

## Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

För *in vitro*-diagnostiskt bruk.

Endast för export från USA.

<b>Allmän information</b> .....	<b>2</b>
Avsedd användning .....	2
Sammanfattning och förklaring av assayen .....	2
Metodprinciper .....	3
Varningar och försiktighetsåtgärder .....	4
Förvaring och hantering av reagenser .....	5
Provtagning och provförvaring .....	6
<b>Analystolkning</b> .....	<b>19</b>
<b>Begränsningar</b> .....	<b>20</b>
<b>Förväntade resultat med Tigris DTS-systemet: Prevalens av högrisk HPV mRNA</b> .....	<b>21</b>
<b>Assayprestanda för Tigris DTS-system</b> .....	<b>22</b>
<b>Förväntade resultat med Panther-systemet: Prevalens av högrisk-HPV mRNA</b> .....	<b>41</b>
<b>Assayprestanda för Panther System</b> .....	<b>42</b>
<b>Litteratur</b> .....	<b>59</b>

### Tigris™ DTS™-system

<b>Tigris DTS-system</b> .....	<b>8</b>
Tillhandahållna reagenser och material .....	8
Material som krävs men som införskaffas separat .....	9
Assaymetod för Tigris DTS-system .....	10
Metodanmärkingar .....	12

### Panther™-systemet

<b>Panther-systemet</b> .....	<b>13</b>
Tillhandahållna reagenser och material .....	13
Material som krävs men som införskaffas separat ..	14
Assaymetod för Panther-system.....	15
Metodanmärkingar .....	17

## Allmän information

### Avsedd användning

Aptima HPV 16 18/45 genotype assay (Aptima HPV 16 18/45-genotypassay) är en *in vitro*-baserad nukleinsyraamplifieringsmetod för kvalitativ detektering av E6/E7 viralt budbärar-RNA (mRNA) från humant papillomvirus (HPV) av högrisktyperna 16, 18 och 45 i prover från kvinnor med positiva resultat med Aptima HPV-assayen. HPV-mRNA detekteras i vätskebaserade cytologiska cervikala Pap-prover som samlats in i ThinPrep™-flaskor innehållande PreservCyt™-lösning före eller efter Pap-bearbetning eller i prover som tagits med Aptima-sats för cervikal provtagning och transport. Cervikala prover som samlats in i SurePath konserveringsvätska kan analyseras med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Assayen används tillsammans med Tigris DTS-system och Panther-systemet.

### Sammanfattning och förklaring av assayen

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.<sup>1,2,3</sup> HPV är ett vanligt sexuellt överförbart DNA-virus som består av mer än 100 genotyper.<sup>4</sup>

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 högrisk-HPV-genotyper 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.<sup>5,6</sup>

Fjorton HPV-genotyper anses vara patogena eller utgöra hög risk för utveckling av cervixsjukdom.<sup>7</sup> Flera studier har kopplat genotyperna 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 och 68 till utveckling av sjukdom.<sup>2,5,8</sup> Patienter med en ihållande infektion med en av dessa typer löper en ökad risk för att utveckla grav cervikal dysplasi eller cervixcarcinom.<sup>7,9</sup>

Studier har visat att olika typer av högrisk-HPV utgör olika risknivåer för att utveckla allvarlig dysplasi eller cervixcarcinom. I hela världen är HPV-typerna 16, 18 och 45 förknippade med ungefär 80 % av all invasiv cervixcancer.<sup>2,10</sup> Dessa tre typer finns i 75 % av alla skvamösa carcinom, där typ 16 står för huvuddelen (85 %) av dessa infektioner. I adenocarcinom förekommer HPV-typerna 16, 18 och 45 i 80-94 % av fallen, där typ 18 och 45 står för nästan hälften av infektionerna.<sup>2,10</sup> Närvaro av HPV-typ 18 i ett tidigt skede av cervixcancer har rapporterats vara förknippat med en dålig prognos.<sup>11</sup> HPV-typerna 18 och 45 är underrapporterade vid lesioner före cancer, vilka kan orsakas av närvaro av ockulta lesioner i cervixkanalen som inte är tillgängliga för kolposkopisk undersökning.<sup>12</sup> Hos kvinnor som infekterats med HPV-typ 16 och/eller 18 är den ackumulerade risken för att utveckla cervixcancer 10 gånger högre än risken för sjukdomsutveckling på grund av andra högrisktyper.<sup>13,14,15</sup>

## Metodprinciper

Aptima HPV 16 18/45 genotype assay består av tre huvudsteg som sker i ett och samma provrör: målsekvensinfångning, målamplifiering genom transkriptionsmedierad amplifiering (TMA),<sup>16</sup> och detektering av amplifieringsprodukterna (amplicon) med hjälp av hybridiserings-skyddsassayen (HPA).<sup>17</sup> 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 (STM) som lyserar cellerna, frigör mRNA och skyddar det från nedbrytning vid förvaring. När Aptima HPV 16 18/45 genotype assay utförs isoleras mål-mRNA från provet genom infångningsoligomerer som är kopplade till magnetiska mikropartiklar. Infångningsoligomererna innehåller sekvenser som utgör komplement till specifika regioner på HPV:s mRNA-målmolekyler, såväl som en sträng med rester av deoxiadenosin. I hybridiseringssteget binds de sekvensspecifika regionerna på infångningsoligomererna till specifika regioner på HPV:s mRNA-målmolekyl. Infångningsoligomer:målkomplexet 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 ljusenheter (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. Dual Kinetic Assay (DKA) är den metod som används för att differentiera mellan HPV-signalerna och IC-signalen.<sup>18</sup> IC- och HPV 16-ampliconen detekteras med sonder med snabb ljusavgivande kinetik (blinksignal). IC-signalen i varje reaktion särskiljs från HPV 16-signalen genom ljusavgivningens magnitud. Ampliconer som är specifika för HPV 18 och 45 detekteras med användning av sonder med relativt långsammare ljusavgivningskinetik (glödsignal).

## Varningar och försiktighetsåtgärder

- A. För *in vitro*-diagnostiskt bruk.
- B. För ytterligare specifika varningar och försiktighetsåtgärder rörande instrumenten, se *Tigris DTS System Operator's Manual* (användarhandbok till Tigris DTS-systemet) eller *Panther System Operator's Manual* (användarhandledning till Panther-systemet).

## Laboratorierelaterad information

- C. Använd endast tillhandahållet eller specificerat laboratoriematerial för engångsbruk.
- D. 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.
- E. **Varning: Irriterande medel och korrosionsmedel:** Undvik hud-, ögon och slemhinnekontakt med Auto Detect 1 och 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, späder du spillet med vatten innan du torkar torrt.
- F. Arbetsytor, pipetter och annan utrustning måste regelbundet dekontamineras med 2,5 till 3,5 % (0,35 till 0,5M) natriumhypokloritlösning. Se *Assaymetod för Tigris DTS-system* eller *Assaymetod för Panther-system* för mer information.

## Provrelaterad information

- G. 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.
- H. Utgångsdatum som anges på provtagnings-/överföringssatser och provrör avser överföringsplatsen och inte testinstitutionen. Prover som tagits/överförts vid någon tidpunkt före dessa utgångsdatum kan användas för assay under förutsättning att de har transporterats och förvarats enligt respektive bipacksedel, även om utgångsdatumen har passerats.
- I. 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.
- J. 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.
- K. Vätska kan läcka från provrörens lock efter håltagning under vissa förhållanden. Se *Assaymetod för Tigris DTS-system* eller *Assaymetod för Panther-system* för mer information.
- L. Prover med ThinPrep-vätskecytologi och Aptima provtagnings- och transportsats för cervixprover (CSCT) ska förkastas om ett provtagningsinstrument har lämnats kvar i provröret.
- M. SurePath-vätskecytologiprover ska förkastas om det inte finns ett provtagningsinstrument i reagensflaskan.

**Assayrelaterad information**

- N. Förvara reagenser vid angivna temperaturer. Assayprestanda kan påverkas om felaktigt förvarade reagenser används.
- O. Undvik att kontaminera reagenser med mikrobiellt material eller ribonukleas.
- P. Använd inte satsen efter utgångsdatum.
- Q. Assayreagenser eller kalibratorer från satser med olika batchnummer får inte växlas, blandas eller kombineras.
- R. Aptima assayvätskor, Aptima konserveringsmedel för systemvätska (endast Tigris DTS-systemet) och Auto Detect-reagenser ingår inte i huvudsatsen, vilket sats som helst kan användas.
- S. För att uppnå korrekt assayresultat måste assayreagenserna blandas mycket noga.
- T. Spetsar med hydrofoba pluggar måste användas.

**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 16 18/45 amplifieringsreagens
  - HPV 16 18/45 enzymreagens
  - HPV 16 18/45 sondreagens
  - HPV 16 18/45 reagens för intern kontroll
  - HPV 16 18/45 positiva kalibratorer och HPV 16 18/45 negativa kalibratorer
- B. Följande reagenser förvaras vid 15 °C till 30 °C (rumstemperatur):
  - HPV 16 18/45 amplifieringsrekonstitutionslösning
  - HPV 16 18/45 enzymrekonstitutionslösning
  - HPV 16 18/45 sondrekonstitutionslösning
  - HPV 16 18/45 reagens för målsekvensinfångnings
  - HPV 16 18/45 selektionsreagens
  - Tvättlösning
  - Oljereagens
  - Buffert för inaktiveringsvätska
  - Auto Detect-reagens 1
  - Auto Detect-reagens 2
  - Aptima konserveringsmedel för systemvätska (endast Tigris DTS-systemet)
- C. Efter rekonstitution är följande reagenser stabila i 30 dagar när de förvaras vid 2 °C till 8 °C:
  - HPV 16 18/45 amplifieringsreagens
  - HPV 16 18/45 enzymreagens
  - HPV 16 18/45 sondreagens

- D. Arbetsmålsekvensinfångningsreagens (wTCR) är stabilt i 30 dagar när det förvaras vid 15 °C 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. Reagens för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay är stabila under sammanlagt 48 timmar när de förvaras laddade i Tigris DTS-systemet.
- G. Reagens för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay är stabila under sammanlagt 72 timmar när de förvaras laddade i Panther-systemet.
- H. Sondreagens och rekonstituerat sondreagens är fotosensitiva. 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 behandlingen med ThinPrep 2000-systemet, ThinPrep 3000-systemet, ThinPrep 5000 Processor eller ThinPrep 5000 Processor med Autoloader ska 1 ml av ThinPrep-vätskecytologiprov överföras till ett Aptima-provöverföringsrör enligt anvisningarna i bipacksedeln till Aptima-provöverföringssatsen.

#### *SurePath-vätskecytologiprover*

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

#### *Prover med Aptima provtagnings- och transportsats för cervixprover*

Ta provet enligt bruksanvisningen för CSCT-satsen.

### B. Transport och förvaring före assay

#### *ThinPrep-vätskecytologiprover*

1. Transportera ThinPrep-vätskecytologiprover vid 2 °C 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 °C 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 °C 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 till -70 °C eller kallare i upp till 24 månader.

#### *SurePath-vätskecytologiprover*

1. Transportera SurePath-vätskecytologiprover vid 2 °C till 25 °C.
2. Prover ska överföras till Aptima-provöverföringsrör inom 7 dagar efter provtagning.

3. Före överföringen ska SurePath-vätskecytologiprover förvaras vid 2 °C till 25 °C.
4. SurePath-vätskecytologiprover som överförts till ett Aptima-provöverföringsrör kan förvaras vid 2 till 25 °C i upp till 7 dagar.
5. Överförda SurePath-prover måste behandlas med Aptima-överföringslösning före analys med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Behandlade prover kan förvaras vid 2 °C till 8 °C i upp till 17 dagar före analys med Aptima 16 18/45 genotype assay. Se bipacksedeln i provöverföringssatsen för att få mer information.

*Prover med Aptima provtagnings- och transportsats för cervixprover*

1. Transportera och förvara prover vid 2 °C till 30 °C i upp till 60 dagar.
2. Om längre förvaring behövs kan transportsatsprover förvaras vid -20 °C till -70 °C eller kallare i upp till 24 månader.

C. Provförvaring efter assay

1. Prover som har assayerats 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 assay vid en annan inrättning, måste angivna temperaturer bibehållas. Innan locken tas av från tidigare analyserade prover och prover som försetts med nya lock, måste provrören centrifugeras i 5 minuter vid 420 relativ centrifugalkraft (Relative Centrifugal Force, RCF) för att pressa ned all vätska till rörets botten.

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

## Tigris DTS-system

### Tillhandahållna reagenser och material

**Anteckning:** Information om uttalanden om eventuella risker och försiktighetsåtgärder som kan förekomma i samband med reagenser finns i Safety Data Sheet Library (bibliotek med säkerhetsdatablad) på [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-sats**, 100 tester (3 lådor) art. nr 303234

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

#### Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i kylld låda (förvaras vid 2 °C till 8 °C efter mottagandet)

Symbol	Komponent	Antal
<b>A</b>	<b>HPV 16 18/45 amplifieringsreagens</b> <i>Icke smittförande nukleinsyror torkade i buffrad lösning innehållande &lt; 5 % bulkmedel.</i>	1 ampull
<b>E</b>	<b>HPV 16 18/45 enzymreagens</b> <i>Omvänt transkriptas och RNA-polymeras torkade i HEPES-buffrad lösning innehållande &lt; 10 % bulkmedelsreagens.</i>	1 ampull
<b>P</b>	<b>HPV 16 18/45 sondreagens</b> <i>Icke-smittförande kemiluminiscens-DNA-sonder (&lt; 500 ng/ampull) torkade i succinatbuffrad lösning innehållande &lt; 5 % rengöringsmedel.</i>	1 ampull
<b>IC</b>	<b>HPV 16 18/45 reagens för intern kontroll</b> <i>Icke-smittförande RNA-transkript i buffrad lösning innehållande &lt; 5 % rengöringsmedel.</i>	1 ampull

#### Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i rumstempererad låda (förvaras vid 15 °C till 30 °C efter mottagandet)

Symbol	Komponent	Antal
<b>AR</b>	<b>HPV 16 18/45 amplifieringsrekonstitutionslösning</b> <i>Vattenhaltig lösning innehållande konserveringsmedel.</i>	1 ampull
<b>ER</b>	<b>HPV 16 18/45 enzymrekonstitutionslösning</b> <i>HEPES-buffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne och glycerol.</i>	1 ampull
<b>PR</b>	<b>HPV 16 18/45 sondrekonstitutionslösning</b> <i>Succinatbuffrad lösning innehållande &lt; 5 % rengöringsmedel.</i>	1 ampull
<b>S</b>	<b>HPV 16 18/45 selektionsreagens</b> <i>600 mM boratbuffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne.</i>	1 ampull
<b>TCR</b>	<b>HPV 16 18/45 reagens för målsekvensinfångnings</b> <i>Icke-smittförande nukleinsyra i en buffrad lösning innehållande fast fas (&lt; 0,5 mg/ml).</i>	1 ampull
	<b>Rekonstitutionskragar</b>	3
	<b>Streckkodsblad för huvudsatsen</b>	1 blad



**Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i kalibratorlåda (art. nr 303235)**  
(förvaras vid 2 °C till 8 °C efter mottagandet)

Symbol	Komponent	Antal
PCAL1	<b>HPV 16 18/45 positiv kalibrator 1</b> <i>Icke-smittförande HPV 18 in vitro-transkription vid 750 kopior per ml i en buffrad lösning innehållande &lt; 5 % rengöringsmedel.</i>	5 ampuller
PCAL2	<b>HPV 16 18/45 positiv kalibrator 2</b> <i>Icke-smittförande HPV 16 in vitro-transkription vid 1 000 kopior per ml i en buffrad lösning innehållande &lt; 5 % rengöringsmedel.</i>	5 ampuller
NCAL	<b>HPV 16 18/45 negativ kalibrator</b> <i>Buffrad lösning som innehåller &lt; 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>Art. nr.</u>
Tigris DTS-system	105118
Körningssats för Tigris DTS-system	301191
<i>Multirörenheter (Multi-tube Units, MTU)</i>	<i>104772-02</i>
<i>MTU-tipletavfallspåse</i>	<i>900907</i>
<i>MTU-avfallsavbärare</i>	<i>900931</i>
<i>MTU-avfallslock</i>	<i>105523</i>
Aptima-assayvätskesats	302382
<i>(Aptima-tvättlösning, Aptima-buffert för inaktiveringsvätska och Aptima-oljereagens)</i>	
Aptima Auto Detect-sats	301048
Aptima System Fluid Preservative Kit (-sats med konserveringsmedel för systemvätska)	302380
Spetsar, 1 000 µl konduktiva, vätskeavkännande	10612513 (Tecan)
Aptima-provöverföringssats	301154C
Aptima-provtagnings- och transportsats för cervixprover	302657
Aptima genomträngliga lock	105668
Ogenomträngliga utbyteslock	103036
Reservlock till 100-testsatser:	
<i>Rekonstitutionslösningar till amplifieringsreagens och sondreagens</i>	<i>CL0041</i>
<i>Rekonstitutionslösning till enzymreagens</i>	<i>CL0041</i>
<i>TCR och selektionsreagens</i>	<i>501604</i>
Blekmedel (minst 5 % eller 0,7 M natriumhypokloritlösning)	—
Vatten till Tigris DTS-system	—
<i>Se Tigris DTS System Operator's Manual (användarhandledning till Tigris DTS-systemet) för specifikationer</i>	
Engångshandskar	—
Aptima-överföringslösningssats (endast för SurePath-prover)	303658

**Valfria material**

	<u>Art. nr.</u>
Blekmedelsförstärkare för rengöring	302101

## Assaymetod för Tigris DTS-system

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

### A. Förberedelse av arbetsyta

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

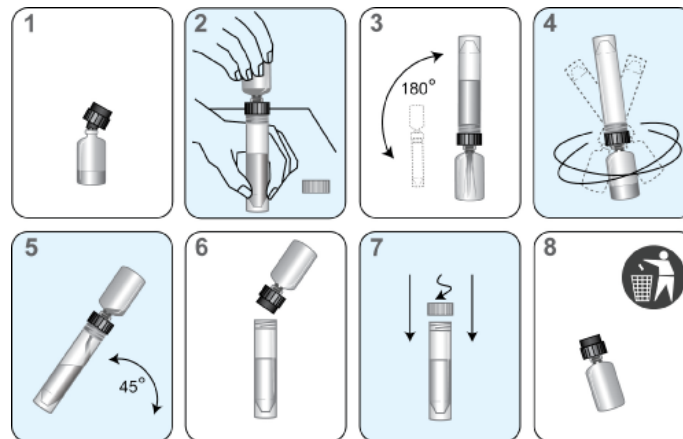
### B. Reagensförberedelse av en ny sats

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

1. För att rekonstituera amplifierings-, enzym- och sondreagenser, ska flaskorna 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.
  - b. Kontrollera batchnumren på huvudsatsens streckkodsblad så att korrekta reagenser paras ihop.
  - c. Öppna ampullen med det frystorkade reagenset och sätt in rekonstitutionskragens skårade ände ordentligt i ampullöppningen (Figure 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 (Figure 1, steg 2).
  - f. Invertera långsamt de hopmonterade flaskorna. Låt lösningen rinna ur flaskan ned i glasampullen (Figure 1, steg 3).
  - g. Rör försiktigt om lösningen i ampullen så att den blandas ordentligt. Undvik att skapa skum medan ampullen virvlas runt (Figure 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 skumning (Figure 1, steg 5). Låt all vätska rinna tillbaka i plastflaskan.
  - i. Avlägsna rekonstitutionskragen och ampullen (Figure 1, steg 6).
  - j. Sätt på locket igen på plastflaskan. Notera operatörens initialer och rekonstitutionsdatum på etiketten (Figure 1, steg 7).
  - k. Kassera rekonstitutionskragen och ampullen (Figure 1, steg 8).

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

**Anm.** *Blanda amplifierings-, enzym-, sond- och selektionsreagenser grundligt genom att försiktigt invertera dem innan de laddas i systemet. Undvik att skapa skum när reagenserna inverteras.*



**Figur 1. Rekonstitutionsförfarande för Tigris DTS-system**

2. Förbered arbetsmålsekvensinfångningsreagens (wTCR):
  - a. Para ihop de lämpliga flaskorna med TCR och IC.
  - b. Kontrollera reagensbatchnumren på huvudsatsens streckodsblad för att säkerställa att korrekta reagenser har parats ihop.
  - c. Öppna TCR-flaskan och lägg locket på en ren, täckt arbetsyta.
  - d. Öppna IC-flaskan och häll ut hela dess innehåll i flaskan 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. Notera 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 °C till 60 °C i upp till 90 minuter. Låt wTCR utjämnas till rumstemperatur innan det används. Får ej användas om utfällning kvarstår.
3. Bered selektionsreagens
  - 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 °C 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 °C 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 och prover) uppnå rumstemperatur före behandling.
2. **Vortexblanda inte prover.**
3. Kontrollera provrören innan de laddas i ställen. 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

Ställ in systemet och arbetslistan enligt instruktionerna i *Tigris DTS System Operator's Manual* (användarhandbok för Tigris DTS-systemet) och avsnittet *Metodanmärkingar* nedan.

## Metodanmärkingar

#### A. Kalibrаторer

1. Varje arbetslista måste innehålla 2 replikat av den negativa kalibrаторn och varje positiv kalibrатор. För att fungera ordentligt med programvara för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay måste den negativa kalibrаторn vara i den första provrörspositionen i det första stället i arbetslistan, positiv kalibrатор 1 måste vara i den andra provrörspositionen i det första stället i arbetslistan och positiv kalibrатор 2 måste vara i den tredje provrörspositionen i det första stället i arbetslistan.
2. Försök att pipettera mer än två replikat från ett kalibrаторrör kan leda till fel på grund av otillräcklig volym.
3. Kalibrаторerna ska användas med motsvarande huvudsats reagenser. Operatören måste kontrollera att korrekt sats med kalibrаторer används med motsvarande huvudsats av satsreagenser enligt vad som anges på huvudsatsens streckodsblad. Lämpligt satsnummer ska uppges vid beställning av fler kalibrаторer.

#### B. Temperatur

Rumstemperatur definieras som 15 °C till 30 °C.

#### C. Handskpuder

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

## Panther-systemet

### Tillhandahållna reagenser och material

**Anteckning:** Information om uttalanden om eventuella risker och försiktighetsåtgärder som kan förekomma i samband med reagenser finns i Safety Data Sheet Library (bibliotek med säkerhetsdatablad) på [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Aptima HPV 16 18/45 genotype assay**, 100 tester, (3 lådor) Art. nr 303236

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

**Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i kyld låda**  
(förvaras vid 2 °C till 8 °C efter mottagandet)

Symbol	Komponent	Antal
A	<b>HPV 16 18/45 amplifieringsreagens</b> <i>Icke smittförande nukleinsyror torkade i buffrad lösning innehållande &lt; 5 % bulkmedel.</i>	1 ampull
E	<b>HPV 16 18/45 enzymreagens</b> <i>Omvänt transkriptas och RNA-polymeras torkade i HEPES-buffrad lösning innehållande &lt; 10 % bulkreagens.</i>	1 ampull
P	<b>HPV 16 18/45 sondreagens</b> <i>Ej smittförande kemiluminiscens-DNA-prober (&lt; 500 ng/ampull) torkade i succinatbuffrad lösning innehållande &lt; 5 % rengöringsmedel.</i>	1 ampull
IC	<b>HPV 16 18/45 reagens för intern kontroll</b> <i>Icke-smittförande RNA-transkript i buffrad lösning innehållande &lt; 5 % rengöringsmedel.</i>	1 ampull

**Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i rumstempererad låda**  
(förvaras vid 15 °C till 30 °C efter mottagandet)

Symbol	Komponent	Antal
AR	<b>HPV 16 18/45 amplifieringsrekonstitutionslösning</b> <i>Vattenhaltig lösning innehållande konserveringsmedel.</i>	1 ampull
ER	<b>HPV 16 18/45 enzymrekonstitutionslösning</b> <i>HEPES-buffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne och glycerol.</i>	1 ampull
PR	<b>HPV 16 18/45 sondrekonstitutionslösning</b> <i>Succinatbuffrad lösning innehållande &lt; 5 % rengöringsmedel.</i>	1 ampull
S	<b>HPV 16 18/45 selektionsreagens</b> <i>600 mM boratbuffrad lösning innehållande ett ytaktivt ämne.</i>	1 ampull
TCR	<b>HPV 16 18/45 reagens för målsekvensinfångnings</b> <i>Icke-smittförande nukleinsyra i en buffrad lösning innehållande fast fas (&lt; 0,5 mg/ml).</i>	1 ampull
	<b>Rekonstitutionskragar</b>	3
	<b>Streckkodsblad för huvudsatsen</b>	1 blad

**Kalibratorlåda med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay (art. nr 303235)  
(förvaras vid 2 °C till 8 °C efter mottagandet)**

Symbol	Komponent	Antal
PCAL1	<b>HPV 16 18/45 positiv kalibrator 1</b> <i>Icke-smittförande HPV 18 in vitro-transkription vid 750 kopior per ml i en buffrad lösning innehållande &lt; 5 % rengöringsmedel.</i>	5 ampuller
PCAL2	<b>HPV 16 18/45 positiv kalibrator 2</b> <i>Icke-smittförande HPV 16 in vitro-transkription vid 1 000 kopior per ml i en buffrad lösning innehållande &lt; 5 % rengöringsmedel.</i>	5 ampuller
NCAL	<b>HPV 16 18/45 negativ kalibrator</b> <i>Buffrad lösning innehållande &lt; 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>Art. nr.</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>Multirörelheter (MTU)</i>	104772-02
<i>Sats med Panther-avfallspåsar</i>	902731
<i>Lock till Panther-avfallsbehållare</i>	902714
Spetsar, 1 000 µl konduktiva, vätskeavkännande	10612513 (Tecan)
Aptima-provöverföringssats	301154C
Aptima-provtagnings- och transportsats för cervixprover	302657
Aptima genomträngliga lock	105668
Ogenomträngliga utbyteslock	103036A
Reservlock till 100-testsatser:	
<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-överföringslösningssats (endast för SurePath-prover)	303658

**Valfria material**

	<u>Art. nr.</u>
Blekmedelsförstärkare för rengöring	302101

## Assaymetod 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 M 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.

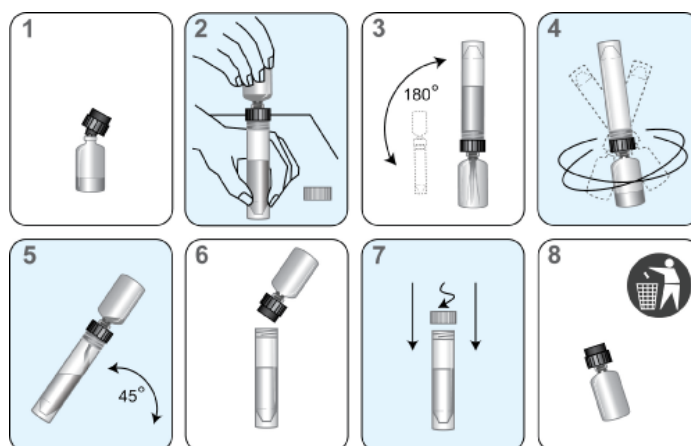
### B. Reagensförberedelse av en ny sats

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

1. För att rekonstituera amplifierings-, enzym- och sondreagenser, ska flaskorna 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 rekonstitutionslösningen och reagenset har matchande etikettfärger innan rekonstitutionskragen fästs.
  - b. Kontrollera batchnumren 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 (Figure 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 (Figure 2, steg 2).
  - f. Invertera långsamt de hopmonterade flaskorna. Låt lösningen rinna ur flaskan ned i glasampullen (Figure 2, steg 3).
  - g. Rör försiktigt om lösningen i flaskan för att blanda ordentligt. Undvik skumbildning när flaskan snurras (Figure 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 skumning (Figure 2, steg 5). Låt all vätska rinna tillbaka i plastflaskan.
  - i. Avlägsna rekonstitutionskragen och glasampullen (Figure 2, steg 6).
  - j. Sätt på locket igen på plastflaskan. Notera operatörens initialer och rekonstitutionsdatum på etiketten (Figure 2, steg 7).
  - k. Kassera rekonstitutionskragen och ampullen (Figure 2, steg 8).

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

**Anm.** *Blanda amplifierings-, enzym-, sond- och selektionsreagenser grundligt genom att försiktigt invertera dem innan de laddas i systemet. Undvik att skapa skum när reagenserna inverteras.*



Figur 2. Rekonstitutionsförfarande för Panther-system

2. Förbered arbetsmålsekvensinfångningsreagens (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 flaskan 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. Notera 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 °C 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 °C 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 °C 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 avvisar flaskor som är toppfyllda.

#### D. Provhantering

1. Låt proverna (kalibrаторer, prover och eventuella externa kvalitetskontrollprover som användaren lagt till) uppnå rumstemperatur innan de körs.
2. **Vortexblanda inte prover.**
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

Ställ i ordning systemet enligt anvisningarna i *Panther System Operator's Manual* (användarhandledning för Panther-systemet) och i avsnittet *Metodanmärkingar* nedan. Kontrollera att reagensställ och TCR-adaptrar av lämplig storlek används.

## Metodanmärkingar

### A. Kalibrаторer

1. För att fungera ordentligt med programvara för Aptima 16 18/45 genotype assay i Panther-systemet krävs två replikat av den negativa kalibrаторen och varje positiv kalibrатор. En ampull med varje kalibrатор kan laddas i valfri ställposition i valfritt provfack i Panther-systemet. Provpipettering inleds när ett av följande två villkor är uppfyllt:
  - a. Positiva och negativa kalibrаторer behandlas för närvarande av Panther-systemet.
  - b. Giltiga resultat för kalibrаторerna är registrerade i Panther-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. Kalibrаторerna är ogiltiga.
  - b. Den tillhörande assayreagenssatsen har avlägsnats från Panther-systemet.
  - c. Den tillhörande assayreagenssatsen har passerat stabilitetsgränserna.
3. Försök att pipettera mer än två replikat från ett kalibrаторrör kan leda till fel på grund av otillräcklig volym.

### B. Temperatur

Rumstemperatur definieras som 15 °C 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 körningens giltighet. Programmet ogiltigförklarar en assayomgång om något av följande villkor uppkommer:

- Fler än ett ogiltigt replikat av negativ kalibrator.
- Fler än ett ogiltigt replikat av positiv kalibrator 1.
- Fler än ett ogiltigt replikat av positiv kalibrator 2.
- Fler än 1 av 6 ogiltiga kalibratorreplikater i kombination.

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

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

### B. Acceptanskriterier för kalibrator

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

	<b>Tigris DTS-system</b>	<b>Panther-systemet</b>
<b>Negativ kalibrator</b>		
18/45 RLU	$\geq 0$ och $\leq 60\ 000$ RLU	$\geq 0$ och $\leq 60\ 000$ RLU
IC/16 RLU	$\geq 75\ 000$ och $\leq 300\ 000$ RLU	$\geq 75\ 000$ och $\leq 300\ 000$ RLU
<b>Positiv kalibrator 1</b>		
18/45 RLU	$\geq 850\ 000$ och $\leq 2\ 200\ 000$ RLU	$\geq 800\ 000$ och $\leq 2\ 200\ 000$ RLU
IC/16 RLU	$\leq 475\ 000$ RLU	$\leq 475\ 000$ RLU
<b>Positiv kalibrator 2</b>		
18/45 RLU	$\leq 115\ 000$ RLU	$\leq 115\ 000$ RLU
IC/16 RLU	$\geq 625\ 000$ och $\leq 4\ 000\ 000$ RLU	$\geq 625\ 000$ och $\leq 4\ 000\ 000$ RLU

### C. IC-cutoff

IC-cutoff fastställs baserat på IC/16-analysignalen från de giltiga negativa kalibratorreplikaten.

$$\text{IC-cutoff} = 0,5 \times [\text{medel-IC/16 RLU av de giltiga negativa kalibratorreplikaten}]$$

### D. Analyt 16-cutoff

Analyt-cutoff för HPV 16 fastställs från IC/16 RLU-signalen från de giltiga negativa kalibratorreplikaten och de giltiga positiva kalibrator 2-replikaten.

$$\text{Analyt 16-cutoff} = 2 \times [\text{medel-IC/16 RLU av de giltiga negativa kalibratorreplikaten}] + 0,1 \times [\text{medel-IC/16 RLU av de giltiga positiva kalibrator 2-replikaten}]$$

### E. Analyt 18/45-cutoff

Analyt-cutoff för HPV 18/45 fastställs från 18/45 RLU-signalen från de giltiga negativa kalibratorreplikaten och de giltiga positiva kalibrator 1-replikaten.

$$\text{Analyt 18/45-cutoff} = 1 \times [\text{medel-18/45 RLU av de giltiga negativa kalibratorreplikaten}] + 0,18 \times [\text{medel-18/45 RLU av de giltiga positiva kalibrator 1-replikaten}]$$

## Analystolkning

Analysresultaten fastställs automatiskt av assayprogrammet. Ett assayresultat kan vara negativt för både HPV 16 och HPV 18/45, negativt för HPV 16 och positivt för HPV 18/45, positivt för HPV 16 och negativt för HPV 18/45, positivt för både HPV 16 och HPV 18/45 eller ogiltigt, vilket fastställs av IC RLU- och S/CO-kvoterna enligt beskrivningen i nedanstående tabell. Ett assayresultat kan också vara ogiltigt på grund av att andra parametrar (t.ex. onormal kurvform) ligger utanför normala förväntade intervall. Ogiltiga assayresultat ska upprepas.

Prover från 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. Assayera det utspädda provet enligt standardassayförfarandet.

**Anm.** Späd inte ett ogiltigt utspätt prov. Om ett utspätt prov ger ett ogiltigt resultat, ska ett nytt prov tas på patienten.

Resultat av Aptima HPV 16/18/45 genotype assay	Kriterier
<b>Negativt - 16 Negativt - 18/45</b>	<i>IC/HPV 16 RLU <math>\geq</math> IC-cutoff och HPV 16 S/CO <math>&lt;</math> 1,00 och HPV 18/45 S/CO <math>&lt;</math> 1,00</i>
<b>Negativt - 16 Positivt - 18/45</b>	<i>HPV 16 S/CO <math>&lt;</math> 1,00 och HPV 18/45 S/CO <math>\geq</math> 1,00 och HPV 18/45 RLU <math>\leq</math> 3 000 000</i>
<b>Positivt - 16 Negativt - 18/45</b>	<i>HPV 16 S/CO <math>\geq</math> 1,00 och IC/HPV 16 RLU <math>\leq</math> 4 000 000 och HPV 18/45 S/CO <math>&lt;</math> 1,00</i>
<b>Positivt - 16 Positivt - 18/45</b>	<i>HPV 16 S/CO <math>\geq</math> 1,00 och IC/HPV 16 RLU <math>\leq</math> 4 000 000 och HPV 18/45 S/CO <math>\geq</math> 1,00 och HPV 18/45 RLU <math>\leq</math> 3 000 000</i>
<b>Ogiltigt</b>	<i>HPV 16 S/CO <math>&lt;</math> 1,00 och HPV 18/45 S/CO <math>&lt;</math> 1,00 och IC/HPV 16 RLU <math>&lt;</math> IC-cutoff  eller IC/HPV 16 RLU <math>&gt;</math> 4 000 000  eller HPV 18/45 RLU <math>&gt;</math> 3 000 000</i>

## Begränsningar

- A. Andra provtyper än de som anges i den avsedda användningen har inte utvärderats.
- B. Prestanda för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay har inte utvärderats för HPV-vaccinerade individer.
- C. Aptima HPV 16 18/45 genotype 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 assay 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 vara inadekvata för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay.
- F. Assayresultaten kan påverkas av olämplig provtagning, förvaring eller provbehandling.
- G. Den interna kontrollen övervakar målsekvensinfångnings-, amplifierings- och detektionsstegen i assayen. Den är inte avsedd att kontrollera cervixprovets lämplighet.
- H. Ett negativt resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay utesluter inte risken för cytologiska avvikelser eller för framtida eller underliggande CIN2, CIN3 eller cancer.
- I. Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ger kvalitativa resultat. Styrkan hos en positiv assaysignal kan därför inte korreleras till uttrycksnivån för mRNA i ett prov.
- J. Detektering av hög-risk HPV (typ 16, 18 och 45) mRNA är beroende av antalet kopior som finns i provet och kan påverkas av provtagningsmetoder, patientfaktorer, infektionsskede och förekomst av störande ämnen.
- K. 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.
- L. Följande kan störa assayens prestanda vid förekomst i högre koncentrationer än de specificerade: vaginala smörjmedel (innehållande polykvaternium 15) med 1 % v/v, svampdödande kräm (innehållande tiokonazol) med 0,03 % v/v, mukos med 0,3 % v/v, intravaginala hormoner (innehållande progesteron) med 1 % v/v, trichomonas vaginalis med  $3 \times 10^4$  celler/ml.
- M. Höga koncentrationer av HPV 45 kan reducera förmågan hos Aptima HPV 16 18/45 genotype assay att detektera förekomsten av HPV 16 vid låga nivåer.
- N. Effekten av andra potentiella variabler såsom vaginala flytningar, användning av tamponger m.m. och provtagningsvariabler har inte utvärderats.
- O. Användningen av denna anordning kan vara begränsad till personer som fått utbildning i användningen av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay.
- P. Korskontamination av prover kan orsaka falskt positiva resultat. Överföringsfrekvensen för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Tigris DTS-systemet och Panther-systemet var 0,35 % respektive 0,19 % fastställt vid icke-kliniska studier.
- Q. Aptima HPV 16 18/45 genotype assay ska tolkas tillsammans med andra laboratedata och kliniska data som klinikern har tillgång till.

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

Prevalensen av högrisk HPV-infektion varierar mycket och påverkas av flera faktorer, av vilka ålder är den främsta.<sup>19,20</sup> Många studier har 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 kallades CLEAR-prövningen för att utvärdera Aptima HPV-assayen som detekterar 14 högrisk-HPV-typer.<sup>21</sup> Prover från kvinnorna i CLEAR-prövningen med positiva resultat med Aptima HPV-assayen utvärderades med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i en separat klinisk studie. Prevalensen av HPV 16, 18, och 45, samt de övriga 11 högrisk-HPV-typer som observerades i den kliniska studien baserat på resultaten av tester med Aptima HPV-assayen och Aptima HPV 16 18/45 genotype assay kategoriserades övergripande, efter åldersgrupp samt efter testinrättning. Resultaten framgår av Tabell 1 för populationerna med atypiska skvamösa celler av obestämd signifikans (ASC-US) och de som var negativa för intraepitelial lesion eller malignitet (NILM).

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

	Positivitetsfrekvens % (x/n)							
	ASC-US-population (≥ 21 år)				NILM-population (≥ 30 år)			
	HPV 16-pos	HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	11 andra HR*-pos	HPV 16-pos	HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	11 andra HR*-pos
<b>Alla</b>	7,8 (71/912)	5,2 (47/912)	0,3 (3/912)	25,5 (233/912)	0,4 (47/10 846)	0,4 (47/10 846)	0 (0/10 846)	3,9 (421/10 846)
<b>Åldersgrupp (år)</b>								
<b>21 till 29</b>	13,2 (51/386)	4,9 (19/386)	0,5 (2/386)	38,3 (148/386)	N/A	N/A	N/A	N/A
<b>30 till 39</b>	5,4 (14/257)	7,0 (18/257)	0,4 (1/257)	21,8 (56/257)	0,7 (30/4 188)	0,6 (27/4 188)	0 (0/4 188)	5,3 (221/4 188)
<b>≥ 40</b>	2,2 (6/269)	3,7 (10/269)	0 (0/269)	10,8 (29/269)	0,3 (17/6 658)	0,3 (20/6 658)	0 (0/6 658)	3,0 (200/6 658)
<b>Testinrättning</b>								
<b>1</b>	9,0 (27/301)	4,3 (13/301)	0,7 (2/301)	24,9 (75/301)	0,4 (13/3 666)	0,5 (18/3 666)	0 (0/3 666)	3,8 (141/3 666)
<b>2</b>	7,4 (23/310)	6,1 (19/310)	0 (0/310)	26,5 (82/310)	0,5 (18/3 671)	0,5 (17/3 671)	0 (0/3 671)	3,7 (136/3 671)
<b>3</b>	7,0 (21/301)	5,0 (15/301)	0,3 (1/301)	25,2 (76/301)	0,5 (16/3 509)	0,3 (12/3 509)	0 (0/3 509)	4,1 (144/3 509)

N/A = Ej tillämpligt, HR = högrisk, pos = positiv

\* HPV-typ 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 och 68

## Assayprestanda för Tigris DTS-system

### Klinisk studiedesign med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay med ThinPrep-vätskecytologiprover

Aptima HPV 16 18/45 genotype assay utvärderades med användning av referens-smearprover som samlats in från kvinnor som lämnat sitt samtycke till detta under den prospektiva kliniska multicenterstudien i USA som kallas CLEAR-prövningen. CLEAR-prövningen utfördes för att fastställa klinisk prestanda för Aptima HPV-assay, för detektering av cervikal intraepitelial neoplasia grad 2 eller mer allvarlig cervixsjukdom ( $\geq$  CIN2). Kvinnor rekryterades till antingen ASC-US-studien eller NILM-studien, baserat på deras ThinPrep-vätskebaserade cytologiska referensresultat från rutinemässig screening av cervixcancer. Populationen i ASC-US-studien inkluderade kvinnor från 21 år och äldre med ASC-US-cytologiresultat och populationen i NILM-studien inkluderade kvinnor från 30 år och äldre med NILM-cytologiresultat.

Kvinnor från 18 kliniska inrättningar, främst obstetrik-/gynekologikliniker som omfattar en bred geografisk spridning och varierande population, analyserades. Under CLEAR-prövningen testades resterande referens-smearprover med både Aptima HPV-assay och ett kommersiellt tillgängligt HPV DNA-test. För den kliniska prövningen av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay testades prover från resterande smear-referensprover med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay

Samtliga kvinnor i ASC-US-studien remitterades till kolposkopi, oavsett deras testresultat med Aptima HPV-assay och det kommersiellt tillgängliga HPV DNA-testet. En biopsi från endocervikal kyretage (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-assay, samt slumpmässigt valda kvinnor vars båda assayer var negativa, till kolposkopi för baslinjeutvärdering. En ECC-biopsi togs från varje kvinna som genomgick kolposkopi. Stansbiopsier togs endast från synliga lesioner (riktad metod, 1 biopsi per lesion). Uppföljning av kvinnor i NILM-studien som inte hade  $\geq$  CIN2 vid baslinjen pågår i 3 år med årliga cytologibesök. Kvinnor med ASC-US eller mer allvarliga cytologiresultat under uppföljningsperioden remitteras för kolposkopi med samma biopsiförfarande som utförs för baslinjeutvärderingen.

Sjukdomsstatus fastställdes från en granskningspanel för överensstämmande histologi, baserat på överensstämmelse mellan minst 2 expertpatologer. Kvinnans HPV- och cytologistatus samt varandras histologidiagnoser var dolda för expertpatologerna. Aptima HPV-assayresultaten och testresultaten från det kommersiellt tillgängliga HPV DNA-testet doldes för prövare, kliniker och kvinnor tills kolposkopibesöket var genomfört, för att undvika bias.

För att validera den avsedda användningen av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay som ett reflextest från ett positivt resultat med Aptima HPV-assay var samtliga resterande smear-referensprover från samtliga bedömningsbara kvinnor i ASC-US-studien och NILM-studien med ett positivt resultat med Aptima HPV valbara för testning med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Klinisk prestanda för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay utvärderades för detektering av  $\geq$  CIN2 och cervikal intraepitelial neoplasia grad 3 eller mer allvarlig cervixsjukdom ( $\geq$  CIN3).

## ASC-US-population ≥ 21 år: Klinisk prestanda för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay med ThinPrep-vätskecytologiprover

Sammanlagt fanns det 400 bedömningsbara kvinnor, 21 år eller äldre, med cytologiska resultat och positiva resultat med Aptima HPV-assay i ASC-US vars smear-referensprover var lämpliga för testning med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Av dessa hade 46 kvinnor inga tillgängliga smear-referensprover för testning, och 6 hade obestämda sjukdomsdiagnoser. Samtliga dessa utslöts från analysen. Resterande 348 bedömningsbara kvinnor med fastställd sjukdomsstatus hade giltiga resultat med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay baserat på reflextestning av ett positivt resultat med Aptima HPV-assay. Sextiosju (67) kvinnor hade ≥ CIN2 och 29 hade ≥ CIN3.

Av de 348 bedömningsbara kvinnorna med positiva resultat med Aptima HPV-assay hade 117 kvinnor positiva resultat med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay som tydde på närvaro av HPV 16 och/eller HPV 18/45; 231 hade negativa resultat, vilket tydde på närvaro av en eller flera av de övriga 11 högrisk-HPV-typerna som detekterades av Aptima HPV-assay (dvs. HPV-typerna 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 och 68). Ytterligare 545 bedömningsbara kvinnor, 21 år eller äldre, med cytologiska resultat från ASC-US hade negativa resultat med Aptima HPV-assayen under CLEAR-prövningen. Ett negativt resultat med Aptima HPV-assay tydde på att ingen av de 14 högrisk-HPV-typerna var närvarande och betecknades som negativt med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay för assayens syften. Prevalens av ≥ CIN2 och ≥ CIN3 hos bedömningsbara kvinnor med ASC-US-cytologieresultat var 8,8 % respektive 3,7 %. Resultaten av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay efter resultat med Aptima HPV-assay och diagnoser från granskningspanelen för överensstämmande histologi presenteras i Tabell 2.

**Tabell 2:** ASC-US-population ≥ 21 år: Resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV assay efter diagnoser från granskningspanelen för överensstämmande histologi

Aptima HPV assayresultat	Resultat med AHPV-GT-assay*	Tolkning	Diagnoser från granskningspanel för överensstämmande histologi						
			Obestämd**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Totalt
Positivt	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	HPV 16-pos	1	27	18	11	14	0	71
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	HPV 18/45-pos	3	23	14	3	3	1	47
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	2	125	73	23	10	0	233
Totalt			6	176	105	38	28	1	354
Negativa	HPV 16/18/45-neg***	HR HPV-neg	13	458	75	8	4	0	558
Totalt			19	634	180	46	32	1****	912

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

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

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

\*\*\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

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

Den absoluta sjukdomsrisk (≥ CIN2 och ≥ CIN3) enligt resultaten av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay visas i Tabell 3. Risken för ≥ CIN2 hos kvinnor med närvaro av HPV-typ 16, 18 och/eller 45 var 29,1 % jämfört med 14,3 % hos kvinnor med närvaro av en eller flera av de övriga 11 högrisk-HPV-typerna och 2,2 % hos kvinnor utan närvaro av några högrisk-HPV-typer. De absoluta riskerna visas efter åldersgrupp i Tabell 4.

**Tabell 3:** ASC-US-population ≥ 21 år: Absoluta risker för ≥ CIN2 och ≥ CIN3 för resultat med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay

Aptima HPV assayresultat	Resultat med AHPV-GT-assay	Tolkning	≥ CIN2	≥ CIN3
			Absolut risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)
Positivt	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	29,1 (34/117) (22,4, 36,0)	16,2 (19/117) (11,4, 21,1)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	35,7 (25/70) (26,1, 45,9)	20,0 (14/70) (12,6, 28,0)
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	15,9 (7/44) (7,2, 28,3)	9,1 (4/44) (2,9, 19,5)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	14,3 (33/231) (10,9, 17,9)	4,3 (10/231) (2,4, 6,8)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	19,3 (67/348) (17,1, 21,3)	8,3 (29/348) (6,9, 9,4)
Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)	0,7 (4/545) (0,2, 1,6)
Prevalens			8,8 % (79/893)	3,7 % (33/893)

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

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.



**Tabell 4:** ASC-US-population  $\geq 21$  år: Absoluta risker för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 för resultat av Aptima HPV 16/18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay efter åldersgrupp

	Aptima HPV assayresultat	Resultat med AHPV-GT-assay	Tolkning	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Absolut risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)
21 till 29 år	Positivt	HPV 16-pos och/ eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	26,8 (19/71) (18,3, 35,7)	15,5 (11/71) (9,3, 21,8)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	28,0 (14/50) (17,5, 39,6)	18,0 (9/50) (9,9, 26,9)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	15,8 (3/19) (3,7, 36,3)	5,3 (1/19) (0,2, 22,5)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	17,0 (25/147) (12,6, 21,5)	5,4 (8/147) (2,8, 8,5)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	20,2 (44/218) (17,6, 22,5)	8,7 (19/218) (7,1, 9,8)
	Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	3,6 (6/165) (1,5, 6,9)	0,6 (1/165) (0,0, 2,7)
Prevalens				13,1 % (50/383)	5,2 % (20/383)
30 till 39 år	Positivt	HPV 16-pos och/ eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	32,3 (10/31) (19,0, 45,9)	16,1 (5/31) (7,0, 25,4)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	18,8 (3/16) (3,0, 40,6)	12,5 (2/16) (1,3, 30,8)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	12,7 (7/55) (6,2, 20,5)	3,6 (2/55) (0,6, 9,1)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	19,8 (17/86) (15,1, 23,9)	8,1 (7/86) (4,7, 10,3)
	Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)	0,6 (1/167) (0,0, 2,3)
Prevalens				7,5 % (19/253)	3,2 % (8/253)
$\geq 40$ år	Positivt	HPV 16-pos och/ eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	66,7 (4/6) (27,1, 93,5)	33,3 (2/6) (6,2, 69,2)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	11,1 (1/9) (0,5, 39,7)	11,1 (1/9) (0,5, 37,1)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	3,4 (1/29) (0,1, 14,0)	0 (0/29) (0,0, 8,2)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	13,6 (6/44) (6,5, 20,6)	6,8 (3/44) (1,8, 11,4)
	Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)
Prevalens				3,9 % (10/257)	1,9 % (5/257)

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

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

Den relativa sjukdomsrisk för positiva kontra negativa resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay visas i Tabell 5. Kvinnor med närvaro av HPV-typ 16, 18 och/eller 45 hade 13,2 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN2 och 22,1 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN3 än kvinnor utan närvaro av några högrisk-HPV-typer. Kvinnor med närvaro av HPV-typ 16, 18 och/eller 45 hade 2,0 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN2 och 3,8 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN3 än kvinnor utan närvaro av några av de 11 övriga högrisk-HPV-typerna.

**Tabell 5:** ASC-US-population  $\geq$  21 år: Relativa risker för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay

Tolkning av Aptima-assayresultat*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relativ risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
HPV 16- och/eller 18/45-positiv kontra HR HPV-negativ	13,2 (7,0, 24,7)	22,1 (7,7, 63,8)
HPV 16- och/eller 18/45-positiv kontra övriga HR HPV-positiv	2,0 (1,3, 3,1)	3,8 (1,8, 7,8)
Övriga HR HPV-positiv kontra HR HPV-negativ	6,5 (3,4, 12,3)	5,9 (1,9, 18,6)
HR HPV-positiv kontra HR HPV-negativ	8,7 (4,8, 15,9)	11,4 (4,0, 32,0)
Prevalens	8,8 % (79/893)	3,7 % (33/893)

KI = konfidensintervall, HR = högrisk

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

Sannolikhetskquoterna ( $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3) efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay visas i Tabell 6. HPV-typerna 16, 18 och/eller 45 hade 4,2 gånger högre sannolikhet att vara närvarande i en kvinna med  $\geq$  CIN2 och 5,1 gånger högre sannolikhet att vara närvarande i en kvinna med  $\geq$  CIN3.

**Tabell 6:** ASC-US-population  $\geq$  21 år: Sannolikhetskquoter för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay

Tolkning av Aptima-assayresultat*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Sannolikhetskquot (95 % KI)	Sannolikhetskquot (95 % KI)
HPV 16- och/eller 18/45-positiv	4,2 (3,0, 5,8)	5,1 (3,4, 6,9)
Övriga HR HPV-positiv	1,7 (1,3, 2,3)	1,2 (0,6, 1,9)
HR HPV-negativ	0,2 (0,1, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

KI = konfidensintervall, HR = högrisk

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

## NILM-population ≥ 30 år: Klinisk prestanda för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay med ThinPrep-vätskecytologiprover

Sammanlagt fanns det 540 bedömningsbara kvinnor 30 år och äldre med NILM-cytologiresultat och positiva resultat av Aptima HPV-assay vars smear-referensprover var bedömningsbara för test med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Av dessa hade 25 kvinnor inte några smear-referensprover för testning, samtliga dessa uteslöts från analysen. Resterande 515 bedömningsbara kvinnor hade giltiga resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Av dessa genomgick 317 kolposkopi. Femton (15) kvinnor hade ≥ CIN2 och tio (10) hade ≥ CIN3, 283 kvinnor hade normal/CIN1-histologi, 19 kvinnor hade obestämd sjukdomsstatus.

Av de 298 bedömningsbara kvinnorna med fastställd sjukdomsstatus och positiva resultat av Aptima HPV-assayen hade 61 positiva resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay som tydde på närvaro av HPV 16 och/eller HPV 18/45, 237 hade negativa resultat som tydde på närvaro av en eller flera av de övriga 11 högrisk-HPV-typerna. Ytterligare 505 bedömningsbara kvinnor, 30 år eller äldre, med NILM-cytologiresultat och fastställd sjukdomsstatus hade negativa resultat av Aptima HPV-assayen under CLEAR-prövningen. Ett negativt resultat av Aptima HPV-assayen tyder på att ingen av de 14 högrisk-HPV-typerna är närvarande och betecknades som negativa med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay för analysens syften. Resultaten av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay efter resultat med Aptima HPV-assay och diagnoser från granskningspanelen för överensstämmande histologi presenteras i Tabell 7.

**Tabell 7:** NILM-population ≥ 30 år: Resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV assay efter diagnoser från granskningspanelen för överensstämmande histologi

Aptima HPV assayresultat	Resultat med AHPV-GT-assay*	Tolkning	Diagnoser från granskningspanel för överensstämmande histologi						
			Obestämd**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Totalt
Positivt	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	HPV 16-pos	2	27	0	0	3	1	33
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	HPV 18/45-pos	1	26	1	1	0	2	31
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	0	0	0	0	0	0	0
	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	16	218	11	4	4	0	253
Totalt			19	271	12	5	7	3	317
Negativa	HPV 16/18/45-neg***	HR HPV-neg	25	483	17	4	1	0	530
Totalt			44	754	29	9	8	3****	847

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

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

\*\*44 kvinnor genomgick kolposkopibesöket, men diagnos kunde inte ställas av följande skäl: konsensus kunde inte nås på grund av inadekvata prover (n=28), inga biopsier togs på grund av underliggande faktorer (n=13), inga biopsier togs eller granskades på grund av fel (n=3).

\*\*\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

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

Av de 515 kvinnorna med positiva resultat av Aptima HPV-assayen och Aptima HPV 16/18/45 genotype assay hade 217 kvinnor obekräftad (inklusive obestämd) sjukdomsstatus (Tabell 8). Av de 10 331 kvinnorna med negativa resultat av Aptima HPV-assayen från den ursprungliga CLEAR-prövningen hade 9 826 obekräftad sjukdomsstatus. Eftersom endast slumpmässigt valda kvinnor med negativa resultat för både Aptima HPV-assay och på marknaden förekommande HPV-DNA-assay remitterades för kolposkopi var andelen kvinnor med verifierad sjukdomsstatus hög 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 verifieringsbias-justerade prestandauppskattningar och ojusterade prestandauppskattningar baserat på de 803 kvinnor med bekräftad sjukdomsstatus presenteras.

**Tabell 8:** NILM-population  $\geq 30$  år: Klassificering av bedömningsbara NILM-kvinnor efter testresultat med Aptima HPV-assay, Aptima HPV 16/18/45 genotype assay, HPV DNA-testresultat, sjukdomsstatus ( $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3), samt sjukdomsverifieringsstatus

Aptima HPV assay-resultat*	Resultat med AHPV-GT-assay*	HPV-DNA-assay	Kvinnor, totalt	Bekräftad sjukdomsstatus: $\geq$ CIN2		Bekräftad sjukdomsstatus: $\geq$ CIN3		Obe kräftad sjukdomsstatus
				Kvinnor med sjukdom ( $\geq$ CIN2)	Kvinnor utan sjukdom ( $\geq$ CIN2)	Kvinnor med sjukdom ( $\geq$ CIN3)	Kvinnor utan sjukdom ( $\geq$ CIN3)	Kvinnor med okänd sjukdomsstatus (% okänd)
Positivt	Positivt	Positivt	83	6	48	5	49	29 (34,9 %)
	Positivt	Negativa	9	1	5	1	5	3 (33,3 %)
	Positivt	Inga resultat**	2	0	1	0	1	1 (50,0 %)
	Negativa	Positivt	271	7	171	4	174	93 (34,3 %)
	Negativa	Negativa	137	1	52	0	53	84 (61,3 %)
	Negativa	Inga resultat**	13	0	6	0	6	7 (53,8 %)
Totalt			515	15	283	10	288	217 (42,1 %)
Negativa	N/A***	Positivt	306	3	178	1	180	125 (40,8 %)
	N/A***	Negativa	9 420	1	322	0	323	9 097 (96,6 %)
	N/A***	Inga resultat**	605	1	0	0	1	604 (99,8 %)
Totalt			10 846	20	783	11	792	10 043 (92,6 %)

AHPV-GT = Aptima HPV 16/18/45 genotype assay, N/A = Ej tillämpligt

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

\*\*620 kvinnor med Aptima HPV-assayresultat hade inte HPV-DNA-assayresultat, främst på grund av otillräcklig volym på cytologiprovet.

\*\*\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16/18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

De justerade absoluta riskerna för sjukdom ( $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3) efter resultat av Aptima HPV 16/18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay visas i Tabell 9a. Risken för  $\geq$  CIN2 hos kvinnor med närvaro av HPV-typ 16, 18 och/eller 45 var 12,6 % jämfört med 3,4 % hos kvinnor med närvaro av en eller flera av de övriga 11 högrisk-HPV-typerna och 0,6 % hos kvinnor utan närvaro av högrisk-HPV-typer. De ojusterade absoluta riskerna för sjukdom visas övergripande i Tabell 9b och efter åldersgrupp i Tabell 10.

**Tabell 9a:** NILM-population  $\geq 30$  år: Absoluta risker för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16/18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay (uppskattningar justerade för verifieringsbias)

Aptima HPV assayresultat	Resultat med AHPV-GT-assay	Tolkning	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolut risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)
Positivt	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	12,6 (3,7, 21,4)	9,5 (2,1, 16,8)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	14,5 (2,1, 26,9)	12,1 (0,7, 23,4)
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	10,7 (0,0, 22,5)	6,9 (0,0, 16,2)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	N/A	N/A
	HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	3,4 (1,2, 5,6)	1,8 (0,1, 3,5)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	5,0 (2,6, 7,5)	3,2 (1,3, 5,2)
Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	0,6 (0,1, 1,2)	0,4 (0,0, 0,7)
Prevalens			0,9 %	0,5 %

AHPV-GT = Aptima HPV 16/18/45 genotype assay, HR = högrisk, pos = positiv, neg = negativ, N/A = Ej tillämpligt

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16/18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

**Tabell 9b:** NILM-population  $\geq 30$  år: Absoluta risker för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16/18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay (ojusterade uppskattningar)

Aptima HPV assayresultat	Resultat med AHPV-GT-assay	Tolkning	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolut risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)
Positivt	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	11,5 (7/61) (5,4, 18,9)	9,8 (6/61) (4,6, 15,2)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	12,9 (4/31) (4,0, 26,0)	12,9 (4/31) (4,3, 23,8)
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	10,0 (3/30) (2,4, 23,0)	6,7 (2/30) (0,8, 17,7)
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	N/A (0/0)	N/A (0/0)
	HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	3,4 (8/237) (1,7, 5,3)	1,7 (4/237) (0,6, 3,2)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	5,0 (15/298) (3,6, 6,2)	3,4 (10/298) (2,3, 3,9)
Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)
Prevalens			2,5 % (20/803)	1,4 % (11/803)

AHPV-GT = Aptima HPV 16/18/45 genotype assay, HR = högrisk, pos = positiv, neg = negativ, N/A = Ej tillämpligt

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16/18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

**Tabell 10:** NILM-population  $\geq 30$  år: Absoluta risker för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay efter åldersgrupp (ojusterade uppskattningar)

	Aptima HPV assayresultat	Resultat med AHPV-GT-assay	Tolkning	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Absolut risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)
30 till 39 år	Positivt	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	8,8 (3/34) (2,2, 17,8)	5,9 (2/34) (1,0, 13,3)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	0,0 (0/17) (0,0, 15,5)	0,0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	17,6 (3/17) (3,2, 35,4)	11,8 (2/17) (1,3, 27,0)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	N/A (0/0)	N/A (0/0)
		HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	4,0 (5/124) (1,7, 6,2)	2,4 (3/124) (0,7, 4,2)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	5,1 (8/158) (3,2, 6,1)	3,2 (5/158) (1,5, 4,0)
	Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	0,5 (1/217) (0,0, 1,9)	0,5 (1/217) (0,0, 1,7)
Prevalens				2,4 % (9/375)	1,6 % (6/375)
$\geq 40$ år	Positivt	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	14,8 (4/27) (4,7, 27,3)	14,8 (4/27) (5,1, 22,8)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	28,6 (4/14) (6,3, 50,7)	28,6 (4/14) (6,4, 46,5)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	0,0 (0/13) (0,0, 20,1)	0,0 (0/13) (0,0, 17,1)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	N/A (0/0)	N/A (0/0)
		HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	2,7 (3/113) (0,7, 5,8)	0,9 (1/113) (0,0, 3,1)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	5,0 (7/140) (2,6, 7,0)	3,6 (5/140) (1,9, 4,2)
	Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,4 (4/288) (0,5, 2,5)	0,0 (0/288) (0,0, 0,8)
Prevalens				2,6 % (11/428)	1,2 % (5/428)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = högrisk, pos = positiv, neg = negativ, N/A = Ej tillämpligt

\*Kvinnor med negativa resultat av Aptima HPV-assay betecknades som negativa enligt Aptima HPV 16 18/45 genotype assay för analysens syften.

De relativa riskerna för sjukdom vid positiva respektive negativa resultat av Aptima 16 18/45 genotype assay visas i Tabell 11 (justerade för verifieringsbias) samt i Tabell 12 (ojusterade). Kvinnor med närvaro av HPV-typ 16, 18 och/eller 45 hade 20,9 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN2 och 29,4 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN3 än kvinnor utan närvaro av några högrisk-HPV-typer. Kvinnor med närvaro av HPV-typ 16, 18 och/eller 45 hade 3,7 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN2 och 5,3 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN3 än kvinnor utan närvaro av några av de 11 övriga högrisk-HPV-typerna.

**Tabell 11:** NILM-population  $\geq$  30 år: Relativa risker för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay (uppskattningar justerade för verifieringsbias)

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

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

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

**Tabell 12:** NILM-population  $\geq$  30 år: Relativa risker för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay (ojusterade uppskattningar)

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

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

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

Sannolikhetskvoterna ( $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3) efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay visas i Tabell 13 (justerade för verifieringsbias) och Tabell 14 (ojusterade). HPV-typerna 16, 18 och/eller 45 hade 17,1 gånger högre sannolikhet att vara närvarande i en kvinna med  $\geq$  CIN2 och 21,9 gånger högre sannolikhet att vara närvarande i en kvinna med  $\geq$  CIN3.

**Tabell 13:** NILM-population  $\geq$  30 år: Sannolikhetskvoter för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay (justerade för verifieringsbias)

Tolkning av Aptima assaytest*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Sannolikhetskvot (95 % KI)	Sannolikhetskvot (95 % KI)
HPV 16 och/eller 18/45-pos	17,1 (6,2, 46,9)	21,9 (7,3, 65,2)
Övriga HR HPV-pos	4,2 (1,7, 10,1)	3,8 (1,2, 12,6)
HR HPV-negativ	0,7 (0,5, 1,0)	0,7 (0,4, 1,1)

KI = konfidensintervall, HR = högrisk, pos = positiv

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

**Tabell 14:** NILM-population  $\geq$  30 år: Sannolikhetskvoter för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay (ojusterade uppskattningar)

Tolkning av Aptima assaytest*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Sannolikhetskvot (95 % KI)	Sannolikhetskvot (95 % KI)
HPV 16 och/eller 18/45-pos	5,1 (2,3, 9,1)	7,9 (3,5, 12,9)
Övriga HR HPV-pos	1,4 (0,7, 2,2)	1,2 (0,4, 2,3)
HR HPV-negativ	0,4 (0,1, 0,7)	0,1 (0,0, 0,6)

KI = konfidensintervall, HR = högrisk, pos = positiv

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.



## Klinisk prestanda för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay med SurePath-vätskecytologiprover

SurePath-vätskecytologiprover togs från kanadensiska kvinnor som remitterats för uppföljning på grund av ett eller flera onormala Pap-smear, en HPV-infektion eller av något annat skäl. En aliquot (0,5 ml) av varje prov överfördes till ett Aptima-provöverföringsrör och behandlades sedan med Aptima-överföringslösning. Ett enstaka replikat av varje prov analyserades med Aptima HPV-assay (n=494). Positiva prover analyserades sedan med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. En separat aliquot (1 ml) av varje prov togs undan för utvärdering med en på marknaden förekommande HPV-PCR-analys (n=557). Den absoluta risken för sjukdom ( $\geq$  CIN3) som presenteras enligt resultat från Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assayen visas i Tabell 15. Liknande resultat visas för den på marknaden förekommande HPV-PCR-analysen, som särskiljer HPV 16 och HPV 18, men inte HPV 45, separat från de övriga högriskgenotyperna. Den relativa risken för sjukdom för genotyppositiva jämfört med negativa resultat visas i Tabell 16 för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och HPV-PCR-analysen.

**Tabell 15:** Absolut risk för  $\geq$ CIN3 för resultat med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och en på marknaden förekommande HPV-PCR-analys

HR HPV-resultat	Genotypresultat	Tolkning	Aptima absolut risk $\geq$ CIN3 (95 % KI)	HPV PCR absolut risk $\geq$ CIN3 (95 % KI)
Positivt	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45*-pos	HPV 16 pos och/eller HPV 18/45*-pos	14,6 (9,6-19,5)	14,4 (10,4-18,1)
	HPV 16-pos och HPV 18/45*-neg	Enbart HPV 16-pos	19,4 (12,0-26,8)	16,8 (11,6-21,9)
	HPV 16-neg och/eller HPV 18/45*-pos	Enbart HPV 18/45*-pos	3,3 (0,1-13,8)	7,1 (1,0-18,8)
	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45*-pos	HPV 16-pos och HPV 18/45*-pos	25,0 (1,3-75,2)	14,3 (0,7-49,9)
	HPV 16-neg och/eller HPV 18/45*-neg	Övriga HR HPV-pos	2,5 (1,4-3,7)	2,1 (1,1-3,3)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	9,8 (8,1-11,2)	8,5 (7,0-9,5)
Negativt**	HPV 16-neg och/eller HPV 18/45*-neg	HR HPV-neg	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
Prevalens (%)			4,9 %	5,0 %

HR = högrisk; pos = positiv; neg = negativ

\*HPV PCR-analysen skiljer enbart HPV 16 och HPV 18 från de övriga 12 högriskgenotyperna, inklusive HPV 45.

\*\*Kvinnor med negativa resultat för Aptima HPV-assayen betecknades som negativa för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay för analysändamål.

**Tabell 16:** Den relativa risken för  $\geq$  CIN3 för resultat med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och en på marknaden förekommande HPV PCR-analys

Aptima-assayresultat		HPV PCR-analysresultat	
Analystolkning	Relativ risk $\geq$ CIN3 (95 % KI)	Analystolkning	Relativ risk $\geq$ CIN3 (95 % KI)
HPV 16- och/eller HPV 18/45-positiv kontra HR HPV-negativ	14,8 (4,3-50,3)	HPV 16- och/eller HPV 18-positiv kontra HR HPV-negativ	12,6 (3,8-41,9)
HPV 16- och/eller HPV 18/45-positiv kontra övriga HR HPV-positiva	2,0 (0,8-4,6)	HPV 16- och/eller HPV 18-positiv kontra övriga HR HPV-positiva	3,9 (1,6-9,5)
Övriga HR HPV-positiva kontra HR HPV-negativ	7,5 (2,0-28,6)	Övriga HR HPV-positiva kontra HR HPV-negativ	3,2 (0,8-12,8)
HR HPV-positiv kontra HR HPV-negativ	10,0 (3,0-32,7)	HR HPV-positiv kontra HR HPV-negativ	7,4 (2,3-24,3)
Prevalens	4,9 %	Prevalens	5,0 %

## Klinisk prestanda för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay med cervikal provtagning och transportprover

CSCT-prover togs från kvinnor vid rutinscreening eller uppföljningsbesök och testades med Aptima HPV-assay. Resterande CSCT-prover (n=378) med positiva resultat av Aptima HPV-assay testades med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Tigris DTS-system. HPV-genotypen för varje prov fastställdes med ett DNA-genotypstest. Prover med avvikande resultat mellan genotypningstesterna (DNA och Aptima HPV 16 18/45 genotype assay) testades med ett validerat PCR-sekvenseringstest av omvänd transkriptas för att fastställa deras HPV 16-, HPV 18- och HPV 45-status. Klinisk överensstämmelse (positiv och negativ) för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay för detektering av högrisk-HPV 16, 18 och 45 fastställdes. Resultaten presenteras i Tabell 17.

**Tabell 17:** Klinisk överensstämmelse för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Tigris DTS-systemet för detektering av högrisk-HPV 16, 18 och 45 i CSCT-prover

		Referensmetod				Totalt
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	
Aptima HPV 16 18/45 genotype assay	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	125	0	1	0	126
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	0	43	0	1	44
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	0	0	8	1	9
	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	1	1	0	197	199
	<b>Totalt</b>	126	44	9	199	378

pos = positiv, neg = negativ

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

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

## Analytisk sensitivitet

Detektionsgränsen (LOD) vid klinisk cutoff är en koncentration som är positiv (över klinisk cutoff) 95 % av tiden. LOD för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay fastställdes genom att testa enskilda negativa kliniska ThinPrep-vätskecytologiprover med tillsättning *in vitro* av HPV-transkript vid olika koncentrationer. Trettio replikat av varje kopienivå testades med var och en av tre reagensbatcher vilket gav totalt 90 replikat. Testerna utfördes under 6 dagar med 3 körningar per dag. 5 replikat av en given genotyp testades vid varje körning. Den 95 %-iga detektionsgränsen (Tabell 18) beräknades genom Probit-regressionsanalys av positivitetsresultaten för varje spädningspanel.

**Tabell 18:** Detektionsgräns vid klinisk cutoff för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay

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

\*kopior per reaktion för *in vitro*-transkript och celler per reaktion för cellinjer

## Assayprecision

Precisionen för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay utvärderades i två studier med samma 22-komponentpanel. Studie 1 utfördes vid 3 externa testinrättningar för att fastställa assayens reproducerbarhet. Studie 2 utfördes internt för att fastställa precisionen inom laboratoriet. I panelen ingick 14 HPV 16 och/eller 18/45-positiva komponenter med koncentrationer vid eller ovanför detektionsgränsen för assayen (förväntad positivitet:  $\geq 95\%$ ), 5 HPV 16 och/eller 18/45-positiva komponenter med koncentrationer under assayens detektionsgräns (förväntad positivitet:  $> 0\%$  till  $< 25\%$ ), och 3 HPV-negativa komponenter. HPV 16- och/eller 18/45-positiva panelkomponenter preparerades genom att tillsätta HPV-infekterade odlade celler (SiHa, HeLa och MS751; ATCC, Manassas, Virginia) till resterande poolade ThinPrep-vätskecytologiprover eller späda HPV 16, 18 och/eller 45 kliniska prover med resterande poolade ThinPrep-vätskecytologiprover. HPV-negativa panelkomponenter preparerades med poolade ThinPrep-vätskecytologiprover.

I studie 1 utförde 2 operatörer på var och en av de 3 testinrättningarna (1 instrument per inrättning) 2 arbetslistor för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per dag under 3 dagar. Testerna utfördes med användning av 1 reagensbatch. 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 1 batch x 2 arbetslistor per dag x 3 dagar 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 19a och Tabell 19b, tillsammans med en sammanfattning av överensstämmelsen med förväntade resultat för HPV 16 respektive HPV 18/45.

**Tabell 19a:** Assayprecision för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, studie 1 och 2: Panelbeskrivning och överensstämmelse i procent med förväntade resultat för HPV 16

Panelbeskrivning (celler/reaktion)	Förväntade resultat för HPV 16	Överensstämmelse i procent (95 % KI)	
		Studie 1 (3 testinrättningar)	Studie 2 (1 testinrättning)
SiHa-celler (3,0 celler)	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa-celler (0,6 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-celler (11,0 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16, kliniskt prov 1	Positivt	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45, kliniskt prov 1	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa-celler (1,6 celler) och HeLa-celler (3,3 celler)	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa-celler (1,6 celler) och MS751-celler (42,5 celler)	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa-celler (15,7 celler) och HeLa-celler (0,3 celler)	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa-celler (15,7 celler) och MS751-celler (4,3 celler)	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (1,6 celler)	Positivt	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
HeLa-celler (0,3 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
MS751-celler (4,3 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16, kliniskt prov 2	Positivt	97,2 (104/107) (92,1, 99,0)	94,4 (152/161) (88,7, 97,0)
HPV 18/45, kliniskt prov 2	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (0,1 celler)	Negativa	85,2 (92/108) (77,3, 90,7)	84,6 (137/162) (78,2, 89,3)
HeLa-celler (0,02 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-celler (0,04 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16, kliniskt prov 3	Negativa	95,4 (103/108) (89,6, 98,0)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 18/45, kliniskt prov 3	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV-negativa kliniska prov 1	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativa kliniska prov 2	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativa kliniska prov 3	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

KI = Poäng för konfidensintervall

**Anm.** Den procentuella överensstämmelsen kan ha påverkats av variationer i tillsatser, spädning och/eller alikvotering.

**Tabell 19b:** Assayprecision för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, studie 1 och 2: Panelbeskrivning och överensstämmelse i procent med förväntade resultat för HPV 18/45

Panelbeskrivning (celler/reaktion)	Överensstämmelse i procent (95 % KI)		
	Förväntade resultat för HPV 18/45	Studie 1 (3 testinrättningar)	Studie 2 (1 testinrättning)
SiHa-celler (3,0 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
HeLa-celler (0,6 celler)	Positivt	93,5 (101/108) (87,2, 96,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
MS751-celler (11,0 celler)	Positivt	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 16, kliniskt prov 1	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45, kliniskt prov 1	Positivt	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa-celler (1,6 celler) och HeLa-celler (3,3 celler)	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (1,6 celler) och MS751-celler (42,5 celler)	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa-celler (15,7 celler) och HeLa-celler (0,3 celler)	Positivt	63,9 (69/108) (54,5, 72,3)	67,7 (109/161) (60,1, 74,4)
SiHa-celler (15,7 celler) och MS751-celler (4,3 celler)	Positivt	98,1 (106/108) (93,5, 99,5)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
SiHa-celler (1,6 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HeLa-celler (0,3 celler)	Positivt	71,3 (77/108) (62,1, 79,0)	92,5 (149/161) (87,4, 95,7)
MS751-celler (4,3 celler)	Positivt	86,1 (93/108) (78,3, 91,4)	69,1 (112/162) (61,6, 75,7)
HPV 16, kliniskt prov 2	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)
HPV 18/45, kliniskt prov 2	Positivt	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	79,6 (129/162) (72,8, 85,1)
SiHa-celler (0,1 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa-celler (0,02 celler)	Negativa	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	86,4 (140/162) (80,3, 90,9)
MS751-celler (0,04 celler)	Negativa	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
HPV 16, kliniskt prov 3	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV 18/45, kliniskt prov 3	Negativa	80,6 (87/108) (72,1, 86,9)	81,5 (132/162) (74,8, 86,7)
HPV-negativa kliniska prov 1	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV-negativa kliniska prov 2	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativa kliniska prov 3	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

KI = Poäng för konfidensintervall

*Anm. Den procentuella överensstämmelsen kan ha påverkats av variationer i tillsatser, spädning och/eller alikvotering.*

## Överkorsningsreaktivitet

Den analytiska specificiteten för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay utvärderades med pooler av resterande ThinPrep-vätskecytologiprover spädda 1:2,9 i STM (jämförbart med provöverföring till ett Aptima överföringsrör) och tillsattes odlade bakterier, jäst eller svampar, odlade virus eller icke uppmärksammade HPV-transkript *in vitro*. Organismer och testkoncentrationer för vilka ingen överkorsningsreaktivitet observerades identifieras i Tabell 20. Studiekriterier för att bedöma effekten av förekomst av mikroorganism på assayens specificitet baserades på positivitet.

**Tabell 20:** Panel för analytisk specificitet: Organismer och koncentration utan överkorsningsreaktivitet

Organism	Assaykoncentration utan överkorsningsreaktivitet	Organism	Assaykoncentration utan överkorsningsreaktivitet
<b>Bakterier</b>			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium*</i>	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 <sup>5</sup> IFU/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Prevotella bivia</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml		
<b>Icke uppmärksammade högrisk-HPV-genotyper*</b>			
HPV 31	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml	HPV 56	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml
HPV 33	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml	HPV 58	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml
HPV 35	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml	HPV 59	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml
HPV 39	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml	HPV 66	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml
HPV 51	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml	HPV 68	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml
HPV 52	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml		
<b>Jäst/protozoer</b>			
<i>Candida albicans</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis**</i>	1x10 <sup>5</sup> celler/ml
<b>Virus</b>			
Adenovirus	5,25x10 <sup>7</sup> PFU/ml	HIV-1	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml
Cytomegalovirus	1,58x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	Herpes simplex virus 1	3,39x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml

Tabell 20: Panel för analytisk specificitet: Organismer och koncentration utan överkorsningsreaktivitet

Organism	Assaykoncentration utan överkorsningsreaktivitet	Organism	Assaykoncentration utan överkorsningsreaktivitet
Epstein-Barr-virus	1,59x10 <sup>5</sup> TD <sub>50</sub> /ml	Herpes simplex virus 2	2,29x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
<b>Icke uppmärksammade övriga HPV-genotyper*</b>			
HPV 6	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml	HPV 53	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml
HPV 11	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml	HPV 67	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml
HPV 26	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml	HPV 69	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml
HPV 30	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml	HPV 70	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml
HPV 34	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml	HPV 73	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml
HPV 42	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml	HPV 82	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml
HPV 43	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml	HPV 85	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml
HPV 44	2,5x10 <sup>6</sup> kopior/ml		

CFU = Kolonibildande enheter, PFU = Plackbildande enheter, TD<sub>50</sub> = Transformationsdos 50, TCID<sub>50</sub> = Vävnadskulturinfekterande dos 50

\**In vitro* transkripttestade.

\*\*Även om ingen överkorsningsreaktivitet observerades för *Trichomonas vaginalis*, observerades interferens (se nedan).

Den analytiska känsligheten för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i närvaro av mikroorganismer utvärderades med samma panel som beskrivs i Tabell 20, vilken även tillsattes en låg koncentration av HPV-infekterade SiHa-celler (1,6 cell per reaktion) och HPV-infekterade HeLa-celler (0,3 celler/reaktion). Studiekriterier för att bedöma effekten av förekomst av mikroorganism på assayens sensitivitet baserades på positivitet. Mikroorganismernas närvaro störde inte Aptima HPV 16 18/45 genotype assay med undantag av *Trichomonas vaginalis* (TV). Interferens har observerats med TV vid närvaro i koncentration över 3 x 10<sup>4</sup> celler/ml.

## Interferens

De substanser som beskrivs i Tabell 21 tillsattes individuellt till poolade ThinPrep-vätskecytologiprover som späts 1:2,9 i STM vid de koncentrationer som anges i tabellen. Samtliga substanser testades med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i närvaro och frånvaro av HPV-infekterade odlade celler (SiHa, 1,6 celler/reaktion och HeLa, 0,3 celler/reaktion). Interferens observerades med följande vid närvaro i koncentrationer som var högre än de specificerade: vaginala smörjmedel (innehållande polykvaternium 15) vid 1 % v/v, svampdödande kräm (innehållande tiokonazol) med 0,03 % v/v, mukus vid 0,3 % v/v, intravaginala hormoner (innehållande progesteron) vid 1 % v/v.

**Tabell 21:** Substanser som testades för möjlig interferens med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay

Produktkategori	Produktnamn eller typ	Högsta testade koncentration som inte interfererade med assayen*
Vaginalt smörjmedel	KY vätska för naturlig känsla	10 % v/v
	up & up (varumärket Target) personlig smörjande vätska	
	Astroglide**	1 % v/v
Spermiedödande medel/ preventivgel	Vaginalt p-skum	10 % v/v
	Options Conceptrol preventivt vaginalgel	
Svampdödande kräm	up & up (varumärket Target) mikonazol 3	10 % v/v
	Monistat 3 kombinationsförpackning	
	up & up (varumärket Target) tiokonazol 1	0,03 % v/v
Slidsköljningsanordning	Summer's Eve Douche	10 % v/v
	up & up (varumärket Target) feminin dusch	
Underlivsspray	Summer's Eve deodorantspray för underlivet	10 % v/v
	FDS underlivsdeodorantspray	
Mukus	Mukus från svin	0,3 % v/v
Intravaginala hormoner	Estrace vaginalkräm (östrogen)	10 % v/v
	Crinone-kräm (progesteron)	1 % v/v
Helblod***	Helblod	5 % v/v
Leukocyter	Leukocyter	1x10 <sup>7</sup> celler/ml
Glacial tvättlösning med ättiksyra <sup>^</sup>	Glacial lösning med ättiksyra + CytoLyt	2,6 % v/v

\*koncentration i testprovet: ThinPrep-vätskecytologiprov, spätt 1:2,9 i STM (jämförbart med prov som överförs till ett Aptima överföringsrör)

\*\*personligt smörjmedel som innehåller polykvaternium 15

\*\*\*helblod störde analysen när det förekom i en testkoncentration på 10 % v/v

<sup>^</sup>glacial tvättlösning med ättiksyra preparerades genom att blanda 1 del glacial ättiksyra och 9 delar Cytolut-lösning enligt beskrivningen i ThinPrep 2000 System Operator's Manual (användarhandledningen till ThinPrep 2000-systemet)



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

Prevalensen av högrisk HPV-infektion varierar mycket och påverkas av flera faktorer, av vilka ålder är den främsta.<sup>19,20</sup> Många studier har 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 kallades CLEAR-prövningen för att utvärdera Aptima HPV-assayen som detekterar 14 högrisk-HPV-typer.<sup>21</sup> Prover från kvinnorna i CLEAR-prövningen med positiva resultat med Aptima HPV-assayen på Panther-systemet utvärderades på tre testinrättningar med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Panther-systemet i en separat klinisk studie. Prevalensen av HPV 16, 18, och 45, samt resterande 11 högrisk-HPV-typer som observerades i den kliniska studien baserat på resultaten av tester med Aptima HPV-assayen och Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Panther-systemet kategoriserades övergripande, efter åldersgrupp samt efter testinrättning. Ett negativt resultat med Aptima HPV-assay i Panther-systemet tyder på att ingen av de 14 högrisk-HPV-typerna är närvarande, och betecknades som negativt med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Panther-systemet för analysens syfte. Resultaten visas i Tabell 22 för populationerna ASC-US (atypiska skvamösa celler av obestämd signifikans) och NILM (negativt för intraepitelial lesion eller malignitet).

**Tabell 22:** Prevalens av högrisk-HPV mRNA efter åldersgrupp, testinrättning samt alla kombinerade

	Positivitetsfrekvens % (x/n)							
	ASC-US-population (≥ 21 år)				NILM-population (≥ 30 år)			
	HPV 16-pos	HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	11 andra HR*-pos	HPV 16-pos	HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	11 andra HR*-pos
<b>Alla</b>	7,8 (71/911)	5,3 (48/911)	0,3 (3/911)	26,0 (237/911)	0,5 (50/10 839)	0,5 (49/10 839)	< 0,1 (1/10 839)	3,6 (391/10 839)
<b>Åldersgrupp (år)</b>								
<b>21 till 29</b>	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	N/A	N/A	N/A	N/A
<b>30 till 39</b>	5,5 (14/255)	6,7 (17/255)	0,4 (1/255)	23,1 (59/255)	0,7 (31/4 183)	0,7 (31/4 183)	0 (0/4 183)	5,1 (215/4 183)
<b>≥ 40</b>	1,9 (5/268)	4,1 (11/268)	0 (0/268)	11,6 (31/268)	0,3 (19/6 656)	0,3 (18/6 656)	< 0,1 (1/6 656)	2,6 (176/6 656)
<b>Testinrättning**</b>								
<b>1</b>	5,6 (17/304)	6,6 (20/304)	0,3 (1/304)	27,0 (82/304)	0,4 (16/3 610)	0,4 (16/3 610)	< 0,1 (1/3 610)	3,6 (130/3 610)
<b>2</b>	9,6 (29/303)	3,6 (11/303)	0,3 (1/303)	26,4 (80/303)	0,5 (18/3 614)	0,4 (15/3 614)	0 (0/3 614)	3,6 (130/3 614)
<b>3</b>	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3 615)	0,5 (18/3 615)	0 (0/3 615)	3,6 (131/3 615)

N/A = Ej tillämpligt, HR = högrisk, pos = positiv

Anm. Kvinnor med negativa resultat av Aptima HPV-assayen i Panther-systemet betecknades som negativa med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Panther-systemet för analysens syfte.

\* HPV-typ 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 och 68

\*\* I NILM-populationen testades inte alla patienter med negativa resultat av Aptima HPV-assayen på Panther-systemet med Aptima 16 18/45 genotype assay på Panther-systemet. För analyser efter testställe fördelades dessa kvinnors resultat slumpmässigt till ett av de 3 testställena.

## Assayprestanda för Panther System

### Klinisk studiedesign med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay med ThinPrep-vätskecytologiprover

Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Panther-systemet utvärderades med cytologiska referensprover som samlats in från kvinnor som lämnat sitt samtycke till detta under den prospektiva kliniska multicenterstudien i USA som kallas för CLEAR-prövningen. CLEAR-prövningen utfördes för att fastställa klinisk prestanda för Aptima HPV-assay på Tigris DTS-systemet för detektering av cervikal intraepitelial neoplasia grad 2 eller mer allvarlig cervixsjukdom ( $\geq$  CIN2). Kvinnor rekryterades till antingen ASC-US-studien eller NILM-studien, baserat på deras ThinPrep-vätskebaserade cytologiska referensresultat från rutinmässig screening av cervixcancer. Populationen i ASC-US-studien inkluderade kvinnor från 21 år och äldre med ASC-US-cytologireultat och populationen i NILM-studien inkluderade kvinnor från 30 år och äldre med NILM-cytologireultat.

Kvinnor från 18 kliniska inrättningar, främst obstetrik-/gynekologikliniker som omfattar en bred geografisk spridning och varierande population, analyserades. Under CLEAR-prövningen testades resterande cytologiska referensprover med både Aptima HPV-assay på Tigris DTS-systemet och ett FDA-godkänt HPV DNA-test. Lämpliga resterande cytologiska referensprover från CLEAR-prövningen testades med Aptima HPV-assay på Panther-systemet. För den kliniska prövningen av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay testades prover från de cytologiska referensproverna med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay på Panther-systemet.

Alla kvinnor i ASC-US-studien remitterades till kolposkopi, oavsett deras HPV-assayresultat. En biopsi från endocervikal kyrettag (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 squamocolumnar junction (gränsen mellan skiv- och körtelepitel) (slumpmässig metod).

I NILM-studien remitterades kvinnor med positiv Aptima HPV-assay på Tigris DTS-systemet och/eller FDA-godkända HPV-DNA-tester samt slumpmässigt valda kvinnor vars båda assayer var negativa, till kolposkopi för baslinjeutvärdering. En ECC-biopsi togs från varje kvinna som genomgick kolposkopi. Stansbiopsier togs endast från synliga lesioner (riktad metod, 1 biopsi per lesion). Uppföljning av kvinnor i NILM-studien som inte har  $\geq$  CIN2 pågår i 3 år med årliga cytologibesök. Kvinnor med ASC-US eller mer allvarliga cytologireultat under uppföljningsperioden remitteras för kolposkopi med samma biopsiförfarande som utförs för baslinjeutvärderingen.

Sjukdomsstatus fastställdes från en granskningspanel för överensstämmande histologi, baserat på överensstämmelse mellan minst 2 expertpatologer. Kvinnans HPV- och cytologistatus samt varandras histologidiagnoser var dolda för expertpatologerna. HPV-assayresultaten doldes för provare, kliniker och kvinnor tills kolposkopibesöket var genomfört för att undvika bias.

För att validera den avsedda användningen av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Panther-systemet som ett reflextest för ett positivt prov med Aptima HPV-assayen var samtliga resterande cytologiska referensprover från samtliga bedömningsbara kvinnor i ASC-US-studien och NILM-studien med ett positivt resultat med Aptima HPV-assayen valbara för testning med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Panther-systemet. Klinisk prestanda för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Panther-systemet utvärderades för detektering av  $\geq$  CIN2 och cervikal intraepitelial neoplasia grad 3 eller mer allvarlig cervixsjukdom ( $\geq$  CIN3).

## ASC-US-population $\geq$ 21 år: Klinisk prestanda för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay med ThinPrep-vätskecytologiprover

Sammanlagt fanns det 404 bedömningsbara kvinnor, 21 år eller äldre, med cytologiska resultat och positiva resultat med Aptima HPV-assay i Panther-systemet vars cytologiska referensprover var lämpliga för testning med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Panther-systemet. Av dessa hade 45 kvinnor inte tillräckliga cytologisk referensprovvolym för testning i denna studie, och 6 hade obestämda sjukdomsdiagnoser. Efter en analys av saknade värden inkluderades inte dessa i prestandaberäkningarna. De 353 bedömningsbara kvinnorna med fastställd sjukdomsstatus hade giltiga resultat med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Panther-systemet baserat på reflextestning av ett positivt resultat med Aptima HPV-assay i Panther-systemet. Sextiosju (67) kvinnor hade  $\geq$  CIN2 och 30 hade  $\geq$  CIN3.

Av de 353 bedömningsbara kvinnorna med positiva resultat med Aptima HPV-assay i Panther-systemet hade 118 kvinnor positiva resultat med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Panther-systemet som tydde på närvaro av HPV 16 och/eller HPV 18/45; 235 hade negativa resultat, vilket tydde på närvaro av en eller flera av de övriga 11 högrisk-HPV-typerna som detekterades av Aptima HPV-assay (dvs. HPV-typerna 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 och 68). Ytterligare 539 bedömningsbara kvinnor, 21 år eller äldre, med cytologiska resultat från ASC-US hade negativa resultat med Aptima HPV-assayen i Panther-systemet. Ett negativt resultat med Aptima HPV-assay tydde på att ingen av de 14 högrisk-HPV-typerna var närvarande och betecknades som negativt med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Panther-systemet för assayens syften. Prevalens av  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 hos bedömningsbara kvinnor med ASC-US-cytologiresultat var 9,1 % respektive 3,8 %. Baserat på testerna i Panther-systemet presenteras resultaten av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay efter Aptima HPV-assayresultat och diagnoser från granskningspanelen för överensstämmande histologi i Tabell 23.

**Tabell 23:** ASC-US-population  $\geq$  21 år: Resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV assay efter diagnoser från granskningspanelen för överensstämmande histologi

Aptima HPV assayresultat	Resultat med AHPV-GT-assay*	Tolkning	Diagnoser från granskningspanel för överensstämmande histologi						
			Obestämd**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Totalt
Positivt	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	HPV 16-pos	1	26	18	11	15	0	71
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	HPV 18/45-pos	3	23	16	2	3	1	48
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	2	132	70	23	10	0	237
Totalt			6	182	104	37	29	1	359
Negativa	HPV 16/18/45-neg***	HR HPV-neg	13	450	75	10	4	0	552
Totalt			19	632	179	47	33	1****	911

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

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

\*\*19 kvinnor gjorde kolposkopibesöket, 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 förlorade (n=1).

\*\*\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

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

Den absoluta sjukdomsrisk (≥ CIN2 och ≥ CIN3) enligt resultaten av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay visas i Tabell 24. Risken för ≥ CIN2 hos kvinnor med närvaro av HPV-typ 16, 18 och/eller 45 var 28,8 % jämfört med 14,0 % hos kvinnor med närvaro av en eller flera av de övriga 11 högrisk-HPV-typerna och 2,6 % hos kvinnor utan närvaro av högrisk-HPV-typer. De absoluta riskerna visas efter åldersgrupp i Tabell 25.

**Tabell 24:** ASC-US-population ≥ 21 år: Absoluta risker för ≥ CIN2 och ≥ CIN3 för resultat med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay

Aptima HPV assayresultat	Resultat med AHPV-GT-assay	Tolkning	≥ CIN2	≥ CIN3
			Absolut risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)
<b>Positivt</b>	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	28,8 (34/118) (22,2, 35,7)	16,9 (20/118) (12,1, 21,8)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	37,1 (26/70) (27,4, 47,4)	21,4 (15/70) (13,8, 29,5)
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	13,3 (6/45) (5,5, 25,1)	8,9 (4/45) (2,9, 19,1)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	14,0 (33/235) (10,7, 17,7)	4,3 (10/235) (2,3, 6,7)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	19,0 (67/353) (16,8, 21,1)	8,5 (30/353) (7,1, 9,6)
<b>Negativa</b>	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)	0,7 (4/539) (0,2, 1,6)
Prevalens			9,1 % (81/892)	3,8 % (34/892)

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

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

**Tabell 25:** ASC-US-population ≥ 21 år: Absoluta risker för ≥ CIN2 och ≥ CIN3 för resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay efter åldersgrupp

	Aptima HPV assayresultat	Resultat med AHPV-GT-assay	Tolkning	≥ CIN2	≥ CIN3
				Absolut risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)
21 till 29 år	Positivt	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	27,4 (20/73) (19,0, 36,2)	16,4 (12/73) (10,3, 22,5)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	29,4 (15/51) (18,8, 41,1)	19,6 (10/51) (11,3, 28,5)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	15,0 (3/20) (3,6, 34,6)	5,0 (1/20) (0,2, 21,6)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	17,1 (25/146) (12,7, 21,7)	5,5 (8/146) (2,8, 8,6)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	20,5 (45/219) (17,9, 23,0)	9,1 (20/219) (7,5, 10,2)	
	Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	4,2 (7/166) (1,9, 7,6)	0,6 (1/166) (0,0, 2,7)
Prevalens				13,5 % (52/385)	5,5 % (21/385)
30 till 39 år	Positivt	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	30,0 (9/30) (16,5, 43,9)	16,7 (5/30) (6,9, 26,2)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	13,3 (2/15) (1,3, 35,2)	13,3 (2/15) (1,3, 32,1)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	12,1 (7/58) (5,7, 19,5)	3,4 (2/58) (0,5, 8,5)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	18,2 (16/88) (13,4, 22,3)	8,0 (7/88) (4,6, 10,0)	
	Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)
Prevalens				7,6 % (19/251)	3,2 % (8/251)
≥ 40 år	Positivt	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	80,0 (4/5) (36,8, 99,0)	40,0 (2/5) (6,3, 78,2)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	10,0 (1/10) (0,4, 36,6)	10,0 (1/10) (0,4, 33,1)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	3,2 (1/31) (0,1, 13,2)	0 (0/31) (0,0, 7,8)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	13,0 (6/46) (6,1, 19,7)	6,5 (3/46) (1,7, 10,9)	
	Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)
Prevalens				3,9 % (10/256)	2,0 % (5/256)

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

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

Den relativa sjukdomsrisk för positiva kontra negativa resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay visas i Tabell 26. Kvinnor med närvaro av HPV-typ 16, 18 och/eller 45 hade 11,1 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN2 och 22,8 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN3 än kvinnor utan närvaro av några högrisk-HPV-typer. Kvinnor med närvaro av HPV-typ 16, 18 och/eller 45 hade 2,1 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN2 och 4,0 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN3 än kvinnor utan närvaro av några av de 11 övriga högrisk-HPV-typerna.

**Tabell 26:** ASC-US-population  $\geq$  21 år: Relativ risk för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay

Tolkning av Aptima-assayresultat*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relativ risk (95 % KI)	Relativ risk (95 % KI)
HPV 16- och/eller 18/45-positiv kontra HR HPV-negativ	11,1 (6,2, 20,0)	22,8 (8,0, 65,6)
HPV 16- och/eller 18/45-positiv kontra övriga HR HPV-positiv	2,1 (1,3, 3,1)	4,0 (1,9, 8,2)
Övriga HR HPV-positiv kontra HR HPV-negativ	5,4 (2,9, 9,9)	5,7 (1,8, 18,1)
HR HPV-positiv kontra HR HPV-negativ	7,3 (4,2, 12,8)	11,5 (4,1, 32,2)
Prevalens	9,1 % (81/892)	3,8 % (34/892)

KI = konfidensintervall, HR = högrisk

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

Sannolikhetskvoterna ( $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3) efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay visas i Tabell 27. HPV-typerna 16, 18 och/eller 45 hade 4,1 gånger högre sannolikhet att vara närvarande i en kvinna med  $\geq$  CIN2 och 5,2 gånger högre sannolikhet att vara närvarande i en kvinna med  $\geq$  CIN3.

**Tabell 27:** ASC-US-population  $\geq$  21 år: Sannolikhetskvoter för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay

Tolkning av Aptima-assayresultat*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Sannolikhetskvot (95 % KI)	Sannolikhetskvot (95 % KI)
HPV 16- och/eller 18/45-positiv	4,1 (2,9, 5,6)	5,2 (3,5, 7,0)
Övriga HR HPV-positiv	1,6 (1,2, 2,1)	1,1 (0,6, 1,8)
HR HPV-negativ	0,3 (0,2, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

KI = konfidensintervall, HR = högrisk

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

## NILM-population ≥ 30 år: Klinisk prestanda för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay med ThinPrep-vätskecytologiprover

Sammanlagt fanns det 512 bedömningsbara kvinnor 30 år och äldre med NILM-cytologireultat och positiva resultat av Aptima HPV-assay i Panther-systemet vars cytologiska referensprover var bedömningsbara för test med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Av dessa hade 21 kvinnor (11 som genomgick kolposkopi och 10 som inte genomgick kolposkopi) inte någon tillgänglig cytologisk referensprovvolym för testning; efter analys av saknade värden inkluderades inte dessa i prestandaberäkningarna. De 491 bedömningsbara kvinnorna hade giltiga resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Av dessa genomgick 273 kolposkopi. Fjorton (14) kvinnor hade ≥ CIN2 och tio (10) hade ≥ CIN3, 245 kvinnor hade normal/CIN1-histologi, 14 kvinnor hade obestämd sjukdomsstatus.

Av de 259 bedömningsbara kvinnorna med fastställd sjukdomsstatus och positiva resultat av Aptima HPV-assayen i Panther-systemet hade 65 positiva resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Panther-systemet som tydde på närvaro av HPV 16 och/eller HPV 18/45, 194 hade negativa resultat som tydde på närvaro av en eller flera av de övriga 11 högrisk-HPV-typerna. Ytterligare 549 bedömningsbara kvinnor, 30 år eller äldre, med NILM-cytologireultat och fastställd sjukdomsstatus hade negativa resultat av Aptima HPV-assayen i Panther-systemet. Ett negativt resultat av Aptima HPV-assayen tyder på att ingen av de 14 högrisk-HPV-typerna är närvarande och betecknades som negativa med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Panther-systemet för analysens syften. Resultaten av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay efter resultat med Aptima HPV-assay och diagnoser från granskningspanelen för överensstämmande histologi presenteras i Tabell 28.

**Tabell 28:** NILM-population ≥ 30 år: Resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV assay efter diagnoser från granskningspanelen för överensstämmande histologi

Aptima HPV assayresultat	Resultat med AHPV-GT-assay*	Tolkning	Diagnoser från granskningspanel för överensstämmande histologi						
			Obestämd**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	Totalt
Positivt	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	HPV 16-pos	2	28	0	0	3	1	34
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	HPV 18/45-pos	1	28	1	1	0	2	33
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	0	1	0	0	0	0	1
	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	11	175	12	3	4	0	205
Totalt			14	232	13	4	7	3	273
Negativa	HPV 16/18/45-neg***	HR HPV-neg	31	527	16	5	1	0	580
Totalt			45	759	29	9	8	3****	853

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

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

\*\*45 kvinnor genomgick kolposkopibesöket, men diagnos kunde inte ställas av följande skäl: konsensus kunde inte nås på grund av inadekvata prover (n=29), inga biopsier togs på grund av underliggande faktorer (n=13), inga biopsier togs eller granskades på grund av fel (n=3).

\*\*\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

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

Av de 491 kvinnorna med positiva resultat av Aptima HPV-assayen och Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Panther-systemet hade 232 kvinnor obekräftad (inklusive obestämd) sjukdomsstatus (Tabell 29). Av de 10 348 kvinnorna med negativa resultat av Aptima HPV-assayen från den ursprungliga CLEAR-prövningen hade 9 799 obekräftad sjukdomsstatus. Eftersom studien hade utformats på ett sådant sätt att endast slumpmässigt valda kvinnor med negativa resultat för både Aptima HPV-assay i Tigris DTS-systemet och det FDA-godkända DNA-testet remitterades för kolposkopi var andelen kvinnor med obekräftad sjukdomsstatus hög i denna grupp (96,2 %). 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 verifieringsbias-justerade prestandauppskattningar och ojusterade prestandauppskattningar baserat på de 808 kvinnor med bekräftad sjukdomsstatus presenteras.

**Tabell 29:** NILM-population  $\geq 30$  år: Klassificering av bedömningsbara NILM-kvinnor efter testresultat med Aptima HPV-assay, Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HPV DNA-testresultat, sjukdomsstatus ( $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3), samt sjukdomsverifieringsstatus

Aptima HPV assay-resultat*	Resultat med AHPV-GT-assay*	HPV-DNA-assay	Kvinnor, totalt	Bekräftad sjukdomsstatus: $\geq$ CIN2		Bekräftad sjukdomsstatus: $\geq$ CIN3		Obekräftad 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	Positivt	88	6	52	5	53	30 (34,1 %)
	Positivt	Negativa	10	1	5	1	5	4 (40,0 %)
	Positivt	Inga resultat**	2	0	1	0	1	1 (50,0 %)
	Negativa	Positivt	291	7	169	4	172	115 (39,5 %)
	Negativa	Negativa	85	0	14	0	14	71 (83,5 %)
	Negativa	Inga resultat**	15	0	4	0	4	11 (73,3 %)
Totalt			491	14	245	10	249	232 (47,3 %)
Negativa	N/A***	Positivt	282	3	177	1	179	102 (36,2 %)
	N/A***	Negativa	9 467	2	362	0	364	9 103 (96,2 %)
	N/A***	Inga resultat**	599	1	4	0	5	594 (99,2 %)
Totalt			10 839	20	788	11	797	10 031 (92,5 %)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, N/A = Ej tillämpligt

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

\*\*616 kvinnor med Aptima HPV-assayresultat hade inte HPV-DNA-testresultat, främst på grund av otillräcklig volym av cytologiprovet.

\*\*\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.



De justerade absoluta riskerna för sjukdom ( $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3) efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay visas i Tabell 30a. Risken för  $\geq$  CIN2 hos kvinnor med närvaro av HPV-typ 16, 18 och/eller 45 var 10,8 % jämfört med 3,8 % hos kvinnor med närvaro av en eller flera av de övriga 11 högrisk-HPV-typerna och 1,0 % hos kvinnor utan närvaro av högrisk-HPV-typer. De ojusterade absoluta riskerna för sjukdom visas övergripande i Tabell 30b och efter åldersgrupp i Tabell 31.

**Tabell 30a:** NILM-population  $\geq$  30 år: Absolut risk för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay (uppskattningar justerade för verifieringsbias)

Aptima HPV assayresultat	Resultat med AHPV-GT-assay	Tolkning	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolut risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)
Positivt	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	9,7 (4,6, 20,2)	8,5 (3,8, 19,2)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	10,4 (4,0, 27,1)	10,3 (3,9, 27,1)
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	8,8 (2,9, 26,4)	6,5 (1,7, 25,1)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	0,0	0,0
	HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	3,2 (1,6, 6,3)	1,8 (0,6, 4,9)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	4,6 (2,8, 7,4)	3,2 (1,7, 5,9)
Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	0,7 (0,2, 2,5)	0,2 (0,0, 4,8)
Prevalens			1,1 %	0,8 %

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = högrisk, pos = positiv, neg = negativ, N/A = Ej tillämpligt

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

**Tabell 30b:** NILM-population  $\geq$  30 år: Absoluta risker för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay (ojusterade uppskattningar)

Aptima HPV assayresultat	Resultat med AHPV-GT-assay	Tolkning	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absolut risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)
Positivt	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	10,8 (7/65) (5,1, 17,7)	9,2 (6/65) (4,3, 14,2)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	12,5 (4/32) (3,7, 25,2)	12,5 (4/32) (3,9, 23,1)
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	9,4 (3/32) (2,2, 21,8)	6,3 (2/32) (0,9, 16,8)
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	0,0 (0/1) (0,0, 93,5)	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)
	HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	3,6 (7/194) (1,7, 6,0)	2,1 (4/194) (0,7, 3,9)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	5,4 (14/259) (3,7, 6,8)	3,9 (10/259) (2,6, 4,5)
Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)
Prevalens			2,5 % (20/808)	1,4 % (11/808)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = högrisk, pos = positiv, neg = negativ, N/A = Ej tillämpligt

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

**Tabell 31:** NILM-population  $\geq 30$  år: Absoluta risker för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16/18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay efter åldersgrupp (ojusterade uppskattningar)

	Aptima HPV assayresultat	Resultat med AHPV-GT-assay	Tolkning	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Absolut risk (95 % KI)	Absolut risk (95 % KI)
30 till 39 år	Positivt	HPV 16-pos och/ eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	8,1 (3/37) (2,0, 16,4)	5,4 (2/37) (0,9, 12,3)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	15,0 (3/20) (3,9, 30,6)	10,0 (2/20) (1,0, 22,8)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	N/A (0/0)	N/A (0/0)
		HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	3,6 (4/111) (1,2, 6,2)	2,7 (3/111) (0,7, 4,7)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	4,7 (7/148) (2,6, 6,1)	3,4 (5/148) (1,6, 4,3)
	Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)
Prevalens				2,4 % (9/378)	1,6 % (6/378)
$\geq 40$ år	Positivt	HPV 16-pos och/ eller HPV 18/45-pos	HPV 16 och/eller HPV 18/45-pos	14,3 (4/28) (4,8, 26,4)	14,3 (4/28) (5,0, 21,9)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	Endast HPV 16-pos	26,7 (4/15) (6,4, 47,9)	26,7 (4/15) (6,5, 43,1)
		HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	Endast HPV 18/45-pos	0 (0/12) (0,0, 21,5)	0 (0/12) (0,0, 18,6)
		HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16 & 18/45-pos	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)	0,0 (0/1) (0,0, 93,1)
		HPV 16/18/45-neg	Övriga HR HPV-pos	3,6 (3/83) (1,0, 7,8)	1,2 (1/83) (0,0, 4,1)
		Pos eller neg	HR HPV-pos	6,3 (7/111) (3,3, 8,9)	4,5 (5/111) (2,3, 5,4)
	Negativa	HPV 16/18/45-neg*	HR HPV-neg	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0 (0/319) (0,0, 0,8)
Prevalens				2,6 % (11/430)	1,2 % (5/430)

AHPV-GT = Aptima HPV 16/18/45 genotype assay, HR = högrisk, pos = positiv, neg = negativ, N/A = Ej tillämpligt

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16/18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

De relativa riskerna för sjukdom vid positiva respektive negativa resultat av Aptima 16 18/45 genotype assay visas i Tabell 32 (justerade för verifieringsbias) samt i Tabell 33 (ojusterade). Kvinnor med närvaro av HPV-typ 16, 18 och/eller 45 hade 12,7 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN2 och 18,4 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN3 än kvinnor utan närvaro av några högrisk-HPV-typer. Kvinnor med närvaro av HPV-typ 16, 18 och/eller 45 hade 2,9 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN2 och 3,8 gånger högre sannolikhet att ha  $\geq$  CIN3 än kvinnor utan närvaro av några av de 11 övriga högrisk-HPV-typerna.

**Tabell 32:** NILM-population  $\geq$  30 år: Relativ risk för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay (uppskattningar justerade för verifieringsbias)

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

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

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

**Tabell 33:** NILM-population  $\geq$  30 år: Relativ risk för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay (ojusterade uppskattningar)

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

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

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

Sannolikhetskquoterna ( $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3) efter resultat av Aptima 16 18/45 genotype assay visas i Tabell 34 (justerade för verifieringsbias) och Tabell 35 (ojusterade). HPV-typerna 16, 18 och/eller 45 hade 17,1 gånger högre sannolikhet att vara närvarande i en kvinna med  $\geq$  CIN2 och 21,9 gånger högre sannolikhet att vara närvarande i en kvinna med  $\geq$  CIN3.

**Tabell 34:** NILM-population  $\geq$  30 år: Sannolikhetskvoter för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay (justerade för verifieringsbias)

Tolkning av Aptima-assayresultat*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Sannolikhetskquot (95 % KI)	Sannolikhetskquot (95 % KI)
HPV 16- och/eller 18/45-positiv	11,2 (3,3, 38,4)	24,1 (2,6, 225,9)
Övriga HR HPV-positiv	3,5 (1,3, 9,4)	4,7 (0,7, 29,8)
HR HPV-negativ	0,8 (0,6, 1,1)	0,4 (0,1, 2,2)

KI = konfidensintervall, HR = högrisk

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

**Tabell 35:** NILM-population  $\geq$  30 år: Sannolikhetskvoter för  $\geq$  CIN2 och  $\geq$  CIN3 efter resultat av Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay (ojusterade uppskattningar)

Tolkning av Aptima-assayresultat*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Sannolikhetskquot (95 % KI)	Sannolikhetskquot (95 % KI)
HPV 16- och/eller 18/45-positiv	4,8 (2,1, 8,5)	7,4 (3,3, 12,0)
Övriga HR HPV-positiv	1,5 (0,7, 2,5)	1,5 (0,5, 2,9)
HR HPV-negativ	0,4 (0,2, 0,8)	0,1 (0,0, 0,6)

KI = konfidensintervall, HR = högrisk

\*Kvinnor med negativa resultat med Aptima HPV-assay betecknades som Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negativa för analysens syften.

## Klinisk prestanda för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay med SurePath-vätskecytologiprover

SurePath-vätskecytologiprover togs från kanadensiska kvinnor 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 med Aptima HPV-assay (n=481). Positiva prover analyserades sedan med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och Aptima HPV-assay. Resultaten visas i Tabell 36. Liknande resultat visas för den på marknaden förekommande HPV-PCR-analysen, som särskiljer HPV 16 och HPV 18, men inte HPV 45, separat från de övriga högriskgenotyperna. Den relativa risken för sjukdom för genotyppositiva jämfört med negativa resultat visas i Tabell 37 för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och HPV PCR-analysen.

**Tabell 36:** Absolut risk för  $\geq$  CIN3 för resultat med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och en på marknaden förekommande HPV-PCR-analys

HR HPV-resultat	Genotypresultat	Tolkning	Aptima absolut risk $\geq$ CIN3 (95 % KI)	HPV PCR absolut risk $\geq$ CIN3 (95 % KI)
Positivt	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45*-pos	HPV 16 pos och/eller HPV 18/45*-pos	12,5 (7,6-17,3)	14,4 (10,4-18,1)
	HPV 16-pos och HPV 18/45*-neg	Enbart HPV 16-pos	16,4 (9,2-23,9)	16,8 (11,6-21,9)
	HPV 16-neg och/eller HPV 18/45*-pos	Enbart HPV 18/45*-pos	3,3 (0,1-13,2)	7,1 (1,0-18,8)
	HPV 16-pos och/eller HPV 18/45*-pos	HPV 16-pos och HPV 18/45*-pos	33,3 (1,8-83,7)	14,3 (0,7-49,9)
	HPV 16-neg och/eller HPV 18/45*-neg	Övriga HR HPV-pos	2,0 (1,0-3,1)	2,1 (1,1-3,3)
	Pos eller neg	HR HPV-pos	10,2 (8,4-11,7)	8,5 (7,0-9,5)
Negativt**	HPV 16-neg och/eller HPV 18/45*-neg	HR HPV-neg	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
Prevalens (%)			4,0 %	5,0 %

HR = högrisk; pos = positiv; neg = negativ

\*HPV PCR-analysen skiljer enbart HPV 16 och HPV 18 från de övriga 12 högriskgenotyperna, inklusive HPV 45.

\*\*Kvinnor med negativa resultat för Aptima HPV-assayen betecknades som negativa för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay för analysändamål.

**Tabell 37:** Den relativa risken för  $\geq$  CIN3 för resultat med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay och en på marknaden förekommande HPV PCR-analys

Aptima-assayresultat		HPV PCR-analysresultat	
Analystolkning	Relativ risk $\geq$ CIN3 (95 % KI)	Analystolkning	Relativ risk $\geq$ CIN3 (95 % KI)
HPV 16- och/eller HPV 18/45-positiv kontra HR HPV-negativ	13,1 (3,7-45,9)	HPV 16- och/eller HPV 18/45-positiv kontra HR HPV-negativ	12,6 (3,8-41,9)
HPV 16- och/eller HPV 18/45-positiv kontra övriga HR HPV-positiva	2,0 (0,7-5,4)	HPV 16- och/eller HPV 18/45-positiv kontra övriga HR HPV-positiva	3,9 (1,6-9,5)
Övriga HR HPV-positiva kontra HR HPV-negativ	6,6 (1,6-27,1)	Övriga HR HPV-positiva kontra HR HPV-negativ	3,2 (0,8-12,8)
HR HPV-positiv kontra HR HPV-negativ	10,7 (3,3-35,1)	HR HPV-positiv kontra HR HPV-negativ	7,4 (2,3-24,3)
Prevalens	4,0 %	Prevalens	5,0 %

## Klinisk prestanda för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay med cervikal provtagning och transportprover

Prestandan för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay utvärderades med användning av CSCT-prover som samlats in från kvinnor som remitterats till återbesök på grund av avvikande smearresultat. Proverna testades initialt med Aptima HPV-assayen (n=651). Prover med positiva resultat av Aptima HPV-assay (n=414) testades därefter med Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i både Tigris DTS-systemet och Panther-systemet.

Klinisk överensstämmelse för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay för detektering av högrisk-HPV 16, 18 och 45 för Panther-systemet fastställdes baserat på resultaten i Tigris DTS-systemet som referensmetod. Positiv och negativ procentuell överensstämmelse och tillhörande 95 %-iga konfidensintervall beräknades. Resultaten presenteras i Tabell 38.

**Tabell 38:** Klinisk överensstämmelse för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay i Panther-systemet för detektering av högrisk-HPV 16, 18 och 45 i CSCT-prover

		Resultat för Tigris DTS-systemet				Totalt
		HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	
Resultat för Panther-systemet	HPV 16-pos, HPV 18/45-neg	194	0	1	3	198
	HPV 16-neg, HPV 18/45-pos	0	34	0	0	34
	HPV 16-pos, HPV 18/45-pos	0	0	7	0	7
	HPV 16-neg, HPV 18/45-neg	1	1	0	173	175
	<b>Totalt</b>	195	35	8	176	414

pos = positiv, neg = negativ

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

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

## Analytisk sensitivitet

Detektionsgränsen (LOD) vid klinisk cutoff är en koncentration som är positiv (över klinisk cutoff) 95 % av tiden. LOD för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay uppskattades genom att testa individuella eller pooler med negativa kliniska ThinPrep-vätskecytologiprover som tillsatts HPV-transkript *in vitro* eller HPV-infekterade odlade celler (SiHa, HeLa och MS751; ATCC, Manassas, Virginia) med olika koncentrationer. För transkriptpaneler *in vitro* analyserades 60 replikat av varje kopienivå med var och en av två reagensbatcher, sammanlagt 120 replikat. För cellinjepanelerna analyserades 30 replikat av varje kopienivå med var och en av två reagensbatcher vilket gav totalt 60 replikat. Analyserna utfördes över åtta dagar med minst tre körningar per dag och fem replikat av varje genotyp analyserades vid varje körning. Den 95 %-iga detektionsgränsen (Tabell 39) beräknades genom Probit-regressionsanalys av positivitetsresultaten för varje spädningspanel.

**Tabell 39:** Detektionsgräns vid klinisk cutoff för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay

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

\*kopior per reaktion för *in vitro*-transkript och celler per reaktion för cellinjer

## Assayprecision

Precisionen för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay utvärderades i två studier med samma 24-komponentpanel. Studie 1 utfördes vid 3 externa testinrättningar för att fastställa assayens reproducerbarhet. Studie 2 utfördes internt för att fastställa precisionen inom laboratoriet. I panelen ingick 17 HPV 16 och/eller 18/45-positiva komponenter med koncentrationer vid eller ovanför detektionsgränsen för assayen (förväntad positivitet:  $\geq 95\%$ ), 3 HPV 16 och/eller 18/45-positiva komponenter med koncentrationer under assayens detektionsgräns (förväntad positivitet:  $> 0\%$  till  $< 25\%$ ), och 4 HPV-negativa komponenter. HPV 16- och/eller 18/45-positiva panelkomponenter preparerades genom att tillsätta *in vitro*-transkript eller HPV-infekterade odlade celler (SiHa, HeLa och MS751; ATCC, Manassas, Virginia) till resterande poolade ThinPrep-vätskecytologiprover eller genom att späda HPV 16, 18 och/eller 45 kliniska prover med resterande poolade ThinPrep-vätskecytologiprover. HPV-negativa panelkomponenter bereddades med poolade ThinPrep-vätskecytologiprover eller PreservCyt-lösning.

I studie 1 utförde 2 operatörer på var och en av de 3 testinrättningarna (1 instrument per inrättning) 2 Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per dag under 3 dagar. Analyserna utfördes med användning av 2 reagensbatcher. 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 dagar 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 40a och Tabell 40b, tillsammans med en sammanfattning av överensstämmelsen med förväntade resultat för HPV 16 respektive HPV 18/45.

**Tabell 40a:** Assayprecision för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, studie 1 och 2: Panelbeskrivning och överensstämmelse i procent med förväntade resultat för HPV 16

Panelbeskrivning (kopior eller celler/reaktion)	Förväntade resultat för HPV 16	Överensstämmelse i procent (95 % KI)	
		Studie 1 (3 testinrättningar)	Studie 2 (1 testinrättning)
HPV 16 IVT (240 kopior)	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (260 kopior)	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (350 kopior)	Negativa	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV 16, kliniskt prov 1	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45, kliniskt prov 1	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa-celler (4 celler) och HeLa-celler (0,7 celler)	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (0,4 celler) och HeLa-celler (7 celler)	Positivt	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
SiHa-celler (0,4 celler)	Positivt	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
HeLa-celler (0,7 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-celler (0,2 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (158/159) (96,5, 99,9)
HPV 16 IVT (24 kopior)	Positivt	100 (107/107) (96,5, 100)	96,9 (157/162) (93,2, 98,7)
HPV 18 IVT (26 kopior)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (35 kopior)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16, kliniskt prov 2	Positivt	98,1 (105/107) (93,4, 99,5)	98,8 (160/162) (95,7, 99,7)
HPV 16, kliniskt prov 3	Positivt	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
HPV 18/45, kliniskt prov 2	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45, kliniskt prov 3	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (0,001 celler)	Negativa	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (158/161) (94,8, 99,4)
HeLa-celler (0,001 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-celler (0,006 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativa kliniska prov 1	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativa kliniska prov 2	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ PreservCyt 1	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ PreservCyt 2	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

KI = Poäng för konfidensintervall

**Anm.** Den procentuella överensstämmelsen kan ha påverkats av variationer i tillsatser, spädning och/eller alikvotering.



**Tabell 40b:** Assayprecision för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, studie 1 och 2: Panelbeskrivning och överensstämmelse i procent med förväntade resultat för HPV 18/45

Panelbeskrivning (kopior eller celler/reaktion)	Överensstämmelse i procent (95 % KI)		
	Förväntade resultat för HPV 18/45	Studie 1 (3 testinrättningar)	Studie 2 (1 testinrättning)
HPV 16 IVT (240 kopior)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (260 kopior)	Positivt	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (350 kopior)	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16, kliniskt prov 1	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45, kliniskt prov 1	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa-celler (4 celler) och HeLa-celler (0,7 celler)	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (0,4 celler) och HeLa-celler (7 celler)	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (0,4 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HeLa-celler (0,7 celler)	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-celler (0,2 celler)	Positivt	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	88,7 (141/159) (84,5, 93,5)
HPV 16 IVT (24 kopior)	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (26 kopior)	Positivt	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (35 kopior)	Positivt	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
HPV 16, kliniskt prov 2	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16, kliniskt prov 3	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45, kliniskt prov 2	Positivt	100 (107/107) (96,5, 100)	95,7 (155/162) (91,7, 98,0)
HPV 18/45, kliniskt prov 3	Positivt	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa-celler (0,001 celler)	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
HeLa-celler (0,001 celler)	Negativa	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
MS751-celler (0,006 celler)	Negativa	75,0 (81/108) (66,1, 82,2)	88,3 (143/162) (84,2, 93,2)
HPV-negativa kliniska prov 1	Negativa	99,1 (106/107) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativa kliniska prov 2	Negativa	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ PreservCyt 1	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ PreservCyt 2	Negativa	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

KI = Poäng för konfidensintervall

**Anm.** Den procentuella överensstämmelsen kan ha påverkats av variationer i tillsatser, spädning och/eller alikvotering.

## Överkorsningsreaktivitet

Analys med potentiellt korsreaktiva organismer för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay utfördes med hjälp av Tigris DTS-system. Se *Överkorsningsreaktivitet* (Tabell 20) i avsnittet för resultat med Tigris DTS-system.

## Interferens

Analyser med potentiellt störande substanser för Aptima HPV 16 18/45 genotype assay utfördes med användning av Tigris DTS-systemet. Se *Interferens* (Tabell 21) i sektionen 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., Franceschi S., Howell-Jones R., Snijders P.J.F., Clifford G.M.** Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer.* 2011;128: 927-935. doi 10.1002/ijc.25396
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer.* 64(3):211-5.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond).* 110(5):525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* 16(1):1-17.
6. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90(12):5583-7.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G. Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* 325(7364): 572-579.
8. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer.* 108(3):329-33. Erratum in: *Int J Cancer.* 108(6):945.
9. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol.* 73(1): 65-70.
10. **De Sanjose S., et al.** 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet.* DOI 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
11. **Burger R.A., B. J. Monk, T. Kurosaki, H. Anton-Culver, S. Vasilv, M. L. Berman and S.P. Wilczynski.** 1996. Human Papillomavirus Type 18: Association with poor prognosis in early stage cervical cancer. *J. Nat. Cancer institute.* 88(19): 1361-1368.
12. **Safaeian M., M. Schiffman, J. Gage, D. Solomon, C. Wheeler and P. Castle.** 2009. Detection of Precancerous Cervical Lesions Is Differential by Human Papillomavirus Type. *Cancer Res.* 69(8): 3262-3266.
13. **Khan, M.J., P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder, M. Sherman, D.R. Scott, B.B. Rush, A.G. Glass and M. Schiffman.** 2005. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J. Natl. Cancer Inst.* 97(14): 1072-1079.
14. **ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.** HPV Genotyping Clinical Update. 2009. [http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical\\_update\\_20090408.pdf](http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical_update_20090408.pdf). Accessed March 22, 2012.
15. **Wright T.C., S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E.J. Wilkinson and D. Solomon.** 2007. 2006 Consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *Journal of Lower Genital Tract Disease.* 11(4):201-222.
16. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
17. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem.* 35: 1588-1594.
18. **Nelson, N.C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* 35:8429-8438.
19. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. *Annals Int Med.* 148:493.
20. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet.* 366, 991.
21. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. 2013. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* 208(2):144-145.



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



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

Kundsupport: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)  
customersupport@hologic.com

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

Besök [www.hologic.com](http://www.hologic.com) för ytterligare kontaktinformation.

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

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

RAININ är ett varumärke som tillhör Rainin Instruments, LLC.

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.

© 2007-2017 Hologic, Inc. Med ensamrätt.  
AW-11504-1601 Rev. 006

2017-05