

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Til *in vitro* diagnostisk brug.

Kun til eksport fra USA.

Generel information	2
Tilslaget anvendelse	2
Resumé og forklaring af testen	2
Funktionsprincip	3
Advarsler og forholdsregler	4
Krav til opbevaring og håndtering af reagenser	5
Indsamling og opbevaring af prøver	6
Fortolkning af test	19
Begrænsninger	20
Tigris DTS-systemets forventede resultater: Prævalens af højrisiko-HPV mRNA	21
Tigris DTS-systemets analysepræstation	22
Forventede resultater for Panther-systemet: Prævalens af højrisiko-HPV mRNA	41
Panther-systemet – analysepræstation	42
Bibliografi	59

Tigris™ DTS™-system

Tigris DTS-system	8
Vedlagte reagenser og materialer.....	8
Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat.....	9
Fremgangsmåde ved testning på Tigris DTS-systemet ..	10
Bemærkninger til fremgangsmåden.....	12

Panther™-systemet

Panther-systemet	13
Vedlagte reagenser og materialer.....	13
Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat...	14
Fremgangsmåde ved testning på Panther-systemet..	15
Bemærkninger til fremgangsmåden.....	17

Generel information

Tilsligtet anvendelse

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay (Aptima HPV 16 18/45 genotypeanalysen) er en *in vitro* nukleinsyreamplifikationstest til kvalitativ detektion af E6/E7 virusbudbringer RNA (mRNA) fra human papillomavirus (HPV) højrisikotyper 16, 18 og 45 i prøver fra kvinder med positive Aptima HPV-analyseresultater. HPV mRNA detekteres i væskebaserede cervikalcytologiske prøver (Pap-smear) opsamlet i ThinPrep™-hætteglas indeholdende PreservCyt™-opløsning før eller efter Pap-smearbehandling eller i prøver udtaget med Aptima udtagnings- og transportkit til cervikale prøver. Cervikale prøver, der er indsamlet i SurePath-konserveringsvæske, kan testes med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Analysen bruges sammen med Tigris DTS System og Panther System.

Resumé og forklaring af testen

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

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

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

Undersøgelser har vist, at forskellige typer højrisikofyldt HPV er forbundet med forskellige risikograder for at udvikle svær dysplasi eller cervikalt karcinom. På verdensplan er HPV-typer 16, 18 og 45 associeret med ca. 80 % af alle invasive cervikale cancersygdomme.^{2,10} Disse tre typer findes i 75 % af alle pladecellekarcinomer, med type 16 ansvarlig for hovedparten (85 %) af disse infektioner. I adenokarcinomer findes HPV-type 16, 18 og 45 i 80-94 % af tilfældene, med type 18 og 45 ansvarlig for næsten halvdelen af disse infektioner.^{2,10} Tilstedeværelsen af HPV-type 18 i de tidlige stadier af cervikal cancer er blevet rapporteret som værende forbundet med en ringe prognose.¹¹ HPV-typer 18 og 45 er underrapporterede ved præcancerøse læsioner, der kan være forårsaget af tilstedeværelsen af okkulte læsioner i livmoderkanalen, som ikke kan undersøges med kolposkopi.¹² Hos kvinder smittet med HPV-type 16 og/eller 18 er den kumulative risiko for at udvikle cervikal cancer 10 gange større i sammenligning med risikoen for sygdomsudvikling pga. andre højrisikotyper.^{13,14,15}

Funktionsprincip

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay omfatter tre hovedtrin, som finder sted i et enkelt reagensglas: Target capture, targetamplifikation ved transkriptionsmedieret amplifikation (Transcription-Mediated Amplification, TMA)¹⁶ og detektion af amplifikationsprodukterne (amplicon) vha. hybridiseringsbeskyttelsesanalysen (Hybridization Protection Assay, HPA).¹⁷ Analysen inkorporerer en intern kontrol (IC) til overvågelse af capture, amplifikation og detektion af nukleinsyre, såvel som operatør- eller instrumentfejl.

Prøver opsamles i eller overføres til et reagensglas, som indeholder STM, der lyserer cellerne, frigiver mRNA'et og beskytter det mod nedbrydning under opbevaring. Når Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay udføres, isoleres target mRNA'et fra prøven vha. capture-oligomerer, som er forbundet med magnetiske mikropartikler. Capture-oligomerer indeholder sekvenser, der er komplementære til specifikke regioner i HPV mRNA-target-molekylerne, samt en streng af deoxyadenosinrester. Under hybridiseringstrinnet bindes de sekvensspecifikke capture-oligomerregioner til specifikke HPV mRNA-target-molekyleregioner. Capture-oligomer-target-komplekset indfanges dernæst fra opløsningen ved at sætte temperaturen på reaktionen ned til stuetemperatur. Denne temperaturreduktion bevirker, at der kan forekomme hybridisering mellem deoxyadenosinregionen på capture-oligomeret og polydeoxythymidin-molekylerne, der er kovalent forbundet med de magnetiske partikler. Mikropartiklerne, inkl. de indfangede HPV mRNA-target-molekyler, der er bundet til dem, trækkes til side i reaktionsglasset med magneter, og supernatanten aspireres. Partiklerne vaskes, så resterende prøvematrix, der kan indeholde amplifikationshæmmere, fjernes.

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

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

Interne kontroller (IC) føjes til hver reaktion vha. target capture reagens. Den interne kontrol (IC) overvåger analysens target capture, amplifikation og detektionstrin. Dual kinetic assay (DKA) er den metode, der bruges til at differentiere mellem HPV-signaler og IC-signalet.¹⁸ IC og HPV 16-amplicon detekteres af prober vha. hurtig lys-emitterende kinetik (flasher). IC-signalet i hver reaktion kan skelnes fra HPV 16-signalet ved omfanget af lysemissionen. Ampliconer specifikke for HPV 18 og 45 detekteres vha. prober med forholdsvis langsommere kinetik af lysemissionen (glower).

Advarsler og forholdsregler

- A. Til *in vitro* diagnostisk brug.
- B. For yderligere specifikke advarsler og forholdsregler relateret til instrumenter henvises der til *brugervejledningen til Tigris DTS-systemet* (Tigris DTS System Operator's Manual) eller til *brugervejledningen til Panther-systemet* (Panther System Operator's Manual).

Vedrørende laboratoriet

- C. Brug kun medfølgende eller specificerede laboratorieartikler til engangsbrug.
- D. Rutinemæssige laboratorieforholdsregler skal følges. Der må hverken spises, drikkes eller ryges i arbejdsområderne. Brug engangshandsker uden pudder, beskyttelsesbriller og laboratoriekittel ved håndtering af prøver og kitreagenser. Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og kitreagenser.
- E. **Advarsel: Irritanter og ætsende stoffer:** Undgå, at Auto Detect 1 og Auto Detect 2 kommer i kontakt med huden, øjnene og slimhinderne. Hvis disse væsker kommer i kontakt med huden eller øjnene, vaskes det pågældende sted med vand. Hvis disse væsker spildes, skal den spildte væske fortyndes med vand, inden den tørres op.
- F. Arbejdsflader, pipetter og andet udstyr skal regelmæssigt dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning. Der henvises til afsnittet *Fremgangsmåde ved testning på Tigris DTS-systemet* eller afsnittet *Fremgangsmåde ved testning på Panther-systemet* for flere oplysninger.

Vedrørende prøver

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

Vedrørende analyse

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

Krav til opbevaring og håndtering af reagenser

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

- A. Følgende reagenser opbevares ved 2 °C til 8 °C (nedkølet) ved modtagelsen:
 - HPV 16 18/45 amplifikationsreagens
 - HPV 16 18/45 enzymreagens
 - HPV 16 18/45 probereagens
 - HPV 16 18/45 reagens til intern kontrol
 - HPV 16 18/45 positive kalibratorer og HPV 16 18/45 negative kalibratorer
- B. Følgende reagenser opbevares ved 15 °C til 30 °C (stuetemperatur):
 - HPV 16 18/45 opløsning til amplifikationsrekonstitution
 - HPV 16 18/45 enzymrekonstitutionsopløsning
 - HPV 16 18/45 proberekonstitutionsopløsning
 - HPV 16 18/45 target capture reagens
 - HPV 16 18/45 selektionsreagens
 - Vaskeopløsning
 - Oliereagens
 - Buffer til deaktiveringsvæske
 - Auto Detect reagens 1
 - Auto Detect reagens 2
 - Konserveringsmiddel til Aptima-systemvæske (kun Tigris DTS-system)
- C. Efter rekonstituering er følgende reagenser stabile i 30 dage ved opbevaring ved 2 °C til 8 °C:
 - HPV 16 18/45 amplifikationsreagens
 - HPV 16 18/45 enzymreagens
 - HPV 16 18/45 probereagens

- D. Target capture arbejdsreagenset (working Target Capture Reagent, wTCR) er stabilt i 30 dage ved opbevaring ved 15 °C til 30 °C. Må ikke sættes i køleskab.
- E. Bortskaf alle ubrugte rekonstituerede reagenser og wTCR efter 30 dage eller efter hovedlottets udløbsdato, alt efter hvilken, der kommer først.
- F. Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay reagenserne er stabile kumulativt i 48 timer, når de opbevares i Tigris DTS-systemet.
- G. Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay reagenserne er stabile kumulativt i 72 timer, når de opbevares i Panther-systemet.
- H. Probereagens og rekonstitueret probereagens er lysfølsomme. Reagenserne skal opbevares beskyttet mod lys.
- I. Reagenserne må ikke fryses.

Indsamling og opbevaring af prøver

A. Udtagning og behandling af prøver

ThinPrep væskebaserede cytologiprøver

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

SurePath væskebaserede cytologiprøver

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

Aptima prøveudtagnings- og transportkit til cervikale prøver

Udtag prøverne ifølge brugsanvisningen i CSCT-kittet.

B. Transport og opbevaring inden testning

ThinPrep væskebaserede cytologiprøver

1. Transportér ThinPrep væskebaserede cytologiprøver ved 2 °C til 30 °C.
2. Prøverne bør overføres til et Aptima reagensglas til prøveoverførsel i løbet af 105 dage efter udtagning.
3. Før overførsel skal ThinPrep væskebaserede cytologiprøver opbevares ved 2 °C til 30 °C, med højst 30 dage ved temperaturer op til 8 °C.
4. ThinPrep væskebaserede cytologiprøver, der er blevet overført til et Aptima reagensglas til prøveoverførsel kan opbevares ved 2 °C til 30 °C i op til 60 dage.
5. Hvis længere opbevaring er nødvendig, kan ThinPrep væskebaseret cytologiprøve eller ThinPrep væskebaseret cytologiprøve fortyndet i reagensglasset til prøveoverførsel opbevares ved -20 °C til -70 °C i op til 24 måneder.

SurePath væskebaserede cytologiprøver

1. Transportér SurePath væskebaserede cytologiprøver ved 2 °C til 25 °C.

2. Prøverne skal overføres til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel i løbet af 7 dage efter udtagning.
3. Inden overførsel skal SurePath væskebaserede cytologiprøver opbevares ved 2 °C til 25 °C.
4. SurePath væskebaserede cytologiprøver, der er blevet overført til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel, kan opbevares ved 2 °C til 25 °C i op til 7 dage.
5. Overførte SurePath-prøver skal behandles med Aptima-overførselsopløsning før testning med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Behandlede prøver kan opbevares ved 2 °C til 8 °C i op til 17 dage før testning med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Læs mere på indlægssedlen til prøveoverførselskittet.

Aptima prøveudtagnings- og transportkit til cervikale prøver

1. Transportér og opbevar prøver ved 2 °C til 30 °C i op til 60 dage.
2. Hvis længere opbevaring er nødvendig, kan transportkitprøver opbevares ved -20 °C til -70 °C i op til 24 måneder.

C. Opbevaring af prøver efter testning

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

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

Tigris DTS-system

Vedlagte reagenser og materialer

Bemærk: For oplysninger om enhver fare og sikkerheds erklæringer, der kan være tilknyttet reagenser, henvises til Safety Data Sheet Library (Arkivet med sikkerhedsdataark) på www.hologic.com/sds.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Kit, 100 test (3 æsker) kat. nr. 303234

Kalibratorer kan købes særskilt. Se individuelle æskers katalognumre herunder.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay nedkølet æske
(opbevares ved 2 °C til 8 °C efter modtagelse)

Symbol	Komponent	Kvantitet
A	HPV 16 18/45 amplifikationsreagens <i>Ikke-infektiose nukleinsyrer tørret i bufferopløsning, der indeholder < 5 % volumenforøgende middel.</i>	1 hætteglas
E	HPV 16 18/45 enzymreagens <i>Revers transkriptase og RNA-polymerase tørret i HEPES-bufferopløsning, der indeholder < 10 % volumenforøgende middel.</i>	1 hætteglas
P	HPV 16 18/45 probereagens <i>Ikke-infektiose kemiluminiserende DNA-prober (< 500 ng/hætteglas) tørret i succinat-bufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	1 hætteglas
IC	HPV 16 18/45 reagens til intern kontrol <i>Ikke-infektioøst RNA-transkript i en bufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	1 hætteglas

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay æske med stuetemperatur
(opbevares ved 15 °C til 30 °C efter modtagelse)

Symbol	Komponent	Kvantitet
AR	HPV 16 18/45 opløsning til amplifikationsrekonstitution <i>Vandig opløsning, der indeholder konserveringsmidler.</i>	1 hætteglas
ER	HPV 16 18/45 enzymrekonstitutionsopløsning <i>HEPES-bufferopløsning, der indeholder et overfladeaktivt stof og glycerol.</i>	1 hætteglas
PR	HPV 16 18/45 proberekonstitutionsopløsning <i>Succinatbufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	1 hætteglas
S	HPV 16 18/45 selektionsreagens <i>600 mM boratbufferopløsning, der indeholder overfladeaktivt stof.</i>	1 hætteglas
TCR	HPV 16 18/45 target capture reagens <i>Ikke-infektioø nukleinsyre i en bufferopløsning, der indeholder fastfase (< 0,5 mg/ml).</i>	1 hætteglas
	Rekonstitueringsmanchetter	3
	Stregkodeliste for hovedlot	1 liste

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay kalibratorer æske (kat. nr. 303235)
(opbevares ved 2 °C til 8 °C efter modtagelse)

Symbol	Komponent	Kvantitet
PCAL1	HPV 16 18/45 positiv kalibrator 1 <i>Ikke-infektøs HPV 18 in vitro transkript til 750 kopier pr. ml i en bufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	5 hætteglas
PCAL2	HPV 16 18/45 positiv kalibrator 2 <i>Ikke-infektøs HPV 16 in vitro transkript til 1000 kopier pr. ml i en bufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	5 hætteglas
NCAL	HPV 16 18/45 negativ kalibrator <i>Bufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	5 hætteglas

Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat

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

	<u>Kat. nr.</u>
Tigris DTS-system	105118
Tigris DTS-system kørselskit	301191
Multireagensglasenheder (MTU)	104772-02
MTU-småspidsaffaldsposekit	900907
MTU-affaldsdeflektorer	900931
MTU afdækningsstykker for affald	105523
Aptima analysevæskekit	302382
(Aptima vaskeopløsning, Aptima buffer til deaktiveringsvæske og Aptima oliereagens)	
Aptima Auto Detect Kit	301048
Aptima konserveringsmiddelkit til systemvæske	302380
Spidser, 1000 µl ledende, væskeregistrering	10612513 (Tecan)
Aptima prøveoverførselskit	301154C
Aptima prøveudtagnings- og transportkit til cervikale prøver	302657
Aptima gennemtrængelige hætter	105668
Uigennemtrængelige udskiftningshætter	103036
Reservehætter til kit med 100 test:	
Amplifikations- og probereagens-rekonstitutionsopløsninger	CL0041
Enzymreagens-rekonstitutionsopløsning	CL0041
TCR og selektionsreagens	501604
Blegemiddel, minimum 5 % eller 0,7 M natriumhypochloritopløsning	—
Vand til Tigris DTS systemet	—
Der henvises til brugervejledningen til Tigris DTS-systemet (Tigris DTS System Operator's Manual) vedrørende specifikationer	
Engangshandsker	—
Aptima-kit til overførsel af opløsning (kun for SurePath-prøver)	303658

Valgfri materialer

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

Fremgangsmåde ved testning på Tigris DTS-systemet

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

A. Klargøring af arbejdsområde

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

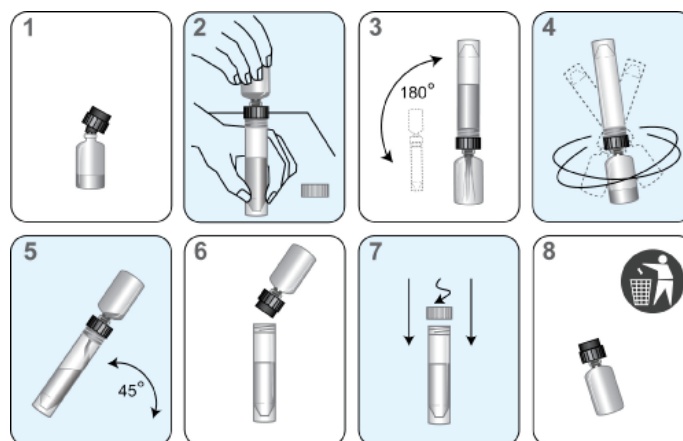
B. Reagensklargøring af et nyt kit

Bemærk: Reagensrekonstituering bør udføres, inden der påbegyndes arbejde på Tigris DTS-systemet.

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

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

Bemærk: Bland amplifikations-, enzym-, probe- og selektionsreagens omhyggeligt ved at vende dem forsigtigt op og ned, inden de sættes i systemet. Pas på, der ikke dannes skum, mens reagenserne vendes om.



Figur 1. Rekonstitueringsbehandling på Tigris DTS-systemet

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

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

- C. Klargøring af reagens for tidligere rekonstituerede reagenser
 1. Tidligere rekonstituerede amplifikations-, enzym- og probereagenser skal have stuetemperatur (15 °C til 30 °C), inden analysen påbegyndes.
 2. Hvis det rekonstituerede probereagens har udfældning, der ikke bliver opløst ved stuetemperatur, opvarmes det ved en temperatur på højst 60 °C i 1 til 2 minutter. Må ikke anvendes, hvis der er udfældning eller uklarhed.

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

D. Prøvehåndtering

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

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

E. Klargøring af systemet

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

Bemærkninger til fremgangsmåden

A. Kalibrаторer

1. Hver arbejdsliste skal indeholde 2 replikater af den negative kalibrатор og hver positiv kalibrатор. For at kunne fungere korrekt sammen med softwaren til Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay skal den negative kalibrатор stå i første reagensglasposition i det første stativ af arbejdslisten. Positiv kalibrатор 1 skal stå i anden reagensglasposition i det første stativ af arbejdslisten, og positiv kalibrатор 2 skal stå i tredje reagensglasposition i det første stativ af arbejdslisten.
2. Forsøg på at pipettere mere end to replikater fra et kalibrаторreagensglas kan føre til fejl pga. utilstrækkelig mængde.
3. Kalibrаторer skal anvendes sammen med de tilsvarende reagenshovedlot. Operatøren skal sørge for, at det korrekte lot kalibrаторer anvendes sammen med det tilsvarende hovedlot kitreagenser som angivet på hovedlotstregkodelisten. Der skal henvises til det relevante lotnummer ved bestilling af yderligere kalibrаторer.

B. Temperatur

Stuetemperatur vil sige 15 °C til 30 °C.

C. Handskepudder

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

Panther-systemet

Vedlagte reagenser og materialer

Bemærk: For oplysninger om enhver fare og sikkerhedserklæringer, der kan være tilknyttet reagenser, henvises til Safety Data Sheet Library (Arkivet med sikkerhedsdataark) på www.hologic.com/sds.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, 100 test (3 æsker) kat. nr. 303236

Kalibratorer kan købes særskilt. Se individuelle æskers katalognumre herunder.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, nedkølet æske
(opbevares ved 2 °C til 8 °C efter modtagelse)

Symbol	Komponent	Kvantitet
A	HPV 16 18/45 amplifikationsreagens <i>Ikke-infektøse nukleinsyrer tørret i bufferopløsning, der indeholder < 5 % volumenforøgende middel.</i>	1 hætteglas
E	HPV 16 18/45 enzymreagens <i>Revers transkriptase og RNA-polymerase tørret i HEPES-bufferopløsning, der indeholder < 10 % volumenforøgende middel.</i>	1 hætteglas
P	HPV 16 18/45 probereagens <i>Ikke-infektøse kemiluminiserende DNA-prober (< 500 ng/hætteglas) tørret i succinat-bufferopløsning, der indeholder < 5 % rengøringsmiddel.</i>	1 hætteglas
IC	HPV 16 18/45 reagens til intern kontrol <i>Ikke-infektøst RNA-transkript i bufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	1 hætteglas

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay æske med stuetemperatur
(opbevares ved 15 °C til 30 °C efter modtagelse)

Symbol	Komponent	Kvantitet
AR	HPV 16 18/45 opløsning til amplifikationsrekonstitution <i>Vandig opløsning, der indeholder konserveringsmidler.</i>	1 hætteglas
ER	HPV 16 18/45 enzymrekonstitutionsopløsning <i>HEPES-bufferopløsning, der indeholder et overfladeaktivt stof og glycerol.</i>	1 hætteglas
PR	HPV 16 18/45 proberekonstitutionsopløsning <i>Succinatbufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	1 hætteglas
S	HPV 16 18/45 selektionsreagens <i>600 mM boratbufferopløsning, der indeholder overfladeaktivt stof.</i>	1 hætteglas
TCR	HPV 16 18/45 target capture reagens <i>Ikke-infektøs nukleinsyre i en bufferopløsning, der indeholder fastfase (< 0,5 mg/ml).</i>	1 hætteglas
	Rekonstitueringsmanchetter	3
	Stregkodeliste for hovedlot	1 liste

Æske med Aptima HPV 16 18/45-Genotype Assay kalibratorer (kat. nr. 303235)
(opbevares ved 2 °C til 8 °C efter modtagelse)

Symbol	Komponent	Kvantitet
PCAL1	HPV 16 18/45 positiv kalibrator 1 <i>Ikke-infektiøst HPV 18 in vitro transkript med 750 kopier pr. ml i en bufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	5 hætteglas
PCAL2	HPV 16 18/45 positiv kalibrator 2 <i>Ikke-infektiøst HPV 16 in vitro transkript med 1000 kopier pr. ml i en bufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	5 hætteglas
NCAL	HPV 16 18/45 negativ kalibrator <i>Bufferopløsning, der indeholder < 5 % sæbe.</i>	5 hætteglas

Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat

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

	<u>Kat. nr.</u>
Panther-systemet	303095
Panther kørselskit	303096
<i>Aptima analysevæskekit</i>	303014
<i>(Aptima vaskeopløsning, Aptima buffer til deaktiveringsvæske og Aptima oliereagens)</i>	
<i>Aptima Auto Detect Kit</i>	303013
<i>Multireagensglaseenheder (Multi-tube units, MTU)</i>	104772-02
<i>Panther affaldsposekit</i>	902731
<i>Panther afdækningsstykke til affaldsbeholder</i>	902714
Spidser, 1000 µl ledende, væskeregistrering	10612513 (Tecan)
Aptima prøveoverførselskit	301154C
Aptima prøveudtagnings- og transportkit til cervikale prøver	302657
Aptima gennemtrængelige hætter	105668
Uigennemtrængelige udskiftningshætter	103036A
Reservehætter til kit med 100 test:	
<i>Amplifikations- og probereagens-rekonstitutionsopløsninger</i>	CL0041
<i>Enzymreagens-rekonstitutionsopløsning</i>	CL0041
<i>TCR og selektionsreagens</i>	501604
Blegemiddel, minimum 5 % eller 0,7 M natriumhypochloritopløsning	—
Engangshandsker	—
Aptima-kit til overførsel af opløsning (kun for SurePath-prøver)	303658

Valgfri materialer

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

Fremgangsmåde ved testning på Panther-systemet

Bemærk: Se betjeningsvejledningen til Panther-systemet (*Panther System Operator's Manual*) for oplysninger vedr. fremgangsmåden for Panther-systemet.

A. Klargøring af arbejdsområde

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

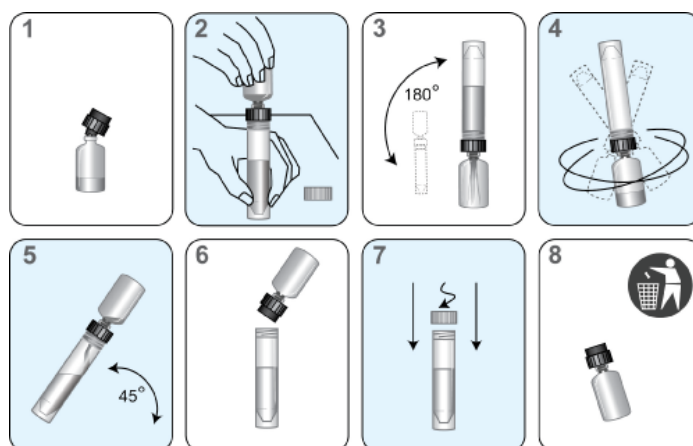
B. Reagensklargøring af et nyt kit

Bemærk: Reagensrekonstituering bør udføres, inden der påbegyndes arbejde på Panther-systemet.

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

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

Bemærk: Bland amplifikations-, enzym-, probe- og selektionsreagens omhyggeligt ved at vende dem forsigtigt op og ned, inden de sættes i systemet. Pas på, der ikke dannes skum, mens reagenserne vendes om.



Figur 2. Rekonstitueringsbehandling på Panther-systemet

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

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

- C. Klargøring af reagens for tidligere rekonstituerede reagenser
 1. Tidligere rekonstituerede amplifikations-, enzym- og probereagenser skal have stuetemperatur (15 °C til 30 °C), inden analysen påbegyndes.
 2. Hvis det rekonstituerede probereagens har udfældning, der ikke bliver opløst ved stuetemperatur, opvarmes det ved en temperatur på højst 60 °C i 1 til 2 minutter. Må ikke anvendes, hvis der er udfældning eller uklarhed.

3. Hvis wTCR har udfældning, opvarmes wTCR ved 42 °C til 60 °C i op til 90 minutter. Vent på, at wTCR når stuetemperatur inden brug. Må ikke anvendes, hvis der stadig er udfældning.
4. Hvis selektionsreagenset har udfældning, opvarmes selektionsreagenset ved 60 °C ± 1 °C i op til 45 minutter for at lette opløsning af udfældning. Bland forsigtigt flasken hvert 5. til 10. minut. Vent på, at selektionsreagenset når stuetemperatur inden brug. Må ikke anvendes, hvis der stadig er udfældning eller uklarhed.
5. Bland hvert reagens omhyggeligt ved at vende det forsigtigt om, inden det sættes i systemet. Pas på, der ikke dannes skum, mens reagenserne vendes om.
6. Der må ikke tilføjes reagens til reagensflaskerne. Panther-systemet bemærker og afviser flasker, der er helt fyldt op.

D. Prøvehåndtering

1. Lad prøverne (kalibratorer, prøver og alle eksterne kvalitetskontrolprøver fra brugeren) nå stuetemperatur før behandling.
2. **Prøver må ikke blandes i vortexmixer.**
3. Efterse prøvereagensglassene, inden de sættes i stativet. Hvis der er bobler eller en mindre mængde i prøveglasset, end der normalt er, centrifugeres glasset i 5 minutter ved 420 RCF for at sikre, at der ikke er væske i hættten.

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

E. Klargøring af systemet

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

Bemærkninger til fremgangsmåden

A. Kalibratorer

1. For at kunne fungere korrekt sammen med softwaren til Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther-systemet skal der bruges to replikater af den negative kalibrator og hver positiv kalibrator. Et hætteglas af hver kalibrator kan sættes i enhver position i stativet i enhver prøvebås på Panther-systemet. Pipettering af prøver begynder, når ét af de to følgende forhold er blevet opfyldt:
 - a. Positive og negative kalibratore er blevet behandlet af Panther-systemet.
 - b. Der er registreret gyldige resultater for kalibratorene på Panther-systemet.
2. Når kalibratorglassene er blevet pipetteret og behandles for et specifikt reagenskit, kan prøverne køres med det tilknyttede analysereagenskit i op til 24 timer, medmindre:
 - a. Kalibratorernes resultater er ugyldige.
 - b. Det tilknyttede analysereagenskit fjernes fra Panther-systemet.
 - c. Det tilknyttede analysereagenskit har overskredet stabilitetsgrænserne.
3. Forsøg på at pipettere mere end to replikater fra et kalibratorreagensglas kan føre til fejl pga. utilstrækkelig mængde.

B. Temperatur

Stuetemperatur vil sige 15 °C til 30 °C.

C. Handskepudder

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

Kvalitetskontrolprocedurer

A. Kriterier for kørselsvaliditet

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

- Mere end ét ugyldigt negativt kalibratorreplikat.
- Mere end ét ugyldigt replikat af positiv kalibrator 1.
- Mere end ét ugyldigt replikat af positiv kalibrator 2.
- Mere end 1 af 6 ugyldige kalibratorreplikater kombineret.

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

En ugyldig kørsel skal gentages. Afbrudte kørsler skal gentages.

B. Kriterier for godkendelse af kalibrator

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

	Tigris DTS-system	Panther-systemet
Negativ kalibrator		
18/45 RLU	≥ 0 og ≤ 60.000 RLU	≥ 0 og ≤ 60.000 RLU
IC/16 RLU	≥ 75.000 og ≤ 300.000 RLU	≥ 75.000 og ≤ 300.000 RLU
Positiv kalibrator 1		
18/45 RLU	≥ 850.000 og $\leq 2.200.000$ RLU	≥ 800.000 og $\leq 2.200.000$ RLU
IC/16 RLU	≤ 475.000 RLU	≤ 475.000 RLU
Positiv kalibrator 2		
18/45 RLU	≤ 115.000 RLU	≤ 115.000 RLU
IC/16 RLU	≥ 625.000 og $\leq 4.000.000$ RLU	≥ 625.000 og $\leq 4.000.000$ RLU

C. IC-cutoff

IC-cutoff bestemmes fra IC/16-analytsignalet fra de gyldige negative kalibratorreplikater.

$$\text{IC-cutoff} = 0,5 \times [\text{gennemsnitlig IC/16 RLU for gyldige negative kalibratorreplikater}]$$

D. Analyt 16-cutoff

Analyt-cutoff for HPV 16 bestemmes ud fra IC/16 RLU-signalet fra de gyldige negative kalibratorreplikater og de gyldige positive kalibrator 2-replikater.

$$\text{Analyt 16-cutoff} = 2 \times [\text{middelværdi IC/16 RLU for gyldige negative kalibratorreplikater}] + 0,1 \times [\text{middelværdi IC/16 RLU af gyldige positive kalibrator 2-replikater}]$$

E. Analyt 18/45-cutoff

Analyt-cutoff for HPV 18/45 bestemmes ud fra 18/45 RLU-signalet fra de gyldige negative kalibratorreplikater og de gyldige positive kalibrator 1-replikater.

$$\text{Analyt 18/45-cutoff} = 1 \times [\text{middelværdi 18/45 RLU af gyldige negative kalibratorreplikater}] + 0,18 \times [\text{middelværdi 18/45 RLU af gyldige positive kalibrator 1-replikater}]$$

Fortolkning af test

Testresultater bestemmes automatisk af analysesoftwarens. Et testresultat kan være negativt for både HPV 16 og HPV 18/45, negativt for HPV 16 og positivt for HPV 18/45, positivt for HPV 16 og negativt for HPV 18/45, positivt for både HPV 16 og HPV 18/45, eller ugyldigt som bestemt af IC RLU og S/CO-forhold, som beskrevet i tabellen herunder. Et testresultat kan også være ugyldigt pga. andre parametre (unormal kurveform) uden for de normalt forventede områder. Ugyldige testresultater bør gentages.

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

Bemærk: En ugyldig fortyndet prøve må ikke fortyndes. Hvis en fortyndet prøve giver et ugyldigt resultat, skal der indhentes en ny prøve fra patienten.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultat	Kriterier
Negativ - 16 Negativ - 18/45	IC/HPV 16 RLU \geq IC-cutoff og HPV 16 S/CO $<$ 1,00 og HPV 18/45 S/CO $<$ 1,00
Negativ - 16 Positiv - 18/45	HPV 16 S/CO $<$ 1,00 og HPV 18/45 S/CO \geq 1,00 og HPV 18/45 RLU \leq 3.000.000
Positiv - 16 Negativ - 18/45	HPV 16 S/CO \geq 1,00 og IC/HPV 16 RLU \leq 4.000.000 og HPV 18/45 S/CO $<$ 1,00
Positiv - 16 Positiv - 18/45	HPV 16 S/CO \geq 1,00 og IC/HPV 16 RLU \leq 4.000.000 og HPV 18/45 S/CO \geq 1,00 og HPV 18/45 RLU \leq 3.000.000
Ugyldig	HPV 16 S/CO $<$ 1,00 og HPV 18/45 S/CO $<$ 1,00 og IC/HPV 16 RLU $<$ IC-cutoff eller IC/HPV 16 RLU $>$ 4.000.000 eller HPV 18/45 RLU $>$ 3.000.000

Begrænsninger

- A. Der er ikke evalueret andre prøvetyper end dem, der er identificeret til den tilsigtede anvendelse.
- B. Præstationen af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay er ikke blevet evalueret hos personer vaccineret imod HPV.
- C. Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay er ikke blevet evalueret i tilfælde, hvor der er mistanke om seksuelt misbrug.
- D. Prævalensen af HPV-infektion i en population kan påvirke præstationen. Positive prædiktive værdier falder, når populationer med lav prævalens eller personer uden infektionsrisiko testes.
- E. ThinPrep liquid cytologiske prøver indeholdende mindre end 1 ml efter klargøring af et ThinPrep Pap-testslide betragtes som utilstrækkelige til Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.
- F. Testresultater kan være påvirket af forkert prøveudtagning, opbevaring eller prøvebehandling.
- G. Den interne kontrol overvåger trinene for target capture, amplifikation og detektion i analysen. Kontrollen er ikke beregnet til at kontrollere tilstrækkeligheden af cervikal prøvetagning.
- H. Et negativt Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultat udelukker ikke muligheden for cytologiske abnormaliteter eller senere eller tilgrundliggende CIN2, CIN3 eller cancer.
- I. Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay giver kvalitative resultater. Der kan derfor ikke påvises korrelation mellem størrelsen af et positivt analysesignal og ekspressionsniveauet af mRNA i en prøve.
- J. Detektion af højrisiko-HPV (type 16, 18 og 45) mRNA afhænger af antallet af kopier, der er til stede i prøven, og kan påvirkes af prøveudtagningsmetoder, patientrelaterede faktorer, infektionsstadiet og forekomst af interfererende stoffer.
- K. Infektion med HPV er ikke et tegn på cytologisk HSIL eller en tilgrundliggende høj grad af CIN, og betyder heller ikke, at patienten vil udvikle CIN2, CIN3 eller cancer. De fleste kvinder, der smittes med én eller flere typer højrisiko-HPV, udvikler ikke CIN2, CIN3 eller cancer.
- L. Følgende kan interferere med analysens præstation, hvis disse er til stede i højere koncentrationer end specificeret: Vaginale smøremidler (indeholdende Polyquaternium 15) ved 1 % w/v, svampemiddel (creme) (indeholdende tioconazol) ved 0,03 % w/v, slim ved 0,3 % w/v, intravaginale hormoner (indeholdende progesteron) ved 1 % w/v, trichomonas vaginalis ved 3×10^4 celler/ml.
- M. Høje koncentrationer af HPV 45 kan reducere Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay's evne til at detektere tilstedeværelse af HPV 16 ved lave niveauer.
- N. Virkningerne af andre mulige variabler såsom udflåd, brug af tamponer osv. samt prøveudtagningsvariabler, er ikke blevet evalueret.
- O. Brugen af dette produkt kan være begrænset til personale uddannet i brugen af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.
- P. Krydskontaminering af prøver kan forårsage falsk positive resultater. Overførselshyppigheden af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Tigris DTS-systemet og Panther-systemet var hhv. 0,35 % og 0,19 %, som bestemt i ikke-kliniske undersøgelser.
- Q. Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bør fortolkes sammen med andre kliniske og laboratoriedata, som klinikeren har til rådighed.

Tigris DTS-systemets forventede resultater: Prævalens af højrisiko-HPV mRNA

Prævalensen af infektion med højrisiko-HPV varierer betydeligt og er påvirket af adskillige faktorer, af hvilke alder er den vigtigste.^{19,20} Mange studier har undersøgt HPV-prævalens som bestemt ved detektion af HPV DNA, men få studier rapporterer prævalensen baseret på detektion af HPV-onkogen mRNA. Kvinder fra en række forskellige klinikker (n=18), som repræsenterede et bredt geografisk område og en forskelligartet population (10 stater i USA), blev tilmeldt en prospektiv klinisk undersøgelse kaldet CLEAR-forsøget, som evaluerede Aptima HPV-analysen, der detekterer 14 typer højrisiko-HPV.²¹ Prøver fra kvinder i CLEAR-forsøget med positive Aptima HPV-analyseresultater blev evalueret med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay i en særskilt klinisk undersøgelse. Prævalensen af HPV 16, 18 og 45, foruden de resterende 11 typer højrisiko-HPV observeret i den kliniske undersøgelse, baseret på resultater af testning med Aptima HPV-analysen og Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, blev klassificeret generelt, efter aldersgruppe og efter teststed. Resultaterne er vist i Tabel 1 for atypiske pladeceller af ubestemt betydning (ASC-US) og de negative for populationer med intraepitelial læsion eller -malignitet (NILM).

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

	Positivitetsrate % (x/n)							
	ASC-US population (≥ 21 år)				NILM population (≥ 30 år)			
	HPV 16 pos	HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	11 andre HR* pos	HPV 16 pos	HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	11 andre HR* pos
Alle	7,8 (71/912)	5,2 (47/912)	0,3 (3/912)	25,5 (233/912)	0,4 (47/10.846)	0,4 (47/10.846)	0 (0/10.846)	3,9 (421/10.846)
Aldersgruppe (år)								
21 til 29	13,2 (51/386)	4,9 (19/386)	0,5 (2/386)	38,3 (148/386)	N/A	N/A	N/A	N/A
30 til 39	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)
≥ 40	2,2 (6/269)	3,7 (10/269)	0 (0/269)	10,8 (29/269)	0,3 (17/6658)	0,3 (20/6658)	0 (0/6658)	3,0 (200/6658)
Teststed								
1	9,0 (27/301)	4,3 (13/301)	0,7 (2/301)	24,9 (75/301)	0,4 (13/3666)	0,5 (18/3666)	0 (0/3666)	3,8 (141/3666)
2	7,4 (23/310)	6,1 (19/310)	0 (0/310)	26,5 (82/310)	0,5 (18/3671)	0,5 (17/3671)	0 (0/3671)	3,7 (136/3671)
3	7,0 (21/301)	5,0 (15/301)	0,3 (1/301)	25,2 (76/301)	0,5 (16/3509)	0,3 (12/3509)	0 (0/3509)	4,1 (144/3509)

N/A = Ikke tilgængelig, HR = højrisiko, pos = positiv

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

Tigris DTS-systemets analysepræstation

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på anvendt i klinisk undersøgelse med ThinPrep væskebaserede cytologiprøver

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay blev evalueret ved brug af videresendte Pap-smearprøver udtaget fra kvinder, som havde givet deres samtykke i forbindelse med den prospektive kliniske multicenter-undersøgelse i USA kaldet CLEAR-forsøget. CLEAR-forsøget blev udført for at bestemme den kliniske præstation af Aptima HPV-analysen til detektion af cervikal intraepitelial neoplasie grad 2 eller mere alvorlig cervikal sygdom (\geq CIN2). Kvinderne blev tilmeldt enten ASC-US undersøgelsen eller NILM undersøgelsen afhængigt af resultaterne af deres videresendte ThinPrep væskebaserede cytologiprøver fra rutinemæssig screening for livmoderhalskræft. ASC-US undersøgelsespopulationen inkluderede kvinder i alderen 21 år og over med cytologiske ASC-US resultater, og NILM undersøgelsespopulationen inkluderede kvinder på eller over 30 år med cytologiske NILM resultater.

Kvinder fra 18 klinikker, primært obstetriske og gynækologiske klinikker, der dækkede et bredt geografisk område og en forskelligartet population, blev analyseret. Under CLEAR-forsøget blev residuale videresendte Pap-smearprøver testet med både Aptima HPV-analysen og en kommercielt tilgængelig HPV DNA-test. For det kliniske forsøg med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay blev prøver fra residuale videresendte smearprøver testet med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

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

I NILM undersøgelsen blev kvinder, der var positive med Aptima HPV-analysen og/eller den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test, såvel som vilkårligt udvalgte kvinder, som var negative med begge analyser, henvist til kolposkopi til baseline-evaluering. En ECC-biopsi blev indhentet fra hver kvinde, som fik foretaget kolposkopi. Der blev kun indhentet stansebiopsier fra synlige læsioner (direkte metode, 1 biopsi pr. læsion). Opfølgning af kvinder i NILM undersøgelsen, som ikke havde \geq CIN2 ved baseline, foregår i 3 år med årlige cytologiske konsultationer. Kvinder med ASC-US eller mere alvorlige cytologiske resultater under opfølgningsperioden henvises til kolposkopi ved anvendelse af samme biopsiprocedure som blev brugt til baseline-evalueringen.

Sygdomsstatus blev bestemt på grundlag af konsensus fra et histologisk evalueringssudvalg baseret på overensstemmelse mellem mindst 2 patologer med ekspertviden. Disse patologer blev holdt ubevidste om kvindernes HPV- og cytologiske status og om deres indbyrdes histologiske diagnoser. Investigatorer, klinikere og kvinder blev holdt ubevidste om resultater af Aptima HPV-analysen og kommercielt tilgængelige HPV DNA-testresultater indtil efter fuldførelsen af kolposkopikonsultationen for at undgå bias.

For at validere den tilsigtede anvendelse af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay som en reflekstest fra et positivt Aptima HPV-analyseresultat, var residuale videresendte Pap-smearprøver fra samtlige evaluerbare kvinder i ASC-US undersøgelsen og NILM undersøgelsen med et positivt Aptima HPV-analyseresultat kvalificerede til testning med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Klinisk præstation af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay til detektion af \geq CIN2 og cervikal intraepitelial neoplasie grad 3 eller mere alvorlig cervikal sygdom (\geq CIN3) blev evalueret.

ASC-US ≥ 21 års population: Klinisk præstation af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med ThinPrep væskebaserede cytologiprøver

Der var i alt 400 evaluerbare kvinder på 21 år og ældre med ASC-US cytologiske resultater og positive Aptima HPV-analyseresultater, hvis videresendte smearprøver opfyldte kravene til testning med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Af disse havde 46 kvinder ikke videresendte Pap-smearprøver tilgængelige til testning, og 6 havde ubestemte sygdomsdiagnoser. Alle blev ekskluderet fra analyse. De resterende 348 evaluerbare kvinder med konklusiv sygdomstilstand havde gyldige Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultater baseret på reflekstestning fra et positivt Aptima HPV-analyseresultat. Syvogtres (67) kvinder havde ≥CIN2 og 29 havde ≥CIN3.

Af de 348 evaluerbare kvinder med positive Aptima HPV-analyseresultater udviste 117 kvinder positive resultater med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, hvilket var tegn på forekomst af HPV 16 og/eller HPV 18/45. 231 havde negative resultater, hvilket var tegn på forekomst af én eller flere af de øvrige 11 typer højrisiko-HPV som detekteret med Aptima HPV-analysen (dvs. HPV-type 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 og 68). Yderligere 545 evaluerbare kvinder i alderen 21 år og ældre med cytologiske ASC-US resultater udviste negative resultater med Aptima HPV-analysen under CLEAR-forsøget. Et negativt resultat med Aptima HPV-analysen indicerede, at ingen af de 14 typer højrisiko-HPV var til stede, og resultatet blev regnet for negativt med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med henblik på analyse. Prævalens af ≥CIN2 og ≥CIN3 hos evaluerbare kvinder med cytologiske ASC-US resultater var hhv. 8,8 % og 3,7 %. Resultaterne af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ifølge Aptima HPV-analyseresultat og diagnoser baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel er vist i Tabel 2.

Tabel 2: ASC-US ≥ 21 års population: Resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay og diagnoser baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel

Aptima HPV-analyseresultat	AHPV-GT analyseresultat*	Fortolkning	Diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel						
			Uafgjort**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	I alt
Positiv	HPV 16 pos, HPV 18/45 neg	HPV 16 pos	1	27	18	11	14	0	71
	HPV 16 neg, HPV 18/45 pos	HPV 18/45 pos	3	23	14	3	3	1	47
	HPV 16 pos, HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 neg, HPV 18/45 neg	Andre HR HPV pos	2	125	73	23	10	0	233
I alt			6	176	105	38	28	1	354
Negativ	HPV 16/18/45 neg***	HR HPV neg	13	458	75	8	4	0	558
I alt			19	634	180	46	32	1****	912

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, CIN1 = cervikal intraepitelial neoplasia grad 1, HR = højrisiko, neg = negativ, pos = positiv

*Alle prøver udviste endelige resultater (efter afsluttende testning eller efter afklaring af initielt ugyldige resultater i proceduren).

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

***Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

****En kvinde havde adenocarcinom in situ (AIS).

Den absolutte sygdomsrisiko (\geq CIN2 og \geq CIN3) ifølge resultat af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV-analyse er vist i Tabel 8. Risikoen for \geq CIN2 hos kvinder med HPV-type 16, 18 og/eller 45 til stede var 29,1 %, sammenlignet med 14,3 % hos kvinder med én eller flere af de øvrige 11 typer højrisiko-HPV til stede og 2,2 % hos kvinder med ingen typer højrisiko-HPV til stede. Absolutte risici er vist efter aldersgruppe Tabel 4.

Tabel 3: ASC-US \geq 21 års population: Absolutte risici af \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay

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

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Table 4: ASC-US ≥ 21 års population: Absolutte risici af ≥CIN2 og ≥CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay efter aldersgruppe

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

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Den relative risiko for sygdom i forbindelse med positive versus negative udfald af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay er vist i Tabel 5. Kvinder, hos hvem HPV-type 16, 18 og/eller 45 forekom, var 13,2 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN2 og 22,1 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN3 end kvinder uden nogen typer højrisiko-HPV til stede. Kvinder, hos hvem HPV-type 16, 18 og/eller 45 forekom, var 2,0 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN2 og 3,8 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN3 end kvinder med én eller flere af de øvrige 11 typer højrisiko-HPV.

Tabel 5: ASC-US \geq 21 års population: Relative risici af \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay

Fortolkning af Aptima-analyseresultater*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relativ risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
HPV 16 og/eller 18/45 positiv vs HR HPV negativ	13,2 (7,0, 24,7)	22,1 (7,7, 63,8)
HPV 16 og/eller 18/45 positiv vs Anden HR HPV positiv	2,0 (1,3, 3,1)	3,8 (1,8, 7,8)
Anden HR HPV positiv vs HR HPV negativ	6,5 (3,4, 12,3)	5,9 (1,9, 18,6)
HR HPV positiv vs HR HPV negativ	8,7 (4,8, 15,9)	11,4 (4,0, 32,0)
Prævalens	8,8 % (79/893)	3,7 % (33/893)

CI = Konfidensinterval, HR = højrisiko

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Sandsynlighed (\geq CIN2 og \geq CIN3) for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultater er vist i Tabel 6. HPV-type 16, 18 og/eller 45 var 4,2 gange mere tilbøjelig til at være til stede hos en kvinde med \geq CIN2 og 5,1 gange mere tilbøjelig til at være til stede hos en kvinde med \geq CIN3.

Tabel 6: ASC-US population \geq 21 år: Sandsynlighed for \geq CIN2 og \geq CIN3 efter resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype og Aptima HPV Assay

Fortolkning af Aptima-analyseresultater*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Sandsynlighed (95 % CI)	Sandsynlighed (95 % CI)
HPV 16 og/eller 18/45 positiv	4,2 (3,0, 5,8)	5,1 (3,4, 6,9)
Anden 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)

CI = Konfidensinterval, HR = højrisiko

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

NILM ≥ 30 års population: Klinisk præstation af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med ThinPrep væskebaserede cytologiprøver

I alt var der 540 evaluerbare kvinder på 30 år og ældre med cytologiske NILM resultater og positive Aptima HPV-analyseresultater, hvis videresendte smearprøver opfyldte kravene til testning med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Af disse havde 25 kvinder ingen videresendte smearprøver til rådighed til testning. De blev alle ekskluderet fra analyse. De resterende 515 evaluerbare kvinder havde gyldige Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultater. Af disse fik 317 foretaget kolposkopi. Femten (15) kvinder havde ≥CIN2, og 10 havde ≥CIN3. 283 kvinder havde normal/CIN1-histologi. 19 kvinder havde ubestemt sygdomsstatus.

Af de 298 evaluerbare kvinder med konklusiv sygdomsstatus og positive Aptima HPV-analyseresultater havde 61 positive Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultater, hvilket var tegn på forekomst af HPV 16 og/eller HPV 18/45. 237 havde negative resultater, hvilket var tegn på forekomst af én eller flere af de øvrige 11 typer højrisiko-HPV. Yderligere 505 evaluerbare kvinder i alderen 30 år eller ældre med cytologiske NILM-resultater og konklusiv sygdomsstatus havde negative Aptima HPV-analyseresultater under CLEAR-forsøget. Et negativt Aptima HPV-analyseresultat var tegn på, at ingen af de 14 typer højrisiko-HPV var til stede, og de blev regnet for negative Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultater med hensyn til analyse. Resultaterne af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ifølge Aptima HPV-analyseresultat og diagnoser baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel er vist i Tabel 7.

Tabel 7: NILM ≥ 30 års population: Resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV-analysen ifølge diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel

Aptima HPV-analyseresultat	AHPV-GT analyseresultat*	Fortolkning	Diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel						
			Uafgjort**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	I alt
Positiv	HPV 16 pos, HPV 18/45 neg	HPV 16 pos	2	27	0	0	3	1	33
	HPV 16 neg, HPV 18/45 pos	HPV 18/45 pos	1	26	1	1	0	2	31
	HPV 16 pos, HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	0	0	0	0	0	0	0
	HPV 16 neg, HPV 18/45 neg	Andre HR HPV pos	16	218	11	4	4	0	253
I alt			19	271	12	5	7	3	317
Negativ	HPV 16/18/45 neg***	HR HPV neg	25	483	17	4	1	0	530
I alt			44	754	29	9	8	3****	847

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ

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

**44 kvinder deltog i kolposkopikonsultationen, men en diagnose kunne ikke bestemmes af følgende årsager: Der kunne ikke nås konsensus pga. utilstrækkelige prøver (n=28), ingen biopsier indsamlet pga. bagvedliggende faktorer (n=13), ingen biopsier indsamlet eller evalueret pga. fejl (n=3).

***Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

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

Af de 515 kvinder med positive Aptima HPV-analyseresultater og Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultater havde 217 kvinder ikke- verificeret (herunder ubestemt) sygdomsstatus (Tabel 8). Af de 10.331 kvinder med negative Aptima HPV-analyseresultater fra det oprindelige CLEAR-forsøg havde 9826 ikke-verificeret sygdomsstatus. Fordi kun vilkårligt udvalgte kvinder med negative resultater med både Aptima HPV-analysen og den kommercielt tilgængelige HPV DNA-test blev henvist til kolposkopi, var proportionen af kvinder med ikke-verificeret sygdomsstatus høj i denne gruppe (96,6 %). For at justere for denne verificeringsbias anvendtes der multipel imputation til at estimere antallet af kvinder med sygdom, der ville være blevet identificeret, hvis alle kvinder havde fået foretaget kolposkopi. Såvel de justerede præstationsestimater for verificeringsbias og de ikke-justerede præstationsestimater baseret på de 803 kvinder med verificeret sygdomsstatus er vist.

Tabel 8: NILM \geq 30 års population: Klassificering af evaluerbare NILM-kvinder ifølge Aptima HPV-analyse, Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HPV DNA-testresultater, sygdomsstatus (\geq CIN2 og \geq CIN3) og sygdomsverifikationsstatus

Aptima HPV-analyse-resultat*	AHPV-GT analyse-resultat*	HPV DNA-test	Kvinder i alt	Verificeret sygdomsstatus: \geq CIN2		Verificeret sygdomsstatus: \geq CIN3		Ikke-verificeret sygdomsstatus
				Sygdomsramte kvinder (\geq CIN2)	Ikke-sygdomsramte kvinder (\geq CIN2)	Sygdomsramte kvinder (\geq CIN3)	Ikke-sygdomsramte kvinder (\geq CIN3)	Kvinder med ukendt sygdomsstatus (% ukendt)
Positiv	Positiv	Positiv	83	6	48	5	49	29 (34,9 %)
	Positiv	Negativ	9	1	5	1	5	3 (33,3 %)
	Positiv	Intet resultat**	2	0	1	0	1	1 (50,0 %)
	Negativ	Positiv	271	7	171	4	174	93 (34,3 %)
	Negativ	Negativ	137	1	52	0	53	84 (61,3 %)
	Negativ	Intet resultat**	13	0	6	0	6	7 (53,8 %)
I alt			515	15	283	10	288	217 (42,1 %)
Negativ	N/A***	Positiv	306	3	178	1	180	125 (40,8 %)
	N/A***	Negativ	9420	1	322	0	323	9097 (96,6 %)
	N/A***	Intet resultat**	605	1	0	0	1	604 (99,8 %)
I alt			10.846	20	783	11	792	10.043 (92,6 %)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, N/A = ikke tilgængelig

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

**620 kvinder med Aptima HPV-analyseresultater havde ikke HPV DNA-testresultater primært pga. en utilstrækkelig mængde cytologisk prøvemateriale.

***Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

De justerede absolutte sygdomsrisici (\geq CIN2 og \geq CIN3) ifølge resultat af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV-analyse er vist i Tabel 9a. Risikoen for \geq CIN2 hos kvinder med tilstedeværelse af HPV-type 16, 18 og/eller 45 var 12,6 % sammenlignet med 3,4 % hos kvinder med én eller flere af de øvrige 11 typer højrisiko-HPV til stede og 0,6 % hos kvinder uden tilstedeværelse af højrisiko-HPV. De ikke-justerede absolutte sygdomsrisici er vist samlet i Tabel 9b og efter aldersgruppe i Tabel 10.

Table 9a: NILM ≥ 30 års population: Absolute risks of ≥CIN2 and ≥CIN3 for results of Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay and Aptima HPV-analysis (estimated adjusted for verification bias)

Aptima HPV-analyseresultat	AHPV-GT analyseresultat	Fortolkning	≥CIN2	≥CIN3
			Absolut risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)
Positiv	HPV 16 pos og/eller HPV 18/45 pos	HPV 16 og/eller HPV 18/45 pos	12,6 (3,7, 21,4)	9,5 (2,1, 16,8)
	HPV 16 pos, HPV 18/45 neg	Kun HPV 16 pos	14,5 (2,1, 26,9)	12,1 (0,7, 23,4)
	HPV 16 neg, HPV 18/45 pos	HPV 18/45 kun pos	10,7 (0,0, 22,5)	6,9 (0,0, 16,2)
	HPV 16 pos, HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	N/A	N/A
	HPV 16/18/45 neg	Andre HR HPV pos	3,4 (1,2, 5,6)	1,8 (0,1, 3,5)
	Pos eller neg	HR HPV pos	5,0 (2,6, 7,5)	3,2 (1,3, 5,2)
Negativ	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	0,6 (0,1, 1,2)	0,4 (0,0, 0,7)
Prævalens			0,9 %	0,5 %

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ, N/A = ikke tilgængelig

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysis blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Table 9b: NILM ≥ 30 års population: Absolute risks of ≥CIN2 and ≥CIN3 for results of Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay and Aptima HPV-analysis (unadjusted estimates)

Aptima HPV-analyseresultat	AHPV-GT analyseresultat	Fortolkning	≥CIN2	≥CIN3
			Absolut risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)
Positiv	HPV 16 pos og/eller HPV 18/45 pos	HPV 16 og/eller HPV 18/45 pos	11,5 (7/61) (5,4, 18,9)	9,8 (6/61) (4,6, 15,2)
	HPV 16 pos, HPV 18/45 neg	Kun HPV 16 pos	12,9 (4/31) (4,0, 26,0)	12,9 (4/31) (4,3, 23,8)
	HPV 16 neg, HPV 18/45 pos	HPV 18/45 kun pos	10,0 (3/30) (2,4, 23,0)	6,7 (2/30) (0,8, 17,7)
	HPV 16 neg, HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	N/A (0/0)	N/A (0/0)
	HPV 16/18/45 neg	Andre HR HPV pos	3,4 (8/237) (1,7, 5,3)	1,7 (4/237) (0,6, 3,2)
	Pos eller neg	HR HPV pos	5,0 (15/298) (3,6, 6,2)	3,4 (10/298) (2,3, 3,9)
Negativ	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)
Prævalens			2,5 % (20/803)	1,4 % (11/803)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ, N/A = ikke tilgængelig

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysis blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Table 10: NILM ≥ 30 års population: Absolutte risici af ≥CIN2 og ≥CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV-analysen efter aldersgruppe (ikke-justerede estimater)

	Aptima HPV-analyseresultat	AHPV-GT analyseresultat	Fortolkning	≥CIN2	≥CIN3
				Absolut risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)
30 til 39 år	Positiv	HPV 16 pos og/eller HPV 18/45 pos	HPV 16 og/eller HPV 18/45 pos	8,8 (3/34) (2,2, 17,8)	5,9 (2/34) (1,0, 13,3)
		HPV 16 pos, HPV 18/45 neg	Kun HPV 16 pos	0,0 (0/17) (0,0, 15,5)	0,0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16 neg, HPV 18/45 pos	HPV 18/45 kun pos	17,6 (3/17) (3,2, 35,4)	11,8 (2/17) (1,3, 27,0)
		HPV 16 pos, HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	N/A (0/0)	N/A (0/0)
		HPV 16/18/45 neg	Andre HR HPV pos	4,0 (5/124) (1,7, 6,2)	2,4 (3/124) (0,7, 4,2)
		Pos eller neg	HR HPV pos	5,1 (8/158) (3,2, 6,1)	3,2 (5/158) (1,5, 4,0)
	Negativ	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	0,5 (1/217) (0,0, 1,9)	0,5 (1/217) (0,0, 1,7)
Prævalens				2,4 % (9/375)	1,6 % (6/375)
≥ 40 år	Positiv	HPV 16 pos og/eller HPV 18/45 pos	HPV 16 og/eller HPV 18/45 pos	14,8 (4/27) (4,7, 27,3)	14,8 (4/27) (5,1, 22,8)
		HPV 16 pos, HPV 18/45 neg	Kun HPV 16 pos	28,6 (4/14) (6,3, 50,7)	28,6 (4/14) (6,4, 46,5)
		HPV 16 neg, HPV 18/45 pos	HPV 18/45 kun pos	0,0 (0/13) (0,0, 20,1)	0,0 (0/13) (0,0, 17,1)
		HPV 16 pos, HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	N/A (0/0)	N/A (0/0)
		HPV 16/18/45 neg	Andre HR HPV pos	2,7 (3/113) (0,7, 5,8)	0,9 (1/113) (0,0, 3,1)
		Pos eller neg	HR HPV pos	5,0 (7/140) (2,6, 7,0)	3,6 (5/140) (1,9, 4,2)
	Negativ	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	1,4 (4/288) (0,5, 2,5)	0,0 (0/288) (0,0, 0,8)
Prævalens				2,6 % (11/428)	1,2 % (5/428)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ, N/A = ikke tilgængelig
 *Kvinder med negative Aptima HPV-analyseresultater blev regnet for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

De relative sygdomsrisici for positive versus negative udfald af Aptima 16 18/45 Genotype Assay er vist i Tabel 11 (justeret for verificeringsbias) og Tabel 12 (ikke-justeret). Kvinder, hos hvem HPV-type 16, 18 og/eller 45 forekom, var 20,9 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN2 og 29,4 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN3 end kvinder uden nogen typer højrisiko-HPV til stede. Kvinder, hos hvem HPV-type 16, 18 og/eller 45 forekom, var 3,7 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN2 og 5,3 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN3 end kvinder med én eller flere af de øvrige 11 typer højrisiko-HPV.

Tabel 11: NILM \geq 30 års population: Relative risici af \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV-analysen (estimer justeret for verificeringsbias)

Fortolkning af Aptima-analysetest*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relativ risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
HPV 16 og/eller 18/45 pos vs HR HPV neg	20,9 (6,3, 69,3)	29,4 (7,2, 120,8)
HPV 16 og/eller 18/45 pos vs Anden HR HPV pos	3,7 (1,5, 9,5)	5,3 (1,5, 18,2)
Anden HR HPV pos vs HR HPV neg	5,6 (1,8, 17,7)	5,6 (1,2, 26,0)
HR HPV pos vs HR HPV neg	8,5 (2,9, 24,8)	10,1 (2,7, 38,2)
Prævalens	0,9 %	0,5 %

CI = Konfidensinterval, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Tabel 12: NILM \geq 30 års population: Relative risici for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV-analysen (ikke-justerede estimer)

Fortolkning af Aptima-analysetest*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relativ risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
HPV 16 og/eller 18/45 pos vs HR HPV neg	11,6 (3,8, 35,4)	49,7 (6,1, 406)
HPV 16 og/eller 18/45 pos vs Anden HR HPV pos	3,4 (1,3, 9,0)	5,8 (1,7, 20,0)
Anden HR HPV pos vs HR HPV neg	3,4 (1,1, 10,3)	8,5 (1,0, 75,8)
HR HPV pos vs HR HPV neg	5,1 (1,9, 13,8)	16,9 (2,2, 132)
Prævalens	2,5 % (20/803)	1,4 % (11/803)

CI = Konfidensinterval, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Sandsynlighed (\geq CIN2 og \geq CIN3) efter resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay er vist i Tabel 13 (justeret for verificeringsbias) og Tabel 14 (ikke-justeret). HPV-type 16, 18 og/eller 45 var 17,1 gange mere tilbøjelig til at være til stede hos en kvinde med \geq CIN2 og 21,9 gange mere tilbøjelig til at være til stede hos en kvinde med \geq CIN3.

Tabel 13: NILM \geq 30 års population: Sandsynlighed for \geq CIN2 og \geq CIN3 efter resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (estimer justeret for verificeringsbias)

Fortolkning af Aptima-analysetest*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Sandsynlighed (95 % CI)	Sandsynlighed (95 % CI)
HPV 16 og/eller 18/45 pos	17,1 (6,2, 46,9)	21,9 (7,3, 65,2)
Andre HR HPV pos	4,2 (1,7, 10,1)	3,8 (1,2, 12,6)
HR HPV negativ	0,7 (0,5, 1,0)	0,7 (0,4, 1,1)

CI = Konfidensinterval, HR = højrisiko, pos = positiv

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Tabel 14: NILM \geq 30 års population: Sandsynlighed for \geq CIN2 og \geq CIN3 efter resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (ikke justerede estimer)

Fortolkning af Aptima-analysetest*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Sandsynlighed (95 % CI)	Sandsynlighed (95 % CI)
HPV 16 og/eller 18/45 pos	5,1 (2,3, 9,1)	7,9 (3,5, 12,9)
Andre HR HPV pos	1,4 (0,7, 2,2)	1,2 (0,4, 2,3)
HR HPV negativ	0,4 (0,1, 0,7)	0,1 (0,0, 0,6)

CI = Konfidensinterval, HR = højrisiko, pos = positiv

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Klinisk præstation af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med SurePath væskebaserede cytologiprøver

Der blev indsamlet SurePath væskebaserede cytologiprøver fra canadiske kvinder, som blev henvist til opfølgning på grund af en eller flere unormale Pap-test, en HPV-infektion eller anden årsag. Der blev overført en afmålt portion (0,5 ml) af hver prøve til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel, og den portion blev derefter behandlet med Aptima-overførselsopløsning. Et enkelt replikat af hver prøve blev testet med Aptima HPV-analysen (n=494). Positive prøver blev derefter testet med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Der blev fjernet en separat afmålt portion (1 ml) af hver prøve til evaluering med en kommercielt tilgængelig HPV PCR-test (n=557). Den absolutte sygdomsrisiko (\geq CIN3) ifølge resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV-analyse er vist i Tabel 15. Lignende resultater vises for den kommercielt tilgængelige HPV PCR-test, som differentierer HPV 16 og HPV 18, men ikke HPV 45, separat fra de andre højrisikogenotyper. Den relative sygdomsrisiko for genotypepositive versus -negative resultater vises i Tabel 16 for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og HPV PCR-testen.

Tabel 15: Absolutte risici af \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og en kommercielt tilgængelig HPV PCR-test

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

HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*HPV PCR-testen differentierer kun HPV 16 og HPV 18 fra de andre 12 højrisikogenotyper, inklusive HPV 45.

**Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Tabel 16: Relative risici af \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og en kommercielt tilgængelig HPV PCR-test

Aptima-analyseresultater		HPV PCR-testresultater	
Fortolkning af test	Relativ risiko \geq CIN3 (95 % CI)	Fortolkning af test	Relativ risiko \geq CIN3 (95 % CI)
HPV 16 og/eller 18/45 positiv vs HR HPV negativ	14,8 (4,3-50,3)	HPV 16 og/eller 18 positiv vs HR HPV negativ	12,6 (3,8-41,9)
HPV 16 og/eller 18/45 positiv vs anden HR HPV positiv	2,0 (0,8-4,6)	HPV 16 og/eller 18 positiv vs anden HR HPV positiv	3,9 (1,6-9,5)
Anden HR HPV positiv vs HR HPV negativ	7,5 (2,0-28,6)	Anden HR HPV positiv vs HR HPV negativ	3,2 (0,8-12,8)
HR HPV positiv vs HR HPV negativ	10,0 (3,0-32,7)	HR HPV positiv vs HR HPV negativ	7,4 (2,3-24,3)
Prævalens	4,9 %	Prævalens	5,0 %

Klinisk præstation af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med cervikale prøveudtagnings- og transportprøver

CSCT-prøver blev indsamlet fra kvinder i forbindelse med rutinemæssig screening eller opfølgingskonsultationer og testet med Aptima HPV-analysen. Residuale CSCT-prøver (n=378) med et positivt Aptima HPV-analyseresultat blev testet med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Tigris DTS-systemet. HPV-genotypen af hver prøve blev bestemt ved hjælp af en DNA-test til genotypebestemmelse. Prøver med uoverensstemmende resultater mellem testen til genotypebestemmelse (DNA og Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay) blev testet med en valideret revers transkriptase PCR-sekventeringstest for at afklare deres HPV 16, HPV 18 og HPV 45 status. Klinisk overensstemmelse (positiv og negativ) af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay til detektion af højrisiko-HPV 16, 18 og 45 blev bestemt. Resultaterne er vist i Tabel 17.

Tabel 17: Klinisk overensstemmelse af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Tigris DTS System til detektion af højrisiko-HPV 16, 18 og 45 i CSCT-prøver

		Referencemetode				I alt
		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
	I alt	126	44	9	199	378

Pos = positiv, neg = negativ

Positiv overensstemmelse: 98,3 % (176/179) (95 % CI: 95,2, 99,4)

Negativ overensstemmelse: 99,0 % (197/199) (95 % CI: 96,4, 99,7)

Analytisk sensitivitet

Detektionsgrænsen (LOD) ved det kliniske cutoff er en koncentration, der er positiv (ligger over det kliniske cutoff) 95 % ad gangen. LOD for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay blev bestemt ved at teste individuelle negative kliniske ThinPrep væskebaserede cytologiprøver tilsat HPV *in vitro* transkripter i forskellige koncentrationer. Tredive replikater af hvert kopiniveau blev testet med hvert af tre reagenslots for i alt 90 replikater. Testningen fandt sted over 6 dage, med 3 kørsler udført pr. dag og 5 replikater af en bestemt genotype testet i hver kørsel. 95 % detektionsgrænsen (Tabel 18) blev beregnet med en Probit-regressionsanalyse af positivitetsresultaterne for hvert fortyndingspanel.

Tabel 18: Detektionsgrænsen ved det kliniske cutoff af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

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

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

Analysepræcision

Præcisionen af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay blev evalueret i to undersøgelser vha. det samme 22-medlems panel. Undersøgelse 1 til bestemmelse af analysens reproducerbarhed blev udført på 3 eksterne teststeder. Undersøgelse 2 til bestemmelse af præcision i laboratoriet blev udført internt. Panelet inkluderede 14 HPV 16 og/eller 18/45-positive medlemmer med koncentrationer på eller over analysens detektionsgrænse (forventet positivitet: $\geq 95\%$), 5 HPV 16 og/eller 18/45-positive medlemmer med koncentrationer under analysens detektionsgrænse (forventet positivitet: $> 0\%$ til $< 25\%$), og 3 HPV-negative medlemmer. HPV 16 og/eller 18/45-positive panelmedlemmer blev klargjort ved tilsætning med HPV-inficerede dyrkede celler (SiHa, HeLa og MS751; ATCC, Manassas, Virginia, USA) i poolede residuale ThinPrep væskebaserede cytologiprøver, eller ved at fortynde HPV 16, 18 og/eller 45 kliniske prøver i poolede residuale ThinPrep væskebaserede cytologiprøver. HPV-negative panelmedlemmer blev klargjort med poolede ThinPrep væskebaserede cytologiprøver.

I undersøgelse 1 udførte 2 operatører på hvert af de 3 teststeder (1 instrument pr. sted) 2 arbejdslistes for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay pr. dag i løbet af 3 dage. Testning blev udført ved brug af 1 reagenslot. Hver arbejdsliste indeholdt 3 replikater af hvert reproducerbarhedspanelmedlem. Ethundredeotte (108) individuelle prøvereagensglas blev testet for hvert panelmedlem (3 steder x 1 instrument x 2 operatører x 1 lot x 2 arbejdslistes pr. dag x 3 dage x 3 replikater). I undersøgelse 2 fandt testningen sted internt over 20 dage med i alt 162 reaktioner testet for hvert panelmedlem (1 sted x 3 instrumenter x 3 operatører x 3 lot x 2 arbejdslistes x 3 replikater).

Panelmedlemmerne er beskrevet i Tabel 19a og Tabel 19b sammen med en oversigt over overensstemmelse med forventede resultater for hhv. HPV 16 og HPV 18/45.

Table 19a: Præcision af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay – undersøgelse 1 og 2: Panelbeskrivelse og procent overensstemmelse med forventede resultater for HPV 16

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

CI = Score for konfidensinterval

Bemærk: Procent overensstemmelse kan være blevet påvirket af variationer i tilsætning, fortynding og/eller afmåling.

Table 19b: Præcision af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay – undersøgelse 1 og 2: Panelbeskrivelse og procent overensstemmelse med HPV 18/45, forventede resultater

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

CI = Score for konfidensinterval

Bemærk: Procent overensstemmelse kan være blevet påvirket af variationer i tilsætning, fortynding og/eller afmåling.

Krydsreaktivitet

Den analytiske specificitet af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay blev evalueret med pools af residuale ThinPrep væskebaserede cytologiprøver fortyndet i forholdet 1:2,9 i STM (svarende til prøver overført til et Aptima-overførselsglas) og tilsat dyrkede bakterier, gær eller svampe, dyrket virus, eller ikke-target HPV *in vitro* transkripter. Organismer og testkoncentrationer, for hvilke der ikke blev observeret krydsreaktivitet, er identificeret i Tabel 20. Undersøgelseskriterierne for vurdering af virkningen fra forekomsten af mikroorganismer på analysens specificitet var baseret på positivitet.

Tabel 20: Analytisk specificitetspanel: Organismer og koncentration uden krydsreaktivitet

Organisme	Testkoncentration uden krydsreaktivitet	Organisme	Testkoncentration uden krydsreaktivitet
Bakterier			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium*</i>	2,5x10 ⁶ kopier/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 ⁵ IFU/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Prevotella bivia</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml		
Ikke-targetterede højrisiko HPV-genotyper*			
HPV 31	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 56	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 33	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 58	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 35	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 59	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 39	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 66	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 51	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 68	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 52	2,5x10 ⁶ kopier/ml		
Gær/protozoer			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis**</i>	1x10 ⁵ celler/ml
Vira			
Adenovirus	5,25x10 ⁷ PFU/ml	HIV-1	2,5x10 ⁶ kopier/ml
Cytomegalovirus	1,58x10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	Herpes simplex virus 1	3,39x10 ⁶ TCID ₅₀ /ml
Epstein-Barr virus	1,59x10 ⁵ TD ₅₀ /ml	Herpes simplex virus 2	2,29x10 ⁶ TCID ₅₀ /ml

Tabel 20: Analytisk specificitetspanel: Organismer og koncentration uden krydsreaktivitet (*forts.*)

Organisme	Testkoncentration uden krydsreaktivitet	Organisme	Testkoncentration uden krydsreaktivitet
Ikke-targetterede øvrige HPV-genotyper*			
HPV 6	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 53	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 11	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 67	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 26	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 69	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 30	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 70	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 34	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 73	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 42	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 82	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 43	2,5x10 ⁶ kopier/ml	HPV 85	2,5x10 ⁶ kopier/ml
HPV 44	2,5x10 ⁶ kopier/ml		

CFU = Kolonidannende enheder, PFU = Plaquedannende enheder, TD₅₀ = Transformationsdosis 50, TCID₅₀ = Vævs kulturinfricerende dosis 50

**In vitro* transkript testet.

**Selv om der ikke blev observeret krydsreaktivitet for *Trichomonas vaginalis*, blev der observeret interferens (se herunder).

Den analytiske sensitivitet af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ved tilstedeværelse af mikroorganismer blev evalueret med det samme panel, som er beskrevet i Tabel 20, som også blev tilsat en lav koncentration HPV-inficerede SiHa-celler (1,6 celler pr. reaktion) og HPV-inficerede HeLa-celler (0,3 celler/reaktion). Undersøgelsens kriterier for evaluering af effekten af tilstedeværelsen af mikroorganismer på analysens sensitivitet var baseret på positivitet. Tilstedeværelse af mikroorganismer interfererede ikke med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, med undtagelse af *trichomonas vaginalis* (TV). Interferens blev observeret med TV ved tilstedeværelse i koncentrationer, der var større end 3 x 10⁴ celler/ml.

Interferens

Stofferne beskrevet i Tabel 21 blev hver for sig tilsat i poolede ThinPrep væskebaserede cytologiprøver fortyndet i forholdet 1:2,9 i STM ved de koncentrationer, der er vist i tabellen. Alle stoffer blev testet med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ved tilstedeværelse og fravær af HPV-inficerede dyrkede celler (SiHa, 1,6 celler/reaktion og HeLa, 0,3 celler/reaktion). Der blev observeret interferens med følgende, hvis til stede i koncentrationer, der var højere end de specificerede: Vaginale smøremidler (indeholdende Polyquaternium 15) ved 1 % w/v, svampemiddel (creme) (indeholdende tioconazol) ved 0,03 % w/v, slim ved 0,3 % w/v, intravaginale hormoner (indeholdende progesteron) ved 1 % w/v.

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

Produktkategori	Produktmærke eller -type	Højeste testede koncentration, som ikke interfererede med analysen*
Vaginalt smøremiddel	"KY" Natural Feeling vaginal smørevæske	10 % v/v
	up & up (fra Target) personligt smøremiddel (væske)	
	Astroglide**	1 % w/v
Spermicid/ præventionsmiddel (gel)	Vaginalt præventionsmiddel (skum) (VCF)	10 % w/v
	Options Conceptrol vaginalt præventionsmiddel (gel)	
Svampemiddel (creme)	up & up (fra Target) miconazol 3	10 % w/v
	Monistat 3 kombipakke	
	up & up (fra Target) Tioconazol 1	0,03 % w/v
Feminin intimvask	Summer's Eve intimvask	10 % v/v
	up & up (fra Target) feminin intimvask	
Feminin intimspray	Summer's Eve feminin deodorantspray	10 % w/v
	FDS feminin deodorantspray	
Slim	Porcin mucin	0,3 % w/v
Intravaginale hormoner	Estrace vaginal creme (estrogen)	10 % w/v
	Crinone creme (progesteron)	1 % w/v
Fuldblod***	Fuldblod	5 % v/v
Leukocytter	leukocytter	1x10 ⁷ celler/ml
Iseddikesyre, vaskeopløsning [^]	Iseddikesyre + CytoLyt opløsning	2,6 % v/v

*Koncentration i testprøven. ThinPrep væskebaseret cytologiprøve fortyndet i forholdet 1:2,9 i STM (svarende til prøver overført til et Aptima-overførselsglas)

**Personligt smøremiddel indeholdende Polyquaternium 15.

***Fuldblod interfererede med analysen når til stede med en 10 % v/v testkoncentration

[^]Iseddikesyre som vaskeopløsning klargjort ved at blande 1 del iseddike og 9 dele Cytolyt-opløsning som angivet i brugervejledningen til ThinPrep 2000-systemet (ThinPrep 2000 System Operator's Manual).

Forventede resultater for Panther-systemet: Prævalens af højrisiko-HPV mRNA

Prævalensen af infektion med højrisiko-HPV varierer betydeligt og er påvirket af adskillige faktorer, af hvilke alder er den vigtigste.^{19,20} Mange studier har undersøgt HPV-prævalens som bestemt ved detektion af HPV DNA, men få studier rapporterer prævalensen baseret på detektion af HPV-onkogen mRNA. Kvinder fra en række forskellige klinikker (n=18), som repræsenterede et bredt geografisk område og en forskelligartet population (10 stater i USA), blev tilmeldt en prospektiv klinisk undersøgelse kaldet CLEAR-forsøget, som evaluerede Aptima HPV-analysen, der detekterer 14 typer højrisiko-HPV.²¹ Prøver fra kvinder i CLEAR-forsøget med positive Aptima HPV-analyseresultater på Panther-systemet blev evalueret på tre teststeder med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther-systemet i en særskilt klinisk undersøgelse. Prævalensen af HPV 16, 18/45 såvel som de resterende 11 typer højrisiko-HPV observeret i den kliniske undersøgelse, baseret på resultater af testning med Aptima HPV-analysen og Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther-systemet, blev klassificeret generelt og efter aldersgruppe og efter teststed. Et negativt Aptima HPV-analyseresultat på Panther-systemet indikerer, at ingen af de 14 typer højrisiko-HPV er til stede, og de blev regnet for negative Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultater på Panther-systemet med hensyn til analyse. Resultaterne er vist i Tabel 22 for populationer med ASC-US (atypiske pladeceller af ubestemt betydning) og NILM (negative for intraepitelial læsion eller malignitet).

Tabel 22: Prævalens af højrisiko-HPV mRNA i populationer efter aldersgruppe, teststed og alle kombineret

	Positivitetsrate % (x/n)							
	ASC-US population (≥ 21 år)				NILM population (≥ 30 år)			
	HPV 16 pos	HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	11 andre HR* pos	HPV 16 pos	HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	11 andre HR* pos
Alle	7,8 (71/911)	5,3 (48/911)	0,3 (3/911)	26,0 (237/911)	0,5 (50/10.839)	0,5 (49/10.839)	< 0,1 (1/10.839)	3,6 (391/10.839)
Aldersgruppe (år)								
21 til 29	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	N/A	N/A	N/A	N/A
30 til 39	5,5 (14/255)	6,7 (17/255)	0,4 (1/255)	23,1 (59/255)	0,7 (31/4183)	0,7 (31/4183)	0 (0/4183)	5,1 (215/4183)
≥ 40	1,9 (5/268)	4,1 (11/268)	0 (0/268)	11,6 (31/268)	0,3 (19/6656)	0,3 (18/6656)	< 0,1 (1/6656)	2,6 (176/6656)
Teststed**								
1	5,6 (17/304)	6,6 (20/304)	0,3 (1/304)	27,0 (82/304)	0,4 (16/3610)	0,4 (16/3610)	< 0,1 (1/3610)	3,6 (130/3610)
2	9,6 (29/303)	3,6 (11/303)	0,3 (1/303)	26,4 (80/303)	0,5 (18/3614)	0,4 (15/3614)	0 (0/3614)	3,6 (130/3614)
3	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3615)	0,5 (18/3615)	0 (0/3615)	3,6 (131/3615)

N/A = Ikke tilgængelig, HR = højrisiko, pos = positiv

Bemærk: Kvinder med negative Aptima HPV-analyseresultater på Panther-systemet blev regnet for negative Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultater på Panther-systemet med henblik på analyse.

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

** I NILM-populationen blev ikke alle forsøgsparticipanter med negative Aptima HPV-analyseresultater på Panther-systemet testet med Aptima 16 18/45 Genotype Assay på Panther-systemet. I analysen ifølge teststeder blev resultaterne for disse kvinder vilkårligt tildelt ét af de 3 teststeder.

Panther-systemet – analysepræstation

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på anvendt i klinisk undersøgelse med ThinPrep væskebaserede cytologiprøver

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther-systemet blev evalueret ved brug af videresendte cytologiske prøver indsamlet fra kvinder, som havde givet deres samtykke, i forbindelse med den prospektive kliniske multicenter-undersøgelse i USA kaldet CLEAR-forsøget. CLEAR-forsøget blev udført for at bestemme den kliniske præstation af Aptima HPV-analysen på Tigris DTS-systemet til detektion af cervikal intraepitelial neoplasie grad 2 eller mere alvorlig cervikal sygdom (\geq CIN2). Kvinderne blev tilmeldt enten ASC-US undersøgelsen eller NILM undersøgelsen afhængigt af resultaterne af deres videresendte ThinPrep væskebaserede cytologiprøver fra rutinemæssig screening for livmoderhalskræft. ASC-US undersøgelsespopulationen inkluderede kvinder i alderen 21 år og over med cytologiske ASC-US resultater, og NILM undersøgelsespopulationen inkluderede kvinder på eller over 30 år med cytologiske NILM resultater.

Kvinder fra 18 klinikker, primært obstretriske og gynækologiske klinikker, der dækkede et bredt geografisk område og en forskelligartet population, blev analyseret. I løbet af CLEAR-forsøget blev residuale videresendte cytologiske prøver testet med både Aptima HPV-analysen på Tigris DTS-systemet og en FDA-godkendt HPV DNA-test. Kvalificerede residuale videresendte cytologiske prøver fra CLEAR-forsøget blev testet med Aptima HPV-analysen på Panther-systemet. For det kliniske forsøg med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay blev prøver fra de residuale videresendte cytologiske prøver testet med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther-systemet.

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

I NILM-undersøgelsen blev kvinder med positive Aptima HPV-analyseresultater på Tigris DTS-systemet og/eller den FDA-godkendte HPV DNA-test, såvel som vilkårligt udvalgte kvinder, som var negative med begge analyser, henvist til kolposkopi til baseline-evaluering. En ECC-biopsi blev indhentet fra hver kvinde, som fik foretaget kolposkopi. Der blev kun indhentet stansebiopsier fra synlige læsioner (direkte metode, 1 biopsi pr. læsion). Opfølgning af kvinder i NILM undersøgelsen, som ikke havde \geq CIN2, foregår i 3 år med årlige cytologiske konsultationer. Kvinder med ASC-US eller mere alvorlige cytologiske resultater under opfølgningsperioden henvises til kolposkopi ved anvendelse af samme biopsiprocedure som blev brugt til baseline-evalueringen.

Sygdomsstatus blev bestemt på grundlag af konsensus fra et histologisk evalueringsudvalg baseret på overensstemmelse mellem mindst 2 patologer med ekspertviden. Disse patologer blev holdt ubevidste om kvindernes HPV- og cytologiske status og om deres indbyrdes histologiske diagnoser. Investigatorer, klinikere og kvinderne blev holdt ubevidste om resultaterne af HPV-testen, indtil efter den fuldførte kolposkopikonsultation for at undgå bias.

For at validere den tilsigtede anvendelse af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther-systemet som en reflekstest for en positiv Aptima HPV-analyseprøve var residuale videresendte cytologiske prøver fra alle evaluerbare kvinder i ASC-US undersøgelsen og NILM undersøgelsen med et positivt Aptima HPV-analyseresultat kvalificerede til testning med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther-systemet. Klinisk præstation af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther-systemet til detektion af \geq CIN2 og cervikal intraepitelial neoplasie grad 3 eller mere alvorlig cervikal sygdom (\geq CIN3) blev evalueret.

ASC-US ≥ 21 års population: Klinisk præstation af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med ThinPrep væskebaserede cytologiprøver

I alt var der 404 evaluerbare kvinder i alderen 21 år og ældre med cytologiske ASC-US resultater og positive Aptima HPV-analyseresultater på Panther-systemet, hvis videresendt cytologiske prøver var kvalificerede til testning med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther-systemet. Af disse havde 45 kvinder ikke en tilstrækkelig mængde videresendt cytologisk prøvemateriale til rådighed til testning i denne undersøgelse, og 6 havde ubestemte sygdomsdiagnoser. Efter en analyse af manglende værdier blev de ikke inkluderet i præstationsberegningerne. De 353 evaluerbare kvinder med konklusiv sygdomsstatus havde gyldige Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultater på Panther-systemet baseret på reflekstestning fra et positivt Aptima HPV-analyseresultat på Panther-systemet. Syvogtres (67) kvinder havde ≥CIN2 og 30 havde ≥CIN3.

Af de 353 evaluerbare kvinder med positive Aptima HPV-analyseresultater på Panther-systemet udviste 118 kvinder positive resultater med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther-systemet, hvilket var tegn på forekomst af HPV 16 og/eller HPV 18/45. 235 havde negative resultater, hvilket var tegn på forekomst af én eller flere af de øvrige 11 typer højrisiko-HPV som detekteret med Aptima HPV-analysen (dvs. HPV-type 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 og 68). Yderligere 539 evaluerbare kvinder i alderen 21 år og ældre med cytologiske ASC-US resultater udviste negative Aptima HPV-analyseresultater på Panther-systemet. Et negativt Aptima HPV-analyseresultat indicerede, at ingen af de 14 typer højrisiko-HPV var til stede, og resultatet blev regnet for negativt med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther-systemet med henblik på analyse. Prævalens af ≥CIN2 og ≥CIN3 hos evaluerbare kvinder med cytologiske ASC-US resultater var hhv. 9,1 % og 3,8 %. På basis af testning med Panther-systemet er resultaterne af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ifølge Aptima HPV-analyseresultatet og diagnoser baseret på konsensus fra histologisk vurderingspanel vist i Tabel 23.

Tabel 23: ASC-US ≥ 21 års population: Resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay og diagnoser baseret på konsensus fra histologisk vurderingspanel

Aptima HPV-analyseresultat	AHPV-GT analyseresultat*	Fortolkning	Diagnose baseret på konsensus fra histologisk vurderingspanel						
			Uafgjort**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	I alt
Positiv	HPV 16 pos, HPV 18/45 neg	HPV 16 pos	1	26	18	11	15	0	71
	HPV 16 neg, HPV 18/45 pos	HPV 18/45 pos	3	23	16	2	3	1	48
	HPV 16 pos, HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 neg, HPV 18/45 neg	Andre HR HPV pos	2	132	70	23	10	0	237
I alt			6	182	104	37	29	1	359
Negativ	HPV 16/18/45 neg***	HR HPV neg	13	450	75	10	4	0	552
I alt			19	632	179	47	33	1****	911

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, CIN1 = cervikal intraepitelial neoplasia grad 1, HR = højrisiko, neg = negativ, pos = positiv

*Alle prøver udviste endelige resultater (efter afsluttende testning eller efter afklaring af initielt ugyldige resultater i proceduren).

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

***Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

****En kvinde havde adenocarcinom in situ (AIS).

Den absolutte sygdomsrisiko (\geq CIN2 og \geq CIN3) ifølge Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultat og Aptima HPV-analyseresultat er vist i Tabel 24. Risikoen for \geq CIN2 hos kvinder med tilstedeværelse af HPV-type 16, 18 og/eller 45 var 28,8 % sammenlignet med 14,0 % hos kvinder med én eller flere af de øvrige 11 typer højrisiko-HPV til stede og 2,6 % hos kvinder uden tilstedeværelse af højrisiko-HPV. Absolut risiko er vist efter aldersgruppe i Tabel 25.

Tabel 24: ASC-US \geq 21 års population: Absolut risiko af \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay

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

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Tabel 25: ASC-US ≥ 21 års population: Absolut risiko af ≥CIN2 og ≥CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay efter aldersgruppe

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

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Den relative risiko for sygdom i forbindelse med positive versus negative udfald af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay er vist i Tabel 26. Kvinder, hos hvem HPV-type 16, 18 og/eller 45 forekom, var 11,1 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN2 og 22,8 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN3 end kvinder uden nogen typer højrisiko-HPV til stede. Kvinder, hos hvem HPV-type 16, 18 og/eller 45 forekom, var 2,1 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN2 og 4,0 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN3 end kvinder med én eller flere af de øvrige 11 typer højrisiko-HPV.

Tabel 26: ASC-US \geq 21 års population: Relative risici af \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay

Fortolkning af Aptima-analyseresultater*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relativ risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
HPV 16 og/eller 18/45 positiv vs HR HPV negativ	11,1 (6,2, 20,0)	22,8 (8,0, 65,6)
HPV 16 og/eller 18/45 positiv vs Anden HR HPV positiv	2,1 (1,3, 3,1)	4,0 (1,9, 8,2)
Anden HR HPV positiv vs HR HPV negativ	5,4 (2,9, 9,9)	5,7 (1,8, 18,1)
HR HPV positiv vs HR HPV negativ	7,3 (4,2, 12,8)	11,5 (4,1, 32,2)
Prævalens	9,1 % (81/892)	3,8 % (34/892)

CI = Konfidensinterval, HR = højrisiko

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Sandsynlighed (\geq CIN2 og \geq CIN3) for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultater er vist i Tabel 27. HPV-type 16, 18 og/eller 45 var 4,1 gange mere tilbøjelig til at være til stede hos en kvinde med \geq CIN2 og 5,2 gange mere tilbøjelig til at være til stede hos en kvinde med \geq CIN3.

Tabel 27: ASC-US \geq 21 års population: Sandsynlighed for \geq CIN2 og \geq CIN3 efter resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay

Fortolkning af Aptima-analyseresultater*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Sandsynlighed (95 % CI)	Sandsynlighed (95 % CI)
HPV 16 og/eller 18/45 positiv	4,1 (2,9, 5,6)	5,2 (3,5, 7,0)
Anden 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)

CI = Konfidensinterval, HR = højrisiko

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

NILM ≥ 30 års population: Klinisk præstation af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med ThinPrep væskebaserede cytologiprøver

I alt var der 512 evaluerbare kvinder i alderen 30 år og ældre med cytologiske NILM-resultater og positive Aptima HPV-analyseresultater på Panther-systemet, hvis videresendte cytologiske prøver var kvalificerede til testning med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Af disse havde 21 kvinder (11 fik foretaget kolposkopi og 10 fik ikke foretaget kolposkopi) ikke en tilstrækkelig mængde videresendt cytologisk prøvemateriale til rådighed til testning i denne undersøgelse. Efter en analyse af manglende værdier blev de ikke inkluderet i præstationsberegningerne. De 491 evaluerbare kvinder havde gyldige Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultater. Af disse fik 273 foretaget kolposkopi. Fjorten (14) kvinder havde ≥CIN2 og 10 havde ≥CIN3. 245 kvinder havde normal/CIN1-histologi. 14 kvinder havde ubestemt sygdomsstatus.

Af de 259 evaluerbare kvinder med konklusiv sygdomsstatus og positive Aptima HPV-analyseresultater på Panther-systemet udviste 65 kvinder positive resultater med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther-systemet, hvilket var tegn på forekomst af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. 194 havde negative resultater, hvilket var tegn på forekomst af én eller flere af de øvrige 11 typer højrisiko-HPV. Yderligere 549 evaluerbare kvinder på 30 år og ældre med cytologiske NILM-resultater og konklusiv sygdomsstatus udviste negative resultater med Aptima HPV-analysen på Panther-systemet. Et negativt resultat med Aptima HPV-analysen indicerede, at ingen af de 14 typer højrisiko-HPV var til stede, og resultatet blev regnet for negativt med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther-systemet med henblik på analyse. Resultaterne af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ifølge Aptima HPV-analyseresultat og diagnoser baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel er vist i Tabel 28.

Tabel 28: NILM ≥ 30 års population: Resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV-analysen ifølge diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel

Aptima HPV-analyseresultat	AHPV-GT analyseresultat*	Fortolkning	Diagnose baseret på konsensus fra histologisk evalueringspanel						
			Uafgjort**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer	I alt
Positiv	HPV 16 pos, HPV 18/45 neg	HPV 16 pos	2	28	0	0	3	1	34
	HPV 16 neg, HPV 18/45 pos	HPV 18/45 pos	1	28	1	1	0	2	33
	HPV 16 pos, HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	0	1	0	0	0	0	1
	HPV 16 neg, HPV 18/45 neg	Andre HR HPV pos	11	175	12	3	4	0	205
I alt			14	232	13	4	7	3	273
Negativ	HPV 16/18/45 neg***	HR HPV neg	31	527	16	5	1	0	580
I alt			45	759	29	9	8	3****	853

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ

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

**45 kvinder deltog i kolposkopikonsultationen, men en diagnose kunne ikke bestemmes af følgende årsager: Der kunne ikke nås konsensus pga. utilstrækkelige prøver (n=29), ingen biopsier indsamlet pga. bagvedliggende faktorer (n=13), ingen biopsier indsamlet eller evalueret pga. fejl (n=3).

***Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

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

Af de 491 kvinder med positive Aptima HPV-analyseresultater på Panther-systemet og Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay resultater på Panther-systemet havde 232 kvinder ikke-verificeret (herunder ubestemt) sygdomsstatus (Tabel 29). Af de 10.348 kvinder med negative Aptima HPV-analyseresultater fra det oprindelige CLEAR-forsøg havde 9799 ikke-verificeret sygdomsstatus. Fordi undersøgelsen var udviklet på en sådan måde, at kun vilkårligt valgte kvinder med negative resultater for både Aptima HPV-analysen på Tigris DTS-systemet og den FDA-godkendte DNA-test blev henvist til kolposkopi, var proportionen af kvinder med ikke-verificeret sygdomsstatus høj i denne gruppe (96,2 %). For at justere for denne verificeringsbias anvendtes der multipel imputation til at estimere antallet af kvinder med sygdom, der ville være blevet identificeret, hvis alle kvinder havde fået foretaget kolposkopi. Såvel de justerede præstationsestimater for verificeringsbias og de ikke-justerede præstationsestimater baseret på de 808 kvinder med verificeret sygdomsstatus er vist.

Tabel 29: NILM ≥ 30 års population: Klassificering af evaluerbare NILM-kvinder ifølge Aptima HPV-analyse, Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HPV DNA-testresultater, sygdomsstatus (≥CIN2 og ≥CIN3) og sygdomsverifikationsstatus

Aptima HPV-analyse-resultat*	AHPV-GT analyse-resultat*	HPV DNA-test	Kvinder i alt	Verificeret sygdomsstatus: ≥CIN2		Verificeret sygdomsstatus: ≥CIN3		Ikke-verificeret sygdomsstatus
				Sygdomsramte kvinder (≥CIN2)	Ikke-sygdomsramte kvinder (<CIN2)	Sygdomsramte kvinder (≥CIN3)	Ikke-sygdomsramte kvinder (<CIN3)	Kvinder med ukendt sygdomsstatus (% ukendt)
Positiv	Positiv	Positiv	88	6	52	5	53	30 (34,1 %)
	Positiv	Negativ	10	1	5	1	5	4 (40,0 %)
	Positiv	Intet resultat**	2	0	1	0	1	1 (50,0 %)
	Negativ	Positiv	291	7	169	4	172	115 (39,5 %)
	Negativ	Negativ	85	0	14	0	14	71 (83,5 %)
	Negativ	Intet resultat**	15	0	4	0	4	11 (73,3 %)
I alt			491	14	245	10	249	232 (47,3 %)
Negativ	N/A***	Positiv	282	3	177	1	179	102 (36,2 %)
	N/A***	Negativ	9467	2	362	0	364	9103 (96,2 %)
	N/A***	Intet resultat**	599	1	4	0	5	594 (99,2 %)
I alt			10.839	20	788	11	797	10.031 (92,5 %)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, N/A = ikke tilgængelig

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

**616 kvinder med Aptima HPV-analyseresultater havde ikke HPV DNA-testresultater, primært som følge af en utilstrækkelig mængde cytologisk prøvemateriale.

***Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

De justerede absolutte sygdomsrisici (\geq CIN2 og \geq CIN3) ifølge resultat af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV-analyse er vist i Tabel 30a. Risikoen for \geq CIN2 hos kvinder med tilstedeværelse af HPV-type 16, 18 og/eller 45 var 10,8 % sammenlignet med 3,8 % hos kvinder med én eller flere af de øvrige 11 typer højrisiko-HPV til stede og 1,0 % hos kvinder uden tilstedeværelse af højrisiko-HPV. De ikke-justerede absolutte sygdomsrisici er vist samlet i Tabel 30b og efter aldersgruppe i Tabel 31.

Tabel 30a: NILM \geq 30 års population: Absolut risiko af \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV-analysen (estimeret justeret for verificeringsbias)

Aptima HPV-analyseresultat	AHPV-GT analyseresultat	Fortolkning	\geq CIN2	\geq CIN3
			Absolut risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)
Positiv	HPV 16 pos og/eller HPV 18/45 pos	HPV 16 og/eller HPV 18/45 pos	9,7 (4,6, 20,2)	8,5 (3,8, 19,2)
	HPV 16 pos, HPV 18/45 neg	Kun HPV 16 pos	10,4 (4,0, 27,1)	10,3 (3,9, 27,1)
	HPV 16 neg, HPV 18/45 pos	HPV 18/45 kun pos	8,8 (2,9, 26,4)	6,5 (1,7, 25,1)
	HPV 16 pos, HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	0,0	0,0
	HPV 16/18/45 neg	Andre HR HPV pos	3,2 (1,6, 6,3)	1,8 (0,6, 4,9)
	Pos eller neg	HR HPV pos	4,6 (2,8, 7,4)	3,2 (1,7, 5,9)
Negativ	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	0,7 (0,2, 2,5)	0,2 (0,0, 4,8)
Prævalens			1,1 %	0,8 %

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ, N/A = ikke tilgængelig

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Tabel 30b: NILM \geq 30 års population: Absolut risiko af \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV-analysen (ikke-justerede estimer)

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

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ, N/A = ikke tilgængelig

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Tablet 31: NILM ≥ 30 års population: Absolut risiko af ≥CIN2 og ≥CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV-analysen efter aldersgruppe (ikke-justerede estimater)

	Aptima HPV-analyseresultat	AHPV-GT analyseresultat	Fortolkning	≥CIN2	≥CIN3
				Absolut risiko (95 % CI)	Absolut risiko (95 % CI)
30 til 39 år	Positiv	HPV 16 pos og/eller HPV 18/45 pos	HPV 16 og/eller HPV 18/45 pos	8,1 (3/37) (2,0, 16,4)	5,4 (2/37) (0,9, 12,3)
		HPV 16 pos, HPV 18/45 neg	Kun HPV 16 pos	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16 neg, HPV 18/45 pos	HPV 18/45 kun pos	15,0 (3/20) (3,9, 30,6)	10,0 (2/20) (1,0, 22,8)
		HPV 16 pos, HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	N/A (0/0)	N/A (0/0)
		HPV 16/18/45 neg	Andre HR HPV pos	3,6 (4/111) (1,2, 6,2)	2,7 (3/111) (0,7, 4,7)
		Pos eller neg	HR HPV pos	4,7 (7/148) (2,6, 6,1)	3,4 (5/148) (1,6, 4,3)
	Negativ	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)
Prævalens				2,4 % (9/378)	1,6 % (6/378)
≥ 40 år	Positiv	HPV 16 pos og/eller HPV 18/45 pos	HPV 16 og/eller HPV 18/45 pos	14,3 (4/28) (4,8, 26,4)	14,3 (4/28) (5,0, 21,9)
		HPV 16 pos, HPV 18/45 neg	Kun HPV 16 pos	26,7 (4/15) (6,4, 47,9)	26,7 (4/15) (6,5, 43,1)
		HPV 16 neg, HPV 18/45 pos	HPV 18/45 kun pos	0 (0/12) (0,0, 21,5)	0 (0/12) (0,0, 18,6)
		HPV 16 pos, HPV 18/45 pos	HPV 16 og 18/45 pos	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)	0,0 (0/1) (0,0, 93,1)
		HPV 16/18/45 neg	Andre HR HPV pos	3,6 (3/83) (1,0, 7,8)	1,2 (1/83) (0,0, 4,1)
		Pos eller neg	HR HPV pos	6,3 (7/111) (3,3, 8,9)	4,5 (5/111) (2,3, 5,4)
	Negativ	HPV 16/18/45 neg*	HR HPV neg	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0 (0/319) (0,0, 0,8)
Prævalens				2,6 % (11/430)	1,2 % (5/430)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ, N/A = ikke tilgængelig
 *Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Den relative sygdomsrisiko for positive versus negative udfald af Aptima 16 18/45 Genotype Assay er vist i Tabel 32 (justeret for verificeringsbias) og Tabel 33 (ikke-justeret). Kvinder, hos hvem HPV-type 16, 18 og/eller 45 forekom, var 12,7 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN2 og 18,4 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN3 end kvinder uden nogen typer højrisiko-HPV til stede. Kvinder, hos hvem HPV-type 16, 18 og/eller 45 forekom, var 2,9 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN2 og 3,8 gange mere tilbøjelige til at have \geq CIN3 end kvinder med én eller flere af de øvrige 11 typer højrisiko-HPV.

Tabel 32: NILM \geq 30 års population: Relativ risiko af \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV-analysen (estimer justeret for verificeringsbias)

Fortolkning af Aptima-analysetest*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relativ risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
HPV 16 og/eller 18/45 pos vs HR HPV neg	12,9 (3,1, 54,6)	53,3 (1,5, >999)
HPV 16 og/eller 18/45 pos vs Anden HR HPV pos	3,0 (1,1, 8,8)	4,8 (1,2, 19,2)
Anden HR HPV pos vs HR HPV neg	4,3 (1,2, 15,1)	11,0 (0,4, 289,2)
HR HPV pos vs HR HPV neg	6,1 (1,8, 21,0)	20,2 (0,7, 567,7)
Prævalens	1,1 %	0,8 %

CI = Konfidensinterval, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Tabel 33: NILM \geq 30 års population: Relativ risiko af \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV-analysen (ikke-justerede estimer)

Fortolkning af Aptima-analysetest*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relativ risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
HPV 16 og/eller 18/45 pos vs HR HPV neg	9,9 (3,4, 28,4)	50,7 (6,2, 414,4)
HPV 16 og/eller 18/45 pos vs Anden HR HPV pos	3,0 (1,1, 8,2)	4,5 (1,3, 15,4)
Anden HR HPV pos vs HR HPV neg	3,3 (1,1, 9,7)	11,3 (1,3, 100,7)
HR HPV pos vs HR HPV neg	4,9 (1,9, 12,7)	21,2 (2,7, 164,7)
Prævalens	2,5 % (20/808)	1,4 % (11/808)

CI = Konfidensinterval, HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Sandsynlighed (\geq CIN2 og \geq CIN3) efter resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay er vist i Tabel 34 (justeret for verificeringsbias) og Tabel 35 (ikke-justeret). HPV-type 16, 18 og/eller 45 var 17,1 gange mere tilbøjelig til at være til stede hos en kvinde med \geq CIN2 og 21,9 gange mere tilbøjelig til at være til stede hos en kvinde med \geq CIN3.

Tabel 34: NILM \geq 30 års population: Sandsynlighed for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (estimer justeret for verificeringsbias)

Fortolkning af Aptima-analyseresultater*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Sandsynlighed (95 % CI)	Sandsynlighed (95 % CI)
HPV 16 og/eller 18/45 positiv	11,2 (3,3, 38,4)	24,1 (2,6, 225,9)
Anden 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)

CI = Konfidensinterval, HR = højrisiko

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Tabel 35: NILM \geq 30 års population: Sandsynlighed for \geq CIN2 og \geq CIN3 efter resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay (ikke justerede estimer)

Fortolkning af Aptima-analyseresultater*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Sandsynlighed (95 % CI)	Sandsynlighed (95 % CI)
HPV 16 og/eller 18/45 positiv	4,8 (2,1, 8,5)	7,4 (3,3, 12,0)
Anden 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)

CI = Konfidensinterval, HR = højrisiko

*Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Klinisk præstation af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med SurePath væskebaserede cytologiprøver

Der blev indsamlet SurePath væskebaserede cytologiprøver fra canadiske kvinder, som blev henvist til opfølgning på grund af en eller flere unormale Pap-test og HPV-infektion eller anden årsag. Der blev overført en afmålt portion (0,5 ml) af hver prøve til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel, og den portion blev derefter behandlet med Aptima-overførselsopløsning. Et enkelt replikat af hver prøve blev testet med Aptima HPV-analysen (n=481). Positive prøver blev derefter testet med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, og Aptima HPV-analysen. Resultaterne er vist i Tabel 36. Lignende resultater vises for den kommercielt tilgængelige HPV PCR-test, som differentierer HPV 16 og HPV 18, men ikke HPV 45, separat fra de andre højrisikogenotyper. Den relative sygdomsrisiko for genotypepositive versus -negative resultater vises i Tabel 37 for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og HPV PCR-testen.

Tabel 36: Absolutte risici af \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og Aptima HPV Assay og en kommercielt tilgængelig HPV PCR-test

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

HR = højrisiko, pos = positiv, neg = negativ

*HPV PCR-testen differentierer kun HPV 16 og HPV 18 fra de andre 12 højrisikogenotyper, inklusive HPV 45.

**Kvinder med negative resultater med Aptima HPV-analysen blev erklæret for negative med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med hensyn til analyse.

Tabel 37: Relative risici af \geq CIN3 for resultater af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay og en kommercielt tilgængelig HPV PCR-test

Aptima-analyseresultater		HPV PCR-testresultater	
Fortolkning af test	Relativ risiko \geq CIN3 (95 % CI)	Fortolkning af test	Relativ risiko \geq CIN3 (95 % CI)
HPV 16 og/eller 18/45 positiv vs HR HPV negativ	13,1 (3,7-45,9)	HPV 16 og/eller 18/45 positiv vs HR HPV negativ	12,6 (3,8-41,9)
HPV 16 og/eller 18/45 positiv vs anden HR HPV positiv	2,0 (0,7-5,4)	HPV 16 og/eller 18/45 positiv vs anden HR HPV positiv	3,9 (1,6-9,5)
Anden HR HPV positiv vs HR HPV negativ	6,6 (1,6-27,1)	Anden HR HPV positiv vs HR HPV negativ	3,2 (0,8-12,8)
HR HPV positiv vs HR HPV negativ	10,7 (3,3-35,1)	HR HPV positiv vs HR HPV negativ	7,4 (2,3-24,3)
Prævalens	4,0 %	Prævalens	5,0 %

Klinisk præstation af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay med cervikale prøveudtagnings- og transportprøver

Præstationen af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay blev evalueret ved brug af CSCT-prøver indsamlet fra kvinder, der blev henvist til en opfølgingskonsultation pga. en unormal Pap-smearprøve. Prøver blev først testet med Aptima HPV-analysen (n=651). Prøver med et positivt Aptima HPV-analyseresultat (n=414) blev derpå testet med Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på både Tigris DTS-systemet og Panther-systemet.

Klinisk overensstemmelse af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay til detektion af højrisiko-HPV HPV 16, 18 og 45 for Panther-systemet blev bestemt på grundlag af Tigris DTS-systemresultatet som referencemetoden. Positiv og negativ procent overensstemmelse og associerede 95 % score konfidensintervaller blev beregnet. Resultaterne er vist i Tabel 38.

Tabel 38: Klinisk overensstemmelse af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay på Panther System til detektion af højrisiko-HPV 16, 18 og 45 i CSCT-prøver

		Resultat for Tigris DTS-system				I alt
		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 for 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
	I alt	195	35	8	176	414

Pos = positiv, neg = negativ

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

Negativ overensstemmelse: 98,3 % (173/176) (95 % CI: 95,1, 99,4)

Analytisk sensitivitet

Detektionsgrænsen (LOD) ved det kliniske cutoff er en koncentration, der er positiv (ligger over det kliniske cutoff) 95 % ad gangen. Detektionsgrænsen for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay blev estimeret ved at teste individuelle eller pools af negative kliniske ThinPrep væskebaserede cytologiprøver tilsat HPV *in vitro* transkripter eller HPV-inficerede dyrkede celler (SiHa, HeLa og MS751; ATCC, Manassas, Virginia, USA) i forskellige koncentrationer. For *in vitro* transkriptpaneler blev 60 replikater af hvert kopiniveau testet med hvert af to reagenslot for i alt 120 replikater. For cellelinjepaneler blev 30 replikater af hvert kopiniveau testet med hvert to reagenslot for i alt 60 replikater. Testning blev udført over otte dage med mindst tre kørsler udført hver dag og fem replikater for en bestemt genotype testet i hver kørsel. Detektionsgrænsen på 95 % (Tabel 39) blev beregnet med en Probit-regressionsanalyse af positivitetsresultaterne for hvert fortyndingspanel.

Tabel 39: Detektionsgrænsen ved det kliniske cutoff af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

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

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

Analysepræcision

Præcisionen af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay blev evalueret i to undersøgelser vha. det samme 24-medlems panel. Undersøgelse 1 til bestemmelse af analysens reproducerbarhed blev udført på 3 eksterne teststeder. Undersøgelse 2 til bestemmelse af præcision i laboratoriet blev udført internt. Panelet inkluderede 17 HPV 16 og/eller 18/45-positive medlemmer med koncentrationer på eller over analysens detektionsgrænse (forventet positivitet: $\geq 95\%$), 3 HPV 16 og/eller 18/45-positive medlemmer med koncentrationer under analysens detektionsgrænse (forventet positivitet: $> 0\%$ til $< 25\%$), og 4 HPV-negative medlemmer. HPV 16 og/eller 18/45-positive panelmedlemmer blev klargjort ved at tilsætte *in vitro* transkript eller HPV-inficerede dyrkede celler (SiHa, HeLa og MS751; ATCC, Manassas, Virginia, USA) i poolede residuale ThinPrep væskebaserede cytologiprøver eller fortynde HPV 16, 18 og/eller 45 kliniske prøver i poolede residuale ThinPrep væskebaserede cytologiprøver. HPV-negative panelmedlemmer blev klargjort med poolede ThinPrep væskebaserede cytologiprøver eller PreservCyt-opløsning.

I undersøgelse 1 udførte 2 operatører på hvert af de 3 teststeder (1 instrument pr. sted) 2 arbejdslistor for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay pr. dag i løbet af 3 dage. Testning blev udført ved brug af 2 reagenslot. Hver arbejdsliste indeholdt 3 replikater af hvert reproducerbarhedspanelmedlem. Ethundredeotte (108) individuelle prøvereagensglas blev testet for hvert panelmedlem (3 steder x 1 instrument x 2 operatører x 2 lot x 3 dage x 3 replikater). I undersøgelse 2 fandt testningen sted internt over 13 dage med i alt 162 reaktioner testet for hvert panelmedlem (1 sted x 3 instrumenter x 3 operatører x 3 lot x 2 arbejdslistor x 3 replikater).

Panelmedlemmerne er beskrevet i Tabel 40a og Tabel 40b sammen med en oversigt over overensstemmelse med forventede resultater for hhv. HPV 16 og HPV 18/45.

Table 40a: Præcision af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay – undersøgelse 1 og 2: Panelbeskrivelse og procent overensstemmelse med forventede resultater for HPV 16

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

CI = Score for konfidensinterval

Bemærk: Procent overensstemmelse kan være blevet påvirket af variationer i tilsætning, fortynding og/eller afmåling.

Tabel 40b: Præcision af Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay – undersøgelse 1 og 2: Panelbeskrivelse og procent overensstemmelse med HPV 18/45, forventede resultater

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

CI = Score for konfidensinterval

Bemærk: Procent overensstemmelse kan være blevet påvirket af variationer i tilsætning, fortynding og/eller afmåling.

Krydsreaktivitet

Testning med potentielt krydsreaktive organismer for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay blev udført med Tigris DTS System. Der henvises til *Krydsreaktivitet* (Tabel 20) i afsnittet om Tigris DTS System for resultater.

Interferens

Testning med potentielt interfererende stoffer for Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay blev udført med Tigris DTS-systemet. Der henvises til *Interferens* (Tabel 21) i afsnittet om Tigris DTS-systemet for resultater.

Bibliografi

1. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 189:12-19.
2. **Li N., Franceschi S., Howell-Jones R., Snijders P.J.F., Clifford G.M.** Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer.* 2011;128: 927-935. doi 10.1002/ijc.25396
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer.* 64(3):211-5.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond).* 110(5):525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* 16(1):1-17.
6. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90(12):5583-7.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G. Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* 325(7364): 572-579.
8. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer.* 108(3):329-33. Erratum in: *Int J Cancer.* 108(6):945.
9. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol.* 73(1): 65-70.
10. **De Sanjose S., et al.** 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet.* DOI 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
11. **Burger R.A., B. J. Monk, T. Kurosaki, H. Anton-Culver, S. Vasilv, M. L. Berman and S.P. Wilczynski.** 1996. Human Papillomavirus Type 18: Association with poor prognosis in early stage cervical cancer. *J. Nat. Cancer institute.* 88(19): 1361-1368.
12. **Safaeian M., M. Schiffman, J. Gage, D. Solomon, C. Wheeler and P. Castle.** 2009. Detection of Precancerous Cervical Lesions Is Differential by Human Papillomavirus Type. *Cancer Res.* 69(8): 3262-3266.
13. **Khan, M.J., P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder, M. Sherman, D.R. Scott, B.B. Rush, A.G. Glass and M. Schiffman.** 2005. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J. Natl. Cancer Inst.* 97(14): 1072-1079.
14. **ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.** HPV Genotyping Clinical Update. 2009. http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical_update_20090408.pdf. Accessed March 22, 2012.
15. **Wright T.C., S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E.J. Wilkinson and D. Solomon.** 2007. 2006 Consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *Journal of Lower Genital Tract Disease.* 11(4):201-222.
16. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
17. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem.* 35: 1588-1594.
18. **Nelson, N.C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* 35:8429-8438.
19. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. *Annals Int Med.* 148:493.
20. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet.* 366, 991.
21. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. 2013. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* 208(2):144-145.



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



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

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

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

For yderligere kontaktoplysninger henvises til www.hologic.com.

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

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

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

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

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

© 2007-2017 Hologic, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.
AW-11504-1901 Rev. 006

2017-05