

Aptima HPV 16 18/45 Genotype 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	5
Oppsamling og oppbevaring av prøver	6
Testtolking	19
Begrensninger	20
Forventede resultater for Tigris DTS System: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA	21
Analyseytelse for Tigris DTS System	22
Forventede resultater for Panther System: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA	41
Analyseytelse for Panther System	42
Bibliografi	59

Tigris™ DTS™ System

Tigris DTS System	8
Reagenser og materialer som følger med	8
Materialer som er nødvendige, men leveres separat ...	9
Testprosedyre for Tigris DTS System	10
Prosedyremerknader	12

Panther™ System

Panther System	13
Reagenser og materialer som følger med	13
Materialer som er nødvendige, men leveres separat ...	14
Testprosedyre for Panther System	15
Prosedyremerknader	17

Allmenn informasjon

Beregnet bruk

Aptima HPV 16 18/45 genotype assay er en *in vitro* nukleinsyre-amplifikasjonstest for kvalitativ deteksjon av E6/E7 viralt budbringer-RNA (messenger RNA, mRNA) fra humant papillomavirus (HPV) høyrisikotyper 16, 18 og 45 i prøver fra kvinner med positive Aptima HPV assay-resultater. HPV-mRNA påvises i væskebasert cytologi-celleprøver fra livmorhalsen oppsamlet i ThinPrep™-ampuller som inneholder PreservCyt™-løsning, før eller etter celleprøvebehandling, eller i prøver oppsamlet med Aptima-settet for oppsamling og transport av livmorhalsprøver. Prøver fra livmorhalsen oppsamlet i SurePath konserveringsvæske kan testes med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Assayen brukes med Tigris DTS System og Panther System.

Oppsummering og forklaring på testen

Livmorhalskreft er en av de mest vanlige kvinnelige kreftypene i verden. HPV er den etiologiske agensen som er ansvarlig for over 99 % av alle tilfeller av livmorhalskreft.^{1,2,3} HPV er et vanlig seksuelt overførbart DNA-virus som består av over 100 genotyper.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 progresjon av 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} Kvinner som har en persistent infeksjon med en av disse typene, har økt risiko for å utvikle alvorlig dysplasi eller kreft i livmorhalsen.^{7,9}

Studier har vist at forskjellige typer høyrisiko HPV gir forskjellige nivåer av risiko for å utvikle alvorlig dysplasi eller livmorhalskreft. Globalt er HPV-type 16, 18, og 45 forbundet med ca. 80 % av alle tilfeller av invasiv livmorhalskreft.^{2,10} Disse tre typene finnes i 75 % av alle tilfeller av plateepitelkarsinom, hvor type 16 utgjør størsteparten (85 %) av disse infeksjonene. Ved adenokarsinom finnes HPV-type 16, 18 og 45 i 80-94 % av tilfellene, hvor type 18 og 45 utgjør nesten halvparten av disse infeksjonene.^{2,10} Tilstedeværelse av HPV-type 18 ved livmorhalskreft på tidlig stadium har blitt rapportert som forbundet med en dårlig prognose.¹¹ HPV-type 18 og 45 er underrapportert i kreftaktige lesjoner, som kan skyldes tilstedeværelse av okkulte lesjoner i cervixkanalen som er utilgjengelige for kolposkopisk undersøkelse.¹² Hos kvinner med HPV-type 16 og/eller 18 er den kumulative risikoen for å utvikle livmorhals sykdom 10 ganger høyere sammenlignet med risikoen for å utvikle sykdom som følge av andre høyrisikotyper.^{13,14,15}

Prinsipper for prosedyren

Aptima HPV 16 18/45 genotype assay involverer tre hovedtrinn i ett enkelt rør: målinnfanging, målampifisering med transkripsjonsmediert amplifikasjon (Transcription-Mediated Amplification, TMA),¹⁶ og deteksjon av amplifikasjonsproduktene (amplikon) med hybridiseringsvernanalyse (Hybridization Protection Assay, HPA).¹⁷ 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 16 18/45 genotype assay utføres, blir mål-mRNA isolert fra prøven ved hjelp av oppfangete oligomere som er koblet til magnetiske mikropartikler. De oppfangete oligomere inneholder sekvenser som er komplementære til spesifikke regioner på HPV mRNA-målmolekylene, i tillegg til en streng av deoksyadenosinrester. På hybridiseringstrinnet binder de sekvensspesifikke regionene på de oppfangete oligomere seg til spesifikke regioner på HPV mRNA-målmolekylene. Det oppfangete oligomer-målkomplekset 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 siden i 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-kopialen.

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

IC (Internal Control – internkontroll) legges til hver reaksjon via målinnfangingsreagensen. Internkontrollen overvåker trinnene for målinnfanging, -amplifisering og -deteksjon i analysen. Dobbel kinetisk analyse (Dual Kinetic Assay, DKA) er metoden som brukes til å skjelne mellom HPV-signalene og IC-signalet.¹⁸ IC- and HPV 16-amplikon detekteres av prober med rask lysemisjonskinetikk (flasher). IC-signalet i hver reaksjon skilles fra HPV 16-signalet etter størrelsen på lysemisjonen. Amplikoner spesifikke for HPV 18 og 45 detekteres ved hjelp av prober med relativt tregere lysemisjonskinetikk (glower).

Advarsler og forholdsregler

- A. Til bruk ved *in vitro*-diagnose.
- B. For ytterligere spesifikke advarsler og forholdsregler knyttet til instrumenteringen, se *Tigris DTS System Operator's Manual* (brugerhåndboken for Tigris DTS System) eller *Panther System Operator's Manual* (brugerhåndboken for Panther System).

Laboratorierelatert

- C. Bruk bare levert eller spesifisert engangs laboratorievare.
- 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 dekontamineres regelmessig med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. Se *Testprosedyre for Tigris DTS System* eller *Testprosedyre for Panther 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 som står oppført på prøveoppsamlings-/overføringssett og rør, gjelder overføringsstedet og ikke testinstitusjonen. 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. Væske kan komme ut fra rørhettene ved gjennomhulling under visse forhold. Se *Testprosedyre for Tigris DTS System* eller *Testprosedyre for Panther System* for mer informasjon.
- L. ThinPrep flytende cytologiprøver og Aptima 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 System væskekonserveringsmiddel (kun Tigris DTS System) og Auto Detect-reagenser 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 plugger 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 16 18/45 amplifikasjonsreagens
 - HPV 16 18/45-enzymreagens
 - HPV 16 18/45 probereagens
 - HPV 16 18/45 internkontrollreagens
 - HPV 16 18/45-positive kalibratorer og HPV 16 18/45-negative kalibratorer
- B. Følgende reagenser skal oppbevares ved 15 °C til 30 °C (romtemperatur):
 - HPV 16 18/45 amplifikasjon-rekonstitusjonsløsning
 - HPV 16 18/45 enzym-rekonstitusjonsløsning

- HPV 16 18/45 probe-rekonstitusjonsløsning
 - HPV 16 18/45 målinnfangingsreagens
 - HPV 16 18/45-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 16 18/45 amplifikasjonsreagens
 - HPV 16 18/45-enzymreagens
 - HPV 16 18/45 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 16 18/45 genotype assay-reagenser er stabile i kumulative 48 timer når de oppbevares i Tigris DTS System.
- G. Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-reagensene er stabile i kumulative 72 timer når de oppbevares i 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 cytobørste/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 CSCT-settet.

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 til -70 °C 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.
5. Overførte SurePath-prøver må behandles med Aptima overføringsløsning før testing med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. De behandlede prøvene kan oppbevares ved 2 °C til 8 °C i opptil 17 dager før testing med Aptima 16 18/45 genotype assay. Se pakningsvedlegget for prøveroverføringssettet for nærmere informasjon.

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 til -70 °C i opptil 24 måneder.

C. 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 ugjennomstikkbar hette settes på prøverørene. Hvis prøvene skal sendes til testing på et annet sted, må de angitte temperaturene opprettholdes. Før man tar av hettene på prøver som har blitt testet tidligere og fått hettene satt på igjen, må rørene sentrifugeres i 5 minutter ved 420 relativ sentrifugalkraft (Relative Centrifugal Force, RCF) for å senke all væsken til bunnen på røret.

Merknad: Prøver må forsendes i tråd med gjeldende lokale, nasjonale og internasjonale transportbestemmelser.

Tigris DTS System

Reagenser og materialer som følger med

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sett, 100 tester (3 esker), katalognr. 303234

Kalibratorer kan kjøpes separat. Se individuelle eskekatalognumre nedenfor.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay-kjøleske (oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
A	HPV 16 18/45 amplifikasjonsreagens <i>Ikke-infeksiøse nukleinsyrer tørket i bufret løsning som inneholder < 5 % fyllmiddel.</i>	1 ampulle
E	HPV 16 18/45-enzymreagens <i>Revers transkriptase og RNA-polymerase tørket i HEPES bufret løsning som inneholder < 10 % fyllingsreagens.</i>	1 ampulle
P	HPV 16 18/45 probereagens <i>Ikke-infeksiøse kjemiluminescente DNA-prober (< 500 ng/ampulle) tørket i suksinatbufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	1 ampulle
IC	HPV 16 18/45 internkontrollreagens <i>Ikke-infeksiøs RNA-transkript i bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	1 ampulle

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay-romtemperatureske (oppbevares ved 15 °C til 30 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
AR	HPV 16 18/45 amplifikasjon-rekonstitusjonsløsning <i>Vannholdig løsning som inneholder konserveringsmidler.</i>	1 ampulle
ER	HPV 16 18/45 enzym-rekonstitusjonsløsning <i>HEPES bufret løsning som inneholder overflateaktivt stoff og glyserol.</i>	1 ampulle
PR	HPV 16 18/45 probe-rekonstitusjonsløsning <i>Suksinatbufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	1 ampulle
S	HPV 16 18/45-valgreagens <i>600 mM boratbufret løsning som inneholder overflateaktivt stoff.</i>	1 ampulle
TCR	HPV 16 18/45 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 16 18/45 Genotype Assay-kalibratoreske (katalognr. 303235)
(oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
PCAL1	HPV 16 18/45 positiv kalibrator 1 <i>Ikke-infeksiøs HPV 18 in vitro-transkript ved 750 kopier per ml i en bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	5 ampuller
PCAL2	HPV 16 18/45 positiv kalibrator 2 <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 16 18/45 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>
Tigris DTS System	105118
Tigris DTS System-kjøresett	301191
Flerrør-enheter (Multi-tube Units, MTU)	104772-02
MTU-avfallspose for spisser	900907
MTU-avfallsavledere	900931
MTU-avfallsdeksler	105523
Aptima assay væskesett	302382
(Aptima vaskeløsning, Aptima buffer for deaktiveringsvæske og Aptima oljereagens)	
Aptima Auto Detect-sett	301048
Aptima System væskekonserveringssett	302380
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 100 testsett:	
Rekonstitusjonsløsninger for amplifiseringsreagens og probereagens	CL0041
Rekonstitusjonsløsning for enzymreagens	CL0041
TCR og valgreagens	501604
Blekemiddel, minimum 5 % eller 0,7 M natriumhypoklorittløsning	—
Vann for Tigris DTS System	—
Se Tigris DTS System Operator's Manual (brukerhåndboken for Tigris DTS System) for spesifikasjoner	
Engangshansker	—
Aptima overføringsløsningssett (kun for SurePath-prøver)	303658

Valgfrie materialer

	<u>Katalognr.</u>
Blekemiddelforsterker for rengjøring	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 blir tilberedt. Tørk av arbeidsflater og pipetter med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La natriumhypoklorittløsningen komme i kontakt med flatene og pipettene i minst 1 minutt, og skyll deretter med vann. Pass på at ikke natriumhypoklorittløsningen tørker. Dekk til benkeflaten der reagensene skal tilberedes, med rene, plastforete, absorberende benkeovertrekk for laboratorier.

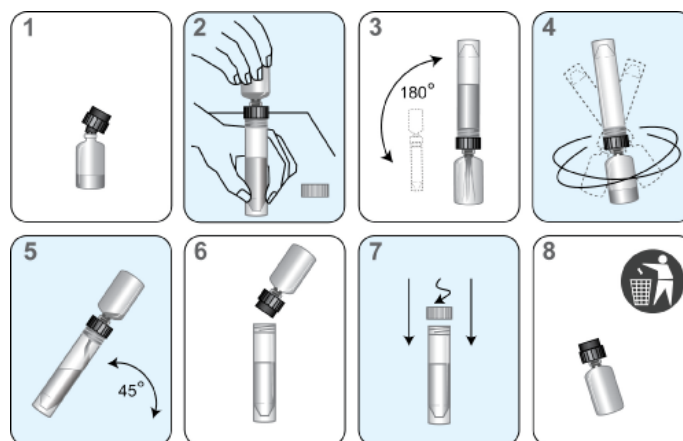
B. Reagenstilberedelse med et nytt sett

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.
 - 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. Virvle løsningen forsiktig i ampullen for å blande grundig. Unngå skumdannelse når ampullen virvles (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 ampullen (figur 1, trinn 6).
 - j. Sett hetten tilbake på plastflasken. Noter operatørinitialene og rekonstitusjonsdatoen på etiketten (figur 1, trinn 7).
 - k. Fjern rekonstitusjonskragen og ampullen (figur 1, trinn 8).

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

Merknad: *Bland amplifikasjons-, enzym-, probe- og valgreagens grundig ved å invertere forsiktig før de plasseres i systemet. Unngå skumdannelse når reagensene inverteres.*



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 reagenspartinumrene på strekkodearket for hovedpartiet for å påse at de riktige reagensene er 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 valgreagens
 - 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 (kalibratorene og prøvene) komme til romtemperatur før prosessering.
2. **Ikke virvelbland prøver.**
3. Kontroller prøverørene før de settes i stativene. 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

Sett opp systemet 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 2 replikater av den negative kalibratoren og hver positive kalibrator. For å arbeide korrekt med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-programvaren må den negative kalibratoren være i første rørposisjon i det første stativet på arbeidslisten, positiv kalibrator 1 må være i den andre rørposisjonen i det første stativet på arbeidslisten, og positiv kalibrator 2 må være i den tredje rørposisjonen i det første stativet på arbeidslisten.
2. Forsøk på å pipettere mer enn to replikater fra et kalibratorrør kan føre til utilstrekkelig volum-feil.
3. Kalibratorer skal brukes med det tilsvarende hovedpartiet av reagenser. Operatøren må kontrollere at riktig parti av kalibratorer brukes med det tilsvarende hovedpartiet av settreagenser som indikert på hovedpartiets strekkodeark. Det aktuelle partinummeret skal oppgis ved bestilling av ytterligere kalibratorer.

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.

Panther System

Reagenser og materialer som følger med

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, 100 tester (3 esker), katalognr. 303236

Kalibratorer kan kjøpes separat. Se individuelle eskekatalognumre nedenfor.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay-kjøleske (oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
A	HPV 16 18/45 amplifikasjonsreagens <i>Ikke-infeksiøse nukleinsyrer tørket i bufret løsning som inneholder < 5 % fyllmiddel.</i>	1 ampulle
E	HPV 16 18/45-enzymreagens <i>Revers transkriptase og RNA-polymerase tørket i HEPES bufret løsning som inneholder < 10 % fyllingsreagens.</i>	1 ampulle
P	HPV 16 18/45 probereagens <i>Ikke-infeksiøse kjemiluminescente DNA-prober (< 500 ng/ampulle) tørket i suksinatbufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	1 ampulle
IC	HPV 16 18/45 internkontrollreagens <i>Ikke-infeksiøs RNA-transkript i bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	1 ampulle

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay-romtemperatureske (oppbevares ved 15 °C til 30 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
AR	HPV 16 18/45 amplifikasjon-rekonstitusjonsløsning <i>Vannholdig løsning som inneholder konserveringsmidler.</i>	1 ampulle
ER	HPV 16 18/45 enzym-rekonstitusjonsløsning <i>HEPES bufret løsning som inneholder overflateaktivt stoff og glyserol.</i>	1 ampulle
PR	HPV 16 18/45 probe-rekonstitusjonsløsning <i>Suksinatbufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	1 ampulle
S	HPV 16 18/45-valgreagens <i>600 mM boratbufret løsning som inneholder overflateaktivt stoff.</i>	1 ampulle
TCR	HPV 16 18/45 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 16 18/45 Genotype Assay-kalibratoreske (katalognr. 303235)
(oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
PCAL1	HPV 16 18/45 positiv kalibrator 1 <i>Ikke-infeksiøs HPV 18 in vitro-transkript ved 750 kopier per ml i en bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	5 ampuller
PCAL2	HPV 16 18/45 positiv kalibrator 2 <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 16 18/45 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>Multirør enheter (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 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.

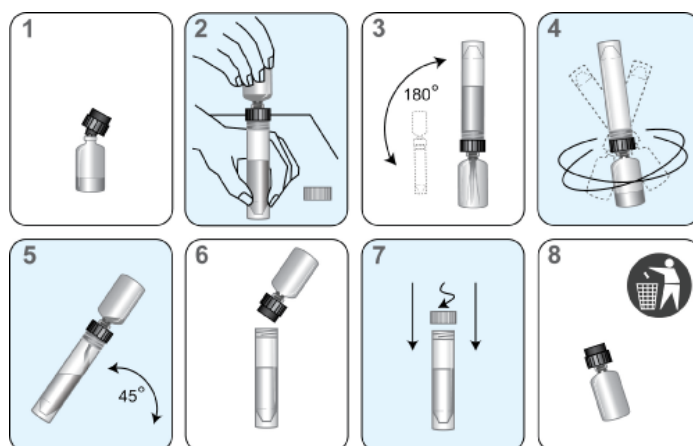
B. Reagenstilberedelse med et nytt sett

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 etiketten (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.*

Merknad: *Bland amplifikasjons-, enzym-, probe- og valgreagens grundig ved å invertere forsiktig før de plasseres i systemet. Unngå skumdannelse når reagensene inverteres.*



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 (kalibratorer, prøver og eventuelle brukergitte eksterne kvalitetskontrollprøver) nå romtemperatur før behandling.
2. **Ikke virvelbland prøver.**
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

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-adaptore av riktig størrelse.

Prosedyremerknader

A. Kalibratorer

1. For å arbeide korrekt med Aptima 16 18/45 genotype assay-programvaren på Panther System trengs det to replikater av den negative kalibratoren og hver positive kalibrator. En ampulle av hver kalibrator kan plasseres i hvilken som helst stativposisjon i en prøvebane på Panther System. Prøvepipettering begynner når én av følgende to forhold er oppfylt:
 - a. Positive og negative kalibratorer blir i øyeblikket behandlet av Panther System.
 - b. Gyldige resultater for kalibratorene registreres på Panther System.
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 Panther System.
 - c. Det tilhørende analysereagenssettet har overskredet stabilitetsgrensene.
3. Forsøk på å pipettere mer enn to replikater fra et kalibratorrør kan føre til utilstrekkelig volum-feil.

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 Positiv kalibrator 1-replikat.
- Mer enn ett ugyldig Positiv kalibrator 2-replikat.
- Over 1 av 6 ugyldige kalibratorreplikater kombinert.

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 kjøringer må gjentas.

B. Kriterier for kalibratorgodkjennelse

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

	Tigris DTS System	Panther System
Negativ kalibrator		
18/45 RLU	≥ 0 og $\leq 60\ 000$ RLU	≥ 0 og $\leq 60\ 000$ RLU
IC/16 RLU	$\geq 75\ 000$ og $\leq 300\ 000$ RLU	$\geq 75\ 000$ og $\leq 300\ 000$ RLU
Positiv kalibrator 1		
18/45 RLU	$\geq 850\ 000$ og $\leq 2\ 200\ 000$ RLU	$\geq 800\ 000$ og $\leq 2\ 200\ 000$ RLU
IC/16 RLU	$\leq 475\ 000$ RLU	$\leq 475\ 000$ RLU
Positiv kalibrator 2		
18/45 RLU	$\leq 115\ 000$ RLU	$\leq 115\ 000$ RLU
IC/16 RLU	$\geq 625\ 000$ og $\leq 4\ 000\ 000$ RLU	$\geq 625\ 000$ og $\leq 4\ 000\ 000$ RLU

C. Internkontroll-cutoff

Internkontroll-cutoff bestemmes ut fra IC/16-analyttsignalet fra de gyldige negative kalibratorreplikatene.

$$\text{Internkontroll-cutoff} = 0,5 \times [\text{middelverdien for IC/16 RLU i de gyldige negative kalibratorreplikatene}]$$

D. Analytt 16-cutoff

Analytt-cutoff for HPV 16 bestemmes ut fra IC/16 RLU-signalet fra de gyldige negative kalibratorreplikatene og de gyldige positive kalibrator 2-replikatene.

$$\text{Analytt 16-cutoff} = 2 \times [\text{middelverdien for IC/16 RLU i de gyldige negative kalibratorreplikatene}] + 0,1 \times [\text{middelverdien for IC/16 RLU i de gyldige positive kalibrator 2-replikatene}]$$

E. Analytt 18/45-cutoff

Analytt-cutoff for HPV 18/45 bestemmes ut fra 18/45 RLU-signalet fra de gyldige negative kalibratorreplikatene og de gyldige positive kalibrator 1-replikatene.

$$\text{Analytt 18/45-cutoff} = 1 \times [\text{middelverdien for 18/45 RLU i de gyldige negative kalibratorreplikatene}] + 0,18 \times [\text{middelverdien for 18/45 RLU i de gyldige positive kalibrator 1-replikatene}]$$

Testtolking

Testresultatene blir automatisk bestemt av analyseprogramvaren. Et testresultat kan være negativt for både HPV 16 og HPV 18/45, negativt for HPV 16 og positivt for HPV 18/45, positivt for HPV 16 og negativt for HPV 18/45, positivt for både HPV 16 og HPV 18/45, eller ugyldig som fastslått av IC RLU- og S/CO-forholdene som beskrevet i tabellen nedenfor. Et testresultat kan også bli ugyldig på grunn av andre parametre (f.eks. unormal kurveform) som ligger utenfor normalt forventede områder. Ugyldige testresultater skal gjentas.

Prøver i 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 fortynnete prøven for å blande den og unngå skumdannelse. Test de fortynnete prøvene i samsvar med standard analyseprosedyre.

Merknad: Ikke fortynn en ugyldig fortynnet prøve. Hvis en fortynnet prøve gir ugyldig resultat, skal en ny prøve tas fra pasienten.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay-resultat	Kriterier
Negativ – 16 Negativ – 18/45	IC/HPV 16 RLU \geq IC-cuttoff og HPV 16 S/CO $<$ 1,00 og HPV 18/45 S/CO $<$ 1,00
Negativ – 16 Positiv – 18/45	HPV 16 S/CO $<$ 1,00 og HPV 18/45 S/CO \geq 1,00 og HPV 18/45 RLU \leq 3 000 000
Positiv – 16 Negativ – 18/45	HPV 16 S/CO \geq 1,00 og IC/HPV 16 RLU \leq 4 000 000 og HPV 18/45 S/CO $<$ 1,00
Positiv – 16 Positiv – 18/45	HPV 16 S/CO \geq 1,00 og IC/HPV 16 RLU \leq 4 000 000 og HPV 18/45 S/CO \geq 1,00 og HPV 18/45 RLU \leq 3 000 000
Ugyldig	HPV 16 S/CO $<$ 1,00 og HPV 18/45 S/CO $<$ 1,00 og IC/HPV 16 RLU $<$ IC-cuttoff eller IC/HPV 16 RLU $>$ 4 000 000 eller HPV 18/45 RLU $>$ 3 000 000

Begrensninger

- A. Andre prøvetyper enn de som er identifisert i den beregnede bruken, har ikke blitt evaluert.
- B. Ytelsen til Aptima HPV 16 18/45 genotype assay har ikke blitt evaluert for HPV-vaksinerte personer.
- C. Aptima HPV 16 18/45 genotype 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 klargjøringen av objektglass for ThinPrep celleprøve, er ansett å være inadekvat for Aptima HPV 16 18/45 genotype assay.
- F. Testresultatene kan påvirkes av uriktig prøveoppsamling, oppbevaring eller prøvebehandling.
- G. Den interne kontrollen overvåker målinnfangings-, amplifiserings- og deteksjonstrinnene i analysen. Den er ikke ment å kontrollere om prøvetakingen fra livmorhalsen er adekvat.
- H. Et negativt Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultat utelukker ikke muligheten for cytologiske abnormiteter eller for fremtidig eller underliggende CIN2, CIN3 eller kreft.
- I. Aptima HPV 16 18/45 genotype assay gir kvalitative resultater. Det kan derfor ikke gjøres en korrelasjon mellom størrelsen på et positivt analysesignal og uttrykksnivået på mRNA i en prøve.
- J. Deteksjon av høyrisiko HPV (type 16, 18 og 45) mRNA er avhengig av antallet kopier som finnes i prøven, og kan påvirkes av prøveoppsamlingsmetoder, pasientfaktorer, infeksjonsstadium og tilstedeværelse av interfererende stoffer.
- K. 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.
- L. Følgende kan interferere med ytelsen til analysen når til stede ved høyere konsentrasjon enn det som er angitt: vaginale smøremidler (som inneholder polykvaternium 15) ved 1 % w/v, soppdrepende krem (som inneholder tiokonazol) ved 0,03 % w/v, slim ved 0,3 % w/v, intravaginale hormoner (som inneholder progesteron) ved 1 % w/v, Trichomonas vaginalis ved 3×10^4 celler/ml.
- M. Høye konsentrasjoner av HPV 45 kan redusere muligheten for at Aptima HPV 16 18/45 genotype assay detekterer tilstedeværelse av HPV 16 ved lave nivåer.
- N. Virkningene av andre potensielle variabler, f.eks. vaginal utflod, bruk av tamponger osv. samt prøveoppsamlingsvariabler har ikke blitt evaluert.
- O. Bruk av denne anordningen kan være begrenset til personell som er opplært i bruken av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay.
- P. Krysskontaminasjon av prøver kan forårsake falskt positive resultater. Overføringsfrekvensen for Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Tigris DTS System og Panther System var henholdsvis 0,35 % og 0,19 %, som fastslått i ikke-kliniske studier.
- Q. Aptima HPV 16 18/45 genotype assay skal tolkes i forbindelse med andre laboratedata og kliniske data tilgjengelig for klinikeren.

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.^{19,20} 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 for å evaluere Aptima HPV assay, som detekterer 14 høyrisiko HPV-typer.²¹ Prøver fra kvinner i CLEAR-studien med Aptima HPV assay-positive resultater ble evaluert med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i en separat klinisk studie. Prevalensen av HPV 16, 18 og 45, så vel som de resterende 11 høyrisiko HPV-typene observert i den kliniske studien, basert på resultater av testing med Aptima HPV assay og Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, ble kategorisert samlet, etter aldersgruppe og etter 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 i populasjoner etter aldersgruppe, teststed og alle kombinert

	Positivitetsfrekvens % (x/n)							
	Populasjonen ASC-US (≥ 21 år)				Populasjonen NILM (≥ 30 år)			
	HPV 16- pos	HPV 18/45- pos	HPV 16- og 18/45-pos	11 andre HR* pos	HPV 16-pos	HPV 18/45- pos	HPV 16- og 18/45-pos	11 andre HR* pos
Alle	7,8 (71/912)	5,2 (47/912)	0,3 (3/912)	25,5 (233/912)	0,4 (47/10 846)	0,4 (47/10 846)	0 (0/10 846)	3,9 (421/10 846)
Aldersgruppe (år)								
21 til 29	13,2 (51/386)	4,9 (19/386)	0,5 (2/386)	38,3 (148/386)	I/A	I/A	I/A	I/A
30 til 39	5,4 (14/257)	7,0 (18/257)	0,4 (1/257)	21,8 (56/257)	0,7 (30/4188)	0,6 (27/4188)	0 (0/4188)	5,3 (221/4188)
≥ 40	2,2 (6/269)	3,7 (10/269)	0 (0/269)	10,8 (29/269)	0,3 (17/6658)	0,3 (20/6658)	0 (0/6658)	3,0 (200/6658)
Teststed								
1	9,0 (27/301)	4,3 (13/301)	0,7 (2/301)	24,9 (75/301)	0,4 (13/3666)	0,5 (18/3666)	0 (0/3666)	3,8 (141/3666)
2	7,4 (23/310)	6,1 (19/310)	0 (0/310)	26,5 (82/310)	0,5 (18/3671)	0,5 (17/3671)	0 (0/3671)	3,7 (136/3671)
3	7,0 (21/301)	5,0 (15/301)	0,3 (1/301)	25,2 (76/301)	0,5 (16/3509)	0,3 (12/3509)	0 (0/3509)	4,1 (144/3509)

I/A = ikke aktuelt, HR = høyrisiko, pos = positiv

* HPV-typer 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 og 68

Analyseytelse for Tigris DTS System

Oppsett for klinisk studie av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver

Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ble evaluert med henviste celleprøver oppsamlet fra samtykkende kvinner under den prospektive, kliniske multisenterstudien i USA kjent som CLEAR-studien. 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). Kvinner ble registrert i enten ASC-US-studien eller NILM-studien basert på deres henviste ThinPrep væskebasert cytologi-resultater fra rutinemessig kreftscreening av livmorhals. Populasjonen i ASC-US-studien inkluderte kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologiresultater, og populasjonen i NILM-studien inkluderte kvinner 30 år og eldre med NILM-cytologiresultater.

Kvinner fra 18 kliniske steder, hovedsakelig obstetriske/gynekologiske klinikker, som dekket en bred geografisk distribusjon og en mangfoldig populasjon, ble analysert. Under CLEAR-studien ble residuale henviste celleprøver testet med både Aptima HPV assay og en kommersielt tilgjengelig HPV-DNA-test. For den kliniske studien av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ble prøver fra de residuale henviste celleprøvene testet med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay.

Alle kvinner i ASC-US-studien ble henvist til kolposkopi, uansett resultat fra Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen. 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. En ECC-biopsi ble tatt fra alle kvinner som deltok på kolposkopien. Stansebiopsier ble tatt fra kun synlige lesjoner (direkte metode, 1 biopsi per lesjon). Oppfølging av kvinner i NILM-studien som ikke hadde \geq CIN2 ved baseline, pågår i 3 år med årlige cytologibesøk. Kvinner med ASC-US eller alvorligere cytologiresultater under oppfølgingsperioden henvises til kolposkopi gjennom samme biopsiprosedyre som utføres for baseline-evalueringen.

Sykdomsstatusen ble fastslått ut fra et konsensus-histologisk granskningspanel, som var basert på enighet mellom minst 2 ekspertpatologer. Ekspertpatologene var blinde overfor kvinnenens HPV- og cytologistatus, så vel som hverandres histologidiagnoser. Utprøvere, klinikere og kvinner var blinde overfor resultatene fra Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen til etter fullføre av kolposkopibesøket, for å unngå bias.

For å validere den tiltenkte bruken av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay som en reflekstest fra et positivt Aptima HPV assay-resultat var residuale henviste celleprøver fra alle evaluerbare kvinner i ASC-US-studien og NILM-studien, med et positivt Aptima HPV assay-resultat, kvalifisert for testing med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Klinisk ytelse av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ble evaluert for deteksjon av \geq CIN2 og intraepitelial neoplasi grad 3 i livmorhalsen eller alvorligere livmorhalssykdom (\geq CIN3).

Populasjonen ASC-US ≥ 21 år: Klinisk ytelse av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver

Totalt 400 evaluerbare kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater og positive Aptima HPV assay-resultater hadde henviste celleprøver som kvalifiserte til testing med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Av disse hadde 46 kvinner ingen henviste celleprøver tilgjengelig for testing, og 6 hadde en ubestemt sykdomsdiagnose. Alle ble ekskludert fra analysen. De resterende 348 evaluerbare kvinnene med bestemt sykdomsstatus hadde gyldige Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultater basert på reflekstesting fra et positivt Aptima HPA assay-resultat. Sekstisju (67) kvinner hadde ≥ CIN2, og 29 hadde ≥ CIN3.

Av de 348 evaluerbare kvinnene med positive Aptima HPV assay-resultater hadde 117 kvinner positive Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultater, som tydet på tilstedeværelse av HPV 16 og/eller HPV 18/45; 231 hadde negative resultater, som tydet på tilstedeværelse av én eller flere av de andre 11 høyrisiko HPV-typene som detektert av Aptima HPV assay (dvs. HPV-type 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 og 68). Ytterligere 545 evaluerbare kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater hadde negative Aptima HPV assay-resultater under CLEAR-studien. Et negativt Aptima HPV assay-resultat indikerer at ingen av de 14 høyrisiko HPV-typene er til stede, og ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativt for analysens formål. Prevalensen av ≥ CIN2 og ≥ CIN3 i evaluerbare kvinner med ASC-US-cytologieresultater var henholdsvis 8,8 % og 3,7 %. Resultatene av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i henhold til Aptima HPV assay-resultat og diagnosen fra det konsensus-histologiske granskningspanelet vises i tabell 2.

Tabell 2: Populasjonen ASC-US ≥ 21 år: Resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay i henhold til diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel

Resultat fra Aptima HPV Assay	AHPV-GT Assay-resultat*	Tolkning	Diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel						
			Ubestemt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Kreft	Totalt
Positiv	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	HPV 16-pos	1	27	18	11	14	0	71
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	HPV 18/45-pos	3	23	14	3	3	1	47
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	Andre HR HPV-pos	2	125	73	23	10	0	233
Totalt			6	176	105	38	28	1	354
Negativ	HPV 16/18/45-neg***	HR HPV-neg	13	458	75	8	4	0	558
Totalt			19	634	180	46	32	1****	912

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, CIN1 = intraepitelial neoplasi grad 1 i livmorhals, HR = høyrisiko, neg = negativ, pos = positiv

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

**19 kvinner 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).

***Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

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

Den absolutte risikoen for sykdom (\geq CIN2 og \geq CIN3) i henhold til Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultat og Aptima HPV assay-resultat vises i tabell 3. Risikoen for \geq CIN2 hos kvinner med HPV-type 16, 18 og/eller 45 var 29,1 % sammenlignet med 14,3 % hos kvinner med én eller flere av de andre 11 høyrisiko HPV-typene, og 2,2 % hos kvinner uten noen høyrisiko HPV-typer til stede. Absolutte risikoer vises etter aldersgruppe i tabell 4.

Tabell 3: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Absolutte risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay

Resultat fra Aptima HPV Assay	AHPV-GT Assay-resultat	Tolkning	\geq CIN2	\geq CIN3
			Absolutt risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)
Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	29,1 (34/117) (22,4, 36,0)	16,2 (19/117) (11,4, 21,1)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	35,7 (25/70) (26,1, 45,9)	20,0 (14/70) (12,6, 28,0)
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	15,9 (7/44) (7,2, 28,3)	9,1 (4/44) (2,9, 19,5)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	14,3 (33/231) (10,9, 17,9)	4,3 (10/231) (2,4, 6,8)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	19,3 (67/348) (17,1, 21,3)	8,3 (29/348) (6,9, 9,4)
Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)	0,7 (4/545) (0,2, 1,6)
Prevalens			8,8 % (79/893)	3,7 % (33/893)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Tabell 4: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Absolutte risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay etter aldersgruppe

	Resultat fra Aptima HPV Assay	AHPV-GT Assay-resultat	Tolkning	\geq CIN2	\geq CIN3
				Absolutt risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)
21 til 29 år	Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	26,8 (19/71) (18,3, 35,7)	15,5 (11/71) (9,3, 21,8)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	28,0 (14/50) (17,5, 39,6)	18,0 (9/50) (9,9, 26,9)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	15,8 (3/19) (3,7, 36,3)	5,3 (1/19) (0,2, 22,5)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	17,0 (25/147) (12,6, 21,5)	5,4 (8/147) (2,8, 8,5)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	20,2 (44/218) (17,6, 22,5)	8,7 (19/218) (7,1, 9,8)
	Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	3,6 (6/165) (1,5, 6,9)	0,6 (1/165) (0,0, 2,7)
Prevalens				13,1 % (50/383)	5,2 % (20/383)
30 til 39 år	Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	32,3 (10/31) (19,0, 45,9)	16,1 (5/31) (7,0, 25,4)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	18,8 (3/16) (3,0, 40,6)	12,5 (2/16) (1,3, 30,8)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	12,7 (7/55) (6,2, 20,5)	3,6 (2/55) (0,6, 9,1)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	19,8 (17/86) (15,1, 23,9)	8,1 (7/86) (4,7, 10,3)
	Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)	0,6 (1/167) (0,0, 2,3)
Prevalens				7,5 % (19/253)	3,2 % (8/253)
\geq 40 år	Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	66,7 (4/6) (27,1, 93,5)	33,3 (2/6) (6,2, 69,2)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	11,1 (1/9) (0,5, 39,7)	11,1 (1/9) (0,5, 37,1)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	3,4 (1/29) (0,1, 14,0)	0 (0/29) (0,0, 8,2)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	13,6 (6/44) (6,5, 20,6)	6,8 (3/44) (1,8, 11,4)
	Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)
Prevalens				3,9 % (10/257)	1,9 % (5/257)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Den relative sykdomsrisikoen for positive Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultater sammenlignet med negative resultater vises i tabell 5. Kvinner med HPV-type 16, 18 og/eller 45 hadde 13,2 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 og 22,1 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN3 sammenlignet med kvinner uten høyrisiko HPV-typer. Kvinner med HPV-type 16, 18 og/eller 45 hadde 2,0 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 og 3,8 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN3 sammenlignet med kvinner med én eller flere av de andre 11 høyrisiko HPV-typene.

Tabell 5: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay

Tolkning av Aptima Assay-resultat*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relativ risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
HPV 16- og/eller 18/45-positive kontra HR HPV-negative	13,2 (7,0, 24,7)	22,1 (7,7, 63,8)
HPV 16- og/eller 18/45-positive kontra andre HR HPV-positive	2,0 (1,3, 3,1)	3,8 (1,8, 7,8)
Andre HR HPV-positive kontra HR HPV-negative	6,5 (3,4, 12,3)	5,9 (1,9, 18,6)
HR HPV-positive kontra HR HPV-negative	8,7 (4,8, 15,9)	11,4 (4,0, 32,0)
Prevalens	8,8 % (79/893)	3,7 % (33/893)

KI = konfidensintervall, HR = høyrisiko

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Sannsynlighetsforholdene (\geq CIN2 og \geq CIN3) i henhold til Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultat vises i tabell 6. HPV-type 16, 18 og/eller 45 hadde 4,2 ganger så stor sannsynlighet for å være til stede hos kvinner med \geq CIN2, og 5,1 ganger så stor sannsynlighet for å være til stede i en kvinne med \geq CIN3.

Tabell 6: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Sannsynlighetsforhold for \geq CIN2 og \geq CIN3 i henhold til resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay

Tolkning av Aptima Assay-resultat*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Sannsynlighetsforhold (95 % KI)	Sannsynlighetsforhold (95 % KI)
HPV 16- og/eller 18/45-positive	4,2 (3,0, 5,8)	5,1 (3,4, 6,9)
Andre HR HPV-positive	1,7 (1,3, 2,3)	1,2 (0,6, 1,9)
HR HPV-negative	0,2 (0,1, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

KI = konfidensintervall, HR = høyrisiko

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Populasjonen NILM ≥ 30 år: Klinisk ytelse av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver

Totalt 540 evaluerbare kvinner 30 år og eldre med NILM-cytologieresultater og positive Aptima HPV assay-resultater hadde henviste celleprøver som kvalifiserte til testing med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Av disse hadde 25 kvinner ingen henviste celleprøver tilgjengelig for testing. Alle ble ekskludert fra analysen. De resterende 515 evaluerbare kvinnene hadde gyldige Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultater. Av disse fikk 317 kolposkopi. Femten (15) kvinner hadde ≥ CIN2, og 10 hadde ≥ CIN3; 283 kvinner hadde normal/CIN1-histologi; 19 kvinner hadde ubestemt sykdomsstatus.

Av de 298 evaluerbare kvinnene med bestemt sykdomsstatus og positive Aptima HPV assay-resultater hadde 61 kvinner positive Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultater, som tydet på tilstedeværelse av HPV 16 og/eller HPV 18/45; 237 hadde negative resultater, som tydet på tilstedeværelse av én eller flere av de andre 11 høyrisiko HPV-typene. Ytterligere 505 evaluerbare kvinner 30 år og eldre med NILM-cytologieresultater og bestemt sykdomsstatus hadde negative Aptima HPV assay-resultater under CLEAR-studien. Et negativt Aptima HPV assay-resultat indikerer at ingen av de 14 høyrisiko HPV-typene er til stede, og ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativt for analysens formål. Resultatene av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i henhold til Aptima HPV assay-resultat og diagnosen fra det konsensus-histologiske granskningspanelet vises i tabell 7.

Tabell 7: Populasjonen NILM ≥ 30 år: Resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay i henhold til diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel

Resultat fra Aptima HPV Assay	AHPV-GT Assay-resultat*	Tolkning	Diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel						
			Ubestemt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Kreft	Totalt
Positiv	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	HPV 16-pos	2	27	0	0	3	1	33
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	HPV 18/45-pos	1	26	1	1	0	2	31
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	0	0	0	0	0	0	0
	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	Andre HR HPV-pos	16	218	11	4	4	0	253
Totalt			19	271	12	5	7	3	317
Negativ	HPV 16/18/45-neg***	HR HPV-neg	25	483	17	4	1	0	530
Totalt			44	754	29	9	8	3****	847

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ

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

**44 kvinner møtte opp til kolposkopi, men en diagnose kunne ikke stilles pga. følgende: konsensus kunne ikke nås pga. inadekvate prøver (n = 28), ingen biopsier tatt pga. underliggende faktorer (n = 13), ingen biopsier tatt eller gransket pga. feil (n = 3).

***Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

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

Av de 515 kvinnene med positive Aptima HPV assay-resultater og Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultater hadde 217 kvinner uverifisert (inkludert ubestemt) sykdomsstatus (tabell 8). Av de 10 331 kvinnene med negative Aptima HPV assay-resultater fra den opprinnelige CLEAR-studien hadde 9826 uverifisert sykdomsstatus. 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 ytelsesestimer og ujusterte ytelsesestimer, basert på de 803 kvinnene med verifisert sykdomsstatus, vises.

Tabell 8: Populasjonen NILM \geq 30 år: Klassifisering av evaluerbare NILM-kvinner i henhold til Aptima HPV Assay-, Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay- og HPV-DNA-testresultater, sykdomsstatus (\geq CIN2 og \geq CIN3) og sykdomsverifikasjonsstatus

Resultat fra Aptima HPV Assay*	AHPV-GT Assay-resultat*	HPV-DNA-test	Totalt antall kvinner	Verifisert sykdomsstatus: \geq CIN2		Verifisert sykdomsstatus: \geq CIN3		Uverifisert sykdomsstatus
				Kvinner med sykdom (\geq CIN2)	Kvinner uten sykdom (\geq CIN2)	Kvinner med sykdom (\geq CIN3)	Kvinner uten sykdom (\geq CIN3)	Kvinner med ukjent sykdomsstatus (% ukjente)
Positiv	Positiv	Positiv	83	6	48	5	49	29 (34,9 %)
	Positiv	Negativ	9	1	5	1	5	3 (33,3 %)
	Positiv	Intet resultat**	2	0	1	0	1	1 (50,0 %)
	Negativ	Positiv	271	7	171	4	174	93 (34,3 %)
	Negativ	Negativ	137	1	52	0	53	84 (61,3 %)
	Negativ	Intet resultat**	13	0	6	0	6	7 (53,8 %)
Totalt			515	15	283	10	288	217 (42,1 %)
Negativ	I/A***	Positiv	306	3	178	1	180	125 (40,8 %)
	I/A***	Negativ	9420	1	322	0	323	9097 (96,6 %)
	I/A***	Intet resultat**	605	1	0	0	1	604 (99,8 %)
Totalt			10 846	20	783	11	792	10 043 (92,6 %)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, I/A = ikke aktuelt

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

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

***Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Den justerte absolutte risikoen for sykdom (\geq CIN2 og \geq CIN3) i henhold til Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultat og Aptima HPV assay-resultat vises i tabell 9a. Risikoen for \geq CIN2 hos kvinner med HPV-type 16, 18 og/eller 45 var 12,6 % sammenlignet med 3,4 % hos kvinner med én eller flere av de andre 11 høyrisiko HPV-typer, og 0,6 % hos kvinner uten høyrisiko HPV-typer. De ujusterte absolutte risikoene for sykdom vises samlet i tabell 9b og etter aldersgruppe i tabell 10.

Tabell 9a: Populasjonen NILM \geq 30 år: Absolutte risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (verifikasjonsbiasjusterte estimater)

Resultat fra Aptima HPV Assay	AHPV-GT Assay-resultat	Tolkning	\geq CIN2	\geq CIN3
			Absolutt risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)
Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	12,6 (3,7, 21,4)	9,5 (2,1, 16,8)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	14,5 (2,1, 26,9)	12,1 (0,7, 23,4)
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	10,7 (0,0, 22,5)	6,9 (0,0, 16,2)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	I/A	I/A
	HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	3,4 (1,2, 5,6)	1,8 (0,1, 3,5)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	5,0 (2,6, 7,5)	3,2 (1,3, 5,2)
Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	0,6 (0,1, 1,2)	0,4 (0,0, 0,7)
Prevalens			0,9 %	0,5 %

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ, I/A = ikke aktuelt

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Tabell 9b: Populasjonen NILM \geq 30 år: Absolutte risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (ujusterte estimater)

Resultat fra Aptima HPV Assay	AHPV-GT Assay-resultat	Tolkning	\geq CIN2	\geq CIN3
			Absolutt risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)
Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	11,5 (7/61) (5,4, 18,9)	9,8 (6/61) (4,6, 15,2)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	12,9 (4/31) (4,0, 26,0)	12,9 (4/31) (4,3, 23,8)
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	10,0 (3/30) (2,4, 23,0)	6,7 (2/30) (0,8, 17,7)
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	I/A (0/0)	I/A (0/0)
	HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	3,4 (8/237) (1,7, 5,3)	1,7 (4/237) (0,6, 3,2)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	5,0 (15/298) (3,6, 6,2)	3,4 (10/298) (2,3, 3,9)
Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)
Prevalens			2,5 % (20/803)	1,4 % (11/803)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ, I/A = ikke aktuelt

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Tabell 10: Populasjonen NILM ≥ 30 år: Absolutte risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay etter aldersgruppe (ujusterte estimater)

	Resultat fra Aptima HPV Assay	AHPV-GT Assay-resultat	Tolkning	\geq CIN2	\geq CIN3
				Absolutt risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)
30 til 39 år	Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	8,8 (3/34) (2,2, 17,8)	5,9 (2/34) (1,0, 13,3)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	0,0 (0/17) (0,0, 15,5)	0,0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	17,6 (3/17) (3,2, 35,4)	11,8 (2/17) (1,3, 27,0)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	I/A (0/0)	I/A (0/0)
		HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	4,0 (5/124) (1,7, 6,2)	2,4 (3/124) (0,7, 4,2)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	5,1 (8/158) (3,2, 6,1)	3,2 (5/158) (1,5, 4,0)
	Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	0,5 (1/217) (0,0, 1,9)	0,5 (1/217) (0,0, 1,7)
Prevalens				2,4 % (9/375)	1,6 % (6/375)
≥ 40 år	Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	14,8 (4/27) (4,7, 27,3)	14,8 (4/27) (5,1, 22,8)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	28,6 (4/14) (6,3, 50,7)	28,6 (4/14) (6,4, 46,5)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	0,0 (0/13) (0,0, 20,1)	0,0 (0/13) (0,0, 17,1)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	I/A (0/0)	I/A (0/0)
		HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	2,7 (3/113) (0,7, 5,8)	0,9 (1/113) (0,0, 3,1)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	5,0 (7/140) (2,6, 7,0)	3,6 (5/140) (1,9, 4,2)
	Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,4 (4/288) (0,5, 2,5)	0,0 (0/288) (0,0, 0,8)
Prevalens				2,6 % (11/428)	1,2 % (5/428)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ, I/A = ikke aktuelt

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Den relative sykdomsrisikoen for positive Aptima 16 18/45 genotype assay-resultater sammenlignet med negative resultater vises i tabell 11 (verifikasjonsbiasjustert) og tabell 12 (ujustert). Kvinner med HPV-type 16, 18 og/eller 45 hadde 20,9 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 og 29,4 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN3 sammenlignet med kvinner uten høyrisiko HPV-typer. Kvinner med HPV-type 16, 18 og/eller 45 hadde 3,7 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 og 5,3 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN3 sammenlignet med kvinner med én eller flere av de andre 11 høyrisiko HPV-typene.

Tabell 11: Populasjonen NILM \geq 30 år: Relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (verifikasjonsbiasjusterte estimater)

Tolkning av Aptima Assay-test*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relativ risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
HPV 16- og/eller 18/45-pos kontra HR HPV-neg	20,9 (6,3, 69,3)	29,4 (7,2, 120,8)
HPV 16- og/eller 18/45-pos kontra andre HR HPV-pos	3,7 (1,5, 9,5)	5,3 (1,5, 18,2)
Andre HR HPV-pos kontra HR HPV-neg	5,6 (1,8, 17,7)	5,6 (1,2, 26,0)
HR HPV-pos kontra HR HPV-neg	8,5 (2,9, 24,8)	10,1 (2,7, 38,2)
Prevalens	0,9 %	0,5 %

KI = konfidensintervall, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Tabell 12: Populasjonen NILM \geq 30 år: Relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (ujusterte estimater)

Tolkning av Aptima Assay-test*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relativ risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
HPV 16- og/eller 18/45-pos kontra HR HPV-neg	11,6 (3,8, 35,4)	49,7 (6,1, 406)
HPV 16- og/eller 18/45-pos kontra andre HR HPV-pos	3,4 (1,3, 9,0)	5,8 (1,7, 20,0)
Andre HR HPV-pos kontra HR HPV-neg	3,4 (1,1, 10,3)	8,5 (1,0, 75,8)
HR HPV-pos kontra HR HPV-neg	5,1 (1,9, 13,8)	16,9 (2,2, 132)
Prevalens	2,5 % (20/803)	1,4 % (11/803)

KI = konfidensintervall, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Sannsynlighetsforholdene (\geq CIN2 og \geq CIN3) i henhold til Aptima 16 18/45 genotype assay-resultat vises i tabell 13 (verifikasjonsbiasjustert) og tabell 14 (ujustert). HPV-type 16, 18 og/eller 45 hadde 17,1 ganger så stor sannsynlighet for å være til stede hos kvinner med \geq CIN2, og 21,9 ganger så stor sannsynlighet for å være til stede i en kvinne med \geq CIN3.

Tabell 13: Populasjonen NILM \geq 30 år: Sannsynlighetsforhold for \geq CIN2 og \geq CIN3 i henhold til resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (verifikasjonsbiasjusterte estimater)

Tolkning av Aptima Assay-test*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Sannsynlighetsforhold (95 % KI)	Sannsynlighetsforhold (95 % KI)
HPV 16- og/eller 18/45-pos	17,1 (6,2, 46,9)	21,9 (7,3, 65,2)
Andre HR HPV-pos	4,2 (1,7, 10,1)	3,8 (1,2, 12,6)
HR HPV-negative	0,7 (0,5, 1,0)	0,7 (0,4, 1,1)

KI = konfidensintervall, HR = høyrisiko, pos = positiv

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Tabell 14: Populasjonen NILM \geq 30 år: Sannsynlighetsforhold for \geq CIN2 og \geq CIN3 i henhold til resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (ujusterte estimater)

Tolkning av Aptima Assay-test*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Sannsynlighetsforhold (95 % KI)	Sannsynlighetsforhold (95 % KI)
HPV 16- og/eller 18/45-pos	5,1 (2,3, 9,1)	7,9 (3,5, 12,9)
Andre HR HPV-pos	1,4 (0,7, 2,2)	1,2 (0,4, 2,3)
HR HPV-negative	0,4 (0,1, 0,7)	0,1 (0,0, 0,6)

KI = konfidensintervall, HR = høyrisiko, pos = positiv

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Klinisk ytelse av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med SurePath flytende cytologiprøver

SurePath flytende cytologiprøver ble oppsamlet fra canadiske kvinner 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 (n = 494). Positive prøver ble deretter testet med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. En separat alikvot (1 ml) av hver prøve ble fjernet for evaluering med en kommersielt tilgjengelig HPV-PCR-test (n = 557). Den absolutte risikoen for sykdom (\geq CIN3) i henhold til Aptima HPV 16 18/45 genotype assay- og Aptima HPV assay-resultat vises i tabell 15. Lignende resultater vises for den kommersielt tilgjengelige HPV-PCR-testen, som skiller HPV 16 og HPV 18, men ikke HPV 45, separat fra de andre høyrisiko genotypene. Den relative sykdomsrisikoen for genotype-positive kontra -negative resultater vises i tabell 16 for Aptima HPV 16 18/45 genotype assay og HPV-PCR-testen.

Tabell 15: Absolutt risiko for \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og en kommersielt tilgjengelig HPV-PCR-test

HR HPV-resultat	Genotyperesultat	Tolkning	Aptima absolutt risiko \geq CIN3 (95 % KI)	HPV-PCR absolutt risiko \geq CIN3 (95 % KI)
Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45*-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45*-pos	14,6 (9,6-19,5)	14,4 (10,4-18,1)
	HPV 16-pos og HPV 18/45*-neg	Kun HPV 16-pos	19,4 (12,0-26,8)	16,8 (11,6-21,9)
	HPV 16-neg og/eller HPV 18/45*-pos	Kun HPV 18/45*-pos	3,3 (0,1-13,8)	7,1 (1,0-18,8)
	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45*-pos	HPV 16- og HPV 18/45*-pos	25,0 (1,3-75,2)	14,3 (0,7-49,9)
	HPV 16-neg og/eller HPV 18/45*-neg	Andre HR HPV-pos	2,5 (1,4-3,7)	2,1 (1,1-3,3)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	9,8 (8,1-11,2)	8,5 (7,0-9,5)
Negativ**	HPV 16-neg og/eller HPV 18/45*-neg	HR HPV-neg	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
Prevalens (%)			4,9 %	5,0 %

HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*HPV-PCR-testen skiller kun HPV 16 og HPV 18 fra de andre 12 høyrisiko genotypene, inkludert HPV 45.

**Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Tabell 16: Relativ risiko for \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og en kommersielt tilgjengelig HPV-PCR-test

Aptima Assay-resultater		HPV-PCR-testresultater	
Testtolking	Relativ risiko \geq CIN3 (95 % KI)	Testtolking	Relativ risiko \geq CIN3 (95 % KI)
HPV 16- og/eller 18/45-positive kontra HR HPV-negative	14,8 (4,3-50,3)	HPV 16- og/eller 18-positive kontra HR HPV-negative	12,6 (3,8-41,9)
HPV 16- og/eller 18/45-positive kontra andre HR HPV-positive	2,0 (0,8-4,6)	HPV 16- og/eller 18-positive kontra andre HR HPV-positive	3,9 (1,6-9,5)
Andre HR HPV-positive kontra HR HPV-negative	7,5 (2,0-28,6)	Andre HR HPV-positive kontra HR HPV-negative	3,2 (0,8-12,8)
HR HPV-positive kontra HR HPV-negative	10,0 (3,0-32,7)	HR HPV-positive kontra HR HPV-negative	7,4 (2,3-24,3)
Prevalens	4,9 %	Prevalens	5,0 %

Klinisk ytelse for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med livmorhalsprøver oppsamlet for transport

CSCT-prøver ble oppsamlet fra kvinner ved rutinemessig screening eller oppfølgingsbesøk og testet med Aptima HPV assay. Residuale CSCT-prøver (n = 378) med et positivt Aptima HPV assay-resultat ble testet med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Tigris DTS System. HPV-genotypen for hver prøve ble fastslått med en DNA-genotypetest. Prøver med uharmoniske resultater mellom genotypetesten (DNA og Aptima HPV 16 18/45 genotype assay) ble testet med en validert revers-transkriptase PCR-sekvenseringstest for å bestemme HPV 16-, HPV 18- og HPV 45-statusen. Klinisk samsvar (positivt og negativt) i Aptima HPV 16 18/45 genotype assay for deteksjon av høyrisiko HPV 16, 18 og 45 ble fastslått. Resultatene vises i tabell 17.

Tabell 17: Klinisk samsvar i Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Tigris DTS System for deteksjon av høyrisiko HPV 16, 18 og 45 i CSCT-prøver

		Referansem metode				Totalt
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	
Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	125	0	1	0	126
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	0	43	0	1	44
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	0	0	8	1	9
	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	1	1	0	197	199
	Totalt	126	44	9	199	378

Pos = positiv, neg = negativ

Positiv-samsvar: 98,3 % (176/179) (95 % KI: 95,2, 99,4)

Negativ-samsvar: 99,0 % (197/199) (95 % KI: 96,4, 99,7)

Analytisk sensitivitet

Deteksjonsgrensen (Limit of Detection, LOD) ved den kliniske cutoff er en konsentrasjon som er positiv (over den kliniske cutoff) 95 % av tiden. Deteksjonsgrensen for Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ble fastslått ved å teste individuelle negative kliniske ThinPrep flytende cytologiprøver tilsatt HPV *in vitro*-transkripter i ulike konsentrasjoner. Tretti replikater for hvert kopinivå ble testet med hvert av tre reagenspartier for totalt 90 replikater. Testing ble utført over 6 dager, med 3 kjøring per dag og 5 replikater for en gitt genotype testet i hver kjøring. 95 % deteksjonsgrensen (tabell 18) ble beregnet ut fra Probit-regresjonsanalyse av positivitetsresultatene for hvert fortynningspanel.

Tabell 18: Deteksjonsgrense ved klinisk cutoff for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Mål	Deteksjonsgrense* (95 % KI)
HPV 16	57,3 (46,5 - 74,6)
HPV 18	84,8 (66,1 - 115,6)
HPV 45	60,0 (46,6 - 82,3)
SiHa	1,2 (0,9, 1,7)
HeLa	0,4 (0,3, 0,5)
MS751	2,6 (1,9, 4,2)

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

Analysens presisjon

Presisjonen til Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ble evaluert i to studier ved bruk av samme 22-elementers panel. Studie 1 ble utført på 3 eksterne teststeder for å bestemme analysens reproduserbarhet. Studie 2 ble utført internt for å fastslå presisjon innen laboratorium. Panelet inkluderte 14 HPV 16- og/eller 18/45-positive elementer med konsentrasjoner ved eller over deteksjonsgrensen for analysen (forventet positivitet: ≥ 95 %), 5 HPV 16- og/eller 18/45-positive elementer med konsentrasjoner under deteksjonsgrensen for analysen (forventet positivitet: > 0 % til < 25 %), og 3 HPV-negative elementer. HPV 16- og/eller 18/45-positive panelelementer ble tilberedt ved å tilsette HPV-infiserte kultiverte celler (SiHa, HeLa og MS751; ATCC, Manassas, Virginia, USA) i samlede residuale ThinPrep flytende cytologiprøver eller ved å fortynne HPV 16, 18 og/eller 45 kliniske prøver i samlede residuale ThinPrep flytende cytologiprøver. HPV-negative panelelementer ble tilberedt med samlede ThinPrep flytende cytologiprøver.

I studie 1 utførte 2 operatører på hvert av de 3 teststedene (1 instrument per sted) 2 Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-arbeidslister per dag over 3 dager. Testing ble utført med 1 reagensparti. Hver arbeidsliste inneholdt 3 replikater av hvert av elementene i reproduserbarhetspanelet. Ett hundre og åtte (108) individuelle prøverør ble testet for hvert panelelement (3 steder x 1 instrument x 2 operatører x 1 parti x 2 arbeidslister per dag x 3 dager 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).

Panelelementene er beskrevet i tabell 19a og tabell 19b, sammen med et sammendrag av samsvaret med forventede resultater for henholdsvis HPV 16 og HPV 18/45.

Tabell 19a: Presisjonsstudie 1 og 2 for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Panelbeskrivelse og prosentvis samsvar med forventede HPV 16-resultater

Panelbeskrivelse (celler/reaksjon)	Forventet HPV 16-resultat	Prosentvis samsvar (95 % KI)	
		Studie 1 (3 teststeder)	Studie 2 (1 teststed)
SiHa-celler (3,0 celler)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa-celler (0,6 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-celler (11,0 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinisk prøve 1	Positiv	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinisk prøve 1	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa-celler (1,6 celler) og HeLa-celler (3,3 celler)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa-celler (1,6 celler) og MS751-celler (42,5 celler)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa-celler (15,7 celler) og HeLa-celler (0,3 celler)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa-celler (15,7 celler) og MS751-celler (4,3 celler)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (1,6 celler)	Positiv	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
HeLa-celler (0,3 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
MS751-celler (4,3 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinisk prøve 2	Positiv	97,2 (104/107) (92,1, 99,0)	94,4 (152/161) (88,7, 97,0)
HPV 18/45 klinisk prøve 2	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (0,1 celler)	Negativ	85,2 (92/108) (77,3, 90,7)	84,6 (137/162) (78,2, 89,3)
HeLa-celler (0,02 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-celler (0,04 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinisk prøve 3	Negativ	95,4 (103/108) (89,6, 98,0)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 18/45 klinisk prøve 3	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV-negativ klinisk prøve 1	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ klinisk prøve 2	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ klinisk prøve 3	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

KI = konfidensintervall-verdi

Merknad: Det prosentvise samsvaret kan ha blitt påvirket av variasjoner i tilsetning, fortynning og/eller alikvotering.

Tabell 19b: Presisjonsstudie 1 og 2 for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Panelbeskrivelse og prosentvis samsvar med forventede HPV 18/45-resultater

Panelbeskrivelse (celler/reaksjon)	Prosentvis samsvar (95 % KI)		
	Forventet HPV 18/45-resultat	Studie 1 (3 teststeder)	Studie 2 (1 teststed)
SiHa-celler (3,0 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
HeLa-celler (0,6 celler)	Positiv	93,5 (101/108) (87,2, 96,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
MS751-celler (11,0 celler)	Positiv	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 16 klinisk prøve 1	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinisk prøve 1	Positiv	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa-celler (1,6 celler) og HeLa-celler (3,3 celler)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (1,6 celler) og MS751-celler (42,5 celler)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa-celler (15,7 celler) og HeLa-celler (0,3 celler)	Positiv	63,9 (69/108) (54,5, 72,3)	67,7 (109/161) (60,1, 74,4)
SiHa-celler (15,7 celler) og MS751-celler (4,3 celler)	Positiv	98,1 (106/108) (93,5, 99,5)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
SiHa-celler (1,6 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HeLa-celler (0,3 celler)	Positiv	71,3 (77/108) (62,1, 79,0)	92,5 (149/161) (87,4, 95,7)
MS751-celler (4,3 celler)	Positiv	86,1 (93/108) (78,3, 91,4)	69,1 (112/162) (61,6, 75,7)
HPV 16 klinisk prøve 2	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)
HPV 18/45 klinisk prøve 2	Positiv	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	79,6 (129/162) (72,8, 85,1)
SiHa-celler (0,1 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa-celler (0,02 celler)	Negativ	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	86,4 (140/162) (80,3, 90,9)
MS751-celler (0,04 celler)	Negativ	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
HPV 16 klinisk prøve 3	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV 18/45 klinisk prøve 3	Negativ	80,6 (87/108) (72,1, 86,9)	81,5 (132/162) (74,8, 86,7)
HPV-negativ klinisk prøve 1	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV-negativ klinisk prøve 2	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ klinisk prøve 3	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

KI = konfidensintervall-verdi

Merknad: Det prosentvise samsvaret kan ha blitt påvirket av variasjoner i tilsetning, fortynning og/eller alikvotering.

Kryssreaktivitet

Den analytiske spesifisiteten for Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ble evaluert med sett med residuale ThinPrep flytende cytologiprøver fortynnet 1:2,9 i STM (tilsvarende prøve overført til et Aptima overføringsrør) og tilsatt kultiverte bakterier, gjær eller sopp, kultivert virus eller ikke-måltrettede HPV *in vitro*-transkripter. Organismene og testkonsentrasjonene som det ikke ble observert kryssreaktivitet for, er identifisert i tabell 20. Studiekriteriene for å vurdere effekten av tilstedeværelse av mikroorganisme på spesifisiteten i analysen var basert på positiviteten.

Tabell 20: Analytisk spesifisitetspanel: organismer og konsentrasjon uten kryssreaktivitet

Organisme	Testkonsentrasjon uten kryssreaktivitet	Organisme	Testkonsentrasjon uten kryssreaktivitet
Bakterier			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Mycoplasma genitalium*</i>	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 x 10 ⁵ IFU/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Clostridium difficile</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Prevotella bivia</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml		
Ikke-måltrettede høyrisiko HPV-genotyper*			
HPV 31	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 56	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 33	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 58	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 35	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 59	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 39	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 66	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 51	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 68	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 52	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml		
Gjær/protozoer			
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ ml	<i>Trichomonas vaginalis**</i>	1 x 10 ⁶ celler/ml
Viruser			
Adenovirus	5,25 x 10 ⁷ PFU/ml	HIV-1	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
Cytomegalovirus	1,58 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	Herpes simplex virus 1	3,39 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml
Epstein-Barr virus	1,59 x 10 ⁵ TD ₅₀ /ml	Herpes simplex virus 2	2,29 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml

Tabell 20: Analytisk spesifisitetspanel: organismer og konsentrasjon uten kryssreaktivitet (*fortsett*)

Organisme	Testkonsentrasjon uten kryssreaktivitet	Organisme	Testkonsentrasjon uten kryssreaktivitet
Andre ikke-mårettede HPV-genotyper*			
HPV 6	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 53	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 11	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 67	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 26	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 69	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 30	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 70	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 34	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 73	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 42	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 82	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 43	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 85	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 44	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml		

CFU = koloniformende enheter, PFU = plakkformende enheter, TD₅₀ = transformasjonsdose 50, TCID₅₀ = vevskulturinfeksiøs dose 50

**In vitro*-transkript testet.

**Selv om det ikke ble observert kryssreaktivitet for *Trichomonas vaginalis*, ble det observert interferens (se nedenfor).

Den analytiske sensitiviteten til Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ved tilstedeværelse av mikroorganismer ble evaluert med det samme panelet som er beskrevet i tabell 20, som også ble tilsatt en lav konsentrasjon av HPV-infiserte SiHa-celler (1,6 celler per reaksjon) og HPV-infiserte HeLa-celler (0,3 celler/reaksjon). Studiekriteriene for å vurdere effekten av tilstedeværelse av mikroorganisme på sensitiviteten i analysen var basert på positivitet. Tilstedeværelsen av mikroorganismer interfererte ikke med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay med unntak av *Trichomonas vaginalis* (TV). Interferens ble observert med TV når til stede ved høyere konsentrasjoner enn 3 x 10⁴ celler/ml.

Interferens

Stoffene beskrevet i tabell 21 ble enkeltvis tilsatt i samlede ThinPrep flytende cytologiprøver fortynnet 1:2,9 i STM ved konsentrasjonene angitt i tabellen. Alle stoffer ble testet med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ved tilstedeværelse og fravær av HPV-infiserte kultiverte celler (SiHa, 1,6 celler/reaksjon og HeLa, 0,3 celler/reaksjon). Det ble observert interferens med følgende, når til stede ved høyere konsentrasjoner enn det som er angitt: vaginale smøremidler (som inneholder polykvaternium 15) ved 1 % w/v, soppdrepende krem (som inneholder tiokonazol) ved 0,03 % w/v, slim ved 0,3 % w/v, intravaginale hormoner (som inneholder progesteron) ved 1 % w/v.

Tabell 21: Stoffer testet for mulig interferens med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Produktkategori	Produktmerke eller -type	Høyeste konsentrasjon testet som ikke interfererer med analysen*
Vaginalt smøremiddel	KY Natural Feeling Liquid	10 % v/v
	up & up (Target-merke) personlig smørevæske	
	Astroglide**	1 % w/v
Sæddrepende/preventivt glidemiddel	Vaginalt preventiv skum (Vaginal Contraceptive Foam, VCF)	10 % w/v
	Options Conceptrol vaginal preventiv gel	
Soppdrepende krem	up & up (Target-merke) mikonazol 3	10 % w/v
	Monistat 3 kombinasjonspakke	
	up & up (Target-merke) tiokonazol 1	0,03 % w/v
Vaginal skylling	Summer's Eve vaginal skylling	10 % v/v
	up & up (Target-merke) feminin vaginal skylling	
Feminin spray	Summer's Eve feminin deodorantspray	10 % w/v
	FDS feminin deodorantspray	
Slim	Porcin mucin	0,3 % w/v
Intravaginale hormoner	Estrace vaginal krem (østrogen)	10 % w/v
	Crinone krem (progesteron)	1 % w/v
Helblod***	fullblod	5 % v/v
Leukocytter	leukocytter	1 x 10 ⁷ celler/ml
Vaskeløsning med iseddiksyre [^]	Iseddiksyre + CytoLyt-løsning	2,6 % v/v

*konsentrasjon i testprøve; ThinPrep flytende cytologiprøve fortynnet 1:2,9 i STM (tilsvarende prøve overført til et Aptima overføringsrør)

**Personlig smøremiddel som inneholder polykvaternium 15.

***fullblod interfererte med analysen når til stede ved en testkonsentrasjon på 10 % v/v

[^]vaskeløsning med iseddiksyre tilberedt ved å blande 1 del iseddiksyre og 9 deler CytoLyt-løsning, som angitt i ThinPrep 2000 System Operator's Manual (brukerhåndboken for ThinPrep 2000 System).

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.^{19,20} 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 for å evaluere Aptima HPV assay, som detekterer 14 høyrisiko HPV-typer.²¹ Prøver fra kvinner i CLEAR-studien med positive Aptima HPV assay-resultater på Panther System ble evaluert på tre teststeder med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Panther System i en separat klinisk studie. Prevalensen av HPV 16, 18/45, så vel som de resterende 11 høyrisiko HPV-typene observert i den kliniske studien, basert på resultater av testing med Aptima HPV assay og Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Panther System, ble kategorisert samlet, etter aldersgruppe og etter teststed. Et negativt Aptima HPV assay-resultat på Panther System indikerer at ingen av de 14 høyrisiko HPV-typene er til stede, og ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativt på Panther System for analysens formål. Resultatene vises i tabell 22 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 22: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA i populasjoner etter aldersgruppe, teststed og alle kombinert

	Positivitetsfrekvens % (x/n)							
	Populasjonen ASC-US (≥ 21 år)				Populasjonen NILM (≥ 30 år)			
	HPV 16- pos	HPV 18/45- pos	HPV 16- og 18/45-pos	11 andre HR* pos	HPV 16- pos	HPV 18/45- pos	HPV 16- og 18/45-pos	11 andre HR* pos
Alle	7,8 (71/911)	5,3 (48/911)	0,3 (3/911)	26,0 (237/911)	0,5 (50/10 839)	0,5 (49/10 839)	< 0,1 (1/10 839)	3,6 (391/10 839)
Aldersgruppe (år)								
21 til 29	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	I/A	I/A	I/A	I/A
30 til 39	5,5 (14/255)	6,7 (17/255)	0,4 (1/255)	23,1 (59/255)	0,7 (31/4183)	0,7 (31/4183)	0 (0/4183)	5,1 (215/4183)
≥ 40	1,9 (5/268)	4,1 (11/268)	0 (0/268)	11,6 (31/268)	0,3 (19/6656)	0,3 (18/6656)	< 0,1 (1/6656)	2,6 (176/6656)
Teststed**								
1	5,6 (17/304)	6,6 (20/304)	0,3 (1/304)	27,0 (82/304)	0,4 (16/3610)	0,4 (16/3610)	< 0,1 (1/3610)	3,6 (130/3610)
2	9,6 (29/303)	3,6 (11/303)	0,3 (1/303)	26,4 (80/303)	0,5 (18/3614)	0,4 (15/3614)	0 (0/3614)	3,6 (130/3614)
3	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3615)	0,5 (18/3615)	0 (0/3615)	3,6 (131/3615)

I/A = ikke aktuelt, HR = høyrisiko, pos = positiv

Merknad: Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat på Panther System ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativt på Panther System for analysens formål.

* HPV-typer 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 og 68

** I NILM-populasjonen ble ikke alle pasienter med negativt Aptima HPV assay-resultat på Panther System testet med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Panther System. For analysen i henhold til teststed ble resultatene for disse kvinnene tilfeldig tilordnet ett av de 3 teststedene.

Analyseytelse for Panther System

Oppsett for klinisk studie av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver

Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Panther System ble evaluert med henviste cytologiprøver oppsamlet fra samtykkende kvinner under den prospektive, kliniske multisentertstudien i USA kjent som CLEAR-studien. 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). Kvinner ble registrert i enten ASC-US-studien eller NILM-studien basert på deres henviste ThinPrep væskebasert cytologi-resultater fra rutinemessig kreftscreening av livmorhals. Populasjonen i ASC-US-studien inkluderte kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologiresultater, og populasjonen i NILM-studien inkluderte kvinner 30 år og eldre med NILM-cytologiresultater.

Kvinner fra 18 kliniske steder, hovedsakelig obstetriske/gynekologiske klinikker, som dekket en bred geografisk distribusjon og en mangfoldig populasjon, ble analysert. Under CLEAR-studien ble residuale henviste cytologiprøver testet med både Aptima HPV assay på Tigris DTS System og en FDA-godkjent HPV-DNA-test. Kvalifiserte residuale henviste cytologiprøver fra CLEAR-studien ble testet med Aptima HPV assay på Panther System. For den kliniske studien av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ble prøver fra de residuale henviste cytologiprøvene testet med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Panther System.

Alle kvinner i ASC-US-studien ble henvist til kolposkopi, uansett HPV-testresultat. En endocervikal utskrapningsbiopsi (endocervical curettage biopsy, ECC) og cervikale stansbiopsier (1 biopsi fra hver av de 4 kvadrantene) ble tatt. Hvis en lesjon var synlig, ble det tatt en stansbiopsi (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 FDA-godkjente HPV-DNA-testen, så vel som tilfeldig utvalgte kvinner som var negative med begge analyser, henvist til kolposkopi for baseline-evaluering. En ECC-biopsi ble tatt fra alle kvinner som deltok på kolposkopien. Stansbiopsier ble tatt fra kun synlige lesjoner (direkte metode, 1 biopsi per lesjon). Oppfølging av kvinner i NILM-studien som ikke har \geq CIN2, pågår i 3 år med årlige cytologibesøk. Kvinner med ASC-US eller alvorligere cytologiresultater under oppfølgingsperioden henvises til kolposkopi gjennom samme biopsiprosedyre som utføres for baseline-evalueringen.

Sykdomsstatusen ble fastslått ut fra et konsensus-histologisk granskningspanel, som var basert på enighet mellom minst 2 ekspertpatologer. Ekspertpatologene var blinde overfor kvinnenes HPV- og cytologistatus, så vel som hverandres histologidiagnoser. Utprøvere, klinikere og kvinner var blinde overfor HPV-testresultatene til etter fullføring av kolposkopibesøket, for å unngå bias.

For å validere den tiltenkte bruken av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Panther System som en reflekstest for en Aptima HPV assay-positiv prøve var residuale henviste cytologiprøver fra alle evaluerbare kvinner i ASC-US-studien og NILM-studien, med et positivt Aptima HPV assay-resultat, kvalifisert for testing med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Panther System. Klinisk ytelse av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Panther System ble evaluert for deteksjon av \geq CIN2 og intraepitelial neoplasi grad 3 i livmorhalsen eller alvorligere livmorhals sykdom (\geq CIN3).

Populasjonen ASC-US ≥ 21 år: Klinisk ytelse av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver

Totalt 404 evaluerbare kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologiresultater og positive Aptima HPV assay-resultater på Panther System hadde henviste cytologiprøver som kvalifiserte til testing med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Panther System. Av disse hadde 45 kvinner ikke tilstrekkelig volum av henvist cytologiprøve tilgjengelig for testing i denne studien, og 6 hadde ubestemte sykdomsdiagnoser. Etter analyse av manglende verdier, ble disse ikke inkludert i ytelsesberegningene. De 353 evaluerbare kvinnene med bestemt sykdomsstatus hadde gyldige Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultater på Panther System basert på reflekstesting fra et positivt Aptima HPV assay-resultat på Panther System. Sekstisju (67) kvinner hadde ≥ CIN2, og 30 hadde ≥ CIN3.

Av de 353 evaluerbare kvinnene med positive Aptima HPV assay-resultater på Panther System hadde 118 kvinner positive Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultater på Panther System, som tydet på tilstedeværelse av HPV 16 og/eller HPV 18/45; 235 hadde negative resultater, som tydet på tilstedeværelse av én eller flere av de andre 11 høyrisiko HPV-typene som detektert av Aptima HPV assay (dvs. HPV-type 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 og 68). Ytterligere 539 evaluerbare kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologiresultater hadde negative Aptima HPV assay-resultater på Panther System. Et negativt Aptima HPV assay-resultat indikerer at ingen av de 14 høyrisiko HPV-typene er til stede, og ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativt på Panther System for analysens formål. Prevalensen av ≥ CIN2 og ≥ CIN3 i evaluerbare kvinner med ASC-US-cytologiresultater var henholdsvis 9,1 % og 3,8 %. Resultatene av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, basert på testing med Panther System, i henhold til Aptima HPV assay-resultat og diagnosen fra det konsensus-histologiske granskningspanelet vises i tabell 23.

Tabell 23: Populasjonen ASC-US ≥ 21 år: Resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay i henhold til diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel

Resultat fra Aptima HPV Assay	AHPV-GT Assay-resultat*	Tolkning	Diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel						
			Ubestemt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Kreft	Totalt
Positiv	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	HPV 16-pos	1	26	18	11	15	0	71
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	HPV 18/45-pos	3	23	16	2	3	1	48
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	Andre HR HPV-pos	2	132	70	23	10	0	237
Totalt			6	182	104	37	29	1	359
Negativ	HPV 16/18/45-neg***	HR HPV-neg	13	450	75	10	4	0	552
Totalt			19	632	179	47	33	1****	911

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, CIN1 = intraepitelial neoplasi grad 1 i livmorhals, HR = høyrisiko, neg = negativ, pos = positiv

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

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

***Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

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

Den absolutte risikoen for sykdom (\geq CIN2 og \geq CIN3) i henhold til Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultat og Aptima HPV assay-resultat vises i tabell 24. Risikoen for \geq CIN2 hos kvinner med HPV-type 16, 18 og/eller 45 var 28,8 % sammenlignet med 14,0 % hos kvinner med én eller flere av de andre 11 høyrisiko HPV-typene, og 2,6 % hos kvinner uten høyrisiko HPV-typer. Absolutt risiko vises etter aldersgruppe i tabell 25.

Tabell 24: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Absolutt risiko for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay

Resultat fra Aptima HPV Assay	AHPV-GT Assay-resultat	Tolkning	\geq CIN2	\geq CIN3
			Absolutt risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)
Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	28,8 (34/118) (22,2, 35,7)	16,9 (20/118) (12,1, 21,8)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	37,1 (26/70) (27,4, 47,4)	21,4 (15/70) (13,8, 29,5)
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	13,3 (6/45) (5,5, 25,1)	8,9 (4/45) (2,9, 19,1)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	14,0 (33/235) (10,7, 17,7)	4,3 (10/235) (2,3, 6,7)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	19,0 (67/353) (16,8, 21,1)	8,5 (30/353) (7,1, 9,6)
Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)	0,7 (4/539) (0,2, 1,6)
Prevalens			9,1 % (81/892)	3,8 % (34/892)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Tabell 25: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Absolutt risiko for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay etter aldersgruppe

	Resultat fra Aptima HPV Assay	AHPV-GT Assay-resultat	Tolkning	\geq CIN2	\geq CIN3
				Absolutt risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)
21 til 29 år	Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	27,4 (20/73) (19,0, 36,2)	16,4 (12/73) (10,3, 22,5)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	29,4 (15/51) (18,8, 41,1)	19,6 (10/51) (11,3, 28,5)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	15,0 (3/20) (3,6, 34,6)	5,0 (1/20) (0,2, 21,6)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	17,1 (25/146) (12,7, 21,7)	5,5 (8/146) (2,8, 8,6)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	20,5 (45/219) (17,9, 23,0)	9,1 (20/219) (7,5, 10,2)
	Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	4,2 (7/166) (1,9, 7,6)	0,6 (1/166) (0,0, 2,7)
Prevalens				13,5 % (52/385)	5,5 % (21/385)
30 til 39 år	Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	30,0 (9/30) (16,5, 43,9)	16,7 (5/30) (6,9, 26,2)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	13,3 (2/15) (1,3, 35,2)	13,3 (2/15) (1,3, 32,1)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	12,1 (7/58) (5,7, 19,5)	3,4 (2/58) (0,5, 8,5)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	18,2 (16/88) (13,4, 22,3)	8,0 (7/88) (4,6, 10,0)
	Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)
Prevalens				7,6 % (19/251)	3,2 % (8/251)
\geq 40 år	Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	80,0 (4/5) (36,8, 99,0)	40,0 (2/5) (6,3, 78,2)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	10,0 (1/10) (0,4, 36,6)	10,0 (1/10) (0,4, 33,1)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	3,2 (1/31) (0,1, 13,2)	0 (0/31) (0,0, 7,8)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	13,0 (6/46) (6,1, 19,7)	6,5 (3/46) (1,7, 10,9)
	Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)
Prevalens				3,9 % (10/256)	2,0 % (5/256)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Den relative sykdomsrisikoen for positive Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultater sammenlignet med negative resultater vises i tabell 26. Kvinner med HPV-type 16, 18 og/eller 45 hadde 11,1 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 og 22,8 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN3 sammenlignet med kvinner uten høyrisiko HPV-typer. Kvinner med HPV-type 16, 18 og/eller 45 hadde 2,1 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 og 4,0 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN3 sammenlignet med kvinner med én eller flere av de andre 11 høyrisiko HPV-typene.

Tabell 26: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Relativ risiko for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay

Tolkning av Aptima Assay-resultat*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relativ risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
HPV 16- og/eller 18/45-positive kontra HR HPV-negative	11,1 (6,2, 20,0)	22,8 (8,0, 65,6)
HPV 16- og/eller 18/45-positive kontra andre HR HPV-positive	2,1 (1,3, 3,1)	4,0 (1,9, 8,2)
Andre HR HPV-positive kontra HR HPV-negative	5,4 (2,9, 9,9)	5,7 (1,8, 18,1)
HR HPV-positive kontra HR HPV-negative	7,3 (4,2, 12,8)	11,5 (4,1, 32,2)
Prevalens	9,1 % (81/892)	3,8 % (34/892)

KI = konfidensintervall, HR = høyrisiko

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Sannsynlighetsforholdene (\geq CIN2 og \geq CIN3) i henhold til Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultat vises i tabell 27. HPV-type 16, 18 og/eller 45 hadde 4,1 ganger så stor sannsynlighet for å være til stede hos kvinner med \geq CIN2, og 5,2 ganger så stor sannsynlighet for å være til stede i en kvinne med \geq CIN3.

Tabell 27: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Sannsynlighetsforhold for \geq CIN2 og \geq CIN3 i henhold til resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay

Tolkning av Aptima Assay-resultat*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Sannsynlighetsforhold (95 % KI)	Sannsynlighetsforhold (95 % KI)
HPV 16- og/eller 18/45-positive	4,1 (2,9, 5,6)	5,2 (3,5, 7,0)
Andre HR HPV-positive	1,6 (1,2, 2,1)	1,1 (0,6, 1,8)
HR HPV-negative	0,3 (0,2, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

KI = konfidensintervall, HR = høyrisiko

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Populasjonen NILM \geq 30 år: Klinisk ytelse av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver

Totalt 512 evaluerbare kvinner 30 år og eldre med NILM-cytologieresultater og positive Aptima HPV assay-resultater på Panther System hadde henviste cytologiprøver som kvalifiserte til testing med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Av disse hadde 21 kvinner (11 gikk til kolposkopi, og 10 gikk ikke til kolposkopi) ikke henvist cytologiprøve-volum tilgjengelig for testing i denne studien. Etter analyse av manglende verdier, ble disse ikke inkludert i ytelsesberegningene. De 491 evaluerbare kvinnene hadde gyldige Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultater. Av disse fikk 273 kolposkopi. Fjorten (14) kvinner hadde \geq CIN2, og 10 hadde \geq CIN3; 245 kvinner hadde normal/CIN1-histologi; 14 kvinner hadde ubestemt sykdomsstatus.

Av de 259 evaluerbare kvinnene med bestemt sykdomsstatus og positive Aptima HPV assay-resultater på Panther System hadde 65 kvinner positive Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultater på Panther System, som tydet på tilstedeværelse av HPV 16 og/eller HPV 18/45; 194 hadde negative resultater, som tydet på tilstedeværelse av én eller flere av de andre 11 høyrisiko HPV-typene. Ytterligere 549 evaluerbare kvinner 30 år og eldre med NILM-cytologieresultater og bestemt sykdomsstatus hadde negative Aptima HPV assay-resultater på Panther System. Et negativt Aptima HPV assay-resultat indikerer at ingen av de 14 høyrisiko HPV-typene er til stede, og ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativt på Panther System for analysens formål. Resultatene av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i henhold til Aptima HPV assay-resultat og diagnosen fra det konsensus-histologiske granskningspanelet vises i tabell 28.

Tabell 28: Populasjonen NILM \geq 30 år: Resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay i henhold til diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel

Resultat fra Aptima HPV Assay	AHPV-GT Assay-resultat*	Tolkning	Diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel						
			Ubestemt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Kreft	Totalt
Positiv	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	HPV 16-pos	2	28	0	0	3	1	34
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	HPV 18/45-pos	1	28	1	1	0	2	33
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	0	1	0	0	0	0	1
	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	Andre HR HPV-pos	11	175	12	3	4	0	205
Totalt			14	232	13	4	7	3	273
Negativ	HPV 16/18/45-neg***	HR HPV-neg	31	527	16	5	1	0	580
Totalt			45	759	29	9	8	3****	853

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ

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

**45 kvinner møtte opp til kolposkopi, men en diagnose kunne ikke stilles pga. følgende: konsensus kunne ikke nås pga. inadekvate prøver (n = 29), ingen biopsier tatt pga. underliggende faktorer (n = 13), ingen biopsier tatt eller gransket pga. feil (n = 3).

***Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

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

Av de 491 kvinnene med positive Aptima HPV assay-resultater på Panther System og Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultater på Panther System hadde 232 kvinner uverifisert (inkludert ubestemt) sykdomsstatus (tabell 29). Av de 10 348 kvinnene med negative Aptima HPV assay-resultater fra den opprinnelige CLEAR-studien hadde 9799 uverifisert sykdomsstatus. Fordi studien var satt opp slik at kun tilfeldig utvalgte kvinner med negative resultater for både Aptima HPV assay på Tigris DTS System og den FDA-godkjente DNA-testen ble henvist til kolposkopi, var andelen kvinner med uverifisert sykdomsstatus høy i denne gruppen (96,2 %). 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 ytelsesestimater og ujusterte ytelsesestimater, basert på de 808 kvinnene med verifisert sykdomsstatus, vises.

Tabell 29: Populasjonen NILM \geq 30 år: Klassifisering av evaluerbare NILM-kvinner i henhold til Aptima HPV Assay-, Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay- og HPV-DNA-testresultater, sykdomsstatus (\geq CIN2 og \geq CIN3) og sykdomsverifikasjonsstatus

Resultat fra Aptima HPV Assay*	AHPV-GT Assay-resultat*	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	Positiv	88	6	52	5	53	30 (34,1 %)
	Positiv	Negativ	10	1	5	1	5	4 (40,0 %)
	Positiv	Intet resultat**	2	0	1	0	1	1 (50,0 %)
	Negativ	Positiv	291	7	169	4	172	115 (39,5 %)
	Negativ	Negativ	85	0	14	0	14	71 (83,5 %)
	Negativ	Intet resultat**	15	0	4	0	4	11 (73,3 %)
Totalt			491	14	245	10	249	232 (47,3 %)
Negativ	I/A***	Positiv	282	3	177	1	179	102 (36,2 %)
	I/A***	Negativ	9467	2	362	0	364	9103 (96,2 %)
	I/A***	Intet resultat**	599	1	4	0	5	594 (99,2 %)
Totalt			10 839	20	788	11	797	10 031 (92,5 %)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, I/A = ikke aktuelt

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

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

***Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Den justerte absolutte risikoen for sykdom (\geq CIN2 og \geq CIN3) i henhold til Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultat og Aptima HPV assay-resultat vises i tabell 30a. Risikoen for \geq CIN2 hos kvinner med HPV-type 16, 18 og/eller 45 var 10,8 % sammenlignet med 3,8 % hos kvinner med én eller flere av de andre 11 høyrisiko HPV-typene, og 1,0 % hos kvinner uten høyrisiko HPV-typer. De ujusterte absolutte risikoene for sykdom vises samlet i tabell 30b og etter aldersgruppe i tabell 31.

Tabell 30a: Populasjonen NILM \geq 30 år: Absolutt risiko for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (verifikasjonsbiasjusterte estimater)

Resultat fra Aptima HPV Assay	AHPV-GT Assay-resultat	Tolkning	\geq CIN2	\geq CIN3
			Absolutt risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)
Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	9,7 (4,6, 20,2)	8,5 (3,8, 19,2)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	10,4 (4,0, 27,1)	10,3 (3,9, 27,1)
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	8,8 (2,9, 26,4)	6,5 (1,7, 25,1)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	0,0	0,0
	HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	3,2 (1,6, 6,3)	1,8 (0,6, 4,9)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	4,6 (2,8, 7,4)	3,2 (1,7, 5,9)
Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	0,7 (0,2, 2,5)	0,2 (0,0, 4,8)
Prevalens			1,1 %	0,8 %

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ, I/A = ikke aktuelt

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Tabell 30b: Populasjonen NILM \geq 30 år: Absolutt risiko for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (ujusterte estimater)

Resultat fra Aptima HPV Assay	AHPV-GT Assay-resultat	Tolkning	\geq CIN2	\geq CIN3
			Absolutt risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)
Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	10,8 (7/65) (5,1, 17,7)	9,2 (6/65) (4,3, 14,2)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	12,5 (4/32) (3,7, 25,2)	12,5 (4/32) (3,9, 23,1)
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	9,4 (3/32) (2,2, 21,8)	6,3 (2/32) (0,9, 16,8)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	0,0 (0/1) (0,0, 93,5)	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)
	HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	3,6 (7/194) (1,7, 6,0)	2,1 (4/194) (0,7, 3,9)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	5,4 (14/259) (3,7, 6,8)	3,9 (10/259) (2,6, 4,5)
Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)
Prevalens			2,5 % (20/808)	1,4 % (11/808)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ, I/A = ikke aktuelt

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Tabell 31: Populasjonen NILM \geq 30 år: Absolutt risiko for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay etter aldersgruppe (ujusterte estimater)

	Resultat fra Aptima HPV Assay	AHPV-GT Assay-resultat	Tolkning	\geq CIN2	\geq CIN3
				Absolutt risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)
30 til 39 år	Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	8,1 (3/37) (2,0, 16,4)	5,4 (2/37) (0,9, 12,3)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	15,0 (3/20) (3,9, 30,6)	10,0 (2/20) (1,0, 22,8)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	I/A (0/0)	I/A (0/0)
		HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	3,6 (4/111) (1,2, 6,2)	2,7 (3/111) (0,7, 4,7)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	4,7 (7/148) (2,6, 6,1)	3,4 (5/148) (1,6, 4,3)
	Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)
Prevalens				2,4 % (9/378)	1,6 % (6/378)
\geq 40 år	Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45-pos	14,3 (4/28) (4,8, 26,4)	14,3 (4/28) (5,0, 21,9)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Kun HPV 16-pos	26,7 (4/15) (6,4, 47,9)	26,7 (4/15) (6,5, 43,1)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Kun HPV 18/45-pos	0 (0/12) (0,0, 21,5)	0 (0/12) (0,0, 18,6)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16- og 18/45-pos	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)	0,0 (0/1) (0,0, 93,1)
		HPV 16/18/45-neg	Andre HR HPV-pos	3,6 (3/83) (1,0, 7,8)	1,2 (1/83) (0,0, 4,1)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	6,3 (7/111) (3,3, 8,9)	4,5 (5/111) (2,3, 5,4)
	Negativ	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0 (0/319) (0,0, 0,8)
Prevalens				2,6 % (11/430)	1,2 % (5/430)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ, I/A = ikke aktuelt

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Den relative sykdomsrisikoen for positive Aptima 16 18/45 genotype assay-resultater sammenlignet med negative resultater vises i tabell 32 (verifikasjonsbiasjustert) og tabell 33 (ujustert). Kvinner med HPV-type 16, 18 og/eller 45 hadde 12,7 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 og 18,4 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN3 sammenlignet med kvinner uten høyrisiko HPV-typer. Kvinner med HPV-type 16, 18 og/eller 45 hadde 2,9 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 og 3,8 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN3 sammenlignet med kvinner med én eller flere av de andre 11 høyrisiko HPV-typene.

Tabell 32: Populasjonen NILM \geq 30 år: Relativ risiko for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (verifikasjonsbiasjusterte estimater)

Tolkning av Aptima Assay-test*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relativ risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
HPV 16- og/eller 18/45-pos kontra HR HPV-neg	12,9 (3,1, 54,6)	53,3 (1,5, > 999)
HPV 16- og/eller 18/45-pos kontra andre HR HPV-pos	3,0 (1,1, 8,8)	4,8 (1,2, 19,2)
Andre HR HPV-pos kontra HR HPV-neg	4,3 (1,2, 15,1)	11,0 (0,4, 289,2)
HR HPV-pos kontra HR HPV-neg	6,1 (1,8, 21,0)	20,2 (0,7, 567,7)
Prevalens	1,1 %	0,8 %

KI = konfidensintervall, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Tabell 33: Populasjonen NILM \geq 30 år: Relativ risiko for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (ujusterte estimater)

Tolkning av Aptima Assay-test*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relativ risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
HPV 16- og/eller 18/45-pos kontra HR HPV-neg	9,9 (3,4, 28,4)	50,7 (6,2, 414,4)
HPV 16- og/eller 18/45-pos kontra andre HR HPV-pos	3,0 (1,1, 8,2)	4,5 (1,3, 15,4)
Andre HR HPV-pos kontra HR HPV-neg	3,3 (1,1, 9,7)	11,3 (1,3, 100,7)
HR HPV-pos kontra HR HPV-neg	4,9 (1,9, 12,7)	21,2 (2,7, 164,7)
Prevalens	2,5 % (20/808)	1,4 % (11/808)

KI = konfidensintervall, HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Sannsynlighetsforholdene (\geq CIN2 og \geq CIN3) i henhold til Aptima 16 18/45 genotype assay-resultat vises i tabell 34 (verifikasjonsbiasjustert) og tabell 35 (ujustert). HPV-type 16, 18 og/eller 45 hadde 17,1 ganger så stor sannsynlighet for å være til stede hos kvinner med \geq CIN2, og 21,9 ganger så stor sannsynlighet for å være til stede i en kvinne med \geq CIN3.

Tabell 34: Populasjonen NILM \geq 30 år: Sannsynlighetsforhold for \geq CIN2 og \geq CIN3 i henhold til resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (verifikasjonsbiasjusterte estimater)

Tolkning av Aptima Assay-resultat*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Sannsynlighetsforhold (95 % KI)	Sannsynlighetsforhold (95 % KI)
HPV 16- og/eller 18/45-positive	11,2 (3,3, 38,4)	24,1 (2,6, 225,9)
Andre HR HPV-positive	3,5 (1,3, 9,4)	4,7 (0,7, 29,8)
HR HPV-negative	0,8 (0,6, 1,1)	0,4 (0,1, 2,2)

KI = konfidensintervall, HR = høyrisiko

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Tabell 35: Populasjonen NILM \geq 30 år: Sannsynlighetsforhold for \geq CIN2 og \geq CIN3 i henhold til resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (ujusterte estimater)

Tolkning av Aptima Assay-resultat*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Sannsynlighetsforhold (95 % KI)	Sannsynlighetsforhold (95 % KI)
HPV 16- og/eller 18/45-positive	4,8 (2,1, 8,5)	7,4 (3,3, 12,0)
Andre HR HPV-positive	1,5 (0,7, 2,5)	1,5 (0,5, 2,9)
HR HPV-negative	0,4 (0,2, 0,8)	0,1 (0,0, 0,6)

KI = konfidensintervall, HR = høyrisiko

*Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Klinisk ytelse av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med SurePath flytende cytologiprøver

SurePath flytende cytologiprøver ble oppsamlet fra canadiske kvinner 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 (n = 481). Positive prøver ble deretter testet med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay og Aptima HPV assay. Resultatene vises i tabell 36. Lignende resultater vises for den kommersielt tilgjengelige HPV-PCR-testen, som skiller HPV 16 og HPV 18, men ikke HPV 45, separat fra de andre høyrisiko genotypene. Den relative sykdomsrisikoen for genotype-positive resultater sammenlignet med negative resultater vises i tabell 37 for Aptima HPV 16 18/45 genotype assay og HPV-PCR-testen.

Tabell 36: Absolutt risiko for \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og en kommersielt tilgjengelig HPV-PCR-test

HR HPV-resultat	Genotyperesultat	Tolkning	Aptima absolutt risiko \geq CIN3 (95 % KI)	HPV-PCR absolutt risiko \geq CIN3 (95 % KI)
Positiv	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45*-pos	HPV 16- og/eller HPV 18/45*-pos	12,5 (7,6-17,3)	14,4 (10,4-18,1)
	HPV 16-pos og HPV 18/45*-neg	Kun HPV 16-pos	16,4 (9,2-23,9)	16,8 (11,6-21,9)
	HPV 16-neg og/eller HPV 18/45*-pos	Kun HPV 18/45*-pos	3,3 (0,1-13,2)	7,1 (1,0-18,8)
	HPV 16-pos og/eller HPV 18/45*-pos	HPV 16- og HPV 18/45*-pos	33,3 (1,8-83,7)	14,3 (0,7-49,9)
	HPV 16-neg og/eller HPV 18/45*-neg	Andre HR HPV-pos	2,0 (1,0-3,1)	2,1 (1,1-3,3)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	10,2 (8,4-11,7)	8,5 (7,0-9,5)
Negativ**	HPV 16-neg og/eller HPV 18/45*-neg	HR HPV-neg	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
Prevalens (%)			4,0 %	5,0 %

HR = høyrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*HPV-PCR-testen skiller kun HPV 16 og HPV 18 fra de andre 12 høyrisiko genotypene, inkludert HPV 45.

**Kvinner med negativt Aptima HPV assay-resultat ble klassifisert som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negative for analysens formål.

Tabell 37: Relativ risiko for \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og en kommersielt tilgjengelig HPV-PCR-test

Aptima Assay-resultater		HPV-PCR-testresultater	
Testtolkning	Relativ risiko \geq CIN3 (95 % KI)	Testtolkning	Relativ risiko \geq CIN3 (95 % KI)
HPV 16- og/eller 18/45-positive kontra HR HPV-negative	13,1 (3,7-45,9)	HPV 16- og/eller 18/45-positive kontra HR HPV-negative	12,6 (3,8-41,9)
HPV 16- og/eller 18/45-positive kontra andre HR HPV-positive	2,0 (0,7-5,4)	HPV 16- og/eller 18/45-positive kontra andre HR HPV-positive	3,9 (1,6-9,5)
Andre HR HPV-positive kontra HR HPV-negative	6,6 (1,6-27,1)	Andre HR HPV-positive kontra HR HPV-negative	3,2 (0,8-12,8)
HR HPV-positive kontra HR HPV-negative	10,7 (3,3-35,1)	HR HPV-positive kontra HR HPV-negative	7,4 (2,3-24,3)
Prevalens	4,0 %	Prevalens	5,0 %

Klinisk ytelse for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med livmorhalsprøver oppsamlet for transport

Ytelsen til Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ble evaluert med CSCT-prøver oppsamlet fra kvinner henvist til oppfølgingsbesøk pga. et unormalt celleprøveresultat. Prøvene ble innledningsvis testet med Aptima HPV assay (n = 651). Prøver med et positivt Aptima HPV assay-resultat (n = 414) ble deretter testet med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på både Tigris DTS System og Panther System.

Klinisk samsvar i Aptima HPV 16 18/45 genotype assay for deteksjon av høyrisiko HPV 16, 18 og 45 for Panther System ble fastslått basert på Tigris DTS System-resultatet som referansemetoden. Prosentvis positiv- og negativ-samsvar og tilknyttet 95 % konfidensintervall ble beregnet. Resultatene vises i tabell 38.

Tabell 38: Klinisk samsvar i Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther System for deteksjon av høyrisiko HPV 16, 18 og 45 i CSCT-prøver

		Tigris DTS System-resultat				Totalt
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	
Panther System-resultat	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	194	0	1	3	198
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	0	34	0	0	34
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	0	0	7	0	7
	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	1	1	0	173	175
	Totalt	195	35	8	176	414

Pos = positiv, neg = negativ

Positiv-samsvar: 98,7 % (235/238) (95 % KI: 96,4, 99,6)

Negativ-samsvar: 98,3 % (173/176) (95 % KI: 95,1, 99,4)

Analytisk sensitivitet

Deteksjonsgrensen (Limit of Detection, LOD) ved den kliniske cutoff er en konsentrasjon som er positiv (over den kliniske cutoff) 95 % av tiden. Deteksjonsgrensen for Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ble estimert ved å teste individuelle eller sett med negative kliniske ThinPrep flytende cytologiprøver tilsatt HPV *in vitro*-transkripter eller HPV-infiserte kultiverte celler (SiHa, HeLa og MS751; ATCC, Manassas, Virginia, USA) i ulike konsentrasjoner. For *in vitro*-transkriptpaneler ble det testet 60 replikater for hvert kopinivå med hvert av to reagenspartier for totalt 120 replikater. For cellelinjepaneler ble 30 replikater for hvert kopinivå testet med hvert av to reagenspartier for totalt 60 replikater. Testing ble utført over åtte dager, med minst tre kjøring per dag og fem replikater for en gitt genotype testet i hver kjøring. 95 % deteksjonsgrensen (tabell 39) ble beregnet ut fra Probit-regresjonsanalyse av positivitetsresultatene for hvert fortynningspanel.

Tabell 39: Deteksjonsgrense ved klinisk cutoff for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Mål	Deteksjonsgrense* (95 % KI)
HPV 16	23,7 (19,1, 30,9)
HPV 18	26,1 (21,2, 33,9)
HPV 45	34,5 (28,5, 43,6)
SiHa	0,4 (0,3, 0,7)
HeLa	0,7 (0,4, 1,4)
MS751	0,2 (0,1, 0,3)

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

Analysens presisjon

Presisjonen til Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ble evaluert i to studier ved bruk av samme 24-elementers panel. Studie 1 ble utført på 3 eksterne teststeder for å bestemme analysens reproduserbarhet. Studie 2 ble utført internt for å fastslå presisjon innen laboratorium. Panelet inkluderte 17 HPV 16- og/eller 18/45-positive elementer med konsentrasjoner ved eller over deteksjonsgrensen for analysen (forventet positivitet: $\geq 95\%$), 3 HPV 16- og/eller 18/45-positive elementer med konsentrasjoner under deteksjonsgrensen for analysen (forventet positivitet: $> 0\%$ til $< 25\%$), og 4 HPV-negative elementer. HPV 16- og/eller 18/45-positive panelementer ble tilberedt ved å tilsette *in vitro*-transkript eller HPV-infiserte kultiverte celler (SiHa, HeLa og MS751; ATCC, Manassas, Virginia, USA) i samlede residuale ThinPrep flytende cytologiprøver eller ved å fortynne HPV 16, 18 og/eller 45 kliniske prøver i samlede residuale ThinPrep flytende cytologiprøver. HPV-negative panelementer ble tilberedt med samlede ThinPrep flytende cytologiprøver eller PreservCyt-løsning.

I studie 1 utførte 2 operatører på hvert av de 3 teststedene (1 instrument per sted) 2 Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-arbeidslister per dag over 3 dager. Testing ble utført med 2 reagenspartier. Hver arbeidsliste inneholdt 3 replikater av hvert av elementene i reproduserbarhetspanelet. 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 dager 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 40a og tabell 40b, sammen med et sammendrag av samsvaret med forventede resultater for henholdsvis HPV 16 og HPV 18/45.

Tabell 40a: Presisjonsstudie 1 og 2 for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Panelbeskrivelse og prosentvis samsvar med forventede HPV 16-resultater

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon)	Forventet HPV 16-resultat	Prosentvis samsvar (95 % KI)	
		Studie 1 (3 teststeder)	Studie 2 (1 teststed)
HPV 16 IVT (240 kopier)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (260 kopier)	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (350 kopier)	Negativ	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV 16 klinisk prøve 1	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinisk prøve 1	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa-celler (4 celler) og HeLa-celler (0,7 celler)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (0,4 celler) og HeLa-celler (7 celler)	Positiv	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
SiHa-celler (0,4 celler)	Positiv	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
HeLa-celler (0,7 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-celler (0,2 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (158/159) (96,5, 99,9)
HPV 16 IVT (24 kopier)	Positiv	100 (107/107) (96,5, 100)	96,9 (157/162) (93,2, 98,7)
HPV 18 IVT (26 kopier)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (35 kopier)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinisk prøve 2	Positiv	98,1 (105/107) (93,4, 99,5)	98,8 (160/162) (95,7, 99,7)
HPV 16 klinisk prøve 3	Positiv	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
HPV 18/45 klinisk prøve 2	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinisk prøve 3	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (0,001 celler)	Negativ	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (158/161) (94,8, 99,4)
HeLa-celler (0,001 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-celler (0,006 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ klinisk prøve 1	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ klinisk prøve 2	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ PreservCyt 1	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ PreservCyt 2	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

KI = konfidensintervall-verdi

Merknad: Det prosentvise samsvaret kan ha blitt påvirket av variasjoner i tilsetning, fortynning og/eller alikvotering.

Tabell 40b: Presisjonsstudie 1 og 2 for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Panelbeskrivelse og prosentvis samsvar med forventede HPV 18/45-resultater

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon)	Prosentvis samsvar (95 % KI)		
	Forventet HPV 18/45-resultat	Studie 1 (3 teststeder)	Studie 2 (1 teststed)
HPV 16 IVT (240 kopier)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (260 kopier)	Positiv	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (350 kopier)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinisk prøve 1	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinisk prøve 1	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa-celler (4 celler) og HeLa-celler (0,7 celler)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (0,4 celler) og HeLa-celler (7 celler)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (0,4 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HeLa-celler (0,7 celler)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-celler (0,2 celler)	Positiv	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	88,7 (141/159) (84,5, 93,5)
HPV 16 IVT (24 kopier)	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (26 kopier)	Positiv	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (35 kopier)	Positiv	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
HPV 16 klinisk prøve 2	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinisk prøve 3	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinisk prøve 2	Positiv	100 (107/107) (96,5, 100)	95,7 (155/162) (91,7, 98,0)
HPV 18/45 klinisk prøve 3	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa-celler (0,001 celler)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
HeLa-celler (0,001 celler)	Negativ	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
MS751-celler (0,006 celler)	Negativ	75,0 (81/108) (66,1, 82,2)	88,3 (143/162) (84,2, 93,2)
HPV-negativ klinisk prøve 1	Negativ	99,1 (106/107) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ klinisk prøve 2	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ PreservCyt 1	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ PreservCyt 2	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

KI = konfidensintervall-verdi

Merknad: Det prosentvise samsvaret kan ha blitt påvirket av variasjoner i tilsetning, fortykning og/eller alikvotering.

Kryssreaktivitet

Testing med potensielt kryssreaktive organismer for Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ble utført med Tigris DTS System. Se *Kryssreaktivitet* (tabell 20) i avsnittet Tigris DTS System for resultater.

Interferens

Testing med potensielt interfererende stoffer for Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ble utført med Tigris DTS System. Se *Interferens* (tabell 21) 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., Franceschi S., Howell-Jones R., Snijders P.J.F., Clifford G.M.** Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer.* 2011;128: 927-935. doi 10.1002/ijc.25396
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer.* 64(3):211-5.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond).* 110(5):525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* 16(1):1-17.
6. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90(12):5583-7.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G. Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* 325(7364): 572-579.
8. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer.* 108(3):329-33. Erratum in: *Int J Cancer.* 108(6):945.
9. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol.* 73(1): 65-70.
10. **De Sanjose S., et al.** 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet.* DOI 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
11. **Burger R.A., B. J. Monk, T. Kurosaki, H. Anton-Culver, S. Vasilv, M. L. Berman and S.P. Wilczynski.** 1996. Human Papillomavirus Type 18: Association with poor prognosis in early stage cervical cancer. *J. Nat. Cancer institute.* 88(19): 1361-1368.
12. **Safaeian M., M. Schiffman, J. Gage, D. Solomon, C. Wheeler and P. Castle.** 2009. Detection of Precancerous Cervical Lesions Is Differential by Human Papillomavirus Type. *Cancer Res.* 69(8): 3262-3266.
13. **Khan, M.J., P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder, M. Sherman, D.R. Scott, B.B. Rush, A.G. Glass and M. Schiffman.** 2005. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J. Natl. Cancer Inst.* 97(14): 1072-1079.
14. **ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.** HPV Genotyping Clinical Update. 2009. http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical_update_20090408.pdf. Accessed March 22, 2012.
15. **Wright T.C., S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E.J. Wilkinson and D. Solomon.** 2007. 2006 Consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *Journal of Lower Genital Tract Disease.* 11(4):201-222.
16. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
17. **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.
18. **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.
19. **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.
20. **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.
21. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. 2013. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* 208(2):144-145.



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

Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

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

Du finner flere kontaktopplysninger på www.hologic.com.

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

Hologic, Aptima, DTS, Panther, PreservCyt, ThinPrep og Tigris er varemerker og/eller registrerte varemerker som tilhører Hologic, Inc. og/eller dets datterselskaper i USA og/eller andre land.

RAININ er et varemerke for Rainin Instruments, LLC.

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-11504-1801 Rev. 008

2018-03