-resultat utesluter inte risken för cytologiska avvikelser eller för framtida eller underliggande CIN2, CIN3 eller cancer.
- J. Intimglidmedel som innehåller polykvaternium 15 kan interferera med assayens prestanda om det förekommer i koncentrationer över 0,025 % (v/v eller w/v) i ett analysprov.
- K. Antimykotika som innehåller tiokonazol kan interferera med assayens prestanda om det förekommer i koncentrationer över 0,075 % (w/v) i ett analysprov.
- L. Solkräm som innehåller zinkoxid kan störa analysens prestanda när det finns i koncentrationer högre än 2,5 % (w/v) av ett testprov.
- M. Hemorrojdkräm som innehåller zinkoxid, vismutoxid och perubalsam kan störa analysens prestanda när det finns i koncentrationer högre än 1 % (w/v) av ett testprov.
- N. Slem kan störa analysens prestanda när det finns i koncentrationer högre än 2,5 % (w/v) av ett testprov.
- O. Aptima HPV Assay ger kvalitativa resultat. Styrkan hos en positiv analyssignal kan därför inte korreleras till uttrycksnivån för mRNA i ett prov.
- P. Detektering av hög-risk HPV mRNA är beroende av antalet kopior som finns i provet och kan vara påverkad av provtagningsmetoder, patientfaktorer, infektionsskede och förekomst av störande ämnen.
- Q. Infektion med HPV är inte en indikator på cytologiska HSIL eller underliggande höggradig CIN, det innebär inte heller att CIN2, CIN3, eller cancer kommer att utvecklas. De flesta kvinnor som är infekterade med en eller flera höggradiga HPV-typer utvecklar inte CIN2, CIN3, eller cancer.
- R. Effekten av andra potentiella variabler såsom vaginala flytningar, användning av tamponger, vaginalsköljning osv. och provtagningsvariabler har inte utvärderats.

- S. Användning av denna produkt måste begränsas till personal som är utbildad i användningen av Aptima HPV Assay.
- T. Korskontamination av prover kan orsaka falskt positiva resultat. Överföringsfrekvensen för Aptima-analysen för HPV på Panther-systemet har i en icke-klinisk studie fastställts till 0,7 %.
- U. Aptima HPV Assay ska tolkas tillsammans med andra laboratoriedata och kliniska data som klinikern har tillgång till.
- V. Falskt positiva resultat kan uppstå med denna analys. *In vitro* -transkript från lågrisk-HPV-genotyperna 26, 67, 70 och 82 uppvisade överkorsningsreaktivitet med Aptima HPV Assay.
- W. Skillnader i prestanda kan observeras med vaginala prover som samlats in av patienten själv jämfört med cervikala prover som samlats in av en kliniker. Patienter med positiva resultat från självtagna vaginala prover bör remitteras till läkare för uppföljning och utvärdering.

Förväntade resultat med Panther-systemet: Prevalens av högrisk-HPV-mRNA

Prevalensen av högrisk-HPV-infektion varierar mycket och påverkas av flera faktorer, av vilka åldern är den främsta.^{36,37} I många studier har man undersökt HPV-prevalens som fastställts genom detektering av HPV-DNA, men få studier rapporterar prevalens baserad på detektering av HPV-onkogen mRNA. Kvinnor från ett flertal kliniker (n = 18) som representerade en stor geografisk spridning och en mångsidig population (10 delstater i USA) rekryterades till en prospektiv klinisk studie som kallas CLEAR-prövningen. Prevalensen av HPV mRNA-positiva prover som observerats i den kliniska prövningen, enligt bestämning med Aptima HPV Assay på Panther-systemet, kategoriserades övergripande efter åldersgrupp samt efter testinrättning. Resultaten visas i tabell 1 för populationerna ASCUS (atypiska skvamösa celler av obestämd signifikans) och NILM (negativt för intraepitelial lesion eller malignitet).

Tabell 1: Prevalens av högrisk-HPV-mRNA efter åldersgrupp, testinrättning samt alla kombinerade

	Positivitetsfrekvens % (x/n)	
	ASCUS-population (≥ 21 år)	NILM-population (≥ 30 år)
Alla	42,3 (404/956)	4,7 (512/10,860)
Åldersgrupp (år)		
21 till 29	60,0 (251/418)	N/A
30 till 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
Testinrättning		
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)

N/A = Not Applicable (inte tillämplig)

Klinisk studiedesign av Aptima HPV Assay med ThinPrep- vätskecytologiprover

Aptima HPV Assay för Panthersystemet utvärderades genom att använda cytologiprover som samlats in från samtyckande kvinnor i en prospektiv, klinisk multistudie genomförd i USA som kallades CLEAR-prövningen.

Aptima-analys för HPV lanserades för första gången på Tigris DTS-systemet 2008. Under 2011 utökades indikationerna för användning av Aptima-analys för HPV på Panther-systemet. Panther-systemet är en alternativ, mindre instrumentplattform jämfört med Tigris DTS-systemet. Båda systemen är avsedda att helt automatisera amplifierad nukleinsyreanalys av diagnostiska analyser. Utvalda analysprestandatester slutförda på Tigris DTS-systemet utnyttjades för att stödja analysprestanda på Panther-systemet.

CLEAR-prövningen - baslinjeundersökning

CLEAR-prövningen, utfördes för att bestämma Den kliniska prestandan för Aptima HPV Assay för Tigris DTS-systemet när det gäller detektion av cervikal intraepitelial neoplasia av grad 2 eller mer allvarlig cervixsjukdom ($\geq$ CIN2). CLEAR-prövningen inkluderade en baslinjeundersökning och en treårig uppföljningsstudie. Kvinnor rekryterades till antingen ASCUS-studien eller NILM-studien, baserat på deras cytologieresultat från rutinmässig screening av cervixcancer. Populationen i ASCUS-studien inkluderade kvinnor från 21 år och äldre med ASCUS-cytologieresultat och populationen i NILM-studien inkluderade kvinnor från 30 år och äldre med NILM-cytologieresultat. NILM-studien utformades för att stödja kompletterande screeningskrav för kvinnor på 30 år och äldre, eftersom kvinnor i denna åldersgrupp med mer allvarliga cytologieresultat än ASCUS ska gå vidare till kolposkopi oavsett HPV-status.³⁹

Kvinnor från 18 kliniska inrättningar, främst obstetrik-/gynekologikliniker som omfattar en bred geografisk spridning och varierande population, deltog i studierna. Lämpliga kvinnor fördelades till ASCUS-studien eller NILM-studien, baserat på deras remitterade ThinPrep-vätskebaserade cytologiprover. Vid baslinjen analyserades resterande prover från kvinnor i ASCUS-studien och NILM-studien först med både Aptima HPV Assay på Tigris DTS-systemet och en på marknaden förekommande HPV-DNA-analys. Proverna arkiverades och förvarades därefter vid -70 °C tills de analyserades med Aptima HPV Assay på Panther-systemet.

Vid baslinjen i CLEAR-prövningen (baslinjefasen) remitterades alla kvinnor i ASCUS-studien till koloskopi, oavsett deras HPV-analysresultat. En biopsi från endocervikal kyrette (endocervical curettage, ECC) och cervikala stansbiopsier (1 biopsi från var och en av de 4 kvadranterna) togs. Om en lesion var synlig togs en stansbiopsi (riktad metod, 1 biopsi per lesion) och i kvadranter utan en synlig lesion togs biopsier vid squamo-columnar junction (gränsen mellan skiv-och körtelepitel) (slumpmässig metod).

I NILM-studien remitterades kvinnor som var positiva med Aptima-analysen för HPV på Tigris DTS-systemet och/eller det kommersiellt tillgängliga HPV DNA-testet, samt slumpmässigt utvalda kvinnor som var negativa med båda testerna, till kolposkopi för baslinjeutvärderingen. De slumpmässigt valda kvinnorna vars båda assayer var negativa inkluderades för att korrigera för kontrollbias med justerade prestandauppskattningar som genererats med hjälp av en metod med multipel imputering. En ECC-biopsi togs från varje kvinna som genomgick kolposkopi. Stansbiopsier togs endast från synliga lesioner (riktad metod, 1 biopsi per lesion).

Sjukdomsstatus fastställdes av en granskningspanel för överensstämmande av histologi, baserat på att minst 2 expertpatologer är överens. Kvinnans HPV- och cytologistatus var dolda för expertpatologerna, liksom kollegornas histologidiagnoser. Om alla tre patologer inte kom fram till samma resultat, granskade alla tre mikroskåpsglaset i ett flerhövdade mikroskåp

för att uppnå ett samstämmigt resultat. HPV-analysresultaten doldes för provare, kliniker och kvinnor tills kolposkopibesöket var genomfört för att undvika bias. Vid baslinje fastställdes den kliniska prestandan för Aptima HPV Assay för detektering av $\geq$ CIN2 och cervikal intraepitelial neoplasia grad 3 eller mer allvarlig cervixsjukdom ($\geq$ CIN3) fastställdes i relation till den cervikala sjukdomsstatusen som hade fastställts vid baslinjen. Klinisk prestanda för den av den kommersiellt tillgängliga HPV-DNA-analysen fastställdes även för direkt jämförelse med Aptima HPV Assay-resultat.

CLEAR-prövning - uppföljning

Kvinnor i NILM-studie från 14 kliniska platser var berättigade att delta i den treåriga uppföljningsfasen av studien om de: i) hade gjort en kolposkopiundersökning vid baslinjen och de inte hade $\geq$ CIN2, eller ii) om de inte hade gjort en kolposkopiundersökning vid baslinjen. Studiens uppföljningsdel bestod av årliga besök. Vid dessa besök utfördes cervikal cytologiprovtagning för varje kvinna, och en del kvinnor testades med ett kommersiellt tillgängligt HPV-test. Kvinnor med ASCUS eller svårare cytologiresultat remitterades under uppföljningsperioden till att göra koloskopiundersökningar och samma biopsi och histologiska undersökningsmetoder som för NILM-studiens baslinjeutvärderingen. Sjukdomsstatusen av livmoderhalscancer ansågs vid ett uppföljningsbesök som ”negativ”, baserat på NILM-cytologiprover eller för kvinnor med onormala cytologiresultat, baserat på normala eller CIN1-resultat från granskningspanelen. Kvinnor som diagnosticerades med $\geq$ CIN2 under uppföljningsperioden ansågs ha slutfört uppföljning och deltog inte vid fler besök efter diagnosticeringen av $\geq$ CIN2. Kvinnor som inte diagnosticerades med $\geq$ CIN2 under uppföljningsperioden, men som deltog i ett uppföljningsbesök år 1 och/eller uppföljning år 2 och som deltog i ett uppföljande studiebesök år 3 ansågs ha avslutat uppföljningen.

Syftet med uppföljningsstudien var att jämföra den kumulativa treårsrisken för livmoderhalscancer hos kvinnor med positiva baslinjeresultat av Aptima HPV Assay med den kumulativa treårsrisken för livmoderhalscancer hos kvinnor med negativa baslinjeresultat av Aptima HPV Assay. Den treåriga sjukdomsstatusen för livmoderhalscancer fastställdes enligt följande:

- Positiv sjukdomsstatus för livmoderhalscancer ($\geq$ CIN2 och / eller $\geq$ CIN3) - Kvinnor som hade $\geq$ CIN2 detekteras i baslinjeundersökningen eller vid uppföljning.
- Negativ sjukdomsstatus för livmoderhalscancer ($<$ CIN2) - Kvinnor som avslutade uppföljningen utan detektion av $\geq$ CIN2 och som inte ansågs ha en ”obestämd” sjukdomsstatus för livmoderhalscancer
- Obestämd sjukdomsstatus för livmoderhalscancer- Kvinnor som hade onormala cytologi testresultat under uppföljningen och som inte hade fått ett efterföljande resultat från granskningspanelen eller kvinnor med otillräckliga cytologiprover vid sitt senaste besök.
- Ej uppföljda - kvinnor som inte genomfört en fullständig uppföljning och som inte ansågs att ha ”obestämd” sjukdomsstatus för livmoderhalscancer.

Den kliniska prestandan för Aptima HPV Assay för detektion av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 utvärderas i förhållande till en treårig sjukdomsstatus för livmoderhalscancer.

Analysprestanda för Panther-systemet

ASCUS-population ≥ 21 år: Klinisk prestanda för Aptima HPV Assay

Totalt registrerades 1 252 kvinnor på 21 år och äldre med ASCUS-cytologiresultat i ASCUS-studien och av dessa avregistrerades 294 kvinnor och uteslöts från analys. De återstående 958 kvinnornas prover var lämpliga för analys på Panther-systemet. För två kvinnor saknades prover och 19 hade en obestämd sjukdomsdiagnos. Samtliga dessa uteslöts från analysen. De återstående 937 bedömningsbara kvinnorna var från 21 år och äldre med ASCUS-cytologiresultat, Aptima HPV Assay-resultat på Panther-systemet och slutgiltig sjukdomsstatus. Nittioen (91) kvinnor hade $\geq$ CIN2 och fyrtioen (41) hade $\geq$ CIN3. Prevalensen av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 hos bedömningsbara kvinnor med ASCUS-cytologiresultat var 9,7 % respektive 4,4 %. Resultaten från Aptima HPV Assay genom diagnoser från granskningspanelen för överensstämmande av histologi presenteras i tabell 2.

Tabell 2: ASCUS-population ≥ 21 år: resultat från Aptima HPV Assay genom diagnoser från granskningspanelen för överensstämmande av histologi

Aptima HPV assay-resultat*	HPV DNA-analys	Diagnos från granskningspanelen för överensstämmande av histologi						
		Obestämd**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Totalt
Positivt	Positivt	6	178	110	40	32	1	367
Positivt	Negativt	0	5	2	0	2	0	9
Positivt	Inga resultat***	0	15	11	0	2	0	28
Negativt	Positivt	0	39	15	3	3	0	60
Negativt	Negativt	10	372	53	7	1	0	443
Negativt	Inga resultat***	3	39	7	0	0	0	49
Totalt		19	648	198	50	40	1****	956

*Samtliga prover hade slutgiltiga resultat (vid inledande testning eller efter lösning av inledande ogiltiga resultat per förfarande).

**19 kvinnor genomgick kolposkopi, men diagnos kunde inte fastställas av följande orsaker: < 5 biopsiprover togs, alla med histologiresultaten Normal/CIN1 (n = 15), inga biopsier togs (n = 3) och biopsiobjektglas har tappats bort (n = 1).

***77 kvinnor med Aptima HPV Assay-resultat hade inte HPV-DNA-analysresultat, främst på grund av otillräcklig volym av cytologiprovet.

****En kvinna hade adenokarcinom in situ (AIS).

Uppskattningar av klinisk prestanda för Aptima HPV Assay inklusive sensitivitet, specificitet positivt prediktivt värde (PPV) och negativt prediktivt värde (NPV) för detektering av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3, baserade på utvärdering av alla biopsier, och inkluderat endast riktade biopsier, visas i tabell 3, liksom uppskattningarna för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen.

Tabell 3: ASCUS-population ≥ 21 år: prestanda för Aptima HPV Assay och en HPV-DNA-analys för detektering av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3

		Aptima HPV Assay N = 937		HPV DNA-analys N = 863*	
	Prestanda	Uppskattning	(95 % KI)	Uppskattning	(95 % KI)
≥ CIN2	Alla 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)
	Prevalens (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
	Riktade 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)
	Prevalens (%)	6,4 (60/934)		6,9 (59/861)	
≥ CIN3	Alla 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)
	Prevalens (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	
	Riktade 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)
	Prevalens (%)	3,1 (29/935)		3,2 (28/862)	

*74 kvinnor med Aptima HPV Assay-resultat hade inte HPV-DNA-analysresultat, främst på grund av otillräcklig volym av cytologiprovet.

**Överensstämmande histologiresultat erhöles endast med hjälp av resultat från riktade biopsier. Kvinnor utan riktade biopsier uppvisar en normal kolposkopi och ingår i dessa analyser som icke-sjuka (< CIN2 eller < CIN3, som tillämpligt). Överensstämmelse uppnåddes inte alltid när endast riktade biopsier inkluderades.

Vid utvärdering av alla biopsier var uppskattningar av klinisk sensitivitet för Aptima HPV Assay och den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen, där båda assayresultaten finns tillgängliga för detekteringen av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3, likvärdiga (skillnader i uppskattningar av sensitivitet var inte statistiskt signifikanta). För $\geq$ CIN2 var sensitivitetsskillnaden -4,5 % (95 % KI: -12,2 %, 2,5 %). Uppskattningarna av klinisk specificitet för Aptima HPV Assay för detektering av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 var högre än uppskattningarna för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen (skillnaderna i specificitetsuppskattningar var statistiskt signifikanta). För $\geq$ CIN2 var specificitetsskillnaden 6,1 % (95 % KI: 4,2 %, 8,2 %). NPV:er var likvärdiga men för detekteringen av $\geq$ CIN2 var PPV för Aptima HPV Assay något högre än PPV för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen (19,3 % jämfört med 18,8 %).

Av de 91 fallen med $\geq$ CIN2 identifierades 60 (65,9 %) vid riktade biopsier och 31 (34,1 %) från slumpmässiga och/eller ECC-biopsier (dvs. inte vid riktade biopsier). Dessa fynd är jämförbara med resultaten från publicerade studier, där ca 25 % till 40 % av fallen med $\geq$ CIN2 identifierades från enbart slumpmässiga och/eller ECC-biopsiprover.^{40,41} Med användning av enbart riktade biopsier för att fastställa sjukdomsstatus (förutsatt att kvinnor utan riktade biopsier hade normala histologieresultat eftersom det inte fanns några synliga lesioner), var prevalensen av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 i studien 6,4 % respektive 3,1 %. Uppskattningarna av klinisk sensitivitet för detektering av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 var högre för båda analyserna med enbart riktade biopsier än uppskattningar beräknade med alla biopsier. För båda assayerna var den kliniska specificiteten med enbart riktade biopsier likvärdig med den specificitet som erhöles med alla biopsier inkluderade. När enbart riktade biopsier användes var därför specificiteten för Aptima HPV Assay betydligt högre än för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen.

Uppskattningar av klinisk prestanda för Aptima HPV Assay och den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen visas per åldersgrupp i tabell 4 och tabell 5 ($\geq$ CIN2 respektive $\geq$ CIN3, baserat på utvärdering av alla biopsier).

Tabell 4: ASCUS-population ≥ 21 år: prestanda för Aptima HPV Assay och en HPV-DNA-analys för detektering av ≥ CIN2 per åldersgrupp

		Aptima HPV Assay N = 937		HPV DNA-analys N = 863*	
	Prestanda	Uppskattning	(95 % KI)	Uppskattning	(95 % KI)
21 till 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)
	Prevalens (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
30 till 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)
	Prevalens (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
≥ 40 år		N = 261		N = 236	
	Sensitivitet (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	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)
	Prevalens (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	

*74 kvinnor med Aptima HPV Assay-resultat hade inte HPV-DNA-analysresultat, främst på grund av otillräcklig volym av cytologiprov.

Tabell 5: ASCUS-population ≥ 21 år: prestanda för Aptima HPV Assay och en HPV-DNA-analys för detektering av $\geq$ CIN3 per åldersgrupp

Aptima HPV Assay N = 937			HPV DNA-analys N = 863*		
Prestanda	Uppskattning	(95 % KI)	Uppskattning	(95 % KI)	
21 till 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)
	Prevalens (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
30 till 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)
	Prevalens (%)	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)
	Prevalens (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 kvinnor med Aptima HPV Assay-resultat hade inte HPV-DNA-analysresultat, främst på grund av otillräcklig volym av cytologiprovet.

Den absoluta risken för sjukdom ($\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3, baserat på utvärderingen av alla biopsier) med Aptima HPV Assay-resultat och den relativa risken för sjukdom för positiva respektive negativa Aptima HPV Assay-resultat visas i tabell 6, liksom uppskattningarna för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen. Den relativa risken för $\geq$ CIN2 var 7,4 (95 % KI: 4,3, 13,0), vilket anger att en kvinna med positiv Aptima HPV Assay löper 7,4 gånger så stor risk att ha $\geq$ CIN2 än en kvinna med negativ Aptima HPV Assay. Den relativa risken för $\geq$ CIN3 var 12,5 (95 % KI: 4,5, 34,9).

Tabell 6: ASCUS-population $\geq$ 21 år: absoluta och relativa risker för $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 för resultaten av Aptima HPV Assay och en HPV-DNA-analys

		Aptima HPV Assay N = 937		HPV-DNA-analys N = 863*	
	Assayresultat	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
≥ CIN2	Positivt	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)
	Negativt	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prevalens (%)		9,7 (91/937)		10,3 (89/863)
≥ CIN3	Positivt	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)
	Negativt	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prevalens (%)		4,4 (41/937)		4,5 (39/863)

*74 kvinnor med Aptima HPV Assay-resultat hade inte HPV-DNA-analysresultat, främst på grund av otillräcklig volym av cytologiprovet.

Uppskattning av absolut och relativ risk för sjukdom ($\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3, baserat på utvärderingen av alla biopsier) för Aptima HPV Assay och HPV-DNA-assayen visas per åldersgrupp i tabell 7.

Tabell 7: ASCUS-population ≥ 21 år: absoluta och relativa risker för $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 för resultaten av Aptima HPV Assay och en på marknaden förekommande HPV-DNA-analys per åldersgrupp

		Aptima HPV Assay N = 937		HPV DNA-analys N = 863*	
Ålder	Assayresultat	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
		N = 415		N = 389	
21 till 29 år	Positivt	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)
	Negativt	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
	Prevalens (%)		9,7 (61/415)		15,2 (59/389)
		N = 261		N = 238	
≥ CIN2 30 till 39 år	Positivt	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)
	Negativt	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
	Prevalens (%)		7,7 (20/261)		8,4 (20/238)
		N = 261		N = 236	
≥ 40 år	Positivt	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)
	Negativt	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)	
	Prevalens (%)		3,8 (10/261)		4,2 (10/236)
		N = 415		N = 389	
21 till 29 år	Positivt	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Inte beräkningsbar (0,0, 2,5)
	Negativt	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
	Prevalens (%)		6,5 (27/415)		6,4 (25/389)
		N = 261		N = 238	
≥ CIN3 30 till 39 år	Positivt	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)
	Negativt	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
	Prevalens (%)		3,4 (9/261)		3,8 (9/238)
		N = 261		N = 236	
≥ 40 år	Positivt	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)
	Negativt	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)	
	Prevalens (%)		1,9 (5/261)		2,1 (5/236)

*74 kvinnor med Aptima HPV Assay-resultat hade inte HPV-DNA-analysresultat, främst på grund av otillräcklig volym av cytologiprov.

Population med NILM $\geq$ 30 år: klinisk prestanda för Aptima HPV Assay med ThinPrep-vätskecytologiprover vid baslinjen

Totalt registrerades 11 644 kvinnor med NILM-cytologiresultat i NILM-studien. Av dessa avregistrerades 773 kvinnor och uteslöts från analys. De återstående 10 871 kvinnornas prover var lämpliga för analys på Panther-systemet. För elva kvinnor saknades prover och därmed uteslöts de från baslinjeutvärderingen av Aptima HPV Assay för Panther-systemet. De återstående 10 860 bedömningsbara kvinnorna var från 30 år och äldre med NILM-cytologiresultat och Aptima HPV Assay-resultat på Panther-systemet. Av 512 kvinnor med positivt Aptima HPV Assay-resultat på Panther-systemet genomgick 284 kolposkopi vid baslinjen. Av 10 348 kvinnor med negativt Aptima HPV Assay-resultat genomgick 580 kolposkopi vid baslinjen. Tjugo (20) kvinnor hade $\geq$ CIN2 och elva (11) hade $\geq$ CIN3, 798 kvinnor hade normal/CIN1-histologi, 46 kvinnor hade obestämmd sjukdomsstatus. Resultaten från Aptima HPV Assay för Panther-systemet genom diagnoser vid baslinjen från granskningspanelen för överensstämmande av histologi presenteras i tabell 8.

Tabell 8: Population med NILM $\geq$ 30 år: Resultat från Aptima HPV Assay och en HPV-DNA-analys genom diagnoser från granskningspanelen för överensstämmande av histologi vid baslinjen

Aptima HPV Assay-resultat*	HPV DNA-analys	Diagnos från granskningspanelen för överensstämmande av histologi						
		Obestämmd**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Totalt
Positivt	Positivt	11	211	12	4	7	2	247
Positivt	Negativt	2	19	0	0	0	1	22
Positivt	Inga resultat***	2	12	1	0	0	0	15
Negativt	Positivt	10	170	7	2	1	0	190
Negativt	Negativt	20	353	9	2	0	0	384
Negativt	Inga resultat***	1	4	0	1	0	0	6
Totalt		46	769	29	9	8	3****	864

*Samtliga prover hade slutgiltiga resultat (vid inledande testning eller efter lösning av inledande ogiltiga resultat per förfarande).

**46 kvinnor genomgick kolposkopi, men diagnos kunde inte ställas av följande skäl: biopsiproverna bedömdes vara olämpliga (n = 29), inga biopsier togs (n = 15), och biopsiobjektglas hade tappats bort (n = 2).

***21 kvinnor med Aptima HPV Assay-resultat hade inte HPV-DNA-analysresultat, främst på grund av otillräcklig volym av cytologiprovet.

****Tre kvinnor hade adenokarcinom in situ (AIS).

Totalt hade 10 042 kvinnor överifierad (inklusive obestämd) sjukdomsstatus (tabell 9). Eftersom endast slumpmässigt valda kvinnor med negativa resultat för både Aptima HPV Assay på Tigris DTS-systemet och den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen remitterades för kolposkopi var andelen kvinnor med överifierad sjukdomsstatus hög i denna grupp (96,6 %). För att justera för denna kontrollbias användes en metod med multipel imputering för att uppskatta antalet kvinnor med sjukdom som skulle ha identifierats om alla kvinnor hade genomgått kolposkopi. Både kontrollbias-justerade prestandauppskattningar och ojusterade prestandauppskattningar baserat på de 818 kvinnorna med verifierad sjukdomsstatus vid baslinjen presenteras.

Tabell 9: Population med NILM $\geq$ 30 år: klassificering av bedömbara kvinnor med NILM enligt resultat från Aptima HPV Assay och en HPV-DNA-analys, sjukdomsstatus ($\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3) och sjukdomsbekräftelsestatus.

Aptima HPV Assay-resultat*		HPV DNA-analys	Kvinnor, totalt	Bekräftad sjukdomsstatus: $\geq$ CIN2		Bekräftad sjukdomsstatus: $\geq$ CIN3		Obekräftad sjukdomsstatus
Panther-system	Tigris DTS-system			Sjukdoms-drabbade kvinnor ($\geq$ CIN2)	Icke-sjukdoms-drabbade kvinnor ($<$ CIN2)	Sjukdoms-drabbade kvinnor ($\geq$ CIN3)	Icke-sjukdoms-drabbade kvinnor ($<$ CIN3)	Kvinnor med okänd sjukdomsstatus (% okänd)
Positivt	Positivt	Positivt	313	13	189	9	193	111 (35,5 %)
Positivt	Positivt	Negativt	37	1	18	1	18	18 (48,6 %)
Positivt	Positivt	Inga resultat**	22	0	13	0	13	9 (40,9 %)
Positivt	Negativt	Positivt	70	0	34	0	34	36 (51,4 %)
Positivt	Negativt	Negativt	60	0	1	0	1	59 (98,3 %)
Positivt	Negativt	Inga resultat**	10	0	0	0	0	10 (100 %)
Negativt	Positivt	Positivt	46	0	33	0	33	13 (28,3 %)
Negativt	Positivt	Negativt	113	1	41	0	42	71 (62,8 %)
Negativt	Positivt	Inga resultat**	8	0	4	0	4	4 (50,0 %)
Negativt	Negativt	Positivt	236	3	144	1	146	89 (37,7 %)
Negativt	Negativt	Negativt	9354	1	321	0	322	9032 (96,6 %)
Negativt	Negativt	Inga resultat**	591	1	0	0	1	590 (99,8 %)
Totalt			10 860	20	798	11	807	10 042 (92,5 %)

*Samtliga prover hade slutgiltiga resultat (vid inledande testning eller efter lösning av inledande ogiltiga resultat per förfarande).

**631 kvinnor med Aptima HPV Assay-resultat hade inte HPV-DNA-analysresultat, främst på grund av otillräcklig volym av cytologiprovet.

Den justerade prevalensen av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 hos kvinnor med NILM-cytologiresultat var 0,9 % respektive 0,4 %. De justerade absoluta och relativa riskuppskattningarna för detektering av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 vid baslinjen visas i tabell 10. Den justerade relativa risken för $\geq$ CIN2 var 7,5 (95 % KI: 2,1, 26,3), vilket visar att en kvinna med positiv Aptima HPV Assay löper 7,5 gånger så stor risk att ha $\geq$ CIN2 än en kvinna med negativ Aptima HPV Assay. Den justerade relativa risken för $\geq$ CIN3 var 24,9 (95 % KI: 2,0, 307,0). Ojusterade absoluta och relativa riskuppskattningar för detektion av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 vid baslinjen visas övergripande i tabell 11 och per åldersgrupp i tabell 12.

Tabell 10: Population med NILM $\geq$ 30 år: absoluta och relativa risker för $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 för resultaten av Aptima HPV Assay och en på marknaden förekommande HPV-DNA-analys (kontrollbias med justerade uppskattningar) vid baslinjen

		Aptima HPV Assay		HPV DNA-analys	
	Assayresultat	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
≥ CIN2	Positivt	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negativt	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalens (%)		0,9	0,9	
≥ CIN3	Positivt	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negativt	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalens (%)		0,4	0,4	

Tabell 11: Population med NILM $\geq$ 30 år: absoluta och relativa risker för $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 för resultaten av Aptima HPV Assay och en HPV-DNA-analys (ojusterade uppskattningar)

		Aptima HPV Assay N = 818		HPV DNA-analys N = 800*	
Assayresultat		Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
≥ CIN2	Positivt	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)
	Negativt	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalens (%)		2,4 (20/818)		2,4 (19/800)
≥ CIN3	Positivt	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)
	Negativt	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalens (%)		1,3 (11/818)		1,4 (11/800)

*18 kvinnor med Aptima HPV Assay-resultat hade inte HPV-DNA-analysresultat, främst på grund av otillräcklig volym av cytologiprovet.

Tabell 12: Population med NILM $\geq$ 30 år: absoluta och relativa risker för $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 för resultaten av Aptima HPV Assay och en HPV-DNA-analys per åldersgrupp (ojusterade uppskattningar) vid baslinjen

		Aptima HPV Assay N = 818		HPV DNA-analys N = 800*		
Ålder	Assayresultat	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	
≥ CIN2	30 till 39 år	N = 383		N = 376		
		Positivt	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)
		Negativt	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Prevalens (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 År	N = 435		N = 424		
		Positivt	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)
		Negativt	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
		Prevalens (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
	≥ CIN3	30 till 39 år	N = 383		N = 376	
			Positivt	3,3 (5/153) (1,6, 4,1)	7,5 (0,9, 63,7)	2,3 (5/215) (1,1, 2,9)
Negativt			0,4 (1/230) (0,0, 1,6)	0,6 (1/161) (0,0, 2,2)		
Prevalens (%)			1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
≥ 40 år		N = 435		N = 424		
		Positivt	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Inte beräkningsbar	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Inte beräkningsbar
		Negativt	0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
		Prevalens (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

*18 kvinnor med Aptima HPV Assay-resultat hade inte HPV-DNA-analysresultat, främst på grund av otillräcklig volym av cytologiprovet.

Justerade uppskattningar av klinisk prestanda för Aptima HPV Assay inklusive sensitivitet, specificitet, PPV och NPV för detektion av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 vid baslinjen visas i tabell 13, liksom uppskattningarna för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen. Ojusterade uppskattningar av klinisk prestanda visas i tabell 14. Aptima HPV Assay och den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen hade liknande sensitivitet, medan specificiteten var betydligt högre för Aptima HPV Assay (icke-överlappande 95 %-iga konfidensintervaller). Uppskattningarna av prediktiva värden för Aptima HPV Assay var kliniskt relevanta och likvärdiga med uppskattningarna för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen. NPV:er var likvärdiga men för detekteringen av $\geq$ CIN2 var PPV för Aptima HPV Assay något högre än PPV för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen (4,5 % jämfört med 3,7 %).

Tabell 13: Population med NILM $\geq$ 30 år: prestanda för Aptima HPV Assay och en HPV-DNA-analys för detektering av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 (kontrollbias med justerade uppskattningar) vid baslinjen

	Prestanda	Aptima HPV Assay		HPV DNA-analys	
		Uppskattning	(95 % KI)	Uppskattning	(95 % KI)
$\geq$ 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)
	Prevalens (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
$\geq$ CIN3	Sensitivitet (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	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)
	Prevalens (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Tabell 14: Population med NILM $\geq$ 30 år: prestanda för Aptima HPV Assay och en HPV-DNA-analys för detektering av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 (ojusterade uppskattningar) vid baslinjen

Prestanda	Aptima HPV Assay N = 818		HPV DNA-analys N = 800*	
	Uppskattning	(95 % KI)	Uppskattning	(95 % KI)
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)
$\geq$ CIN2				
PPV (%)	5,2 (14/269)	(3,5, 6,6)	3,8 (16/416)	(2,9, 4,5)
NPV (%)	98,9 (543/549)	(98,1, 99,5)	99,2 (381/384)	(98,1, 99,8)
Prevalens (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
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)
$\geq$ CIN3				
PPV (%)	3,7 (10/269)	(2,5, 4,3)	2,4 (10/416)	(1,6, 2,7)
NPV (%)	99,8 (548/549)	(99,2, 100)	99,7 (383/384)	(98,9, 100)
Prevalens (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

*18 kvinnor med Aptima HPV Assay-resultat hade inte HPV-DNA-analysresultat, främst på grund av otillräcklig volym av cytologiprovet.

Vid en direkt jämförelse av Aptima HPV Assay för Panther-systemet och den på marknaden förekommande HPV-DNA-assayen fastställs liknande känslighet och statistiskt signifikant förbättrad specificitet för Aptima HPV Assay jämfört med den på marknaden förekommande HPV-DNA-assayen för detektering av $\geq$ CIN2, vilket framgår av förhållandena mellan sant positiva och falskt positiva resultat (tabell 15 respektive tabell 16).

Tabell 15: Population med NILM $\geq$ 30 år: förhållande mellan sant positiva resultat (Aptima HPV Assay/HPV-DNA-analys) för kvinnor med $\geq$ CIN2 (ojusterade uppskattningar) vid baslinjen

	HPV DNA-analys		Totalt
	Positivt	Negativt	
Aptima HPV Assay			
Positivt	13	1	14 (73,7 %)
Negativt	3	2	5
Totalt	16 (84,2 %)	3	19
Förhållande mellan sant positiva resultat = 0,88 (14/16) (95 % KI: 0,65, 1,10)			

Tabell 16: Population med NILM $\geq$ 30 år: förhållande mellan falskt positiva resultat (Aptima HPV Assay/HPV-DNA-analys) för kvinnor med $<$ CIN2 (ojusterade uppskattningar) vid baslinjen

	HPV DNA-analys		Totalt
	Positivt	Negativt	
Aptima HPV Assay	Positivt	223	19
	Negativt	177	362
	Totalt	400 (51,2 %)	381
Förhållande mellan falskt positiva resultat = 0,61 (242/400) (95 % KI: 0,55, 0,66)			

Population med NILM $\geq$ 30 år: Klinisk prestanda för Aptima HPV Assay för Panther-systemet efter den treåriga uppföljningsperioden.

Vid baslinjen fanns det 10 843 utvärderingsbara kvinnor i 30-årsålder och äldre med NILM cytologieresultat och giltiga Aptima HPV Assay resultat för Panther-systemet som var berättigade att delta i uppföljningsfasen. Av kvinnorna med $\geq$ CIN2, kompletterade 67,0 % (7 247/10 834) kvinnor ett uppföljningsbesök med ett Pap-cytologitest ett år efter den avslutade studien. 60,3 % (6 517/10 825) gjorde testet år 2 och 58,7 % (6 339/10 807) år 3. Generellt sett, hade 58,8 % (6 375/10 843) av kvinnorna avslutat studien (hade $\geq$ CIN2 vid baslinjen eller vid uppföljningen och/eller kompletterande besök).

Av de 10 843 utvärderade kvinnorna hade, 511 (4,7 %) positiva Aptima HPV Assay-resultat för Panther-systemet vid baslinjen. Av de här 511 kvinnorna hade 255 (49,9 %) antingen en positiv eller negativ treårig sjukdomsstatus baserad på cytologi- och kolposkopi-/biopsieresultat. Resterande 10 332 kvinnor hade negativa Aptima HPV Assay-resultat för Panther-systemet vid baslinjen. Av dessa 10 332 kvinnor hade 5 946 (57,5 %) antingen en positiv eller negativ treårig sjukdomsstatus. Av de 6 201 kvinnorna med en treårig sjukdomsstatus hade 47 kvinnor $\geq$ CIN2 varav 23 även hade $\geq$ CIN3. 6 154 hade normala cellförändringar/CIN1 fastställda av granskningspanelen. Baslinjeresultatet från Aptima HPV Assay för Panther-systemet och en HPV DNA-assay som finns tillgänglig i handeln och den treåriga sjukdomsstatusen (inkl. baslinjestatus och uppföljningsstatus) som fastställdes av granskningspanelen presenteras i Tabell 17.

Tabell 17: Population med NILM ≥ 30 år: Klassificering av kvinnor som kvalificerade sig för uppföljningsfasen av baslinjeresultaten från Aptima HPV Assay, baslinjeresultat från HPV DNA-tester och sjukdomsstatus ($\geq$ CIN2, $\geq$ CIN3, Obestämd) fastställdes vid baslinjen och vid uppföljningsfasen.

Aptima HPV Assay-resultat	HPV DNA-test	Totalt antal kvinnor	Verifierad sjukdomsstatus: $\geq$ CIN2		Verifierad sjukdomsstatus: $\geq$ CIN3		Overifierad sjukdomsstatus	
			Sjuka kvinnor (<CIN2)	Friska kvinnor (<CIN2)	Sjuka kvinnor (<CIN3)	Friska kvinnor (<CIN3)	Ej uppföljda	Obestämda*
Positivt	Positivt	382	23	171	16	178	167	21
Positivt	Negativt	97	1	48	1	48	44	4
Positivt	Inget resultat**	32	2	10	1	11	17	3
Negativt	Positivt	281	5	129	2	132	130	17
Negativt	Negativt	9452	15	5476	3	5488	3756	205
Negativt	Inget resultat**	599	1	320	0	321	264	14
Totalt		10843	47	6154	23	6178	4378	264

*Kvinnor som hade onormala cytologitestresultat under uppföljning och som inte har ett efterföljande histologiresultat av granskningspanelen, och kvinnor med otillräcklig cytologi vid sitt senaste besök. Enligt protokollet genomgick 174 kvinnor med obestämd sjukdomsstatus uppföljningen.

**631 kvinnor med Aptima HPV Assay-resultat har inte resultaten från DPV DNA-testet p.g.a. otillräcklig mängd för cytologiprovet.

Det treåriga kumulativa sjukdomsrisk för ($\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3) baseras på Kaplan-Meiers uppskattning (livstabellsanalys) och inkluderar sjukdomsupptäcks vid baslinjen eller uppföljningen. Kvinnor som hade någon indikation på sjukdom (ASCUS eller allvarligare cytologiresultat) men utan resultat från granskningspanelen ingick i analysen genom att använda en multipel imputationsmodell för att förutsäga antalet sjuka kvinnor som skulle ha identifierats om kvinnorna hade genomgått en kolposkopi.

Tre års ackumulerade absoluta och relativa riskestimat för detektion av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 visas i Tabell 18.

Tabell 18: NILM-population på ≥ 30 år: 3-åriga kumulativa absoluta och relativa risker* med $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 för resultat av Aptima HPV Assay och ett HPV DNA-test vid baslinjen.

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

*De kumulativa treårsriskerna som har anpassats för andra möjliga biaser liknade riskerna i den här tabellen. På grund av förväntade riskskillnader för år 1 och år 2 för de två grupper av kvinnor i den uppföljande studien (de med kolposkopi vid baslinjen och de utan kolposkopi vid baslinjen), rapporterades endast en treårig kumulativ risk för kombinationsgrupperna.

Den treåriga ackumulerade förekomsten av $\geq$ CIN2 och $\geq$ CIN3 hos kvinnor med NILM cytologieresultat vid baslinjen var 0,68 % och 0,34 % respektive. Den relativa risken för $\geq$ CIN2 var 24,45 (95 % CI: 13,85; 43,15) indikerar att en kvinna som har en positiv Aptima HPV Assay har 24,45 gånger större risk att få $\geq$ CIN2 än en kvinna som vars Aptima HPV Assay är negativt. Den relativa risken för $\geq$ CIN3 var 57,11 (95 % CI: 21,09; 154,62)

Klinisk prestanda för Aptima HPV Assay med SurePath vätskecytologiprover

SurePath-vätskecytologiprover togs från kanadensiska kvinnor (n = 1350) som remitterats för uppföljning på grund av ett eller flera onormala Pap-smear, en HPV-infektion eller av något annat skäl. En aliquot (0,5 ml) av varje prov överfördes till ett Aptima-provöverföringsrör och behandlades sedan med Aptima-överföringslösning. Ett enstaka replikat av varje prov analyserades även med Aptima HPV Assay. En separat aliquot (1 ml) av varje prov togs undan för utvärdering med en på marknaden förekommande HPV-PCR-analys. Den kliniska sensitiviteten för detektering av sjukdom, definierad som ett histologiresultat på $\geq$ CIN3, beräknades för både Aptima HPV Assay och HPV-PCR-analysen, som visas i tabell 19, med de positiva och negativa prediktiva värdena.

Tabell 19: Prestanda för Aptima HPV Assay och en HPV-PCR-analys för detektering av $\geq$ CIN3

Prestanda	Aptima HPV Assay N = 1326		HPV-PCR-analys N = 1351	
	Uppskattning	(95 % KI)	Uppskattning	(95 % KI)
Sensitivitet (%)	89,6 (69/77)	(80,8 - 94,6)	94,8 (73/77)	(87,4 - 98,0)
Specifitet (%)	57,3 (716/1249)	(54,6 - 60,0)	52,0 (663/1274)	(49,3 - 54,8)
PPV (%)	11,5 (69/602)	(10,3 - 12,4)	10,7 (73/684)	(9,8 - 11,4)
NPV (%)	98,9 (716/724)	(98,0 - 99,5)	99,4 (663/667)	(98,6 - 99,8)
Prevalens (%)	5,8 (77/1326)		5,7 (77/1351)	

Prestanda hos Aptima-analysen för HPV med provtagning och transport av för cervikalprovmaterial

Parade ThinPrep-vätskecytologiprovmaterial och Aptima-provmaterial i CSCT togs från 735 forskningspersoner. En milliliter (1,0 mL) av varje ThinPrep-vätskecytologiprovmaterial späddes ut i 2,9 mL av Aptima-medium för transport av provmaterial och ett enstaka replikat testades med Aptima-analysen för HPV på Tigris DTS-systemet. Ett enstaka replikat av varje CSCT-provmaterial testades även med Aptima-analysen för HPV. Den procentuella överensstämmelsen för Aptima-analysen för HPV mellan ThinPrep-vätskecytologiprovmaterialet och CSCT-provmaterialet fastställdes och resultaten visas i Tabell 20.

Positiv procentuell överensstämmelse var 95,9 % (95 % CI: 92,6–97,8); negativ procentuell överensstämmelse var 95,5 % (95 % CI: 93,3–97,0); och total överensstämmelse var 95,6 % (95 % CI: 93,9–96,9). En stark korrelation mellan provmaterialen från vätskecytologin och provmaterialen från transportkitet observerades (kappa = 0,90).

Tabell 20: Total överensstämmelse för resultat med Aptima-analys för HPV från ThinPrep-vätskecytologiprovmaterial och Aptima provtagnings- och transportkit för cervikalprovmaterial testade på Tigris DTS-systemet

		ThinPrep-vätskecytologiprovmaterial		
		Positivt	Negativt	Totalt
Provmaterial i Aptima CSCT-kit	Positivt	234	22	256
	Negativt	10	469	479
	Totalt	244	491	735

Positiv överensstämmelse = 95,9 % (92,6–97,8)

Negativ överensstämmelse = 95,5 % (93,3–97,0)

Total överensstämmelse = 95,6 % (93,9–96,9)

Kappakoefficient = 0,90

Högrisk-HPV-positiva och högrisk-HPV-negativa kliniska prover som tagits både från screeninggrupper (rutinbesök) och remitterade patienter (kolposkopibesök) med Aptima CSCT-satsen, analyserades med Aptima HPV Assay på Panther- och Tigris DTS-systemen med två reagensbatcher. Överensstämmelse mellan Panther- och Tigris DTS-systemen för CSCT-prover visas i tabell 21.

För CSCT-prover, var total överensstämmelse mellan Panther- och Tigris DTS-systemen > 98 %, som visas i tabell 21. Av de 632 analyserade kliniska proven var 69 CIN2+ och 38 var CIN3+. Aptima HPV Assay sensitivitet för detektion av CIN2+ var 97,1 % (95 % KI: 90,0-99,2 %) på Panther-systemet och 98,6 % (95 % KI: 92,2-99,7) på Tigris DTS-systemet. Sensitivitet för detektion av CIN3+ var 100 % (KI: 90,8-100 %) på både Panther- och Tigris DTS-systemen.

Tabell 21: Överensstämmelse mellan Aptima HPV Assay-resultaten från Aptima CSCT-prover analyserade på Tigris DTS- och Panther-systemen

		Tigris DTS-system		
		Positivt	Negativt	Totalt
Panther-system	Positivt	490	3	493
	Negativt	9	130	139
	Totalt	499	133	632

Total överensstämmelse = 98,1 % (KI 96,7-98,9)

Positiv överensstämmelse = 98,2 % (KI 96,6-99,0)

Negativ överensstämmelse = 97,7 % (KI 93,6-99,2)

Klinisk prestanda för Aptima-analysen för HPV med provmaterial från Aptima multitest pinnprov

Klinisk prestanda för vaginala prover som samlats in med Aptima multitestsats för insamling av pinnprovmaterial visades i en studie som genomfördes på kvinnor i åldern 24–64 år i England.⁴⁵ Bland de berättigade kvinnorna (som uppfyllde inklusionskriterierna och hade giltiga kliniskt insamlade och egeninsamlade HPV-resultat) ingick de som remitterades till kolposkopi för ytterligare undersökning efter ett positivt eller otillräckligt kliniskt insamlat HPV-testresultat från primär screening eller tidig återkallelse högst 8 veckor (≤ 56 dagar) före kolposkopi ($n=78$), och de som var 24–64 år och skulle ha deltagit i eller var försenade till den rutinmässiga screeningen för livmoderhalscancer ($n=903$).

Ett självinsamlat prov och ett prov insamlat av kliniker samlades in från varje studiedeltagare. Vaginalprover som samlats in med Aptima multitestsats för insamling av pinnprovmaterial förvärmades vid 90 °C i 75 minuter och fick svalna före bearbetning i Panther-systemet.

Villkorlig relativ känslighet för egeninsamlade prover definierades som andelen CIN2+-fall som upptäcktes genom ett positivt klinikerinsamlat prov som också gav ett positivt HPV-testresultat på ett egeninsamlat prov som tagits vid ett rutinmässigt kolposkopibesök.

För villkorad relativ specificitet hos kvinnor utan CIN2+ jämfördes antalet i den primära screeningmiljön med ett negativt testresultat från ett självinsamlat prov som erhöles vid ett rutinmässigt screeningbesök med antalet som hade ett negativt testresultat från det parade klinikerinsamlade provet.

Den beräknade villkorliga relativa känsligheten för höggradig cervikal intraepitelial neoplas (CIN2+) var 0,92 (0,86–0,96) och för CIN3+ var den 1 (0,92–1,00). Uppskattningen av den relativa specificiteten för CIN2+ var 0,87 (0,85–0,89).

Detektionsgräns (LoD) i cervikala prover vid den kliniska gränsen

Detektionsgränsen (LoD) vid klinisk cutoff är den koncentration av HPV-RNA som ger positiva resultat (över klinisk cutoff) 95 % av tiden. LoD för Aptima-analysen för HPV fastställdes genom testning av utspädningspaneler av in vitro-transkript (IVT) för alla 14 högriskgenotyper och 4 HPV-infekterade cellinjer: SiHa, HeLa, MS751 och ME180 (ATCC, Manassas, Virginia). För beredning av IVT-panelerna spetsades ett provtransportmedium med IVT vid olika koncentrationer och blandningarna späddes sedan med enskilda negativa ThinPrep vätskecytologiprover före analys. För beredning av serier med HPV-infekterade celler spetsades pooler med HPV-negativa ThinPrep-vätskecytologiprover med HPV-infekterade celler vid olika koncentrationer och blandningarna späddes sedan med provtransportmedium före analys. Trettio replikat av varje kopienivå analyserades med var och en av två reagensbatcher vilket gav totalt 60 replikat. Analyserna utfördes under 17 dagar, med 1 till 12 körningar per dag och med analys av 5 replikat av en given genotyp och koncentration i varje körning. Den 95 %-iga detektionsgränsen beräknades genom Probit-regressionsanalys av positivitetsresultaten för varje spädningsserie.

Resultaten av regressionsanalys enligt Probit-modellen i tabell 22 visar att HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 och 68 hade 95 %-iga detektionsgränser på mindre än 100 kopior/reaktion; och typerna 52, 58 och 66 hade 95 %-iga detektionsgränser på mellan 100 och 500 kopior/reaktion. De fyra analyserade cellinjerna hade 95 %-iga detektionsgränser på mindre än 1 cell/reaktion.

Tabell 22: Detektionsgräns i klinikerinsamlade cervikala prover vid den kliniska gränsen

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

* Kopior per reaktion för IVT och celler per reaktion för cellinjer

Detektionsgräns (LoD) i vaginala prover vid den kliniska gränsen

Detektionsgränsen för Aptima-analysen för HPV fastställdes genom testning av utspädningspaneler med IVT för alla 14 högriskgenotyper och 4 HPV-infekterade cellinjer (SiHa, HeLa, ME180 och MS751) i matrisen av poolade HPV-negativa vaginala prover som samlats in av patienten själv. Varje negativ pool av matris för vaginala svabbprover spikades med målkoncentrationer under, vid och över LoD. Tjugo replikat av varje koncentration testades med alla 2 reagenspartier med hjälp av 2 Panther-/Panther Fusion-systems. LoD vid den kliniska gränsen definierades som den koncentration av HPV-RNA som gav ett positivt resultat i minst 95 % av fallen.

Tabell 23 visar den LoD som fastställts från det reagensparti som ger den mest konservativa (högsta) detektionsgränsen med ett tvåsidigt 95 % konfidensintervall. HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 66 och 68 hade 95 % detektionsgränser på mindre än 100 kopior/reaktion och HPV 52, 56, 58 och 59 hade 95 % detektionsgränser på mellan 100 och 600 kopior/reaktion. De 4 cellinjerna har 95 % detektionsgräns vid 1 eller mindre än 1 cell/reaktion.

Tabell 23: Detektionsgräns i självinsamlade vaginala prover vid den kliniska gränsen

Mål	Gräns för detektion*	95 % CI
HPV 16	50	76,4 %–99,1 %
HPV 18	75	83,9 %–100 %
HPV 31	30	76,4 %–99,1 %
HPV 33	30	76,4 %–99,1 %
HPV 35	5	76,4 %–99,1 %
HPV 39	5	83,9 %–100 %
HPV 45	30	76,4 %–99,1 %
HPV 51	30	76,4 %–99,1 %
HPV 52	600	76,4 %–99,1 %
HPV 56	100	83,9 %–100 %
HPV 58	100	83,9 %–100 %
HPV 59	100	76,4 %–99,1 %
HPV 66	50	76,4 %–99,1 %
HPV 68	10	76,4 %–99,1 %
SiHa	1	83,9 %–100 %
HeLa	0,2	76,4 %–99,1 %
ME180	0,03	83,9 %–100 %
MS751	0,1	76,4 %–99,1 %

* Kopior per reaktion för IVT och celler per reaktion för cellinjer

Assayens precision

Precisionen för Aptima HPV Assay utvärderades i två studier med samma 20-komponentpanel. Studie 1 utfördes vid 3 inrättningar, 2 externa och 1 intern och studie 2 utfördes internt. I panelen ingick 13 HPV-positiva komponenter med koncentrationer vid eller ovanför assayens detektionsgräns (förväntad positivitet: $\geq 95\%$), 3 HPV-positiva komponenter med koncentrationer under assayens detektionsgräns (förväntad positivitet: $> 0\%$ till $< 25\%$), och 4 HPV-negativa komponenter. HPV-positiva panelkomponenter preparerades genom att tillsätta *in vitro*-RNA-transkript (IVT) till PreservCyt-lösning spädd med provtransportmedium (specimen transport medium, STM) eller HPV-infekterade odlade celler (SiHa, HeLa och MS751; ATCC, Manassas, Virginia) till poolade negativa ThinPrep-vätskecytologiprover, spädda med STM. HPV-negativa panelkomponenter preparerades med PreservCyt-lösning eller poolade negativa ThinPrep-vätskecytologiprover, spädda med STM.

I studie 1 utförde 2 operatörer på var och en av de 3 testinrättningarna (1 instrument per inrättning) 2 Aptima HPV Assay-arbetslistor per dag (1 med varje reagensbatch) under 3 dagar. Varje arbetslista innehöll 3 replikat för varje panelkomponent för reproducerbarhet. Etthundraåtta (108) individuella provrör testades för varje panelkomponent (3 inrättningar x 1 instrument x 2 operatörer x 2 batcher x 3 arbetslistor x 3 replikat). I Studie 2, utfördes testning internt under 13 dagar med sammanlagt 162 analyserade reaktioner för varje panelkomponent (1 inrättning x 3 instrument x 3 operatörer x 3 batcher x 2 arbetslistor x 3 replikat).

Panelmedlemmarna beskrivs på Tabell 24a (panelmedlemmar med förväntade positiva resultat) och Tabell 24b (panelmedlemmar med förväntade negativa resultat), tillsammans med en sammanfattning av överensstämmelsen med förväntade resultat och analytens S/CO-värden vid 2,5:e, 50:e och 97,5:e percentilerna i S/CO-distributionen. S/CO-variationen för analyten för panelmedlemmarna med förväntade positiva resultat visas på Tabell 25 för studie 1 och Tabell 26 för studie 2.

Tabell 24a: Aptima HPV Assay-precisionen för Studie 1 och 2: Panelbeskrivning, positiv överensstämmelse och percentil spridning av analytens S/CO-värden för panelkomponenter med förväntade positiva resultat

Panel-beskrivning (kopior eller celler/reaktion)	Studie 1 (3 testanläggningar)				Studie 2 (1 testanläggning)			
	% positiv överensstämmelse (95 % CI)	Analyt S/CO -percentil			% positiv överensstämmelse (95 % CI)	Analyt S/CO-percentil		
		2,5	50	97,5		2,5	50	97,5
HPV högt positivt kliniskt prov 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 högt positivt kliniskt prov 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 kopior)	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 kopior)	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 lågt positivt kliniskt prov 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 lågt positivt kliniskt prov 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 lågt positivt kliniskt prov 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 lågt positivt kliniskt prov 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 kopior)	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 kopior)	100 (108/108) (96,6, 100)	4,87	12,01	15,21	100 (159/159) (97,6, 100)	7,82	11,59	13,84
MS751 celler (0,63 celler)	100 (108/108) (96,6, 100)	5,90	10,99	14,00	100 (162/162) (97,7, 100)	5,61	10,14	12,26
HeLa-celler (0,35 celler)	100 (108/108) (96,6, 100)	1,43	6,19	13,28	100 (162/162) (97,7, 100)	3,24	7,88	12,58
SiHa-celler (0,90 celler)*	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	0,00	9,80	11,04	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)	0,00	9,19	10,94

IVT = in vitro-transkript

*Förväntad % positiv överensstämmelse ~95 %; observerades lägre, vilket möjligen kan bero på tillverkningsvariationer i panelmedlemmarna.

Tabell 24b: Aptima HPV Assay-precisionen för Studie 1 och 2: panelbeskrivning, negativ överensstämmelse och percentil spridning av analytens S/CO-värden för panelkomponenter med förväntade negativa resultat

Panel-beskrivning (kopior eller celler/reaktion)	Studie 1 (3 testanläggningar)				Studie 2 (1 testanläggning)			
	% negativ överensstämmelse (95 % CI)	Analyt S/CO -percentil			% negativ överensstämmelse (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-negativt kliniskt prov 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-negativt kliniskt prov 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-lösning 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-lösning 2	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,22	100 (161/161) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,09

Tabell 25: Aptima HPV Assay-precisionen för Studie 1: signalvariabiliteten för panelkomponenter med förväntade positiva resultat

Panelbeskrivning (kopior eller celler/reaktion)	n	Medel- S/CO	Mellan instrument		Mellan operatörer		Mellan batcher		Mellan arbetslistor		Inom arbetslistor		Totalt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
HPV-högpositivt kliniskt prov 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-högpositivt kliniskt prov 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 kopior)	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 kopior)	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-lågpositivt kliniskt prov 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-lågpositivt kliniskt prov 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-lågpositivt kliniskt prov 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-lågpositivt kliniskt prov 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 kopior)	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 kopior)	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 = standardavvikelse

*Tolv prover hade ogiltiga Aptima HPV Assay-resultat (1 för HPV-högpositivt kliniskt prov 1, 1 för HPV-högpositivt kliniskt prov 2, 1 för HPV 16-IVT (1830 kopior), 1 för HPV 18-IVT (1550 kopior), 1 för HPV-lågpositivt kliniskt prov 1, 6 för HPV 16-IVT (183 kopior) och 1 för SiHa-celler (0,90 celler)).

Anm. Variabiliteten från vissa faktorer var numeriskt negativ. Detta kan uppkomma om variabiliteten på grund av dessa faktorer är mycket liten. I dessa fall visas SD och VK som 0.

Tabell 26: Aptima HPV Assay-precision för Studie 2: signalvariabiliteten för panelkomponenter med förväntade positiva resultat

Panelbeskrivning (kopior eller celler/reaktion)	n	Medel- S/CO	Mellan instrument		Mellan operatörer		Mellan batcher		Mellan arbetslistor		Inom arbetslistor		Totalt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
HPV-högpositivt kliniskt prov 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-högpositivt kliniskt prov 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 kopior)	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 kopior)	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-lågpositivt kliniskt prov 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-lågpositivt kliniskt prov 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-lågpositivt kliniskt prov 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-lågpositivt kliniskt prov 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 kopior)	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 kopior)	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 = standardavvikelse

*Sex prover uppvisade ogiltiga Aptima HPV Assay-resultat (1 för HPV-högpositivt kliniskt prov 1, 1 för HPV 16-IVT (1830 kopior), 1 för HPV-lågpositivt kliniskt prov 3, 3 för HPV 18-IVT (155 kopior)).

Variabiliteten från vissa faktorer var numeriskt negativ. Detta kan uppkomma om variabiliteten på grund av dessa faktorer är mycket liten. I dessa fall visas SD och VK som 0.

Korsreaktivitet

Obs! Analyser med potentiellt korsreaktiva organismer för Aptima-analysen för HPV utfördes med Tigris DTS-systemet. Aptima-analysen för HPV lanserades först på Tigris DTS-system 2008. Under 2011 utökades indikationerna till att använda Aptima-analysen för HPV på Panther-systemet. Panther-systemet är en alternativ, mindre instrumentplattform jämfört med Tigris DTS-systemet. Båda systemen är avsedda att helt automatisera amplifierad nukleinsyraanalys av diagnostiska analyser. Utvalda analysprestandatester slutförda på Tigris DTS-systemet utnyttjades för att stödja analysprestanda på Panther-systemet.

Den analytiska specificiteten hos Aptima-analysen för HPV har utvärderats med PreservCyt-lösningssmedium utspädd 1:2.9 i STM och spetsat med odlat virus, jäst eller svampar; odlat virus; eller *in vitro*-transkript från lågrisk-HPV. Organismerna och testkoncentrationerna identifieras i Tabell 27. Studiekriterierna för att bedöma effekten av närvaron av mikroorganismer på analysens specificitet baserades på positivitet. Korsreaktivitet observerades med låg-risk-HPV-genotyp 26, 67, 70 och 82, men inte med någon annan testad organism.

Tabell 27: Analytisk specificitetspanel: Organismer och koncentration utan korsreaktivitet

Organism	Test-koncentration med ingen korsreaktivitet	Organism	Test-koncentration med ingen korsreaktivitet
Bakterier			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Lactobacillus mucosae</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Leptotrichia buccalis</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Atopobium vaginae</i>	5x10 ⁷ CFU/mL	<i>Micrococcus luteus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Bacillus cereus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2x10 ⁷ CFU/mL
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5x10 ⁷ CFU/mL
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Bifidobacterium breve</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Mycoplasma hominis</i>	5x10 ⁷ CFU/mL
<i>Bifidobacterium longum</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> och <i>Chlamydia trachomatis</i>	2,5x10 ⁷ CFU/mL 2,3x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
<i>Campylobacter jejuni</i> *	1x10 ⁶ 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>Prevotella bivia</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Eggerthella lenta</i> *	1x10 ⁶ 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>Finegoldia magna</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Serratia marcescens</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Sneathia amnii</i> *	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL

Tabell 27: Analytisk specificitetspanel: Organismer och koncentration utan korsreaktivitet (*forts*)

Organism	Test-koncentration med ingen korsreaktivitet	Organism	Test-koncentration med ingen korsreaktivitet
<i>Lactobacillus gasseri</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Ureaplasma parvum</i> *	1x10 ⁶ genomisk kopior/mL
<i>Lactobacillus iners</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁸ CFU/mL
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1x10 ⁶ CFU/mL		
Jäst/protozoer			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Pichia fermentans</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i> *	1x10 ⁶ CFU/mL	<i>Trichomonas tenax</i> *	1x10 ⁶ celler/mL **
<i>Pentatrichomonas hominis</i> *	1x10 ⁶ celler/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ celler/mL
Virus			
Adenovirus 2	1x10 ⁷ vp/mL	Herpes simplex-virus 1	2,5x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
Adenovirus 40*	1x10 ⁵ genomkopior/mL	Herpes simplex-virus 2	5x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL
Cytomegalovirus	5,6x10 ² TCID ₅₀ /mL	HIV-1	1,0x10 ⁶ kopior/mL
Epstein-Barrvirus	4,3x10 ⁶ vp/mL	SV40	1,2 x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL
Icke-målinriktade HPV-genotyper			
HPV 6	2,5x10 ⁶ kopior/mL	HPV 61	2,5x10 ⁶ kopior/mL
HPV 11	2,5x10 ⁶ kopior/mL	HPV 67	1 kopia/mL
HPV 26	2,5 kopior/mL	HPV 69	2,5x10 ⁶ kopior/mL
HPV 30	2,5x10 ⁶ kopior/mL	HPV 70	1 kopia/mL
HPV 34	2,5x10 ⁶ kopior/mL	HPV 71	2,5x10 ⁶ kopior/mL
HPV 42	2,5x10 ⁶ kopior/mL	HPV 73	2,5x10 ⁶ kopior/mL
HPV 43	2,5x10 ⁶ kopior/mL	HPV 81	2,5x10 ⁶ kopior/mL
HPV 44	2,5x10 ⁶ kopior/mL	HPV 82	1 kopia/mL
HPV 53	2,5x10 ⁶ kopior/mL	HPV 85	2,5x10 ⁶ kopior/mL
HPV 54	2,5x10 ⁶ kopior/mL		

vp = viruspartiklar; CFU = kolonibildande enheter; TCID₅₀ = vävnadskultur, infektionsdos 50

OBS! Fet stil anger typer där korsreaktivitet (> 5 % positivitet) observerades när de testades i högre koncentrationer än de som anges i tabellen.

* Ytterligare organismer testades för korsreaktivitet och mikrobiell interferens för självinsamlat vaginalt provmaterial. En panel bestående av 15 organismer testades i STM i frånvaro eller närvaro av SiHa-celler 3x detektionsgräns (LoD).

Ingen korsreaktivitet eller mikrobiell interferens observerades för någon av organismerna vid de listade koncentrationerna.

** Ingen korsreaktivitet observerades för *Trichomonas tenax*. Medan 100 % positivitet för HPV target (SiHa-celler vid 3X LoD) bibehölls i närvaro av *Trichomonas tenax*, observerades en minskning av S/CO-värdena som återhämtade sig vid omtestning vid 1x10⁶ celler/mL.

Den analytiska sensitiviteten för Aptima-analysen för HPV i närvaro av mikroorganismer utvärderades med samma panel som beskrivs i Tabell 27, som också spetsades med en låg koncentration av HPV-infekterade SiHa-celler (1 cell per reaktion). Studiekriterierna för att bedöma effekten av närvaron av mikroorganismer på analysens sensitivitet baserades på positivitet. Sensitiviteten hos Aptima-analysen för HPV påverkades inte av någon av de analyserade organismerna.

Interferens

OBS! Testning med potentiellt störande ämnen för Aptima-analys för HPV utfördes med Tigris DTS-systemet. Aptima-analys för HPV lanserades för första gången på Tigris DTS-systemet 2008. Under 2011 utökades indikationerna för användning av Aptima-analys för HPV på Panther-systemet. Panther-systemet är en alternativ, mindre instrumentplattform jämfört med Tigris DTS-systemet. Båda systemen är avsedda att helt automatisera amplifierad nukleinsyreanalys av diagnostiska analyser. Utvalda analysprestandatester slutförda på Tigris DTS-systemet utnyttjades för att stödja analysprestanda på Panther-systemet.

Ämnena som beskrivs i Tabell 28 spetsades individuellt i PreservCyt-lösning vid 1 % och 10 % v/v eller w/v, spädda med STM och sedan testade med Aptima-analysen för HPV. Alla ämnen testades i närvaro och frånvaro av HPV-infekterade odlade celler (SiHa, 3 celler/reaktion). Interferens observerades med två av de sju glidmedel som innehöll Polyquaternium 15 samt ett av de fem svampdödande läkemedel som innehöll tiokonazol. Ingen interferens observerades med någon av de andra testade ämnena.

Tabell 28: Ämnen testade för möjlig interferens med Aptima-analysen för HPV

Produktkategori	Produktmärke eller -typ	Högsta testade koncentration* som inte stör analysens prestanda
Glidmedel	KY Sensual Mist	10 % v/v
	KY Warming Jelly	10 % w/v
	KY Warming Liquid	10 % v/v
	Personligt smörjmedel av märket CVS	10 % w/v
	Värmande massagelösning och personligt smörjmedel av märket Target	10 % v/v
	Astroglide personligt glidmedel **	0,3 % w/v (0,075 % w/v testprov)
	Smörjvätska av märket Target**	0,1 % v/v (0,025 % v/v testprov)
Spermicid	Gynol II vaginalt preventivmedel – Original Formula	10 % w/v
	Gynol II vaginalt preventivmedel – Extra Strength	10 % w/v
	Delfen vaginalt preventivmedel – skum	10 % w/v
	Encare vaginalt preventivmedel	10 % w/v
	Conceptrol vaginalt preventivmedel	10 % w/v
Svampdödande läkemedel/ läkemedel mot klåda	Vagisil Maximum Strength	10 % w/v
	Monistat Soothing Care	10 % w/v
	Monistat 3-kombinationspaket	10 % w/v
	Tiokonazol 1 av märket Target	0,3 % w/v (0,075 % w/v testprov)
	Mikonazol 3 av märket Target	10 % w/v
Antibiotisk Gel†	Metronidazolgel	123 µg/mL
Antiviral kräm†	Zovirax-kräm (acyclovir)	66 µg/mL
	Abreva kräm mot munsår	5 % w/v
Hemorroidkräm†	Anusol hemorroidkräm††	1 % V/V
	Preparation H hemorroidkräm	5 % w/v
Steroidkräm†	Cortizone-10 Max Strength kräm för lindring av klåda	5 % w/v
Douche†	Dynarex Povidon-Jod Prep antiseptisk lösning	5 % v/v
	Summer's Eve Vaginal Douche, extra rengörande vinäger och vatten	5 % v/v
	Summer's Eve odörminskande douche	5 % w/v
Hygientvätt för kvinnor†	Summer's Eve rengörande tvätt	5 % v/v
	Vagisil torrtvätt	5 % v/v
Lukt borttagande gel†	RepHresh lukt borttagande gel	5 % v/v
Handdesinfektionsmedel†	Germ-X handdesinfektionsmedel	5 % w/v
Handtvål†	Dial antibakteriell flytande handtvål	5 % w/v
	Metod Gel handtvål	5 % w/v
Lotion†	NIVEA kroppslotion	5 % w/v

Tabell 28: Ämnen testade för möjlig interferens med Aptima-analysen för HPV (*forts*)

Produktkategori	Produktmärke eller -typ	Högsta testade koncentration* som inte stör analysens prestanda
	CeraVe återfuktande lotion	5 % w/v
Solskyddsmedel†	Neutrogena solskyddslotion	5 % w/v
	NIVEA återfuktande solkräm	5 % w/v
	Coppertone Sport Mineral solskyddslotion**	2,5 % w/v
Ättiksyra	EMD M/N AX0073-11	10 % v/v
Helblod	Helblod	10 % v/v
Mukus†	Mucin från gris**	2,5 % w/v
Intravaginala hormoner†	Estradiol (östrogen)	7,5 pg/mL
	Progesteron	0,18 mg/mL
Sädesvätska†	Sädesvätska	5 % v/v
Leukocyter†	Leukocyter	1x10 ⁶ celler/mL

* Koncentration i provet med PreservCyt-lösningen; provkoncentrationen är 1/4 av koncentrationen på grund av överföring av PreservCyt Solution-prov i överföringsrör som innehåller STM.

** Personligt glidmedel som innehåller Polyquaternium 15.

† Ytterligare substanser utvärderades för interferens i självinsamlade vaginala prover. En panel bestående av 15 organismer testades i STM i frånvaro eller närvaro av SiHa-celler 3x detektionsgräns (LoD).

** Interferens observerades med följande när de förekom i koncentrationer som var högre än de angivna: hemorrojderkräm (innehållande zinkoxid, vismutoxid och perubalsam) i 1 % w/v, solskyddsmedel (innehållande zinkoxid) i 2,5 % w/v och slem i 2,5 % w/v.

Litteratur

1. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)*. **110(5)**:525-41.
2. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer*. **108(3)**:329-33. Erratum in: *Int J Cancer*. **108(6)**:945.
3. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*. **189**:12-19.
4. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **90(12)**:5583-7.
5. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ*. **325(7364)**: 572-579.
6. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*. **16(1)**:1-17.
7. **Li N., S. Franceschi, R. Howell-Jones, P. J. Snijders, G. M. Clifford.** 2010. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*, n/a. doi: 10.1002/ijc.25396.
8. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol.* **73(1)**: 65-70.
9. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol*. **32 Suppl 1**:S16-24.
10. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer*. **64(3)**:211-5.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2010; **20(8)**:1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011; **49(2)**:557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer*. 2011;**129**:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology*. 2012;**125**:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2013;**23(3)**:513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer*. 2013;**108**:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, Lynge 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, Lynge 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, Lynge 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, Lynge 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, Lynge 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, Lynge E, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Bonde J.** Referral population studies underestimate differences between human papillomavirus assays in primary cervical screening. *Cytopathology*. 2017;**28(5)**:419-428.
23. **Heideman DAM, Hesselink AT, van Kemenade FJ, Iftner T, Berkhof J, Topal F, et al.** The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013;**51(11)**:3653-7.
24. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlager R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods*. 2015;**221**:95-9.
25. **Iftner T, Becker S, Neis KJ, Castanon A, Iftner A, Holz B, et al.** Head-to-Head Comparison of the RNA368 Based Aptima Human Papillomavirus (HPV) Assay and the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in a Routine Screening Population of Women Aged 30 to 60 Years in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015;**53**:2509-16.

26. **Iftner T, Neis KJ, Castanon A, Landy R, Holz B, Woll-Herrmann A, et al.** Longitudinal Clinical Performance of the RNA-Based Aptima Human Papillomavirus (AHPV) Assay in Comparison to the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in Two Consecutive Screening Rounds with a 6-Year Interval in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*. 2019;57(1):e01177-18.
27. **Maggino T, Sciarrone R, Murer B, Dei Rossi MR, Fedato C, Maran M, et al.** Screening women for cervical cancer carcinoma with a HPV mRNA test: first results from the Venice pilot program. *British Journal of Cancer* volume 115, pages 525-532(2016).
28. **Zorzi M, Del Mistro A, Giorgi Rossi P, Laurino L, Battagello J, Lorio M, et al.** Risk of CIN2 or more severe lesions after negative HPVmRNA E6/E7 overexpression assay and after negative HPV-DNA test: Concurrent cohorts with a 5-year follow-up. *International Journal of Cancer*. 2020 Jun 1;146(11):3114-3123.
29. **Cook DA, Smith LW, Law J, Mei W, van Niekerk DJ, Ceballos K, et al.** Aptima HPV Assay versus Hybrid Capture® 2 HPV test for primary cervical cancer screening in the HPV FOCAL trial. *Journal of clinical virology* 2017;87:23-29.
30. **Cook DA, Smith LW, Law JH, Mei W, Gondara L, van Niekerk DJ, et al.** Comparative performance of human papillomavirus messenger RNA versus DNA screening tests at baseline and 48 months in the HPV FOCAL trial. *Journal of Clinical Virology*. 2018;108:32-37.
31. **Huijsmans CJ, Geurts-Giele WR, Leeijen C, Hazenberg HL, van Beek J, de Wild C, et al.** HPV Prevalence in the Dutch cervical cancer screening population (DuSC study): HPV testing using automated HC2, cobas and Aptima workflows. *BMC Cancer*. 2016;16(1):922.
32. **Loonen AJM, Huijsmans CJJ, Geurts-Giele WRR, Leeijen C, van der Linden JC, van den Brule, AJC.** Performance analysis of high-throughput HPV testing on three automated workflows. *APMIS* 2020; 128: 497- 505.
33. **Lindroth Y, Borgfeldt C, Thorn G, Bodelsson G, Forslund O.** Population-based primary HPV mRNA cervical screening compared with cytology screening. *Preventative Medicine*. 2019;124:61-66.
34. **Forslund O, Miriam Elfström K, Lamin H, Dillner J.** HPV-mRNA and HPV-DNA detection in samples taken up to seven years before severe dysplasia of cervix uteri. *International Journal of Cancer*. 2019 Mar 1;144(5):1073-1081.
35. **Sangrajrang S, Laowahutanont P, Wongsena M, Muwonge R, Imsamran W, Ploysawang P, Basu P.** Human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA primary cervical cancer screening: Evaluation and triaging options for HPV-positive women. *Journal of Medical Screening*. 2019 Dec;26(4):212-218.
36. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. *Annals Int Med*. **148**:493.
37. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet*. **366**, 991.
38. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** 2013. Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. **208(2)**:144-145.
39. **Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D.** 2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests. 2007. *Am J Obstet Gynecol* **197** (4); 346-355.
40. **Pretorius R.G., W. H. Zhang, J. L. Belinson, et al.** Colposcopically directed biopsy, random cervical biopsy, and endocervical curettage in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia II or worse. 2004. *Am J Obstet Gynecol*. **191**:430-434.
41. **Pretorius R.G., R. J. Kim, J. L. Belinson, P. Elson, Y-L Qiao.** Inflation of sensitivity of cervical cancer screening tests secondary to correlated error in colposcopy. 2006. *J Low Genit Tract Dis*. **10(1)**:5-9.
42. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
43. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem*. **35**: 1588-1594.
44. **Nelson, N. C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem*. **35**:8429-8438.
45. **Mathews, C. S., Sargent, A., Cuschieri, K., Rebolj, M., Brentnall, A. R., Mackie, A., Mills, C., Martinelli, C., Wright, A. M., Hunt, K., Bird, A., Patel, H., Smith, D., Johnson, T., Ellis, K., Hunt, M., & Denton, K.** 2025. HPVValidate-testning av humant papillomavirus med DNA- och mRNA-analyser på självtagna prover vid screening för livmoderhalscancer: jämförelse av testegenskaper på tre självprovtagningsanordningar. (HPVValidate-human papillomavirus testing with DNA and mRNA assays on self-collected samples in cervical screening: comparison of test characteristics on three self-sampling devices.) *British journal of cancer*, **133(5)**, 665–673.

Kontaktinformation och 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

För landsspecifika e-postadresser och telefonnummer för tekniskt stöd och kundtjänst, besök www.hologic.com/support.

Allvarliga incidenter som inträffar i samband med produkten i Europeiska unionen bör rapporteras till tillverkaren och den behöriga myndigheten i den medlemsstat där användaren och/eller patienten är etablerad.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris och förknippade logotyper är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Hologic, Inc. och/eller dess dotterbolag i USA och/eller andra länder.

SurePath och PrepStain är varumärken som tillhör BD.

Andra varumärken som kan förekomma i denna bipacksedel tillhör respektive ägare.

Den här produkten omfattas eventuellt av ett eller flera USA-patent som anges på www.hologic.com/patents.

©2016–2026 Hologic, Inc. Med ensamrätt.

AW-22202-1601 Rev. 003

2026-04

Revisionshistorik	Datum	Beskrivning
AW-22202-1601 Rev. 001	Mars 2023	• Skapat bruksanvisningen för Aptima™-analysen för HPV (Panther™ System) AW-22202 Rev. 001 baserat på AW-14517 Rev. 007 för regulatorisk överensstämmelse med IVDR. • Uppdaterade Avsedd användning genom att ta bort hänvisningen till användning på Tigris DTS-systemet. • Lade till Sammanfattning av säkerhet och prestanda. • Uppdaterade faroangivelse för EU. • Uppdaterade avsnitten Varningar och försiktighetsåtgärder, Förvaring och hantering av reagens, Insamling och förvaring av provmaterial, Medföljande reagens och material, Nödvändiga material som införskaffas separat, Analysmetod för Panther-systemet, Begränsningar, tabellerna över analysprecision, Korsreaktivitet, Interferens samt Referenser. • Kontaktinformationen uppdaterades, inklusive: EU-representant, CE-märkning, uppgifter om australisk representant och teknisk support. • Diverse stil- och formateringsuppdateringar.
AW-22202-1601 Rev. 002	Augusti 2024	• Tabellen med kliniska prestanda för SurePath-prover uppdaterades.
AW-22202-1601 Rev. 003	April 2026	• Lagt till säkerhetsinformation, t.ex. god standardpraxis och universella försiktighetsåtgärder • Uppdaterat SDS-tabell • Uppdaterat Instruktioner för reagensberedning av en ny sats • Uppdaterat avsnittet Begränsningar • Lagt till avsnittet Klinisk prestanda för Aptima-analysen för HPV med provmaterial från Aptima multitest pinnprov • Uppdaterat tabell för substansinterferens och organism/koncentration • Tagit bort avsnitt för ThingPrep-processor före och efter cytologi • Uppdaterat bibliografiinformation