

# Aptima HPV Assay

Til *in vitro* diagnostisk brug.

Kun til eksport fra USA.

<b>Generel information</b> .....	<b>2</b>
Tilsligtet anvendelse .....	2
Resumé og forklaring af testen .....	2
Funktionsprincip .....	3
Advarsler og forholdsregler .....	4
Krav til opbevaring og håndtering af reagenser .....	6
Indsamling og opbevaring af prøver .....	7
<b>Kvalitetskontrolprocedurer</b> .....	<b>21</b>
<b>Fortolkning af test</b> .....	<b>22</b>
<b>Begrænsninger</b> .....	<b>23</b>
<b>Tigris DTS Systems forventede resultater: Prævalens af højrisiko-HPV mRNA</b> .....	<b>25</b>
<b>Klinisk undersøgelsesdesign af Aptima HPV Assay med ThinPrep™ væskebaserede cytologiprøver</b> .....	<b>26</b>
<b>Tigris DTS Systems analysepræstation</b> .....	<b>28</b>
<b>Panther System forventede resultater: Prevalens af højrisiko-HPV mRNA</b> .....	<b>57</b>
<b>Design for den kliniske undersøgelse af Aptima HPV Assay med ThinPrep væskebaserede cytologiprøver</b> .....	<b>58</b>
<b>Panther Systems analysepræstation</b> .....	<b>60</b>
<b>Bibliografi</b> .....	<b>84</b>

## Tigris™ DTS-system

<b>Tigris DTS-system</b> .....	<b>9</b>
Vedlagte reagenser og materialer .....	9
Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat .....	10
Valgfri materialer .....	11
<b>Fremgangsmåde ved testning på Tigris DTS System</b> .....	<b>11</b>
Bemærkninger til fremgangsmåden .....	13

## Panther™ System

<b>Panther System</b> .....	<b>15</b>
Vedlagte reagenser og materialer .....	15
Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat .....	16
Valgfri materialer .....	16
<b>Fremgangsmåde ved testning på Panther System</b> .....	<b>17</b>
Bemærkninger til fremgangsmåden .....	19

## Generel information

### Tilsligtet anvendelse

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

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

Cervikale prøver opsamlet i ThinPrep™ Pap-prøveglass indeholdende PreservCyt™ - opløsning kan testes med Aptima HPV Assay enten før eller efter behandling af Pap-prøven, såvel som cervikale prøver udtaget med Aptima-prøveudtagnings- og transportkit til cervikale prøver. Analysen kan anvendes til at teste disse prøvetyper med enten DTS-system (Direct Tube Sampling), Tigris DTS System eller Panther System. Cervikale prøver, der er indsamlet i SurePath-konserveringsvæske, kan testes med Aptima HPV Assay på Tigris DTS System og Panther System.

### Resumé og forklaring af testen

Cervikal cancer er en af de mest almindelige kræftformer i verden hos kvinder. HPV er den ætiologiske faktor, der er ansvarlig for mere end 99 % af alle tilfælde af cervikal cancer.<sup>1, 2, 3</sup> HPV er et hyppigt forekommende seksuelt overført DNA-virus, der består af mere end 100 genotyper.<sup>4</sup>

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

Fjorten HPV-genotyper regnes for patogene eller for højrisikofyldte for cervikal sygdom.<sup>7</sup> Flere undersøgelser har kædet genotype 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, og 68 sammen med sygdomsprogression.<sup>2, 5, 8</sup> Patienter, der har en vedvarende infektion med en af disse typer, har øget risiko for at udvikle svær dysplasi eller cervikalt karcinom.<sup>7, 9</sup>

HPV-infektioner er meget almindelige, og HPV-infektioner forsvinder i løbet af 6 til 12 måneder hos de fleste kvinder.<sup>8, 10</sup> Tilstedeværelsen af HPV-nukleinsyre betyder ikke, at der er cervikal dysplasi eller livmoderhalskræft til stede. En effektiv tilgang til detektion af cervikal sygdom er imidlertid at targettere de onkogenetiske elementer af HPV, der fremmer persisterende virusinfektion og cellulær transformation.<sup>3</sup>

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

Den kliniske præstation af Aptima HPV Assay ved brug i en primær screeningsmodalitet er blevet undersøgt i flere undersøgelser foretaget af uafhængige investigatorer. Tretten fagfællebedømte artikler<sup>11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23</sup> fra ti forskellige kliniske undersøgelser rapporterer præstationen af Aptima HPV i primær screening af kvinder tilmeldt i ni lande (Kina, Canada, Frankrig, Mexico, England, Danmark, Holland, USA, og Tyskland). Dataene fra disse undersøgelser viser, at den kliniske præstation af Aptima HPV svarer til andre klinisk validerede HPV-test ved anvendelse til primær screening for cervikal præ-cancer og cancer.

## Funktionsprincip

Aptima HPV Assay omfatter tre hovedtrin, som finder sted i et enkelt reagensglas: target capture, targetamplifikation ved transkriptionsmedieret amplifikation (Transcription-Mediated Amplification, TMA)<sup>24</sup> og detektion af amplifikationsprodukterne (amplicon) vha. hybridiseringsbeskyttelsesanalysen (Hybridization Protection Assay, HPA).<sup>25</sup> Analysen inkorporerer en intern kontrol (IC) til overvågelse af capture, amplifikation og detektion af nukleinsyre, såvel som operatør- eller instrumentfejl.

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

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

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

Interne kontroller (IC) føjes til hver reaktion vha. target capture reagens. Den interne kontrol (IC) overvåger analysens target capture, amplifikation og detektionstrin. Internt kontrolsignal i hver reaktion skelnes fra HPV-signalet vha. differentieret lysemissionskinetik fra prober med forskellige mærker.<sup>26</sup> Ampliconspecifik for interne kontroller detekteres vha. en probe med hurtig lysemission (flasher). Amplicon specifik for HPV detekteres vha. prober med relativt langsommere lysemissionskinetik (glower). Dual Kinetic Assay (DKA) er en metode, som bruges til at skelne mellem signaler fra flasher- og glowermærkerne.<sup>26</sup>

## Advarsler og forholdsregler

- A. Til *in vitro* diagnostisk brug.
- B. For yderligere specifikke advarsler og forholdsregler henvises til brugervejledningerne til Tigris DTS System og Panther System.

### Vedrørende laboratoriet

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



### Vedrørende prøver

- G. Under forsendelse og opbevaring af prøver skal korrekte temperaturforhold bevares for at sikre prøvens integritet. Prøvernes stabilitet er ikke blevet evalueret under andre forsendelses- og opbevaringsforhold end de anbefalede.
- H. Udløbsdatoer angivet på prøveudtagnings-/overførselskit og reagensglas vedrører udtagnings-/overførselsstedet og ikke testlaboratoriet. Prøver, der udtages/overføres på et tidspunkt før disse udløbsdatoer, er gyldige til testning, forudsat at de er blevet transporteret og opbevaret i overensstemmelse med den relevante indlægsseddel, også selv om disse udløbsdatoer er passeret.
- I. Prøver kan være infektiøse. Der skal tages generelle forholdsregler ved udførelse af denne analyse. Korrekte håndterings- og bortskaffelsesmetoder bør etableres af laboratorielederen. Kun personale, der er korrekt oplært i håndtering af infektiøse materialer, bør have tilladelse til at udføre denne procedure.
- J. Undgå krydskontaminering under prøvehåndteringstrinnene. Pas på, at prøvebeholdere ikke rører hinanden, og bortskaf brugte materialer uden at føre dem hen over åbne beholdere. Skift handsker, hvis de kommer i kontakt med prøvemateriale.
- K. Under visse forhold kan der trænge væske ud af hætterne på reagensglas, når de gennembøres. Se *Procedure ved testning på Tigris DTS System*, eller *Procedure ved testning på Panther DTS System* for yderligere oplysninger.
- L. ThinPrep væskebaserede cytologiprøver og prøver fra prøveudtagnings- og transportkit til cervikale prøver (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) skal afvises, hvis en opsamlingsanordning er blevet efterladt i prøvereagensglasset.
- M. SurePath væskebaserede cytologiprøver skal afvises, hvis der ikke er en opsamlingsenhed i hætteglasset.

**Vedrørende analyse**

- N. Opbevar reagenserne ved de angivne temperaturer. Analysens præstation kan påvirkes, hvis der anvendes forkert opbevarede reagenser.
- O. Undgå mikrobiel og ribonukleasekontaminering af reagenser.
- P. Kittet må ikke anvendes efter udløbsdatoen.
- Q. Prøvereagenser eller kalibratorer fra kit med forskellige lotnumre må ikke byttes om med hinanden, blandes eller kombineres.
- R. Aptima-analysevæsker, Aptima Auto Detect reagenser, Aptima-konserveringsmiddel til systemvæske (kun Tigris DTS System) og Aptima HPV Assay kontroller (kun Tigris DTS System) er ikke en del af masterlottet. Ethvert lot kan anvendes.
- S. Grundig blanding af analysereagenserne er nødvendig for at opnå nøjagtige analyseresultater.
- T. Der skal anvendes spidser med hydrofobiske propper.
- U. Visse af reagenserne i dette kit er mærket med risiko- og faresymboler.

**Bemærk:** Fareoplysningerne afspejler klassifikationerne for sikkerhedsdatablade i EU. For fareoplysninger, der er specifikke for en given region, henvises der til de regionsspecifikke sikkerhedsdatablade i Sikkerhedsdatabladsbiblioteket (Safety Data Sheet Library) på [www.hologicds.com](http://www.hologicds.com).

<b>Fareoplysninger, EU</b>	
	<p><b>Selektionsreagens</b>  <b>BORSYRE 1 – 5 %</b>            Natriumhydroxid &lt; 1 %  <b>ADVARSEL</b>            H315 – Forårsager hudirritation            H319 – Forårsager alvorlig øjenirritation</p>
	<p><b>Target capture-reagens</b>  <b>EDETINSYRE 1 – 5 %</b>            H411 – Giftig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger            P273 – Undgå udledning til miljøet            P280 – Bær øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse</p>

## Krav til opbevaring og håndtering af reagenser

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

- A. Følgende reagenser opbevares ved 2 °C til 8 °C (nedkølet) ved modtagelsen:
  - Amplifikationsreagens til HPV
  - Enzymreagens til HPV
  - Probereagens til HPV
  - HPV-reagens til intern kontrol
  - Positive kalibratorer til HPV og negative kalibratorer
  - Positive og negative HPV-kontroller (kun Tigris DTS System)
- B. Følgende reagenser opbevares ved 15 °C til 30 °C (stuetemperatur):
  - Amplifikationsrekonstitutionsopløsning til HPV
  - HPV-enzymrekonstitutionsopløsning
  - HPV-proberekonstitutionsopløsning
  - HPV-target capture-reagens
  - HPV-selektionsreagens
  - Vaskeopløsning
  - Oliereagens
  - Buffer til deaktiveringsvæske
  - Auto Detect reagens 1
  - Auto Detect reagens 2
  - Konserveringsmiddel til Aptima-systemvæske (kun Tigris DTS System)
- C. Efter rekonstituering er følgende reagenser stabile i 30 dage ved opbevaring ved 2 °C til 8 °C:
  - Amplifikationsreagens til HPV
  - Enzymreagens til HPV
  - Probereagens til HPV
- D. Target capture arbejdsreagenset (working Target Capture Reagent, wTCR) er stabilt i 30 dage ved opbevaring ved 15 °C til 30 °C. Må ikke sættes i køleskab.
- E. Bortskaf alle ubrugte rekonstituerede reagenser og wTCR efter 30 dage eller efter hovedlottets udløbsdato, alt efter hvilken, der kommer først.
- F. Aptima HPV Assay reagenserne er stabile kumulativt i 48 timer, når de opbevares på Tigris DTS System.
- G. Aptima HPV Assay reagenserne er stabile kumulativt i 72 timer, når de opbevares på Panther DTS System.
- H. Probereagens og rekonstitueret probereagens er lysfølsomme. Reagenserne skal opbevares beskyttet mod lys.
- I. Reagenserne må ikke fryses.

## Indsamling og opbevaring af prøver

### A. Udtagning og behandling af prøver

#### *ThinPrep væskebaserede cytologiprøver*

1. Udtag cervikale prøver i ThinPrep Pap-prøveglass indeholdende PreservCyt-opløsning med kostlignende eller cytobrush-/spateludtagningsudstyr i hht. producentens anvisninger.
2. Før og efter behandling med ThinPrep 2000-systemet, ThinPrep 3000-systemet, ThinPrep 5000 Processor eller ThinPrep 5000 Processor med Autoloader, overføres 1 ml ThinPrep væskebaseret cytologiprøve til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel i hht. indlægssedlen til Aptima-prøveoverførselskittet.

#### *SurePath væskebaserede cytologiprøver*

1. Opsaml en SurePath væskebaseret cytologiprøve ifølge SurePath Pap-testen og/eller brugsanvisningen til PrepStain-systemet.
2. Overfør SurePath væskebaseret cytologiprøve til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel ifølge instruktionerne i indlægssedlen til Aptima-prøveoverførselskittet.

#### *Aptima prøveudtagnings- og transportkit til cervikale prøver*

Udtag prøverne ifølge brugsanvisningen i Aptima CSCT-kittet.

### B. Transport og opbevaring inden testning:

#### *ThinPrep væskebaserede cytologiprøver*

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

#### *SurePath væskebaserede cytologiprøver*

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

#### *Aptima prøveudtagnings- og transportkit til cervikale prøver*

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

### C. SurePath væskebaseret cytologiprøve

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

### 1. Aptima-overførselsopløsning

Behandlede prøver kan opbevares ved 2 °C til 8 °C i op til 17 dage før testning med Aptima HPV Assay. Læs mere på indlægssedlen til Aptima-prøveoverførselskittet.

### D. Opbevaring af prøver efter testning

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

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



## Tigris DTS-system

Reagenserne til Aptima HPV Assay er angivet nedenfor for Tigris DTS System. Reagenssymbolerne er ligeledes angivet ved siden af reagensbetegnelsen.

### Vedlagte reagenser og materialer

**Aptima HPV Assay Kit**, 250 test, kat. nr. 302611 (4 æsker)

Kalibratore og kontroller kan anskaffes separat. Se individuelle katalognumre herunder.

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

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

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

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

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

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

**Aptima HPV-kontrolæske (kat. nr. 302556)**  
(opbevares ved 2 °C til 8 °C efter modtagelse)

Symbol	Komponent	Kvantitet
PC	<b>HPV-positiv kontrol</b> <i>Lyserede, inaktiverede HPV-negative og HPV-positive dyrkede celler med 25 celler pr. ml i en bufferopløsning, der indeholder &lt; 5 % rengøringsmiddel.</i>	5 hætteglas
NC	<b>HPV-negativ kontrol</b> <i>Lyserede, inaktiverede HPV-negative dyrkede celler i en bufferopløsning, der indeholder &lt; 5 % rengøringsmiddel.</i>	5 hætteglas

### Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat

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

	Kat. nr.
Tigris DTS-system	105118
Aptima-analysevæskekit <i>(Aptima-vaskeopløsning, Aptima-buffer til deaktiveringsvæske og Aptima-oliereagens)</i>	302382
Aptima Auto Detect Kit	301048
Aptima-konserveringsmiddelkit til systemvæske	302380
Spidser, 1000 µl ledende, væskeregistrerende	10612513 (Tecan)
Tigris DTS Systems kørselskit	301191
<i>Multireagensglasenheder (MTU)</i>	104772-02
<i>MTU-småspidsaffaldsposekit</i>	900907
<i>MTU-affaldsdeflektorer</i>	900931
<i>MTU afdækningsstykker for affald</i>	105523
Aptima-prøveoverførselskit	301154C
Aptima-prøveudtagnings- og transportkit til cervikale prøver	302657
Aptima gennemtrængelige hætter	105668
Uigennemtrængelige udskiftningshætter	103036A
Reservehætter til rekonstitutionsopløsninger til amplifikations- og probereagens	CL0041
Reservehætter til rekonstitutionsopløsning til enzymreagens	501616
Reservehætter til TCR og selektionsreagens	CL0040
Blegemiddel, minimum 5 % eller 0,7 M natriumhypochloritopløsning	—
Vand til Tigris DTS-System	—
<i>jf. Tigris DTS System Operator's Manual (brugervejledningen til Tigris DTS System) vedrørende specifikationer</i>	

Engangshandsker	—
Aptima Transfer Solution Kit (kun for SurePath-prøver)	303658

## Valgfri materialer

	<u>Kat. nr.</u>
Blegemiddelforstærker til rengøring	302101

## Fremgangsmåde ved testning på Tigris DTS System

**Bemærk:** Der henvises til Tigris DTS System Operator's Manual (brugervejledningen til Tigris DTS System) ang. yderligere oplysninger vedr. anvendelse af Tigris DTS System.

### A. Klargøring af arbejdsområde

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

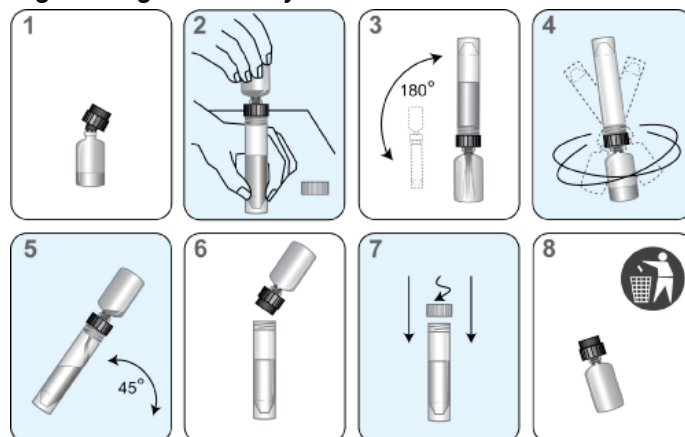
### B. Reagensklargøring af et nyt kit

**Bemærk:** Reagensrekonstituering bør udføres, inden der påbegyndes arbejde på Tigris DTS System.

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

k. Bortskaf rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (figur 1, trin 8).

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



**Figur 1. Rekonstitueringsbehandling på Tigris DTS System**

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

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

#### C. Klargøring af reagens for tidligere rekonstituerede reagenser

1. Tidligere rekonstituerede amplifikations-, enzym- og probereagenser skal have stuetemperatur (15 °C til 30 °C), inden analysen påbegyndes.

2. Hvis det rekonstituerede probereagens har udfældning, der ikke bliver opløst ved stuetemperatur, opvarmes det ved en temperatur på højst 60 °C i 1 til 2 minutter. Må ikke anvendes, hvis der er udfældning eller uklarhed.
3. Hvis wTCR har udfældning, opvarmes wTCR ved 42 °C til 60 °C i op til 90 minutter. Vent på, at wTCR når stuetemperatur inden brug. Må ikke anvendes, hvis der stadig er udfældning.
4. Hvis selektionsreagenset har udfældning, opvarmes selektionsreagenset ved 60 °C ± 1 °C i op til 45 minutter for at lette opløsning af udfældning. Bland forsigtigt flasken hvert 5. til 10. minut. Vent på, at selektionsreagenset når stuetemperatur inden brug. Må ikke anvendes, hvis der stadig er udfældning eller uklarhed.
5. Bland hvert reagens omhyggeligt ved at vende det forsigtigt om, inden det sættes i systemet. Pas på, der ikke dannes skum, mens reagenserne vendes om.
6. Der må ikke tilføjes reagens til reagensflaskerne. Tigris DTS System vil genkende og afvise flasker, der har fået reagens tilføjet.

#### D. Prøvehåndtering

1. Vent på, at kalibrаторer, kontroller og prøver når stuetemperatur, inden behandlingen påbegyndes.
2. **Prøver må ikke blandes i vortexmixer.**
3. SurePath væskebaserede cytologiprøver skal behandles med proteinase K før testning med Aptima HPV Assay ifølge instruktionerne i afsnittet *Fremgangsmåde ved testning på Tigris DTS System C*.
4. Efterse prøvereagensglassene, inden de sættes i stativet. Hvis der er bobler eller en mindre mængde i prøveglasset, end der normalt er, centrifugeres glasset i 5 minutter ved 420 RCF for at sikre, at der ikke er væske i hættten.

**Bemærk:** Hvis trin 4 ikke følges, kan det resultere i væskeudslip fra hættten på prøvereagensglasset.

#### E. Klargøring af systemet

Sæt instrumentet og arbejdslisten op iht. *Tigris DTS System Operator's Manual* (brugervejledningen til Tigris DTS System) og afsnittet *Bemærkninger til fremgangsmåden* herunder.

## Bemærkninger til fremgangsmåden

#### A. Kalibrаторer

1. Hver arbejdsliste skal indeholde 3 replikater af den negative kalibrатор og af den positive kalibrатор. For at kunne fungere korrekt med Aptima HPV Assay softwaren skal den negative kalibrатор være i den første reagensglasposition på arbejdslistens første stativ, og den positive kalibrатор skal være i den anden reagensglasposition i arbejdslistens første stativ.
2. Forsøg på at pipettere mere end tre replikater fra et kalibrаторreagensglas kan føre til fejl pga. utilstrækkelig mængde.

#### B. Kontroller

1. Aptima HPV Assay softwaren kræver kontrol i begyndelsen og slutningen af kørslen. Den negative kontrol skal være i den tredje reagensglasposition på det første stativ, og den næstsidste reagensglasposition på det sidste stativ i arbejdslisten. Den positive kontrol skal være i den fjerde reagensglasposition på det første stativ og den sidste reagensglasposition på det sidste stativ i arbejdslisten.

2. Forsøg på at pipettere mere end én gang fra et kontrolreagensglas kan føre til fejl pga. utilstrækkelig mængde.

C. Temperatur

Stuetemperatur vil sige 15 °C til 30 °C.

D. Handskepudder

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

## Panther System

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

### Vedlagte reagenser og materialer

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

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

Kalibratorer kan anskaffes separat. Se de enkelte katalognumre nedenfor.

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

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

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

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

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

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

### Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat

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

	<u>Kat. nr.</u>
Panther System	303095
Panther-kørselskit	303096
<i>Aptima-analysevæskekit</i>	303014
<i>(Aptima-vaskeopløsning, Aptima-buffer til deaktiveringsvæske og Aptima-oliereagens)</i>	
<i>Aptima Auto Detect Kit</i>	303013
<i>Multireagensglasenheder (Multi-tube units, MTU)</i>	104772-02
<i>Panther-affaldsposekit</i>	902731
<i>Panther-afdækningsstykke til affaldsbeholder</i>	504405
Spidser, 1000 µl ledende, væskeregistrerende	10612513 (Tecan)
Aptima-prøveoverførselskit	301154C
Aptima-prøveudtagnings- og transportkit til cervikale prøver	302657
Aptima gennemtrængelige hætter	105668
Uigennemtrængelige udskiftningshætter	103036A
Reservehætter til kit med 250 test:	
<i>Amplifikations- og probereagens-rekonstitutionsopløsninger</i>	CL0041
<i>Enzymreagens-rekonstitutionsopløsning</i>	501616
<i>TCR og selektionsreagens</i>	CL0040
Reservehætter til kit med 100 test:	
<i>Amplifikations- og probereagens-rekonstitutionsopløsninger</i>	CL0041
<i>Enzymreagens-rekonstitutionsopløsning</i>	CL0041
<i>TCR og selektionsreagens</i>	501604
Blegemiddel, minimum 5 % eller 0,7 M natriumhypochloritopløsning	—
Engangshandsker	—
Aptima Transfer Solution Kit (kun for SurePath-prøver)	303658

### Valgfri materialer

	<u>Kat. nr.</u>
Blegemiddelforstærker til rengøring	302101



## Fremgangsmåde ved testning på Panther System

**Bemærk:** Der henvises til Panther System Operator's Manual (brugervejledningen til Panther System) ang. yderligere oplysninger vedr. anvendelse af Panther System.

### A. Klargøring af arbejdsområde

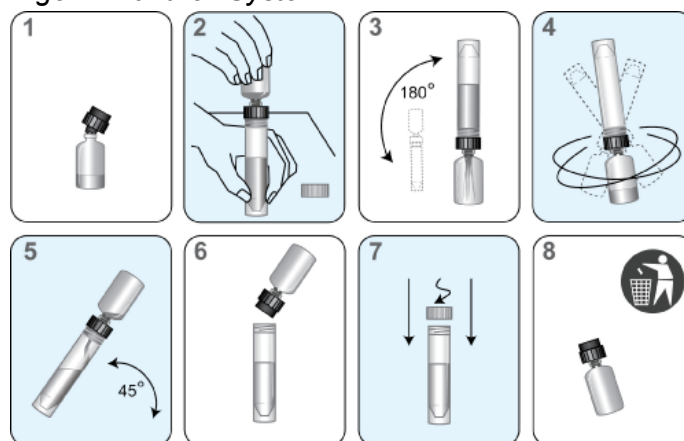
Rengør de arbejdsoverflader hvor reagenser og prøver skal klargøres. Tør arbejdsoverfladerne af med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5M) natriumhypochloritopløsning. Lad natriumhypochloritopløsningen blive på kontaktfladerne i mindst 1 minut, og skyl dernæst efter med vand. Natriumhypochloritopløsningen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

### B. Reagensklargøring af et nyt kit

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

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

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



**Figur 2. Rekonstitueringsbehandling på Panther System**

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

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

### C. Klargøring af reagens for tidligere rekonstituerede reagenser

1. Tidligere rekonstituerede amplifikations-, enzym- og probereagenser skal have stuetemperatur (15 °C til 30 °C), inden analysen påbegyndes.
2. Hvis det rekonstituerede probereagens har udfældning, der ikke bliver opløst ved stuetemperatur, opvarmes det ved en temperatur på højst 60 °C i 1 til 2 minutter. Må ikke anvendes, hvis der er udfældning eller uklarhed.
3. Hvis wTCR har udfældning, opvarmes wTCR ved 42 °C til 60 °C i op til 90 minutter. Vent på, at wTCR når stuetemperatur inden brug. Må ikke anvendes, hvis der stadig er udfældning.
4. Hvis selektionsreagenset har udfældning, opvarmes selektionsreagenset ved 60 °C ± 1 °C i op til 45 minutter for at lette opløsning af udfældning. Bland forsigtigt flasken hvert 5. til 10. minut. Vent på, at selektionsreagenset når stuetemperatur inden brug. Må ikke anvendes, hvis der stadig er udfældning eller uklarhed.
5. Bland hvert reagens omhyggeligt ved at vende det forsigtigt om, inden det sættes i systemet. Pas på, der ikke dannes skum, mens reagenserne vendes om.
6. Der må ikke tilføjes reagens til reagensflaskerne. Panther System vil genkende og afvise flasker, der har fået reagens tilføjet.

### D. Prøvehåndtering

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

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

### E. Klargøring af systemet

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

## Bemærkninger til fremgangsmåden

### A. Kalibrаторer

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

- c. Det tilknyttede analysereagenskit har overskredet stabilitetsgrænserne.
3. Forsøg på at pipettere mere end tre replikater fra et kalibratorglas kan føre til behandlingsfejl.
- B. Temperatur  
Stuetemperatur vil sige 15 °C til 30 °C.
  - C. Handskepudder  
Som i alle reagenssystemer kan for meget pudder på visse handsker forårsage kontaminering af åbnede reagensglas. Det anbefales at bruge handsker uden pudder.

## Kvalitetskontrolprocedurer

### A. Kriterier for kørselsvaliditet

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

- Mere end ét ugyldigt negativt kalibratorreplikat.
- Flere end ét ugyldigt positivt kalibratorreplikat.
- En ugyldig negativ kontrol (kun Tigris DTS System).
- En ugyldig positiv kontrol (kun Tigris DTS System).

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

En ugyldig kørsel skal gentages. Afbrudte kørsler skal gentages.

### B. Kriterier for godkendelse af kalibrator

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

<b>Negativ kalibrator</b>	Analyt	$\geq 0$ og $\leq 45.000$ RLU
	IC	$\geq 75.000$ og $\leq 400.000$ RLU
<b>Positiv kalibrator</b>	Analyt	$\geq 480.000$ og $\leq 1.850.000$ RLU
	IC	$\leq 450.000$ RLU

### C. IC-cutoff-beregning

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

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

### D. Beregning af analyt-cutoff

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

$$\mathbf{Analyt-cutoff} = \frac{[\text{middelanalyt-RLU for gyldige negative kalibratorreplikater}] + [0,09 \times \text{middelanalyt-RLU for gyldige positive kalibratorreplikater}]}{2}$$

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

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

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

### F. Kriterier for accept af kontrol (kun Tigris DTS System)

Den negative kontrol skal have et gyldigt negativt (IC RLU  $\geq$  IC-cutoff og analyt S/CO  $<$  0,50) resultat. Den positive kontrol skal have et gyldigt positivt (analyt S/CO  $\geq$  0,50) resultat.

## Fortolkning af test

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

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

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

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

## Begrænsninger

- A. Der er ikke evalueret andre prøvetyper end dem, der er identificeret til den tilsigtede anvendelse.
- B. Præstationen af Aptima HPV Assay er ikke blevet evalueret hos personer vaccineret imod HPV.
- C. Aptima HPV Assay er ikke blevet evalueret i tilfælde af mistænkt seksuelt misbrug.
- D. Prævalensen af HPV-infektion i en population kan påvirke præstationen. Positive prædiktive værdier falder, når populationer med lav prævalens eller personer uden infektionsrisiko testes.
- E. ThinPrep væskebaserede cytologiprøver indeholdende mindre end 1 ml efter klargøring af et ThinPrep Pap-testslide betragtes som utilstrækkelige til Aptima HPV Assay.
- F. Fjernelse af 1 ml af en SurePath væskebaseret cytologiprøve inden cytologisk behandling er ikke blevet evalueret for indvirkning på det cytologiske resultat.
- G. Testresultater kan blive påvirket af forkert prøveudtagning, opbevaring eller prøvebehandling.
- H. Den interne kontrol overvåger trinene for target capture, amplifikation og detektion i analysen. Kontrollen er ikke beregnet til at kontrollere tilstrækkeligheden af cervikal prøvetagning.
- I. Et negativt Aptima HPV Assay resultat udelukker ikke muligheden for cytologiske abnormaliteter eller senere eller tilgrundliggende CIN2, CIN3 eller cancer.
- J. Personlige smøremidler, der indeholder polyquaternium 15, kan indvirke på analysens præstation, hvis de er til stede i koncentrationer, der er større end 0,025 % (v/v eller w/v) i en testprøve.
- K. Antimykotika, der indeholder tioconazol, kan indvirke på analysens præstation, hvis den er til stede i koncentrationer, der er større end 0,075 % (w/v) i en testprøve.
- L. Aptima HPV Assay leverer kvalitative resultater. Der kan derfor ikke påvises korrelation mellem størrelsen af et positivt analysesignal og ekspressionsniveauet af mRNA i en prøve.
- M. Detektion af højrisiko-HPV mRNA afhænger af antallet af kopier, der er til stede i prøven, og kan påvirkes af prøveudtagningsmetoder, patientrelaterede faktorer, infektionsstadiet og forekomst af interfererende stoffer.
- N. Infektion med HPV er ikke et tegn på cytologisk HSIL eller en tilgrundliggende høj grad af CIN, og betyder heller ikke, at patienten vil udvikle CIN2, CIN3 eller cancer. De fleste kvinder, der smittes med én eller flere typer højrisiko-HPV, udvikler ikke CIN2, CIN3 eller cancer.
- O. Virkningerne af andre mulige variabler såsom udflåd, brug af tamponer, udskylning osv. samt prøveudtagningsvariabler er ikke blevet evalueret.
- P. Anvendelsen af dette produkt skal begrænses til personale, som er oplært i brugen af Aptima HPV Assay.
- Q. Krydskontaminering af prøver kan forårsage falsk positive resultater. Overførselsgraden af Aptima HPV Assay på Tigris DTS System er bestemt i en ikke-klinisk undersøgelse til at være 0,3 %.

- R. Aptima HPV Assay bør fortolkes sammen med andre kliniske og laboratoriedata, som klinikerer har til rådighed.
- S. Der kan forekomme falsk positive resultater med denne test. *In vitro* transkripter fra lavrisiko-HPV-genotyperne 26, 67, 70 og 82 udviste krydsreaktivitet med Aptima HPV Assay.
- T. Det positive kontrolmateriale er ikke beregnet til at overvåge præstation for analyse-cutoff.



## Tigris DTS Systems forventede resultater: Prævalens af højrisiko-HPV mRNA

Prævalensen af infektion med højrisiko-HPV varierer betydeligt og er påvirket af adskillige faktorer, af hvilke alder er den vigtigste.<sup>32,33</sup> Mange studier har undersøgt HPV-prævalens som bestemt ved detektion af HPV DNA, men få studier rapporterer prævalensen baseret på detektion af HPV-onkogen mRNA. Kvinder fra mange forskellige klinikker (n=18), der dækkede et bredt geografisk område og en forskelligartet population (10 stater i USA), blev tilmeldt en prospektiv klinisk undersøgelse ved navn CLEAR-forsøget.<sup>34</sup> Prævalensen af HPV mRNA-positive prøver, der er observeret i dette kliniske forsøg, blev kategoriseret generelt, efter aldersgruppe og teststed. Resultaterne er vist i Tabel 1 for populationer med ASC-US (atypiske pladeceller af ubestemt betydning) og NILM (negative for intraepitelial læsion eller malignitet).

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

	Positivitetsrate % (x/n)	
	ASC-US-population (≥ 21 år)	NILM-population (≥ 30 år)
<b>Alle</b>	41,8 (400/958)	5,0 (540/10.871)
<b>Aldersgruppe (år)</b>		
<b>21 til 29</b>	60,3 (252/418)	Ikke relevant
<b>30 til 39</b>	36,8 (98/266)	6,9 (289/4199)
<b>≥ 40</b>	18,2 (50/274)	3,8 (251/6672)
<b>Teststed</b>		
<b>1</b>	41,6 (134/322)	4,7 (172/3682)
<b>2</b>	41,4 (150/362)	5,2 (194/3702)
<b>3</b>	42,3 (116/274)	5,0 (174/3487)

## Klinisk undersøgelsesdesign af Aptima HPV Assay med ThinPrep™ væskebaserede cytologiprøver

En amerikansk prospektiv klinisk multicenterundersøgelse ved navn CLEAR-undersøgelsen blev udført for at bestemme den kliniske præstation af Aptima HPV Assay til detektion af cervikal intraepitelial neoplasi grad 2 eller mere alvorlig cervikal sygdom ( $\geq$ CIN2). CLEARforsøget inkluderede en baseline-evaluering og en opfølgende evaluering efter tre år.<sup>34</sup>

### CLEAR-undersøgelsen – Baseline-evaluering

Ved baseline for CLEAR-forsøget (baseline-fase), deltog kvinder enten ASC-US-undersøgelsen eller NILM-undersøgelsen afhængigt af cytologiske resultater af rutinemæssig screening for livmoderhalskræft. ASC-US undersøgelsespopulationen inkluderede kvinder i alderen 21 år og over med cytologiske ASC-US resultater, og NILM undersøgelsespopulationen inkluderede kvinder på eller over 30 år med cytologiske NILM resultater. NILM-undersøgelsen blev udarbejdet for at understøtte det ekstra krav om screening for kvinder på 30 år eller ældre, da kvinder i denne aldersgruppe med cytologiretultater, der er højere end ASC-US, skal fortsætte til kolposkopi uanset deres HPV-status.<sup>35</sup>

Kvinder fra 18 klinikker, primært obstetriske og gynækologiske klinikker, der dækkede et bredt geografisk område og en forskelligartet population, deltog. Kvalificerede kvinder fik tildelt ASC-US-undersøgelsen eller NILM-undersøgelsen baseret på den ThinPrep væskebaserede cytologiske prøve, de var blevet henvist til. Ved baseline blev residuale henvisningsprøver fra kvinder i ASC-US-undersøgelsen og i NLM-undersøgelsen testet med både Aptima HPV Assay og en kommercielt tilgængelig HPV DNA-test. Ved baseline blev alle kvinder i ASC-US undersøgelsen henvist til kolposkopi uanset resultaterne af deres HPV-test. Der blev foretaget endocervikal abrasio (ECC) og cervikal stansebiopsi (1 biopsi fra hver af de 4 kvadranter). Hvis en læsion var synlig, blev der foretaget stansebiopsi (direkte metode, 1 biopsi pr. læsion) og biopsi af kvadranter uden synlig læsion ved overgangen mellem pladeepitelet og det endocervikale cylinderepitel (squamocolumnar junction) (vilkårlig metode).

I NILM-undersøgelsen blev kvinder, der var positive med Aptima HPV Assay og/eller den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test, såvel som vilkårligt udvalgte kvinder, som var negative med begge analyser, henvist til kolposkopi til baseline-evaluering. De vilkårligt valgte kvinder, som var negative for begge analyser, blev inkluderet for at korrigere for verifikationsbias med justerede præstationsestimater, der blev genereret med en multipel imputationsmetode. En ECC-biopsi blev indhentet fra hver kvinde, som fik foretaget kolposkopi. Der blev kun indhentet stansebiopsier fra synlige læsioner (vejledt metode, 1 biopsi pr. læsion). Sygdomsstatus blev bestemt af et Konsensus Histologisk Evalueringsudvalg baseret på overensstemmelse mellem mindst 2 patologer med ekspertviden. Disse patologer havde ikke kendskab til kvindernes HPV-status. De var også ubevidste om den cytologiske status, såvel som om deres indbyrdes cytologiske diagnoser. Hvis de 3 patologer var uenige, gennemgik alle 3 patologer objektglassene under et mikroskop med flere hoveder for at opnå konsensus. Investigatorer, klinikere og kvinderne blev holdt ubevidste om resultaterne af HPV-testen, indtil efter den fuldførte kolposkopikonsultation for at undgå bias. Klinisk præstation af Aptima HPV Assay til detektion af  $\geq$ CIN2 og cervikal intraepitelial neoplasi grad 3 eller mere alvorlig cervikal sygdom ( $\geq$ CIN3) blev bedømt ved baseline i forhold til den cervikale sygdomsstatus bestemt ved baseline. Den kliniske præstation af Aptima HPV Assay blev også bestemt i direkte sammenligning med kommercielt tilgængelige HPV DNA-test.

## CLEAR-undersøgelsen – Opfølgende evaluering

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

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

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

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

## Tigris DTS Systems analysepræstation

### ASC-US $\geq$ 21 års population: Klinisk præstation af Aptima HPV Assay med ThinPrep væskebaserede cytologiprøver

Der var i alt tilmeldt 1252 kvinder på 21 år eller ældre med ASC-US-cytologieresultater til ASC-US-undersøgelsen. Af disse blev 294 kvinder trukket tilbage, og 19 havde ubestemte sygdomsdiagnoser. Alle blev ekskluderet fra analyse. De resterende 939 evaluerbare kvinder var 21 år og ældre med ASC-US-cytologieresultater, Aptima HPV Assay resultater og konklusiv sygdomsstatus. Enoghalvfems (91) kvinder havde  $\geq$ CIN2 og enogfyrre (41) havde  $\geq$ CIN3. Prævalens af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 hos evaluerbare kvinder med cytologiske ASC-US-resultater var hhv. 9,7 % og 4,4 %. Resultaterne af Aptima HPV Assay ifølge Konsensus fra histologisk evalueringspanel er vist i diagnoser i Tabel 2.

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

Aptima HPV Assay resultat*	HPV DNA-test	Diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel						
		Ubestemt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	I alt
Positiv	Positiv	6	170	113	41	32	1	363
Positiv	Negativ	0	7	0	1	2	0	10
Positiv	Intet resultat***	0	14	11	0	2	0	27
Negativ	Positiv	0	47	13	2	3	0	65
Negativ	Negativ	10	371	55	6	1	0	443
Negativ	Intet resultat***	3	40	7	0	0	0	50
<b>I alt</b>		19	649	199	50	40	1****	958

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

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

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

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

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

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

	Præstation	Aptima HPV Assay N=939		HPV DNA-test N=865*	
		Estimat	(95 % CI)	Estimat	(95 % CI)
≥CIN2	<b>Alle biopsier</b>				
	<b>Sensitivitet (%)</b>	86,8 (79/91)	(78,4, 92,3)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)
	<b>Specificitet (%)</b>	62,9 (533/848)	(59,6, 66,0)	55,8 (433/776)	(52,3, 59,3)
	<b>PPV (%)</b>	20,1 (79/394)	(18,1, 22,0)	18,7 (79/422)	(17,0, 20,4)
	<b>NPV (%)</b>	97,8 (533/545)	(96,5, 98,8)	97,7 (433/443)	(96,2, 98,8)
	<b>Prævalens (%)</b>	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
	<b>Vejledte biopsier**</b>				
	<b>Sensitivitet (%)</b>	93,3 (56/60)	(84,1, 97,4)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)
	<b>Specificitet (%)</b>	61,5 (539/876)	(58,3, 64,7)	54,5 (438/804)	(51,0, 57,9)
	<b>PPV (%)</b>	14,2 (56/393)	(12,7, 15,6)	13,1 (55/421)	(11,7, 14,2)
	<b>NPV (%)</b>	99,3 (539/543)	(98,3, 99,8)	99,1 (438/442)	(97,9, 99,7)
	<b>Prævalens (%)</b>	6,4 (60/936)		6,8 (59/863)	
≥CIN3	<b>Alle biopsier</b>				
	<b>Sensitivitet (%)</b>	90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
	<b>Specificitet (%)</b>	60,2 (541/898)	(57,0, 63,4)	53,3 (440/826)	(49,9, 56,6)
	<b>PPV (%)</b>	9,4 (37/394)	(8,1, 10,4)	8,5 (36/422)	(7,4, 9,4)
	<b>NPV (%)</b>	99,3 (541/545)	(98,3, 99,8)	99,3 (440/443)	(98,3, 99,8)
	<b>Prævalens (%)</b>	4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	
	<b>Vejledte biopsier**</b>				
	<b>Sensitivitet (%)</b>	93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)
	<b>Specificitet (%)</b>	59,6 (541/908)	(56,4, 62,7)	52,8 (441/836)	(49,4, 56,1)
	<b>PPV (%)</b>	6,9 (27/394)	(5,8, 7,6)	6,4 (27/422)	(5,5, 7,0)
	<b>NPV (%)</b>	99,6 (541/543)	(98,8, 100)	99,8 (441/442)	(98,9, 100)
	<b>Prævalens (%)</b>	3,1 (29/937)		3,2 (28/864)	

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

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

Ved evaluering af alle biopsier var estimer for klinisk sensitivitet af Aptima HPV Assay og den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test, hvor begge analyseresultater er tilgængelige til detektion af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3, ens (forskelle i sensitivitetsestimater var ikke statistisk signifikante: sensitivitetsforskel = -2,3 % [95 % CI: -9,5 %, 4,8 %]). Estimer af klinisk specificitet af Aptima HPV Assay til detektion af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 var højere end dem fra den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test (forskelle i specificitetsestimater var statistisk signifikante). For  $\geq$ CIN2 var specificitetsforskellen 6,8 % (95 % CI: 4,9 %, 9,0 %). NPV'er var ens, men til detektion af  $\geq$ CIN2 var PPV for Aptima HPV Assay lidt højere end PPV for den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test (20,1 % vs 18,7 %).

Af de 91  $\geq$ CIN2-tilfælde blev 60 (65,9 %) identificeret i vejlede biopsier og 31 (34,1 %) blev identificeret fra vilkårlige og/eller ECC-biopsier (dvs ikke i vejlede biopsier). Disse fund er sammenlignelige med resultater fra offentliggjorte undersøgelser, hvor ca. 25-40 % af  $\geq$ CIN2-tilfældene kun blev identificeret fra vilkårlige og/eller ECC-biopsiprøver.<sup>36,37</sup> Kun med brug af vejlede biopsier til at bestemme sygdomsstatus (under forudsætning af, at kvinder uden vejlede biopsier havde normale histologiresultater, fordi der ikke var synlige læsioner til stede) var prævalensen af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 i undersøgelsen henholdsvis 6,4 % og 3,1 %. Estimerne af klinisk sensitivitet til detektion af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 var højere for begge test med brug udelukkende af vejlede biopsier end estimerne, der blev beregnet vha. alle biopsier. For begge analyser var klinisk specificitet med brug udelukkende af vejlede biopsier den samme som den specificitet, der blev opnået med alle biopsier inkluderet. Ved brug udelukkende af vejlede biopsier var Aptima HPV Assay specificitet følgelig signifikant højere end specificiteten i den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test.

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

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

	Præstation	Aptima HPV Assay N=939		HPV DNA-test N=865*	
		Estimat	(95 % CI)	Estimat	(95 % CI)
21 til 29 år		N=415		N=389	
	Sensitivitet (%)	90,2 (55/61)	(80,2, 95,4)	94,9 (56/59)	(86,1, 98,3)
	Specifцитet (%)	44,9 (159/354)	(39,8, 50,1)	35,5 (117/330)	(30,5, 40,8)
	PPV (%)	22,0 (55/250)	(19,6, 24,2)	20,8 (56/269)	(19,0, 22,5)
	NPV (%)	96,4 (159/165)	(93,0, 98,5)	97,5 (117/120)	(93,6, 99,4)
	Prævalens (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
30 til 39 år		N=262		N=239	
	Sensitivitet (%)	90,0 (18/20)	(69,9, 97,2)	80,0 (16/20)	(58,4, 91,9)
	Specifцитet (%)	68,2 (165/242)	(62,1, 73,7)	61,6 (135/219)	(55,1, 67,8)
	PPV (%)	18,9 (18/95)	(14,7, 22,7)	16,0 (16/100)	(11,8, 19,6)
	NPV (%)	98,8 (165/167)	(96,5, 99,8)	97,1 (135/139)	(94,1, 99,1)
	Prævalens (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
≥ 40 år		N=262		N=237	
	Sensitivitet (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	Specifцитet (%)	82,9 (209/252)	(77,8, 87,1)	79,7 (181/227)	(74,0, 84,4)
	PPV (%)	12,2 (6/49)	(5,8, 18,4)	13,2 (7/53)	(6,9, 18,7)
	NPV (%)	98,1 (209/213)	(96,6, 99,4)	98,4 (181/184)	(96,6, 99,6)
	Prævalens (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)	

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

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

	Præstation	Aptima HPV Assay N=939		HPV DNA-test N=865*	
		Estimat	(95 % CI)	Estimat	(95 % CI)
21 til 29 år		N=415		N=389	
	Sensitivitet (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Specificitet (%)	42,3 (164/388)	(37,5, 47,2)	33,0 (120/364)	(28,3, 38,0)
	PPV (%)	10,4 (26/250)	(8,9, 11,4)	9,3 (25/269)	(8,2, 10,0)
	NPV (%)	99,4 (164/165)	(97,2, 100)	100 (120/120)	(97,5, 100)
	Prævalens (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
30 til 39 år		N=262		N=239	
	Sensitivitet (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Specificitet (%)	65,6 (166/253)	(59,6, 71,2)	59,6 (137/230)	(53,1, 65,7)
	PPV (%)	8,4 (8/95)	(5,2, 10,4)	7,0 (7/100)	(3,9, 9,1)
	NPV (%)	99,4 (166/167)	(97,6, 100)	98,6 (137/139)	(96,4, 99,8)
	Prævalens (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
≥ 40 år		N=262		N=237	
	Sensitivitet (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Specificitet (%)	82,1 (211/257)	(77,0, 86,3)	78,9 (183/232)	(73,2, 83,6)
	PPV (%)	6,1 (3/49)	(1,6, 10,2)	7,5 (4/53)	(2,9, 10,7)
	NPV (%)	99,1 (211/213)	(98,0, 99,9)	99,5 (183/184)	(98,2, 100)
	Prævalens (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)	

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



Den absolutte sygdomsrisiko ( $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 baseret på evaluering af alle biopsier) efter Aptima HPV Assay resultater og den relative sygdomsrisiko for positive versus negative Aptima HPV Assay resultater vises i Tabel 6 sammen med estimaterne for den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test. Den relative risiko for  $\geq$ CIN2 var 9,1 (95 % CI: 5,0, 16,5), hvilket angiver, at en kvinde, der fik et positivt Aptima HPV Assay resultat, har 9,1 gange så stor sandsynlighed for at have  $\geq$ CIN2 som en kvinde med et negativt Aptima HPV Assay resultat. Den relative risiko for  $\geq$ CIN3 var 12,8 (95 % CI: 4,6, 35,6).

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

	Analyseresultat	Aptima HPV Assay N=939		HPV DNA-test N=865*	
		Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
$\geq$ CIN2	Positiv	20,1 (79/394) (18,1, 22,0)	9,1 (5,0, 16,5)	18,7 (79/422) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Negativ	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)		2,3 (10/443) (1,2, 3,8)	
	Prævalens (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
$\geq$ CIN3	Positiv	9,4 (37/394) (8,1, 10,4)	12,8 (4,6, 35,6)	8,5 (36/422) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Negativ	0,7 (4/545) (0,2, 1,7)		0,7 (3/443) (0,2, 1,7)	
	Prævalens (%)	4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	

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

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

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

	Alder	Analyseresultat	Aptima HPV Assay N=939		HPV DNA-test N=865*	
			Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
$\geq$ CIN2	21 til 29 år		N=415		N=389	
		Positiv	22,0 (55/250) (19,6, 24,2)	6,1 (2,7, 13,7)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)
		Negativ	3,6 (6/165) (1,5, 7,0)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prævalens (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 til 39 år		N=262		N=239	
		Positiv	18,9 (18/95) (14,7, 22,7)	15,8 (3,8, 66,7)	16,0 (16/100) (11,8, 19,6)	5,6 (1,9, 16,1)
		Negativ	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prævalens (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
	$\geq$ 40 år		N=262		N=237	
		Positiv	12,2 (6/49) (5,8, 18,4)	6,5 (1,9, 22,2)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,2)
		Negativ	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)		1,6 (3/184) (0,4, 3,4)	
		Prævalens (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)	
$\geq$ CIN3	21 til 29 år		N=415		N=389	
		Positiv	10,4 (26/250) (8,9, 11,4)	17,2 (2,4, 125)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Kan ikke beregnes
		Negativ	0,6 (1/165) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prævalens (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 til 39 år		N=262		N=239	
		Positiv	8,4 (8/95) (5,2, 10,4)	14,1 (1,8, 111)	7,0 (7/100) (3,9, 9,1)	4,9 (1,0, 22,9)
		Negativ	0,6 (1/167) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prævalens (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
	$\geq$ 40 år		N=262		N=237	
		Positiv	6,1 (3/49) (1,6, 10,2)	6,5 (1,1, 38,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,9 (1,6, 122)
		Negativ	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)		0,5 (1/184) (0,0, 1,8)	
		Prævalens (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)	

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

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

Der var i alt tilmeldt 11.644 kvinder med NILM-cytologieresultater i NILM-undersøgelsen. Af disse blev 773 kvinder trukket tilbage og ekskluderet fra baseline-evalueringen. De resterende 10.871 evaluerbare kvinder var 30 år og ældre med NILM-cytologieresultater og Aptima HPV Assay resultater. Af de 540 kvinder med positive Aptima HPV Assay resultater fik 335 foretaget kolposkopi. Af de 10.331 kvinder med negative Aptima HPV Assay resultater fik 530 foretaget kolposkopi ved baseline ved baseline. Tyve (20) kvinder havde ≥ CIN2 og elleve (11) havde ≥ CIN3. 799 kvinder havde normal/CIN1-histologi. 46 kvinder havde ubestemt sygdomsstatus. Resultaterne af Aptima HPV Assay ifølge diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel ved baseline er vist i Tabel 8.

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

Aptima HPV Assay resultat*	HPV DNA-test	Diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel						
		Ubestemt	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	I alt
Positiv	Positiv	11	212	11	4	7	2	247
Positiv	Negativ	7	59	0	1	0	1	68
Positiv	Intet resultat**	3	16	1	0	0	0	20
Negativ	Positiv	10	170	8	2	1	0	191
Negativ	Negativ	15	313	9	1	0	0	338
Negativ	Intet resultat**	0	0	0	1	0	0	1
<b>I alt</b>		46	770	29	9	8	3***	865

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

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

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

I alt havde 10.052 kvinder ikke-verificeret (inklusive ubestemt) sygdomsstatus ved baseline (Tabel 9). Fordi kun vilkårligt udvalgte kvinder med negative resultater med både Aptima HPV Assay og den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test blev henvist til kolposkopi, var proportionen af kvinder med ikke-verificeret sygdomsstatus høj i denne gruppe (96,6 %). For at justere for denne verificeringsbias anvendtes der multipel imputation til at estimere antallet af kvinder med sygdom, der ville være blevet identificeret, hvis alle kvinder havde fået foretaget kolposkopi. Såvel de justerede præstationsestimater for verifikationsbias og de ikke-justerede præstationsestimater baseret på de 819 kvinder med verificeret sygdomsstatus ved baseline er vist.

**Tabel 9:** NILM  $\geq$  30 års population: Klassifikation af evaluerbare NILM-kvinder ifølge Aptima HPV Assay og HPV DNA-testresultater, sygdomsstatus ( $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3) og verifikation af sygdomsstatus ved baseline

Aptima HPV Assay resultat*	HPV DNA-test	Kvinder i alt	Verificeret sygdomsstatus: $\geq$ CIN2		Verificeret sygdomsstatus: $\geq$ CIN3		Ikke-verificeret sygdomsstatus
			Sygdomsramte kvinder ( $\geq$ CIN2)	Ikke-sygdomsramte kvinder (<CIN2)	Sygdomsramte kvinder ( $\geq$ CIN3)	Ikke-sygdomsramte kvinder (<CIN3)	Kvinder med ukendt sygdomsstatus (% ukendt)
Positiv	Positiv	360	13	223	9	227	124 (34,4 %)
Positiv	Negativ	150	2	59	1	60	89 (59,3 %)
Positiv	Intet resultat**	30	0	17	0	17	13 (43,3 %)
Negativ	Positiv	306	3	178	1	180	125 (40,8 %)
Negativ	Negativ	9420	1	322	0	323	9097 (96,6 %)
Negativ	Intet resultat**	605	1	0	0	1	604 (99,8 %)
<b>I alt</b>		10.871	20	799	11	808	10.052 (92,5 %)

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

\*\*635 kvinder med Aptima HPV Assay resultater havde ikke HPV DNA-testresultater, primært som følge af en utilstrækkelig mængde cytologisk prøvemateriale.

Den justerede prævalens af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 hos kvinder med cytologiske NILM-resultater var hhv. 0,9 % og 0,4 %. Estimer for justerede absolutte og relative risici til detektion af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 ved baseline vises i Tabel 10. Den justerede relative risiko for  $\geq$ CIN2 var 8,1 (95 % CI: 2,3, 28,1), hvilket angiver, at en kvinde, der får et positivt Aptima HPV Assay resultat, har 8,1 gange så stor sandsynlighed for at have  $\geq$ CIN2 som en kvinde med et negativt Aptima HPV Assay resultat. Den justerede relative risiko for  $\geq$ CIN3 var 34,5 (95 % CI: 2,7, 443,3). Estimer for ikke-justerede absolutte og relative risici til detektion af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 ved baseline vises generelt i Tabel 11 og efter aldersgruppe i Tabel 12.

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

Analyseresultat		Aptima HPV Assay		HPV DNA-test	
		Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
$\geq$ CIN2	Positiv	4,7 (2,9, 7,6)	8,1 (2,3, 28,1)	3,7 (2,3, 6,0)	7,3 (1,6, 33,4)
	Negativ	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prævalens (%)	0,9		0,9	
$\geq$ CIN3	Positiv	3,3 (1,4, 7,6)	34,5 (2,7, 443,3)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,4)
	Negativ	0,1 (0,0, 1,6)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prævalens (%)	0,4		0,4	

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

Analyseresultat		Aptima HPV Assay N=819		HPV DNA-test N=801*	
		Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
$\geq$ CIN2	Positiv	4,8 (15/314) (3,4, 5,8)	4,8 (1,8, 13,1)	3,8 (16/417) (2,9, 4,4)	4,9 (1,4, 16,7)
	Negativ	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prævalens (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
$\geq$ CIN3	Positiv	3,2 (10/314) (2,2, 3,7)	16,1 (2,1, 125)	2,4 (10/417) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,6)
	Negativ	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prævalens (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

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

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

	Alder	Analyseresultat	Aptima HPV Assay N=819		HPV DNA-test N=801*	
			Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
≥CIN2	30 til 39 år		N=384		N=377	
		Positiv	4,8 (8/167) (2,1, 9,2)	10,4 (1,3, 82,3)	3,2 (7/216) (1,3, 6,6)	2,6 (0,5, 12,4)
		Negativ	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		1,2 (2/161) (0,2, 4,4)	
		Prævalens (%)	2,3 (9/384)		2,4 (9/377)	
	≥ 40 år		N=435		N=424	
		Positiv	4,8 (7/147) (1,9, 9,6)	3,4 (1,0, 11,5)	4,5 (9/201) (2,1, 8,3)	10,0 (1,3, 78,1)
		Negativ	1,4 (4/288) (0,4, 3,5)		0,4 (1/223) (0,0, 2,5)	
		Prævalens (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥CIN3	30 til 39 år		N=384		N=377	
		Positiv	3,0 (5/167) (1,0, 6,8)	6,5 (0,8, 55,1)	2,3 (5/216) (0,8, 5,3)	3,7 (0,4, 31,6)
		Negativ	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		0,6 (1/161) (0,0, 3,4)	
		Prævalens (%)	1,6 (6/384)		1,6 (6/377)	
	≥ 40 år		N=435		N=424	
		Positiv	3,4 (5/147) (1,1, 7,8)	Kan ikke beregnes	2,5 (5/201) (0,8, 5,7)	Kan ikke beregnes
		Negativ	0,0 (0/288) (0,0, 1,3)		0,0 (0/223) (0,0, 1,6)	
		Prævalens (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

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

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

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

	Præstation	Aptima HPV Assay		HPV DNA-test	
		Estimat	(95 % CI)	Estimat	(95 % CI)
$\geq$ CIN2	Sensitivitet (%)	31,0	(5,9, 56,1)	35,4	(3,8, 66,9)
	Specificitet (%)	95,2	(94,8, 95,6)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,7	(2,9, 7,6)	3,7	(2,3, 6,0)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Prævalens (%)	0,9		0,9	
$\geq$ CIN3	Sensitivitet (%)	61,5	(14,0, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Specificitet (%)	95,2	(94,8, 95,6)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,3	(1,4, 7,6)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,4, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prævalens (%)	0,4		0,4	

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

	Præstation	Aptima HPV Assay N=819		HPV DNA-test N=801*	
		Estimat	(95 % CI)	Estimat	(95 % CI)
≥CIN2	Sensitivitet (%)	75,0 (15/20)	(53,1, 88,8)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Specificitet (%)	62,6 (500/799)	(59,2, 65,9)	48,7 (381/782)	(45,2, 52,2)
	PPV (%)	4,8 (15/314)	(3,4, 5,8)	3,8 (16/417)	(2,9, 4,4)
	NPV (%)	99,0 (500/505)	(98,1, 99,6)	99,2 (381/384)	(98,1, 99,8)
	Prævalens (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
≥CIN3	Sensitivitet (%)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Specificitet (%)	62,4 (504/808)	(59,0, 65,7)	48,5 (383/790)	(45,0, 52,0)
	PPV (%)	3,2 (10/314)	(2,2, 3,7)	2,4 (10/417)	(1,6, 2,7)
	NPV (%)	99,8 (504/505)	(99,1, 100)	99,7 (383/384)	(98,9, 100)
	Prævalens (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

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



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

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

		HPV DNA-test		I alt
		Positiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Positiv	13	2	15 (78,9 %)
	Negativ	3	1	4
	I alt	16 (84,2 %)	3	19
Forhold mellem sande positive frekvenser = 0,94 (15/16) (95 % CI: 0,67, 1,20)				

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

		HPV DNA-test		I alt
		Positiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Positiv	223	59	282 (36,1 %)
	Negativ	178	322	500
	I alt	401 (51,3 %)	381	782
Forhold mellem falske positive frekvenser = 0,70 (282/401) (95 % CI: 0,64, 0,77)				

**NILM ≥ 30 års population: Aptima HPV Assay klinisk præstation efter 3 års opfølgning**

Der var 10.854 evaluerbare kvinder på 30 år eller mere med NILM-cytologiresultater og gyldige Aptima HPV Assay resultater ved baseline, som var kvalificeret til opfølgningsfasen. Ud af kvinderne uden ≥ CIN2 fuldførte 66,9 % (7.251/10.834) af kvinderne Papopfølgningsbesøget efter 1 år, 60,2 % (6.522/10.825) besøget efter 2 år, og 58,6 % (6.344/10.818) besøget efter 3 år. I alt fuldførte 58,8 % (6.380/10.854) af kvinderne forsøget (havde ≥ CIN2 ved baseline eller under opfølgning, og/eller fuldførte påkrævede besøg).

Af de 10.854 kvinder, havde 540 (5,0 %) positive Aptima HPV Assay resultater ved baseline. Af disse 540 kvinder, havde 263 (48,7 %) enten positiv eller negativ sygdomsstatus efter 3 år baseret på cytologiske resultater eller resultater af kolposkopi/biopsi. De resterende 10.314 kvinder havde negative Aptima HPV Assay resultater ved baseline. Af disse 10.314 kvinder, havde 5.943 (57,6 %) enten positiv eller negativ sygdomsstatus efter 3 år. Ud af de 6.206 kvinder med sygdomsstatus efter 3 år, havde 47 kvinder ≥ CIN2, herunder 23 med ≥ CIN3; 6.159 kvinder havde normal/CIN1 ifølge Konsensus fra histologisk evalueringspanel. Baseline-resultaterne af Aptima HPV Assay og en kommercielt tilgængelig HPV DNA-analyse og sygdomsstatusen efter 3 år (inkluderer baseline- og opfølgningsevaluering) ifølge Konsensus fra histologisk evalueringspanel vises i Tabel 17.

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

Aptima HPV Assay resultat	HPV-DNA test	Kvinder i alt	Bekræftet sygdomsstatus: ≥ CIN2		Bekræftet sygdomsstatus: ≥ CIN3		Ubekræftet sygdomsstatus	
			Sygdomsramte kvinner (≥ CIN2)	Ikke sygdomsramte kvinder (< CIN2)	Sygdomsramte kvinner (≥ CIN3)	Ikke sygdomsramte kvinder (< CIN3)	Tabt for opfølgning	Ubestemt*
Positiv	Positiv	360	22	154	15	161	165	19
Positiv	Negativ	150	2	72	1	73	68	8
Positiv	Intet resultat**	30	2	11	1	12	14	3
Negativ	Positiv	304	6	146	3	149	133	19
Negativ	Negativ	9.405	14	5.455	3	5.466	3.735	201
Negativ	Intet resultat**	605	1	321	0	322	269	14
<b>I alt</b>		10.854	47	6.159	23	6.183	4.384	264

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

\*\*635 kvinder med Aptima HPV Assay resultater havde ingen HPV DNA-testresultater primært på grund af utilstrækkeligt cytologisk prøvevolumen.

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

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

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

	Analyseresultat	Aptima HPV Assay		HPV-DNA test	
		Absolut risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolut risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % CI)
≥CIN2	Positiv	7,39 (5,12, 10,59)	22,55 (12,68, 40,10)	6,42 (4,50, 9,13)	22,71 (12,19, 42,29)
	Negativ	0,33 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Prævalens (%)	0,68		0,68	
≥CIN3	Positiv	4,66 (2,94, 7,36)	44,12 (16,91, 115,10)	4,14 (2,62, 6,52)	51,33 (17,74, 148,55)
	Negativ	0,11 (0,04, 0,25)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Prævalens (%)	0,34		0,35	

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

Den kumulative prævalens af ≥ CIN2 og ≥ CIN3 efter 3 år hos kvinder med NILM cytologiske resultater ved baseline var hhv. 0,68 % og 0,34 %. Den relative risiko for ≥ CIN2 var 22,55 (95 % KI: 12,68, 40,10), hvilket angiver, at en kvinde med en positiv Aptima HPV Assay har 22,55 gange større sandsynlighed for at have ≥ CIN2 end en kvinde med en negativ Aptima HPV Assay. Den relative risiko for ≥ CIN3 var 44,12 (95 % KI: 16,91, 115,10).

## Klinisk præstation af Aptima HPV Assay med SurePath væskebaserede cytologiprøver

### SurePath-prøver behandlet med Aptima-overførselsopløsning

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

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

Præstation	Aptima HPV Assay N=558		HPV PCR-test N=558	
	Estimat	(95 % CI)	Estimat	(95 % CI)
<b>Sensitivitet (%)</b>	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)
<b>Specificitet (%)</b>	56,8 (301/530)	(52,5 - 60,9)	49,1 (260/530)	(44,8 - 53,3)
<b>PPV (%)</b>	9,8 (25/254)	(8,1 - 11,2)	8,5 (25/295)	(7,0 - 9,5)
<b>NPV (%)</b>	99,0 (301/304)	(97,6 - 99,8)	98,9 (260/263)	(97,2 - 99,7)
<b>Prævalens (%)</b>	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

**Table 20:** Sensitivitet for Aptima HPV Assay med SurePath og ThinPrep væskebaserede cytologiprøver

HPV-genotype	Kopier/reaktion	ThinPrep	SurePath
		% positive (95 % CI)	% positive (95 % CI)
16	60	98,3 (91,1-99,7)	100 (94,0-100)
18	100	100 (94,0-100)	100 (94,0-100)
31	25	100 (94,0-100)	95,0 (86,3-98,3)
33	60	96,7 (88,6-99,1)	98,3 (91,1-99,7)
35	25	100 (94,0-100)	100 (94,0-100)
39	25	100 (94,0-100)	91,7 (81,9-96,4)
45	40	100 (94,0-100)	95,0 (86,3-98,3)
51	250	100 (94,0-100)	100 (94,0-100)
52	600	100 (94,0-100)	98,3 (91,1-99,7)
56	100	98,3 (91,1-99,7)	93,3 (84,1-97,4)
58	50	95,0 (86,3-98,3)	93,3 (84,1-97,4)
59	75	96,7 (88,6-99,1)	91,7 (81,9-96,4)
66	150	98,3 (91,1-99,7)	95,0 (86,3-98,3)
68	30	96,7 (88,6-99,1)	93,3 (84,1-97,4)

## Præstation af Aptima HPV Assay med cervikale prøver, der er udtaget med prøveindsamlings- og transportkit

Der blev indsamlet grupperede ThinPrep væskebaserede cytologiprøver og Aptima CSCT-kitprøver fra 735 forsøgspersoner. En milliliter (1,0 ml) af hver ThinPrep væskebaseret cytologiprøve blev fortyndet i 2,9 ml Aptima-prøvetransportmedie, og et enkelt replikat blev testet med Aptima HPV Assay på Tigris DTS System. Et enkelt replikat af hver CSCT-prøve blev også testet med Aptima HPV Assay. Den procentvise overensstemmelse mellem Aptima HPV Assay og ThinPrep væskebaseret cytologiprøve og CSCT-prøven blev bestemt, og resultaterne vises i Tabel 21.

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

**Tabel 21:** Samlet overensstemmelse for Aptima HPV Assay resultater fra ThinPrep væskebaserede cytologiprøver og prøver fra Aptima-prøveudtagnings- og transportkit til cervikale prøver testet på Tigris DTS System

		ThinPrep væskebaseret cytologiprøve		I alt
		Positiv	Negativ	
Aptima CSCT-kitprøve	Positiv	234	22	256
	Negativ	10	469	479
	I alt	244	491	735

Positiv overensstemmelse = 95,9 % (92,6-97,8)

Negativ overensstemmelse = 95,5 % (93,3-97,0)

Samlet overensstemmelse = 95,6 % (93,9-96,9)

Kappa koefficient = 0,90

## Analytisk sensitivitet

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

Probit-analyseresultaterne, Tabel 22, viser, at HPV 16, 18, 31, 33, 35, 38, 45, 58, 59 og 68 havde 95 % detektionsgrænser på mindre end 100 kopier/reaktion. Og type 51, 52, 56 og 66 havde 95 % detektionsgrænser på mellem 100 og 300 kopier/reaktion. De fire testede cellelinjer havde 95 % detektionsgrænser på mindre end 1 celle/reaktion.

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

Target	Detektionsgrænse* (95 % CI)
HPV 16	48,7 (36,6 - 72,2)
HPV 18	80,9 (60,4 - 118,4)
HPV 31	18,6 (14,2 - 27,3)
HPV 33	49,1 (37,0 - 71,3)
HPV 35	19,1 (14,2 - 29,1)
HPV 39	24,6 (19,1 - 34,4)
HPV 45	33,8 (25,7 - 49,4)
HPV 51	206,6 (157,5 - 297,7)
HPV 52	266,2 (205,5 - 373,8)
HPV 56	100,1 (81,9 - 129,9)
HPV 58	48,0 (37,3 - 68,7)
HPV 59	49,0 (36,4 - 75,9)
HPV 66	168,7 (129,6 - 241,1)
HPV 68	27,0 (20,3 - 40,1)
SiHa	0,30 (0,24 - 0,43)
HeLa	0,18 (0,14 - 0,29)
ME180	0,11 (0,09 - 0,16)
MS751	0,19 (0,14 - 0,33)

\*kopier pr. reaktion for *in vitro* transkripter og celler pr. reaktion for cellelinjer

## Analysepræcision

Præcisionen af Aptima HPV Assay blev evalueret i to undersøgelser vha. det samme 20-elementspanel. Undersøgelse 1 til bestemmelse af analysens reproducerbarhed blev udført på 3 eksterne teststeder. Undersøgelse 2 blev foretaget internt for at måle analysereproducerbarheden. Panelet inkluderede 10 HPV positive elementer med koncentrationer på eller over analysens detektionsgrænse (forventet positivitet:  $\geq 95\%$ ), 4 HPV-positive elementer med koncentrationer under analysens detektionsgrænse (forventet positivitet:  $>0\%$  til  $<25\%$ ) og 6 HPV-negative elementer. HPV-positive panelelementer blev forberedt ved at spike *in vitro* RNA-transkripter (IVT) i prøvetransportmedium (STM) eller HPV-inficerede dyrkede celler (SiHa, HeLa, ME180 og MS751; ATCC, Manassas, Virginia) i PreservCyt- opløsning. HPV-negative panelelementer blev klargjort med STM eller poolede ThinPrep væskebaserede cytologiske residualprøver.

I undersøgelse 1 foretog 2 operatører på hvert af de 3 teststeder (1 instrument pr. sted) 1 Aptima HPV Assay arbejdsliste pr. dag over 3 dage for hvert af 3 reagenslot. Hver arbejdsliste indeholdt 3 replikater af hvert reproducerbarhedspanelmedlem. Ethundredetogtres (162) individuelle prøvereagensglas blev testet for hvert panelement (3 steder x 1 instrument x 2 operatører x 3 lot x 3 arbejdslistes x 3 replikater). I undersøgelse 2 fandt testningen sted internt over 20 dage med i alt 162 reaktioner testet for hvert panelmedlem (1 sted x 3 instrumenter x 3 operatører x 3 lot x 2 arbejdslistes x 3 replikater).

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

Positiv overensstemmelse for de HPV-positive panelementer med koncentrationer på eller over analysens detektionsgrænse spændte fra 95,1 % til 100 % i undersøgelse 1 og fra 93,2 % til 100 % i undersøgelse 2 for 9 af de 10 panelementer. Det resterende HPV-positive panelement resulterede i 77,2 % overensstemmelse i undersøgelse 1 og 79,0 % overensstemmelse i undersøgelse 2, hvilket var lavere end forventet, men konsekvent mellem de 2 undersøgelser. Negativ overensstemmelse for de HPV-højnegative panelementer med koncentrationer under analysens detektionsgrænse spændte fra 78,8 % til 93,8 % i undersøgelse 1 og fra 82,1 % til 95,7 % i undersøgelse 2. Overensstemmelse med forventede resultater for de HPV-negative panelementer spændte fra 96,9 % til 100 % i undersøgelse 1 og fra 96,3 % til 100 % i undersøgelse 2.



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

Panel description (copies or cells/reaction)	Investigation 1 (3 test sites)	Investigation 2 (1 test site)
	% positive agreement (95 % CI)	% positive agreement (95 % CI)
HPV 16 and HPV 18 IVT (100 copies)	100 (161/161) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-cells (3 cells) and HeLa-cells (7,5 cells)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (100 copies)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (160/160) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (100 copies)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-cells (1 cell)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)
ME180-cells (0,3 cells)	95,1 (154/162) (90,6, 97,5)	93,2 (151/162) (88,3, 96,2)
HPV 18 IVT (30 copies)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (30 copies)	100 (162/162) (97,7, 100)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
HeLa-cells (2,5 cells)	100 (162/162) (97,7, 100)	95,6 (152/159) (91,2, 97,9)
SiHa-cells (1 cell)*	77,2 (125/162) (70,1, 83,0)	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)

IVT = *in vitro* transcript. IVT is spiked in STM and cells are spiked in PreservCyt solution.

\*Expected % positive agreement ~95 %; observed lower possibly due to variability in preparation of panel element.

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

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaktion)	Undersøgelse 1 (3 teststeder)	Undersøgelse 2 (1 teststed)
	% negativ overensstemmelse (95 % CI)	% negativ overensstemmelse (95 % CI)
HPV 18 IVT (1 kopi)*	78,8 (126/160) (71,8, 84,4)	83,3 (135/162) (76,8, 88,3)
HPV 16 IVT (1 kopi)*	80,9 (131/162) (74,1, 86,2)	88,3 (143/162) (82,4, 92,4)
HeLa-celler (0,05 celler)*	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)	82,1 (133/162) (75,5, 87,2)
SiHa-celler (0,03 celler)*	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
STM lot 1	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM lot 2	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM lot 3	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
ThinPrep-pool 1	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
ThinPrep-pool 2	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)	96,3 (156/162) (92,2, 98,3)
ThinPrep-pool 3	100 (162/162) (97,7, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

STM = prøvetransportmedium. IVT = *in vitro* transkript. IVT blev spiket i STM og celler blev spiket i PreservCyt-opløsning.

\*Forventet % negativ overensstemmelse > 75 % og < 100 %.

**Table 24:** Aptima HPV Assay reproducibility investigation 1: Signal variability for panel elements with expected positive results

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaktion)	n	Middel S/CO	Laboratorier imellem		Operatører imellem		Lot imellem		Arbejdssteder imellem		Inden for arbejdssteder		I alt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV 16 og HPV 18 IVT (100 kopier)	161 <sup>^</sup>	23,4	0,1	0,4	0,1	0,4	0,9	4,0	0	0	1,6	7,0	1,9	8,1
SiHa-celler (3 celler) og HeLa-celler (7,5 celler)	162	17,9	0	0	1,4	8,1	0	0	0,6	3,1	5,1	28,6	5,3	29,9
HPV 18 IVT (100 kopier)	162	11,8	0	0	0	0	0,8	6,4	0,1	0,9	1,2	10,1	1,4	12,0
HPV 16 IVT (100 kopier)	162	10,8	0,2	1,5	0	0	0,1	1,1	0,3	2,6	0,3	3,1	0,5	4,5
MS751-celler (1 celle)	162	13,3	0,3	2,1	0	0	1,0	7,8	0,9	7,1	2,2	16,2	2,6	19,4
ME180-celler (0,3 celler)	162	6,5	0,2	3,2	0	0	0,6	8,6	0,4	5,5	2,4	36,2	2,5	37,7
HPV 18 IVT (30 kopier)	162	9,0	0,7	7,3	0	0	0,7	7,2	0,8	8,3	2,3	25,3	2,6	28,5
HPV 16 IVT (30 kopier)	162	10,8	0,1	0,8	0	0	0,1	1,3	0,4	3,8	0,9	8,4	1,0	9,3
HeLa-celler (2,5 celler)	162	12,4	0	0	0,4	3,3	0,4	3,1	0	0	2,3	18,4	2,4	19,0
SiHa-celler (1 celle)	162	7,5	0,3	3,7	1,0	13,0	0	0	0	0	4,8	63,6	4,9	65,0

SD = standardafvigelse. CV = variationskoefficient. IVT = *in vitro* transkript. S/CO = signal-til-cutoff-frekvens

<sup>^</sup>En prøve havde et ugyldigt Aptima HPV Assay resultat og var ikke inkluderet i analyserne.

**Bemærk:** Variabiliteten fra nogle faktorer kan være numerisk negative. Dette kan forekomme, hvis variabiliteten grundet disse faktorer er meget lille. I disse tilfælde blev SD og CV angivet som 0.

**Table 25:** Aptima HPV Assay reproducibility investigation 2: Signal variability for panel elements with expected positive results

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaktion)	n	Middel S/CO	Instrumenter imellem		Operatører imellem		Lot imellem		Arbejdslist imellem		Inden for arbejdslist		I alt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV 16 og HPV 18 IVT (100 kopier)	162	23,2	0,4	1,5	0,6	2,3	0,8	3,4	0,8	3,4	1,5	6,3	2,0	8,4
SiHa-celler (3 celler) og HeLa-celler (7,5 celler)	162	18,6	0	0	1,7	9,3	0	0	3,5	18,6	3,7	20,0	5,4	28,9
HPV 18 IVT (100 kopier)	160 <sup>^</sup>	11,9	0,1	0,6	0,2	1,6	0,8	7,0	0,4	3,6	1,3	11,3	1,7	13,8
HPV 16 IVT (100 kopier)	162	10,8	0	0	0,1	1,3	0	0	0,2	2,2	0,7	6,1	0,7	6,6
MS751-celler (1 celle)	162	13,6	0	0	0,6	4,3	0	0	2,5	18,4	2,1	15,2	3,3	24,2
ME180-celler (0,3 celler)	162	5,8	0	0	0,6	10,8	0,5	9,4	2,2	36,9	1,7	29,7	2,9	49,5
HPV 18 IVT (30 kopier)	162	8,8	0,4	4,4	0,5	6,0	0,7	7,9	1,0	11,5	1,9	21,4	2,4	26,6
HPV 16 IVT (30 kopier)	162	10,5	0	0	0,1	1,3	0,2	2,0	1,6	14,9	1,2	11,2	2,0	18,8
HeLa-celler (2,5 celler)	159 <sup>^</sup>	12,0	0,6	5,1	1,0	8,5	0	0	2,8	23,8	2,0	16,6	3,7	30,6
SiHa-celler (1 celle)	162	7,4	0,9	12,5	0	0	0,7	9,3	1,8	24	4,2	56,8	4,7	63,8

SD = standardafvigelse. CV = variationskoefficient. IVT = *in vitro* transkript. S/CO = signal-til-cut-off-frekvens

<sup>^</sup>Fem prøver havde ugyldige Aptima HPV Assay resultater (2 for HPV 18 IVT (100 kopier), 3 for HeLa-celler (2,5 celler)) og var ikke inkluderet i analyserne.

**Bemærk:** Variabiliteten fra nogle faktorer kan være numerisk negative. Dette kan forekomme, hvis variabiliteten grundet disse faktorer er meget lille. I disse tilfælde blev SD og CV angivet som 0.

Der blev også foretaget en tredje undersøgelse for at bestemme analysereproducerbarheden ved at teste et 6-elementspanel af poolede kliniske ThinPrep væskebaserede cytologiprøver. Seks unikke pools af residuale HPV-negative ThinPrep væskebaserede cytologiprøver blev forberedt som matrix, og to af dem var testet som HPV-negative panelelementer. Fire unikke pools af HPV-positive ThinPrep væskebaserede cytologiprøver blev anvendt til at forberede de lave (n=2) og høje (n=2) HPV-positive panelelementer. De lave positive panelelementer havde koncentrationer ved analysens detektionsgrænse (forventet positivitet:  $\geq 95\%$  bestemt for hver individuel HPV-positiv pool fra testning af serielle fortyndinger af pools). De høje positive panelelementer havde koncentrationer ved 1-2 logs over den estimerede detektionsgrænse for hver individuel HPV-positiv pool (forventet positivitet: 100 % positivitet). Hvert panelelement blev overført (1 ml) til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel med STM på testdagen. Testningen blev foretaget internt af 2 operatører vha. 1 reagensslot, 3 instrumenter, over 6 dage (3 dage for hver operatør), testning af 2 kørsler pr. dag, hvor panelet blev dobbelttestet.

Panelelementerne er beskrevet i Tabel 26 sammen med en oversigt over overensstemmelsen med forventede resultater og analyt-S/CO-værdier ved 2,5., 50. og 97,5. percentil af signalfordelingen. Analyt-S/CO-variabiliteten for panelelementerne med forventede positive resultater er vist i Tabel 27.

Overensstemmelsen var 100 % for de høje HPV-positive panelelementer,  $\geq 98,6\%$  for de lave HPV-positive panelelementer og  $\geq 94,4\%$  for de HPV-negative panelelementer.

**Table 26:** Aptima HPV Assay reproducibility study 3: Panel description, percent agreement

Panelbeskrivelse	% overensstemmelse (95 % CI)
Lav positiv 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Lav positiv 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Høj positiv 1	100 (72/72) (94,9, 100)
Høj positiv 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Negativ 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Negativ 2	94,4 (68/72) (86,6, 97,8)

**Table 27:** Aptima HPV Assay reproducibility study 3: Signal analysis for panel elements with expected positive results

Panelbeskrivelse	n	Middel S/CO	Instrumenter imellem		Operatører imellem		Lot imellem		Arbejdslister imellem		Inden for arbejdslister		I alt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Lav positiv 1	72	9,8	0	0	0	0	0	0	2,2	22,8	3,0	30,4	3,7	38,0
Lav positiv 2	72	10,5	0	0	2,2	21,0	0,9	9,0	3,7	35,3	2,7	26,1	5,2	49,5
Høj positiv 1	72	22,7	1,3	5,6	0	0	0,1	0,5	3,0	13,3	3,7	16,4	5,0	21,9
Høj positiv 2	72	23,9	0	0	0	0	0	0	2,9	12,3	3,0	12,4	4,2	17,4

SD = standardafvigelse. CV = variationskoefficient. S/CO = signal-til-cut-off-frekvens

**Bemærk:** Variabiliteten fra nogle faktorer kan være numerisk negative. Dette kan forekomme, hvis variabiliteten grundet disse faktorer er meget lille. I disse tilfælde blev SD og CV angivet som 0.

## Krydsreaktivitet

Aptima HPV Assay blev evalueret med PreservCyt-opløsningsmedier fortyndet 1:2,9 i STM og spiket med dyrkede bakterier, gær eller svampe, dyrket virus eller lavrisiko-HPV *in vitro* transkripter. Organismerne og testkoncentrationerne identificeres i Tabel 28.

Undersøgelseskriterierne for vurdering af virkningen fra forekomsten af mikroorganismer på analysens specificitet var baseret på positivitet. Der blev observeret krydsreaktivitet med lavrisiko-HPV-genotyperne 26, 67, 70 og 82, men ikke med nogen af de andre testede organismer.

**Tabel 28:** Analytisk specificitetspanel: Organismer og koncentration uden krydsreaktivitet

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

**Tabel 28:** Analytisk specificitetspanel: Organismer og koncentration uden krydsreaktivitet (fortsat)

Organisme	Testkoncentration uden krydsreaktivitet	Organisme	Testkoncentration uden krydsreaktivitet
<b>Gær/protozoer</b>			
<i>Candida albicans</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 <sup>7</sup> celler/ml
<b>Vira</b>			
Adenovirus 2	1x10 <sup>7</sup> vp/ml	Herpes simplex virus 1	2,5x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Cytomegalovirus	5,6x10 <sup>2</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	Herpes simplex virus 2	5x10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Epstein-Barr virus	4,3x10 <sup>6</sup> vp/ml	SV40	1,2x10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
HIV-1	1,0x10 <sup>6</sup> kopier/ml		
<b>Ikke-targetterede HPV-genotyper</b>			
HPV 6	2,5x10 <sup>6</sup> kopier/ml	HPV 61	2,5x10 <sup>6</sup> kopier/ml
HPV 11	2,5x10 <sup>6</sup> kopier/ml	<b>HPV 67</b>	1 kopi/ml
<b>HPV 26</b>	2,5 kopier/ml	HPV 69	2,5x10 <sup>6</sup> kopier/ml
HPV 30	2,5x10 <sup>5</sup> kopier/ml	<b>HPV 70</b>	1 kopi/ml
HPV 34	2,5x10 <sup>6</sup> kopier/ml	HPV 71	2,5x10 <sup>6</sup> kopier/ml
HPV 42	2,5x10 <sup>6</sup> kopier/ml	HPV 73	2,5x10 <sup>6</sup> kopier/ml
HPV 43	2,5x10 <sup>6</sup> kopier/ml	HPV 81	2,5x10 <sup>6</sup> kopier/ml
HPV 44	2,5x10 <sup>6</sup> kopier/ml	<b>HPV 82</b>	1 kopi/ml
HPV 53	2,5x10 <sup>6</sup> kopier/ml	HPV 85	2,5x10 <sup>6</sup> kopier/ml
HPV 54	2,5x10 <sup>6</sup> kopier/ml		

vp = viruspartikler

CFU = colony forming units (kolonidannende enheder)

TCID<sub>50</sub> = tissue culture infective dose (infektiv dosis i vævskultur) 50

**Bemærk:** Fed skrift angiver typer, hvor der blev observeret krydsreaktivitet (>5 % positivitet) under testning ved større koncentrationer end de, der er anført i tabellen.

Den analytiske sensitivitet af Aptima HPV Assay ved tilstedeværelse af mikroorganismer blev evalueret med det samme panel, som er beskrevet i Tabel 28, som også blev spiket med en lav koncentration HPV-inficerede SiHa-celler (1 celle pr. reaktion). Undersøgelsens kriterier for evaluering af effekten af tilstedeværelsen af mikroorganismer på analysens sensitivitet var baseret på positivitet. Aptima HPV Assay sensitivitet blev ikke påvirket af nogen af de testede organismer.

## Interferens

Stofferne, der beskrives i Tabel 29, blev enkeltvis spiket til PreservCyt-opløsning ved 1 % og 10 % v/v eller w/v fortyndet med STM og derefter testet med Aptima HPV Assay. Alle stoffer blev testet ved tilstedeværelse og fravær af HPV-inficerede dyrkede celler (SiHa, 3 celler/reaktion). Der blev observeret interferens med to af de syv smøremidler, som indeholdt polyquaternium 15, og et af de fem antimykotika, som indeholdt tioconazol. Der blev ikke observeret interferens med nogen af de andre testede stoffer.

**Table 29:** Stoffer testet for mulig interferens med Aptima HPV Assay

Produktkategori	Produktmærke eller -type	Højeste testede koncentration*, som ikke interfererede med analysepræstationen
<b>Smøremiddel</b>	KY Sensual Mist	10 % v/v
	KY Warming Jelly	10 % w/v
	KY Warming Liquid	10 % v/v
	CVS-mærket Personal Lubricant	10 % w/v
	Target-mærket Warming Massage Lotion and Personal Lubricant	10 % v/v
	Astroglide Personal Lubricant	0,3 % w/v (0,075 % w/v testprøve)
	Target-mærket Lubricating Liquid	0,1 % v/v (0,025 % v/v testprøve)
<b>Sæddræbende middel</b>	Gynol II Vaginal Contraceptive Original Formula	10 % w/v
	Gynol II Vaginal Contraceptive Extra Strength	10 % w/v
	Delfen Vaginal Contraceptive Foam	10 % w/v
	Encare Vaginal Contraceptive	10 % w/v
	Conceptrol Vaginal Contraceptive	10 % w/v
<b>Anti-svampe-/ anti-kløemedicin</b>	Vagisil Maximum Strength	10 % w/v
	Monistat Soothing Care	10 % w/v
	Monistat 3 kombipakke	10 % w/v
	Target-mærket Tioconazole 1	0,3 % w/v (0,075 % w/v testprøve)
	Target-mærket Miconazole 3	10 % w/v
<b>Iseddikesyre</b>	EMD M/N AX0073-11	10 % v/v
<b>Fuldblod</b>	fuldblod	10 % v/v

\*Personlige smøremidler, der indeholder polyquaternium 15.



## Panther Systems forventede resultater: Prævalens af højrisiko-HPV mRNA

Prævalensen af infektion med højrisiko-HPV varierer betydeligt og er påvirket af adskillige faktorer, af hvilke alder er den vigtigste.<sup>32,33</sup> Mange studier har undersøgt HPV-prævalens som bestemt ved detektion af HPV DNA, men få studier rapporterer prævalensen baseret på detektion af HPV-onkogen mRNA. Kvinder fra mange forskellige klinikker (n=18), der dækkede et bredt geografisk område og en forskelligartet population (10 stater i USA), blev tilmeldt en prospektiv klinisk undersøgelse ved navn CLEAR-forsøget.<sup>34</sup> Som bestemt af Aptima HPV Assay på Panther System blev prævalensen af HPV mRNA-positive prøver, der er observeret i dette kliniske forsøg, kategoriseret generelt efter aldersgruppe og teststed. Resultaterne er vist i Tabel 30 for populationer med ASC-US (atypiske pladeceller af ubestemt betydning) og NILM (negative for intraepitelial læsion eller malignitet).

**Tabel 30:** Prævalens af højrisiko-HPV mRNA efter aldersgruppe, teststed og alle kombineret

	Positivitetsrate % (x/n)	
	ASC-US-population (≥ 21 år)	NILM-population (≥ 30 år)
<b>Alle</b>	42,3 (404/956)	4,7 (512/10.860)
<b>Aldersgruppe (år)</b>		
<b>21 til 29</b>	60,0 (251/418)	Ikke relevant
<b>30 til 39</b>	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
<b>≥ 40</b>	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
<b>Teststed</b>		
<b>1</b>	41,5 (134/323)	3,7 (304/8286)
<b>2</b>	43,1 (137/318)	9,2 (118/1285)
<b>3</b>	42,2 (133/315)	7,0 (90/1289)

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

Aptima HPV Assay på Panther systemet blev evalueret ved brug af residuale cytologiske henvisningsprøver udtaget fra samtykkende kvinder under det amerikanske prospektiv, multicenter forsøg kaldet CLEAR-undersøgelsen.<sup>34</sup>

### CLEAR uundersøgelsen – Baseline-evaluering

CLEAR undersøgelsen – Baseline-evaluering CLEAR-undersøgelsen blev udført for at bestemme den kliniske præstation af Aptima HPV Assay på Tigris DTS Systemet til detektion af cervikal intraepitelial neoplasia grad 2 eller mere alvorlig cervikal sygdom ( $\geq$ CIN2). CLEAR-undersøgelsen inkluderede en baseline-evaluering og en opfølgende evaluering efter 3 år. Kvinderne deltog enten ASC-US-undersøgelsen eller NILM-undersøgelsen afhængigt af cytologiske resultater af rutinemæssig screening for livmoderhalskræft. ASC-US undersøgelsespopulationen inkluderede kvinder i alderen 21 år og over med cytologiske ASC-US resultater, og NILM undersøgelsespopulationen inkluderede kvinder på eller over 30 år med cytologiske NILM resultater. NILM-undersøgelsen blev udarbejdet for at understøtte det ekstra krav om screening for kvinder på 30 år eller ældre, da kvinder i denne aldersgruppe med cytologiretultater, der er højere end ASC-US, skal fortsætte til kolposkopi uanset deres HPV-status.<sup>35</sup>

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

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

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

Sygdomsstatus blev bestemt på grundlag af Konsensus fra et histologisk evalueringsudvalg baseret på overensstemmelse mellem mindst 2 patologer med ekspertviden. Disse patologer havde ikke kendskab til kvindernes HPV- status og ej heller til deres indbyrdes histologiske diagnoser. Hvis de 3 patologer var uenige, gennemgik alle 3 patologer objektglassene under et mikroskop med flere hoveder for at opnå konsensus. Investigatorer, klinikere og kvinderne blev holdt ubevidste om resultaterne af HPV-testen, indtil efter den fuldførte

kolposkopikonsultation for at undgå bias. Klinisk præstation af Aptima HPV Assay ved baseline til detektion af  $\geq$ CIN2 og cervikal intraepitelial neoplasi grad 3 eller mere alvorlig cervikal sygdom ( $\geq$ CIN3) blev bestemt. Den kliniske præstation af Aptima HPV Assay blev også bestemt i direkte sammenligning med kommercielt tilgængelige HPV DNA-test.

### CLEAR-forsøget – Opfølgende evaluering

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

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

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

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

## Panther Systems analysepræstation

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

Der var i alt tilmeldt 1252 kvinder på 21 år eller ældre med ASC-US-cytologieresultater til ASC-US-undersøgelsen. Af disse blev 294 kvinder trukket tilbage. De resterende 958 kvinder var kvalificerede til testning på Panther System. To kvinder manglede prøver, og 19 havde ubestemte sygdomsdiagnoser. Alle blev ekskluderet fra analyse. De resterende 937 evaluerbare kvinder var 21 år og ældre med ASC-US-cytologieresultater, Aptima HPV Assay resultater på Panther System og konklusiv sygdomsstatus. Enoghalvfems (91) kvinder havde ≥CIN2 og enogfyrre (41) havde ≥CIN3. Prævalens af ≥CIN2 og ≥CIN3 hos evaluerbare kvinder med cytologiske ASC-US-resultater var hhv. 9,7 % og 4,4 %. Resultaterne af Aptima HPV Assay ifølge konsensus fra histologisk evalueringspanel er vist i diagnoser i Tabel 31.

**Tabel 31:** ASC-US ≥ 21 års population: Resultaterne af Aptima HPV Assay ifølge diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel

Aptima HPV Assay resultat*	HPV DNA-test	Diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel						
		Ubestemt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	I alt
Positiv	Positiv	6	178	110	40	32	1	367
Positiv	Negativ	0	5	2	0	2	0	9
Positiv	Intet resultat***	0	15	11	0	2	0	28
Negativ	Positiv	0	39	15	3	3	0	60
Negativ	Negativ	10	372	53	7	1	0	443
Negativ	Intet resultat***	3	39	7	0	0	0	49
<b>I alt</b>		19	648	198	50	40	1****	956

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

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

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

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

Estimater for klinisk præstation for Aptima HPV Assay, der indeholder sensitivitet, specificitet, positiv prædiktiv værdi (PPV) og negativ prædiktiv værdi (NPV) til detektion af ≥CIN2 og ≥CIN3 baseret på evaluering af alle biopsier og kun indeholdende vejledte biopsier, er vist i Tabel 32 sammen med estimaterne for den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test.

**Tabel 32:** ASC-US ≥ 21 års population: Præstation af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test til detektion af ≥CIN2 og ≥CIN3

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

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

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

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

Af de 91  $\geq$ CIN2-tilfælde blev 60 (65,9 %) identificeret i vejledte biopsier og 31 (34,1 %) blev identificeret fra vilkårlige og/eller ECC-biopsier (dvs ikke i vejledte biopsier). Disse fund er sammenlignelige med resultater fra offentliggjorte undersøgelser, hvor ca. 25-40 % af  $\geq$ CIN2-tilfældene kun blev identificeret fra vilkårlige og/eller ECC-biopsiprøver.<sup>36,37</sup> Kun med brug af vejledte biopsier til at bestemme sygdomsstatus (under forudsætning af, at kvinder uden vejledte biopsier havde normale histologiresultater, fordi der ikke var synlige læsioner til stede) var prævalensen af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 i undersøgelsen henholdsvis 6,4 % og 3,1 %. Estimaterne af klinisk sensitivitet til detektion af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 var højere for begge test med brug udelukkende af vejledte biopsier end estimaterne, der blev beregnet vha. alle biopsier. For begge analyser var klinisk specificitet med brug udelukkende af vejledte biopsier den samme som den specificitet, der blev opnået med alle biopsier inkluderet. Ved brug udelukkende af vejledte biopsier var Aptima HPV Assay specificitet følgelig signifikant højere end specificiteten i den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test.

Estimater af klinisk præstation for Aptima HPV Assay og den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test vises efter aldersgruppe i Tabel 33 og Tabel 34 (henholdsvis  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 baseret på evaluering af alle biopsier).

**Table 33:** ASC-US ≥ 21 års population: Præstation af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test til detektion af ≥CIN2 efter aldersgruppe

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

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

**Table 34:** ASC-US ≥ 21 års population: Præstation af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test til detektion af ≥CIN3 efter aldersgruppe

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

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



Den absolutte sygdomsrisiko ( $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 baseret på evaluering af alle biopsier) efter Aptima HPV Assay resultater og den relative sygdomsrisiko for positive versus negative Aptima HPV Assay resultater vises i Tabel 35 sammen med estimerne for den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test. Den relative risiko for  $\geq$ CIN2 var 7,4 (95 % CI: 4,3, 13,0), hvilket angiver, at en kvinde, der fik et positivt Aptima HPV Assay resultat, har 7,4 gange så stor sandsynlighed for at have  $\geq$ CIN2 som en kvinde med et negativt Aptima HPV Assay resultat. Den relative risiko for  $\geq$ CIN3 var 12,5 (95 % CI: 4,5, 34,9).

**Tabel 35:** ASC-US  $\geq$  21 års population: Absolutte og relative risici for  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 for resultater af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test

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

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

Estimater for absolutte og relative sygdomsrisici ( $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 baseret på evaluering af alle biopsier) for Aptima HPV Assay og den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test vises efter aldersgruppe i Tabel 36.

**Tabel 36:** ASC-US  $\geq$  21 års population: Absolutte og relative risici for  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 for resultater af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test efter aldersgruppe

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

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

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

Der var i alt tilmeldt 11.644 kvinder med NILM-cytologiresultater i NILM-undersøgelsen. Af disse blev 773 kvinder trukket tilbage. De resterende 10.871 kvinder var kvalificerede til testning på Panther System. Elleve kvinder manglede prøver og blev ekskluderet fra baseline-evalueringen af Aptima HPV Assay på Panther Systemet. De resterende 10.860 evaluerbare kvinder var 30 år og ældre med NILM-cytologiresultater og Aptima HPV Assay resultater på Panther System. Af de 512 kvinder med positive Aptima HPV Assay resultater på Panther System fik 284 foretaget kolposkopi ved baseline. Af de 10.348 kvinder med negative Aptima HPV Assay resultater fik 580 foretaget kolposkopi ved baseline. Tyve (20) kvinder havde ≥CIN2 og elleve (11) havde ≥CIN3. 798 kvinder havde normal/CIN1-histologi. 46 kvinder havde ubestemt sygdomsstatus. Resultaterne af Aptima HPV Assay på Panther Systemet ifølge diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel ved baseline er vist i Tabel 37.

**Tabel 37:** NILM ≥ 30 års population: Resultaterne af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test ifølge diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel ved baseline

Aptima HPV Assay resultat*	HPV DNA-test	Diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel						
		Ubestemt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	I alt
Positiv	Positiv	11	211	12	4	7	2	247
Positiv	Negativ	2	19	0	0	0	1	22
Positiv	Intet resultat***	2	12	1	0	0	0	15
Negativ	Positiv	10	170	7	2	1	0	190
Negativ	Negativ	20	353	9	2	0	0	384
Negativ	Intet resultat***	1	4	0	1	0	0	6
<b>I alt</b>		46	769	29	9	8	3****	864

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

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

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

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

I alt havde 10.042 kvinder ikke-verificeret (inklusive ikke-fastlagt) sygdomsstatus ved baseline (Tabel 38). Fordi kun vilkårligt udvalgte kvinder med negative resultater for både Aptima HPV Assay på Tigris DTS System og den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test blev henvist til kolposkopi, var proportionen af kvinder med ikke-verificeret sygdomsstatus høj i denne gruppe (96,6 %). For at justere for denne verificeringsbias anvendtes der multipel imputation til at estimere antallet af kvinder med sygdom, der ville være blevet identificeret, hvis alle kvinder havde fået foretaget kolposkopi. Såvel de justerede præstationsestimater for verifikationsbias og de ikke-justerede præstationsestimater baseret på de 818 kvinder med verificeret sygdomsstatus ved baseline er vist.

**Tabel 38:** NILM  $\geq$  30 års population: Klassifikation af evaluerbare NILM-kvinder ifølge Aptima HPV Assay og HPV DNA-testresultater, sygdomsstatus ( $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3) og verifikation af sygdomsstatus

Aptima HPV Assay resultat*		HPV DNA-test	Kvinder i alt	Verificeret sygdomsstatus: $\geq$ CIN2		Verificeret sygdomsstatus: $\geq$ CIN3		Ikke-verificeret sygdomsstatus
Panther System	Tigris DTS-system			Sygdomsramte kvinder ( $\geq$ CIN2)	Ikke-sygdomsramte kvinder ( $<$ CIN2)	Sygdomsramte kvinder ( $\geq$ CIN3)	Ikke-sygdomsramte kvinder ( $<$ CIN3)	Kvinder med ukendt sygdomsstatus (% ukendt)
Positiv	Positiv	Positiv	313	13	189	9	193	111 (35,5 %)
Positiv	Positiv	Negativ	37	1	18	1	18	18 (48,6 %)
Positiv	Positiv	Intet resultat**	22	0	13	0	13	9 (40,9 %)
Positiv	Negativ	Positiv	70	0	34	0	34	36 (51,4 %)
Positiv	Negativ	Negativ	60	0	1	0	1	59 (98,3 %)
Positiv	Negativ	Intet resultat**	10	0	0	0	0	10 (100 %)
Negativ	Positiv	Positiv	46	0	33	0	33	13 (28,3 %)
Negativ	Positiv	Negativ	113	1	41	0	42	71 (62,8 %)
Negativ	Positiv	Intet resultat**	8	0	4	0	4	4 (50,0 %)
Negativ	Negativ	Positiv	236	3	144	1	146	89 (37,7 %)
Negativ	Negativ	Negativ	9354	1	321	0	322	9032 (96,6 %)
Negativ	Negativ	Intet resultat**	591	1	0	0	1	590 (99,8 %)
I alt			10.860	20	798	11	807	10.042 (92,5 %)

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

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

Den justerede prævalens af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 hos kvinder med cytologiske NILM-resultater var hhv. 0,9 % og 0,4 %. Estimer for justerede absolutte og relative risici til detektion af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 ved baseline vises i Tabel 39. Den justerede relative risiko for  $\geq$ CIN2 var 7,5 (95 % CI: 2,1, 26,3), hvilket angiver, at en kvinde, der får et positivt Aptima HPV Assay resultat, har 7,5 gange så stor sandsynlighed for at have  $\geq$ CIN2 som en kvinde med et negativt Aptima HPV Assay resultat. Den justerede relative risiko for  $\geq$ CIN3 var 24,9 (95 % CI: 2,0, 307,0). Estimer for ikke-justerede absolutte og relative risici til detektion af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 ved baseline vises generelt i Tabel 40 og efter aldersgruppe i Tabel 41.

**Tabel 39:** NILM  $\geq$  30 års population: Absolutte og relative risici for  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 for resultater af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test (justerede estimer for verifikationsbias) ved baseline

	Analyseresultat	Aptima HPV Assay		HPV DNA-test	
		Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
$\geq$ CIN2	Positiv	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negativ	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prævalens (%)	0,9		0,9	
$\geq$ CIN3	Positiv	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negativ	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prævalens (%)	0,4		0,4	

**Tabel 40:** NILM  $\geq$  30 års population: Absolutte og relative risici for  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 for resultater af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test (ikke-justerede estimer) ved baseline

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

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

**Table 41:** NILM ≥ 30 års population: Absolutte og relative risici for ≥CIN2 og ≥CIN3 for resultater af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test efter aldersgruppe (ikke-justerede estimater) ved baseline

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

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

Estimater for justeret klinisk præstation for Aptima HPV Assay, der indeholder sensitivitet, specificitet, PPV og NPV til detektion af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 ved baseline, er vist i Tabel 42 sammen med estimerne for den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test. Estimer for ikke-justeret klinisk præstation er vist i Tabel 43. Aptima HPV Assay og den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test havde ens sensitivitet, hvorimod specificiteten var signifikant højere for Aptima HPV Assay (ikke-overlappende 95 % CI'er). Estimer for prædiktive værdier for Aptima HPV Assay var klinisk relevante og svarede til estimerne for den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test. NPV'er var ens, men til detektion af  $\geq$ CIN2 var PPV for Aptima HPV Assay lidt højere end PPV for den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test (4,5 % vs 3,7 %).

**Tabel 42:** NILM  $\geq$  30 års population: Præstation af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test til detektion af  $\geq$ CIN2 og  $\geq$ CIN3 (justerede estimer for verifikationsbias) ved baseline

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

**Table 43:** NILM ≥ 30 års population: Præstation af Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test til detektion af ≥CIN2 og ≥CIN3 (ikke-justerede estimater) ved baseline

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

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



Direkte sammenligning mellem Aptima HPV Assay på Panther systemet og den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test samme sensitivitet og statistisk signifikant forbedret specificitet for Aptima HPV Assay over den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test til detektion af  $\geq$ CIN2 som vist af forholdet mellem sande positive og falske positive frekvenser (Tabel 44 og Tabel 45 henholdsvis).

**Tabel 44:** NILM  $\geq$  30 års population: Forhold mellem sande positive frekvenser (Aptima HPV Assay/ HPV DNA-test) for kvinder med  $\geq$ CIN2 (ikke-justerede estimater) ved baseline

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

**Tabel 45:** NILM  $\geq$  30 års population: Forhold mellem falske positive frekvenser (Aptima HPV Assay/ HPV DNA-test) for kvinder med  $<$ CIN2 (ikke-justerede estimater) ved baseline

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

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

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

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

Assay og en kommercielt tilgængelig HPV DNA-analyse og sygdomsstatussen efter 3 år (inkluderer baseline- and opfølgningsevaluering) ifølge Konsensus fra histologisk evalueringspanel vises i Tabel 46.

**Tabel 46:** NILM  $\geq$  30 års population: Klassificering af kvinder kvalificeret til opfølgningsfasen ved baseline Aptima HPV Assay resultater, baseline HPV-DNA testresultater og sygdomsstatus ( $\geq$  CIN2,  $\geq$  CIN3, ubekræftet) bestemt ved baseline og opfølgningsfaserne

Aptima HPV Assay resultat	HPV-DNA test	Kvinder i alt	Bekræftet sygdomsstatus: $\geq$ CIN2		Bekræftet sygdomsstatus: $\geq$ CIN3		Ubekræftet sygdomsstatus	
			Sygdomsramte kvinder ( $\geq$ CIN2)	Ikke sygdomsramte kvinder ( $<$ CIN2)	Sygdomsramte kvinder ( $\geq$ CIN3)	Ikke sygdomsramte kvinder ( $<$ CIN3)	Tabt for opfølgning	Ubestemt*
Positiv	Positiv	382	23	171	16	178	167	21
Positiv	Negativ	97	1	48	1	48	44	4
Positiv	Intet resultat**	32	2	10	1	11	17	3
Negativ	Positiv	281	5	129	2	132	130	17
Negativ	Negativ	9.452	15	5.476	3	5.488	3.756	205
Negativ	Intet resultat**	599	1	320	0	321	264	14
<b>Total</b>		10.843	47	6.154	23	6.178	4.378	264

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

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

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

De kumulative estimater af absolut og relativ risiko til detektering af  $\geq$  CIN2 og  $\geq$  CIN3 er vist i Tabel 47.

**Table 47:** NILM ≥ 30 års population: Kumulativ absolut og relativ risiko\* for ≥ CIN2 og ≥ CIN3 efter 3 år for resultater af Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test ved baseline

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

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

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

### Klinisk præstation af Aptima HPV Assay med SurePath væskebaserede cytologiprøver

Der blev indsamlet SurePath væskebaserede cytologiprøver fra canadiske kvinder (n=558), som blev henvist til opfølgning på grund af en eller flere unormale Pap-test, en HPV-infektion eller anden årsag. Der blev overført en afmålt portion (0,5 ml) af hver prøve til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel, og den portion blev derefter behandlet med Aptima-overførselsopløsning. Et enkelt replikat af hver prøve blev testet med Aptima HPV Assay. Der blev fjernet en separat afmålt portion (1 ml) af hver prøve til evaluering med en kommercielt tilgængelig HPV PCR-test. Den kliniske sensitivitet til detektion af sygdom, defineret som et  $\geq$ CIN3-histologiresultat, blev beregnet for både Aptima HPV Assay og HPV PCR-testen, som vist i Tabel 48, med de positive og negative prædiktive værdier.

**Tabel 48:** Præstation af Aptima HPV Assay og en HPV PCR-test til detektion af  $\geq$ CIN3

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

## Præstation af Aptima HPV Assay med cervikale prøver, der er udtaget med prøveindsamlings- og transportkit

Højrisiko-HPV-positive og højrisiko-HPV-negative kliniske prøver, der blev indsamlet fra populationer via både screening (rutinekonsultation) og henvisning (kolposkopikonsultation) med Aptima CSCT-kittet, blev testet med Aptima HPV Assay på Panther- og Tigris DTS Systems med to reagenslot. Der vises overensstemmelse mellem Panther og Tigris DTS Systems for CSCT-prøver i Tabel 49.

For CSCT-prøverne var den samlede overensstemmelse mellem Panther- og Tigris DTS System > 98 % som vist i Tabel 49. Af de 632 kliniske prøver, der blev testet, var 69 CIN2+ og 38 CIN3+. Aptima HPV Assay sensitivitet til detektion af CIN2+ var 97,1 % (95 % C.I. 90,0 %-99,2 %) på Panther System og 98,6 % (95 % CI: 92,2-99,7) på Tigris DTS System. Sensitivitet til detektion af CIN3+ var 100 % (CI: 90,8 %-100 %) på både Panther- og Tigris DTS Systems.

**Tabel 49:** Overensstemmelse for Aptima HPV Assay resultater fra Aptima CSCT-prøver testet på Tigris DTS og Panther Systems

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

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

## Analytisk sensitivitet

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

Probit-analyseresultaterne i Tabel 50, viser, at HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 og 68 havde 95 % detektionsgrænser på mindre end 100 kopier/reaktion. Og type 52, 58 og 66 havde 95 % detektionsgrænser på mellem 100 og 500 kopier/reaktion. De fire testede cellelinjer havde 95 % detektionsgrænser på mindre end 1 celle/reaktion.

**Table 50:** Detektionsgrænsen ved det kliniske cutoff for Aptima HPV Assay

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

\*Kopier pr. reaktion for *in vitro* transkripter og celler pr. reaktion for cellelinjer

## Analysepræcision

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

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

Panelelementerne er beskrevet i Tabel 51a (panelelementer med forventede positive resultater) og Tabel 51b (panelelementer med forventede negative resultater) sammen med en oversigt over overensstemmelsen med forventede resultater og analyt-S/CO-værdier ved 2,5., 50. og 97,5. percentil af S/CO-fordelingen. Analyt-S/CO-variabiliteten for panelelementerne med forventede positive resultater er vist i Tabel 52 for undersøgelse 1 og Tabel 53 for undersøgelse 2.

**Table 51a:** Aptima HPV Assay præcisionsundersøgelse 1 og 2: Panelbeskrivelse, positiv overensstemmelse og percentilfordeling af analyt-S/CO-værdier for panelelementer med forventede positive resultater

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaktion)	Undersøgelse 1 (3 teststeder)	Undersøgelse 2 (1 teststed)
	% positiv overensstemmelse (95 % CI)	% positiv overensstemmelse (95 % CI)
HPV-højpositiv klinisk prøve 1	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
HPV-højpositiv klinisk prøve 2	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (1830 kopier)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,1, 100)
HPV 18 IVT (1550 kopier)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-lavpositiv klinisk prøve 1	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)
HPV-lavpositiv klinisk prøve 2	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
HPV-lavpositiv klinisk prøve 3	100 (108/108) (96,6, 100)	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)
HPV-lavpositiv klinisk prøve 4	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 16 IVT (183 kopier)	100 (102/102) (96,4, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (155 kopier)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (159/159) (97,6, 100)
MS751-celler (0,63 celler)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa-celler (0,35 celler)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (0,90 celler)	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)

IVT = *in vitro* transkript

\*Forventet % positiv overensstemmelse ~95 %; observeret lavere muligvis på grund af variabilitet i fremstilling for panelelementet.



**Table 51b:** Aptima HPV Assay precision study 1 and 2: Panel description, negative agreement and percent distribution of analyt-S/CO-values for panel elements with expected negative results

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaktion)	Undersøgelse 1 (3 teststeder)	Undersøgelse 2 (1 teststed)
	% negativ overensstemmelse (95 % CI)	% negativ overensstemmelse (95 % CI)
<b>MS751-celler (0,005 celler)</b>	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)
<b>SiHa-celler (0,008 celler)</b>	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
<b>HeLa-celler (0,02 celler)</b>	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)
<b>HPV-negativ klinisk prøve 1</b>	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
<b>HPV-negativ klinisk prøve 2</b>	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	100 (162/162) (97,7, 100)
<b>PreservCyt-opløsning 1</b>	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
<b>PreservCyt-opløsning 2</b>	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (161/161) (97,7, 100)

IVT = *in vitro* transkript

\*Forventet % negativ overensstemmelse > 75 % og < 100 %.

**Table 52:** Aptima HPV Assay præcisionsundersøgelse 1: Signalvariabilitet for panelelementer med forventede positive resultater

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaktion)	n	Middel S/CO	Instrumenter imellem		Operatører imellem		Lot imellem		Arbejdslistes imellem		Inden for arbejdslistes		I alt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV-højpositiv klinisk prøve 1	107*	29,34	0,00	0,0	0,00	0,0	1,43	4,9	1,87	6,4	1,49	5,1	2,79	9,5
HPV-højpositiv klinisk prøve 2	107*	30,09	0,55	1,8	0,00	0,0	1,06	3,5	0,73	2,4	2,21	7,3	2,61	8,7
HPV 16 IVT (1830 kopier)	107*	11,20	0,09	0,8	0,16	1,4	0,03	0,3	0,14	1,3	0,46	4,1	0,52	4,6
HPV 18 IVT (1550 kopier)	107*	14,89	0,18	1,2	0,00	0,0	0,20	1,3	0,14	0,9	1,53	10,3	1,56	10,5
HPV-lavpositiv klinisk prøve 1	107*	8,24	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,23	39,2	3,23	39,2
HPV-lavpositiv klinisk prøve 2	108	7,07	0,00	0,0	0,41	5,8	0,00	0,0	0,00	0,0	4,57	64,7	4,59	65,0
HPV-lavpositiv klinisk prøve 3	108	10,23	0,26	2,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,32	12,9	3,23	31,6	3,49	34,2
HPV-lavpositiv klinisk prøve 4	108	4,68	0,50	10,7	0,20	4,2	0,00	0,0	0,99	21,1	3,02	64,6	3,22	68,9
HPV 16 IVT (183 kopier)	102*	11,09	0,08	0,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	2,3	0,54	4,9	0,61	5,5
HPV 18 IVT (155 kopier)	108	11,78	0,00	0,0	0,43	3,7	0,00	0,0	1,12	9,5	1,97	16,7	2,30	19,6
MS751-celler (0,63 celler)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
HeLa-celler (0,35 celler)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
SiHa-celler (0,90 celler)	107*	7,74	0,37	4,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,85	49,8	3,87	50,1

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

CV = variationskoefficient. IVT = *in vitro* transkript. SD = standardafvigelse

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

**Table 53:** Aptima HPV Assay præcisionsundersøgelse 2: Signalvariabilitet for panelelementer med forventede positive resultater

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaktion)	n	Middel S/CO	Instrumenter imellem		Operatører imellem		Lot imellem		Arbejdslister imellem		Inden for arbejdslister		I alt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV-højpositiv klinisk prøve 1	161*	26,81	0,75	2,8	0,00	0,0	0,91	3,4	0,48	1,8	1,84	6,9	2,24	8,3
HPV-højpositiv klinisk prøve 2	162	28,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,96	3,3	0,65	2,3	2,35	8,2	2,62	9,1
HPV 16 IVT (1830 kopier)	161*	11,07	0,14	1,2	0,00	0,0	0,05	0,5	0,16	1,4	0,32	2,9	0,39	3,5
HPV 18 IVT (1550 kopier)	162	13,34	0,14	1,1	0,12	0,9	1,00	7,5	0,31	2,3	0,75	5,6	1,31	9,8
HPV-lavpositiv klinisk prøve 1	162	7,57	0,56	7,5	0,55	7,3	0,63	8,3	0,00	0,0	3,61	47,7	3,75	49,5
HPV-lavpositiv klinisk prøve 2	162	7,59	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	5,25	69,2	5,25	69,2
HPV-lavpositiv klinisk prøve 3	161*	8,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	3,0	0,00	0,0	3,48	39,4	3,49	39,5
HPV-lavpositiv klinisk prøve 4	162	4,95	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	15,2	0,00	0,0	3,35	67,6	3,43	69,3
HPV 16 IVT (183 kopier)	162	11,02	0,13	1,2	0,11	1,0	0,12	1,1	0,13	1,2	0,54	4,9	0,59	5,4
HPV 18 IVT (155 kopier)	159*	11,40	0,16	1,4	0,17	1,5	1,21	10,6	0,23	2,0	1,17	10,3	1,72	15,0
MS751-celler (0,63 celler)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
HeLa-celler (0,35 celler)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
SiHa-celler (0,90 celler)	162	7,30	0,32	4,3	0,00	0,0	0,93	12,7	1,04	14,3	3,49	47,8	3,77	51,7

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

CV = variationskoefficient. IVT = *in vitro* transkript. SD = standardafvigelse

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

## Krydsreaktivitet

Testning med potentielt krydsreaktive organismer for Aptima HPV Assay blev udført ved brug af Tigris DTS System. Der henvises til *Krydsreaktivitet* (Tabel 28) i afsnittet om Tigris DTS System for resultater.

## Interferens

Testning med potentielt interfererende stoffer for Aptima HPV Assay blev udført med Tigris DTS System. Der henvises til *Interferens* (Tabel 29) i afsnittet om Tigris DTS System for resultater.

## Bibliografi

1. **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.
2. **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.
3. **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.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond).* **110(5)**:525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* **16(1)**:1-17.
6. **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.
7. **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.
8. **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.
9. **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.
10. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol.* **32 Suppl 1**:S16-24.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2010; 20(8):1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology.* 2011; 49(2):557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer.* 2011;129:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology.* 2012;125:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2013;23(3):513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer.* 2013;108:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, Lyng E.** Prevalence of human papillomavirus infection in unselected SurePath samples using the APTIMA HPV mRNA assay. *The Journal of Molecular Diagnostics:*2013;15(5):670-7.
18. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lyng E.** A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer.* 2015;51:1456-66.
19. **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.
20. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlaberg R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods.* 2015;221:95-9.
21. **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.
22. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lyng E.** Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above. *PLoS One.* 2016 Jan 20;11(1):e0147326.
23. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lyng E.** A daunting challenge: Human Papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30years. *Eur J Cancer.* 2015 Jul;51(11):1456-66.
24. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
25. **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.
26. **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.

27. **Clad, A., M. Reuschenbach, J. Weischenk, R. Grote, J. Rahmsdorf, and N. Freudenberg.** Performance of the Aptima high-risk HPV mRNA assay in a referral population in comparison with Hybrid Capture 2 and cytology. 2010. *J Clin Microbiol*, n/a. doi: 10.1128/JCM.01674-10.
28. **Ratnam S., F. Coutless, D. Fontaine, J. Bentley, N. Escott, P. Ghatage, G. Holloway, E. Bartellas, N. Kum, and A. Lear.** 2008. Clinical Correlations of Aptima HPV E6/E7 mRNA Test in Cervical Cancer Screening: Preliminary Results from a Multicentre Candian Study. Presented at EUROGIN 2008, November 12-15, 2008, Scientific Communication SS **8-6**.
29. **Szarewski A., L. Ambroisine, L. Cadman, J. Austin, L. Ho, G. Terry, S. Little, R. Dina, J. McCarthy, H. Buckley, C. Bergeron, P. Soutter, D. Lyons, and J. Cuzick.** 2008. Comparison of predictors for High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia in Women with Abnormal Smears. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **17(11)**, November.
30. **Castle P.E., J. Dockter, C. Giachetti, F.A.R. Garcia, M. McCormick, A.L.Mitchell, E.B. Holladay, and D.P. Kolk.** 2007. A Cross-sectional Study of a Prototype Carcinogenic Human Papillomavirus E6/E7 Messenger RNA Assay for Detection of Cervical Pre-cancer and Cancer. *Clin Cancer Res.* **13(9)**. 2599.
31. **Monsonogo J., M.G. Hudgens, L. Zerat, J.C. Zerat, K. Syrjänen, P. Halfon, F. Ruiz, and J.S. Smith.** 2010. Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid based cytology in primary cervical cancer screening (The FASE study). *Int J Cancer.* n/a. doi 10.1002/ijc.25726.
32. **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.
33. **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.
34. **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.
35. **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.
36. **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.
37. **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.



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

Kundesupport: +1 800-442-9892  
customersupport@hologic.com

Teknisk rådgivning: +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com



**Emergo Europe**  
Prinsessegracht 20  
2514 AP The Hague  
The Netherlands



For yderligere kontaktoplysninger henvises til [www.hologic.com](http://www.hologic.com).

Dette produkt er kun beregnet til anvendelse i feltet human *in vitro* diagnostik.

Hologic, Aptima, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep, og Tigris er varemærker og/eller registrerede varemærker, der tilhører Hologic, Inc. og/eller deres datterselskaber i USA og/eller andre lande.

eppendorf (stiliseret) og REPEATER er varemærker, der tilhører Eppendorf AG.

RAININ er et varemærke, der tilhører Rainin Instruments, LLC.

TECAN og FREEDOM EVO er varemærker, der tilhører Tecan Group AG.

SUREPATH og PREPSTAIN er varemærker, der tilhører TriPath Imaging, Inc.

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

© 2007-2017 Hologic, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.  
AW-14517-1901 Rev. 004

2017-10