

Aptima HPV Assay

För *in vitro*-diagnostiskt bruk.

Endast för export från USA.

Allmän information	2
Avsedd användning	2
Sammanfattning och förklaring av analysen	2
Metodprinciper	3
Varningar och försiktighetsåtgärder	4
Förvaring och hantering av reagenser	6
Provtagning och provförvaring	7
Kvalitetskontrollförfaranden	21
Analystolkning	22
Begränsningar	23
Förväntade resultat med Tigris DTS-system: Prevalens av högrisk-HPV-mRNA	25
Studieutformning för klinisk prövning av Aptima HPV assay med ThinPrep-vätskecytologiprover	26
Assayprestanda för Tigris DTS-system	28
Förväntade resultat med Panther-systemet: Prevalens av högrisk-HPV-mRNA	57
Klinisk studiedesign av Aptima HPV assay med ThinPrep-vätskecytologiprover	58
Analysprestanda för Panther-systemet	60
Litteratur	84

Tigris™ DTS-system

Tigris DTS-system	9
Tillhandahållna reagenser och material	9
Material som krävs men som införskaffas separat	10
Valfri materiel	11
Analysmetod för Tigris DTS-system	11
Metodanmärkningar	13

Panther™-systemet

Panther-systemet	15
Tillhandahållna reagenser och material	15
Material som krävs men som införskaffas separat	16
Valfri materiel	16
Analysmetod för Panther-system	17
Metodanmärkningar	19

Allmän information

Avsedd användning

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

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

Cervixprover som tas i ThinPrep™ burken innehållande PreservCyt™-lösning kan analyseras med Aptima HPV assay antingen före eller efter LBC provtagning, liksom cervixprover som tagits med Aptima provtagnings- och transportsats för cervixprover. Assayen kan användas för att analysera dessa provtyper, antingen med DTS-systemen (Direct Tube Sampling) eller Tigris DTS-systemet, eller Panther-systemet. Cervixprover som insamlats i SurePath konserveringsvätska kan analyseras med Aptima HPV assay på Tigris DTS-systemet och Panther-systemet.

Sammanfattning och förklaring av analysen

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

Virusgenomet hos HPV är ett dubbelsträngat cirkulärt DNA med en ungefärlig längd på 7 900 baspar. Genomet har åtta överlappande öppna läsramar. Det finns sex tidiga (E) gener, två sena (L) gener och en icke-translaterad lång kontrollregion. Generna L1 och L2 kodar för de större och mindre kapsidproteinerna. Tidiga gener reglerar HPV-virusreplikation. E6- och E7-generna från HPV-genotyper av högrisktyp är kända onkogener. Proteiner som uttrycks från E6/E7 polycistroniskt mRNA förändrar funktionerna hos cellulärt p53- och retinoblastomprotein, vilket leder till störning av cellcykelns kontrollpunkter och cellgenominstabilitet.^{5, 6}

Fjorton HPV-genotyper betraktas som patogena eller högrisktyper för cervixsjukdom.⁷ Flera studier har kopplat genotyperna 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 och 68 till utveckling av sjukdom.^{2, 5, 8} Patienter med en persistent infektion med en av dessa typer har en ökad risk för att utveckla grav dysplasi eller cervixcancer.^{7, 9}

HPV-infektioner är mycket vanliga och för de flesta kvinnor försvinner HPV-infektioner inom 6 till 12 månader.^{8, 10} Förekomsten av HPV-nukleinsyra betyder inte att cervikal dysplasi eller cervical cancer föreligger. En effektivare metod för detektering av cervixsjukdom är dock att fokusera på dessa onkogen HPV-element som gynnar persistent virusinfektion och celltransformation.³

Aptima HPV assay av kliniska prestanda i primärscreening för livmoderhalscancer

Den kliniska prestandan hos Aptima HPV assay har när den används i en primärscreening undersökts i flera studier av oberoende utredare. Tretton referentgranskade publikationer^{11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23} från tio olika kliniska studier rapporterar resultaten av APTIMA HPV i primärscreening hos deltagande kvinnor i nio länder (Kina, Kanada, Frankrike, Mexiko, England, Danmark, Nederländerna, USA, och Tyskland). Data från dessa studier visar att APTIMA HPV har liknande kliniska resultat som andra kliniskt validerade HPV-tester som används för primärscreening för förstadier till och vid livmoderhalscancer.

Metodprinciper

Aptima HPV assay består av tre huvudsteg som sker i ett och samma provrör: målsekvensinfångning, målamplifiering genom transkriptionsmedierad amplifiering (TMA),²⁴ och detektering av amplifieringsprodukterna (amplicon) med hjälp av hybridiserings-skyddsassayen (HPA).²⁵ Assayen har en intern kontroll (IC) som övervakar nukleinsyrainfångning, amplifiering och detektering, såväl som operatörs- eller instrumentfel.

Prover tas och samlas upp i eller överförs till ett rör innehållande provtransportmedier som lyserar cellerna, frigör mRNA och skyddar det från nedbrytning vid förvaring. När Aptima HPV assay utförs isoleras mål-mRNA från provet genom infångningsoligomerer som är kopplade till magnetiska mikropartiklar. Infångningsoligomererna innehåller sekvenser som är komplement till specifika regioner på HPV:s mRNA-målmolekyler, såväl som en sträng med med deoxiadenosinrester. I hybridiseringssteget binds de sekvensspecifika regionerna på infångningsoligomererna till specifika regioner på HPV:s mRNA-målmolekyl. Komplexet infångningsoligomer:målmolekyl infångas sedan ur lösningen genom att reaktionens temperatur sänks till rumstemperatur. Denna temperatursänkning gör att hybridisering kan ske mellan deoxiadenosinregionen på infångningsoligomeren och de polydeoxitymidinmolekyler som är kovalent bundna till magnetpartiklarna. Mikropartiklarna, inklusive de infångade HPV:s mRNA-målmolekyler som är bundna till dem, dras mot sidan av reaktionsröret med hjälp av magneter, och supernatanten aspireras. Partiklarna tvättas för att avlägsna kvarvarande provmatris som kan innehålla amplifieringshämmare.

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

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

Intern kontroll tillsätts varje reaktion via reagensen för målsekvensinfångning. Den interna kontrollen övervakar målsekvensinfångningen, amplifieringen och stegen för detektering i

assayen. Den interna kontrollsignalen i varje reaktion åtskiljs från HPV-signalen genom ljusemissionens differentialkinetik från sonder med olika märken.²⁶ Amplicon specifik för intern kontroll detekteras med användning av en sond med en snabb ljusemission (blinksignal). Amplicon som är specifikt för HPV detekteras med hjälp av sonder med en förhållandevis långsammare ljusemissionskinetik ("glödsignal"). Dual Kinetic assay (DKA) är en metod som används för att skilja på signaler från märkena med blinksignal och glödsignal.²⁶

Varningar och försiktighetsåtgärder

- A. För *in vitro*-diagnostiskt bruk.
- B. För professionell användning.
- C. För ytterligare specifika varningar och försiktighetsåtgärder se användarmanualerna till Tigris DTS-systemet och Panther-systemet.

Laboratorierelaterad information

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

Provrelaterad information



- H. Upprätthåll korrekta temperaturförhållanden vid transport och förvaring av prover för att säkerställa provernas integritet. Provstabilitet har inte utvärderats under andra transport- och förvaringsförhållanden än de rekommenderade.
- I. Utgångsdatum som anges på provtagnings-/överföringssatser och provrör avser provtagnings-/överföringsplatsen och inte analysplatsen. Prover som tagits/överförts vid någon tidpunkt före dessa utgångsdatum kan användas för analys under förutsättning att de har transporterats och förvarats enligt respektive bipacksedel, även om utgångsdatumen har passerats.
- J. Proverna kan vara smittförande. Använd allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder vid utförande av denna assay. Metoder för korrekt hantering och kassering ska fastställas av laboratoriechefen. Endast personal med lämplig utbildning i hantering av smittförande material ska tillåtas tillämpa denna metod.
- K. Undvik korskontamination under provhanteringen. Se till att provbehållare inte kommer i kontakt med varandra, och kassera använt material utan att förflytta dem över öppna behållare. Byt ut handskar om de kommer i kontakt med prov.

- L. Om ett hål uppstår, kan vätska läcka ut ur provrörslock under vissa förhållanden. Se *Analysmetod för Tigris DTS-system* och *Analysmetod för Panther-system* för ytterligare information.
- M. Prover med ThinPrep-vätskecytologi och provtagnings- och transportsats för cervixprover (CSCT) ska förkastas om ett provtagningsinstrument har lämnats kvar i provröret.
- N. SurePath-vätskecytologiprover ska förkastas om det inte finns ett provtagningsinstrument i ampullen.

Assayrelaterad information

- O. Förvara reagenser vid angivna temperaturer. Assayprestanda kan påverkas om felaktigt förvarade reagenser används.
- P. Undvik att förorena reagenser med mikrobiellt material eller ribonukleas.
- Q. Använd inte satsen efter utgångsdatum.
- R. Assayreagenser eller kalibratorer från satser med olika batchnummer får inte växlas, blandas eller kombineras.
- S. Aptima Assayvätskor, Aptima Auto Detect-reagenser, Aptima-konserveringsmedel för systemvätska (endast Tigris DTS-system) och kontroller för Aptima HPV assay (endast Tigris DTS-system) ingår inte i huvudsatsen. Alla satser kan användas.
- T. För att uppnå korrekt assayresultat måste assayreagenserna blandas mycket noga.
- U. Spetsar med hydrofoba pluggar måste användas.
- V. Vissa reagens i detta kit är märkta med risk- och säkerhetssymboler.

Obs! Farokommunikationen återger klassifikationerna i EU:s säkerhetsdatablad (SDS). För information om farokommunikation specifik för ditt geografiska område, se områdets specifika SDS i bibliotek med säkerhetsdatablad (Safety Data Sheet Library) på www.hologicsds.com.

EU faroinformation	
	<p>Selektionsreagens BORIC ACID 1 – 5 % Natriumhydroxid < 1 % WARNING H315 – Irriterar huden H319 – Orsakar allvarlig ögonirritation</p>
	<p>Extraktionsreagens EDTA 1 – 5 % H411 – Giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter P273 – Undvik utsläpp till miljön P280 – Använd ögon-/ansiktsskydd</p>

Förvaring och hantering av reagenser

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

- A. Följande reagenser förvaras vid 2 °C till 8 °C (i kylskåp) efter leverans:
 - HPV-amplifieringsreagens
 - HPV-enzymreagens
 - HPV-sondreagens
 - HPV-intern kontrollreagens
 - HPV-positiva kalibratorer och negativa kalibratorer
 - HPV-positiva kalibratorer och -negativa kalibratorer (endast Tigris DTS-system)
- B. Följande reagenser förvaras vid 15 °C till 30 °C (rumstemperatur):
 - HPV-amplifieringsrekonstitutionslösning
 - HPV-enzymrekonstitutionslösning
 - HPV-sondkonstitutionslösning
 - HPV-reagens för målsekvensinfångning
 - HPV-selektionsreagens
 - Tvättlösning
 - Oljereagens
 - Buffert för inaktiveringsvätska
 - Auto Detect-reagens 1
 - Auto Detect-reagens 2
 - Aptima konserveringsmedel för systemvätska (endast Tigris DTS-system)
- C. Efter rekonstitution är följande reagenser stabila i 30 dagar när de förvaras vid 2 till 8 °C:
 - HPV-amplifieringsreagens
 - HPV-enzymreagens
 - HPV-sondreagens
- D. Arbetsmålsekvensinfångningsreagens (wTCR) är stabilt i 30 dagar när det förvaras vid 15 till 30 °C. Får ej förvaras i kylskåp.
- E. Kassera alla oanvända rekonstituerade reagenser och wTCR efter 30 dagar eller, om detta inträffar först, efter att huvudsatsens utgångsdatum passerats.
- F. Aptima HPV assay-reagens är stabila under sammanlagt 48 timmar när de förvaras laddade i Tigris DTS-systemet.
- G. Aptima HPV assay-reagens är stabila under sammanlagt 72 timmar när de förvaras laddade i Panther-systemet.
- H. Sondreagens och rekonstituerat sondreagens är ljuskänsliga. Förvara reagenserna skyddade från ljus.
- I. Frys inte reagenser.

Provtagning och provförvaring

A. Provtagning och provbehandling

ThinPrep-vätskecytologiprover

1. Ta cervix prover i ThinPrep Pap-smear-ampuller som innehåller PreservCyt-lösning med provtagningsinstrument av kvasttyp eller cytoborste/spatel enligt tillverkarens anvisningar.
2. Före eller efter behandling med ThinPrep 2000-systemet, ThinPrep 3000-systemet, ThinPrep 5000-processorn, ThinPrep 5000-processorn med Autoloader eller ThinPrep Genesis-processorn, överför 1 ml ThinPrep-vätskecytologiprov i ett Aptima-provöverföringsrör enligt anvisningarna i bipacksedeln till Aptima Specimen Transfer Kit.

SurePath vätskecytologiprover

1. Ta ett SurePath-vätskecytologiprov enligt bruksanvisningen för SurePath Pap-smear och/eller PrepStain-system.
2. Överför SurePath-vätskecytologiprovet till ett Aptima-provöverföringsrör enligt anvisningarna i bipacksedeln till Aptima-provöverföringssats.

Prover med Aptima provtagnings- och transportsats för cervixprover

Ta ett prov enligt bruksanvisningen för Aptima CSCT-satsen.

B. Transport och förvaring före analys

ThinPrep-vätskecytologiprover

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

SurePath-vätskecytologiprover

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

Prover med Aptima provtagnings- och transportsats för cervixprover

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

C. Behandling av SurePath-vätskecytologiprover

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

1. Aptima-överföringslösning

Behandlade prover kan förvaras vid 2 till 8 °C i upp till 17 dagar före analys med Aptima HPV assay. Se bipacksedeln i Aptima-provöverföringssats för att få mer information.

D. Provförvaring efter analys

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

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

Tigris DTS-system

Reagenser för Aptima HPV assay anges nedan för Tigris DTS-systemet.
Reagens-ID-symboler anges även bredvid respektive reagensnamn.

Tillhandahållna reagenser och material

Aptima HPV assay-sats, 250 analyser, artikelnr 302611 (4 kartonger)

Kalibratorer och kontroller kan köpas separat. Se artikelnummer för separata kartonger nedan.

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

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

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

Symbol	Komponent	Antal
AR	HPV-amplifieringsrekonstitutionslösning <i>Vattenhaltig lösning innehållande konserveringsmedel.</i>	1 ampull
ER	HPV-enzymrekonstitutionslösning <i>HEPES-buffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne och glycerol.</i>	1 ampull
PR	HPV-sondkonstitutionslösning <i>Succinatbuffrad lösning innehållande < 5 % rengöringsmedel.</i>	1 ampull
S	HPV-selektionsreagens <i>600 mM boratbuffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne.</i>	1 ampull
TCR	HPV-reagens för målsekvensinfångning <i>Icke-smittförande nukleinsyra i en buffrad lösning innehållande fast fas (< 0,5 mg/ml).</i>	1 ampull
	Rekonstitutionskragar	3
	Streckkodsblad för huvudsatsen	1 blad

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

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

Kartong med Aptima HPV-kalibratorer (artikelnummer 302556)
(förvaras vid 2 till 8 °C efter leverans)

Symbol	Komponent	Antal
PC	HPV-positiv kontroll <i>Lyserade, inaktiverade HPV-negativa och HPV-positiva odlade celler på 25 celler per ml i en buffrad lösning innehållande < 5 % rengöringsmedel.</i>	5 ampuller
NC	HPV-negativ kontroll <i>Lyserade, inaktiverade HPV-negativa odlade celler i en buffrad lösning innehållande < 5 % rengöringsmedel.</i>	5 ampuller

Material som krävs men som införskaffas separat

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

	Artikelnr
Tigris DTS-system	105118
Aptima-assayvätskesats <i>(Aptima-tvättlösning, Aptima-buffert för inaktiveringsvätska och Aptima-oljereagens)</i>	302382
Aptima Auto Detect-sats	301048
Sats med konserveringsmedel för systemvätska för Aptima	302380
Spetsar, 1 000 µl konduktiva, vätskeavkännande	10612513 (Tecan)
Körningssats för Tigris DTS-system <i>Enheter för flera rör (Multi-tube Units, MTU)</i>	301191
<i>MTU-spetsavfallspåse</i>	104772-02
<i>MTU-avfallsavbärare</i>	900907
<i>MTU-avfallslock</i>	900931
	105523
Aptima-provöverföringssats	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit — utskrivbar	PRD-05110
Aptima-provtagnings- och transportsats för cervixprover	302657
Aptima genomträngliga lock	105668
Ogenomträngliga utbyteslock	103036A
Reservlock till rekonstitutionslösningar för amplifierings- och sondreagens	CL0041
Reservlock till rekonstitutionslösning för enzymreagens	501616
Reservlock till TCR- och selektionsreagens	CL0040

Blekmedel (minst 5 % eller 0,7 M natriumhypokloritlösning)	—
Vatten till Tigris DTS-system	—
<i>se Tigris DTS System Operator's Manual (användarmanualen till Tigris DTS-systemet) för specifikationer</i>	
Engångshandskar	—
Aptima Transfer Solution kit (endast för SurePath-prover)	303658

Valfri materiel

	<u>Artikelnr</u>
Blekmedelsförstärkare för rengöring	302101

Analysmetod för Tigris DTS-system

Anm. Se *Tigris DTS System Operator's Manual (användarmanualen till Tigris DTS-system)* för ytterligare metodinformation för Tigris DTS-system.

A. Förberedelse av arbetsyta

Rengör arbetsytor där reagenser och prover ska förberedas. Torka av arbetsytor med natriumhypokloritlösning på 2,5 till 3,5 % (0,35 till 0,5 M). Låt natriumhypokloritlösningen vara i kontakt med ytorna i minst 1 minut och skölj sedan med vatten. Låt inte natriumhypokloritlösningen torka. Täck ytan på bänken där reagenserna och proverna ska förberedas med rena, plastfodrade, absorberande laboratoriebänkskydd.

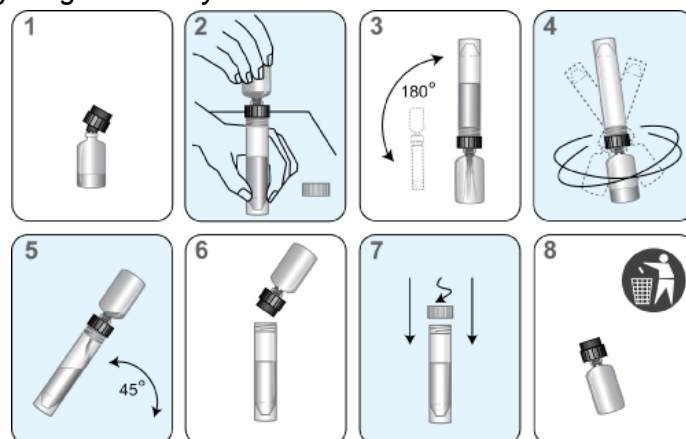
B. Reagensförberedelse av en ny sats

Anm. Reagensrekonstitution ska utföras innan något arbete påbörjas på Tigris DTS-system.

1. För att rekonstituera amplifierings-, enzym- och sondreagenser, ska flaskan med frystorkad reagens kombineras med rekonstitutionslösningen. Om rekonstitutionslösningarna är kylskåpskalla ska de få uppnå rumstemperatur före användning.
 - a. Para ihop varje rekonstitutionslösning med motsvarande frystorkade reagens. Se till att rekonstitutionslösningens och det frystorkade reagensets etikettfärger stämmer överens innan rekonstitutionskragen fästs.
 - b. Kontrollera batchnumret på huvudsatsens streckodsblad så att korrekta reagenser paras ihop.
 - c. Öppna ampullen med det frystorkade reagenset och sätt in rekonstitutionskragens skårade ände ordentligt i ampullöppningen (figur 1, steg 1).
 - d. Öppna motsvarande rekonstitutionslösning och lägg locket på en ren, täckt arbetsyta.
 - e. Håll lösningsflaskan på bänken och sätt in rekonstitutionskragens andra ände ordentligt i flaskans öppning (figur 1, steg 2).
 - f. Invertera långsamt de hopsatta flaskorna. Låt lösningen rinna ur flaskan in i glasampullen (figur 1, steg 3).
 - g. Rör försiktigt om lösningen i flaskan för att blanda ordentligt. Undvik att skapa skum medan flaskan virvlas runt (figur 1, steg 4).
 - h. Vänta tills det frystorkade reagenset lösts upp och invertera sedan de hopmonterade flaskorna igen med en lutning på 45° för att minimera skumbildning (figur 1, steg 5). Låt all vätska rinna tillbaka i plastflaskan.

- i. Avlägsna rekonstitutionskragen och glasampullen (figur 1, steg 6).
- j. Sätt på locket igen på plastflaskan. Notera operatörens initialer och rekonstitutionsdatum på alla rekonstituerade reagensampuller (Figur 1, steg 7).
- k. Kassera rekonstitutionskragen och glasampullen (Figur 1, steg 8).

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



Figur 1. Rekonstitutionsförfarande för Tigris DTS-system

2. Förbered arbetsmålsekvensinfångningsreagens (wTCR):
 - a. Para ihop de lämpliga flaskorna med TCR och IC.
 - b. Kontrollera reagensbatchnummer på huvudsatsens streckkodsblad, så att korrekta reagenser i satsen paras ihop.
 - c. Öppna TCR-flaskan och lägg locket på en ren, täckt arbetsyta.
 - d. Öppna IC-flaskan och häll ut hela dess innehåll i en flaska med TCR. En liten mängd vätska brukar bli kvar i IC-flaskan.
 - e. Sätt på locket på flaskan med TCR och rör försiktigt om lösningen för att blanda innehållet. Undvik att skapa skum under detta steg.
 - f. Anteckna operatörens initialer och dagens datum på etiketten.
 - g. Kassera IC-flaskan och locket.
 - h. Utfällningar kan bildas i wTCR vilket kan leda till ogiltiga resultat på grund av volymverifieringsfel. Utfällningar kan lösas upp genom att wTCR värms vid 42 till 60 °C i upp till 90 minuter. Låt wTCR utjämnas till rumstemperatur innan det används. Får ej användas om utfällning kvarstår.
3. Förbered selektionsreagenset
 - a. Kontrollera reagensbatchnumret på huvudsatsens streckkodsblad för att säkerställa att det tillhör satsen.
 - b. Om selektionsreagenset innehåller utfällningar ska selektionsreagenset värmas vid 60 °C ± 1 °C i upp till 45 minuter för att underlätta upplösning av utfällningen. Blanda försiktigt innehållet i flaskan var 5:e till 10:e minut. Låt selektionsreagenset uppnå rumstemperatur innan det används. Får ej användas om utfällning eller grumlighet kvarstår.

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

C. Reagensförberedelse för tidigare rekonstituerade reagenser

1. Tidigare rekonstituerade amplifierings-, enzym- och sondreagenser måste uppnå rumstemperatur (15 till 30 °C) innan assayen påbörjas.
2. Om rekonstituerat sondreagens innehåller utfällning som inte löses upp igen vid rumstemperatur, ska lösningen värmas vid en temperatur på högst 60 °C i 1 till 2 minuter. Får ej användas om utfällning eller grumlighet förekommer.
3. Om wTCR innehåller utfällning ska wTCR värmas vid 42 till 60 °C i upp till 90 minuter. Låt wTCR utjämnas till rumstemperatur innan det används. Får ej användas om utfällning kvarstår.
4. Om selektionsreagenset innehåller utfällningar ska selektionsreagenset värmas vid 60 °C ± 1 °C i upp till 45 minuter för att underlätta upplösning av utfällningen. Blanda försiktigt innehållet i flaskan var 5:e till 10:e minut. Låt selektionsreagenset uppnå rumstemperatur innan det används. Får ej användas om utfällning eller grumlighet kvarstår.
5. Blanda varje reagens noga genom att invertera dem försiktigt innan de laddas i systemet. Undvik att skapa skum när reagenserna inverteras.
6. Toppfyll inte reagensflaskor. Tigris DTS-systemet känner av och kasserar flaskor som är toppfyllda.

D. Provhantering

1. Låt proverna (kalibrаторer, kontroller och prover) uppnå rumstemperatur före behandling.
2. **Vortexblanda inte prover.**
3. SurePath-vätskecytologiprover måste behandlas med proteinas K före analys med Aptima HPV assay enligt anvisningarna i *Provtagning och provförvaring* avsnitt C.
4. Kontrollera provrör innan de laddas i stället. Om ett provrör innehåller bubblor eller en mindre volym än normalt, ska röret centrifugeras i 5 minuter vid 420 RCF för att säkerställa att det inte finns någon vätska i locket.

Anm. Underlåtenhet att följa steg 4 kan resultera i vätskeutströmning från provrörets lock.

E. Systemförberedelse

Ställ i ordning instrumentet och arbetslistan enligt anvisningarna i *Tigris DTS System Operator's Manual* (användarmanual för Tigris DTS-systemet) och i avsnittet *Metodanmärkingar* nedan.

Metodanmärkingar

A. Kalibrаторer

1. Varje arbetslista måste innehålla 3 replikat av negativ kalibrатор och positiv kalibrатор. För att fungera med programvaran för Aptima HPV assay måste den negativa kalibrаторen stå i den första rörpositionen i det första stället i arbetslistan och den positiva kalibrаторen måste stå i den andra rörpositionen i det första stället i arbetslistan.
2. Försök att pipettera mer än tre replikat från ett kalibrаторrör kan leda till fel på grund av otillräcklig volym.

B. Kontroller

1. Programvaran för Aptima HPV assay kräver kontroller vid början och slutet på en analysomgång. Den negativa kontrollen måste stå i den tredje rörpositionen i det första stället och i näst sista rörpositionen i det sista stället i arbetslistan. Den positiva kontrollen måste stå i den fjärde rörpositionen i det första stället och i den sista rörpositionen i det sista stället i arbetslistan.
2. Försök att pipettera mer än en gång från ett kontrollrör kan leda till fel på grund av otillräcklig volym.

C. Temperatur

Rumstemperatur definieras som 15 till 30 °C.

D. Handskpunder

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

Panther-systemet

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

Tillhandahållna reagenser och material

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

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

Kalibratorer kan köpas separat. Se de enskilda artikelnumren nedan.

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

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

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

Symbol	Komponent	Antal
AR	HPV-amplifieringsrekonstitutionslösning <i>Vattenhaltig lösning innehållande konserveringsmedel.</i>	1
ER	HPV-enzymrekonstitutionslösning <i>HEPES-buffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne och glycerol.</i>	1
PR	HPV-sondkonstitutionslösning <i>Succinatbuffrad lösning innehållande < 5 % rengöringsmedel.</i>	1
S	HPV-selektionsreagens <i>600 mM boratbuffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne.</i>	1
TCR	HPV-reagens för målsekvensinfångning <i>Icke-smittförande nukleinsyra i en buffrad lösning innehållande fast fas (< 0,5 mg/ml).</i>	1
	Rekonstitutionskragar	3
	Streckkodsblad för huvudsatsen	1 blad

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

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

Material som krävs men som införskaffas separat

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

	<u>Artikelnr</u>
Panther-systemet	303095
Panther-körningssats	303096
<i>Aptima-assayvätskesats</i>	303014
<i>(Aptima-tvättlösning, Aptima-buffert för inaktiveringsvätska och Aptima-oljereagens)</i>	
<i>Aptima Auto Detect-sats</i>	303013
<i>Flerrörsenheter (MTU)</i>	104772-02
<i>Sats med Panther-avfallspåsar</i>	902731
<i>Lock till Panther-avfallsbehållare</i>	504405
Spetsar, 1 000 µl konduktiva, vätskeavkännande	10612513 (Tecan)
Aptima-provöverföringssats	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit — utskrivbar	PRD-05110
Aptima-provtagnings- och transportsats för cervixprover	302657
Aptima genomträngliga lock	105668
Ogenomträngliga utbyteslock	103036A
Reservlock till 250-analysatser:	
<i>Rekonstitutionslösningar till amplifieringsreagens och sondreagens</i>	CL0041
<i>Rekonstitutionslösning till enzymreagens</i>	501616
<i>TCR och selektionsreagens</i>	CL0040
Reservlock till 100-analysatser:	
<i>Rekonstitutionslösningar till amplifieringsreagens och sondreagens</i>	CL0041
<i>Rekonstitutionslösning till enzymreagens</i>	CL0041
<i>TCR och selektionsreagens</i>	501604
Blekmedel (minst 5 % eller 0,7 M natriumhypokloritlösning)	—
Engångshandskar	—
Aptima Transfer Solution kit (endast för SurePath-prover)	303658

Valfri materiel

	<u>Artikelnr</u>
Blekmedelsförstärkare för rengöring	302101

Analysmetod för Panther-system

Anm. Se *Panther System Operator's Manual (användarmanualen till Panther-system)* för ytterligare metodinformation för Panther-system.

A. Förberedelse av arbetsyta

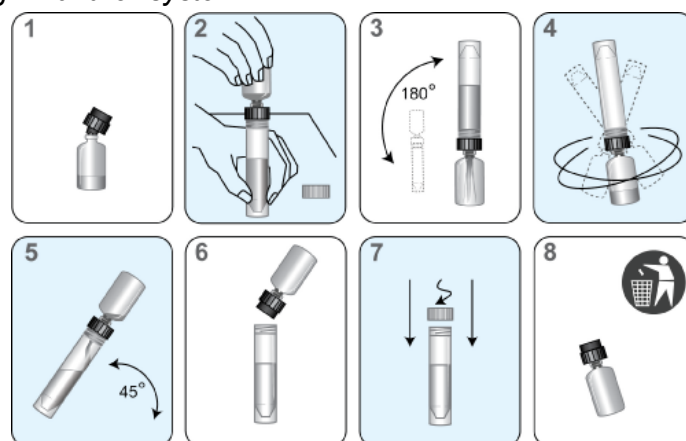
Rengör arbetsytor där reagenser och prover ska förberedas. Torka av arbetsytor med natriumhypokloritlösning på 2,5 till 3,5 % (0,35 till 0,5 M). Låt natriumhypokloritlösningen vara i kontakt med ytorna i minst 1 minut och skölj sedan med vatten. Låt inte natriumhypokloritlösningen torka. Täck ytan på bänken där reagenserna och proverna ska förberedas med rena, plastfodrade, absorberande laboratoriebänkskydd.

B. Reagensförberedelse av en ny sats

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

1. För att rekonstituera amplifierings-, enzym- och sondreagenser, ska flaskan med frystorkad reagens kombineras med rekonstitutionslösningen. Om rekonstitutionslösningarna är kylskåpskalla ska de få uppnå rumstemperatur före användning.
 - a. Para ihop varje rekonstitutionslösning med motsvarande frystorkade reagens. Se till att rekonstitutionslösningens och reagensets etikettfärger stämmer överens innan rekonstitutionskragen fästs.
 - b. Kontrollera batchnumret på huvudsatsens streckodsblad så att korrekta reagenser paras ihop.
 - c. Öppna ampullen med det frystorkade reagenset och sätt in rekonstitutionskragens skårade ände ordentligt i ampullöppningen (figur 2, steg 1).
 - d. Öppna motsvarande rekonstitutionslösning och lägg locket på en ren, täckt arbetsyta.
 - e. Håll lösningsflaskan på bänken och sätt i rekonstitutionskragens andra ände ordentligt i flaskan (figur 2, steg 2).
 - f. Invertera långsamt de hopsatta flaskorna. Låt lösningen rinna ur flaskan in i glasampullen (figur 2, steg 3).
 - g. Rör försiktigt om lösningen i flaskan för att blanda ordentligt. Undvik att skapa skum medan flaskan virvlas runt (figur 2, steg 4).
 - h. Vänta tills det frystorkade reagenset lösts upp och invertera sedan de hopmonterade flaskorna igen med en lutning på 45° för att minimera skumbildning (figur 2, steg 5). Låt all vätska rinna tillbaka i plastflaskan.
 - i. Avlägsna rekonstitutionskragen och glasampullen (figur 2, steg 6).
 - j. Sätt på locket igen på plastflaskan. Notera operatörens initialer och rekonstitutionsdatum på alla rekonstituerade reagensampuller (figur 2, steg 7).
 - k. Kassera rekonstitutionskragen och ampullen (figur 2, steg 8).

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



Figur 2. Rekonstitutionsförfarande för Panther-systemet

2. Förbered arbetsmåsekvensinfångningsreagens (wTCR):
 - a. Para ihop de lämpliga flaskorna med TCR och IC.
 - b. Kontrollera reagensbatchnummer på huvudsatsens streckodsblad, så att korrekta reagenser i satsen paras ihop.
 - c. Öppna TCR-flaskan och lägg locket på en ren, täckt arbetsyta.
 - d. Öppna IC-flaskan och häll ut hela dess innehåll i en flaska med TCR. En liten mängd vätska brukar bli kvar i IC-flaskan.
 - e. Sätt på locket på flaskan med TCR och rör försiktigt om lösningen för att blanda innehållet. Undvik att skapa skum under detta steg.
 - f. Anteckna operatörens initialer och dagens datum på etiketten.
 - g. Kassera IC-flaskan och locket.
 - h. Utfällningar kan bildas i wTCR vilket kan leda till ogiltiga resultat på grund av volymverifieringsfel. Utfällningar kan lösas upp genom att wTCR värms vid 42 till 60 °C i upp till 90 minuter. Låt wTCR utjämnas till rumstemperatur innan det används. Får ej användas om utfällning kvarstår.
3. Förbered selektionsreagenset
 - a. Kontrollera reagensbatchnumret på huvudsatsens streckodsblad för att säkerställa att det tillhör satsen.
 - b. Om selektionsreagenset innehåller utfällningar ska selektionsreagenset värmas vid 60 °C ± 1 °C i upp till 45 minuter för att underlätta upplösning av utfällningen. Blanda försiktigt innehållet i flaskan var 5:e till 10:e minut. Låt selektionsreagenset uppnå rumstemperatur innan det används. Får ej användas om utfällning eller grumlighet kvarstår.

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

C. Reagensförberedelse för tidigare rekonstituerade reagenser

1. Tidigare rekonstituerade amplifierings-,enzym- och sondreagenser måste uppnå rumstemperatur (15 till 30 °C) innan assayen påbörjas.
2. Om rekonstituerat sondreagens innehåller utfällning som inte löses upp igen vid rumstemperatur, ska lösningen värmas vid en temperatur på högst 60 °C i 1 till 2 minuter. Får ej användas om utfällning eller grumlighet förekommer.
3. Om wTCR innehåller utfällning ska wTCR värmas vid 42 till 60 °C i upp till 90 minuter. Låt wTCR utjämnas till rumstemperatur innan det används. Får ej användas om utfällning kvarstår.
4. Om selektionsreagenset innehåller utfällningar ska selektionsreagenset värmas vid 60 °C ± 1 °C i upp till 45 minuter för att underlätta upplösning av utfällningen. Blanda försiktigt innehållet i flaskan var 5:e till 10:e minut. Låt selektionsreagenset uppnå rumstemperatur innan det används. Får ej användas om utfällning eller grumlighet kvarstår.
5. Blanda varje reagens noga genom att invertera dem försiktigt innan de laddas i systemet. Undvik att skapa skum när reagenserna inverteras.
6. Toppfyll inte reagensflaskor. Panther-systemet känner av och kasserar flaskor som är toppfyllda.

D. Provhantering

1. Låt proverna (kalibrаторer och prover) uppnå rumstemperatur före behandling.
2. **Vortexblanda inte proverna.**
3. Kontrollera provrör innan de laddas i stället. Om ett provrör innehåller bubblor eller en mindre volym än normalt, ska röret centrifugeras i 5 minuter vid 420 RCF för att säkerställa att det inte finns någon vätska i locket.

Anm. Underlåtenhet att följa steg 3 kan resultera i vätskeutströmning från provrörets lock.

E. Systemförberedelse

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

Metodanmärkingar

A. Kalibrаторer

1. För att fungera på rätt sätt med programvaran för Aptima HPV assay på Panther-systemet krävs tre replikat av den positiva kalibrаторen och tre replikat av den negativa kalibrаторen. En ampull med varje kalibrатор kan laddas i valfri ställposition i valfri provfack på Panther-systemet. Provpipettering inleds när ett av följande två villkor är uppfyllt:
 - a. En positiv och en negativ kalibrатор behandlas just nu av systemet.
 - b. Giltiga resultat för kalibrаторerna är registrerade på systemet.
2. När kalibrаторrören har pipetterats och behandlas för en specifik reagenssats kan prover köras med den tillhörande assayreagenssatsen i upp till 24 timmar såvida inte:
 - a. Kalibrаторer är ogiltiga.
 - b. Den tillhörande assayreagenssatsen avlägsnas från systemet.
 - c. tillhörande assayreagenssatsen har passerat stabilitetsgränserna.

3. Försök att pipettera mer än tre replikat från ett kalibrorrör kan leda till behandlingsfel.
- B. Temperatur
Rumstemperatur definieras som 15 till 30 °C.
- C. Handskpuder
Som med alla reagenssystem kan för mycket puder på vissa handskar orsaka kontamination av öppna rör. Puderfria handskar rekommenderas.

Kvalitetskontrollförfaranden

A. Kriterier för giltig körning

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

- Fler än ett ogiltigt replikat av negativ kalibrator.
- Fler än ett ogiltigt replikat av positiv kalibrator.
- En ogiltig negativ kontroll (endast Tigris DTS-system).
- En ogiltig positiv kontroll (endast Tigris DTS-system).

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

En ogiltig analysomgång måste göras om. Avbrutna körningar måste upprepas.

B. Acceptanskriterier förkalibrator

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

Negativ kalibrator	
Analyt	≥ 0 och $\leq 45\ 000$ RLU
IC	$\geq 75\ 000$ och $\leq 400\ 000$ RLU
Positiv kalibrator	
Analyt	$\geq 480\ 000$ och $\leq 1\ 850\ 000$ RLU
IC	$\leq 450\ 000$ RLU

C. Beräkning av IC-cutoff

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

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

D. Beräkning av analyt-cutoff

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

$$\text{Analyt-cutoff} = \frac{[\text{medelanalyt RLU av de giltiga negativa kalibratorreplikaten}] + [0,09 \times \text{medelanalyt RLU av de giltiga positiva kalibratorreplikaten}]}{1}$$

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

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

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

F. Acceptanskriterier för kontroll (endast Tigris DTS-system)

Den negativa kontrollen måste ha ett giltigt negativt resultat (IC RLU \geq IC-cutoff och analytens S/CO $<$ 0,50). Den positiva kontrollen måste ha ett giltigt positivt resultat (analytens S/CO \geq 0,50).

Analystolkning

Assayanalysresultat fastställs automatiskt av assayprogrammet. Ett analysresultat kan vara negativt, positivt eller ogiltigt, baserat på IC RLU och S/CO för analyten. Ett analysresultat kan också vara ogiltigt på grund av att andra parametrar (onormal kinetisk kurvform) ligger utanför normala förväntade intervall. Initialt ogiltiga analysresultat ska upprepas.

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

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

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

Begränsningar

- A. Provtyper andra än de som identifieras i den avsedda användningen har inte utvärderats.
- B. Prestanda för Aptima HPV assay har inte utvärderats för HPV-vaccinerade individer.
- C. Aptima HPV assay har inte utvärderats i fall av misstänkta sexuella övergrepp.
- D. Prevalens av HPV-infektion i en befolkning kan påverka prestandan. Positiva prediktiva värden minskar vid analys av populationer med låg prevalens eller individer utan risk för infektion.
- E. ThinPrep-vätskecytologiprover som innehåller mindre än 1 ml efter beredning av objektglas för ThinPrep Pap-smear anses som inadekvata för Aptima HPV assay.
- F. Borttagning av 1 ml av ett SurePath-vätskecytologiprov före cytologisk behandling har inte utvärderats avseende påverkan på cytologiresultatet.
- G. Analysresultat kan påverkas av olämplig provtagning, förvaring eller provbehandling.
- H. Med hjälp av den interna kontrollen övervakas de olika analysstegen för målsekvensinfångning, amplifiering och detektion. Den är inte avsedd att kontrollera cervixprovtagningens lämplighet.
- I. Ett negativt Aptima HPV assay-resultat utesluter inte risken för cytologiska avvikelser eller för framtida eller underliggande CIN2, CIN3 eller cancer.
- J. Intimglidmedel som innehåller polykvaternium 15 kan interferera med assayens prestanda om det förekommer i koncentrationer över 0,025 % (v/v eller w/v) i ett analysprov.
- K. Antimykotika som innehåller tiokonazol kan interferera med assayens prestanda om det förekommer i koncentrationer över 0,075 % (w/v) i ett analysprov.
- L. Aptima HPV assay ger kvalitativa resultat. Styrkan hos en positiv analyssignal kan därför inte korreleras till uttrycksnivån för mRNA i ett prov.
- M. Detektering av hög-risk HPV mRNA är beroende av antalet kopior som finns i provet och kan vara påverkad av provtagningsmetoder, patientfaktorer, infektionsskede och förekomst av störande ämnen.
- N. Infektion med HPV är inte en indikator på cytologiska HSIL eller underliggande höggradig CIN, det innebär inte heller att CIN2, CIN3, eller cancer kommer att utvecklas. De flesta kvinnor som är infekterade med en eller flera höggradiga HPV-typer utvecklar inte CIN2, CIN3, eller cancer.
- O. Effekten av andra potentiella variabler såsom vaginala flytningar, användning av tamponger, vaginalsköljning osv. och provtagningsvariabler har inte utvärderats.
- P. Användning av denna produkt måste begränsas till personal som är utbildad i användningen av Aptima HPV assay.
- Q. Korskontamination av prover kan orsaka falskt positiva resultat. Överföringsfrekvensen av Aptima HPV assay i Tigris DTS-systemet har i en icke-klinisk studie fastställts vara 0,3 %.

- R. Aptima HPV assay ska tolkas tillsammans med andra laboratoriedata och kliniska data som klinikern har tillgång till.
- S. Falskt positiva resultat kan uppstå med denna analys. *In vitro* -transkript från lågrisk-HPV-genotyperna 26, 67, 70 och 82 uppvisade överkorsningsreaktivitet med Aptima HPV assay.
- T. Det positiva kontrollmaterialet är inte avsett att övervaka prestanda vid assay-cutoff.

Förväntade resultat med Tigris DTS-system: Prevalens av högrisk-HPV-mRNA

Prevalensen av hög-risk HPV-infektion varierar mycket och påverkas av flera faktorer, för vilka ålder är den största bidragsgivaren.^{32,33} Många studier har undersökt HPV-prevalens som fastställs genom detektering av HPV-DNA, men få studier rapporterar prevalens baserad på detektering av HPV-onkogen mRNA. Kvinnor från olika kliniska inrättningar (n = 18) som representerar en bred geografisk spridning och en varierande population (10 stater i Förenta staterna) registrerades i en prospektiv klinisk studie som kallas CLEAR-prövning³⁴. Prevalensen av HPV mRNA-positiva prover som observerades i den kliniska prövningen kategoriserades totalt, efter åldersgrupp, och efter testinrättning. Resultaten visas i tabell 1 för populationerna ASCUS (atypiska fjälliga celler av obestämd betydelse) och NILM (negativt för intraepitelial lesion eller malignitet).

Tabell 1: Högrisk-HPV mRNA prevalens för åldersgrupp, testinrättning, och alla kombinerade

	Positivitetsfrekvens % (x/n)	
	ASCUS population (≥ 21 år)	NILM population (≥ 30 år)
Alla	41,8 (400/958)	5,0 (540/10 871)
Åldersgrupp (år)		
21 till 29	60,3 (252/418)	E.T.
30 till 39	36,8 (98/266)	6,9 (289/4199)
≥ 40	18,2 (50/274)	3,8 (251/6672)
Testinrättning		
1	41,6 (134/322)	4,7 (172/3682)
2	41,4 (150/362)	5,2 (194/3702)
3	42,3 (116/274)	5,0 (174/3487)

E.T. = ej tillämpligt

Studieutformning för klinisk prövning av Aptima HPV assay med ThinPrep-vätskecytologiprover

En prospektiv, klinisk multicenterstudie i USA, kallad CLEAR-prövningen, utfördes för att bestämma den kliniska prestandan för Aptima HPV assay när det gäller detektion av cervikal intraepitelial neoplasia av grad 2 eller mer allvarlig cervixsjukdom (\geq CIN2). CLEAR-prövningen inkluderar ett baslinjevärde och en treårig uppföljningstid.³⁴

CLEAR-prövningen - baslinjeutvärdering

Vid baslinjen för CLEAR-prövningen (baslinjefasen) registrerades kvinnor till antingen ASCUS-studien eller NILM-studien, baserat på cytologieresultat från rutinmässig screening av cervixcancer. Populationen i ASCUS-studien inkluderade kvinnor från 21 år och äldre med ASCUS-cytologieresultat och populationen i NILM-studien inkluderade kvinnor från 30 år och äldre med NILM-cytologieresultat. NILM-studien utformades för att stödja kompletterande screeningskrav för kvinnor på 30 år och äldre, eftersom kvinnor i denna åldersgrupp med cytologieresultat mer än ASCUS ska gå vidare till kolposkopi oavsett HPV-status.³⁵

Kvinnor från 18 kliniska inrättningar, främst obstetrik-/gynekologikliniker som omfattar en bred geografisk spridning och varierande population, deltog i studierna. Lämpliga kvinnor tilldelades till ASCUS-studien eller NILM-studien, baserat på deras remitterade ThinPrep-vätskebaserade cytologiprover. Vid baslinjen analyserades resterande remitterade prover från kvinnor i ASCUS- och NILM-studien med både Aptima HPV assay och en på marknaden förekommande HPV-DNA-analys.

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

I NILM-studien remitterades kvinnor med positiv Aptima HPV assay och/eller på marknaden förekommande HPV-DNA-analys, samt slumpmässigt valda kvinnor vars båda assayer var negativa, till kolposkopi för baslinjeutvärdering. De slumpmässigt valda kvinnorna vars båda assayer var negativa inkluderades för att korrigera för kontrollbias med justerade prestandauppskattningar som genererats med hjälp av en metod med multipel imputering. En ECC-biopsi togs från varje kvinna som genomgick kolposkopi. Stansbiopsier togs endast från synliga lesioner (riktad metod, 1 biopsi per lesion).

Sjukdomsstatusen fastställdes av en granskningspanel för överensstämmande histologi, baserat på överensstämmelse av minst 2 expertpatologer. Kvinnans HPV- och cytologistatus samt varandras histologidiagnos var dold för expertpatologerna. HPV-analysresultaten doldes för prövare, kliniker och kvinnor tills kolposkopibesöket var genomfört för att undvika bias. Om de 3 patologerna var oense om resultatet fick alla 3 granska objektglaset i ett flerhövdad mikroskop för att nå samstämmighet. Vid baslinjen bedömdes den kliniska prestandan för Aptima HPV assay för detektering av \geq CIN2 och cervikal intraepitelial neoplasia grad 3 eller mer allvarlig cervixsjukdom (\geq CIN3) i enlighet med den cervikala sjukdomsstatus som fastställdes i baslinjeundersökningen. Klinisk prestanda för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen fastställdes även för direkt jämförelse med Aptima HPV assay-resultat.

CLEAR-prövning - uppföljning

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

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

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

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

Assayprestanda för Tigris DTS-system

ASCUS-population ≥ 21 år: Klinisk prestanda för Aptima HPV assay med ThinPrep-vätskecytologiprover

Totalt registrerades 1 252 kvinnor på 21 år och äldre med ASCUS-cytologiresultat i ASCUS-studien. Av dessa avregistrerades 294 kvinnor och 19 hade en obestämd sjukdomsdiagnos. Alla uteslöts från analysen. De återstående 939 bedömbara kvinnorna var 21 år och äldre med ASCUS-cytologiresultat, Aptima HPV assay-resultat och avgörande sjukdomsstatus. Nittioen (91) kvinnor hade \geq CIN2 och fyrtyoen (41) hade \geq CIN3. Prevalens av \geq CIN2 och \geq CIN3 hos bedömbara kvinnor med ASCUS-cytologiresultat var 9,7 % respektive 4,4 %. Resultaten från Aptima HPV assay för histologidiagnoser genom överensstämmelse av granskningspanel presenteras i tabell Tabell 2.

Tabell 2: ASCUS-population ≥ 21 år: resultat från Aptima HPV assay för histologidiagnoser genom överensstämmelse av granskningspanel

Aptima HPV assay-resultat*	HPV-DNA-analys	Histologidiagnoser genom överensstämmelse av granskningspanel						
		Obestämd**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Totalt
Positivt	Positivt	6	170	113	41	32	1	363
Positivt	Negativt	0	7	0	1	2	0	10
Positivt	Inga resultat***	0	14	11	0	2	0	27
Negativt	Positivt	0	47	13	2	3	0	65
Negativt	Negativt	10	371	55	6	1	0	443
Negativt	Inga resultat***	3	40	7	0	0	0	50
Totalt		19	649	199	50	40	1****	958

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

**19 personer gjorde kolposkopibesöket men en diagnos kunde inte fastställas av följande orsaker: < 5 biopsiprover togs av alla personer med histologiresultat som Normal/CIN1 (n = 15), inga biopsier togs (n = 3) och biopsiobjektglas förlorade (n = 1).

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

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

I tabell Tabell 3 visas uppskattningar av klinisk prestanda för Aptima HPV assay inklusive sensitivitet, specificitet, positivt prediktivt värde (PPV) och negativt prediktivt värde (NPV) för detektering av \geq CIN2 och \geq CIN3, baserade på utvärdering av alla biopsier och inkluderar endast riktade biopsier, liksom uppskattningarna för den på marknaden förekommande HPV-DNA-assayen.

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

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

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

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

Vid utvärdering av alla biopsier var uppskattningar av klinisk sensitivitet för Aptima HPV assay och den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen, där båda assayresultaten finns tillgängliga för detekteringen av \geq CIN2 och \geq CIN3, likvärdiga (skillnader i uppskattningar av sensitivitet var inte statistiskt signifikant: sensitivitetsskillnad = -2,3 % [95 % KI: -9,5 %, 4,8 %]). Uppskattningar av klinisk specificitet för Aptima HPV assay för detektering av \geq CIN2 och \geq CIN3 var högre än de för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen (skillnader i specificitetsuppskattningar var statistiskt signifikant). För \geq CIN2 var specificitetsskillnaden 6,8 % (95 % KI: 4,9 %, 9,0 %]). NPV:er var likvärdiga men för detekteringen av \geq CIN2 var PPV för Aptima HPV assay något högre än PPV för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen (20,1 % jämfört med 18,7 %).

Av de 91 fall med \geq CIN2 identifierades 60 (65,9 %) vid riktade biopsier och identifierades 31 (34,1 %) från slumpmässiga och/eller ECC-biopsier (dvs. inte i riktade biopsier). Dessa fynd är jämförbara med resultaten från publicerade studier, där ca 25 % till 40 % av fallen med \geq CIN2 identifierades från enbart slumpmässiga och/eller ECC-biopsiprover.^{36,37} Med användning av enbart riktade biopsier för att fastställa sjukdomsstatus (förutsatt att kvinnor utan riktade biopsier hade normala histologireultat eftersom det inte fanns några synliga lesioner), var prevalensen av \geq CIN2 och \geq CIN3 i studien 6,4 % respektive 3,1 %. Uppskattningarna av klinisk sensitivitet för detektering av \geq CIN2 och \geq CIN3 var högre för båda analyserna med enbart riktade biopsier än uppskattningar beräknade med alla biopsier. För båda assayerna liknade klinisk specificitet med enbart riktade biopsier den specificitet som erhöles med alla biopsier inkluderade. När enbart riktade biopsier användes var därför specificiteten för Aptima HPV assay betydligt högre än för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen.

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

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

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

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

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

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

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

Den absoluta risken för sjukdom (\geq CIN2 och \geq CIN3, baserat på utvärderingen av alla biopsier) med Aptima HPV assay-resultat och den relativa risken för sjukdom för positiva respektive negativa Aptima HPV assay-resultat visas i tabell Tabell 6, liksom uppskattningarna för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen. Den relativa risken för \geq CIN2 var 9,1 (95 % KI: 5,0, 16,5), vilket anger att en kvinna med positiv Aptima HPV assay har 9,1 gånger så stor risk att ha \geq CIN2 än en kvinna med negativ Aptima HPV assay. Den relativa risken för \geq CIN3 var 12,8 (95 % KI: 4,6, 35,6).

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

	Assayresultat	Aptima HPV assay N = 939		HPV-DNA-analys N = 865*	
		Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
\geq CIN2	Positivt	20,1 (79/394) (18,1, 22,0)	9,1 (5,0, 16,5)	18,7 (79/422) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Negativt	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)		2,3 (10/443) (1,2, 3,8)	
	Prevalens (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
\geq CIN3	Positivt	9,4 (37/394) (8,1, 10,4)	12,8 (4,6, 35,6)	8,5 (36/422) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Negativt	0,7 (4/545) (0,2, 1,7)		0,7 (3/443) (0,2, 1,7)	
	Prevalens (%)	4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	

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

Absolut och relativ riskuppskattning för sjukdom (\geq CIN2 och \geq CIN3, baserat på utvärderingen av alla biopsier) för Aptima HPV assay och den på marknaden förekommande HPV-DNA-assayen visas per åldersgrupp i tabell Tabell 7.

Tabell 7: ASCUS-population \geq 21 år: absoluta och relativa risker för \geq CIN2 och \geq CIN3 för resultaten av Aptima HPV assay och en HPV-DNA-analys per åldersgrupp

	Ålder	Assayresultat	Aptima HPV assay N = 939		HPV-DNA-analys N = 865*	
			Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
\geq CIN2	21 till 29 år		N = 415		N = 389	
		Positivt	22,0 (55/250) (19,6, 24,2)	6,1 (2,7, 13,7)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)
		Negativt	3,6 (6/165) (1,5, 7,0)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalens (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 till 39 år		N = 262		N = 239	
		Positivt	18,9 (18/95) (14,7, 22,7)	15,8 (3,8, 66,7)	16,0 (16/100) (11,8, 19,6)	5,6 (1,9, 16,1)
		Negativt	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalens (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
	\geq 40 år		N = 262		N = 237	
		Positivt	12,2 (6/49) (5,8, 18,4)	6,5 (1,9, 22,2)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,2)
		Negativt	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)		1,6 (3/184) (0,4, 3,4)	
		Prevalens (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)	
\geq CIN3	21 till 29 år		N = 415		N = 389	
		Positivt	10,4 (26/250) (8,9, 11,4)	17,2 (2,4, 125)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Inte beräkningsbara
		Negativt	0,6 (1/165) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalens (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 till 39 år		N = 262		N = 239	
		Positivt	8,4 (8/95) (5,2, 10,4)	14,1 (1,8, 111)	7,0 (7/100) (3,9, 9,1)	4,9 (1,0, 22,9)
		Negativt	0,6 (1/167) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalens (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
	\geq 40 år		N = 262		N = 237	
		Positivt	6,1 (3/49) (1,6, 10,2)	6,5 (1,1, 38,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,9 (1,6, 122)
		Negativt	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)		0,5 (1/184) (0,0, 1,8)	
		Prevalens (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)	

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

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

Totalt registrerades 11 644 kvinnor med NILM-cytologieresultat i NILM-studien. Av dessa avregistrerades 773 kvinnor och uteslöts från baslinjeundersökningen. De återstående 10 871 bedömbara kvinnorna var 30 år och äldre med NILM-cytologieresultat och Aptima HPV assay-resultat. Av 540 kvinnor med positivt Aptima HPV assay-resultat genomgick 335 kolposkopi vid baslinjen. Av 10 331 kvinnor med negativt Aptima HPV assay-resultat genomgick 530 kolposkopi vid baslinjen. Tjugo (20) kvinnor hade \geq CIN2 och elva (11) hade \geq CIN3, 799 kvinnor hade normal/CIN1-histologi, 46 kvinnor hade obestämd sjukdomsstatus. Resultaten från Aptima HPV assay för histologidiagnoser vid baslinjen genom överensstämmelse av granskningspanel presenteras i tabell Tabell 8.

Tabell 8: Population med NILM \geq 30 år: Resultat från Aptima HPV assay och ett HPV DNA-prov för histologidiagnoser genom överensstämmelse av granskningspanel vid baslinjen

Aptima HPV assay-resultat*	HPV-DNA-analys	Histologidiagnoser genom överensstämmelse av granskningspanel						
		Obestämd	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Totalt
Positivt	Positivt	11	212	11	4	7	2	247
Positivt	Negativt	7	59	0	1	0	1	68
Positivt	Inga resultat**	3	16	1	0	0	0	20
Negativt	Positivt	10	170	8	2	1	0	191
Negativt	Negativt	15	313	9	1	0	0	338
Negativt	Inga resultat**	0	0	0	1	0	0	1
Totalt		46	770	29	9	8	3***	865

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

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

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

Totalt hade 10 052 kvinnor överifierad (inklusive obestämd) sjukdomsstatus (tabell Tabell 9) vid baslinjen. Eftersom endast slumpmässigt valda kvinnor med negativa resultat för både Aptima HPV assay och på marknaden förekommande HPV-DNA-analys remitterades för kolposkopi var andelen kvinnor med överifierad sjukdomsstatus högt i denna grupp (96,6 %). En metod med multipel imputering användes för att justera för denna kontrollbias, för att uppskatta antalet kvinnor med sjukdom som skulle ha identifierats om alla kvinnor hade genomgått kolposkopi. Både kontrollbias-justerade prestandauppskattningar och ojusterade prestandauppskattningar baserat på de 819 kvinnor med verifierad sjukdomsstatus vid baslinjen presenteras.

Tabell 9: Population med NILM \geq 30 år: klassificering av bedömbara kvinnor med NILM för resultat med Aptima HPV assay och HPV-DNA-analys, sjukdomsstatus (\geq CIN2 och \geq CIN3) och sjukdomsbekräftelsestatus vid baslinjen.

Aptima HPV assay-resultat*	HPV-DNA-analys	Kvinnor, totalt	Bekräftat sjukdomsstatus: \geq CIN2		Bekräftat sjukdomsstatus: \geq CIN3		Obekräftat sjukdomsstatus
			Kvinnor med sjukdom (\geq CIN2)	Kvinnor utan sjukdom ($<$ CIN2)	Kvinnor med sjukdom (\geq CIN3)	Kvinnor utan sjukdom ($<$ CIN3)	Kvinnor med okänd sjukdomsstatus (% okänd)
Positivt	Positivt	360	13	223	9	227	124 (34,4 %)
Positivt	Negativt	150	2	59	1	60	89 (59,3 %)
Positivt	Inga resultat**	30	0	17	0	17	13 (43,3 %)
Negativt	Positivt	306	3	178	1	180	125 (40,8 %)
Negativt	Negativt	9 420	1	322	0	323	9 097 (96,6 %)
Negativt	Inga resultat**	605	1	0	0	1	604 (99,8 %)
Totalt		10 871	20	799	11	808	10 052 (92,5 %)

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

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

Den justerade prevalensen av \geq CIN2 och \geq CIN3 hos kvinnor med NILM-cytologiresultat var 0,9 % respektive 0,4 %. De justerade absoluta och relativa riskuppskattningarna för detektering av \geq CIN2 och \geq CIN3 vid baslinjen visas i tabell Tabell 10. Den justerade relativa risken för \geq CIN2 var 8,1 (95 % KI: 2,3, 28,1), vilket anger att en kvinna med positiv Aptima HPV assay har 8,1 gånger så stor risk att ha \geq CIN2 än en kvinna med negativ Aptima HPV assay. Den justerade relativa risken för \geq CIN3 var 34,5 (95 % KI: 2,7, 443,3). De ojusterade absoluta och relativa riskuppskattningarna för detektering av \geq CIN2 och \geq CIN3 vid baslinjen visas totalt i tabell Tabell 11 och per åldersgrupp i tabell Tabell 12.

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

Assayresultat		Aptima HPV assay		HPV-DNA-analys	
		Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
\geq CIN2	Positivt	4,7 (2,9, 7,6)	8,1 (2,3, 28,1)	3,7 (2,3, 6,0)	7,3 (1,6, 33,4)
	Negativt	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalens (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Positivt	3,3 (1,4, 7,6)	34,5 (2,7, 443,3)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,4)
	Negativt	0,1 (0,0, 1,6)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalens (%)	0,4		0,4	

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

Assayresultat		Aptima HPV assay N = 819		HPV-DNA-analys N = 801*	
		Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
\geq CIN2	Positivt	4,8 (15/314) (3,4, 5,8)	4,8 (1,8, 13,1)	3,8 (16/417) (2,9, 4,4)	4,9 (1,4, 16,7)
	Negativt	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalens (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
\geq CIN3	Positivt	3,2 (10/314) (2,2, 3,7)	16,1 (2,1, 125)	2,4 (10/417) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,6)
	Negativt	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalens (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

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

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

	Ålder	Assayresultat	Aptima HPV assay N = 819		HPV-DNA-analys N = 801*	
			Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
≥ CIN2	30 till 39 år		N = 384		N = 377	
		Positivt	4,8 (8/167) (2,1, 9,2)	10,4 (1,3, 82,3)	3,2 (7/216) (1,3, 6,6)	2,6 (0,5, 12,4)
		Negativt	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		1,2 (2/161) (0,2, 4,4)	
		Prevalens (%)	2,3 (9/384)		2,4 (9/377)	
	≥ 40 år		N = 435		N = 424	
		Positivt	4,8 (7/147) (1,9, 9,6)	3,4 (1,0, 11,5)	4,5 (9/201) (2,1, 8,3)	10,0 (1,3, 78,1)
		Negativt	1,4 (4/288) (0,4, 3,5)		0,4 (1/223) (0,0, 2,5)	
		Prevalens (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥ CIN3	30 till 39 år		N = 384		N = 377	
		Positivt	3,0 (5/167) (1,0, 6,8)	6,5 (0,8, 55,1)	2,3 (5/216) (0,8, 5,3)	3,7 (0,4, 31,6)
		Negativt	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		0,6 (1/161) (0,0, 3,4)	
		Prevalens (%)	1,6 (6/384)		1,6 (6/377)	
	≥ 40 år		N = 435		N = 424	
		Positivt	3,4 (5/147) (1,1, 7,8)	Inte beräkningsbara	2,5 (5/201) (0,8, 5,7)	Inte beräkningsbara
		Negativt	0,0 (0/288) (0,0, 1,3)		0,0 (0/223) (0,0, 1,6)	
		Prevalens (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

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

Justerade kliniska prestandauppskattningar för Aptima HPV assay inklusive sensitivitet, specificitet, PPV och NPV för detektering av \geq CIN2 och \geq CIN3 visas i tabell Tabell 13, liksom uppskattningarna av för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen. Ojusterade kliniska prestandauppskattningar visas i tabell Tabell 14. Aptima HPV assay och den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen hade liknande sensitivitet, medan specificitet var betydligt högre för Aptima HPV assay (icke-överlappande 95 % KI:er). Prediktiva värdeuppskattningar för Aptima HPV assay var kliniskt relevanta och liknade uppskattningarna för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen. NPV:er var likvärdiga men för detekteringen av \geq CIN2 var PPV för Aptima HPV assay något högre än PPV för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen (4,7 % jämfört med 3,7 %).

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

	Prestanda	Aptima HPV assay		HPV-DNA-analys	
		Uppskattning	(95 % KI)	Uppskattning	(95 % KI)
\geq CIN2	Sensitivitet (%)	31,0	(5,9, 56,1)	35,4	(3,8, 66,9)
	Specificitet (%)	95,2	(94,8, 95,6)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,7	(2,9, 7,6)	3,7	(2,3, 6,0)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Prevalens (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Sensitivitet (%)	61,5	(14,0, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Specificitet (%)	95,2	(94,8, 95,6)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,3	(1,4, 7,6)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,4, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prevalens (%)	0,4		0,4	

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

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

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

En direktjämförelse av Aptima HPV assay och den på marknaden förekommande HPV-DNA-assayen visar en liknande känslighet och statistiskt signifikant förbättrad specificitet för Aptima HPV assay över den på marknaden förekommande HPV-DNA-assayen för detektering av \geq CIN2, som visas av förhållandena mellan sant positiva och falskt positiva frekvenser (tabell 15 respektive tabell 16).

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

		HPV-DNA-analys		Totalt
		Positivt	Negativt	
Aptima HPV assay	Positivt	13	2	15 (78,9 %)
	Negativt	3	1	4
	Totalt	16 (84,2 %)	3	19
Förhållandet mellan sant positiva frekvenser = 0,94 (15/16) (95 % KI: 0,67, 1,20)				

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

		HPV-DNA-analys		Totalt
		Positivt	Negativt	
Aptima HPV assay	Positivt	223	59	282 (36,1 %)
	Negativt	178	322	500
	Totalt	401 (51,3 %)	381	782
Förhållandet mellan falskt positiva frekvenser = 0,70 (282/401) (95 % KI: 0,64, 0,77).				

NILM ≥ 30 Years Population: Aptima HPV assay Clinical Performance After 3 Years of Follow-up

Vid baslinjen fanns det 10 854 utvärderingsbara kvinnor i 30-årsålder med NILM cytologiresultat och giltiga Aptima HPV assay-resultat som var berättigade att delta i uppföljningsfasen. Av kvinnorna med ≥CIN2, kompletterade 66,9% (7 251/10 834) kvinnor ett uppföljningsbesök med ett Pap-cytologitest ett år efter den avslutade studien. 60,2% (6 522/10 825) gjorde testet år 2 och 58,6% (6 344/10 818) år 3. Generellt sett, hade 58,8% (6 380/10 854) av kvinnorna avslutat studien (hade ≥CIN2 vid baslinjen eller vid uppföljningen och/eller kompletterande besök).

Av 10 854 kvinnor hade, 540 (5,0%) positiva Aptima HPV assay-resultat vid baslinjen. Av de här 540 kvinnorna hade 263 (48,7%) antingen en positiv eller negativ treårig sjukdomsstatus baserad på cytologi- och kolposkopi-/biopsiresultat. Resterande 10 314 kvinnor hade negativa Aptima HPV assay-resultat vid baslinjen. Av dessa 10 314 kvinnor hade 5 943 (57,6%) antingen en positiv eller negativ treårig sjukdomsstatus. Av de 6 206 kvinnorna med en treårig sjukdomsstatus hade 47 kvinnor ≥CIN2 varav 23 även hade ≥CIN3. 6 159 hade normala cellförändringar/CIN1 fastställda av granskningspanelen. Baslinjeresultaten från Aptima HPV assay och en HPV DNA-assay som finns tillgänglig i handeln och den treåriga sjukdomsstatusen (inkl. baslinjestatus och uppföljningsstatus) som fastställdes av granskningspanelen presenteras i tabell 17.

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

Aptima HPV assay-resultat	HPV DNA-test	Totalt antal kvinnor	Verifierad sjukdomsstatus: ≥CIN2		Verifierad sjukdomsstatus: ≥CIN3		Overifierad sjukdomsstatus	
			Sjuka kvinnor (<CIN2)	Friska kvinnor (<CIN2)	Sjuka kvinnor (<CIN3)	Friska kvinnor (<CIN3)	Ej uppföljda	Obestämda*
Positivt	Positivt	360	22	154	15	161	165	19
Positivt	Negativt	150	2	72	1	73	68	8
Positivt	Inget resultat	30	2	11	1	12	14	3
Negativt	Positivt	304	6	146	3	149	133	19
Negativt	Negativt	9405	14	5455	3	5466	3735	201
Negativt	Inget resultat* *	605	1	321	0	322	269	14
Totalt		10854	47	6159	23	6183	4384	264

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

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

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

Tre års ackumulerade absoluta och relativa riskestimater för detektion av ≥CIN2 och ≥CIN3 visas i Tabell 18.

Tabell 18: Population med NILM \geq 30 år: Tre års ackumulerade absoluta och relativa riskestimat för detektion av \geq CIN2 och \geq CIN3 för resultat av Aptima HPV assay och ett HPV DNA-test vid baslinjen

	Assay Result	Aptima HPV assay		HPV DNA-test	
		Absolut risk (95 % CI)	Relativ risk (95 % CI)	Absolut risk (95 % CI)	Relativ risk (95 % CI)
\geq CIN2	Positivt	7,39 (5,12; 10,59)	22,55 (12,68; 40,10)	6,42 (4,50; 9,13)	22,71 (12,19; 42,29)
	Negativt	0,33 (0,21; 0,51)		0,28 (0,17; 0,47)	
	Prevalens (%)	0,68		0,68	
\geq CIN3	Positivt	4,66 (2,94; 7,36)	44,12 (16,91; 115,10)	4,14 (2,62; 6,52)	51,33 (17,74; 148,55)
	Negativt	0,11 (0,04; 0,25)		0,08 (0,03; 0,22)	
	Prevalens (%)	0,34		0,35	

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

Det treåriga ackumulerade förekomsten av \geq CIN2 och \geq CIN3 hos kvinnor med NILM cytologieresultat vid baslinjen var 0,68 % och 0,34 % respektive. Den relativa risken för \geq CIN2 var 22,55 (95 % CI: 12,68; 40,10) indikerar att en kvinna som har en positiv Aptima HPV assay har 22,55 gånger större risk att få \geq CIN2 än en kvinna som vars Aptima HPV assay är negativt. Den relativa risken för \geq CIN3 var 44,12 (95 % CI: 16,91; 115,10)

Klinisk prestanda för Aptima HPV assay med SurePath-vätskecytologiprover

SurePath-prover behandlade med Aptima-överföringslösning

SurePath-vätskecytologiprover togs från kanadensiska kvinnor (n = 558) som remitterats för uppföljning på grund av: ett eller flera onormala Pap-smear, en HPV-infektion eller av något annat skäl. En alikvot (0,5 ml) av varje prov överfördes till ett Aptima-provöverföringsrör och behandlades sedan med Aptima-överföringslösning. Ett enstaka replikat av varje prov analyserades även med Aptima HPV assay. En separat alikvot (1 ml) av varje prov togs undan för utvärdering med en kommersiellt tillgänglig HPV-PCR-analys. Den kliniska sensitiviteten för detektering av sjukdom, definierad som ett histologieresultat på \geq CIN3, beräknades för både Aptima HPV assay och HPV-PCR-analysen, se Tabell 19, med de positiva och negativa prediktiva värdena.

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

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

Tabell 20: Aptima HPV assay-sensitivitet med SurePath- och ThinPrep-vätskecytologiprover

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

Aptima HPV assay-prestanda med prover för provtagning och transport av cervixprover

Parade ThinPrep-vätskecytologiprover och prover från Aptima CSCT-sats togs av 735 personer. En milliliter (1,0 ml) av varje ThinPrep-vätskecytologiprov späddes i 2,9 ml Aptima provtransportmedium och ett enstaka replikat analyserades med Aptima HPV assay på Tigris DTS-systemet. Ett enstaka replikat av varje CSCT-prov analyserades även med Aptima HPV assay. Den procentuella överensstämmelsen mellan ThinPrep-vätskecytologiproverna och CSCT-provet för Aptima HPV assay fastställdes och resultaten visas i tabell 21.

Procentuell positiv överensstämmelse var 95,9 % (95 % KI: 92,6–97,8); procentuell negativ överensstämmelse var 95,5 % (95 % KI: 93,3–97,0); och total överensstämmelse var 95,6 % (95 % KI: 93,9–96,9). En stark korrelation mellan vätskecytologiprover och transportsatsprover observerades (kappa = 0,90)

Tabell 21: Total överensstämmelse för Aptima HPV assay-resultat från ThinPrep-vätskecytologiprover och prover tagna med Aptima provtagnings- och transportsats för cervixprover analyserade på Tigris DTS-systemet

		ThinPrep- vätskecytologiprover		Totalt
		Positivt	Negativt	
Prover från Aptima CSCT-sats	Positivt	234	22	256
	Negativt	10	469	479
	Totalt	244	491	735

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

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

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

Kappa-koefficient = 0,90

Analytisk sensitivitet

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

Resultaten från Probit-regressionsanalysen, tabell 22, visar att HPV 16, 18, 31, 33, 35, 38, 45, 58, 59 och 68 hade 95 %-iga detektionsgränser på mindre än 100 kopior/reaktion och typerna 51, 52, 56 och 66 hade 95 %-iga detektionsgränser på mellan 100 och 300 kopior/reaktion. De fyra analyserade cellinjerna hade 95 %-iga detektionsgränser på mindre än 1 cell/reaktion.

Tabell 22: Detektionsgräns vid klinisk cutoff för Aptima HPV assay

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

*Kopior per reaktion för *in vitro*-transkript och celler per reaktion för cellinjer.

Assayens precision

Aptima HPV assay-precision utvärderades i två studier med samma 20-komponentpanel. Studie 1 utfördes vid 3 externa testinrättningar för att fastställa assayreproducerbarhet. Studie 2 utfördes internt för att mäta assayreproducerbarhet. I panelen ingår 10 HPV-positiva komponenter med koncentrationer vid eller ovanför detektionsgränsen för assayen (förväntad positivitet: $\geq 95\%$), 4 HPV-positiva komponenter med koncentrationer under assayens detektionsgräns (förväntad positivitet: $> 0\%$ till $< 25\%$), och 6 HPV-negativa komponenter. HPV-positiva panelkomponenter bereddes genom spetsning av *in vitro*-RNA-transkript (IVT) i provtransportmedium (STM) eller HPV-infekterade odlade celler (SiHa, HeLa, ME180 och MS751; ATCC, Manassas, Virginia) i PreservCyt-lösning. HPV-negativa panelkomponenter bereddes med STM eller poolade resterande ThinPrep-vätskecytologiprover.

I Studie 1 utförde 2 operatörer vid var och en av de 3 testinrättningarna (1 instrument per inrättning) 1 arbetslista för Aptima HPV assay per dag under 3 dagar för alla 3 reagensbatcher. Varje arbetslista innehöll 3 replikater för varje panelkomponent för reproducerbarhet. Hundrasextiotvå (162) individuella provrör testades för varje panelkomponent (3 inrättningar x 1 instrument x 2 operatörer x 3 batcher x 3 arbetslistor x 3 replikat). I Studie 2, utfördes testning internt under 20 dagar med sammanlagt 162 analyserade reaktioner för varje panelkomponent (1 inrättning x 3 instrument x 3 operatörer x 3 batcher x 2 arbetslistor x 3 replikat).

Panelkomponenterna beskrivs i tabell 23a (panelkomponenter med förväntat positiva resultat) och tabell 23b (panelkomponenter med förväntat negativa resultat), tillsammans med en sammanfattning av överensstämmelsen med förväntade resultat och analytens S/CO-värden för percentilerna 2,5, 50 och 97,5 av S/CO-spridningen. Variabiliteten för analytens S/CO för panelkomponenterna med förväntat positiva resultat visas i tabell Tabell 24 för Studie 1 och tabell Tabell 25 för Studie 2.

Positiv överensstämmelse för HPV-positiva panelkomponenter med koncentrationer vid eller ovanför assayens detektionsgräns varierade från 95,1 % till 100 % i Studie 1 och från 93,2 % till 100 % i Studie 2 för 9 av 10 panelkomponenter. De återstående HPV-positiva panelkomponenterna gav 77,2 % överensstämmelse i Studie 1 och 79,0 % överensstämmelse i Studie 2, vilket var lägre än förväntat men var konsekvent mellan de 2 studierna. Negativ överensstämmelse för HPV-högt negativa panelkomponenter med koncentrationer under assayens detektionsgräns varierade från 78,8 % till 93,8 % i Studie 1 och från 82,1 % till 95,7 % i Studie 2. Överensstämmelse med förväntade resultat för HPV-negativa panelkomponenter varierade från 96,9 % till 100 % i Studie 1 och från 96,3 % till 100 % i Studie 2.

Tabell 23a: Reproducerbarheten för Aptima HPV assay för Studie 1 och 2: panelbeskrivning, positiv överensstämmelse och percentil spridning av analytens S/CO-värden för panelkomponenter med förväntade positiva resultat

Panelen beskrivning (kopior eller celler/reaktion)	Studie 1 (3 testinrättningar)	Studie 2 (1 testinrättning)
	% positiv överensstämmelse (95 % KI)	% positiv överensstämmelse (95 % KI)
HPV 16 och HPV 18 IVT (100 kopior)	100 (161/161) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (3 celler) och HeLa-celler (7,5 celler)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (100 kopior)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (160/160) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (100 kopior)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-celler (1 celler)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)
ME180-celler (0,3 celler)	95,1 (154/162) (90,6, 97,5)	93,2 (151/162) (88,3, 96,2)
HPV 18 IVT (30 kopior)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (30 kopior)	100 (162/162) (97,7, 100)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
HeLa-celler (2,5 celler)	100 (162/162) (97,7, 100)	95,6 (152/159) (91,2, 97,9)
SiHa-celler (1 celler)*	77,2 (125/162) (70,1, 83,0)	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)

IVT = *in vitro*-transcript. IVT spetsades i STM och cellerna var spetsades i PreservCyt-lösning.

*Förväntad % positiv överensstämmelse ~ 95 %, observerades lägre möjligen på grund av tillverkningsvariationer i panelkomponenten.

Tabell 23b: Reproducerbarheten för Aptima HPV assay för Studie 1 och 2: Panelbeskrivning, negativ överensstämmelse och percentil spridning av analytens S/CO-värden för panelkomponenter med förväntade negativa resultat

Panelen beskrivning (kopior eller celler/reaktion)	Studie 1 (3 testinrättningar)	Studie 2 (1 testinrättning)
	% negativ överensstämmelse (95 % KI)	% negativ överensstämmelse (95 % KI)
HPV 18 IVT (1 kopia)*	78,8 (126/160) (71,8, 84,4)	83,3 (135/162) (76,8, 88,3)
HPV 16 IVT (1 kopia)*	80,9 (131/162) (74,1, 86,2)	88,3 (143/162) (82,4, 92,4)
HeLa-celler (0,05 celler)*	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)	82,1 (133/162) (75,5, 87,2)
SiHa-celler (0,03 celler)*	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
STM-batch 1	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM-batch 2	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM-batch 3	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
ThinPrep-pool 1	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
ThinPrep-pool 2	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)	96,3 (156/162) (92,2, 98,3)
ThinPrep-pool 3	100 (162/162) (97,7, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

STM = provtransportmedium, IVT = *in vitro*-transkript. IVT spetsades i STM och cellerna var spetsades i PreservCyt-lösning.

* Förväntad % negativ överensstämmelse > 75 % och < 100 %.

Tabell 24: Reproducerbarheten för Aptima HPV assay för Studie 1: signalvariabiliteten för panelkomponenter med förväntade positiva resultat

Panelbeskrivning (kopior eller celler/reaktion)	n	Medel- S/CO	Mellan laboratorier		Mellan operatörer		Mellan batcher		Mellan arbetslistor		Inom arbetslistor		Totalt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
HPV 16 och HPV 18 IVT (100 kopior)	161 [^]	23,4	0,1	0,4	0,1	0,4	0,9	4,0	0	0	1,6	7,0	1,9	8,1
SiHa-celler (3 celler) och HeLa-celler (7,5 celler)	162	17,9	0	0	1,4	8,1	0	0	0,6	3,1	5,1	28,6	5,3	29,9
HPV 18 IVT (100 kopior)	162	11,8	0	0	0	0	0,8	6,4	0,1	0,9	1,2	10,1	1,4	12,0
HPV 16 IVT (100 kopior)	162	10,8	0,2	1,5	0	0	0,1	1,1	0,3	2,6	0,3	3,1	0,5	4,5
MS751-celler (1 celler)	162	13,3	0,3	2,1	0	0	1,0	7,8	0,9	7,1	2,2	16,2	2,6	19,4
ME180-celler (0,3 celler)	162	6,5	0,2	3,2	0	0	0,6	8,6	0,4	5,5	2,4	36,2	2,5	37,7
HPV 18 IVT (30 kopior)	162	9,0	0,7	7,3	0	0	0,7	7,2	0,8	8,3	2,3	25,3	2,6	28,5
HPV 16 IVT (30 kopior)	162	10,8	0,1	0,8	0	0	0,1	1,3	0,4	3,8	0,9	8,4	1,0	9,3
HeLa-celler (2,5 celler)	162	12,4	0	0	0,4	3,3	0,4	3,1	0	0	2,3	18,4	2,4	19,0
SiHa-celler (1 celler)	162	7,5	0,3	3,7	1,0	13,0	0	0	0	0	4,8	63,6	4,9	65,0

SD = standardavvikelse, VK = variationskoefficient, IVT = *in vitro*-transkript, S/CO = kvoten signal/cutoff

[^]Ett prov hade ett ogiltigt Aptima HPV assay-resultat och inkluderades inte i analyserna.

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

Tabell 25: Reproducerbarheten för Aptima HPV assay för Studie 2: signalvariabiliteten för panelkomponenter med förväntade positiva resultat

Panelbeskrivning (kopior eller celler/reaktion)	N	Medel- S/CO	Mellan instrument		Mellan operatörer		Mellan batcher		Mellan arbetslistor		Inom arbetslistor		Totalt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
HPV 16 och HPV 18 IVT (100 kopior)	162	23,2	0,4	1,5	0,6	2,3	0,8	3,4	0,8	3,4	1,5	6,3	2,0	8,4
SiHa-celler (3 celler) och HeLa-celler (7,5 celler)	162	18,6	0	0	1,7	9,3	0	0	3,5	18,6	3,7	20,0	5,4	28,9
HPV 18 IVT (100 kopior)	160 [^]	11,9	0,1	0,6	0,2	1,6	0,8	7,0	0,4	3,6	1,3	11,3	1,7	13,8
HPV 16 IVT (100 kopior)	162	10,8	0	0	0,1	1,3	0	0	0,2	2,2	0,7	6,1	0,7	6,6
MS751-celler (1 celler)	162	13,6	0	0	0,6	4,3	0	0	2,5	18,4	2,1	15,2	3,3	24,2
ME180-celler (0,3 celler)	162	5,8	0	0	0,6	10,8	0,5	9,4	2,2	36,9	1,7	29,7	2,9	49,5
HPV 18 IVT (30 kopior)	162	8,8	0,4	4,4	0,5	6,0	0,7	7,9	1,0	11,5	1,9	21,4	2,4	26,6
HPV 16 IVT (30 kopior)	162	10,5	0	0	0,1	1,3	0,2	2,0	1,6	14,9	1,2	11,2	2,0	18,8
HeLa-celler (2,5 celler)	159 [^]	12,0	0,6	5,1	1,0	8,5	0	0	2,8	23,8	2,0	16,6	3,7	30,6
SiHa-celler (1 celler)	162	7,4	0,9	12,5	0	0	0,7	9,3	1,8	24	4,2	56,8	4,7	63,8

SD = standardavvikelse, VK = variationskoefficient, IVT = *in vitro*-transkript, S/CO = kvoten signal/cutoff

[^]Fem prover hade ogiltiga Aptima HPV assay-resultat (2 för HPV 18 IVT (100 kopior), 3 för HeLa-celler (2,5 celler)) och inkluderades inte i analyserna.

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

En tredje studie utfördes också för att fastställa assayernas reproducerbarhet genom att analysera en 6-panelkomponent av poolade kliniska ThinPrep-vätskecytologiprover. Sex unika pooler av resterande HPV-negativa ThinPrep-vätskecytologiprover bereddes som matris, av vilka två analyserades som HPV-negativa panelkomponenter. Fyra unika pooler av HPV-positiva ThinPrep-vätskecytologiprover användes för att bereda låga (n = 2) och höga (n = 2) HPV-positiva panelkomponenter. Låga positiva panelkomponenter med koncentrationer vid assayens detektionsgräns (förväntad positivitet): $\geq 95\%$ fastställt för varje enskild HPV-positiv pool från analysens seriespädning av poolerna). Dn högt positiva panelkomponenterna hade koncentrationer vid 1-2 loggar ovanför uppskattad detektionsgräns för varje enskild HPV-positiv pool (förväntad positivitet: 100 % positivitet). Varje panelkomponent överfördes (1 ml) till ett Aptima-provöverföringsrör som innehöll STM på analysdagen. Analyser utfördes internt av 2 operatörer med hjälp av 1 reagensbatch, 3 instrument, över 6 dagar (3 dagar för varje operatör), analys av 2 körningar per dag då panelen analyserades i duplikat.

Panelkomponenter beskrivs i tabell Tabell 26, tillsammans med en sammanfattning av överensstämmelsen med förväntade resultat och analytens S/CO-värden för percentilerna 2,5, 50 och 97,5 för signalspridningen. Analytens S/CO-variabilitet för panelkomponenterna med förväntade positiva resultat visas i tabell Tabell 27.

Överensstämmelsen var 100 % för högt HPV-positiva panelkomponenter, $\geq 98,6\%$ för lågt HPV-positiva panelkomponenter och $\geq 94,4\%$ för HPV-negativa panelkomponenter.

Tabell 26: Reproducerbarheten för Aptima HPV assay, Studie 3: panelbeskrivning, procent överensstämmelse

Panelbeskrivning	% överensstämmelse (95 % KI)
Låg positiv 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Låg positiv 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Hög positiv 1	100 (72/72) (94,9, 100)
Hög positiv 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Negativt 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Negativt 2	94,4 (68/72) (86,6, 97,8)

Tabell 27: Reproducerbarheten för Aptima HPV assay, Studie 3: signalanalys för panelkomponenter med förväntade positiva resultat

Panelbeskrivning	N	Medel- S/CO	Mellan instrument		Mellan operatörer		Mellan batcher		Mellan arbetslistor		Inom arbetslistor		Totalt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
Låg positiv 1	72	9,8	0	0	0	0	0	0	2,2	22,8	3,0	30,4	3,7	38,0
Låg positiv 2	72	10,5	0	0	2,2	21,0	0,9	9,0	3,7	35,3	2,7	26,1	5,2	49,5
Hög positiv 1	72	22,7	1,3	5,6	0	0	0,1	0,5	3,0	13,3	3,7	16,4	5,0	21,9
Hög positiv 2	72	23,9	0	0	0	0	0	0	2,9	12,3	3,0	12,4	4,2	17,4

SD = standardavvikelse, VK = variationskoefficient, S/CO = kvoten signal/cutoff

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

Överkorsningsreaktivitet

Den analytiska specificiteten för Aptima HPV assay utvärderades med PreservCyt-lösningssmedium som späddes 1:2,9 i STM och spetsade med odlade bakterier, jäst eller svampar, odlade virus eller lågrisk-HPV *in vitro*-transkript. Organismerna och analyskoncentrationerna identifieras i tabell 28. Studiekriterier för att bedöma effekten av förekomst av mikroorganism på assayens specificitet baserades på positivitet. Överkorsningsreaktivitet observerades med lågrisk-HPV-genotyperna 26, 67, 70 och 82, men inte med övriga organismer som analyserats.

Tabell 28: Analytisk specificitetspanel: Organismer och koncentration utan överkorsningsreaktivitet

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

Tabell 28: Analytisk specificitetspanel: Organismer och koncentration utan överkorsningsreaktivitet (forts)

Organism	Analyskoncentration utan överkorsningsreaktivitet	Organism	Analyskoncentration utan överkorsningsreaktivitet
Jäst/protozoer			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ celler/ml
Virus			
Adenovirus 2	1x10 ⁷ vp/ml	Herpes simplex virus 1	2,5x10 ⁶ TCID ₅₀ /ml
Cytomegalovirus	5,6x10 ² TCID ₅₀ /ml	Herpes simplex virus 2	5x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Epstein-Barr-virus	4,3x10 ⁶ vp/ml	SV40	1,2 x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
HIV-1	1,0x10 ⁶ kopior/ml		
Icke uppmärksammade HPV-genotyper			
HPV 6	2,5x10 ⁶ kopior/ml	HPV 61	2,5x10 ⁶ kopior/ml
HPV 11	2,5x10 ⁶ kopior/ml	HPV 67	1 kopia/ml
HPV 26	2,5 kopior/ml	HPV 69	2,5x10 ⁶ kopior/ml
HPV 30	2,5x10 ⁶ kopior/ml	HPV 70	1 kopia/ml
HPV 34	2,5x10 ⁶ kopior/ml	HPV 71	2,5x10 ⁶ kopior/ml
HPV 42	2,5x10 ⁶ kopior/ml	HPV 73	2,5x10 ⁶ kopior/ml
HPV 43	2,5x10 ⁶ kopior/ml	HPV 81	2,5x10 ⁶ kopior/ml
HPV 44	2,5x10 ⁶ kopior/ml	HPV 82	1 kopia/ml
HPV 53	2,5x10 ⁶ kopior/ml	HPV 85	2,5x10 ⁶ kopior/ml
HPV 54	2,5x10 ⁶ kopior/ml		

vp = viruspartiklar

CFU = colony forming units (kolonibildande enheter)

TCID₅₀ = tissue culture infective dose 50 (smittsam dos i vävnadsodling 50)

Anm. Fetstil anger typer där överkorsningsreaktivitet (> 5 % positivitet) observerades vid analys där koncentrationerna var högre än de som noterades i tabellen.

Den analytiska sensitiviteten för Aptima HPV assay vid förekomst av mikroorganismer utvärderades med samma panel som beskrivs i tabell Tabell 28, som också var spetsad med en låg koncentration av HPV-infekterade SiHa-celler (1 cell per reaktion). Studiekriterier för att bedöma effekten av förekomst av mikroorganism på assayens sensitivitet baserades på positivitet. Sensitiviteten för Aptima HPV assay påverkades inte av några andra analyserade organismer.

Interferens

De ämnen som beskrivs i tabell 29 var enskilt spetsade i PreservCyt-lösning på 1 % och 10 % v/v eller w/v, spädda med STM och sedan analyserade med Aptima HPV assay. Alla ämnen testades i närvaro och frånvaro av HPV-infekterade odlade celler (SiHa, 3 celler/reaktion). Interferens observerades med två av de sju glidmedlen som innehöll polykvaternium 15, och en av de fem antimykotikum som innehöll tiokonazol. Interferens observerades inte med några andra analyserade ämnen.

Tabell 29: Ämnen som analyserades avseende möjlig interferens med Aptima HPV assay

Produktkategori	Produktnamn eller typ	Högsta koncentrationen* av analyserad som inte interfererade med assayprestanda
Glidmedel	KY Sensual Mist	10 % v/v
	KY Warming Jelly	10 % w/v
	KY Warming Liquid	10 % v/v
	CVS varumärke för intimglidmedel	10 % w/v
	Varumärket Target värmande massagelotion och intimglidmedel	10 % v/v
	Astroglide intimglidmedel	0,3 % w/v (0,075 % w/v analysprov)
	Varumärket Target för intimglidmedelsvätska	0,1 % v/v (0,025 % v/v analysprov)
Spermiedödande medel	Gynol II vaginalt preventivmedel med originalsammansättning	10 % w/v
	Gynol II vaginalt preventivmedel med extra styrka	10 % w/v
	Delfen vaginalt p-skum	10 % w/v
	Encare vaginalt preventivmedel	10 % w/v
	Conceptrol vaginalt preventivmedel	10 % w/v
Läkemedel mot svamp/klåda	Vagisil Maximum Strength	10 % w/v
	Monistat Soothing Care	10 % w/v
	Monistat 3 kombinationsförpackning	10 % w/v
	Varumärket Target för tiokonazol 1	0,3 % w/v (0,075 % w/v analysprov)
	Varumärket Target för mikonazol 3	10 % w/v
Isättika	EMD M/N AX0073-11	10 % v/v
Helblod	helblod	10 % v/v

*Intimglidmedel som innehåller polykvaternium 15.

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

Prevalensen av högrisk-HPV-infektion varierar mycket och påverkas av flera faktorer, av vilka åldern är den främsta.^{32,33} I många studier har man undersökt HPV-prevalens som fastställts genom detektering av HPV-DNA, men få studier rapporterar prevalens baserad på detektering av HPV-onkogen mRNA. Kvinnor från ett flertal kliniker (n = 18) som representerade en stor geografisk spridning och en mångsidig population (10 delstater i USA) rekryterades till en prospektiv klinisk studie som kallas CLEAR-prövningen.³⁴ Prevalensen av HPV mRNA-positiva prover som observerats i den kliniska prövningen, enligt bestämning med Aptima HPV assay på Panther-systemet, kategoriserades övergripande efter åldersgrupp samt efter testinrättning. Resultaten visas i tabell 30 för populationerna ASCUS (atypiska skvamösa celler av obestämd signifikans) och NILM (negativt för intraepitelial lesion eller malignitet).

Tabell 30: Prevalens av högrisk-HPV-mRNA efter åldersgrupp, testinrättning samt alla kombinerade

	Positivitetsfrekvens % (x/n)	
	ASCUS-population (≥ 21 år)	NILM-population (≥ 30 år)
Alla	42,3 (404/956)	4,7 (512/10,860)
Åldersgrupp (år)		
21 till 29	60,0 (251/418)	N/A
30 till 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
Testinrättning		
1	41,5 (134/323)	3,7 (304/8286)
2	43,1 (137/318)	9,2 (118/1285)
3	42,2 (133/315)	7,0 (90/1289)

N/A = Not Applicable (inte tillämpbar)

Klinisk studiedesign av Aptima HPV assay med ThinPrep-vätskecytologiprover

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

CLEAR-prövningen - baslinjeundersökning

CLEAR-prövningen, utfördes för att bestämma Den kliniska prestandan för Aptima HPV assay för Tigris DTS-systemet när det gäller detektion av cervikal intraepitelial neoplasia av grad 2 eller mer allvarlig cervixsjukdom (\geq CIN2). CLEAR-prövningen inkluderade en baslinjeundersökning och en treårig uppföljningsstudie. Kvinnor rekryterades till antingen ASCUS-studien eller NILM-studien, baserat på deras cytologieresultat från rutinemässig screening av cervixcancer. Populationen i ASCUS-studien inkluderade kvinnor från 21 år och äldre med ASCUS-cytologieresultat och populationen i NILM-studien inkluderade kvinnor från 30 år och äldre med NILM-cytologieresultat. NILM-studien utformades för att stödja kompletterande screeningskrav för kvinnor på 30 år och äldre, eftersom kvinnor i denna åldersgrupp med mer allvarliga cytologieresultat än ASCUS ska gå vidare till kolposkopi oavsett HPV-status.³⁵

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

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

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

Sjukdomsstatus fastställdes av en granskningspanel för överensstämmande av histologi, baserat på att minst 2 expertpatologer är överens. Kvinnans HPV- och cytologistatus var dolda för expertpatologerna, liksom kollegornas histologidiagnoser. Om alla tre patologer inte kom fram till samma resultat, granskade alla tre mikroskåpsglaset i ett flerhövdade mikroskåp för att uppnå ett samstämmigt resultat. HPV-analysresultaten doldes för prövare, kliniker och kvinnor tills kolposkopibesöket var genomfört för att undvika bias. Vid baslinje fastställdes den kliniska prestandan för Aptima HPV assay för detektering av \geq CIN2 och cervikal intraepitelial neoplasia grad 3 eller mer allvarlig cervixsjukdom (\geq CIN3) fastställdes i relation till den cervikala sjukdomsstatusen som hade fastställts vid baslinjen. Klinisk prestanda för den av den kommersiellt tillgängliga HPV-DNA-analysen fastställdes även för direkt jämförelse med Aptima HPV assay-resultat.

CLEAR-prövning - uppföljning

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

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

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

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

Analysprestanda för Panther-systemet

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

Totalt registrerades 1 252 kvinnor på 21 år och äldre med ASCUS-cytologiresultat i ASCUS-studien och av dessa avregistrerades 294 kvinnor och uteslöts från analys. De återstående 958 kvinnornas prover var lämpliga för analys på Panther-systemet. För två kvinnor saknades prover och 19 hade en obestämd sjukdomsdiagnos. Samtliga dessa uteslöts från analysen. De återstående 937 bedömningsbara kvinnorna var från 21 år och äldre med ASCUS-cytologiresultat, Aptima HPV assay-resultat på Panther-systemet och slutgiltig sjukdomsstatus. Nittioen (91) kvinnor hade \geq CIN2 och fyrtioen (41) hade \geq CIN3. Prevalensen av \geq CIN2 och \geq CIN3 hos bedömningsbara kvinnor med ASCUS-cytologiresultat var 9,7 % respektive 4,4 %. Resultaten från Aptima HPV assay genom diagnoser från granskningspanelen för överensstämmande av histologi presenteras i tabell 31.

Tabell 31: ASCUS-population ≥ 21 år: resultat från Aptima HPV assay genom diagnoser från granskningspanelen för överensstämmande av histologi

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

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

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

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

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

Uppskattningar av klinisk prestanda för Aptima HPV assay inklusive sensitivitet, specificitet positivt prediktivt värde (PPV) och negativt prediktivt värde (NPV) för detektering av \geq CIN2 och \geq CIN3, baserade på utvärdering av alla biopsier, och inkluderat endast riktade biopsier, visas i tabell 32, liksom uppskattningarna för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen.

Tabell 32: ASCUS-population ≥ 21 år: prestanda för Aptima HPV assay och en HPV-DNA-analys för detektering av \geq CIN2 och \geq CIN3

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

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

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

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

Av de 91 fallen med \geq CIN2 identifierades 60 (65,9 %) vid riktade biopsier och 31 (34,1 %) från slumpmässiga och/eller ECC-biopsier (dvs. inte vid riktade biopsier). Dessa fynd är jämförbara med resultaten från publicerade studier, där ca 25 % till 40 % av fallen med \geq CIN2 identifierades från enbart slumpmässiga och/eller ECC-biopsiprover.^{36,37} Med användning av enbart riktade biopsier för att fastställa sjukdomsstatus (förutsatt att kvinnor utan riktade biopsier hade normala histologieresultat eftersom det inte fanns några synliga lesioner), var prevalensen av \geq CIN2 och \geq CIN3 i studien 6,4 % respektive 3,1 %. Uppskattningarna av klinisk sensitivitet för detektering av \geq CIN2 och \geq CIN3 var högre för båda analyserna med enbart riktade biopsier än uppskattningar beräknade med alla biopsier. För båda assayerna var den kliniska specificiteten med enbart riktade biopsier likvärdig med den specificitet som erhöles med alla biopsier inkluderade. När enbart riktade biopsier användes var därför specificiteten för Aptima HPV assay betydligt högre än för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen.

Uppskattningar av klinisk prestanda för Aptima HPV assay och den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen visas per åldersgrupp i tabell 33 och tabell 34 (\geq CIN2 respektive \geq CIN3, baserat på utvärdering av alla biopsier).

Tabell 33: ASCUS-population ≥ 21 år: prestanda för Aptima HPV assay och en HPV-DNA-analys för detektering av ≥ CIN2 per åldersgrupp

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

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

Tabell 34: ASCUS-population ≥ 21 år: prestanda för Aptima HPV assay och en HPV-DNA-analys för detektering av ≥ CIN3 per åldersgrupp

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

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

Den absoluta risken för sjukdom (\geq CIN2 och \geq CIN3, baserat på utvärderingen av alla biopsier) med Aptima HPV assay-resultat och den relativa risken för sjukdom för positiva respektive negativa Aptima HPV assay-resultat visas i tabell 35, liksom uppskattningarna för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen. Den relativa risken för \geq CIN2 var 7,4 (95 % KI: 4,3, 13,0), vilket anger att en kvinna med positiv Aptima HPV assay löper 7,4 gånger så stor risk att ha \geq CIN2 än en kvinna med negativ Aptima HPV assay. Den relativa risken för \geq CIN3 var 12,5 (95 % KI: 4,5, 34,9).

Tabell 35: ASCUS-population \geq 21 år: absoluta och relativa risker för \geq CIN2 och \geq CIN3 för resultaten av Aptima HPV assay och en HPV-DNA-analys

	Assayresultat	Aptima HPV assay N = 937		HPV-DNA-analys N = 863*	
		Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
\geq CIN2	Positivt	19,3 (77/398) (17,3, 21,2)	7,4 (4,3, 13,0)	18,8 (79/421) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Negativt	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prevalens (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
\geq CIN3	Positivt	9,3 (37/398) (8,0, 10,3)	12,5 (4,5, 34,9)	8,6 (36/421) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Negativt	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prevalens (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

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

Uppskattning av absolut och relativ risk för sjukdom (\geq CIN2 och \geq CIN3, baserat på utvärderingen av alla biopsier) för Aptima HPV assay och HPV-DNA-assayen visas per åldersgrupp i tabell 36.

Tabell 36: ASCUS-population \geq 21 år: absoluta och relativa risker för \geq CIN2 och \geq CIN3 för resultaten av Aptima HPV assay och en på marknaden förekommande HPV-DNA-analys per åldersgrupp

	Ålder	Assayresultat	Aptima HPV assay N = 937		HPV DNA-analys N = 863*	
			Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
\geq CIN2	21 till 29 år		N = 415		N = 389	
		Positivt	21,7 (54/249) (19,3, 23,9)	5,1 (2,4, 11,0)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)
		Negativt	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalens (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 till 39 år		N = 261		N = 238	
		Positivt	17,3 (17/98) (13,1, 21,1)	9,4 (2,8, 31,3)	16,2 (16/99) (11,8, 19,8)	5,6 (1,9, 16,3)
		Negativt	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalens (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	\geq 40 år		N = 261		N = 236	
		Positivt	11,8 (6/51) (5,6, 17,7)	6,2 (1,8, 21,1)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,1)
		Negativt	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)	
		Prevalens (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	
\geq CIN3	21 till 29 år		N = 415		N = 389	
		Positivt	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Inte beräkningsbar
		Negativt	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalens (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 till 39 år		N = 261		N = 238	
		Positivt	8,2 (8/98) (5,0, 10,1)	13,3 (1,7, 105)	7,1 (7/99) (4,0, 9,2)	4,9 (1,0, 23,2)
		Negativt	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalens (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	\geq 40 år		N = 261		N = 236	
		Positivt	5,9 (3/51) (1,6, 9,7)	6,2 (1,1, 36,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,8 (1,6, 121)
		Negativt	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)	
		Prevalens (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

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

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

Totalt registrerades 11 644 kvinnor med NILM-cytologiresultat i NILM-studien. Av dessa avregistrerades 773 kvinnor och uteslöts från analys. De återstående 10 871 kvinnornas prover var lämpliga för analys på Panther-systemet. För elva kvinnor saknades prover och därmed uteslöts de från baslinjeutvärderingen av Aptima HPV assay för Panther-systemet. De återstående 10 860 bedömningsbara kvinnorna var från 30 år och äldre med NILM-cytologiresultat och Aptima HPV assay-resultat på Panther-systemet. Av 512 kvinnor med positivt Aptima HPV assay-resultat på Panther-systemet genomgick 284 kolposkopi vid baslinjen. Av 10 348 kvinnor med negativt Aptima HPV assay-resultat genomgick 580 kolposkopi vid baslinjen. Tjugo (20) kvinnor hade \geq CIN2 och elva (11) hade \geq CIN3, 798 kvinnor hade normal/CIN1-histologi, 46 kvinnor hade obestämd sjukdomsstatus. Resultaten från Aptima HPV assay för Panther-systemet genom diagnoser vid baslinjen från granskningspanelen för överensstämmande av histologi presenteras i tabell 37.

Tabell 37: Population med NILM \geq 30 år: Resultat från Aptima HPV assay och en HPV-DNA-analys genom diagnoser från granskningspanelen för överensstämmande av histologi vid baslinjen

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

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

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

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

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

Totalt hade 10 042 kvinnor överifierad (inklusive obestämd) sjukdomsstatus (tabell 38). Eftersom endast slumpmässigt valda kvinnor med negativa resultat för både Aptima HPV assay på Tigris DTS-systemet och den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen remitterades för kolposkopi var andelen kvinnor med överifierad sjukdomsstatus hög i denna grupp (96,6 %). För att justera för denna kontrollbias användes en metod med multipel imputering för att uppskatta antalet kvinnor med sjukdom som skulle ha identifierats om alla kvinnor hade genomgått kolposkopi. Både kontrollbias-justerade prestandauppskattningar och ojusterade prestandauppskattningar baserat på de 818 kvinnorna med verifierad sjukdomsstatus vid baslinjen presenteras.

Tabell 38: Population med NILM \geq 30 år: klassificering av bedömbara kvinnor med NILM enligt resultat från Aptima HPV assay och en HPV-DNA-analys, sjukdomsstatus (\geq CIN2 och \geq CIN3) och sjukdomsbekräftelsestatus.

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

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

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

Den justerade prevalensen av \geq CIN2 och \geq CIN3 hos kvinnor med NILM-cytologiresultat var 0,9 % respektive 0,4 %. De justerade absoluta och relativa riskuppskattningarna för detektering av \geq CIN2 och \geq CIN3 vid baslinjen visas i tabell 39. Den justerade relativa risken för \geq CIN2 var 7,5 (95 % KI: 2,1, 26,3), vilket visar att en kvinna med positiv Aptima HPV assay löper 7,5 gånger så stor risk att ha \geq CIN2 än en kvinna med negativ Aptima HPV assay. Den justerade relativa risken för \geq CIN3 var 24,9 (95 % KI: 2,0, 307,0). Ojusterade absoluta och relativa riskuppskattningar för detektion av \geq CIN2 och \geq CIN3 vid baslinjen visas övergripande i tabell 40 och per åldersgrupp i tabell 41.

Tabell 39: Population med NILM \geq 30 år: absoluta och relativa risker för \geq CIN2 och \geq CIN3 för resultaten av Aptima HPV assay och en på marknaden förekommande HPV-DNA-analys (kontrollbias med justerade uppskattningar) vid baslinjen

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

Tabell 40: Population med NILM \geq 30 år: absoluta och relativa risker för \geq CIN2 och \geq CIN3 för resultaten av Aptima HPV assay och en HPV-DNA-analys (ojusterade uppskattningar)

	Assayresultat	Aptima HPV assay N = 818		HPV DNA-analys N = 800*	
		Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
\geq CIN2	Positivt	5,2 (14/269) (3,5, 6,6)	4,8 (1,9, 12,3)	3,8 (16/416) (2,9, 4,5)	4,9 (1,4, 16,8)
	Negativt	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalens (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
\geq CIN3	Positivt	3,7 (10/269) (2,5, 4,3)	20,4 (2,6, 159)	2,4 (10/416) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,8)
	Negativt	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalens (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

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

Tabell 41: Population med NILM ≥ 30 år: absoluta och relativa risker för ≥ CIN2 och ≥ CIN3 för resultaten av Aptima HPV assay och en HPV-DNA-analys per åldersgrupp (ojusterade uppskattningar) vid baslinjen

	Ålder	Assayresultat	Aptima HPV assay N = 818		HPV DNA-analys N = 800*	
			Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
≥ CIN2	30 till 39 år		N = 383		N = 376	
		Positivt	4,6 (7/153) (2,5, 5,9)	5,3 (1,1, 25,0)	3,3 (7/215) (1,8, 4,1)	2,6 (0,6, 12,4)
		Negativt	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Prevalens (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 År		N = 435		N = 424	
		Positivt	6,0 (7/116) (3,2, 8,5)	4,8 (1,4, 16,1)	4,5 (9/201) (2,9, 5,3)	10,0 (1,3, 78,1)
		Negativt	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
		Prevalens (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥ CIN3	30 till 39 år		N = 383		N = 376	
		Positivt	3,3 (5/153) (1,6, 4,1)	7,5 (0,9, 63,7)	2,3 (5/215) (1,1, 2,9)	3,7 (0,4, 31,7)
		Negativt	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
		Prevalens (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	≥ 40 år		N = 435		N = 424	
		Positivt	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Inte beräkningsbar	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Inte beräkningsbar
		Negativt	0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
		Prevalens (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

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

Justerade uppskattningar av klinisk prestanda för Aptima HPV assay inklusive sensitivitet, specificitet, PPV och NPV för detektion av \geq CIN2 och \geq CIN3 vid baslinjen visas i tabell 42, liksom uppskattningarna för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen. Ojusterade uppskattningar av klinisk prestanda visas i tabell 43. Aptima HPV assay och den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen hade liknande sensitivitet, medan specificiteten var betydligt högre för Aptima HPV assay (icke-överlappande 95 %-iga konfidensintervaller). Uppskattningarna av prediktiva värden för Aptima HPV assay var kliniskt relevanta och likvärdiga med uppskattningarna för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen. NPV:er var likvärdiga men för detekteringen av \geq CIN2 var PPV för Aptima HPV assay något högre än PPV för den på marknaden förekommande HPV-DNA-analysen (4,5 % jämfört med 3,7 %).

Tabell 42: Population med NILM \geq 30 år: prestanda för Aptima HPV assay och en HPV-DNA-analys för detektering av \geq CIN2 och \geq CIN3 (kontrollbias med justerade uppskattningar) vid baslinjen

	Prestanda	Aptima HPV assay		HPV DNA-analys	
		Uppskattning	(95 % KI)	Uppskattning	(95 % KI)
\geq CIN2	Sensitivitet (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Specificitet (%)	95,5	(95,1, 95,9)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,5	(2,7, 7,4)	3,7	(2,3, 6,1)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Prevalens (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
\geq CIN3	Sensitivitet (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Specificitet (%)	95,4	(95,0, 95,8)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,0	(1,6, 5,5)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,3, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prevalens (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Tabell 43: Population med NILM ≥ 30 år: prestanda för Aptima HPV assay och en HPV-DNA-analys för detektering av ≥ CIN2 och ≥ CIN3 (ojusterade uppskattningar) vid baslinjen

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

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

Vid en direkt jämförelse av Aptima HPV assay för Panther-systemet och den på marknaden förekommande HPV-DNA-assayen fastställs liknande känslighet och statistiskt signifikant förbättrad specificitet för Aptima HPV assay jämfört med den på marknaden förekommande HPV-DNA-assayen för detektering av \geq CIN2, vilket framgår av förhållandena mellan sant positiva och falskt positiva resultat (tabell 44 respektive tabell 45).

Tabell 44: Population med NILM \geq 30 år: förhållande mellan sant positiva resultat (Aptima HPV assay/HPV-DNA-analys) för kvinnor med \geq CIN2 (ojusterade uppskattningar) vid baslinjen

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

Tabell 45: Population med NILM \geq 30 år: förhållande mellan falskt positiva resultat (Aptima HPV assay/HPV-DNA-analys) för kvinnor med $<$ CIN2 (ojusterade uppskattningar) vid baslinjen

		HPV DNA-analys		Totalt
		Positivt	Negativt	
Aptima HPV assay	Positivt	223	19	242 (31,0 %)
	Negativt	177	362	539
	Totalt	400 (51,2 %)	381	781
Förhållande mellan falskt positiva resultat = 0,61 (242/400) (95 % KI: 0,55, 0,66)				

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

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

Av de 10 843 utvärderade kvinnorna hade, 511 (4,7 %) positiva Aptima HPV assay-resultat för Panther-systemet vid baslinjen. Av de här 511 kvinnorna hade 255 (49,9 %) antingen en positiv eller negativ treårig sjukdomsstatus baserad på cytologi- och kolposkopi-/biopsiresultat. Resterande 10 332 kvinnor hade negativa Aptima HPV assay-resultat för Panther-systemet vid baslinjen. Av dessa 10 332 kvinnor hade 5 946 (57,5 %) antingen en positiv eller negativ treårig sjukdomsstatus. Av de 6 201 kvinnorna med en treårig sjukdomsstatus hade 47 kvinnor \geq CIN2 varav 23 även hade \geq CIN3. 6 154 hade

normala cellförändringar/CIN1 fastställda av granskningspanelen. Baslinjeresultaten från Aptima HPV assay för Panther-systemet och en HPV DNA-assay som finns tillgänglig i handeln och den treåriga sjukdomsstatusen (inkl. baslinjestatus och uppföljningsstatus) som fastställdes av granskningspanelen presenteras i Tabell 46.

Tabell 46: Population med NILM \geq 30 år: Klassificering av kvinnor som kvalificerade sig för uppföljningsfasen av baslinjeresultaten från Aptima HPV assay, baslinjeresultat från HPV DNA-tester och sjukdomsstatus (\geq CIN2, \geq CIN3, Obestämd) fastställdes vid baslinjen och vid uppföljningsfasen.

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

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

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

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

Tre års ackumulerade absoluta och relativa riskestimat för detektion av \geq CIN2 och \geq CIN3 visas i Tabell 47.

Tabell 47: NILM-population på ≥ 30 år: 3-åriga kumulativa absoluta och relativa risker* med \geq CIN2 och \geq CIN3 för resultat av Aptima HPV assay och ett HPV DNA-test vid baslinjen.

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

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

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

Klinisk prestanda för Aptima HPV assay med SurePath vätskecytologiprover

SurePath-vätskecytologiprover togs från kanadensiska kvinnor (n = 558) som remitterats för uppföljning på grund av ett eller flera onormala Pap-smear, en HPV-infektion eller av något annat skäl. En alikvot (0,5 ml) av varje prov överfördes till ett Aptima-provöverföringsrör och behandlades sedan med Aptima-överföringslösning. Ett enstaka replikat av varje prov analyserades även med Aptima HPV assay. En separat alikvot (1 ml) av varje prov togs undan för utvärdering med en på marknaden förekommande HPV-PCR-analys. Den kliniska sensitiviteten för detektering av sjukdom, definierad som ett histologieresultat på \geq CIN3, beräknades för både Aptima HPV assay och HPV-PCR-analysen, som visas i tabell 48, med de positiva och negativa prediktiva värdena.

Tabell 48: Prestanda för Aptima HPV assay och en HPV-PCR-analys för detektering av \geq CIN3

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

Prestanda för Aptima HPV assay med prover som tagits med satsen för provtagning och transport av cervixprover

Högrisk-HPV-positiva och högrisk-HPV-negativa kliniska prover som tagits både från screeninggrupper (rutinbesök) och remitterade patienter (kolposkopibesök) med Aptima CSCT-satsen, analyserades med Aptima HPV assay på Panther- och Tigris DTS-systemen med två reagensbatcher. Överensstämmelse mellan Panther- och Tigris DTS-systemen för CSCT-prover visas i tabell 49.

För CSCT-prover, var total överensstämmelse mellan Panther- och Tigris DTS-systemen > 98 %, som visas i tabell 49. Av de 632 analyserade kliniska proven var 69 CIN2+ och 38 var CIN3+. Aptima HPV assay sensitivitet för detektion av CIN2+ var 97,1 % (95 % KI: 90,0-99,2 %) på Panther-systemet och 98,6 % (95 % KI: 92,2-99,7) på Tigris DTS-systemet. Sensitivitet för detektion av CIN3+ var 100 % (KI: 90,8-100 %) på både Panther- och Tigris DTS-systemen.

Tabell 49: Överensstämmelse mellan Aptima HPV assay-resultaten från Aptima CSCT-prover analyserade på Tigris DTS- och Panther-systemen

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

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

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

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

Analytisk sensitivitet

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

Resultaten av regressionsanalys enligt Probit-modellen i tabell 50 visar att HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 och 68 hade 95 %-iga detektionsgränser på mindre än 100 kopior/reaktion; och typerna 52, 58 och 66 hade 95 %-iga detektionsgränser på mellan 100 och 500 kopior/reaktion. De fyra analyserade cellinjerna hade 95 %-iga detektionsgränser på mindre än 1 cell/reaktion.

Tabell 50: Detektionsgräns vid klinisk cutoff för Aptima HPV assay

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

*Kopior per reaktion för *in vitro*-transkript och celler per reaktion för cellinjer.

Assayens precision

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

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

Panelkomponenterna beskrivs i tabell 51a (panelkomponenter med förväntade positiva resultat) och tabell 51b (panelkomponenter ned förväntade negativa resultat), tillsammans med en sammanfattning av överensstämmelsen med förväntade resultat och analytens S/CO-värden vid percentilerna 2,5, 50 och 97,5 för S/CO-spridningen. Analytens S/CO-variabilitet för panelkomponenterna med förväntade positiva resultat visas i tabell 52 för Studie 1 och tabell 53 för Studie 2.

Tabell 51a: Aptima HPV assay-precisionen för Studie 1 och 2: Panelbeskrivning, positiv överensstämmelse och percentil spridning av analytens S/CO-värden för panelkomponenter med förväntade positiva resultat

Panelbeskrivning (kopior eller celler/reaktion)	Studie 1 (3 testinrättningar)	Studie 2 (1 testinrättning)
	% positiv överensstämmelse (95 % KI)	% positiv överensstämmelse (95 % KI)
HPV-högpositivt kliniskt prov 1	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
HPV-högpositivt kliniskt prov 2	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16-IVT (1830 kopior)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,1, 100)
HPV 18-IVT (1550 kopior)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-lågpositivt kliniskt prov 1	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)
HPV-lågpositivt kliniskt prov 2	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
HPV-lågpositivt kliniskt prov 3	100 (108/108) (96,6, 100)	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)
HPV-lågpositivt kliniskt prov 4	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 16-IVT (183 kopior)	100 (102/102) (96,4, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18-IVT (155 kopior)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (159/159) (97,6, 100)
MS751-celler (0,63 celler)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa-celler (0,35 celler)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (0,90 celler)	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)

IVT = *in vitro*-transkript

*Förväntad % positiv överensstämmelse ≈95 %; medan den observerade var lägre, möjligen på grund av tillverkningsvariationer hos panelkomponenterna.

Tabell 51b: Aptima HPV assay-precisionen för Studie 1 och 2: panelbeskrivning, negativ överensstämmelse och percentil spridning av analytens S/CO-värden för panelkomponenter med förväntade negativa resultat

Panelbeskrivning (kopior eller celler/reaktion)	Studie 1 (3 testinrättningar)	Studie 2 (1 testinrättning)
	% negativ överensstämmelse (95 % KI)	% negativ överensstämmelse (95 % KI)
MS751-celler (0,005 celler)	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)
SiHa-celler (0,008 celler)	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
HeLa-celler (0,02 celler)	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)
HPV-negativt kliniskt prov 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativt kliniskt prov 2	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt-lösning 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt-lösning 2	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (161/161) (97,7, 100)

IVT = *in vitro*-transkript.

*Förväntad % negativ överensstämmelse > 75 % och < 100 %.

Tabell 52: Aptima HPV assay-precisionen för Studie 1: signalvariabiliteten för panelkomponenter med förväntade positiva resultat

Panelbeskrivning (kopior eller celler/reaktion)	n	Medel- S/CO	Mellan instrument		Mellan operatörer		Mellan batcher		Mellan arbetslistor		Inom arbetslistor		Totalt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
HPV-högpositivt kliniskt prov 1	107*	29,34	0,00	0,0	0,00	0,0	1,43	4,9	1,87	6,4	1,49	5,1	2,79	9,5
HPV-högpositivt kliniskt prov 2	107*	30,09	0,55	1,8	0,00	0,0	1,06	3,5	0,73	2,4	2,21	7,3	2,61	8,7
HPV 16-IVT (1830 kopior)	107*	11,20	0,09	0,8	0,16	1,4	0,03	0,3	0,14	1,3	0,46	4,1	0,52	4,6
HPV 18-IVT (1550 kopior)	107*	14,89	0,18	1,2	0,00	0,0	0,20	1,3	0,14	0,9	1,53	10,3	1,56	10,5
HPV-lågpositivt kliniskt prov 1	107*	8,24	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,23	39,2	3,23	39,2
HPV-lågpositivt kliniskt prov 2	108	7,07	0,00	0,0	0,41	5,8	0,00	0,0	0,00	0,0	4,57	64,7	4,59	65,0
HPV-lågpositivt kliniskt prov 3	108	10,23	0,26	2,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,32	12,9	3,23	31,6	3,49	34,2
HPV-lågpositivt kliniskt prov 4	108	4,68	0,50	10,7	0,20	4,2	0,00	0,0	0,99	21,1	3,02	64,6	3,22	68,9
HPV 16-IVT (183 kopior)	102*	11,09	0,08	0,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	2,3	0,54	4,9	0,61	5,5
HPV 18-IVT (155 kopior)	108	11,78	0,00	0,0	0,43	3,7	0,00	0,0	1,12	9,5	1,97	16,7	2,30	19,6
MS751-celler (0,63 celler)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
HeLa-celler (0,35 celler)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
SiHa-celler (0,90 celler)	107*	7,74	0,37	4,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,85	49,8	3,87	50,1

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

VK = variationskoefficient; IVT = *in vitro*-transkript; SD = standardavvikelse

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

Tabell 53: Aptima HPV assay-precision för Studie 2: signalvariabiliteten för panelkomponenter med förväntade positiva resultat

Panelbeskrivning (kopior eller celler/reaktion)	n	Medel- S/CO	Mellan instrument		Mellan operatörer		Mellan batcher		Mellan arbetslistor		Inom arbetslistor		Totalt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
HPV-högpositivt kliniskt prov 1	161*	26,81	0,75	2,8	0,00	0,0	0,91	3,4	0,48	1,8	1,84	6,9	2,24	8,3
HPV-högpositivt kliniskt prov 2	162	28,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,96	3,3	0,65	2,3	2,35	8,2	2,62	9,1
HPV 16-IVT (1830 kopior)	161*	11,07	0,14	1,2	0,00	0,0	0,05	0,5	0,16	1,4	0,32	2,9	0,39	3,5
HPV 18-IVT (1550 kopior)	162	13,34	0,14	1,1	0,12	0,9	1,00	7,5	0,31	2,3	0,75	5,6	1,31	9,8
HPV-lågpositivt kliniskt prov 1	162	7,57	0,56	7,5	0,55	7,3	0,63	8,3	0,00	0,0	3,61	47,7	3,75	49,5
HPV-lågpositivt kliniskt prov 2	162	7,59	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	5,25	69,2	5,25	69,2
HPV-lågpositivt kliniskt prov 3	161*	8,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	3,0	0,00	0,0	3,48	39,4	3,49	39,5
HPV-lågpositivt kliniskt prov 4	162	4,95	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	15,2	0,00	0,0	3,35	67,6	3,43	69,3
HPV 16-IVT (183 kopior)	162	11,02	0,13	1,2	0,11	1,0	0,12	1,1	0,13	1,2	0,54	4,9	0,59	5,4
HPV 18-IVT (155 kopior)	159*	11,40	0,16	1,4	0,17	1,5	1,21	10,6	0,23	2,0	1,17	10,3	1,72	15,0
MS751-celler (0,63 celler)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
HeLa-celler (0,35 celler)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
SiHa-celler (0,90 celler)	162	7,30	0,32	4,3	0,00	0,0	0,93	12,7	1,04	14,3	3,49	47,8	3,77	51,7

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

VK = variationskoefficient; IVT = *in vitro*-transkript; SD = standardavvikelse

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

Korsreaktivitet

Analyser med potentiellt överkorsningsreaktiva organismer för Aptima HPV assay gjordes med användning av Tigris DTS-systemet. Se *Överkorsningsreaktivitet* (tabell 28) i avsnittet Tigris DTS-systemet för resultat.

Interferens

Analyser med potentiellt störande substanser för Aptima HPV assay utfördes med hjälp av Tigris DTS-systemet. Se *Interferens* (tabell 29) i avsnittet Tigris DTS-systemet för resultat.

Litteratur

1. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* **189**:12-19.
2. **Li N., S. Franceschi, R. Howell-Jones, P. J. Snijders, G. M. Clifford.** 2010. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*, n/a. doi: 10.1002/ijc.25396.
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer.* **64(3)**:211-5.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond).* **110(5)**:525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* **16(1)**:1-17.
6. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **90(12)**:5583-7.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Sunyum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* **325(7364)**: 572-579.
8. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer.* **108(3)**:329-33. Erratum in: *Int J Cancer.* **108(6)**:945.
9. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol.* **73(1)**: 65-70.
10. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol.* **32 Suppl 1**:S16-24.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2010; 20(8):1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology.* 2011; 49(2):557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer.* 2011;129:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology.* 2012;125:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2013;23(3):513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer.* 2013;108:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, Lynge E.** Prevalence of human papillomavirus infection in unselected SurePath samples using the APTIMA HPV mRNA assay. *The Journal of Molecular Diagnostics.* 2013;15(5):670-7.
18. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lynge E.** A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer.* 2015;51:1456-66.
19. **Heideman DAM, Hesselink AT, van Kemenade FJ, Iftner T, Berkhof J, Topal F, et al.** The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *Journal of Clinical Microbiology.* 2013;51(11):3653-7.
20. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlaberg R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods.* 2015;221:95-9.
21. **Iftner T, Becker S, Neis KJ, Castanon A, Iftner A, Holz B, et al.** Head-to-Head Comparison of the RNA368 Based Aptima Human Papillomavirus (HPV) Assay and the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in a Routine Screening Population of Women Aged 30 to 60 Years in Germany. *Journal of Clinical Microbiology.* 2015;53:2509-16.
22. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lynge E.** Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above. *PLoS One.* 2016 Jan 20;11(1):e0147326.
23. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lynge E.** A daunting challenge: Human Papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30years. *Eur J Cancer.* 2015 Jul;51(11):1456-66.
24. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
25. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem.* **35**: 1588-1594.
26. **Nelson, N. C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* **35**:8429-8438.

27. **Clad, A., M. Reuschenbach, J. Weinschenk, R. Grote, J. Rahmsdorf, and N. Freudenberg.** Performance of the Aptima high-risk HPV mRNA assay in a referral population in comparison with Hybrid Capture 2 and cytology. 2010. *J Clin Microbiol*, n/a. doi: 10.1128/JCM.01674-10.
28. **Ratnam S., F. Coutless, D. Fontaine, J. Bentley, N. Escott, P. Ghatage, G. Holloway, E. Bartellas, N. Kum, and A. Lear.** 2008. Clinical Correlations of Aptima HPV E6/E7 mRNA Test in Cervical Cancer Screening: Preliminary Results from a Multicentre Canadian Study. Presented at EUROGIN 2008, November 12-15, 2008, Scientific Communication SS **8-6**.
29. **Szarewski A., L. Ambroisine, L. Cadman, J. Austin, L. Ho, G. Terry, S. Little, R. Dina, J. McCarthy, H. Buckley, C. Bergeron, P. Soutter, D. Lyons, and J. Cuzick.** 2008. Comparison of predictors for High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia in Women with Abnormal Smears. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **17(11)**, November.
30. **Castle P.E., J. Dockter, C. Giachetti, F.A.R. Garcia, M. McCormick, A.L. Mitchell, E.B. Holladay, and D.P. Kolk.** 2007. A Cross-sectional Study of a Prototype Carcinogenic Human Papillomavirus E6/E7 Messenger RNA Assay for Detection of Cervical Pre-cancer and Cancer. *Clin Cancer Res.* **13(9)**. 2599.
31. **Monsonogo J., M.G. Hudgens, L. Zerat, J.C. Zerat, K. Syrjänen, P. Halfon, F. Ruiz, and J.S. Smith.** 2010. Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid based cytology in primary cervical cancer screening (The FASE study). *Int J Cancer.* n/a. doi 10.1002/ijc.25726.
32. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. *Annals Int Med.* **148**:493.
33. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet.* **366**, 991.
34. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** 2013. Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* **208(2)**:144-145.
35. **Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D.** 2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests. 2007. *Am J Obstet Gynecol* **197** (4); 346-355.
36. **Pretorius R.G., W. H. Zhang, J. L. Belinson, et al.** Colposcopically directed biopsy, random cervical biopsy, and endocervical curettage in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia II or worse. 2004. *Am J Obstet Gynecol.* **191**:430-434.
37. **Pretorius R.G., R. J. Kim, J. L. Belinson, P. Elson, Y-L Qiao.** Inflation of sensitivity of cervical cancer screening tests secondary to correlated error in colposcopy. 2006. *J Low Genit Tract Dis.* **10(1)**:5-9.



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

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

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



EC REP
Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium



Besök www.hologic.com för ytterligare kontaktinformation.

Denna produkt är endast avsedd för användning inom området human *in vitro*-diagnostik.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep och Tigris är varumärken och/eller registrerade varumärken som tillhör Hologic, Inc. och/eller dess dotterbolag i USA och/eller andra länder.

eppendorf (stilliserat) och REPEATER är varumärken som tillhör Eppendorf AG.

RAININ är ett varumärke som tillhör Rainin Instruments, LLC.

TECAN och FREEDOM EVO är varumärken som tillhör Tecan Group AG.

SUREPATH och PREPSTAIN är varumärken som tillhör TriPath Imaging, Inc.

Alla andra varumärken som uppträder i denna bipacksedel är varumärken som tillhör sina respektive ägare.

Denna produkt kan omfattas av ett eller flera USA-patent som identifieras på www.hologic.com/patents.

© 2007-2019 Hologic, Inc. Med ensamrätt.
AW-14517-1601 Rev. 007

2019-07