

Aptima HPV Assay

Til bruk ved *in vitro*-diagnose.

Kun til eksport fra USA.

| | |
|--|-----------|
| Allmenn informasjon | 2 |
| Beregnet bruk | 2 |
| Oppsummering og forklaring på testen | 2 |
| Prinsipper for prosedyren | 3 |
| Advarsler og forholdsregler | 4 |
| Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser | 6 |
| Oppsamling og oppbevaring av prøver | 7 |
| Kvalitetskontrollprosedyrer | 21 |
| Testtolking | 22 |
| Begrensninger | 23 |
| Forventede resultater for Tigris DTS System: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA | 25 |
| Oppsett for klinisk studie av Aptima HPV Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver | 26 |
| Analyseytelse for Tigris DTS System | 28 |
| Forventede resultater for Panther System: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA | 57 |
| Oppsett for klinisk studie av Aptima HPV Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver | 58 |
| Analyseytelse for Panther System | 60 |
| Bibliografi | 84 |

Tigris™ DTS System

| | |
|---|-----------|
| Tigris DTS System | 9 |
| Reagenser og materialer som følger med | 9 |
| Materialer som er nødvendige, men leveres separat ... | 10 |
| Valgfrie materialer | 11 |
| Testprosedyre for Tigris DTS System | 11 |
| Prosedyremerknader | 13 |

Panther™ System

| | |
|---|-----------|
| Panther System | 15 |
| Reagenser og materialer som følger med | 15 |
| Materialer som er nødvendige, men leveres separat ... | 16 |
| Valgfrie materialer | 16 |
| Testprosedyre for Panther System | 17 |
| Prosedyremerknader | 19 |

Allmenn informasjon

Beregnet bruk

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

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

Prøver fra livmorhalsen oppsamlet i ThinPrep™ celleprøveampuller som inneholder PreservCyt™-løsning, kan testes med Aptima HPV assay enten før eller etter celleprøvebehandlingen, samt prøver fra livmorhalsen, oppsamlet med Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver. Analysen kan brukes til å teste disse prøvetypene med enten Direct Tube Sampling (DTS) System, Tigris DTS System eller Panther System. Prøver fra livmorhalsen oppsamlet i SurePath konserveringsvæske kan testes med Aptima HPV assay på Tigris DTS System og Panther System.

Oppsummering og forklaring på testen

Livmorhalskreft er en av de mest vanlige kvinnelige krefttypene i verden. HPV er den etiologiske agensen som er ansvarlig for over 99 % av alle tilfeller av livmorhalskreft.^{1, 2, 3} HPV er et vanlig seksuelt overførbart DNA-virus som består av over 100 genotyper.⁴

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

Fjorten HPV-genotyper regnes for å være patogene eller som høyrisiko for livmorhals sykdom.⁷ Flere studier har knyttet genotypene 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 og 68 til sykdomsutvikling.^{2, 5, 8} Pasienter som har en vedvarende infeksjon med en av disse typene, har økt risiko for å utvikle alvorlig dysplasi eller livmorhalskreft.^{7, 9}

HPV-infeksjoner er svært vanlig, og de fleste kvinner blir kvitt HPV-infeksjon i løpet av 6 til 12 måneder.^{8, 10} Tilstedeværelsen av HPV-nukleinsyre betyr ikke nødvendigvis at det finnes dysplasi eller kreft i livmorhalsen. Imidlertid er en effektiv metode for deteksjon av sykdom i livmorhalsen å fokusere på de onkogeniske elementene i HPV som foster persistent virusinfeksjon og celletransformasjon.³

Aptima HPV Assay klinisk ytelse i primær screening av livmorhalskreft

Den kliniske ytelsen til Aptima HPV assay ved bruk i en primær screeningmodalitet har blitt undersøkt i flere studier av uavhengige utprøvere. Tretten gjennomarbeidede publikasjoner^{11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23} fra ti separate kliniske studier rapporterer ytelsen til Aptima HPV i primær screening hos kvinner som er opptatt i ni land (Kina, Canada, Frankrike, Mexico, England, Danmark, Nederland, USA og Tyskland). Data fra disse studiene viser at Aptima HPV har lignende klinisk ytelse i sammenligning med andre klinisk validerte HPV-tester ved bruk til primær screening for forstadier av livmorhalskreft og livmorhalskreft.

Prinsipper for prosedyren

Aptima HPV assay involverer tre hovedtrinn, som finner sted i ett enkelt rør: målinnfanging, mål-amplifisering med transkripsjonsmediert amplifikasjon (Transcription-Mediated Amplification, TMA),²⁴ og deteksjon av amplifikasjonsproduktene (amplikon) med hybridiseringsvernanalyse (Hybridization Protection Assay, HPA).²⁵ Analysen innbefatter en internkontroll (Internal Control, IC) for å overvåke innfanging, amplifisering og deteksjon av nukleinsyre så vel som operatør- eller instrumentfeil.

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

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

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

IC (Internal Control – internkontroll) legges til hver reaksjon via målinnfangingsreagensen. Internkontrollen overvåker trinnene for målinnfanging, -amplifisering og -deteksjon i analysen. Signalet for internkontrollen i hver reaksjon skjernes fra HPV-signalet gjennom differensialkinetikk av lysemisjoner fra prober med forskjellige etiketter.²⁶ Amplikon som er spesifikt for internkontrollen detekteres ved bruk av en probe med rask emisjon av lys (flasher). Amplikonet som er spesifikt for HPV detekteres med prober med relativt langsommere lysemisjonskinetikk (glower). Dobbel kinetisk analyse (Dual Kinetic Assay, DKA) er en metode som brukes til å differensiere mellom signaler fra flasher- og glower-etikettene.²⁶

Advarsler og forholdsregler

- A. Til bruk ved *in vitro*-diagnose.
- B. For ytterligere spesifikke advarsler og forholdsregler, se brukerhåndboken for Tigris DTS System og brukerhåndboken for Panther System.

Laboratorierelatert

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



Prøverelatert

- G. Oppretthold riktige temperaturforhold under prøvetransport og -oppbevaring for å sikre prøvens integritet. Prøvestabiliteten har ikke blitt evaluert under andre transport- og oppbevaringsforhold enn de som er anbefalt.
- H. Utløpsdatoene på prøveoppsamling/overføringssettene og rørene gjelder oppsamlings-/overførings-stedet og ikke testingsinstitusjonen. Prøver som er oppsamlet/overført før disse utløpsdatoene er gyldige for testing, forutsatt at de har blitt transportert og oppbevart i samsvar med det aktuelle pakningsvedlegget, selv om disse utløpsdatoene er passert.
- I. Prøver kan være smittsomme. Bruk generelle forholdsregler ved utførelsen av denne analysen. Riktig håndterings- og avhendingsmetoder skal opprettes av laboratorielederen. Bare personell som har tilfredsstillende opplæring i håndtering av smittsomt materiale skal ha tillatelse til å utføre denne prosedyren.
- J. Unngå krysskontaminasjon under håndteringen av prøven. Sørg for at prøvebeholderne ikke kommer i kontakt med hverandre, og kast brukt materiale slik at det ikke holdes/føres over åpne beholdere. Bytt hansker hvis de kommer i kontakt med prøven.
- K. Ved gjennomhulling under visse forhold kan væske komme ut av rørhettene. Se *Testprosedyre for Tigris DTS System* eller *Testprosedyre for Panther DTS System* for mer informasjon.
- L. ThinPrep flytende cytologiprøver og livmorhalsprøver oppsamlet for transport (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) skal ikke brukes hvis en oppsamlingsenhet ligger igjen i prøverøret.
- M. SurePath flytende cytologiprøver skal ikke brukes hvis det ikke finnes en oppsamlingsenhet i ampullen.

Analyserelatert

- N. Oppbevar reagensene ved angitte temperaturer. Utførelsen av analysen kan bli påvirket ved feil oppbevaring av reagenser.
- O. Unngå mikrobisk og ribonuklease-kontaminering av reagenser.
- P. Ikke bruk settet etter utløpsdatoen.
- Q. Ikke veksle, bland eller kombiner analysereagenser eller kalibratorer fra sett med forskjellig partinummer.
- R. Aptima analysevæsker, Aptima Auto Detect-reagenser, Aptima System væskekonserveringsmiddel (kun Tigris DTS System) og Aptima HPV assay-kontroller (kun Tigris DTS System) er ikke en del av hovedpartiet. Ethvert parti kan brukes.
- S. Det er nødvendig å blande analysereagensene grundig for å få nøyaktige analyseresultater.
- T. Spisser med vannavvisende pluggen må brukes.
- U. Noen av reagensene i dette settet er merket med risiko- og sikkerhetssymboler.

Merk: Kommunikasjonen av farer gjenspeiler EU-klassifiseringene for sikkerhetsdatablader (SDS). For informasjon om kommunikasjon av farer som gjelder spesifikt for din region, se det regionsspesifikke Safety Data Sheet Library (HMS-biblioteket) på www.hologicsds.com.

| Fareinformasjon fra EU | |
|---|---|
|  | <p>Valgreagens BORSYRE 1 – 5 % Natriumhydroksid < 1% ADVARSEL H315 – Irriterer huden H319 – Gir alvorlig øyeirritasjon</p> |
|  | <p>Målinnfangingsreagens EDTA 1 – 5 % H411 – Giftig, med langtidsvirkning, for liv i vann P273 – Unngå utslipp til miljøet P280 – Benytt vernebriller/ansiktsskjerm</p> |

Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser

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

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

HPV amplifiseringsreagens

HPV enzymreagens

HPV probereagens

HPV internkontrollreagens

HPV positive kalibratorer og negative kalibratorer

HPV positive kontroller og negative kontroller (kun Tigris DTS System)

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

HPV amplifiseringsrekonstitusjonsløsning

HPV enzymrekonstitusjonsløsning

HPV proberekonstitusjonsløsning

HPV målinnfangingsreagens

HPV valgreagens

Vaskeløsning

Oljereagens

Buffer for deaktiveringsvæske

Auto Detect-reagens 1

Auto Detect-reagens 2

Aptima System væskekonserveringsmiddel (kun Tigris DTS System)

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

HPV amplifiseringsreagens

HPV enzymreagens

HPV probereagens

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

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

F. Aptima HPV assay-reagenser er stabile i kumulative 48 timer når de oppbevares på Tigris DTS System.

G. Aptima HPV assay-reagensene er stabile i kumulative 72 timer når de oppbevares på Panther System.

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

I. Reagensene skal ikke fryses.

Oppsamling og oppbevaring av prøver

A. Prøveoppsamling og -behandling

ThinPrep flytende cytologiprøver

1. Samle opp livmorhalsprøver i ThinPrep celleprøveampuller som inneholder PreservCyt-løsning med oppsamlingsenheter av typen kost eller cyto børste/spatel, i henhold til produsentens instruksjoner.
2. Før eller etter behandling med ThinPrep 2000 System, ThinPrep 3000 System, ThinPrep 5000 Processor eller ThinPrep 5000 Processor med Autoloader, overføres 1 ml ThinPrep flytende cytologiprøveoverføringsrør i henhold til instruksjonene i pakningsvedlegget for Aptima prøveoverføringssettet.

SurePath flytende cytologiprøver

1. Samle opp en SurePath flytende cytologiprøve i henhold til bruksanvisningen for SurePath-celleprøven og/eller PrepStain System.
2. Overfør SurePath flytende cytologiprøve til et Aptima prøveoverføringsrør i henhold til instruksjonene i pakningsvedlegget for Aptima prøveoverføringssett.

Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver

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

B. Transport og oppbevaring før testing

ThinPrep flytende cytologiprøver

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

SurePath flytende cytologiprøver

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

Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver

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

C. Behandling av SurePath flytende cytologiprøve

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

1. Aptima overføringsløsning

De behandlede prøvene kan oppbevares ved 2 °C til 8 °C i opptil 17 dager før testing med Aptima HPV assay. Se pakningsvedlegget for Aptima prøveroverføringssett for nærmere informasjon.

D. Oppbevaring av prøver etter testing

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

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

Tigris DTS System

Reagenser for Aptima HPV assay er oppført nedenfor for Tigris DTS System. Identifikasjonssymbolene for reagensene er også oppført ved siden av reagensnavnet.

Reagenser og materialer som følger med

Aptima HPV assay-sett, 250 tester, katalognr. 302611 (4 esker)

Kalibratorer og kontroller kan kjøpes separat. Se individuelle eskekatalognumre nedenfor.

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

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

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

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

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

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

Aptima HPV kontrolleske (katalognr. 302556)
(oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

| Symbol | Komponent | Mengde |
|--------|--|------------|
| PC | HPV positiv kontroll <i>Lyserte, inaktiverede HPV negative og HPV positive kultiverte celler ved 25 celler per ml i en bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i> | 5 ampuller |
| NC | HPV negativ kontroll <i>Lyserte, inaktiverede HPV negative kultiverte celler i en bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i> | 5 ampuller |

Materialer som er nødvendige, men leveres separat

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

| | <u>Katalognr.</u> |
|--|-------------------|
| Tigris DTS System | 105118 |
| Aptima assay væskesett <i>(Aptima vaskeløsning, Aptima buffer for deaktiveringsvæske og Aptima oljereagens)</i> | 302382 |
| Aptima Auto Detect-sett | 301048 |
| Aptima System væskekonserveringssett | 302380 |
| Spisser, 1000 µl ledende, væskefølende | 10612513 (Tecan) |
| Tigris DTS System-kjøresett | 301191 |
| <i>Flerrør-enheter (Multi-tube Units, MTU)</i> | 104772-02 |
| <i>MTU-avfallspose for spisser</i> | 900907 |
| <i>MTU-avfallsavledere</i> | 900931 |
| <i>MTU-avfallsdeksler</i> | 105523 |
| Aptima prøveoverføringssett | 301154C |
| Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver | 302657 |
| Aptima gjennomstikkbare hetter | 105668 |
| Ugjennomstikkbare erstatningshetter | 103036A |
| Ekstra hetter for rekonstitusjonsløsninger for amplifikasjons- og probereagens | CL0041 |
| Ekstra hetter for rekonstitusjonsløsninger for enzymreagenser | 501616 |
| Ekstra hetter for TCR- og valgreagens | CL0040 |
| Blekemiddel, minimum 5 % eller 0,7 M natriumhypoklorittløsning | — |
| Vann for Tigris DTS System | — |
| <i>Se Tigris DTS System Operator's Manual (brukerhåndboken for Tigris DTS System) for spesifikasjoner</i> | |
| Engangshansker | — |
| Aptima overføringsløsningssett (kun for SurePath-prøver) | 303658 |

Valgfrie materialer

Blekemiddelforsterker for rengjøring

Katalognr.
302101

Testprosedyre for Tigris DTS System

Merknad: Se *Tigris DTS System Operator's Manual (brukerhåndboken for Tigris DTS System)* for mer prosedyreinformasjon om Tigris DTS System.

A. Klargjøre arbeidsområdet

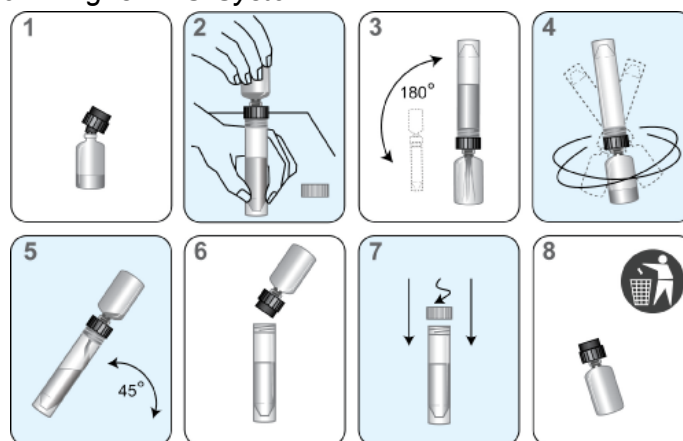
Rengjør arbeidsflater der reagenser og prøver blir tilberedt. Tørk av arbeidsflatene med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La natriumhypoklorittløsningen komme i kontakt med flatene i minst ett minutt og skyll deretter med vann. Pass på at ikke natriumhypoklorittløsningen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

B. Reagenstilberedelse med et nytt sett

Merknad: *Reagensrekonstitusjon skal utføres før arbeidet begynner på Tigris DTS System.*

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

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



Figur 1. Rekonstitusjonsprosessen i Tigris DTS System

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

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

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

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

D. Håndtere prøver

1. La prøvene (kalibratorer, kontroller og prøver) komme opp til romtemperatur før prosessering.
2. **Ikke virvelbland prøver.**
3. SurePath flytende cytologiprøver må behandles med proteinase K før testing med Aptima HPV assay i henhold til instruksjonene i avsnittet *Testprosedyre for Tigris DTS System C*.
4. Kontroller prøverørene før de settes i stativet. Hvis et prøverør inneholder bobler eller har mindre mengde enn det som vanligvis observeres, skal røret sentrifugeres i 5 minutter ved 420 RCF for å sikre at det ikke finnes væske i hetten.

Merknad: Dersom instruksjonene i trinn 4 ikke følges, kan det oppstå væskeutstrømming fra prøverørheten.

E. Klargjøre systemet

Sett opp instrumentet og arbeidslisten i samsvar med instruksjonene i *Tigris DTS System Operator's Manual* (brukerhåndboken for Tigris DTS System) og avsnittet *Prosedyremerknader* nedenfor.

Prosedyremerknader

A. Kalibratorer

1. Hver arbeidsliste skal inneholde 3 replikater av den negative kalibratoren og den positive kalibratoren. For å arbeide riktig med Aptima HPV assay-programvaren må den negative kalibratoren være i første rørposisjon i det første stativet på arbeidslisten, og den positive kalibratoren må være i den andre rørposisjonen i det første stativet på arbeidslisten.
2. Forsøk på å pipettere mer enn tre replikater fra et kalibratorrør kan føre til utilstrekkelig volum-feil.

B. Kontroller

1. Aptima HPV assay-programvaren krever kontroller på begynnelsen og slutten av kjøringen. Den negative kontrollen skal være i tredje rørposisjon på det første stativet, og den nest siste rørposisjonen på det siste stativet på arbeidslisten. Den positive kontrollen skal være i fjerde rørposisjon på det første stativet og i siste rørposisjon på det siste stativet på arbeidslisten.
2. Forsøk på å pipettere mer enn en gang fra et kontrollrør kan føre til utilstrekkelig volum-feil.

C. Temperatur

Romtemperatur defineres som 15 °C til 30 °C.

D. Hanskepulver

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

Panther System

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

Reagenser og materialer som følger med

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

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

Kalibratorer kan kjøpes separat. Se de individuelle katalognumrene nedenfor.

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

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

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

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

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

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

Materialer som er nødvendige, men leveres separat

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

| | <u>Katalognr.</u> |
|--|-------------------|
| Panther System | 303095 |
| Panther kjøresett | 303096 |
| <i>Aptima Assay væskesett</i> | 303014 |
| <i>(Aptima vaskeløsning, Aptima buffer for deaktiveringsvæske og Aptima oljereagens)</i> | |
| <i>Aptima Auto Detect-sett</i> | 303013 |
| <i>Multirørenheter (Multi-tube Units, MTU)</i> | 104772-02 |
| <i>Panther avfallsposesett</i> | 902731 |
| <i>Panther deksel for avfallsbeholder</i> | 504405 |
| Spisser, 1000 µl ledende, væskefølende | 10612513 (Tecan) |
| Aptima prøveoverføringssett | 301154C |
| Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver | 302657 |
| Aptima gjennomstikkbare hetter | 105668 |
| Ugjennomstikkbare erstatningshetter | 103036A |
| Ekstra hetter for 250 testsett: | |
| <i>Rekonstitusjonsløsninger for amplifiseringsreagens og probereagens</i> | CL0041 |
| <i>Rekonstitusjonsløsning for enzymreagens</i> | 501616 |
| <i>TCR og valgreagens</i> | CL0040 |
| Ekstra hetter for 100 testsett: | |
| <i>Rekonstitusjonsløsninger for amplifiseringsreagens og probereagens</i> | CL0041 |
| <i>Rekonstitusjonsløsning for enzymreagens</i> | CL0041 |
| <i>TCR og valgreagens</i> | 501604 |
| Blekemiddel, minimum 5 % eller 0,7 M natriumhypoklorittløsning | — |
| Engangshansker | — |
| Aptima overføringsløsningssett (kun for SurePath-prøver) | 303658 |

Valgfrie materialer

| | <u>Katalognr.</u> |
|--------------------------------------|-------------------|
| Blekemiddelforsterker for rengjøring | 302101 |

Testprosedyre for Panther System

Merknad: Se *Panther System Operator's Manual* (brukerhåndboken for Panther System) for mer prosedyreinformasjon om Panther System.

A. Klargjøre arbeidsområdet

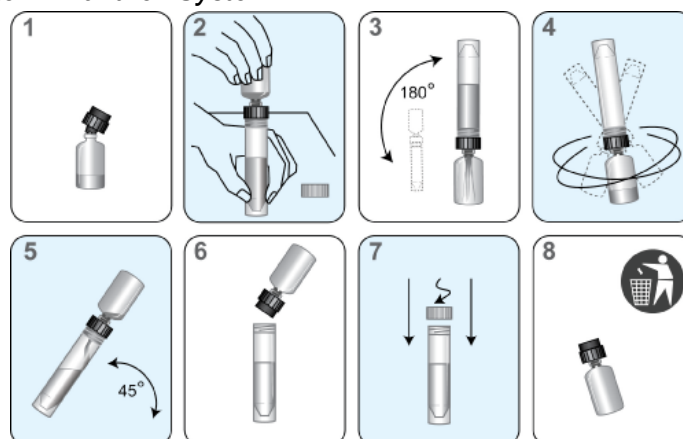
Rengjør arbeidsflater der reagenser og prøver blir tilberedt. Tørk av arbeidsflatene med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La natriumhypoklorittløsningen komme i kontakt med flatene i minst ett minutt og skyll deretter med vann. Pass på at ikke natriumhypoklorittløsningen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

B. Reagenstilberedelse med et nytt sett

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

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

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



Figur 2. Rekonstitusjonsprosessen i Panther System

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

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

C. Klargjøre reagensen for tidligere rekonstituerte reagenser

1. Tidligere rekonstituerte amplifikasjons-, enzym- og probereagenser må nå romtemperatur (15 °C til 30 °C) før analysen startes.
2. Hvis den rekonstituerte probereagensen inneholder bunnfall som ikke går tilbake til løsning ved romtemperatur, skal den oppvarmes ved en temperatur som ikke overstiger 60 °C i 1 til 2 minutter. Skal ikke brukes hvis bunnfall eller tåkedannelse finnes.
3. Hvis wTCR har bunnfall, varmes wTCR opp ved 42 °C til 60 °C i opptil 90 minutter. La wTCR komme til romtemperatur før det tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet vedvarer.
4. Hvis valgreagensen inneholder bunnfall, varmes valgreagensen ved 60 °C ± 1 °C i opptil 45 minutter for å lette oppløsning av bunnfallet. Bland flasken forsiktig hvert 5. til 10. minutt. La valgreagensen komme til romtemperatur før den tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet eller tåkedannelsen vedvarer.
5. Hver reagens blandes grundig ved å snu dem forsiktig før de settes inn i systemet. Unngå skumdannelse når reagensene inverteres.
6. Ikke fyll opp reagensflaskene. Panther System gjenkjenner og forkaster flasker som har blitt fylt helt opp.

D. Håndtere prøver

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

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

E. Klargjøre systemet

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

Prosedyremerknader

A. Kalibratører

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

B. Temperatur

Romtemperatur defineres som 15 °C til 30 °C.

C. Hanskepulver

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

Kvalitetskontrollprosedyrer

A. Kriterier for kjøringsvaliditet

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

- Mer enn ett ugyldig negativt kalibratorreplikat.
- Mer enn ett ugyldig positivt kalibratorreplikat.
- En ugyldig negativ kontroll (kun Tigris DTS System).
- En ugyldig positiv kontroll (kun Tigris DTS System).

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

En ugyldig kjøring skal gjentas. Avbrutte kjøring må gjentas.

B. Kriterier for kalibratorgodkjennelse

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

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

C. Beregne internkontroll-cutoff

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

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

D. Beregne analytt-cutoff

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

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

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

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

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

F. Kriteriene for kontrollgodkjennelse (kun Tigris DTS System)

Den negative kontrollen må ha et gyldig negativt resultat (internkontroll-RLU \geq internkontroll-cutoff og analytt-S/CO $< 0,50$). Den positive kontrollen skal ha et gyldig positivt resultat (analytt-S/CO $\geq 0,50$).

Testtolking

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

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

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

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

Begrensninger

- A. Andre prøvetyper enn de som er identifisert i den beregnede bruken, har ikke blitt evaluert.
- B. Ytelsen til Aptima HPV assay har ikke blitt evaluert for HPV-vaksinerte personer.
- C. Aptima HPV assay har ikke blitt evaluert i tilfeller med mistenkt seksuell mishandling.
- D. Prevalens av HPV-infeksjon i en populasjon kan påvirke ytelsen. Positive prediktive verdier reduseres når populasjoner med lav forekomst eller personer uten risiko for infeksjon blir testet.
- E. ThinPrep flytende cytologiprøver som inneholder mindre enn 1 ml etter klargjøring av objektglass for ThinPrep celleprøve, er ansett å være inadekvate for Aptima HPV assay.
- F. Fjerning av 1 ml av en SurePath flytende cytologiprøve før cytologisk behandling har ikke blitt evaluert for innvirkning på cytologieresultatet.
- G. Testresultatene kan påvirkes av uriktig prøveoppsamling, oppbevaring eller prøvebehandling.
- H. Den interne kontrollen overvåker målinnfangings-, amplifiserings- og deteksjonstrinnene i analysen. Den er ikke ment å kontrollere om prøvetakingen fra livmorhalsen er adekvat.
- I. Et negativt Aptima HPV assay-resultat ekskluderer ikke muligheten for cytologiske abnormiteter eller fremtidig eller underliggende CIN2, CIN3 eller kreft.
- J. Personlige smøremidler som inneholder polykvaternium 15, kan forstyrre analyseytelsen når det finnes i konsentrasjoner større enn 0,025 % (v/v eller w/v) i en testprøve.
- K. Antifungale legemidler som inneholder tiokonazol, kan forstyrre analyseytelsen når det finnes i konsentrasjoner større enn 0,075 % (w/v) i en testprøve.
- L. Aptima HPV assay gir kvalitative resultater. Det kan derfor ikke gjøres en korrelasjon mellom størrelsen på et positivt analysesignal og uttrykksnivået på mRNA i en prøve.
- M. Deteksjon av høyrisiko HPV-mRNA er avhengig av antallet kopier som finnes i prøven, og kan påvirkes av prøveoppsamlingsmetoder, pasientfaktorer, infeksjonsstadium og tilstedeværelse av interfererende stoffer.
- N. Infeksjon med HPV er ikke en indikator på cytologisk HSIL eller underliggende høygrads CIN, og tyder heller ikke på at det vil utvikle seg CIN2, CIN3 eller kreft. De fleste kvinner infisert med én eller flere høyrisiko HPV-typer utvikler ikke CIN2, CIN3 eller kreft.
- O. Virkningene av andre potensielle variabler, f.eks. vaginal utflod, bruk av tamponger, vaginal skylling osv. samt prøveoppsamlingsvariabler har ikke blitt evaluert.
- P. Bruk av dette produktet må begrenses til personell som er opplært i bruken av Aptima HPV assay.
- Q. Krysskontaminasjon av prøver kan forårsake falskt positive resultater. Overføringsfrekvensen for Aptima HPV assay på Tigris DTS System er fastslått å være 0,3 % gjennom en ikke-klinisk studie.
- R. Resultatene fra Aptima HPV assay skal tolkes i samhold med andre laboratoriedata og kliniske data som er tilgjengelig for klinikerens.

- S. Falskt positive resultater kan forekomme med denne testen. *In vitro*-transkripter fra lavrisiko HPV-genotyper 26, 67, 70 og 82 utviste kryssreaktivitet med Aptima HPV assay.
- T. Det positive kontrollmaterialet er ikke ment å overvåke ytelsen ved analysens cutoff.

Forventede resultater for Tigris DTS System: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA

Prevalensen av høyrisiko HPV-infeksjon varierer mye og påvirkes av flere faktorer, hvor alder er den største medvirkeren.^{32,33} Mange studier har undersøkt HPV-prevalensen som fastslått gjennom deteksjon av HPV-DNA, men få studier rapporterer prevalens basert på deteksjon av HPV-onkogent mRNA. Kvinner fra en rekke kliniske steder (n = 18), og som representerte en bred geografisk distribusjon og en mangfoldig populasjon (10 delstater i USA), ble registrert i en prospektiv klinisk studie kjent som CLEAR-studien.³⁴ Prevalensen av HPV-mRNA-positive prøver observert i den kliniske studien ble kategorisert samlet, etter aldersgruppe og teststed. Resultatene vises i tabell 1 for populasjonene atypiske plateepitelceller av ubestemt signifikans (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) og negativ for intraepitelial lesjon eller malignitet (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM).

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

| | Positivitetsfrekvens % (x/n) | |
|--------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| | Populasjonen ASC-US (≥ 21 år) | Populasjonen NILM (≥ 30 år) |
| Alle | 41,8 (400/958) | 5,0 (540/10 871) |
| Aldersgruppe (år) | | |
| 21 til 29 | 60,3 (252/418) | I/A |
| 30 til 39 | 36,8 (98/266) | 6,9 (289/4199) |
| ≥ 40 | 18,2 (50/274) | 3,8 (251/6672) |
| Teststed | | |
| 1 | 41,6 (134/322) | 4,7 (172/3682) |
| 2 | 41,4 (150/362) | 5,2 (194/3702) |
| 3 | 42,3 (116/274) | 5,0 (174/3487) |

I/A = ikke aktuelt

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

En prospektiv, klinisk multisenterstudie i USA kjent som CLEAR-studien ble utført for å fastslå den kliniske ytelsen til Aptima HPV assay for deteksjon av intraepitelial neoplasi grad 2 i livmorhalsen eller alvorligere livmorhalssykdom (\geq CIN2). CLEAR-studien inkluderte en baselinjeevaluering og en 3-års oppfølgingsevaluering.³⁴

CLEAR-studien - baselineevaluering

Ved baseline for CLEAR-studien (baselinefasen) ble kvinner registrert i enten ASC-US-studien eller NILM-studien basert på cytologieresultater fra rutinemessig kreftscreening av livmorhals. Populasjonen i ASC-US-studien inkluderte kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater, og populasjonen i NILM-studien inkluderte kvinner 30 år og eldre med NILM-cytologieresultater. NILM-studien ble satt opp for å støtte tilleggskravet til screening for kvinner 30 år og eldre, da kvinner i denne aldersgruppen med cytologieresultater høyere enn ASC-US bør få kolposkopi uansett HPV-status.³⁵

Kvinner fra 18 kliniske steder, hovedsakelig obstetriske/gynekologiske klinikker, som dekket en bred geografisk distribusjon og en mangfoldig populasjon, ble opptatt i studien. Kvalifiserte kvinner ble tilordnet ASC-US-studien eller NILM-studien basert på deres henviste ThinPrep væskebaserte cytologiprøve. Ved baseline ble residuale henvisningsprøver fra kvinner i ASC-US-studien og i NILM-studien testet med både Aptima HPV assay og en kommersielt tilgjengelig HPV-DNA-test.

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

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

Sykdomsstatusen ble fastslått ut fra et konsensus-histologisk granskningspanel, som var basert på enighet mellom minst 2 ekspertpatologer. Ekspertpatologene var blindet overfor kvinnens HPV-status. De var også blindet for cytologistatus, samt hverandres histologidiagnoser. Hvis de tre patologene av uenige, gjennomgikk alle 3 patologer objektglassene ved et flerhodet mikroskop for å bli enige. Utprøvere, klinikere og kvinner var blindet overfor HPV-testresultatene til etter fullføring av kolposkopibesøket, for å unngå bias. Ved baseline ble klinisk ytelse av Aptima HPV assay for deteksjon av \geq CIN2 og intraepitelial neoplasi grad 3 i livmorhalsen eller alvorligere livmorhalssykdom (\geq CIN3) vurdert i forhold til status for livmorhalssykdommen som ble bestemt ved baseline. Klinisk ytelse for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen ble også fastslått for direkte sammenligning med Aptima HPV assay-resultatene.

CLEAR-studien - Oppfølgingsvurdering

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

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

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

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

Analyseytelse for Tigris DTS System

Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Klinisk ytelse for Aptima HPV Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver

Det var totalt 1252 kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater registrert i ASC-US-studien. Av disse ble 294 kvinner avregistrert, og 19 hadde en ubestemt sykdomsdiagnose. Alle ble ekskludert fra analysen. De gjenværende 939 evaluerbare kvinnene var 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater, Aptima HPV assay-resultater og bestemt sykdomsstatus. Nittien (91) kvinner hadde \geq CIN2, og førtien (41) hadde \geq CIN3. Prevalensen av \geq CIN2 og \geq CIN3 hos evaluerbare kvinner med ASC-US-cytologieresultater var henholdsvis 9,7 % og 4,4 %. Resultatene av Aptima HPV assay i henhold til diagnosene fra det konsensus-histologiske granskningspanelet vises i tabell 2.

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

| Resultat fra Aptima HPV Assay* | HPV-DNA-test | Diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel | | | | | | Totalt |
|--------------------------------|-------------------|---|--------|------|------|------|-------|--------|
| | | Ubestemt** | Normal | CIN1 | CIN2 | CIN3 | Kreft | |
| 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 |
| Totalt | | 19 | 649 | 199 | 50 | 40 | 1**** | 958 |

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ved evaluering av alle biopsier var de kliniske sensitivitetsestimatene for Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen, der begge analyseresultater er tilgjengelige, lignende for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 (forskjeller i sensitivitetsestimater var ikke statistisk signifikante: sensitivitetsforskjell = -2,3 % [95 % KI: -9,5 %, 4,8 %]). Kliniske spesifisitetsestimater for Aptima HPV assay for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 var høyere enn de for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen (forskjeller i spesifisitetsestimater var statistisk signifikante). For \geq CIN2 var spesifisitetsforskjellen 6,8 % (95 % KI: 4,9 %, 9,0 %). NPV var lignende, men for deteksjonen av \geq CIN2 var PPV for Aptima HPV assay litt høyere enn PPV for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen (20,1 % mot 18,7 %).

Av de 91 tilfellene \geq CIN2 ble 60 (65,9 %) identifisert i rettede biopsier og 31 (34,1 %) identifisert fra tilfeldige og/eller ECC-biopsier (dvs. ikke i rettede biopsier). Disse funnene er tilsvarende resultatene fra publiserte studier, der ca. 25 % til 40 % av tilfeller \geq CIN2 ble identifisert fra kun tilfeldige og/eller ECC-biopsiprøver.^{36,37} Ved bruk av kun rettede biopsier til å fastslå sykdomsstatus (forutsatt at kvinner uten rettede biopsier hadde normale histologieresultater fordi ingen synlige lesjoner var til stede) var prevalensen av \geq CIN2 og \geq CIN3 i studien henholdsvis 6,4 % og 3,1 %. De kliniske sensitivitetsestimatene for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 var høyere for begge tester ved bruk av kun rettede biopsier enn estimater beregnet ved bruk av alle biopsier. For begge analyser var den kliniske spesifisiteten ved bruk av kun rettede biopsier lignende spesifisiteten oppnådd med alle biopsier inkludert. Følgelig, når kun rettede biopsier ble brukt, var spesifisiteten for Aptima HPV assay signifikant høyere enn den for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen.

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

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

| | Ytelse | Aptima HPV Assay N=939 | | HPV-DNA-test N=865* | |
|--------------|------------------|---------------------------|--------------|------------------------|--------------|
| | | Estimat | (95 % KI) | Estimat | (95 % KI) |
| 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) |
| | Spesifisitet (%) | 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) |
| | Prevalens (%) | 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) |
| | Spesifisitet (%) | 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) |
| | Prevalens (%) | 7,6 (20/262) | | 8,4 (20/239) | |
| \geq 40 år | | N=262 | | N=237 | |
| | Sensitivitet (%) | 60,0 (6/10) | (31,3, 83,2) | 70,0 (7/10) | (39,7, 89,2) |
| | Spesifisitet (%) | 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) |
| | Prevalens (%) | 3,8 (10/262) | | 4,2 (10/237) | |

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

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

| | Ytelse | Aptima HPV Assay N=939 | | HPV-DNA-test N=865* | |
|--------------|------------------|---------------------------|--------------|------------------------|--------------|
| | | Estimat | (95 % KI) | Estimat | (95 % KI) |
| 21 til 29 år | | N=415 | | N=389 | |
| | Sensitivitet (%) | 96,3 (26/27) | (81,7, 99,3) | 100 (25/25) | (86,7, 100) |
| | Spesifisitet (%) | 42,3 (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) |
| | Prevalens (%) | 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) |
| | Spesifisitet (%) | 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) |
| | Prevalens (%) | 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) |
| | Spesifisitet (%) | 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) |
| | Prevalens (%) | 1,9 (5/262) | | 2,1 (5/237) | |

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

Den absolutte risikoen for sykdom (\geq CIN2 og \geq CIN3, basert på evaluering av alle biopsier) i henhold til Aptima HPV assay-resultat og den relative risikoen for sykdom, for positive kontra negative Aptima HPV assay-resultater vises i tabell 6, og det samme gjelder estimatene for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen. Den relative risikoen for \geq CIN2 var 9,1 (95 % KI: 5,0, 16,5), som indikerer at en kvinne som var Aptima HPV assay-positiv hadde 9,1 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 sammenlignet med en kvinne som var Aptima HPV assay-negativ. Den relative risikoen for \geq CIN3 var 12,8 (95 % KI: 4,6, 35,6).

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

| | Assay-resultat | Aptima HPV Assay N=939 | | HPV-DNA-test N=865* | |
|-------------|----------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| | | Absolutt risiko (95 % KI) | Relativ risiko (95 % KI) | Absolutt risiko (95 % KI) | Relativ risiko (95 % KI) |
| \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) | |
| | Prevalens (%) | 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) | |
| | Prevalens (%) | 4,4 (41/939) | | 4,5 (39/865) | |

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

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

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

| | Alder | Assay-resultat | Aptima HPV Assay N=939 | | HPV-DNA-test N=865* | |
|---------------|--------------|----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| | | | Absolutt risiko (95 % KI) | Relativ risiko (95 % KI) | Absolutt risiko (95 % KI) | Relativ risiko (95 % KI) |
| \geq CIN2 | 21 til 29 år | | N=415 | | N=389 | |
| | | Positiv | 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) | |
| | | Prevalens (%) | 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) | |
| | | Prevalens (%) | 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) | | |
| Prevalens (%) | | 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) | |
| | | Prevalens (%) | 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) | |
| | | Prevalens (%) | 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) | | |
| Prevalens (%) | | 1,9 (5/262) | | 2,1 (5/237) | | |

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

Populasjonen NILM \geq 30 år: Klinisk ytelse for Aptima HPV Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver ved baseline

Totalt 11 644 kvinner med NILM-cytologieresultater ble registrert i NILM-studien. Av disse ble 773 kvinner avregistrert og ekskludert fra baseline-evalueringen. De gjenværende 10 871 evaluerbare kvinnene var 30 år og eldre med NILM-cytologieresultater og Aptima HPV assay-resultater. Av de 540 kvinnene med positive Aptima HPV assay-resultater fikk 335 kolposkopi ved baseline. Av de 10 331 kvinnene med negative Aptima HPV assay-resultater fikk 530 kolposkopi ved baseline. Tjue (20) kvinner hadde \geq CIN2, og elleve (11) hadde \geq CIN3; 799 kvinner hadde normal/CIN1-histologi; 46 kvinner hadde ubestemt sykdomsstatus. Resultatene av Aptima HPV assay i henhold til diagnosen fra det konsensus-histologiske granskningspanelet ved baseline vises i tabell 8.

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

| Resultat fra Aptima HPV Assay* | HPV-DNA-test | Diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel | | | | | | |
|--------------------------------|------------------|---|--------|------|------|------|-------|--------|
| | | Ubestemt | Normal | CIN1 | CIN2 | CIN3 | Kreft | Totalt |
| Positiv | Positiv | 11 | 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 |
| Totalt | | 46 | 770 | 29 | 9 | 8 | 3*** | 865 |

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

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

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

Totalt 10 052 kvinner hadde uverifisert (inkludert ubestemt) sykdomsstatus (tabell 9). Fordi kun tilfeldig utvalgte kvinner med negativt resultat for både Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen ble henvist til kolposkopi, var andelen kvinner med uverifisert sykdomsstatus høy i denne gruppen (96,6 %). For å justere for denne verifikasjonsbiasen ble det brukt en multipl imputering-metode til å estimere antallet kvinner med sykdom som ville ha blitt identifisert hvis alle kvinner hadde fått kolposkopi. Både verifikasjonsbiasjusterte ytelsesestimerer og ujusterte ytelsesestimerer, basert på de 819 kvinnene med verifisert sykdomsstatus ved baseline, vises.

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

| Resultat fra Aptima HPV Assay* | HPV-DNA-test | Totalt antall kvinner | Verifisert sykdomsstatus: \geq CIN2 | | Verifisert sykdomsstatus: \geq CIN3 | | Uverifisert sykdomsstatus |
|--------------------------------|------------------|-----------------------|---------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|--|
| | | | Kvinner med sykdom (\geq CIN2) | Kvinner uten sykdom ($<$ CIN2) | Kvinner med sykdom (\geq CIN3) | Kvinner uten sykdom ($<$ CIN3) | Kvinner med ukjent sykdomsstatus (% ukjente) |
| Positiv | Positiv | 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 %) |
| Totalt | | 10 871 | 20 | 799 | 11 | 808 | 10 052 (92,5 %) |

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

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

Den justerte prevalensen av \geq CIN2 og \geq CIN3 hos kvinner med NILM-cytologiretultater var henholdsvis 0,9 % og 0,4 %. De justerte absolutte og relative risikoestimatene for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 ved baseline vises i tabell 10. Den justerte relative risikoen for \geq CIN2 var 8,1 (95 % KI: 2,3, 28,1), som indikerer at en kvinne som var Aptima HPV assay-positiv hadde 8,1 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 sammenlignet med en kvinne som var Aptima HPV assay-negativ. Den justerte relative risikoen for \geq CIN3 var 34,5 (95 % KI: 2,7, 443,3). De ujusterte absolutte og relative risikoestimatene for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 ved baseline vises samlet i tabell 11 og etter aldersgruppe i tabell 12.

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

| Assay-resultat | | Aptima HPV Assay | | HPV-DNA-test | |
|----------------|---------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | | Absolutt risiko (95 % KI) | Relativ risiko (95 % KI) | Absolutt risiko (95 % KI) | Relativ risiko (95 % KI) |
| \geq CIN2 | Positiv | 4,7 (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) | |
| | Prevalens (%) | 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) | |
| | Prevalens (%) | 0,4 | | 0,4 | |

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

| Assay-resultat | | Aptima HPV Assay N=819 | | HPV-DNA-test N=801* | |
|----------------|---------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|
| | | Absolutt risiko (95 % KI) | Relativ risiko (95 % KI) | Absolutt risiko (95 % KI) | Relativ risiko (95 % KI) |
| \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) | |
| | Prevalens (%) | 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) | |
| | Prevalens (%) | 1,3 (11/819) | | 1,4 (11/801) | |

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

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

| | Alder | Assay-resultat | Aptima HPV Assay N=819 | | HPV-DNA-test N=801* | |
|--------|--------------|----------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | | | Absolutt risiko (95 % KI) | Relativ risiko (95 % KI) | Absolutt risiko (95 % KI) | Relativ risiko (95 % KI) |
| ≥ 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) | |
| | | Prevalens (%) | 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) | |
| | | Prevalens (%) | 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) | |
| | | Prevalens (%) | 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) | |
| | | Prevalens (%) | 1,1 (5/435) | | 1,2 (5/424) | |

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

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

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

| | Ytelse | Aptima HPV Assay | | HPV-DNA-test | |
|-------------|------------------|------------------|--------------|--------------|--------------|
| | | Estimat | (95 % KI) | Estimat | (95 % KI) |
| \geq CIN2 | Sensitivitet (%) | 31,0 | (5,9, 56,1) | 35,4 | (3,8, 66,9) |
| | Spesifisitet (%) | 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) |
| | Prevalens (%) | 0,9 | | 0,9 | |
| \geq CIN3 | Sensitivitet (%) | 61,5 | (14,0, 100) | 56,4 | (0,4, 100) |
| | Spesifisitet (%) | 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) |
| | Prevalens (%) | 0,4 | | 0,4 | |

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

| | Ytelse | Aptima HPV Assay N=819 | | HPV-DNA-test N=801* | |
|-------------|------------------|---------------------------|--------------|------------------------|--------------|
| | | Estimat | (95 % KI) | Estimat | (95 % KI) |
| \geq CIN2 | Sensitivitet (%) | 75,0 (15/20) | (53,1, 88,8) | 84,2 (16/19) | (62,4, 94,5) |
| | Spesifisitet (%) | 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) |
| | Prevalens (%) | 2,4 (20/819) | | 2,4 (19/801) | |
| \geq CIN3 | Sensitivitet (%) | 90,9 (10/11) | (62,3, 98,4) | 90,9 (10/11) | (62,3, 98,4) |
| | Spesifisitet (%) | 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) |
| | Prevalens (%) | 1,3 (11/819) | | 1,4 (11/801) | |

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

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

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

| | | HPV-DNA-test | | Totalt |
|---|---------|--------------|---------|-------------|
| | | Positiv | Negativ | |
| Aptima HPV Assay | Positiv | 13 | 2 | 15 (78,9 %) |
| | Negativ | 3 | 1 | 4 |
| | Totalt | 16 (84,2 %) | 3 | 19 |
| Forholdstall for sant positive forekomster = 0,94 (15/16) (95 % KI: 0,67, 1,20) | | | | |

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

| | | HPV-DNA-test | | Totalt |
|---|---------|--------------|---------|--------------|
| | | Positiv | Negativ | |
| Aptima HPV Assay | Positiv | 223 | 59 | 282 (36,1 %) |
| | Negativ | 178 | 322 | 500 |
| | Totalt | 401 (51,3 %) | 381 | 782 |
| Forholdstall for falskt positive forekomster = 0,70 (282/401) (95 % KI: 0,64, 0,77) | | | | |

NILM ≥ 30 årig befolkning: Aptima HPV assay kliniske resultater etter 3 års oppfølging

Det var 10854 evaluerbare kvinner på 30 år og eldre med NILM cytologieresultater og gyldige Aptima HPV assay-resultater ved baseline som var kvalifisert for oppfølgingsfasen. Av kvinnene uten ≥CIN2, 66,9 % (7251/10834) som fullførte 1-årig med et PAP oppfølgingsbesøk, 60,2 % (6522/10825) 2-årig, og 58,6 % (6344/10818) for 3-årig. Totalt 58,8 % (6 380/10854) av kvinnene med fullført studie (hadde ≥CIN2 ved baseline eller under oppfølging, og/eller gjennomført obligatorisk besøk).

Av de 10854 kvinnene hadde 540 (5,0 %) positive Aptima HPV assay-resultater ved studiestart. Av disse 540 kvinnene hadde 263 (48,7 %) enten positiv eller negativ 3-årig sykdomsfri status basert på cytologi- eller colposcopy/biopsieresultater. De resterende 10314 kvinnene hadde negative Aptima HPV assay-resultater ved studiestart. Av disse 10314 kvinnene hadde 5943 (67,6 %) enten positiv eller negativ 3-årig sykdomsstatus. Av de 6206 kvinnene med 3 års sykdomsfri status, hadde 47 kvinner ≥CIN2 og 23 inkludert med ≥CIN3; 6159 kvinner hadde normal/CIN1 ved konsensus-histologisk granskningspanel. Grunnlagsresultatene av Aptima HPV assay og en kommersielt tilgjengelig HPV DNA assay, og 3-årig sykdomsstatus (inkluderer baseline og oppfølgingsevaluering) av konsensus-histologisk granskningspanel, er presentert i tabell 17.

Tabell 17: NILM ≥ 30-årig populasjon: Klassifisering av kvinner som ble kvalifisert for oppfølgingsfasen ved baseline Aptima HPV assay-resultater, baseline HPV DNA testresultater og sykdomsstatus ≥CIN2 og ≥CIN3, (ubekreftet) bestemt i baseline og oppfølgingsfaser

| Aptima HPV Assay-resultater | HPV DNA-prøve | Totalt ant. Kvinner | Uten sykdomsstatus ≥CIN2 | | Bekreftet sykdomsstatus ≥CIN3 | | Ubekreftet sykdomsstatus | |
|-----------------------------|------------------|---------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------|
| | | | Syke kvinner (≥CIN2) | Ikke syke kvinner (≥CIN3) | Syke kvinner (≥CIN2) | Ikke syke kvinner (≥CIN3) | Manglet oppfølging | 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 |
| Totalt | | 10 854 | 47 | 6 159 | 23 | 6 183 | 4 384 | 264 |

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

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

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

De 3-årige kumulative absolutte og relative risikoestimer for deteksjon av ≥CIN2 og ≥CIN3 er vist i tabell 18.

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

| | Assay-resultater | Aptima HPV assay | | HPV DNA-prøve | |
|-------------|------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | | Absolutt risiko (95 % CI) | Relativ risiko (95 % CI) | Absolutt risiko (95 % CI) | Relativ risiko (95 % CI) |
| \geq CIN2 | Positive | 7,39 (5,12, 10,59) | 22,55 (12,68, 40,10) | 6,42 (4,50, 9,13) | 22,71 (12,19, 42,29) |
| | Negative | 0,33 (0,21, 0,51) | | 0,28 (0,17, 0,47) | |
| | Utbredelse (%) | 0,68 | | 0,68 | |
| \geq CIN3 | Positive | 4,66 (2,94, 7,36) | 44,12 (16,91, 115,10) | 4,14 (2,62, 6,52) | 51,33 (17,74, 148,55) |
| | Negative | 0,11 (0,04, 0,25) | | 0,08 (0,03, 0,22) | |
| | Utbredelse (%) | 0,34 | | 0,35 | |

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

Den 3-års kumulerte utbredelsen av \geq CIN2 og \geq CIN3 hos kvinner med resultater for NILM cytologi ved baseline var henholdsvis 0,68 % og 0,34 %. Den relative risikoen for \geq CIN2 var 22,55 (95 % CI: 12,68, 40,10), noe som indikerer at en kvinne som er Aptima HPV assay-positiv er 22,55 ganger mer sannsynlig å ha \geq CIN2 enn en kvinne som er Aptima HPV assay-negativ. Den relative risikoen for \geq CIN3 var 44,12 (95 % CI: 16,91, 11,10).

Klinisk ytelse for Aptima HPV Assay med SurePath flytende cytologiprøver

SurePath-prøver behandlet med Aptima overføringsløsning

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

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

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

Tabell 20: Sensitivitet for Aptima HPV Assay med SurePath og ThinPrep flytende cytologiprøver

| HPV-genotype | Kopier/reaksjon | ThinPrep | SurePath |
|--------------|-----------------|----------------------|----------------------|
| | | % positive (95 % KI) | % positive (95 % KI) |
| 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) |

Ytelse for Aptima HPV Assay med livmorhalsprøver oppsamlet for transport

Parede ThinPrep flytende cytologiprøver og Aptima CSCT-settprøver ble oppsamlet fra 735 personer. Én milliliter (1,0 ml) av hver ThinPrep flytende cytologiprøve ble fortynnet i 2,9 ml av Aptima prøvetransportmiddel og ett enkelt replikat testet med Aptima HPV assay på Tigris DTS System. Ett enkelt replikat av hver CSCT-prøve ble også testet med Aptima HPV assay. Prosentvis samsvar for Aptima HPV assay mellom ThinPrep flytende cytologiprøve og CSCT-prøven ble bestemt, og resultatene vises i tabell 21.

Det prosentvise positive samsvaret var 95,9 % (95 % KI: 92,6-97,8), det prosentvise negative samsvaret var 95,5 % (95 % KI: 93,3-97,0), og det totale samsvaret var 95,6 % (95 % KI: 93,9-96,9). Det ble observert en sterk korrelasjon mellom den flytende cytologiprøven og transportsettprøvene ($\kappa = 0,90$).

Tabell 21: Totalt samsvar i Aptima HPV Assay-resultater fra ThinPrep flytende cytologiprøve og Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver testet på Tigris DTS System

| | | ThinPrep flytende cytologiprøve | | Totalt |
|-----------------------|---------------|---------------------------------|---------|--------|
| | | Positiv | Negativ | |
| Aptima CSCT-settprøve | Positiv | 234 | 22 | 256 |
| | Negativ | 10 | 469 | 479 |
| | Totalt | 244 | 491 | 735 |

Positivt samsvar = 95,9 % (92,6-97,8)

Negativt samsvar = 95,5 % (93,3-97,0)

Generelt samsvar = 95,6 % (93,9-96,9)

Kappa-koeffisient = 0,90

Analytisk sensitivitet

Deteksjonsgrensen (Limit of Detection, LOD) ved den kliniske cutoff er konsentrasjonen av HPV-RNA som gir et positivt resultat (over den kliniske cutoff) 95 % av tiden.

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

Probit-analyseresultatene, tabell 22, viser at HPV 16, 18, 31, 33, 35, 38, 45, 58, 59 og 68 hadde 95 % deteksjonsgrenser på under 100 kopier/reaksjon, og type 51, 52, 56 og 66 hadde 95 % deteksjonsgrenser på mellom 100 og 300 kopier/reaksjon. De fire cellelinjene som ble testet, hadde 95 % deteksjonsgrenser på under 1 celle/reaksjon.

Tabell 22: Deteksjonsgrense ved klinisk cutoff for Aptima HPV Assay

| Mål | Deteksjonsgrense* (95 % KI) |
|--------|--------------------------------|
| HPV 16 | 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 per reaksjon for *in vitro*-transkripter og celler per reaksjon for cellelinjer

Analysens presisjon

Presisjonen til Aptima HPV assay ble evaluert i to studier ved bruk av samme 20-elementers panel. Studie 1 ble utført på 3 eksterne teststeder for å bestemme analysens reproduserbarhet. Studie 2 ble utført internt for å måle analysens repeterbarhet. Panelet inkluderte 10 HPV-positive elementer med konsentrasjoner ved eller over deteksjonsgrensen for analysen (forventet positivitet: $\geq 95\%$), 4 HPV-positive elementer med konsentrasjoner under deteksjonsgrensen for analysen (forventet positivitet: $> 0\%$ til $< 25\%$), og 6 HPV-negative elementer. HPV-positive panelelementer ble tilberedt ved å tilsette *in vitro* RNA-transkripter (IVT) i prøvetransportmiddel (Specimen Transport Media, STM) eller HPV-infiserte kultiverte celler (SiHa, HeLa, ME180 og MS751; ATCC, Manassas, Virginia, USA) i PreservCyt-løsning. HPV-negative panelelementer ble tilberedt med STM eller samlede residuale ThinPrep flytende cytologiprøver.

I studie 1 utførte 2 operatører på hvert av de 3 teststedene (1 instrument per sted) 1 Aptima HPV assay-arbeidsliste per dag over 3 dager for hvert av 3 reagenspartier. Hver arbeidsliste inneholdt 3 replikater av hvert av elementene i reproduserbarhetspanelet. Ett hundre og sekstio (162) individuelle prøverør ble testet for hvert panelelement (3 steder x 1 instrument x 2 operatører x 3 partier x 3 arbeidslister x 3 replikater). I studie 2 ble testing utført internt over 20 dager med totalt 162 reaksjoner testet for hvert panelelement (1 sted x 3 instrumenter x 3 operatører x 3 partier x 2 arbeidslister x 3 replikater).

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

Positiv-samsvaret for de HPV-positive panelelementene med konsentrasjoner ved eller over analysens deteksjonsgrense varierte fra 95,1 % til 100 % i studie 1 og fra 93,2 % til 100 % i studie 2 for 9 av de 10 panelelementene. Det resterende HPV-positive panelelementet ga 77,2 % samsvar i studie 1 og 79,0 % samsvar i studie 2, som var lavere enn forventet, men konsekvent mellom de 2 studiene. Negativ-samsvaret for de høyt HPV-negative panelelementene med konsentrasjoner under analysens deteksjonsgrense varierte fra 78,8 % til 93,8 % i studie 1 og fra 82,1 % til 95,7 % i studie 2. Samsvaret med forventede resultater for de HPV-negative panelelementene varierte fra 96,9 % til 100 % i studie 1 og fra 96,3 % til 100 % i studie 2.

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

| Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon) | Studie 1 (3 teststeder) | Studie 2 (1 teststed) |
|---|--------------------------------|--------------------------------|
| | % positiv-samsvar (95 % KI) | % positiv-samsvar (95 % KI) |
| HPV 16 og HPV 18 IVT (100 kopier) | 100 (161/161) (97,7, 100) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| SiHa-celler (3 celler) og HeLa-celler (7,5 celler) | 100 (162/162) (97,7, 100) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| HPV 18 IVT (100 kopier) | 100 (162/162) (97,7, 100) | 100 (160/160) (97,7, 100) |
| HPV 16 IVT (100 kopier) | 100 (162/162) (97,7, 100) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| MS751-celler (1 celle) | 99,4 (161/162) (96,6, 99,9) | 96,9 (157/162) (93,0, 98,7) |
| ME180-celler (0,3 celler) | 95,1 (154/162) (90,6, 97,5) | 93,2 (151/162) (88,3, 96,2) |
| HPV 18 IVT (30 kopier) | 99,4 (161/162) (96,6, 99,9) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| HPV 16 IVT (30 kopier) | 100 (162/162) (97,7, 100) | 97,5 (158/162) (93,8, 99,0) |
| HeLa-celler (2,5 celler) | 100 (162/162) (97,7, 100) | 95,6 (152/159) (91,2, 97,9) |
| SiHa-celler (1 celle)* | 77,2 (125/162) (70,1, 83,0) | 79,0 (128/162) (72,1, 84,6) |

IVT = *in vitro*-transkript. IVT ble tilsatt i STM, og celler ble tilsatt i PreservCyt-løsning.

*Forventet % positiv-samsvar ~95 %; observert lavere mulighet pga. produksjonsvariabilitet i panelelementet.

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

| Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon) | Studie 1 (3 teststeder) | Studie 2 (1 teststed) |
|---|--------------------------------|--------------------------------|
| | % negativ-samsvar (95 % KI) | % negativ-samsvar (95 % KI) |
| 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-parti 1 | 100 (162/162) (97,7, 100) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| STM-parti 2 | 99,4 (160/161) (96,6, 99,9) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| STM-parti 3 | 99,4 (161/162) (96,6, 99,9) | 99,4 (161/162) (96,6, 99,9) |
| ThinPrep-sett 1 | 97,5 (158/162) (93,8, 99,0) | 97,5 (158/162) (93,8, 99,0) |
| ThinPrep-sett 2 | 96,9 (157/162) (93,0, 98,7) | 96,3 (156/162) (92,2, 98,3) |
| ThinPrep-sett 3 | 100 (162/162) (97,7, 100) | 99,4 (161/162) (96,6, 99,9) |

STM = prøvetransportmiddel; IVT = *in vitro*-transkript. IVT ble tilsatt i STM, og celler ble tilsatt i PreservCyt-løsning.

*Forventet % negativ-samsvar > 75 % og < 100 %.

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

| Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon) | n | Gjen- nom- snittlig S/CO | Mellom studiesteder | | Mellom operatører | | Mellom partier | | Mellom arbeidslister | | Innen arbeidslister | | Totalt | |
|---|------------------|-----------------------------------|------------------------|--------|----------------------|--------|-------------------|--------|-------------------------|--------|------------------------|--------|--------|--------|
| | | | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) |
| HPV 16 og HPV 18 IVT (100 kopier) | 161 [^] | 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 = standardavvik; CV = variasjonskoeffisient; IVT = *in vitro*-transkript; S/CO = signal-til-cut-off-forhold

[^]En prøve hadde et ugyldig Aptima HPV assay-resultat og ble ikke inkludert i analysen.

Merknad: Variabiliteten fra noen faktorer kan være numerisk negative. Dette kan skje hvis variabiliteten på grunn av disse faktorene var svært liten. I disse tilfellene er SD og CV angitt som 0.

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

| Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon) | n | Gjen- nom- snittlig S/CO | Mellom instrumenter | | Mellom operatører | | Mellom partier | | Mellom arbeidslister | | Innen arbeidslister | | Totalt | |
|---|------------------|-----------------------------------|------------------------|--------|----------------------|--------|-------------------|--------|-------------------------|--------|------------------------|--------|--------|--------|
| | | | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) |
| 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 [^] | 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 [^] | 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 = standardavvik; CV = variasjonskoeffisient; IVT = *in vitro*-transkript; S/CO = signal-til-cut-off-forhold

[^]Fem prøver hadde ugyldige Aptima HPV assay-resultater (2 for HPV 18 IVT (100 kopier), 3 for HeLa-celler (2,5 celler)) og ble ikke inkludert i analysene.

Merknad: Variabiliteten fra noen faktorer kan være numerisk negative. Dette kan skje hvis variabiliteten på grunn av disse faktorene var svært liten. I disse tilfellene er SD og CV angitt som 0.

En tredje studie ble også utført for å fastslå analysens reproduserbarhet ved å teste et 6-elementers panel med samlede kliniske ThinPrep flytende cytologiprøver. Seks unike sett med residuale HPV-negative ThinPrep flytende cytologiprøver ble tilberedt som matrisen, og to av dem ble testet som HPV-negative panelementer. Fire unike sett med HPV-positive ThinPrep flytende cytologiprøver ble brukt til å tilberede de lavt ($n = 2$) og høyt ($n = 2$) HPV-positive panelementene. De lavt positive panelementene hadde konsentrasjoner ved deteksjonsgrensen for analysen (forventet positivitet: ≥ 95 % fastslått for hvert enkelt HPV-positive sett gjennom testing av serielle fortyndinger av blandingene). De høyt positive panelementene hadde konsentrasjoner ved 1-2 log over den estimerte deteksjonsgrensen for hvert enkelt HPV-positive sett (forventet positivitet: 100 % positivitet). Hvert panelement ble på testdagen overført (1 ml) til et Aptima prøveoverføringsrør som inneholdt STM. Testing ble utført internt av 2 operatører med 1 reagensparti og 3 instrumenter over 6 dager (3 dager for hver operatør), som testet 2 kjøring per dag der panelet ble testet i duplikat.

Panelementene er beskrevet i tabell 26, sammen med et sammendrag av samsvaret mellom forventede resultater og analytt S/CO-verdier ved 2,5., 50. og 97,5. persentil av signaldistribusjonen. Analytt S/CO-variabilitet for panelementene med forventet positivt resultat vises i tabell 27.

Samsvaret var 100 % for de høyt HPV-positive panelementene, $\geq 98,6$ % for de lavt HPV-positive panelementene og $\geq 94,4$ % for de HPV-negative panelementene.

Tabell 26: Reproduserbarhetsstudie 3 for Aptima HPV Assay: Panelbeskrivelse, prosentvis samsvar

| Panelbeskrivelse | % samsvar (95 % KI) |
|------------------|------------------------------|
| Lavt positiv 1 | 98,6 (71/72) (92,5, 99,8) |
| Lavt positiv 2 | 100 (72/72) (94,9, 100) |
| Høyt positiv 1 | 100 (72/72) (94,9, 100) |
| Høyt 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) |

Tabell 27: Reproduserbarhetsstudie 3 for Aptima HPV Assay: Signalanalyse for panelelementer med forventet positivt resultat

| Panelbeskrivelse | n | Gjen- nom- snittlig S/CO | Mellom instrumenter | | Mellom operatører | | Mellom partier | | Mellom arbeidslister | | Innen arbeidslister | | Totalt | |
|------------------|----|-----------------------------------|------------------------|--------|----------------------|--------|-------------------|--------|-------------------------|--------|------------------------|--------|--------|--------|
| | | | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) |
| Lavt positiv 1 | 72 | 9,8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,2 | 22,8 | 3,0 | 30,4 | 3,7 | 38,0 |
| Lavt 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 |
| Høyt 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 |
| Høyt positiv 2 | 72 | 23,9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,9 | 12,3 | 3,0 | 12,4 | 4,2 | 17,4 |

SD = standardavvik; CV = variasjonskoeffisient; S/CO = signal-til-cut-off-forhold

Merknad: Variabiliteten fra noen faktorer kan være numerisk negative. Dette kan skje hvis variabiliteten på grunn av disse faktorene var svært liten. I disse tilfellene er SD og CV angitt som 0.

Kryssreaktivitet

Den analytiske spesifisiteten i Aptima HPV assay ble evaluert med PreservCyt løsningsmiddel fortynnet 1:2,9 i STM og tilsatt kultiverte bakterier, gjær eller sopp, kultivert virus eller lavrisiko HPV *in vitro*-transkripter. Organismene og testkonsentrasjonene er angitt i tabell 28.

Studiekriteriene for å vurdere effekten av tilstedeværelse av mikroorganisme på spesifisiteten i analysen var basert på positivitet. Kryssreaktivitet ble observert med lavrisiko HPV-genotyper 26, 67, 70 og 82, men ikke med noen av de andre organismene som ble testet.

Tabell 28: Analytisk spesifisitetspanel: organismer og konsentrasjon uten kryssreaktivitet

| Organisme | Testkonsentrasjon uten kryssreaktivitet | Organisme | Testkonsentrasjon uten kryssreaktivitet |
|--|--|---|--|
| Bakterier | | | |
| <i>Acinetobacter lwoffii</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Listeria monocytogenes</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Actinomyces israelii</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Micrococcus luteus</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Alcaligenes faecalis</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Mobiluncus curtisii</i> | 2 x 10 ⁷ CFU/ml |
| <i>Atopobium vaginae</i> | 5 x 10 ⁷ CFU/ml | <i>Mycobacterium smegmatis</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Bacillus cereus</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Mycoplasma fermentans</i> | 5 x 10 ⁷ CFU/ml |
| <i>Bacteroides fragilis</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Mycoplasma genitalium</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Bacteroides ureolyticus</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Mycoplasma hominis</i> | 5 x 10 ⁷ CFU/ml |
| <i>Bifidobacterium adolescentis</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Bifidobacterium breve</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> og <i>Chlamydia trachomatis</i> | 2,5 x 10 ⁷ CFU/ml 2,3 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml |
| <i>Campylobacter fetus-fetus</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Neisseria meningitidis</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | 3,2 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml | <i>Peptoniphilus lacrimalis</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Clostridium difficile</i> | 6 x 10 ⁷ CFU/ml | <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Propionibacterium acnes</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Corynebacterium genitalium</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Proteus mirabilis</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Corynebacterium xerosis</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Proteus vulgaris</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Providencia stuartii</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Escherichia coli</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Ruminococcus productus</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Fingoldia magna</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Serratia marcescens</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Staphylococcus aureus</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Haemophilus ducreyi</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Streptococcus pyogenes</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Lactobacillus crispatus</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Streptococcus sanguinis</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Ureaplasma urealyticum</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml |
| <i>Lactobacillus jensenii</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | | |

Tabell 28: Analytisk spesifisitetspanel: organismer og konsentrasjon uten kryssreaktivitet (fortsett)

| Organisme | Testkonsentrasjon uten kryssreaktivitet | Organisme | Testkonsentrasjon uten kryssreaktivitet |
|----------------------------------|--|------------------------------|--|
| Gjær/protozoer | | | |
| <i>Candida albicans</i> | 1 x 10 ⁸ CFU/ ml | <i>Trichomonas vaginalis</i> | 1 x 10 ⁷ celler/ml |
| Viruser | | | |
| Adenovirus 2 | 1 x 10 ⁷ vp/ml | Herpes simplex virus 1 | 2,5 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml |
| Cytomegalovirus | 5,6 x 10 ² TCID ₅₀ /ml | Herpes simplex virus 2 | 5 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml |
| Epstein-Barr virus | 4,3 x 10 ⁶ vp/ml | SV40 | 1,2 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml |
| HIV-1 | 1,0 x 10 ⁶ kopier/ml | | |
| Ikke-målede HPV-genotyper | | | |
| HPV 6 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml | HPV 61 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml |
| HPV 11 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml | HPV 67 | 1 kopi/ml |
| HPV 26 | 2,5 kopier/ml | HPV 69 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml |
| HPV 30 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml | HPV 70 | 1 kopi/ml |
| HPV 34 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml | HPV 71 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml |
| HPV 42 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml | HPV 73 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml |
| HPV 43 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml | HPV 81 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml |
| HPV 44 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml | HPV 82 | 1 kopier/ml |
| HPV 53 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml | HPV 85 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml |
| HPV 54 | 2,5 x 10 ⁶ kopier/ml | | |

vp = virale partikler

CFU = kolonidannende enheter

TCID₅₀ = vevskultur smittedose 50

Merknad: Fet skrift angir typer der kryssreaktivitet (> 5 % positivitet) ble observert da de ble testet i konsentrasjoner større enn det som er oppgitt i tabellen.

Den analytiske sensitiviteten til Aptima HPV assay ved tilstedeværelse av mikroorganismer ble evaluert med det samme panelet som er beskrevet i tabell 28, som også ble tilsatt en lav konsentrasjon av HPV-infiserte SiHa-celler (1 celle per reaksjon). Studiekriteriene for å vurdere effekten av tilstedeværelse av mikroorganisme på sensitiviteten i analysen var basert på positivitet. Sensiviteten i Aptima HPV assay ble ikke påvirket av noen av organismene som ble testet.

Interferens

Stoffene beskrevet i tabell 29 ble enkeltvis tilsatt i PreservCyt-løsning ved 1 % og 10 % v/v eller w/v, fortynnet med STM og deretter testet med Aptima HPV assay. Alle substansene ble testet i nærvær og fravær av HPV-infiserte kultiverte celler (SiHa, 3 celler/reaksjon). Interferens ble observert med to av de sju smøremidlene som inneholdt polykvaternium 15, og med én av de fem soppdrepende legemidlene som inneholdt tiokonazol. Interferens ble ikke observert med noen av de andre stoffene som ble testet.

Tabell 29: Substanser testet for mulig interferens med Aptima HPV Assay

| Produktkategori | Produktmerke eller -type | Høyeste konsentrasjon* testet som ikke interfererer med analysens ytelse |
|--|---|--|
| Smøremiddel | KY Sensual Mist | 10 % v/v |
| | KY Warming Jelly | 10 % w/v |
| | KY Warming Liquid | 10 % v/v |
| | CVS-merke personlig smøremiddel | 10 % w/v |
| | Target-merke varmende massasjekrem og personlig smøremiddel | 10 % v/v |
| | Astroglide personlig smøremiddel | 0,3 % w/v (0,075 % w/v testprøve) |
| | Target-merke smørende væske | 0,1 % v/v (0,025 % v/v testprøve) |
| Sæddrepende middel | Gynol II vaginalt prevensjonsmiddel original formel | 10 % w/v |
| | Gynol II vaginalt prevensjonsmiddel ekstra styrke | 10 % w/v |
| | Delfen vaginalt prevensjonsmiddel skum | 10 % w/v |
| | Encare vaginalt prevensjonsmiddel | 10 % w/v |
| | Conceptrol vaginalt prevensjonsmiddel | 10 % w/v |
| Antifungalt/antiklø- legemiddel | Vagisil maksimal styrke | 10 % w/v |
| | Monistat Soothing Care | 10 % w/v |
| | Monistat 3 kombinasjonspakke | 10 % w/v |
| | Target-merke tiokonazol 1 | 0,3 % w/v (0,075 % w/v testprøve) |
| | Target-merke mikonazol 3 | 10 % w/v |
| Iseddiksyre | EMD M/N AX0073-11 | 10 % v/v |
| Helblod | fullblod | 10 % v/v |

*Personlige smøremidler som inneholder polykvaternium 15.

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

Prevalensen av høyrisiko HPV-infeksjon varierer mye og påvirkes av flere faktorer, hvor alder er den største medvirkeren.^{32,33} Mange studier har undersøkt HPV-prevalensen som fastslått gjennom deteksjon av HPV-DNA, men få studier rapporterer prevalens basert på deteksjon av HPV-onkogen mRNA. Kvinner fra en rekke kliniske steder (n = 18), og som representerte en bred geografisk distribusjon og en mangfoldig populasjon (10 delstater i USA), ble registrert i en prospektiv klinisk studie kjent som CLEAR-studien.³⁴ Prevalensen av HPV-mRNA-positive prøver observert i den kliniske studien, som fastslått av Aptima HPV assay på Panther System, ble kategorisert samlet, etter aldersgruppe og teststed. Resultatene vises i tabell 30 for populasjonene atypiske plateepitelceller av ubestemt signifikans (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) og negativ for intraepitelial lesjon eller malignitet (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM).

Tabell 30: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA etter aldersgruppe, teststed og alle kombinert

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

I/A = ikke aktuelt

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

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

CLEAR-studien - baseline-evaluering

CLEAR-studien ble utført for å fastslå den kliniske ytelsen til Aptima HPV assay på Tigris DTS System for deteksjon av intraepitelial neoplasi grad 2 i livmorhalsen eller alvorligere livmorhals sykdom (\geq CIN2). CLEAR-studien inkluderte en baseline-evaluering og en 3-års oppfølgingsevaluering. Kvinner ble registrert i enten ASC-US-studien eller NILM-studien basert på cytologieresultater fra rutinemessig kreftscreening av livmorhals. Populasjonen i ASC-US-studien inkluderte kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater, og populasjonen i NILM-studien inkluderte kvinner 30 år og eldre med NILM-cytologieresultater. NILM-studien ble satt opp for å støtte tilleggskravet til screening for kvinner 30 år og eldre, da kvinner i denne aldersgruppen med cytologieresultater høyere enn ASC-US bør få kolposkopi uansett HPV-status.³⁵

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

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

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

Sykdomsstatusen ble fastslått ut fra et konsensus-histologisk granskningspanel, som var basert på enighet mellom minst 2 ekspertpatologer. Ekspertpatologene var blindet overfor kvinnens HPV-status. De var også blindet overfor cytologistatus, samt hverandres histologidiagnoser. Hvis alle 3 patologer var uenige, gjennomgikk alle 3 patologer objektglassene ved et flerhodet mikroskop for å bli enige. hverandres histologidiagnoser. Utpøvere, klinikere og kvinner var blindet overfor HPV-testresultatene til etter fullførelse av kolposkopibesøket, for å unngå bias. Ved baseline ble klinisk ytelse av Aptima HPV assay for deteksjon av \geq CIN2 og intraepitelial neoplasi grad 3 i livmorhalsen eller alvorligere livmorhals sykdom (\geq CIN3) vurdert i forhold til den statusen på livmorhals sykdommen som ble bestemt ved baseline. Klinisk ytelse for den kommersielt tilgjengelige HPV DNA-testen ble også fastslått for direkte sammenligning med Aptima HPV assay-resultatene.

CLEAR-studien - Oppfølgingsvurdering

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

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

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

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

Analyseytelse for Panther System

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

Det var totalt 1252 kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater registrert i ASC-US-studien. Av disse ble 294 kvinner avregistrert. De gjenværende 958 kvinnene var kvalifisert for testing på Panther System. To kvinner manglet prøver, og 19 hadde en ubestemt sykdomsdiagnose. Alle ble ekskludert fra analysen. De gjenværende 937 evaluerbare kvinnene var 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater, Aptima HPV assay-resultater på Panther System og bestemt sykdomsstatus. Nittien (91) kvinner hadde \geq CIN2, og førtien (41) hadde \geq CIN3. Prevalensen av \geq CIN2 og \geq CIN3 hos evaluerbare kvinner med ASC-US-cytologieresultater var henholdsvis 9,7 % og 4,4 %. Resultatene av Aptima HPV assay i henhold til diagnosene fra det konsensus-histologiske granskningspanelet vises i tabell 31.

Tabell 31: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Resultater av Aptima HPV Assay i henhold til diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel

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

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

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

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

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

Kliniske ytelsesestimater for Aptima HPV assay, inkludert sensitivitet, spesifisitet, positiv prediktiv verdi (PPV) og negativ prediktiv verdi (NPV) for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 basert på evaluering av alle biopsier og inkludering av kun rettede biopsier, vises i tabell 32, og det samme gjelder estimater for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen.

Tabell 32: Populasjonen ASC-US ≥ 21 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av ≥ CIN2 og ≥ CIN3

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

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

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

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

Av de 91 tilfellene \geq CIN2 ble 60 (65,9 %) identifisert i rettede biopsier og 31 (34,1 %) identifisert fra tilfeldige og/eller ECC-biopsier (dvs. ikke i rettede biopsier). Disse funnene er tilsvarende resultatene fra publiserte studier, der ca. 25 % til 40 % av tilfeller \geq CIN2 ble identifisert fra kun tilfeldige og/eller ECC-biopsiprøver.^{36,37} Ved bruk av kun rettede biopsier til å fastslå sykdomsstatus (forutsatt at kvinner uten rettede biopsier hadde normale histologieresultater fordi ingen synlige lesjoner var til stede) var prevalensen av \geq CIN2 og \geq CIN3 i studien henholdsvis 6,4 % og 3,1 %. De kliniske sensitivitetsestimatene for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 var høyere for begge tester ved bruk av kun rettede biopsier enn estimater beregnet ved bruk av alle biopsier. For begge analyser var den kliniske spesifisiteten ved bruk av kun rettede biopsier lignende spesifisiteten oppnådd med alle biopsier inkludert. Følgelig, når kun rettede biopsier ble brukt, var spesifisiteten for Aptima HPV assay signifikant høyere enn den for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen.

Kliniske ytelsesestimater for Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen vises etter aldersgruppe i tabell 33 og tabell 34 (henholdsvis \geq CIN2 og \geq CIN3, basert på evaluering av alle biopsier).

Tabell 33: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av \geq CIN2 etter aldersgruppe

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

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

Tabell 34: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av \geq CIN3 etter aldersgruppe

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

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

Den absolutte risikoen for sykdom (\geq CIN2 og \geq CIN3, basert på evaluering av alle biopsier) i henhold til Aptima HPV assay-resultat og den relative risikoen for sykdom, for positive kontra negative Aptima HPV assay-resultater vises i tabell 35, og det samme gjelder estimatene for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen. Den relative risikoen for \geq CIN2 var 7,4 (95 % KI: 4,3, 13,0), som indikerer at en kvinne som var Aptima HPV assay-positiv hadde 7,4 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 sammenlignet med en kvinne som var Aptima HPV assay-negativ. Den relative risikoen for \geq CIN3 var 12,5 (95 % KI: 4,5, 34,9).

Tabell 35: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test

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

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

Absolutte og relative risikoestimer for sykdom (\geq CIN2 og \geq CIN3, basert på evaluering av alle biopsier) for Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen vises etter aldersgruppe i tabell 36.

Tabell 36: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test etter aldersgruppe

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

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

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

Totalt 11 644 kvinner med NILM-cytologieresultater ble registrert i NILM-studien. Av disse ble 773 avregistrert. De gjenværende 10 871 kvinnene var kvalifisert for testing på Panther System. Elleve kvinner manglet prøver og ble ekskludert fra baseline-evalueringen av Aptima HPV assay på Panther System. De gjenværende 10 860 evaluerbare kvinnene var 30 år og eldre med NILM-cytologieresultater og Aptima HPV assay-resultater på Panther System. Av de 512 kvinnene med positive Aptima HPV assay-resultater på Panther System fikk 284 kolposkopi ved baseline. Av de 10 348 kvinnene med negative Aptima HPV assay-resultater fikk 580 kolposkopi ved baseline. Tjue (20) kvinner hadde ≥ CIN2, og elleve (11) hadde ≥ CIN3; 798 kvinner hadde normal/CIN1-histologi; 46 kvinner hadde ubestemt sykdomsstatus. Resultatene av Aptima HPV assay på Panther System i henhold til diagnosen fra det konsensus-histologiske granskningspanelet ved baseline vises i tabell 37.

Tabell 37: Populasjonen NILM ≥ 30 år: Resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test i henhold til diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel ved baseline

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

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

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

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

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

Totalt 10 042 kvinner hadde uverifisert (inkludert ubestemt) sykdomsstatus ved baseline (tabell 38). Fordi kun tilfeldig utvalgte kvinner med negativt resultat for både Aptima HPV assay på Tigris DTS System og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen ble henvist til kolposkopi, var andelen kvinner med uverifisert sykdomsstatus høy i denne gruppen (96,6 %). For å justere for denne verifikasjonsbiasen ble det brukt en multippel imputering-metode til å estimere antallet kvinner med sykdom som ville ha blitt identifisert hvis alle kvinner hadde fått kolposkopi. Både verifikasjonsbiasjusterte ytelsesestimer og ujusterte ytelsesestimer, basert på de 818 kvinnene med verifisert sykdomsstatus ved baseline vises.

Tabell 38: Populasjonen NILM \geq 30 år: Klassifisering av evaluerbare NILM-kvinner i henhold til resultater fra Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test, sykdomsstatus (\geq CIN2 og \geq CIN3) og sykdomsverifikasjonsstatus

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

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

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

Den justerte prevalensen av \geq CIN2 og \geq CIN3 hos kvinner med NILM-cytologieresultater var henholdsvis 0,9 % og 0,4 %. De justerte absolutte og relative risikoestimatene for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 ved baseline vises i tabell 39. Den justerte relative risikoen for \geq CIN2 var 7,5 (95 % KI: 2,1, 26,3), som indikerer at en kvinne som var Aptima HPV assay-positiv hadde 7,5 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 sammenlignet med en kvinne som var Aptima HPV assay-negativ. Den justerte relative risikoen for \geq CIN3 var 24,9 (95 % KI: 2,0, 307,0). De ujusterte absolutte og relative risikoestimatene for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 ved baseline vises samlet i tabell 40 og etter aldersgruppe i tabell 41.

Tabell 39: Populasjonen NILM \geq 30 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test (verifikasjonsbiasjusterte estimater) ved baseline

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

Tabell 40: Populasjonen NILM \geq 30 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test (ujusterte estimater) ved baseline

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

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

Tabell 41: Populasjonen NILM \geq 30 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test etter aldersgruppe (ujusterte estimater) ved baseline

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

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

Justerte kliniske ytelsesestimater for Aptima HPV assay, inkludert sensitivitet, spesifisitet, PPV og NPV for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3, vises i tabell 42, og det samme gjelder estimater for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen. Ujusterte kliniske ytelsesestimater vises i tabell 43. Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen hadde lignende sensitivitet, mens spesifisiteten var signifikant høyere for Aptima HPV assay (ikke-overlappende 95 % KI-er). Prediktive verdiestimater for Aptima HPV assay var klinisk relevante og lignende estimatene for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen. NPV var lignende, men for deteksjonen av \geq CIN2 var PPV for Aptima HPV assay litt høyere enn PPV for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen (4,5 % mot 3,7 %).

Tabell 42: Populasjonen NILM \geq 30 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 (verifikasjonsbiasjusterte estimater) ved baseline

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

Tabell 43: Populasjonen NILM \geq 30 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 (ujusterte estimater) ved baseline

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

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

Direkte sammenligning av Aptima HPV assay på Panther System og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen demonstrerer lignende sensitivitet og statistisk signifikant forbedret spesifisitet for Aptima HPV assay sammenlignet med den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen for deteksjon av \geq CIN2, som vist av forholdstallene for sant positive og falskt positive forekomster (henholdsvis tabell 44 og tabell 45).

Tabell 44: Populasjonen NILM \geq 30 år: Forholdstall for sant positive forekomster (Aptima HPV Assay/ HPV-DNA-test) for kvinner med \geq CIN2 (justerte estimater) ved baseline

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

Tabell 45: Populasjonen NILM \geq 30 år: Forholdstall for falskt positive forekomster (Aptima HPV Assay/ HPV-DNA-test) for kvinner med $<$ CIN2 (justerte estimater) ved baseline

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

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

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

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

og kommersielt tilgjengelig HPV DNA assay, og den 3-årige sykdomsstatusen (inkluderer baseline og oppfølgingsvurdering) fra konsensus-histologisk granskningspanel er presentert i tabell 46.

Tabell 46: NILM \geq 30 års populasjon: Klassifisering av godkjente kvinner for oppfølgingsfasen av baseline Aptima HPV assay-resultater, baseline HPV DNA prøveresultater og sykdomsstatus (\geq CIN2, \geq CIN3, ubekreftet) avgjort i baseline og oppfølgingsfaser

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

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

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

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

De 3-årige kumulative absolutte og relative risikoestimer for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 er vist i tabell 47.

Tabell 47: NILM \geq 30 års populasjon: 3-årige kumulative absolutte og relative risikoestimer* for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV DNA-prøve ved baseline

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

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

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

Klinisk ytelse for Aptima HPV Assay med SurePath flytende cytologiprøver

SurePath flytende cytologiprøver ble oppsamlet fra canadiske kvinner (n = 558) som ble henvist til oppfølging på grunn av én eller flere unormale celleprøver, en HPV-infeksjon eller andre grunner. En alikvot (0,5 ml) av hver prøve ble overført til et Aptima prøveoverføringsrør og deretter behandlet med Aptima overføringsløsning. Ett enkelt replikat av hver prøve ble testet med Aptima HPV assay. En separat alikvot (1 ml) av hver prøve ble fjernet for evaluering med en kommersielt tilgjengelig HPV-PCR-test. Den kliniske sensitiviteten for deteksjon av sykdom, definert som et histologiresultat \geq CIN3, ble beregnet for både Aptima HPV assay og HPV-PCR-testen, som vist i tabell 48, med de positive og negative prediktive verdiene.

Tabell 48: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-PCR-test for deteksjon av \geq CIN3

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

Ytelse for Aptima HPV Assay med livmorhalsprøver oppsamlet for transport

Høyrisiko HPV-positive og høyrisiko HPV-negative kliniske prøver oppsamlet fra både screening- (rutinemessig besøk) og henviste (kolposkopibesøk) populasjoner med Aptima CSCT-sett, ble testet med Aptima HPV assay på Panther og Tigris DTS System ved bruk av to reagenspartier. Samsvaret mellom Panther og Tigris DTS System for CSCT-prøver vises i tabell 49.

For CSCT-prøver var det totale samsvaret mellom Panther og Tigris DTS Systems > 98 %, som vist i tabell 49. Av de 632 kliniske prøvene som ble testet, var 69 CIN2+ og 38 var CIN3+. Sensitiviteten i Aptima HPV assay for deteksjon av CIN2+ var 97,1 % (95 % KI: 90,0-99,2 %) på Panther System og 98,6 % (95 % KI: 92,2-99,7) på Tigris DTS System. Sensitivitet for deteksjon av CIN3+ var 100 % (KI: 90,8-100 %) på både Panther og Tigris DTS Systems.

Tabell 49: Samsvar mellom Aptima HPV Assay-resultater fra Aptima CSCT-prøver testet på Tigris DTS og Panther Systems

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

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

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

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

Analytisk sensitivitet

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

Probit-analysresultatene i tabell 50 viser at HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 og 68 hadde 95 % deteksjonsgrenser på under 100 kopier/reaksjon, og type 52, 58 og 66 hadde 95 % deteksjonsgrenser på mellom 100 og 500 kopier/reaksjon. De fire cellelinjene som ble testet, hadde 95 % deteksjonsgrenser på under 1 celle/reaksjon.

Tabell 50: Deteksjonsgrense ved klinisk cutoff for Aptima HPV Assay

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

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

Analysens presisjon

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

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

Panelementene er beskrevet i tabell 51a (panelementer med forventet positivt resultat) og tabell 51b (panelementer med forventet negativt resultat), sammen med et sammendrag av samsvaret mellom forventede resultater og analytt S/CO-verdier ved 2,5., 50. og 97,5. persentil i S/CO-distribusjonen. Analytt S/CO-variabilitet for panelementene med forventet positivt resultat vises i tabell 52 for studie 1 og tabell 53 for studie 2.

Tabell 51a: Presisjonsstudie 1 og 2 for Aptima HPV Assay: Panelbeskrivelse, positiv-samsvar og persentildistribusjon av analytt S/CO-verdier for panelelementer med forventet positivt resultat

| Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon) | Studie 1 (3 teststeder) | Studie 2 (1 teststed) |
|---|--------------------------------|--------------------------------|
| | % positiv-samsvar (95 % KI) | % positiv-samsvar (95 % KI) |
| Høyt HPV-positiv klinisk prøve 1 | 100 (107/107) (96,5, 100) | 100 (161/161) (97,7, 100) |
| Høyt HPV-positiv 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) |
| Lavt HPV-positiv klinisk prøve 1 | 94,4 (101/107) (88,3, 97,4) | 89,5 (145/162) (83,3, 93,3) |
| Lavt HPV-positiv klinisk prøve 2 | 88,0 (95/108) (80,5, 92,8) | 92,0 (149/162) (86,8, 95,3) |
| Lavt HPV-positiv klinisk prøve 3 | 100 (108/108) (96,6, 100) | 97,5 (157/161) (93,8, 99,0) |
| Lavt HPV-positiv 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-samsvar ~95 %; observert lavere mulighet pga. produksjonsvariabilitet i panelelementet.

Tabell 51b: Presisjonsstudie 1 og 2 for Aptima HPV Assay: Panelbeskrivelse, negativ-samsvar og persentildistribusjon av analytt S/CO-verdier for panelelementer med forventet negativt resultat

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

IVT = *in vitro*-transkript.

*Forventet % negativ-samsvar > 75 % og < 100 %.

Tabell 52: Presisjonsstudie 1 for Aptima HPV Assay: Signalvariabilitet for panelementer med forventet positivt resultat

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

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

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

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

Tabell 53: Presisjonsstudie 2 for Aptima HPV Assay: Signalvariabilitet for panelementer med forventet positivt resultat

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

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

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

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

Kryssreaktivitet

Testing med potensielt kryssreaktive organismer for Aptima HPV assay ble utført med Tigris DTS System. Se *Kryssreaktivitet* (tabell 28) i avsnittet Tigris DTS System for resultater.

Interferens

Testing med potensielt interfererende stoffer for Aptima HPV assay ble utført med Tigris DTS System. Se *Interferens* (tabell 29) i avsnittet 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. Sunyum, 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. Weinschenk, 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

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

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



Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Du finner flere kontaktopplysninger på www.hologic.com.

Dette produktet er beregnet brukt bare innen feltet human *in vitro*-diagnose.

Hologic, Aptima, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep og Tigris er varemerker og/eller registrerte varemerker som tilhører Hologic, Inc. og/eller dets datterselskaper i USA og/eller andre land.
eppendorf (stilisert) og REPEATER er varemerker for Eppendorf AG.

RAININ er et varemerke for Rainin Instruments, LLC.

TECAN og FREEDOM EVO er varemerker for Tecan Group AG.

SUREPATH og PREPSTAIN er varemerker eid av TriPath Imaging, Inc.

Alle andre varemerker som kan finnes i dette pakningsvedlegget, eies av sine respektive eiere.

Dette produktet kan være dekket av ett eller flere patenter i USA, som identifiseres på www.hologic.com/patents.

© 2007–2018 Hologic, Inc. Med enerett.
AW-14517-1801 Rev. 005

2018-03