

Aptima HPV Assay

In vitro -diagnostiseen käyttöön.

Ainoastaan vientiin Yhdysvalloista.

| | |
|---|------------|
| Yleistietoja | 2 |
| Käyttötarkoitus | 2 |
| Testin yhteenveto ja kuvaus | 2 |
| Toimenpiteen periaatteet | 3 |
| Varoitukset ja varotoimet | 4 |
| Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset | 6 |
| Potilasnäytteen kerääminen ja säilytys | 7 |
| Laadunvalvontamenetelmät | 30 |
| Testin tulkinta | 31 |
| Rajoitukset | 32 |
| DTS Systems -järjestelmien määrittämisen suorituskyky | 34 |
| Tigris DTS System -järjestelmän odotetut tulokset: Korkean riskin HPV mRNA:n esiintyvyys | 43 |
| Aptima HPV Assayn kliinisen tutkimuksen asetelma ThinPrep-nestesytologianäytteillä | 44 |
| Tigris DTS System -järjestelmän määrittämisen suorituskyky | 46 |
| Panther System -järjestelmän odotetut tulokset: Korkean riskin HPV mRNA:n esiintyvyys | 75 |
| Aptima HPV Assayn kliininen tutkimusasetelma ThinPrep-nestesytologianäytteillä | 76 |
| Panther System -järjestelmän määrittämisen suorituskyky | 78 |
| Viiteluettelo | 102 |

DTS™ Systems -järjestelmät

| | |
|--|-----------|
| DTS Systems -järjestelmät | 9 |
| Toimitetut reagenssit ja materiaalit | 9 |
| Tarvittavat materiaalit, jotka ovat saatavilla erikseen | 10 |
| Valinnanvaraiset materiaalit | 11 |
| DTS Systems -järjestelmien testausmenetelmä | 11 |
| Toimenpiteeseen liittyviä huomautuksia | 16 |

Panther™ System -järjestelmä

| | |
|--|-----------|
| Panther System -järjestelmä | 24 |
| Toimitetut reagenssit ja materiaalit | 24 |
| Tarvittavat materiaalit, jotka ovat saatavilla erikseen | 25 |
| Valinnanvaraiset materiaalit | 25 |
| Panther System -järjestelmän testausmenetelmä | 26 |
| Toimenpiteeseen liittyviä huomautuksia | 28 |

Tigris™ DTS System -järjestelmä

| | |
|--|-----------|
| Tigris DTS System -järjestelmä | 18 |
| Toimitetut reagenssit ja materiaalit | 18 |
| Tarvittavat materiaalit, jotka ovat saatavilla erikseen | 19 |
| Valinnanvaraiset materiaalit | 20 |
| Tigris DTS System -järjestelmän testausmenetelmä ... | 20 |
| Toimenpiteeseen liittyviä huomautuksia | 22 |

Yleistietoja

Käyttötarkoitus

Aptima HPV assay (Aptima-HPV-määritys) on kohdemonistus-nukleiinihappokoetintesti ja tarkoitettu E6/E7-viruksen lähetti-RNA:n (mRNA) kvalitatiiviseen tunnistamiseen *in vitro* 14 korkean riskin ihmisen papilloomaviruksen tyypistä (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Aptima HPV assay ei erota 14 korkean riskin tyyppiä toisistaan.

- Aptima HPV assay on tarkoitettu potilaiden ASC-US (epätyypilliset okasolut joiden merkittävyttä ei ole määritelty) papa-kokeiden seulontaan kolposkopiaan ohjaamisen tarpeen määrittämiseksi. Tämän kokeen tarkoituksena ei ole estää naisia menemästä kolposkopiaan.
- Aptima HPV assay -määritystä voidaan käyttää yhdessä kohdunkaulan sytologian kanssa lisäseulontaan (yhteistestaus) korkean riskin HPV-tyyppien olemassaolon määrittämiseksi. Tätä tietoa yhdessä lääkärin suorittaman sytologiahistorian tutkimuksen, muiden riskitekijöiden ja ammatillisten ohjeiden kanssa voidaan käyttää potilaan hoitoonohjauksen apuna.
- Aptima HPV assay -määritystä voidaan käyttää alustavan vaiheen pääseulontatestinä, kohdunkaulan sytologian kanssa tai ilman, niiden naisten tunnistamiseen joilla on kohonnut riski sairastua kohdunkaulan syöpään tai pitkälle edenneen taudin toteamiseen. Tätä tietoa yhdessä lääkärin suorittaman sytologiahistorian tutkimuksen, muiden riskitekijöiden ja ammatillisten ohjeiden kanssa voidaan käyttää potilaan hoitoonohjauksen apuna.

PreservCyt™-liuosta sisältäviin ThinPrep™-papakoeampulleihin kerätyt kohdunkaulanäytteet voidaan testata Aptima HPV assaylla joko ennen papan käsittelyä tai sen jälkeen samoin kuin Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit -tarvikesarjalla (CSCT) kerätyt kohdunkaulanäytteet. Määritystä voidaan käyttää testaamaan näitä potilasnäytetyyppejä joko Direct Tube Sampling (DTS) Systems -järjestelmällä, Tigris DTS System -järjestelmällä tai Panther System -järjestelmällä. SurePath-säilytysnesteeseen kerätyt kohdunkaulanäytteet voidaan testata Aptima HPV assaylla Tigris DTS System- ja Panther System -järjestelmiä käyttäen.

Testin yhteenveto ja kuvaus

Kohdunkaulan syöpä on yksi yleisimmistä naisten syövästä maailmassa. HPV on syynä yli 99 %:iin kaikista kohdunkaulan syöpätapauksista.^{1,2,3} HPV on yleinen sukupuoliteitse välittyvä DNA-virus ja se koostuu yli 100 genotyypistä.⁴

HPV:n virusperimä on kaksijuosteinen pyöreä DNA ja pituudeltaan noin 7900 emäsparia. Perimällä on kahdeksan päällekkäistä avointa lukukehystä. Aikaisia (E) geenejä on kuusi, myöhäisiä (L) geenejä kaksi ja yksi kääntämätön pitkä kontrollialue. L1- ja L2-geenit koodaavat suuret ja pienet kapsidiproteiinit. Aikaiset geenit säätelevät HPV-viruksen replikointia. E6- ja E7-geenit korkean riskin HPV-genotyypeistä tunnetaan nimellä onkogeeni. E6-/E7-geenien polysistronisesta mRNA:sta tulleet proteiinit muuttavat solun p53- ja retinoblastoomaproteiinin toimintoja, mikä johtaa solukierron tarkistuspisteiden häiriintymiseen ja solun perimän instabiliteettiin.^{5,6}

Neljätoista HPV-genotyyppiä pidetään patogeenisenä tai korkeana riskinä kohdunkaulan syöväälle.⁷ Useat tutkimukset ovat yhdistäneet genotyypit 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 ja 68 taudin etenemiseen.^{2,5,8} Potilailla, joilla on yhtä näitä tyyppiä olevaa jatkuvaa infektiota, on suurempi riski sairastua vakavaan dysplasiaan tai kohdunkaulan syöpään.^{7,9}

HPV-infektiot ovat erittäin yleisiä ja useimmat naiset selviytyvät HPV-infektioista 6–12 kuukauden sisällä.^{8, 10} HPV-nukleiinihapon esiintyminen ei tarkoita sitä, että myös kohdunkaulan dysplasiaa tai kohdunkaulan syöpää esiintyy. Tehokas tapa kohdunkaulan taudin tunnistamiseen on kuitenkin keskittyminen niihin HPV-geenin onkogeeneihin elementteihin, jotka edistävät jatkuvaa virusinfektiota ja solumuutoksia.³

Aptima HPV assay -määrityksen kliininen tehokkuus kohdunkaulan syövän alustavassa seulonnassa

Aptima HPV assay -määrityksen kliininen tehokkuus alustavan seulonnan käytössä on tutkittu useiden itsenäisten tutkijoiden toimesta. Kolmetoista vertaisarvioitua julkaisua^{11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23} kymmenestä erillisestä kliinisestä tutkimuksesta toteavat Aptima HPV:n tehokkuuden alustavissa seulunnoissa naisilla yhdeksästä eri maasta (Kiina, Kanada, Ranska, Meksiko, Iso-Britannia, Tanska, Alankomaat, Yhdysvallat ja Saksa). Näiden tutkimusten tiedot osoittavat että Aptima HPV:n kliininen tehokkuus on samantasoinen muiden kliinisesti vahvistettujen HPV-testien kanssa kun sitä käytetään kohdunkaulan syövän ja syövän esiasteen alustavaan seulontaan.

Toimenpiteen periaatteet

Aptima HPV assayhyn kuuluu kolme päävaihetta, jotka tapahtuvat yhdessä putkessa: kohteen sieppaus, kohteen monistus transkriptiovälitteisellä monistuksella (Transcription-Mediated Amplification, TMA),²⁴ ja monistustuotteiden (amplikon) tunnistus hybridisaatio-suojelumäärityksellä (Hybridization Protection Assay, HPA).²⁵ Määrityksessä on sisäinen kontrolli (Internal Control, IC), joka monitoroi nukleiinihapon sieppausta, monistusta ja tunnistusta sekä käyttäjän tai instrumentin virhettä.

Potilasnäytteet kerätään tai siirretään putkeen, jossa on näytteensiirtoainetta (Specimen Transport Media, STM), joka hajottaa solut, vapauttaa mRNA:n ja suojaa sitä rappeutumiselta säilytyksen aikana. Kun Aptima HPV assay tehdään, kohde-mRNA eristetään potilasnäytteestä sieppausoligomeereillä, jotka on linkitetty magneettisiin mikrohiukkasiin. Sieppausoligomeerit sisältävät sekvenssejä, jotka täydentävät tiettyjä HPV mRNA:n kohdemolekyylien alueita, sekä deoksiadenosiinitähteitä sisältävän ketjun. Hybridisaatiovaiheen aikana sieppausoligomeerien sekvenssispesifiset alueet sitoutuvat HPV mRNA:n kohdemolekyylin erityisalueisiin. Sieppausoligomeeri:kohde-kompleksi siepataan sitten liuoksesta alentamalla reaktion lämpötila huoneenlämpötilan tasolle. Tämä lämpötilan alentaminen mahdollistaa hybridisaation sieppausoligomeerin deoksiadenosiinialueen ja magneettisiin partikkeleihin kovalentisti kiinnittyneiden polydeoksymidiinimolekyylien välillä. Mikropartikkelit, mukaan lukien niihin sitoutuneet siepatut HPV mRNA:n kohdemolekyyli, vedetään reaktioputken sivuun magneettien avulla, ja supernatantti aspiroidaan. Partikkelit pestään jäljellä olevan potilasnäytteen matriisin poistamiseksi, joka saattaa sisältää monistuksen estäjiä.

Kun kohteen sieppaus on suoritettu, HPV mRNA monistetaan TMA:lla, transkriptiopohjaisella nukleiinihapon monistusmenetelmällä, joka käyttää kahta entsyymiä, Moloney Murine -leukemiaviruksen (MMLV) käänteistranskriptaasia ja T7 RNA -polymeraasia. Käänteistranskriptaasia käytetään tuottamaan DNA-kopio kohteen mRNA-sekvenssistä, joka sisältää T7 RNA -polymeraasin promoottorisekvenssin. T7 RNA -polymeraasi tuottaa useita kopioita RNA-amplikonista DNA:n kopioteplaatista.

Amplikonin havaitseminen tapahtuu HPA:n avulla käyttäen yksiketjuisia nukleiinihappokoettimia, joissa on amplikonin täydentäviä kemiluminesenssileimoja. Leimatut nukleiinihappokoettimet hybridisoituvat erityisesti amplikoniin. Valintareagenssi erottaa hybridisoidut ja hybridisoitumattomat koettimet toisistaan inaktivoimalla hybridisoitumattomien koettimien leiman. Tunnistusvaiheen aikana leimatuista RNA:DNA-hybrideistä lähtevä valo mitataan fotonisignaaleina, joita kutsutaan

nimellä suhteelliset valoyksiköt (Relative Light Units, RLU) luminometrissä. Lopulliset määrittystulokset tulkitaan analyytin signaalin ja raja-arvon suhteen (Signal-to-Cutoff, S/CO) perusteella.

Sisäinen kontrolli (internal control, IC) lisätään jokaiseen reaktioon kohteen poimintareagenssin avulla. Sisäinen kontrolli (internal control, IC) monitoroi määrittelyn kohteen sieppaus-, monistus- ja tunnistusvaiheita. Sisäisen kontrollin (internal control, IC) signaali kussakin reaktiossa erotetaan HPV-signaalista eri leimoilla varustettujen koettimien valonsäteilyn kinetiikkaerojen perusteella.²⁶ Sisäinen kontrollispesifinen amplikon tunnistetaan koettimella, jossa on nopea valonsäteily (flasher). HPV-spesifinen amplikon tunnistetaan koettimilla, joiden valonsäteilyn kinetiikka on suhteellisesti hitaampi (glower). Dual Kinetic Assay (DKA) on menetelmä, jota käytetään erottamaan signaalit flasher- ja glower-leimojen välillä.²⁶

Varoitukset ja varotoimet

- A. *In vitro* -diagnostiseen käyttöön.
- B. Erityisiä lisävaroituksia ja -varotoimia on DTS Systems -järjestelmien, Tigris DTS System -järjestelmän ja Panther System -järjestelmän käyttäjän oppaissa.

Laboratorioon liittyvää

- C. Käytä ainoastaan toimitettuja tai määriteltyjä kertakäyttöisiä laboratoriovälineitä.
- D. Käytä tavanomaisia laboratoriovarotoimia. Määrätyillä työalueilla ei saa syödä, juoda tai polttaa savukkeita. Käytä kertakäyttöisiä talkittomia käsineitä, silmäsuojusta ja laboratoriotakkeja käsitellessäsi potilasnäytteitä ja tarvikesarjan reagensseja. Pese kädet perusteellisesti potilasnäytteiden ja tarvikesarjan reagenssien käsittelyn jälkeen.
- E. **Varoitus: Ärsyttävät ja syövyttävät aineet:** Vältä kosketusta Auto Detect 1:n tai Auto Detect 2:n ja ihon, silmien tai limakalvojen välillä. Jos nämä nesteet joutuvat kosketuksiin ihon tai silmien kanssa, pese kosketusalue vedellä. Jos näitä nesteitä roiskuu, laimenna roiskeet vedellä ennen niiden pyyhkimistä.
- F. Työalueet, pipetit ja muut välineet on dekontaminoitava säännöllisesti 2,5–3,5 % (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella. Katso lisätietoa kohdasta DTS Systems -testausmenetelmä, Tigris DTS System -testausmenetelmä tai Panther DTS System -testausmenetelmä.

DTS Systems -järjestelmiin liittyvää

- G. Laboratorioalueet estetään amplikonkontaminoitumiselta järjestämällä laboratorion työkulku yksisuuntaisesti reagenssin valmistelusta tunnistukseen. Potilasnäytteitä, laitteita ja reagensseja ei saa viedä takaisin alueelle, jossa edellinen vaihe tehtiin. Henkilökunta ei myöskään saa palata edellisille työalueille ilman asianmukaisia kontaminaatiosuojia. Erityisesti tunnistukseen suositellaan käytettäväksi erillistä aluetta.

Potilasnäytteisiin liittyvää

- H. Potilasnäytteen integriteetti varmistetaan ylläpitämällä oikeita lämpötilaosuhteita potilasnäytteen kuljetuksen ja säilytyksen aikana. Potilasnäytteen stabiiliteettia ei ole arvioitu kuljetus- ja säilytysolosuhteissa muutoin kuin mitä suositellaan.

- I. Näytteenotto-/siirtotarvikesarjoihin ja putkiin merkityt viimeiset käyttöpäivät koskevat näytteenotto-/siirtopaikkaa eivätkä testauslaitosta. Potilasnäytteet, jotka on otettu/siirretty milloin tahansa ennen viimeistä käyttöpäivää ovat valideja testausta varten edellyttäen, että ne on kuljetettu ja säilytetty tuoteselosteen mukaisesti siinäkin tapauksessa, että nämä viimeiset käyttöpäivät ovat umpeutuneet.
- J. Potilasnäytteet saattavat olla tartuntavaarallisia. Käytä yleisiä varotoimia tätä määritystä suoritettaessa. Laboratorion johtajan on luotava oikeat käsittely- ja hävitysmenetelmät. Tämän toimenpiteen saa suorittaa ainoastaan riittävän tartuntavaarallisten materiaalien käsittelykoulutuksen omaava henkilökunta.
- K. Vältä ristikontaminaatiota potilasnäytteen käsittelyvaiheiden aikana. Varmista, että näytesäiliöt eivät kosketa toisiaan, ja hävitä käytetyt materiaalit ojentamatta niitä toiselle avoimissa säiliöissä. Vaihda käsineet, jos ne joutuvat kosketuksiin potilasnäytteen kanssa.
- L. Nestettä voi valua putkien korkeista tietyissä olosuhteissa niitä puhkaistaessa. Lisätietoja on kohdissa *DTS Systems -järjestelmien testausmenetelmä*, *Tigris DTS System -järjestelmän testausmenetelmä* tai *Panther DTS System -järjestelmän testausmenetelmä*.
- M. ThinPrep-nestesytologia- ja Cervical Specimen Collection and Transport (CSCT) -potilasnäytteet on hylättävä, jos keräyslaite on jätetty näyteputkeen.
- N. SurePath-nestesytologianäytteet on hylättävä, jos keräyslaitetta ei ole ampullissa.

Määrittämiseen liittyvää

- O. Säilytä reagenssit määritellyissä lämpötiloissa. Väärin säilytettyjen reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa määrittämisen suoritukseen.
- P. Vältä reagenssien mikrobi- ja ribonukleasikontaminaatiota.
- Q. Tarvikesarjaa ei saa käyttää sen viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- R. Eri eränumeroilla varustettujen tarvikesarjojen määritysreagensseja tai kalibraattoreita ei saa vaihtaa, sekoittaa tai yhdistää keskenään.
- S. Aptima assayn nesteet, Aptima Auto Detect -reagenssit, Aptima System -järjestelmän säilytysneste (vain DTS Systems -järjestelmät ja Tigris DTS System -järjestelmä) ja Aptima HPV assayn kontrollit (vain DTS System -järjestelmä ja Tigris DTS System -järjestelmä) eivät ole osa Master-erää; mitä tahansa erää voidaan käyttää.
- T. Määritysreagenssit on sekoitettava perusteellisesti, jotta saadaan tarkat määritystulokset.
- U. Hydrofobikorkeilla varustettuja kärkiä on käytettävä.

DTS Systems -järjestelmiin liittyvää

- V. Vähintään kaksi toistopipettiä on omistettava käyttöön tälle määrittämiselle: toinen käyttöön **kohteen sieppaus-** ja **monistusvaiheissa**, ja toinen käyttöön **monistuksen jälkeisissä** vaiheissa.
- W. Kun toistopipettejä käytetään reagenssin lisäämiseen, putkea ei saa koskettaa pipetin kärjellä, jotta jäämää ei pääse yhdestä putkesta toiseen.

- X. Kaikki pipetit on puhdistettava säännöllisesti kohdan *Toimenpiteeseen liittyviä huomautuksia* ohjeiden mukaan.
- Y. Vähintään kaksi erillistä SB100™-instrumenttia tarvitaan, toinen kohteen sieppaukseen/monistukseen ja toinen monistuksen jälkeiseen vaiheeseen.
- Z. Tiivistekortteja EI SAA käyttää uudelleen. Jokaisessa vaiheessa on käytettävä uusia tiivistekortteja.

Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset

Reagensseja ei saa käyttää ampulleihin merkityn viimeisen käyttöpäivän jälkeen. Lisäsäilytysohjeita on seuraavassa.

- A. Seuraavia reagensseja säilytetään 2–8 °C:ssa (jääkaapissa) niiden vastaanottamisen jälkeen:
 - HPV-monistusreagenssi
 - HPV-entsyymireagenssi
 - HPV-koetinreagenssi
 - HPV-IC-reagenssi
 - Positiiviset ja negatiiviset HPV-kalibraattorit
 - Positiiviset ja negatiiviset HPV-kontrollit (vain DTS Systems -järjestelmät ja Tigris DTS System -järjestelmä)
- B. Seuraavia reagensseja säilytetään 15–30 °C:ssa (huoneenlämmössä):
 - HPV-monistuksen uudelleenliuotusneste
 - HPV-entsyymien uudelleenliuotusneste
 - HPV-koettimen uudelleenliuotusneste
 - HPV -kohteen poimintareagenssi
 - HPV-valintareagenssi
 - Pesuliuos
 - Öljyreagenssi
 - Deaktivointiliuoksen pus kuri
 - Auto Detect -reagenssi 1
 - Auto Detect -reagenssi 2
 - Aptima System -järjestelmän säilytysneste (vain Tigris DTS System -järjestelmä)
- C. Seuraavat reagenssit ovat stabiileja 30 päivän ajan, kun niitä säilytetään 2–8 °C:ssa uudelleenliuotuksen jälkeen:
 - HPV-monistusreagenssi
 - HPV-entsyymireagenssi
 - HPV-koetinreagenssi
- D. Kohteen poimintareagenssi (working Target Capture Reagent, wTCR) on stabiili 30 päivän ajan, kun sitä säilytetään 15–30 °C:ssa. Ei saa säilyttää jääkaapissa.

- E. Hävitä käyttämättömät uudelleenliuotetut reagenssit ja wTCR 30 päivän kuluttua tai Master-erän viimeisen käyttöpäivän jälkeen, kumpi niistä saavutetaankin ensin.
- F. Aptima HPV assayn reagenssit ovat stabiilit kumulatiivisesti 48 tunnin ajan, kun niitä säilytetään Tigris DTS System -järjestelmässä.
- G. Aptima HPV assayn reagenssit ovat stabiilit kumulatiivisesti 72 tunnin ajan, kun niitä säilytetään Panther System -järjestelmässä.
- H. Koetinreagenssi ja uudelleenliuotettu koetinreagenssi ovat valoherkkiä. Säilytä reagenssit valolta suojattuna.
- I. Reagensseja ei saa jäädyttää.

Potilasnäytteen kerääminen ja säilytys

- A. Potilasnäytteen kerääminen ja käsitteleminen

ThinPrep-nestesyttologianäytteet

1. Kerää kohdunkaulanäytteet ThinPrep-papakoeampulleihin, joissa on PreservCyt-liuosta, harjamaisella tai sytoharja-/spaattelikeräyslaitteilla valmistajan ohjeiden mukaan.
2. Siirrä 1 ml ThinPrep-nestesyttologianäytettä Aptima-näytteensiirtoputkeen Aptimanäytteensiirtotarvikesarjan tuoteselosteen mukaan ennen prosessointia ThinPrep 2000 System-, ThinPrep 3000 System-, ThinPrep 5000 Processor- tai ThinPrep 5000 Processor with Autoloader -tuotteilla tai sen jälkeen.

SurePath-nestesyttologianäytteet (vain Tigris DTS System -järjestelmä ja Panther System -järjestelmä)

1. Kerää SurePath-nestesyttologianäyte SurePath-papakokeen ja/tai PrepStain System -järjestelmän käyttöohjeiden mukaan.
2. Siirrä SurePath-nestesyttologianäyte Aptima-näytteensiirtoputkeen Aptima-näytteensiirtotarvikesarjan tuoteselosteen mukaan.

Aptima Cervical Specimen Collection and Transport -tarvikesarjan (CSCT) potilasnäytteet

Kerää potilasnäytteet Aptima CSCT -tarvikesarjan käyttöohjeiden mukaan.

- B. Kuljettaminen ja säilyttäminen ennen testausta

ThinPrep-nestesyttologianäytteet

1. ThinPrep-nestesyttologianäytteiden kuljetuslämpötila on 2–30 °C.
2. Potilasnäytteet on siirrettävä Aptima-näytteensiirtoputkeen 105 päivän sisällä keräämisestä.
3. Ennen siirtämistä ThinPrep-nestesyttologianäytteitä on säilytettävä 2–30 °C:ssa, ja enintään 30 päivää yli 8 °C:n lämpötilassa.
4. Aptima-näytteensiirtoputkeen siirrettyjä ThinPrep-nestesyttologianäytteitä voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa enintään 60 päivää.
5. Jos pitempiä säilytysaikoja tarvitaan, ThinPrep-nestesyttologianäytettä tai näytteensiirtoputkeen laimennettua ThinPrep-nestesyttologianäytettä voidaan säilyttää vähintään -20 °C:ssa enintään 24 kuukautta.

SurePath-nestesyttologianäytteet (vain Tigris DTS System -järjestelmä ja Panther System -järjestelmä)

1. SurePath-nestesyttologianäytteiden kuljetuslämpötila on 2–25 °C.
2. Potilasnäytteet on siirrettävä Aptima-näytteensiirtoputkeen 7 päivän sisällä keräämisestä.

3. Ennen siirtämistä SurePath-nestesytologianäytteitä on säilytettävä 2–25 °C:ssa.
4. Aptima-näytteensiirtoputkeen siirrettyjä SurePath-nestesytologianäytteitä voidaan säilyttää 2–25 °C:ssa enintään 7 päivää.

Aptima Cervical Specimen Collection and Transport -tarvikesarjan (CSCT) potilasnäytteet

1. Kuljeta ja säilytä potilasnäytteitä 2–30 °C:ssa enintään 60 päivää.
2. Jos pitempiä säilytysaikoja tarvitaan, näytteensiirtotarvikesarjan potilasnäytteitä voidaan säilyttää vähintään -20 °C:ssa enintään 24 kuukautta.

C. SurePath-nestesytologianäytteen käsitteleminen (vain Tigris DTS System -järjestelmä ja Panther System -järjestelmä)

Huomautus: *SurePath-nestesytologianäytteet on käsiteltävä Aptima-näytteensiirtonesteellä ennen testaamista Aptima HPV assaylla.*

1. Aptima-siirtoneste (vain Tigris DTS System -järjestelmä ja Panther System -järjestelmä)
Käsitellyjä näytteitä voidaan säilyttää 2–8 °C:ssa enintään 17 päivää ennen testaamista Aptima HPV assaylla. Lisätietoja on Aptima-näytteensiirtotarvikesarjan tuoteselosteessa.

D. Potilasnäytteiden säilyttäminen testauksen jälkeen

1. Määritetyt potilasnäytteet on säilytettävä pystyasennossa telineessä.
2. Näyteputket on peitettävä uudella, puhtaalla muovikelmulla tai foilisululla.
3. Jos määritettyjä näytteitä täytyy jäädyttää tai kuljettaa, poista puhkaistava korkki ja aseta uudet ei-puhkaistavat korkit näyteputkiin. Jos potilasnäytteet on lähetettävä toiseen laitokseen testausta varten, suositeltuja lämpötiloja on ylläpidettävä. Ennen aiemmin testattujen uudelleen suljettujen näytteiden korkin avaamista näyteputkia on sentrifugoitava 5 minuutin ajan 420 RCF:ssä (suhteellinen sentrifugaalivoima), jotta kaikki neste saadaan putken pohjalle.

Huomautus: *Potilasnäytteet täytyy lähettää soveltuvien kansallisten ja kansainvälisten kuljetusmääräyksien mukaisesti.*

DTS Systems -järjestelmät

Aptima HPV assayn reagenssit DTS Systems -järjestelmiä varten luetellaan seuraavassa. Reagenssin tunnistussymbolit on myös lueteltu reagenssin nimen vieressä.

Toimitetut reagenssit ja materiaalit

Huomautus: Katso tietoja reagensseihin mahdollisesti liittyvistä vaaroista ja varoituslausekkeista kohdasta Safety Data Sheet Library (turvallisuustiedotekirjasto) osoitteessa www.hologic.com/sds.

Aptima HPV assay -tarvikesarja, 100 testiä, luettelonro 302610 (4 laatikkoa)

Kalibraattorit ja kontrollit voidaan hankkia erikseen. Erilliset laatikkojen luettelonumerot ovat seuraavassa.

Aptima HPV -jääkaappilaatikko (säilytettävä 2–8 °C:ssa vastaanottamisen jälkeen)

| Symboli | Osa | Määrä |
|-----------|---|-----------|
| A | HPV-monistusreagenssi <i>Ei-tartuntavaarallisia nukleiinihappoja kuivattu puskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % täyteainetta.</i> | 1 ampulli |
| E | HPV-entsyymireagenssi <i>Käänteistranskriptaasi ja RNA-polymeraasi kuivattu HEPES-puskuroidulla liuoksella, joka sisältää < 10 % täyttereagenssia.</i> | 1 ampulli |
| P | HPV-koetinreagenssi <i>Ei-tartuntavaarallisia kemiluminenssi-DNA-koettimia (< 500 ng/ampulli) kuivattu sukkinaattipuskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 1 ampulli |
| IC | HPV-IC-reagenssi <i>Ei-tartuntavaarallista RNA-transkriptia puskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 1 ampulli |

Aptima HPV -huonelämpötilalaatikko (säilytetään 15–30 °C:ssa vastaanottamisen jälkeen)

| Symboli | Osa | Määrä |
|-----------|--|-----------|
| AR | HPV-monistuksen uudelleenliuotusneste <i>Vesiliuos, joka sisältää säilöntäaineita.</i> | 1 ampulli |
| ER | HPV-entsyymien uudelleenliuotusneste <i>HEPES-puskuroitu liuos, joka sisältää surfaktanttia ja glyserolia.</i> | 1 ampulli |
| PR | HPV-koettimen uudelleenliuotusneste <i>Sukkinaatti-puskuroitu liuos, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 1 ampulli |
| S | HPV-valintareagenssi <i>600 mM boraatti-puskuroitua liuosta, joka sisältää surfaktanttia.</i> | 1 ampulli |

Aptima HPV -huonelämpötilalaatikko
(säilytetään 15–30 °C:ssa vastaanottamisen jälkeen)

| Symboli | Osa | Määrä |
|---------|---|-----------|
| TCR | HPV -kohteen poimintareagenssi <i>Ei-tartuntavaarallista nukleiinihappoa puskuroidussa nesteessä, joka sisältää kiinteää vaihetta (< 0,5 mg/ml).</i> | 1 ampulli |
| | Tiivistekortit | 1 pakkaus |
| | Uudelleenliuotukseen käytettävät pidikkeet | 3 |

Aptima HPV -kalibraattorilaatikko (luettelonro 302554)
(säilytettävä 2–8 °C:ssa vastaanottamisen jälkeen)

| Symboli | Osa | Määrä |
|---------|--|------------|
| PCAL | Positiivinen HPV-kalibraattori <i>Ei-tartuntavaarallista HPV 16 in vitro -transkriptia 1000 kopiota ml:aa kohti puskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 5 ampullia |
| NCAL | Negatiivinen HPV-kalibraattori <i>Puskuroitu liuos, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 5 ampullia |

Aptima HPV -kontrollilaatikko (luettelonro 302556)
(säilytettävä 2–8 °C:ssa vastaanottamisen jälkeen)

| Symboli | Osa | Määrä |
|---------|---|------------|
| PC | Positiivinen HPV-kontrolli <i>Lysoituja, inaktivoituja negatiivisia ja positiivisia viljeltyjä HPV-soluja 25 solua ml:aa kohti puskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 5 ampullia |
| NC | Negatiivinen HPV-kontrolli <i>Lysoituja, inaktivoituja negatiivisia viljeltyjä HPV-soluja puskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 5 ampullia |

Tarvittavat materiaalit, jotka ovat saatavilla erikseen

Huomautus: Hologiclta saatavissa olevien materiaalien luettelonumerot on luetteloitu, ellei toisin mainita.

| | <u>Luettelonro</u> |
|--|--------------------|
| Leader™ HC+ -luminometri | 104747 |
| Hologic Target Capture System (TCS) -järjestelmä | 104555 |
| 2 SB100 -kuivakuumahaudetta/vortekseria | 105524F |
| Aptima Auto Detect -tarvikesarja | 301048C |
| Aptima assayn nesteiden tarvikesarja | 302002C |
| Micropipetti, 1000 µl RAININ PR1000 | 104216 |
| 2 Eppendorf Repeater Plus -pipettiä | 105725 |
| Toistopipetin kärjet (2,5 ml, 5,0 ml, 25,0 ml) | — |
| Kärjet, 1000 µl P1000 | 105049 |
| <i>Erytyisläpimittaisia kärkiä saatavana vain Hologiclta</i> | |
| Kymmenen putken putkiyksiköt (Ten Tube Units, TTU) | TU0022 |

| | |
|--|---------|
| Putkiyksikköteline (Ten Tube Units, TTU) | 104579 |
| Kymmenen kärjen kasetit (ten tip cassettes, TTC) | 104578 |
| Aptima-näytteensiirtotarvikesarja | 301154C |
| Aptima Cervical Specimen Collection and Transport -tarvikesarja (CSCT) | 302657 |
| Valkaisuaine, vähintään 5 % tai 0,7 M natriumhypokloriittiliuosta | — |
| Kertakäyttöiset käsineet | — |
| Puhkaistavat Aptima-korkit | 105668 |
| Ei-puhkaistavat vaihtokorkit | 103036A |

Valinnanvaraiset materiaalit

| | <u>Luettelonro</u> |
|--|--------------------|
| TECAN Freedom EVO 100/4 -instrumentti | 900932 |
| Aptima Deck Plate -kokoontalo, DTS 800 | 105200 |
| Kärjet, 1000 µl johtava, nesteen havaitseva | 10612513 (Tecan) |
| Reagenssisäiliö (40 ml neljännesmoduuli) | 104765 |
| Puolitettu reagenssisäiliö (19 ml x 2 neljännesmoduulia) | 901172 |
| Valkaisuainetta puhdistukseen | 302101 |

DTS Systems -järjestelmien testausmenetelmä

A. Työalueen/laitteiden valmisteleminen

1. Pyyhi ennen määrittämistä työalueet ja pipetit 2,5–3,5 % (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella. Anna liuoksen olla kosketuksissa pintojen ja pipettien kanssa vähintään 1 minuutin ajan ja huuhtelee sitten vedellä. Liuoksen ei saa antaa kuivua. Peitä laboratorion työpöydän pinta, jolla testaus tehdään, puhtailla, muovitaustaisilla ja imukykyisillä laboratoriotason suojuksilla.
2. Aseta riittävä määrä TTC-kasetteja Target Capture System (TCS) -järjestelmään. Varmista, että Target Capture System -järjestelmän pesupullo on täytetty pesuliuoksella ja että aspirointijakoputki on kiinnitetty imupumppuun. Lisätietoja on *Target Capture System Operator's Manual* (Target Capture System -järjestelmän käyttäjän oppaassa).
3. Valmistele TECAN Freedom EVO -instrumentti käyttäjän oppaan ja HPV-käyttölehtisen ohjeiden mukaan.
4. Valmistele esimonistuksen SB100-instrumentti käyttäjän oppaan ja HPV-käyttölehtisen ohjeiden mukaan. Käynnistä instrumentti ja aloita "APTIMA HPV PREAMP" -protokolla, jolloin instrumentti lämpiää 62 °C:een.
5. Kun monistusvaihe on tehty, valmistele jälkimonistuksen SB100-instrumentti käyttäjän oppaan ja HPV-käyttölehtisen ohjeiden mukaan. Käynnistä instrumentti ja aloita "APTIMA HPV PSTAMP" -protokolla, jolloin instrumentti lämpiää 62 °C:een.
6. Kun monistusvaihe on tehty, valmistele Leader HC+ -luminometri käyttäjän oppaan ohjeiden mukaan sen jälkeen, kun olet lisännyt koetinreagenssin monistuksen jälkeisissä vaiheissa annettujen kuvausten mukaan.

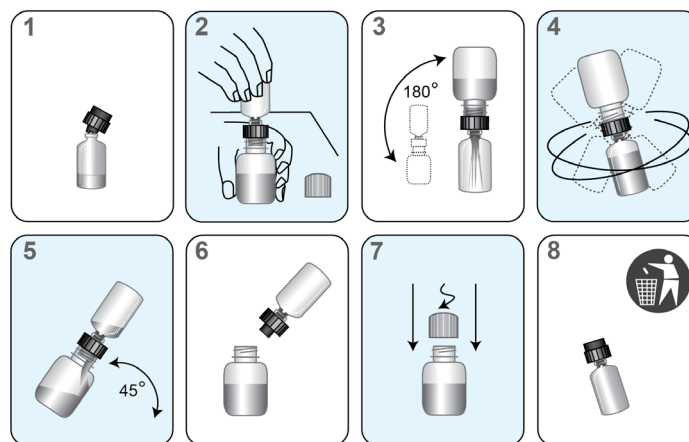
B. Reagenssin uudelleenliuotus/uuden tarvikesarjan valmistelu

Huomautus: Reagenssin uudelleenliuotus on tehtävä ennen potilasnäytteen siirron aloittamista.

1. Uudelleenliuota Aptima HPV-monistus-, entsyymi- ja koetinreagenssit yhdistämällä lyofilisoitujen reagenssipullojen sisältö uudelleenliuotusnesteen kanssa. Jos niitä on

säilytetty jääkaapissa, anna uudelleenliuotusnesteiden palautua huoneenlämpötilaan ennen käyttöä:

- a. Yhdistä pareittain kukin uudelleenliuotusneste sen lyofilisoidun reagenssin kanssa. Varmista, että uudelleenliuotusnesteen ja lyofilisoidun reagenssin etikettivärit vastaavat toisiaan ennen uudelleenliuotuspidikkeen kiinnittämistä.
- b. Avaa lyofilisoidun reagenssin ampulli ja vie uudelleenliuotukseen käytettävän pidikkeen lovettu pää tiukasti sisään ampullin aukkoon (kuva 1, vaihe 1).
- c. Avaa parina oleva uudelleenliuotusnestepullo ja aseta korkki puhtaalle, peitetylle työalueelle.
- d. Samalla kun pidät nestepullosta kiinni työpöydällä, vie uudelleenliuotukseen käytettävän pidikkeen toinen pää kunnolla sisään pullon aukkoon (kuva 1, vaihe 2).
- e. Käännä yhteenliitetyt pullo ja ampulli hitaasti ylösalaisin. Anna liuoksen valua lasiampulliin (kuva 1, vaihe 3).
- f. Sekoita ampullissa olevaa liuosta perusteellisesti varovasti pyörittämällä. Vältä vaahdon tuottamista ampullia pyöritettäessä (kuva 1, vaihe 4).
- g. Odota, että lyofilisoitu reagenssi sekoittuu liuokseen, ja käännä sitten yhteenliitetyt pullo ja ampulli uudelleen ylösalaisin kallistaen 45 asteen kulmassa vaahtoamisen minimoimiseksi (kuva 1, vaihe 5). Anna liuoksen valua takaisin pulloon.
- h. Irrota uudelleenliuotukseen käytettävä pidike ja lasiampulli (kuva 1, vaihe 6).
- i. Sulje korkki uudelleen muovipulloon. Merkitse käyttäjän nimikirjaimet ja uudelleenliuotuspäivä uudelleenliuotettuihin reagenssiampulleihin (kuva 1, vaihe 7).
- j. Hävitä uudelleenliuotukseen käytetty pidike ja lasiampulli (kuva 1, vaihe 8).



Kuva 1. DTS Systems -järjestelmien uudelleenliuotusprosessi

2. Valmistele kohteen poimintareagenssi (working Target Capture Reagent, wTCR).
 - a. Yhdistä asianmukaiset TCR- ja IC-pullot pareiksi.
 - b. Avaa TCR-pullo ja aseta korkki puhtaalle, peitetylle työalueelle.
 - c. Avaa IC-pullo ja kaada sen koko sisältö TCR-pulloon. Hyvin pieni määrä nestettä voi jäädä IC-ampulliin.
 - d. Kiinnitä TCR-pullon korkki paikalleen ja sekoita liuosta hellävaroen pyörittämällä. Vältä vaahdon tuottamista tämän vaiheen aikana.
 - e. Merkitse käyttäjän nimikirjaimet ja nykyinen päivämäärä etikettiin.
 - f. Hävitä IC-pullo ja korkki.

- g. Sakkaa voi muodostua wTCR-reagenssiin. Sakan voi liuottaa lämmittämällä wTCR-reagenssia 42–60 °C:ssa enintään 90 minuuttia. Anna wTCR-reagenssin tasaantua huoneenlämpöön ennen käyttöä.
3. Valintareagenssin valmisteleminen
- Jos valintareagenssi sisältää sakkaa, lämmitä valintareagenssia 60 °C:ssa ± 1 °C enintään 45 minuuttia, jolloin sakka liukenee helpommin. Sekoita pulloa varovasti 5–10 minuutin välein. Anna valintareagenssin tasaantua huoneenlämpöön ennen käyttöä. Ei saa käyttää, jos sakkaa tai sameutta esiintyy edelleen.
- C. Reagenssin valmistelu aiemmin uudelleenliuotetuille reagensseille
1. Aiemmin uudelleenliuotettujen monistus-, entsyymi- ja koetinreagenssien on saavutettava huoneenlämpötila (15–30 °C) ennen määrityksen aloittamista.
 2. Jos uudelleenliuotettu koetinreagenssi sisältää sakkaa, joka ei muutu liuokseksi huoneenlämpötilassa, kuumenna 1–2 minuutin ajan enintään 60 °C:n lämpötilassa. Sekoita ampullia kääntämällä sitä hellävaroen ylösalaisin uudelleensuspension jälkeen. Ei saa käyttää, jos sakkaa tai sameutta esiintyy.
 3. Jos wTCR-reagenssissa on sakkaa, lämmitä wTCR-reagenssia 42–60 °C:ssa enintään 90 minuuttia. Anna wTCR-reagenssin tasaantua huoneenlämpöön ennen käyttöä.
 4. Jos valintareagenssi sisältää sakkaa, lämmitä valintareagenssia 60 °C:ssa ± 1 °C enintään 45 minuuttia, jolloin sakka liukenee helpommin. Sekoita pulloa varovasti 5–10 minuutin välein. Anna valintareagenssin tasaantua huoneenlämpöön ennen käyttöä. Ei saa käyttää, jos sakkaa tai sameutta esiintyy edelleen.
 5. Sekoita kukin reagenssi perusteellisesti varovasti ylösalaisin kääntämällä ennen käyttöä. Vältä vaahdon tuottamista reagenssien ylösalaisin kääntämisen aikana.
- D. Telineen käyttöönotto
1. Anna näytteiden (kalibraattorien, kontrollien ja potilasnäytteiden) saavuttaa huoneenlämpötila ennen prosessointia.
 2. Näytteitä ei saa vorteksoida.
 3. Tarkista näyteputket ennen niiden puhkaisemista. Jos näyteputkessa on kuplia tai siinä on tavallista vähemmän näytettä, sentrifugoi putkea 5 minuuttia 420 RCF:ssa ja varmista, että korkissa ei ole nestettä.
- Huomautus:** *Vaiheen 3 noudattamatta jättäminen saattaa johtaa nesteen vuotamiseen potilasnäyteputken korkista.*
4. Aseta riittävä määrä putkiyksikköjä putkiyksikkötelineeseen, jotta siihen mahtuvat kalibraattorit, kontrollit ja potilasnäytteet.
 5. (Valinnanvarainen) Laadi työlista Aptima Worklist Editor -ohjelmalla. Yksityiskohtaiset ohjeet ovat *Aptima Assay Software Operator's Manual* (Aptima Assayn ohjelmiston käyttäjän oppaan) Worklist Editor -osassa.
- Manuaalinen pipetointivaihtoehto
1. Sekoita wTCR-reagenssit (TCR ja IC) perusteellisesti. Lisää toistopipetillä 100 µl wTCR-reagenssia kuhunkin reaktioputkeen.
 2. Puhkaise näyteputken korkki mikropipetillä varoen päästämästä kärkeä putken pohjaan.
 3. Käytä kussakin kalibraattorissa, kontrollissa ja potilasnäytteessä uutta pipettikärkeä.
 4. Lisää 400 µl negatiivista kalibraattoria ensimmäisen putkiyksikön ensimmäiseen kolmeen putkeen.
 5. Lisää 400 µl positiivista kalibraattoria ensimmäisen putkiyksikön putkiin 4–6.
 6. Lisää 400 µl negatiivista kontrollia ensimmäisen putkiyksikön putkeen 7.

7. Lisää 400 µl positiivista kontrollia ensimmäisen putkiyksikön putkeen 8.
8. Lisää 400 µl kutakin potilasnäytettä jäljellä oleviin putkiin.
9. Kun kaikki näytteet on pipetoitu, peitä putkiyksiköt tiivistekorteilla ja jatka kohteen sieppausvaiheeseen.

TECAN Freedom EVO -instrumenttivaihtoehto

Yksityiskohtaiset ohjeet wTCR-reagenssien ja näytteiden lisäämisestä tätä instrumenttia käytettäessä on Aptima HPV Assayn *TECAN Freedom EVO 100/4 Application Sheet* (TECAN Freedom EVO 100/4 -käyttölehtisessä).

E. Kohteen sieppaus

Yksityiskohtaista tietoa SB100-instrumentin käytöstä Aptima HPV assayn kanssa on Aptima HPV assayn *SB100 Dry Heat Bath/Vortexer Application Sheet* (SB100-kuivakuumaude/vortekserin käyttölehtisessä).

Tietoa Hologic Target Capture System -järjestelmän käytöstä on *Target Capture System Operator's Manual* (Target Capture System -järjestelmän käyttäjän oppaassa).

Huomautus: Kohteen sieppauksessa ja monistuksessa käytettyä toistopipettiä saa käyttää vain näissä vaiheissa. Lisätietoa on kohdassa *Tigris DTS System -järjestelmän testausmenetelmä*.

1. Peitä tiivistekortit SB100-rungolla.
2. Kun SB100-instrumentti on saavuttanut 62 °C:n lämpötilan, pidä runkoa ja telinettä yhdessä ja varmista, että putkiyksiköt on lukittu paikoilleen telineessä, ja aseta teline sitten varovasti lämpöalustalle. Varo roiskuttamasta sisältöä tiivistekorteille. Käännä mustia nuppeja, kunnes laakerit lukittuvat rungon reikiin.
3. Käynnistä ohjelma asianmukaista näppäintä painamalla.
4. Kun SB100-näytöllä ilmaistaan, että viimeinen inkubointi on valmis, poista teline varovasti lämpöalustasta varoen roiskuttamasta sisältöä tiivistekorteille.
5. Aseta teline Target Capture System -järjestelmän (TCS) magneettialustaan 5–10 minuutiksi. Tee seuraavat pesuvaiheet:
 - a. Esitäytä annosteluaseman pumppuletkut pumppaamalla pesuliuosta annostelujakoputken läpi. Pumppaa riittävästi nestettä järjestelmän läpi siten, että letkuun ei jää ilmakuplia ja kaikki 10 suutinta annostelevat nestettä tasaisena virtana.
 - b. Käynnistä imupumppu ja irrota aspirointijakoputki ensimmäisestä liitännästä jakoputken ja erotinpullon välillä. Varmista, että imumittari täyttää vuototestin määriykset. Lukeman saavuttamiseen voi kulua 15 sekuntia. Kiinnitä jakoputki uudestaan paikalleen ja varmista, että imumittari täyttää imutason määriykset. Jätä imupumppu päälle, kunnes kaikki kohteen sieppausvaiheet on tehty ja aspirointijakoputki on kuiva.
 - c. Kiinnitä aspirointijakoputki kunnolla ensimmäiseen kärkisarjaan. Aspiroi kaikki neste laskemalla kärkiä ensimmäiseen putkiyksikköön, kunnes ne joutuvat hetkeksi kosketuksiin putkien pohjien kanssa. Kärkiä ei saa jättää kosketuksiin putkien pohjien kanssa.
 - d. Kun aspirointi on valmis, siirrä kärjet alkuperäiseen kärkikasettiin. Toista aspirointivaiheet muiden putkiyksikköjen osalta käyttäen kussakin potilasnäytteessä omaa kärkeään.
 - e. Aseta annostelujakoputki kunkin putkiyksikön päälle ja annostelee annosteluaseman pumpulla 1,0 ml pesuliuosta kuhunkin putkiyksikön putkeen.
 - f. Peitä putket tiivistekortilla ja ota teline TCS-järjestelmästä.

6. Peitä tiivistekortit SB100-rungolla ja aseta varovasti SB100-lämpöalustalle. Vorteksoi putket asianmukaista näppäintä painamalla. Kun putket on vorteksoitu, poista teline.
7. Paina SB100-instrumentissa asianmukaista näppäintä ja jatka alustan esilämmittämistä.
8. Aseta teline takaisin TCS-järjestelmään ja toista edellä esitetyt aspirointivaiheet 5c ja 5d.
9. Poista teline TCS-järjestelmän magneettialustasta lopullisen aspiroinnin jälkeen ja tarkista putket silmämääräisesti varmistaen, että kaikki neste on aspiroitu ja kaikki putket sisältävät magneettisia hiukkasrakeita. Jos nestettä on näkyvässä, aseta teline takaisin TCS-järjestelmän alustaan 2 minuutiksi, ja toista kyseisen putkiyksikön aspirointi käyttäen samoja kärkiä kuin aiemmin kussakin potilasnäytteessä.
10. Siirry monistusvaiheeseen.

F. Monistus

1. Lisää monistusreagenssi ja öljyreagenssi.

Manuaalinen pipetointivaihtoehto

- a. Lisää toistopipetillä 75 µl uudelleenliuotettua monistusreagenssia kuhunkin reaktioputkeen. Kaikkien telineessä olevien reaktioseosten on oltava punaisia.
- b. Lisää toistopipetillä 200 µl öljyreagenssia.
- c. Peitä putket tiivistekorteilla.
- d. Siirry vaiheeseen 2.

TECAN Freedom EVO -instrumenttivaihtoehto

Yksityiskohtaiset ohjeet monistus- ja öljyreagenssien lisäämisestä tätä instrumenttia käytettäessä on Aptima HPV assayn *TECAN Freedom EVO 100/4 Application Sheet* (TECAN Freedom EVO 100/4 -käyttölehtisessä).

2. Peitä tiivistekortit SB100-rungolla ja aseta teline varovasti lämpöalustalle.
3. Aloita inkubointi asianmukaista näppäintä painamalla.
4. Poista SB100-runko, kun siitä ilmoitetaan. Poista ja hävitä tiivistekortit ja lisää 25 µl uudelleenliuotettua entsyymireagenssia toistopipetillä telineen ollessa vielä lämpöalustalla.
5. Peitä putket uusilla tiivistekorteilla ja SB100-rungolla.
6. Aloita monistusinkubointi asianmukaista näppäintä painamalla.
7. Kun inkubaatiovaihe on valmis, poista teline SB100-instrumentista ja siirry monistuksen jälkeiseen vaiheeseen.

G. Monistuksen jälkeinen vaihe

Käynnistä monistuksen jälkeinen SB100-instrumentti ja valitse "APTIMA HPV PSTAMP" -protokolla, jolloin instrumentti lämpiää 62 °C:een.

Yksityiskohtaista tietoa SB100-instrumentin käytöstä Aptima HPV assayn kanssa on *SB100 Dry Heat Bath/Vortexer Application Sheet* (Aptima HPV Assayn SB100-kuivakuumahaude/vortekserin käyttölehtisessä).

Huomautus: *Tunnistuksessa käytettyä toistopipettiä saa käyttää vain näissä vaiheissa. Lisätietoa on kohdassa Varoitukset ja varotoimet.*

Huomautus: *Monistuksen jälkeiset vaiheet on tehtävä alueella, joka on erillään reagenssin valmistus- ja esimonistusvaiheista. Lisätietoja on kohdassa Toimenpiteeseen liittyviä huomautuksia.*

1. Poista ja hävitä tiivistekortit.

2. Lisää toistopipetillä 100 µl uudelleenliuotettua koetinreagenssia kuhunkin reaktioputkeen. Kaiken reaktioseoksen on oltava keltaista.
3. Peitä putket tiivistekorteilla ja SB100-rungolla ja aseta teline varovasti lämpöalustalle.
4. Käynnistä vorteksointi-/inkubointivaiheet asianmukaista näppäintä painamalla.
5. Kun inkubointivaihe on valmis, poista teline ja inkuboi huoneenlämmössä 5 minuuttia. Varmista, että valitset oikean näppäimen SB100-näppäimistöä inkubaatioajan aloittamiseen.
6. Kun 5 minuuttia on kulunut, josta tulee ilmoitus SB100-näyttöön, lisää 250 µl valintareagenssia kuhunkin reaktioputkeen toistopipetillä. Kaiken reaktioseoksen on oltava vaaleanpunaista.
7. Peitä putket tiivistekorteilla ja SB100-rungolla ja aseta teline varovasti lämpöalustalle. Käynnistä vorteksointi-/inkubointivaiheet asianmukaista näppäintä painamalla.
8. Kun inkubaatiovaihe on valmis, poista teline SB100-instrumentista ja siirry tunnistusvaiheeseen.

H. Tunnistus

1. Tunnistusvaihe on tehtävä 18–28 °C:ssa.
2. Varmista, että Auto Detect 1- ja 2-reagensseja on riittävästi testien tekemiseen.
3. Valmistele Leader HC+ -luminometri asettamalla yksi tyhjä putkiyksikkö kasettipaikkaan numero 1 ja tee WASH-protokolla (pesu). Yksityiskohtaiset ohjeet ovat *Leader HC+ Luminometer Operator's Manual* (Leader HC+ -luminometrin käyttäjän oppaassa).
4. Lataa putkiyksiköt luminometriin.
5. Kirjautu sisään Aptima assayn HPV-ohjelmaan. Jos työlista on laadittu, varmista että asianmukainen reitti on käytössä, jotta Aptima HPV assayn ohjelma voi paikantaa oikean työlistan.
6. Valitse **NEW RUN (UUSI AJO)**. Jos työlistaa ei ole luotu, syötä putkien lukumäärä (kalibraattorit, kontrollit ja potilasnäytteet). Aloita ajo valitsemalla **NEXT (SEURAAVA)**.

Huomautus: Ajo on suoritettava 2 tunnin sisällä valintavaiheen inkubaation päättymisestä.

7. Valmistele deaktivoitineste sekoittamalla sama määrä 5–7 % (0,7–1,0 M) natriumhypokloriittiliuosta ja Aptiman deaktivoitiliuoksen puskuria suurikorkkisessa muovisäiliössä. Kiinnitä etiketti ja kirjoita viimeinen käyttöpäivä muovisäiliöön. Deaktivoitineste pysyy stabiilina 4 viikkoa huoneenlämmössä.
8. Aseta luminometrissa poistetut käytetyt putkiyksiköt deaktivoitinestettä sisältävään säiliöön. Anna putkiyksiköiden jäädä säiliöön 15 minuutiksi ennen niiden hävittämistä. Laboratorion johtajan on luotava oikeat käsittely- ja hävitysmenetelmät.

Toimenpiteeseen liittyviä huomautuksia

A. Kalibraattorit

Jokaisessa enintään 100 testin ajossa on oltava kolme kunkin negatiivisen kalibraattorin ja positiivisen kalibraattorin replikaattia. Jotta kalibraattorit toimivat oikein Aptima HPV assayn ohjelmassa, ensimmäisen putkiyksikön ensimmäisessä kuudessa paikassa on oltava kolme negatiivisen kalibraattorin replikaattia ja sen jälkeen kolme positiivisen kalibraattorin replikaattia. Jos ne eivät ole oikeilla paikoillaan, ajo epäonnistuu.

B. Kontrollit

Jokaisessa enintään 100 testin ajossa on oltava yksi negatiivisen kontrollin ja positiivisen kontrollin replikaatti. Negatiivinen kontrolli on asetettava putkipaikkaan numero seitsemän ja

sitä seuraava positiivinen kontrolli putkipaikkaan numero kahdeksan. Jos ne eivät ole oikeilla paikoillaan, ajo epäonnistuu.

C. Näytepipetointi

1. Reaktioputkeen lisättävän näytteen määrän on oltava 400 µl ± 100 µl. Suosittelemme, että putkiyksikköön pipetoitu määrä tarkistetaan silmämääräisesti ja varmistetaan, että sitä on asianmukainen määrä. Potilasnäytettä on oltava asianmukainen määrä, jotta tulokset ovat tarkkoja. Jos asianmukaista määrää ei ole pipetoitu, pipetoi kohteen poimintareagenssi ja potilasnäyte uudestaan uuteen reaktioputkeen.
2. Annostele näytteet kuhunkin putkeen varovasti välttämällä koskettamasta reunoja, jotta jäämän kulkeutumista yhdestä putkesta toiseen vältetään.

D. Lämpötila

1. Huonelämpötila määritellään 15–30 °C:ksi.
2. Tunnistus on lämpötilaherkkää. Tunnistusalueen lämpötilan on laboratoriossa oltava 18–28 °C.

E. Aika

Kohteen sieppaus-, monistus-, hybridisointi- ja valintareaktiot ovat kaikki riippuvaisia ajasta. Noudata kohdassa *DTS Systems -järjestelmien testausmenetelmä* annettuja aikoja.

F. Käsine talkki

Kuten muissakin reagenssijärjestelmissä, liika talkki käsineissä saattaa aiheuttaa avattujen putkien kontaminaation. Suosittelemme talkittomia käsineitä.

G. Dekontaminointi

1. Laboratorion työpöytien pinnat ja pipetit on dekontaminoitava säännöllisesti 2,5–3,5 % (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella. Anna liuoksen olla kosketuksissa pintojen kanssa vähintään 1 minuutin ajan ja huuhtelee sitten vedellä. Liuoksen ei saa antaa kuivua. Klooriliuokset voivat aikaansaada koloja laitteisiin ja metalliin. Kolojen muodostumista estetään huuhtelemalla laitteet perusteellisesti vedellä.
2. Dekontaminoi TECAN Freedom EVO -instrumentti käyttäjän oppaan ohjeiden mukaan.
3. Dekontaminoi SB100-instrumentit Aptima HPV assayn *SB100 Dry Heat Bath/Vortexer Application Sheet* (SB100-kuivakuumaude/vortekserin käyttölehtisen ohjeiden mukaan).
4. Dekontaminoi Target Capture System -järjestelmä *Target Capture System Operator's Manual* (Target Capture System -järjestelmän käyttäjän oppaan ohjeiden mukaan).
5. Pyyhi TCS-yksikön pinnat ja pesupuskurin ejektorikärjet puhtaaksi 2,5–3,5 % (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuokseen kostutetuilla paperipyyhkeillä. Huuhtelee sen jälkeen vedellä ja kuivaa pinnat kokonaan paperipyyhkeillä.
6. Upota putkiyksikkötelineet 2,5–3,5 % (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuokseen varmistaen, että ne ovat kokonaan liuoksen peittämiä. Pidä telineitä upotettuina 10 minuutin ajan. Pitempi altistus voi vahingoittaa telineitä. Huuhtelee telineet perusteellisesti vedellä, aseta puhtaalle, imukykyiselle alustalle ja anna kuivua ilmassa perusteellisesti. Anna telineiden kuivua pystysuorassa, ei ylösalaisin, niiden käyttöänsä pidentämiseksi.
7. Putkiyksiköt on dekontaminoitava deaktivoitineesteellä tunnistusvaiheessa kuvatus vaiheen mukaan. Putkiyksiköitä ei saa käyttää uudelleen.

Tigris DTS System -järjestelmä

Aptima HPV assayn reagenssit Tigris DTS System -järjestelmää varten luetellaan seuraavassa. Reagenssin tunnistussymbolit on myös lueteltu reagenssin nimen vieressä.

Toimitetut reagenssit ja materiaalit

Aptima HPV assay -tarvikesarja, 250 testiä, luettelonro 302611 (4 laatikkoa)

Kalibraattorit ja kontrollit voidaan hankkia erikseen. Erilliset laatikkojen luettelonumerot ovat seuraavassa.

Aptima HPV -jääkaappilaatikko (säilytettävä 2–8 °C:ssa vastaanottamisen jälkeen)

| Symboli | Osa | Määrä |
|-----------|--|-----------|
| A | HPV-monistusreagenssi <i>Ei-tartuntavaarallisia nukleiinihappoja kuivattu puskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % täyteainetta.</i> | 1 ampulli |
| E | HPV-entsyymireagenssi <i>Käänteistranskriptaasi ja RNA-polymeraasi kuivattu HEPES-puskuroidulla liuoksella, joka sisältää < 10 % täyttereagenssia.</i> | 1 ampulli |
| P | HPV-koetinreagenssi <i>Ei-tartuntavaarallisia kemiluminenssi-DNA-koettimia (< 500 ng/ampulli) kuivattu sukkinattipuskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 1 ampulli |
| IC | HPV-IC-reagenssi <i>Ei-tartuntavaarallista RNA-transkriptia puskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 1 ampulli |

Aptima HPV -huonelämpötilalaatikko (säilytetään 15–30 °C:ssa vastaanottamisen jälkeen)

| Symboli | Osa | Määrä |
|------------|---|-----------|
| AR | HPV-monistuksen uudelleenliuotusneste <i>Vesiliuos, joka sisältää säilöntäaineita.</i> | 1 ampulli |
| ER | HPV-entsyymien uudelleenliuotusneste <i>HEPES-puskuroitu liuos, joka sisältää surfaktanttia ja glyserolia.</i> | 1 ampulli |
| PR | HPV-koettimen uudelleenliuotusneste <i>Sukkinatti-puskuroitu liuos, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 1 ampulli |
| S | HPV-valintareagenssi <i>600 mM boraatti-puskuroitua liuosta, joka sisältää surfaktanttia.</i> | 1 ampulli |
| TCR | HPV -kohteen poimintareagenssi <i>Ei-tartuntavaarallista nukleiinihappoa puskuroidussa nesteessä, joka sisältää kiinteää vaihetta (< 0,5 mg/ml).</i> | 1 ampulli |
| | Uudelleenliuotukseen käytettävät pidikkeet | 3 |
| | Master-erän viivakoodiarkki | 1 arkki |

Aptima HPV -kalibraattorilaatikko (luettelonro 302554)
 (säilytettävä 2–8 °C:ssa vastaanottamisen jälkeen)

| Symboli | Osa | Määrä |
|-------------|--|------------|
| PCAL | Positiivinen HPV-kalibraattori <i>Ei-tartuntavaarallista HPV 16 in vitro -transkriptia 1000 kopiota ml:aa kohti puskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 5 ampullia |
| NCAL | Negatiivinen HPV-kalibraattori <i>Puskuroitu liuos, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 5 ampullia |

Aptima HPV -kontrollilaatikko (luettelonro 302556)
 (säilytettävä 2–8 °C:ssa vastaanottamisen jälkeen)

| Symboli | Osa | Määrä |
|-----------|---|------------|
| PC | Positiivinen HPV-kontrolli <i>Lysoituja, inaktivoituja negatiivisia ja positiivisia viljeltyjä HPV-soluja 25 solua ml:aa kohti puskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 5 ampullia |
| NC | Negatiivinen HPV-kontrolli <i>Lysoituja, inaktivoituja negatiivisia viljeltyjä HPV-soluja puskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 5 ampullia |

Tarvittavat materiaalit, jotka ovat saatavilla erikseen

Huomautus: Hologic:lta saatavissa olevien materiaalien luettelonumerot on luetteloitu, ellei toisin mainita.

| | <u>Luettelonro</u> |
|---|--------------------|
| Tigris DTS System -järjestelmä | 105118 |
| Aptima assayn nesteiden tarvikesarja <i>(Aptima-pesuliuos, Aptima-puskuri deaktivoitiliuosta varten ja Aptima-öljyreagenssi)</i> | 302382 |
| Aptima Auto Detect -tarvikesarja | 301048 |
| Aptima System -järjestelmän säilytysnestetarvikesarja | 302380 |
| Kärjet, 1000 µl johtava, nesteen havaitseva | 10612513 (Tecan) |
| Tigris DTS System -järjestelmän ajotarvikesarja | 301191 |
| <i>Moniputkiyksiköt (Multi-Tube Units, MTU)</i> | <i>104772-02</i> |
| <i>MTU-Tiplet-jätepussi</i> | <i>900907</i> |
| <i>MTU-jätedeflektorit</i> | <i>900931</i> |
| <i>MTU-jätekannet</i> | <i>105523</i> |
| Aptima-näytteesiirtotarvikesarja | 301154C |
| Aptima Cervical Specimen Collection and Transport -tarvikesarja (CSCT) | 302657 |
| Puhkaistavat Aptima-korkit | 105668 |
| Ei-puhkaistavat vaihtokorkit | 103036A |
| Varakorkit monistus- ja koetinreagenssien uudelleenliuotusnesteisiin | CL0041 |
| Varakorkit entsyymireagenssin uudelleenliuotusnesteelle | 501616 |
| Varakorkit TCR- ja valintareagensseille | CL0040 |
| Valkaisuaine, vähintään 5 % tai 0,7 M natriumhypokloriittiliuosta | — |
| Tigris DTS System -järjestelmän vesi <i>tekniset tiedot ovat Tigris DTS System -järjestelmän käyttäjän oppaassa</i> | — |

| | |
|---|--------|
| Kertakäyttöiset käsiineet | — |
| Aptima-siirtoliuossarja (vain SurePath-potilasnäytteet) | 303658 |

Valinnanvaraiset materiaalit

| | <u>Luettelonro</u> |
|-------------------------------|--------------------|
| Valkaisuainetta puhdistukseen | 302101 |

Tigris DTS System -järjestelmän testausmenetelmä

Huomautus: Lisätietoa Tigris DTS System -järjestelmän toimenpiteestä on Tigris DTS System -järjestelmän käyttäjän oppaassa.

A. Työalueen valmistelu

Puhdista työalueet, joilla reagensseja ja näytteitä valmistellaan. Pyyhi työalueet 2,5–3,5 % (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella. Anna natriumhypokloriitin olla kosketuksissa pintojen kanssa vähintään 1 minuutin ajan ja huuhtelee sitten vedellä. Natriumhypokloriittiliuoksen ei saa antaa kuivua. Peitä laboratorion työpöydän pinta, jolla reagensseja ja näytteitä valmistellaan, puhtailla, muovitaustaisilla ja imukykyisillä laboratoriotason suojuksilla.

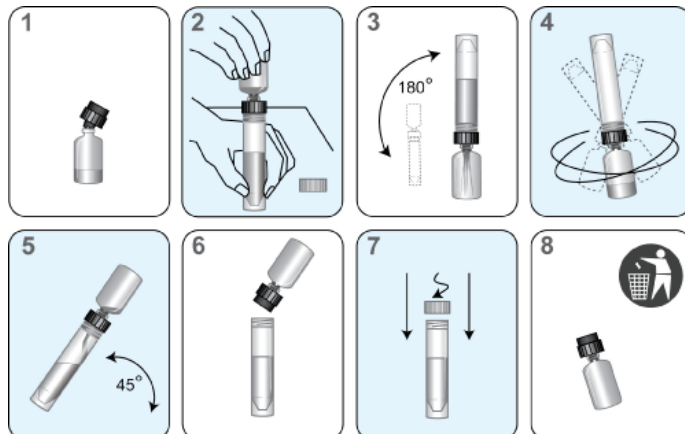
B. Reagenssin uuden tarvikesarjan valmistelu

Huomautus: Reagenssin uudelleenliuotus on tehtävä ennen minkään muun työn aloittamista Tigris DTS System -järjestelmässä.

1. Uudelleenliuota monistus-, entsyymi- ja koetinreagenssit yhdistämällä lyofilisoitujen reagenssipullojen sisältö uudelleenliuotusnesteen kanssa. Jos niitä on säilytetty jääkaapissa, anna uudelleenliuotusnesteiden palautua huoneenlämpötilaan ennen käyttöä.
 - a. Yhdistä pareittain kukin uudelleenliuotusneste sen lyofilisoidun reagenssin kanssa. Varmista, että uudelleenliuotusnesteen ja lyofilisoidun reagenssin etikettivärit vastaavat toisiaan ennen uudelleenliuotuspidikkeen kiinnittämistä.
 - b. Tarkasta eränumerot Master-erän viivakoodiarkista varmistaaksesi, että asianmukaiset reagenssit on yhdistetty pareiksi.
 - c. Avaa lyofilisoidun reagenssin ampulli ja vie uudelleenliuotukseen käytettävän pidikkeen lovettu pää tiukasti sisään ampullin aukkoon (kuva 2, vaihe 1).
 - d. Avaa parina oleva uudelleenliuotusneste ja aseta korkki puhtaalle, peitetylle työalustalle.
 - e. Samalla kun pidät nestepullosta kiinni työpöydällä, vie uudelleenliuotukseen käytettävän pidikkeen toinen pää kunnolla sisään pullon aukkoon (kuva 2, vaihe 2).
 - f. Käännä yhteenliitetyt pullot hitaasti ylösalaisin. Anna liuoksen valua pullosta lasiampulliin (kuva 2, vaihe 3).
 - g. Sekoita pullossa olevaa liuosta varovasti pyörittämällä. Vältä vaahdon tuottamista pulloa pyöritettäessä (kuva 2, vaihe 4).
 - h. Odota, että lyofilisoitu reagenssi sekoittuu liuokseen, ja käännä sitten yhteenliitetyt pullot uudelleen ylösalaisin kallistaen 45 asteen kulmassa vaahtoamisen minimoimiseksi (kuva 2, vaihe 5). Anna liuoksen valua takaisin muovipulloon.
 - i. Irrota uudelleenliuotukseen käytettävä pidike ja lasiampulli (kuva 2, vaihe 6).
 - j. Sulje korkki uudelleen muovipulloon. Merkitse käyttäjän nimikirjaimet ja uudelleenliuotuspäivä uudelleenliuotettuihin reagenssiampulleihin (kuva 2, vaihe 7).

k. Hävitä uudelleenliuotukseen käytetty pidike ja lasiampulli (kuva 2, vaihe 8).

Varoitus: Vältä vaahdon tuottamista, kun liuotat reagensseja uudelleen. Vaahto heikentää tason tunnistusta Tigris DTS System -järjestelmässä.



Kuva 2. Tigris DTS System -järjestelmän uudelleenliuotusprosessi

2. Valmistele kohteen poimintareagenssi (working Target Capture Reagent, wTCR):
 - a. Yhdistä asianmukaiset TCR- ja IC-pullot pareiksi.
 - b. Tarkasta eränumerot Master-erän viivakoodiarkista varmistaaksesi, että asianmukaiset tarvikesarjan reagenssit on yhdistetty pareiksi.
 - c. Avaa TCR-pullo ja aseta korkki puhtaalle, peitetylle työpinnalle.
 - d. Avaa IC-pullo ja kaada sen koko sisältö TCR-pulloon. On odotettavissa, että pieni määrä nestettä voi jäädä IC-pulloon.
 - e. Kiinnitä TCR-pullon korkki paikalleen ja sekoita liuosta hellävaroen pyörittämällä. Vältä vaahdon tuottamista tämän vaiheen aikana.
 - f. Merkitse käyttäjän nimikirjaimet ja nykyinen päivämäärä etikettiin.
 - g. Hävitä IC-pullo ja korkki.
 - h. wTCR-reagenssiin voi muodostua sakkaa, joka voi tuottaa väriä tuloksia määränvarmistusvirheiden vuoksi. Sakan voi liuottaa lämmittämällä wTCR-reagenssia 42–60 °C:ssa enintään 90 minuuttia. Anna wTCR-reagenssin tasaantua huoneenlämpöön ennen käyttöä. Ei saa käyttää, jos sakkaa esiintyy edelleen.
3. Valintareagenssin valmisteleminen
 - a. Tarkasta reagenssin eränumero Master-erän viivakoodiarkista ja varmista, että se kuuluu tarvikesarjaan.
 - b. Jos valintareagenssi sisältää sakkaa, lämmitä valintareagenssia 60 °C:ssa ± 1 °C enintään 45 minuuttia, jolloin sakka liukenee helpommin. Sekoita pulloa varovasti 5–10 minuutin välein. Anna valintareagenssin tasaantua huoneenlämpöön ennen käyttöä. Ei saa käyttää, jos sakkaa tai sameutta esiintyy edelleen.

Huomautus: Sekoita perusteellisesti kääntämällä kaikki reagenssit ylösalaisin varovasti ennen niiden lataamista järjestelmään. Vältä vaahdon tuottamista reagenssien ylösalaisin kääntämisen aikana.

C. Reagenssin valmistelu aiemmin uudelleenliuotetuille reagensseille

1. Aiemmin uudelleenliuotettujen monistus-, entsyymi- ja koetinreagenssien on saavutettava huoneenlämpötila (15–30 °C) ennen määrittäksen aloittamista.

2. Jos uudelleenliuotettu koetinreagenssi sisältää sakkaa, joka ei muutu liuokseksi huoneenlämpötilassa, kuumenna pulloa 1–2 minuutin ajan enintään 60 °C:n lämpötilassa. Ei saa käyttää, jos sakkaa tai sameutta esiintyy.
3. Jos wTCR-reagenssissa on sakkaa, lämmitä wTCR-reagenssia 42–60 °C:ssa enintään 90 minuuttia. Anna wTCR-reagenssin tasaantua huoneenlämpöön ennen käyttöä. Ei saa käyttää, jos sakkaa esiintyy edelleen.
4. Jos valintareagenssi sisältää sakkaa, lämmitä valintareagenssia 60 °C:ssa ± 1 °C enintään 45 minuuttia, jolloin sakka liukenee helpommin. Sekoita pulloa varovasti 5–10 minuutin välein. Anna valintareagenssin tasaantua huoneenlämpöön ennen käyttöä. Ei saa käyttää, jos sakkaa tai sameutta esiintyy edelleen.
5. Sekoita kukin reagenssi perusteellisesti varovasti ylösalaisin kääntämällä ennen lataamista järjestelmään. Vältä vaahdon tuottamista reagenssien ylösalaisin kääntämisen aikana.
6. Älä lisää reagenssipulloihin nestettä. Tigris DTS System -järjestelmä tunnistaa ja hylkää pullot, joihin on lisätty nestettä.

D. Näytteen käsittely

1. Anna näytteiden (kalibraattorien, kontrollien ja potilasnäytteiden) saavuttaa huoneenlämpötila ennen prosessointia.
2. **Näytteitä ei saa vorteksoida.**
3. SurePath-nestesytologiapotilasnäytteet on käsiteltävä proteinaasi K:lla ennen niiden testaamista Aptima HPV assaylla kohdassa *Tigris DTS System -järjestelmän testausmenetelmä*, osa C annettujen ohjeiden mukaan.
4. Tarkista näyteputket ennen telineeseen lataamista. Jos näyteputkessa on kuplia tai siinä on tavallista vähemmän näytettä, sentrifugoi putkea 5 minuuttia 420 RCF:ssa ja varmista, että korkissa ei ole nestettä.

Huomautus: Vaiheen 4 noudattamatta jättäminen saattaa johtaa nesteen vuotamiseen potilasnäyteputken korkista.

E. Järjestelmän valmistelu

Aseta instrumentti ja työlista *Tigris DTS System Operator's Manual* (Tigris DTS System -järjestelmän käyttäjän oppaan) ja seuraavassa olevan *Toimenpiteeseen liittyviä huomautuksia* -kohdan ohjeiden mukaan.

Toimenpiteeseen liittyviä huomautuksia

A. Kalibraattorit

1. Kussakin työlistassa on oltava 3 negatiivisen kalibraattorin ja positiivisen kalibraattorin replikaattia. Jotta työlista toimii asianmukaisesti Aptima HPV assayn ohjelman kanssa, negatiivisen kalibraattorin on oltava työlistan ensimmäisen telineen ensimmäisessä putkipaikassa ja positiivisen kalibraattorin on oltava työlistan ensimmäisen telineen toisessa putkipaikassa.
2. Yli kolmen replikaatin pipetointiyritykset kalibraattoriputkesta voivat johtaa tilavuusvirheisiin riittämättömän määrän johdosta.

B. Kontrollit

1. Aptima HPV assayn ohjelmistossa on oltava ajon aloitus- ja lopetuskontrollit. Negatiivisen kontrollin on oltava työlistan ensimmäisen telineen kolmannessa putkipaikassa ja viimeisen telineen viimeistä edellisessä putkipaikassa. Positiivisen kontrollin on oltava työlistan ensimmäisen telineen neljännessä putkipaikassa ja viimeisen telineen viimeisessä putkipaikassa.
2. Yli yhden kontrolliputken pipetointiyritykset voivat johtaa tilavuusvirheisiin riittämättömän määrän johdosta.

C. Lämpötila

Huonelämpötila määritellään 15–30 °C:ksi.

D. Käsinetalkki

Kuten muissakin reagenssijärjestelmissä, liika talkki käsineissä saattaa aiheuttaa avattujen putkien kontaminaation. Suosittelemme talkittomia käsineitä.

Panther System -järjestelmä

Aptima HPV assayn reagenssit Panther System -järjestelmää varten luetellaan seuraavassa. Reagenssin tunnistussymbolit on myös lueteltu reagenssin nimen vieressä.

Toimitetut reagenssit ja materiaalit

Aptima HPV assay, 250 testiä, luettelonro 303093 (3 laatikkoa)

Aptima HPV assay, 100 testiä, luettelonro 302929 (3 laatikkoa)

Kalibraattoreita voi hankkia erikseen. Seuraavassa luetellaan erilliset luettelonumerot.

Aptima HPV -jääkaappilaatikko (säilytettävä 2–8 °C:ssa vastaanottamisen jälkeen)

| Symboli | Osa | Määrä |
|-----------|--|-----------|
| A | HPV-monistusreagenssi <i>Ei-tartuntavaarallisia nukleiinihappoja kuivattu puskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % täyteainetta.</i> | 1 ampulli |
| E | HPV-entsyymireagenssi <i>Käänteistranskriptaasi ja RNA-polymeraasi kuivattu HEPES-puskuroidulla liuoksella, joka sisältää < 10 % täyttereagenssia.</i> | 1 ampulli |
| P | HPV-koetinreagenssi <i>Ei-tartuntavaarallisia kemiluminenssi-DNA-koettimia (< 500 ng/ampulli) kuivattu sukkiinaattipuskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 1 ampulli |
| IC | HPV-IC-reagenssi <i>Ei-tartuntavaarallista RNA-transkriptia puskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 1 ampulli |

Aptima HPV -huonelämpötilalaatikko (säilytetään 15–30 °C:ssa vastaanottamisen jälkeen)

| Symboli | Osa | Määrä |
|------------|---|---------|
| AR | HPV-monistuksen uudelleenliuotusneste <i>Vesiliuos, joka sisältää säilöntäaineita.</i> | 1 |
| ER | HPV-entsyymien uudelleenliuotusneste <i>HEPES-puskuroitu liuos, joka sisältää surfaktanttia ja glyserolia.</i> | 1 |
| PR | HPV-koettimen uudelleenliuotusneste <i>Sukkiinaatti-puskuroitu liuos, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 1 |
| S | HPV-valintareagenssi <i>600 mM boraatti-puskuroitua liuosta, joka sisältää surfaktanttia.</i> | 1 |
| TCR | HPV -kohteen poimintareagenssi <i>Ei-tartuntavaarallista nukleiinihappoa puskuroidussa nesteessä, joka sisältää kiinteää vaihetta (< 0,5 mg/ml).</i> | 1 |
| | Uudelleenliuotukseen käytettävät pidikkeet | 3 |
| | Master-erän viivakoodiarkki | 1 arkki |

**Aptima HPV -kalibraattorilaatikko (luettelonro 302554)
(säilytettävä 2–8 °C:ssa vastaanottamisen jälkeen)**

| Symboli | Osa | Määrä |
|-------------|--|------------|
| PCAL | Positiivinen HPV-kalibraattori <i>Ei-tartuntavaarallista HPV 16 in vitro -transkriptia 1000 kopiota ml:aa kohti puskuroidussa liuoksessa, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 5 ampullia |
| NCAL | Negatiivinen HPV-kalibraattori <i>Puskuroitu liuos, joka sisältää < 5 % detergenttiä.</i> | 5 ampullia |

Tarvittavat materiaalit, jotka ovat saatavilla erikseen

Huomautus: Hologic:ita saatavissa olevien materiaalien luettelonumerot on luetteloitu, ellei toisin mainita.

| | <u>Luettelonro</u> |
|---|--------------------|
| Panther System -järjestelmä | 303095 |
| Panther-ajotarvikesarja | 303096 |
| <i>Aptima assayn nesteiden tarvikesarja</i> | 303014 |
| <i>(Aptima-pesuliuos, Aptima-puskuri deaktivoitiliuosta varten ja Aptima-öljyreagenssi)</i> | |
| <i>Aptima Auto Detect -tarvikesarja</i> | 303013 |
| <i>Moniputkiyksiköt (Multi-Tube Units, MTUt)</i> | 104772-02 |
| <i>Panther-jätepussitarvikesarja</i> | 902731 |
| <i>Panther-jätesäiliön kansi</i> | 504405 |
| Kärjet, 1000 µl johtava, nesteen havaitseva | 10612513 (Tecan) |
| Aptima-näytteeniirtotarvikesarja | 301154C |
| Aptima Cervical Specimen Collection and Transport -tarvikesarja (CSCT) | 302657 |
| Puhkaistavat Aptima-korkit | 105668 |
| Ei-puhkaistavat vaihtokorkit | 103036A |
| Varakorkit 250 testin tarvikesarjalle: | |
| <i>Monistus- ja koetinreagenssien uudelleenliuotusnesteet</i> | CL0041 |
| <i>Entsyymireagenssin uudelleenliuotusneste</i> | 501616 |
| <i>TCR- ja valintareagenssi</i> | CL0040 |
| Varakorkit 100 testin tarvikesarjalle: | |
| <i>Monistus- ja koetinreagenssien uudelleenliuotusnesteet</i> | CL0041 |
| <i>Entsyymireagenssin uudelleenliuotusneste</i> | CL0041 |
| <i>TCR- ja valintareagenssi</i> | 501604 |
| Valkaisuaine, vähintään 5 % tai 0,7 M natriumhypokloriittiliuosta | — |
| Kertakäyttöiset käsineet | — |
| Aptima-siirtoliuosarja (vain SurePath-potilasnäytteet) | 303658 |

Valinnanvaraiset materiaalit

| | <u>Luettelonro</u> |
|-------------------------------|--------------------|
| Valkaisuainetta puhdistukseen | 302101 |

Panther System -järjestelmän testausmenetelmä

Huomautus: Lisätietoa Panther System Operator's Manual (Panther System -järjestelmän toimenpiteestä) on Panther System -järjestelmän käyttäjän oppaassa.

A. Työalueen valmistelu

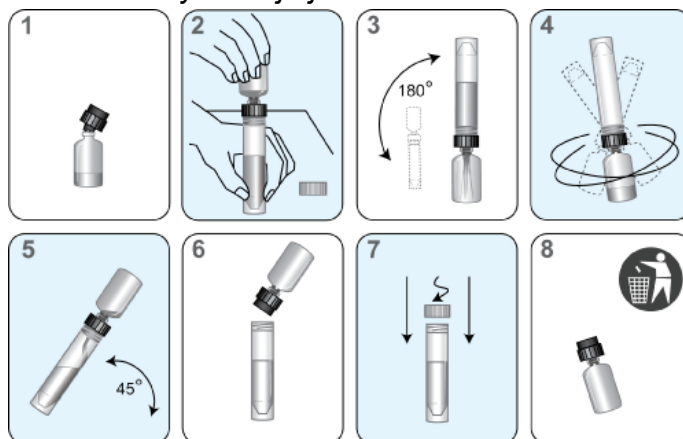
Puhdista työalueet, joilla reagensseja ja näytteitä valmistellaan. Pyyhi työalueet 2,5–3,5 % (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella. Anna natriumhypokloriitin olla kosketuksissa pintojen kanssa vähintään 1 minuutin ajan ja huuhtelee sitten vedellä. Natriumhypokloriittiliuoksen ei saa antaa kuivua. Peitä laboratorion työpöydän pinta, jolla reagensseja ja näytteitä valmistellaan, puhtailla, muovitaustaisilla ja imukykyisillä laboratoriotason suojuksilla.

B. Reagenssin uuden tarvikesarjan valmistelu

Huomautus: Reagenssin uudelleenliuotus on tehtävä ennen minkään muun työn aloittamista Panther System -järjestelmässä.

1. Uudelleenliuota monistus-, entsyymi- ja koetinreagenssit yhdistämällä lyofilisoitujen reagenssipullojen sisältö uudelleenliuotusnesteeseen kanssa. Jos niitä on säilytetty jääkaapissa, anna uudelleenliuotusnesteiden palautua huoneenlämpötilaan ennen käyttöä.
 - a. Yhdistä pareittain kukin uudelleenliuotusneste sen lyofilisoidun reagenssin kanssa. Varmista, että uudelleenliuotusnesteeseen ja reagenssin etikettivärit vastaavat toisiaan ennen uudelleenliuotukseen käytetyn pidikkeen kiinnittämistä.
 - b. Tarkasta eränumerot Master-erän viivakoodiarkista varmistaaksesi, että asianmukaiset reagenssit on yhdistetty pareiksi.
 - c. Avaa lyofilisoidun reagenssin ampulli ja vie uudelleenliuotukseen käytettävän pidikkeen lovettu pää tiukasti sisään ampullin aukkoon (kuva 3, vaihe 1).
 - d. Avaa parina oleva uudelleenliuotusneste ja aseta korkki puhtaalle, peitetylle työalustalle.
 - e. Samalla kun pidät nestepullosta kiinni työpöydällä, vie uudelleenliuotukseen käytetyn pidikkeen toinen pää kunnolla sisään pulloon (kuva 3, vaihe 2).
 - f. Käännä yhteenliitetyt pullot hitaasti ylösalaisin. Anna liuoksen valua pullosta lasiampulliin (kuva 3, vaihe 3).
 - g. Sekoita pullossa olevaa liuosta varovasti pyörittämällä. Vältä vaahdon tuottamista pulloa pyöritettäessä (kuva 3, vaihe 4).
 - h. Odota, että lyofilisoitu reagenssi sekoittuu liuokseen, ja käännä sitten yhteenliitetyt pullot uudelleen ylösalaisin kallistaen 45 asteen kulmassa vaahtoamisen minimoimiseksi (kuva 3, vaihe 5). Anna liuoksen valua takaisin muovipulloon.
 - i. Irrota uudelleenliuotukseen käytettävä pidike ja lasiampulli (kuva 3, vaihe 6).
 - j. Sulje korkki uudelleen muovipulloon. Merkitse käyttäjän nimikirjaimet ja uudelleenliuotuspäivä uudelleenliuotettuihin reagenssiampulleihin (kuva 3, vaihe 7).
 - k. Hävitä uudelleenliuotukseen käytetty pidike ja ampulli (kuva 3, vaihe 8).

Varoitus: Vältä vaahdon tuottamista, kun liuotat reagensseja uudelleen. Vahto heikentää tason tunnistusta Panther System -järjestelmässä.



Kuva 3. Panther System -järjestelmän uudelleenliuotusprosessi

2. Valmistele kohteen poimintareagenssi (working Target Capture Reagent, wTCR):
 - a. Yhdistä asianmukaiset TCR- ja IC-pullot pareiksi.
 - b. Tarkasta eränumerot Master-erän viivakoodiarkista varmistaaksesi, että asianmukaiset tarvikesarjan reagenssit on yhdistetty pareiksi.
 - c. Avaa TCR-pullo ja aseta korkki puhtaalle, peitetylle työpinnalle.
 - d. Avaa IC-pullo ja kaada sen koko sisältö TCR-pulloon. On odotettavissa, että pieni määrä nestettä voi jäädä IC-pulloon.
 - e. Kiinnitä TCR-pullon korkki paikalleen ja sekoita liuosta hellävaroen pyörittämällä. Vältä vaahdon tuottamista tämän vaiheen aikana.
 - f. Merkitse käyttäjän nimikirjaimet ja nykyinen päivämäärä etikettiin.
 - g. Hävitä IC-pullo ja korkki.
 - h. wTCR-reagenssiin voi muodostua sakkaa, joka voi tuottaa vääriä tuloksia määränvarmistusvirheiden vuoksi. Sakan voi liuottaa lämmittämällä wTCR-reagenssia 42–60 °C:ssa enintään 90 minuuttia. Anna wTCR-reagenssin tasaantua huoneenlämpöön ennen käyttöä. Ei saa käyttää, jos sakkaa esiintyy edelleen.
3. Valintareagenssin valmisteleminen
 - a. Tarkasta reagenssin eränumero Master-erän viivakoodiarkista ja varmista, että se kuuluu tarvikesarjaan.
 - b. Jos valintareagenssi sisältää sakkaa, lämmitä valintareagenssia 60 °C:ssa ± 1 °C enintään 45 minuuttia, jolloin sakka liukenee helpommin. Sekoita pulloa varovasti 5–10 minuutin välein. Anna valintareagenssin tasaantua huoneenlämpöön ennen käyttöä. Ei saa käyttää, jos sakkaa tai sameutta esiintyy edelleen.

Huomautus: Sekoita perusteellisesti kääntämällä kaikki reagenssit ylösalaisin varovasti ennen niiden lataamista järjestelmään. Vältä vaahdon tuottamista reagenssien ylösalaisin kääntämisen aikana.

C. Reagenssin valmistelu aiemmin uudelleenliuotetuille reagensseille

1. Aiemmin uudelleenliuotettujen monistus-, entsyymi- ja koetinreagenssien on saavutettava huoneenlämpötila (15–30 °C) ennen määrityksen aloittamista.
2. Jos uudelleenliuotettu koetinreagenssi sisältää sakkaa, joka ei muutu liuokseksi huoneenlämpötilassa, kuumenna pulloa 1–2 minuutin ajan enintään 60 °C:n lämpötilassa. Ei saa käyttää, jos sakkaa tai sameutta esiintyy.
3. Jos wTCR-reagenssissa on sakkaa, lämmitä wTCR-reagenssia 42–60 °C:ssa enintään 90 minuuttia. Anna wTCR-reagenssin tasaantua huoneenlämpöön ennen käyttöä. Ei saa käyttää, jos sakkaa esiintyy edelleen.
4. Jos valintareagenssi sisältää sakkaa, lämmitä valintareagenssia 60 °C:ssa ± 1 °C enintään 45 minuuttia, jolloin sakka liukenee helpommin. Sekoita pulloa varovasti 5–10 minuutin välein. Anna valintareagenssin tasaantua huoneenlämpöön ennen käyttöä. Ei saa käyttää, jos sakkaa tai sameutta esiintyy edelleen.
5. Sekoita kukin reagenssi perusteellisesti varovasti ylösalaisin kääntämällä ennen lataamista järjestelmään. Vältä vaahdon tuottamista reagenssien ylösalaisin kääntämisen aikana.
6. Älä lisää reagenssipulloihin nestettä. Panther System -järjestelmä tunnistaa ja hylkää ylitäytetyt pullot.

D. Näytteen käsittely

1. Anna näytteiden (kalibraattorien ja potilasnäytteiden) saavuttaa huoneenlämpötila ennen prosessointia.
2. **Potilasnäytteitä ei saa vorteksoida.**
3. Tarkista näyteputket ennen telineeseen lataamista. Jos näyteputkessa on kuplia tai siinä on tavallista vähemmän näytettä, sentrifugoi putkea 5 minuuttia 420 RCF:ssa ja varmista, että korkissa ei ole nestettä.

Huomautus: Vaiheen 3 noudattamatta jättäminen saattaa johtaa nesteen vuotamiseen potilasnäyteputken korkista.

E. Järjestelmän valmistelu

1. Aseta järjestelmä *Panther System Operator's Manual* (Panther System -järjestelmän käyttäjän oppaan) ja seuraavassa olevan *Toimenpiteeseen liittyviä huomautuksia* -kohdan ohjeiden mukaan. Varmista, että oikeankokoisia reagenssitelineitä ja TCR-sovittimia käytetään.
2. Lataa näytteet.

Toimenpiteeseen liittyviä huomautuksia

A. Kalibraattorit

1. Jotta kalibraattorit toimivat oikein Aptima HPV assayn ohjelmassa Panther System -järjestelmällä, kolmea positiivisen kalibraattorin replikaattia ja kolmea negatiivisen kalibraattorin replikaattia on käytettävä. Yksi kummankin kalibraattorin ampulli voidaan ladata mihin tahansa Panther System -järjestelmän telinepaikan näyteosastoon. Potilasnäytteen pipetointi alkaa kun yksi seuraavista kahdesta ehdosta täyttyy:
 - a. Järjestelmä prosessoi parhaillaan positiivista ja negatiivista kalibraattoria.
 - b. Kalibraattoreiden validit tulokset rekisteröityvät järjestelmään.

2. Kun kalibraattoriputket on pipetoitu ja niitä prosessoidaan reagenssitarvikesarjakohtaisesti, potilasnäytteet voidaan ajaa niihin liittyvillä määrityksen reagenssitarvikesarjoilla enintään 24 tunnin sisällä lukuun ottamatta seuraavia tilanteita:
 - a. Kalibraattorit eivät ole valideja.
 - b. Niihin liittyvä määritysreagenssitarvikesarja poistetaan järjestelmästä.
 - c. Niihin liittyvä määritysreagenssitarvikesarja on ylittänyt stabiiliteettirajoitukset.
 3. Yli kolmen replikaatin pipetointiyritykset kalibraattoriputkesta voivat johtaa käsittelyvirheisiin.
- B. Lämpötila
Huonelämpötila määritellään 15–30 °C:ksi.
- C. Käsinetalkki
Kuten muissakin reagenssijärjestelmissä, liika talkki käsineissä saattaa aiheuttaa avattujen putkien kontaminaation. Suosittelemme talkittomia käsineitä.

Laadunvalvontamenetelmät

A. Ajon validiteettikriteerit

Ohjelma määrittää automaattisesti ajon validiteetin. Ohjelma invalidoi ajon, jos yksikään seuraavista tiloista esiintyy:

- Enemmän kuin yksi invalidi negatiivisen kalibraattorin replikaatti.
- Enemmän kuin yksi invalidi positiivisen kalibraattorin replikaatti.
- Invalidi negatiivinen kontrolli (vain DTS Systems -järjestelmät ja Tigris DTS System -järjestelmä).
- Invalidi positiivinen kontrolli (vain DTS Systems -järjestelmät ja Tigris DTS System -järjestelmä).

Käyttäjä voi invalidoida ajon, jos teknisiä, käyttäjän tai instrumentin ongelmia havaitaan ja dokumentoidaan määritystä tehtäessä.

Invalidi ajo on ajettava uudestaan. Keskeytetyt ajot on ajettava uudestaan.

B. Kalibraattorin hyväksymiskriteerit

Seuraavassa taulukossa määritetään suhteellisten valoyksiköiden (relative light units, RLU) kriteerit negatiivisen ja positiivisen kalibraattorin replikaateille.

| | |
|-----------------------------------|---|
| Negatiivinen kalibraattori | |
| Analyytti | ≥ 0 ja $\leq 45\ 000$ RLU |
| Sisäinen kontrolli (IC) | $\geq 75\ 000$ ja $\leq 400\ 000$ RLU |
| Positiivinen kalibraattori | |
| Analyytti | $\geq 480\ 000$ ja $\leq 1\ 850\ 000$ RLU |
| Sisäinen kontrolli (IC) | $\leq 450\ 000$ RLU |

C. IC-raja-arvon laskenta

IC-raja-arvo määritetään validien negatiivisen kalibraattorin replikaattien IC-signaalista (flasher, nopea valonsäteily).

$$\text{IC-raja-arvo} = 0,5 \times [\text{validien negatiivisen kalibraattorin replikaattien keskimääräinen IC RLU}]$$

D. Analyytin raja-arvon laskenta

Analyytin raja-arvo määritetään validien negatiivisen kalibraattorin replikaattien analyytisignaalista (glower, hidas valonsäteily) sekä validien positiivisen kalibraattorin replikaattien analyytisignaalista.

$$\text{Analyytin raja-arvo} = \frac{[\text{validien negatiivisen kalibraattorin replikaattien keskimääräinen analyytin RLU}] + [0,09 \times \text{validien positiivisen kalibraattorin replikaattien keskimääräinen analyytin RLU}]$$

E. Analyytin signaalin ja raja-arvon suhteen (signal to cutoff ratio, S/CO) laskenta

Analyytin S/CO määritetään testinäytteen analyytin RLU:sta ja ajon analyytin raja-arvosta.

$$\text{Analyytin S/CO} = \frac{\text{testinäytteen analyytin RLU}}{\text{analyytin raja-arvo}}$$

F. Kontrollin hyväksymiskriteerit (vain DTS Systems -järjestelmät ja Tigris DTS System -järjestelmä)

Negatiivisen kontrollin negatiivisen tuloksen on oltava validi (IC RLU \geq IC-raja-arvo ja analyytin S/CO $<$ 0,50). Positiivisen kontrollin positiivisen tuloksen on oltava validi (analyytin S/CO \geq 0,50).

Testin tulkinta

Määrityksen ohjelma määrittää määrityksen testitulokset automaattisesti. Testitulos voi olla negatiivinen, positiivinen tai invalidi, ja määritetään sisäisen kontrollin (internal control, IC) suhteellisten valoyksikköjen (relative light units, RLU) ja analyysin signaalin ja raja-arvon suhteen (signal to cutoff ratio, S/CO) perusteella. Testitulos voi olla invalidi myös muiden parametrien (poikkeava kineettisen käyrän muoto) ollessa normaalien odotettujen vaihteluvälien ulkopuolella. Alustavat invalidit testitulokset on testattava uudelleen.

Aptima CSCT -tarvikesarjan potilasnäytteet voidaan laimentaa, jotta mahdollisesti estävistä aineista päästään eroon. Laimenna 1 osa invalidia potilasnäytettä 8 osaan potilasnäytteensiirtoainetta (CSCT-tarvikesarjan putkissa olevaa liuosta); esim. 560 µl potilasnäytettä uuteen CSCT-tarvikesarjan putkeen, jossa on 4,5 ml potilasnäytteensiirtoainetta. Sekoita laimennettu potilasnäyte varovasti ylösalaisin kääntämällä. Vältä vaahdon muodostumista. Testaa laimennettu potilasnäyte vakiomääritysmenetelmän mukaan.

Huomautus: Vähimmäismäärän on oltava 1,7 ml potilasnäytteen 1 alikvootin testaamiseen. Invalidia laimennettua potilasnäytettä ei saa laimentaa. Jos laimennettu potilasnäyte antaa invalidin tuloksen, potilaalta on otettava uusi potilasnäyte.

| Aptima HPV Assayn tulos | Kriteerit |
|-------------------------|--|
| Negatiivinen | <i>Analyysin S/CO < 0,50 IC ≥ IC-raja-arvo IC ≤ 2 000 000 RLU</i> |
| Positiivinen | <i>Analyysin S/CO ≥ 0,50 IC ≤ 2 000 000 RLU Analyysi ≤ 13 000 000 RLU</i> |
| Invalidi | <i>IC > 2 000 000 RLU tai Analyysin S/CO < 0,50 ja IC < IC-raja-arvo tai Analyysi > 13 000 000 RLU</i> |

Rajoitukset

- A. Muita kuin käyttötarkoituksessa tunnistettuja potilasnäytetyyppejä ei ole arvioitu.
- B. Aptima HPV Assayn suorituskykyä ei ole arvioitu HPV-rokotuksen saaneilla henkilöillä.
- C. Aptima HPV Assayta ei ole arvioitu epäillyissä seksuaalisissa hyväksikäyttötapauksissa.
- D. HPV-infektion esiintyvyys populaatiossa voi vaikuttaa suorituskykyyn. Positiiviset prediktiviset arvot laskevat testattaessa sellaisia populaatioita, joissa esiintyvyys on alhaista, tai henkilöitä, joilla ei ole infektoriskiä.
- E. Sellaisten ThinPrep-nestesytopologiapotilasnäytteiden katsotaan olevan riittämättömiä Aptima HPV Assayta varten, joita jää alle 1 ml:aa sen jälkeen, kun ThinPrep-papakoelevy on valmisteltu.
- F. Vaikutusta sytologiatulokseen ei ole arvioitu sellaisten potilasnäytteiden osalta, joissa 1 ml SurePath-nestesytopologianäytettä on poistettu ennen sytologista prosessointia.
- G. Virheellinen näytteen otto, säilytys tai käsittely voi vaikuttaa testituloksiin.
- H. Sisäinen kontrolli monitoroi määrittelyn kohteen sieppaus-, monistus- ja tunnistusvaiheita. Sitä ei ole tarkoitettu kontrolloimaan kohdunkaulanäytteen riittävyttä.
- I. Negatiivinen Aptima HPV Assayn tulos ei sulje pois sytologisten poikkeavuuksien mahdollisuutta eikä tulevaa tai piilevää CIN2-, CIN3- tai syöpämahdollisuutta.
- J. Henkilökohtaiset liukastusaineet, jotka sisältävät polykvaterniumia-15, voivat haitata määrittelyn suorituskykyä, jos niitä esiintyy testinäytteessä yli 0,025 %:n (v/v tai w/v) pitoisuuksilla.
- K. Antifungaaliset lääkkeet, jotka sisältävät tiokonatsolia, voivat haitata määrittelyn suorituskykyä, jos niitä esiintyy testinäytteessä yli 0,075 %:n (w/v) pitoisuuksilla.
- L. Aptima HPV Assayn tulokset ovat kvalitatiivisia. Korrelaatiota ei sen vuoksi voi tehdä positiivisen määrittelysignaalin suuruuden ja potilasnäytteen mRNA-tason välillä.
- M. Korkean riskin HPV mRNA:n tunnistaminen riippuu potilasnäytteessä olevasta kopiomäärästä ja siihen voivat vaikuttaa potilasnäytteenottomenetelmät, potilastekijät, infektion vaihe ja haittaavien aineiden esiintyvyys.
- N. HPV-infektio ei ole osoitus sytologisesta vahvasta levyepiteelivauriosta (high grade squamous intraepithelial lesion, HSIL) tai piilevästä vahvasta kohdunkaulan intraepiteeliaalisesta neoplasiaasta (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) eikä se viittaa pidemmälle edenneeseen kohdunkaulan syövän esiasteeseen (CIN2, CIN3) tai syövän kehittymiseen. Useimmille yhteen tai useampaan korkean riskin HPV-tyyppiin infektoituneille naisille ei kehity CIN2- tai CIN3-tason esiastetta tai syöpää.
- O. Muiden mahdollisten muuttujien vaikutusta, kuten emätinvuoto, tamponien käyttö, huuhtelu jne., ja potilasnäytteenottoon liittyvien muuttujien vaikutusta ei ole arvioitu.
- P. Tätä tuotetta saavat käyttää vain Aptima HPV Assayn käyttöön koulutettu henkilökunta.
- Q. Näytteiden ristikontaminaatio voi aiheuttaa virheellisiä positiivisia tuloksia. Aptima HPV Assayn jäämäprosentti Tigris DTS System -järjestelmällä on ei-kliniisessä tutkimuksessa määritetty olevan 0,3 %.

- R. Aptima HPV Assay on tulkittava yhdessä muiden kliinikolla saatavana olevien laboratorio- ja kliinisten tietojen kanssa.
- S. Virheellisiä positiivisia tuloksia voi esiintyä tässä testissä. *In vitro* -transkriptit alhaisen riskin HPV-genotyypeistä 26, 67, 70 ja 82 osoittivat ristireaktiivisuutta Aptima HPV Assaylla.
- T. Positiivisen kontrollimateriaalin ei ole tarkoitus monitoroida suorituskykyä määrittämisen raja-arvossa.

DTS Systems -järjestelmien määrittämisen suorituskyky

Aptima HPV Assayn kliininen suorituskyky ThinPrep-nestesytologianäytteillä

Yli 700 ThinPrep-nestesytologiapotilasnäytettä kerättiin eurooppalaisilta naisilta, jotka oli lähetetty seurantaan seuraavista syistä: yksi tai useampi poikkeava papakoe, HPV-infektio tai muu syy. Yksi millilitra (1,0 ml) kutakin potilasnäytettä laimennettiin 2,9 ml:aan Aptima-näytteensiirtoainetta ja yksi replikaatti testattiin Aptima HPV Assaylla. Useimmille potilasnäytteille oli saatavana sytologia, histologia ja tulokset kaupallisesti saatavana olevista HPV DNA -testeistä (HPV-DNA). Kunkin potilasnäytteen korkean riskin HPV-tila määritettiin Aptiman ja kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin vastaavuudella ja eriävien tulospotilasnäytteiden lisäanalyysillä käyttäen monistettua DNA-genotyyppitestausta. HPV-nukleinihapon tunnistuksen herkkyys ja spesifisyys määritettiin. Taudin tunnistuksen kliininen herkkyys ja spesifisyys, joka määritettiin vähintään kohdunkaulan intraepiteelialisen neoplasian tason 2 (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN) histologiatuloksena, laskettiin myös koko potilasnäytepopulaation osalta sekä määritettyjen, sytologisiin tuloksiin perustuvien alaryhmien osalta.

Aptima HPV Assayn herkkyys ja spesifisyys korkean riskin HPV:n tunnistamisessa esitetään taulukossa 1 DTS Systems -järjestelmällä testattujen 781 potilasnäytteen osalta. Määrittämisen herkkyys oli 92,6 %, spesifisyys oli 98,5 %, ja positiivisten ja negatiivisten prediktivisten arvojen prosentit korkean riskin HPV:n tunnistamiseen olivat vastaavasti 98,8 % ja 90,9 %.

Taulukko 1: Aptima HPV Assayn herkkyys ja spesifisyys DTS Systems -järjestelmällä korkean riskin HPV:n tunnistamisessa

| | | Korkean riskin HPV | | Yhteensä |
|------------|---|--------------------|-----|----------|
| | | + | - | |
| Aptima HPV | + | 412 | 5 | 417 |
| | - | 33 | 331 | 364 |
| Yhteensä | | 445 | 336 | 781 |

Herkkyys (95 % luottamusväli) = 92,6 % (89,8–94,7)
 Spesifisyys (95 % luottamusväli) = 98,5 % (96,6–99,4)
 Positiivinen prediktivinen arvo = 98,8 %
 Negatiivinen prediktivinen arvo = 90,9 %

Aptima HPV Assayn kliininen herkkyys ja spesifisyys \geq CIN2:n tunnistamisessa esitetään taulukossa 2a DTS Systems -järjestelmällä testattujen histologiatulokset omaavien 753 potilasnäytteiden osalta. Määrittämisen kliininen herkkyys oli 90,8 %, spesifisyys oli 55,7 %, ja positiivisten ja negatiivisten prediktivisten arvojen prosentit \geq CIN2:n tunnistamiseen olivat vastaavasti 32,1 % ja 96,3 %. Aptima HPV Assayn herkkyys oli samanlainen kuin HPV-DNA-testin, joka oli 95,0 % (taulukko 2b), mutta Aptima HPV Assayn spesifisyys oli merkittävästi korkeampi kuin HPV-DNA-testin spesifisyys, joka oli 47,4 % tässä populaatiossa \geq CIN2-leesioiden tunnistamisen osalta. 753 potilasnäytteen histologiatuloksista 159 potilasnäytteellä oli ASC-US-sytologiatulos. Aptima HPV Assayn herkkyys ja spesifisyys tässä populaatiossa oli vastaavasti 92,3 % ja 41,4 % \geq CIN2-leesioiden tunnistamisen osalta.

Samanlaisia analyysejä tehtiin myös käyttäen kliinisenä tulosmuuttujana \geq CIN3-leesioita. Aptima HPV Assayn kliininen herkkyys ja spesifisyys \geq CIN3:n tunnistamisessa esitetään taulukossa 3a DTS Systems -järjestelmällä testattujen histologiatulokset omaavien 753 potilasnäytteiden osalta. Määrittämisen kliininen herkkyys oli 97,7 %, spesifisyys oli 52,9 %, ja positiivisten ja negatiivisten prediktivisten arvojen prosentit \geq CIN3:n tunnistamiseen olivat vastaavasti 21,3 % ja 99,4 %. Aptima HPV assayn herkkyys oli taas samanlainen kuin HPV-

DNA-testin, jonka \geq CIN3-tunnistusherkkyys oli 98,9 % (taulukko 3b) ja Aptima HPV assayn spesifisyys oli merkittävästi korkeampi kuin HPV-DNA-testin spesifisyys, joka oli 44,4 % tässä populaatiossa \geq CIN3-leesioiden tunnistamisen osalta. 753 potilasnäytteen histologiatuloksista 159 potilasnäytteellä oli ASC-US-sytologiatulos. Aptima HPV assayn herkkyys ja spesifisyys tässä populaatiossa oli vastaavasti 100 % ja 40,1 % \geq CIN3-leesioiden tunnistamisen osalta.

Nämä tulokset, jotka tuottivat samanlaiset herkkyysprosentit ja joissa Aptima HPV assayn spesifisyys oli merkittävästi suurempi korkean riskin DNA-tunnistamiseen verrattuna, ovat samanlaisia kuin muissa tutkimuksissa saadut tulokset.^{27,28,29,30,31}

Taulukko 2a: Aptima HPV Assayn herkkyys ja spesifisyys DTS Systems -järjestelmillä taudin tunnistamisessa (\geq CIN2)

| | | \geq CIN2 | < CIN2 | Yhteensä |
|------------|----------|-------------|--------|----------|
| Aptima HPV | + | 128 | 271 | 399 |
| | - | 13 | 341 | 354 |
| | Yhteensä | 141 | 612 | 753 |

Herkkyys (95 % luottamusväli) = 90,8 % (84,9–94,5)
 Spesifisyys (95 % luottamusväli) = 55,7 % (51,8–59,6)
 Positiivinen prediktioarvo = 32,1 %
 Negatiivinen prediktioarvo = 96,3 %

Taulukko 2b: HPV-DNA-testin herkkyys ja spesifisyys taudin tunnistamisessa (\geq CIN2)

| | | \geq CIN2 | < CIN2 | Yhteensä |
|---------|----------|-------------|--------|----------|
| HPV-DNA | + | 134 | 322 | 456 |
| | - | 7 | 290 | 297 |
| | Yhteensä | 141 | 612 | 753 |

Herkkyys (95 % luottamusväli) = 95,0 % (90,1–97,6)
 Spesifisyys (95 % luottamusväli) = 47,4 % (43,5–51,4)
 Positiivinen prediktioarvo = 29,4 %
 Negatiivinen prediktioarvo = 97,6 %

Taulukko 3a: Aptima HPV Assayn herkkyys ja spesifisyys DTS Systems -järjestelmillä taudin tunnistamisessa (\geq CIN3)

| | | \geq CIN3 | < CIN3 | Yhteensä |
|------------|----------|-------------|--------|----------|
| Aptima HPV | + | 85 | 314 | 399 |
| | - | 2 | 352 | 354 |
| | Yhteensä | 87 | 666 | 753 |

Herkkyys (95 % luottamusväli) = 97,7 % (92,0–99,4)
 Spesifisyys (95 % luottamusväli) = 52,9 % (49,1–56,6)
 Positiivinen prediktioarvo = 21,3 %
 Negatiivinen prediktioarvo = 99,4 %

Taulukko 3b: HPV-DNA-testin herkkyys ja spesifisyys taudin tunnistamisessa (\geq CIN3)

| | | \geq CIN3 | < CIN3 | Yhteensä |
|---------|----------|-------------|--------|----------|
| HPV-DNA | + | 86 | 370 | 456 |
| | - | 1 | 296 | 297 |
| | Yhteensä | 87 | 666 | 753 |

Herkkyys (95 % luottamusväli) = 98,9 % (93,8–99,8)
 Spesifisyys (95 % luottamusväli) = 44,4 % (40,7–48,2)
 Positiivinen prediktioarvo = 18,9 %
 Negatiivinen prediktioarvo = 99,7 %

Aptima HPV Assayn kliininen suorituskyky CSCT-tarvikesarjalla kerätyillä potilasnäytteillä

Pareiksi yhdistetyt ThinPrep-nestesytologianäytteet ja Aptima CSCT -tarvikesarjan potilasnäytteet kerättiin 728 tutkittavalta. Yksi millilitra (1,0 ml) kutakin ThinPrep-nestesytologianäytettä laimennettiin 2,9 ml:aan Aptima-näytteensiirtoainetta ja yksi replikaatti testattiin Aptima HPV assaylla DTS Systems -järjestelmissä. Kunkin CSCT-potilasnäytteen yksi replikaatti testattiin myös Aptima HPV assaylla. Aptima HPV assayn prosenttiyhtäpitävyys ThinPrep-nestesytologianäytteiden ja CSCT-potilasnäytteiden välillä määritettiin ja esitetään taulukossa 4.

Positiivinen prosenttiyhtäpitävyys oli 95,1 % (95 % luottamusväli: 91,6–97,2); negatiivinen prosenttiyhtäpitävyys oli 95,9 % (95 % luottamusväli: 93,7–97,3); ja yleinen prosenttiyhtäpitävyys oli 95,6 % (95 % luottamusväli: 93,9–96,9). Nestemäisten papanäytteiden ja siirtotarvikesarjan potilasnäytteiden välillä havaittiin voimakasta korrelaatiota (kappa = 0,90).

Taulukko 4: Yleinen Aptima HPV Assayn tulosten yhtäpitävyys DTS Systems -järjestelmillä testatuista ThinPrep-nestesytologianäytteistä ja Aptima CSCT-potilasnäytteistä

| | | ThinPrep-nestesytologianäyte | | Yhteensä |
|--------------------------------------|---|------------------------------|-----|----------|
| | | + | - | |
| Aptima CSCT-tarvikesarjapotilasnäyte | + | 233 | 20 | 253 |
| | - | 12 | 463 | 475 |
| Yhteensä | | 245 | 483 | 728 |

Positiivinen yhtäpitävyys = 95,1 % (91,6–97,2)
 Negatiivinen yhtäpitävyys = 95,9 % (93,7–97,3)
 Yleinen yhtäpitävyys = 95,6 % (93,9–96,9)
 Kappa-kerroin = 0,90

Analyyttinen herkkyys

Aptima HPV assayn analyttinen herkkyys korkean riskin HPV:n tunnistamisessa määritettiin testaamalla erillisiä negatiivisia kliinisiä ThinPrep-nestesytologianäytteitä, jotka oli terästetty HPV *in vitro* -transkripteilla tai infektoiduilla soluilla eri pitoisuuksilla. Kutakin kopiota testattiin kolmekymmentä replikaattia kummallakin reagenssierällä, yhteensä 60 replikaattia. Probit-regressioanalyysi tehtiin ja ennakoitu 95 %:n tunnistusraja määritettiin kullekin HPV-tyypille (taulukko 5).

Probit-regressioanalyysi osoittaa, että HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 56, 58, 59, 66 ja 68 olivat ennakoitujen 95 %:n tunnistusrajan alle 100 kopiota/reaktio, ja tyypit 51 ja 52 olivat ennakoitujen 95 %:n tunnistusrajan 100–300 kopion/reaktion välillä.

Taulukko 5: Probit-analyysin DTS Systems -järjestelmän tietojen perusteella ennakoima Aptima HPV Assayn 95 %:n tunnistusraja

| Kohde | 95 %:n tunnistusraja* (95 %:n vertailumerkkirajat) |
|--------|---|
| HPV 16 | 74 (54 - 113) |
| HPV 18 | 52 (39 - 76) |
| HPV 31 | 19 (14 - 27) |
| HPV 33 | 24 (18 - 37) |
| HPV 35 | 27 (22 - 38) |
| HPV 39 | 32 (23 - 49) |
| HPV 45 | 28 (17 - 90) |
| HPV 51 | 198 (147 - 289) |
| HPV 52 | 239 (187 - 324) |
| HPV 56 | 48 (36 - 71) |
| HPV 58 | 99 (74 - 146) |
| HPV 59 | 89 (68 - 127) |
| HPV 68 | 27 (20 - 40) |
| HPV 66 | 68 (50 - 105) |

*koppioita reaktiota kohti *in vitro* -transkriptien osalta ja soluja reaktiota kohti solulinjojen osalta

Määrittämisen uusittavuus

Aptima HPV assayn uusittavuus määritettiin testaamalla 16-jäseninen paneeli kolmesti 2 ajossa, joissa käytettiin 2 reagenssierää 3 instrumentissa 3 käyttäjällä. Testaus tehtiin 20 päivän aikana yhdessä tutkimuspaikassa. Paneelin jäsenet kuvataan taulukossa 6. Kuusi paneelin jäsentä oli HPV-negatiivisia (3 oli Aptima-näytteensiirtoainetta ja 3 yhdistettyjä ThinPrep-nestesyttologianäytteitä), neljä oli alhaisia HPV-positiivisia (~95 %:n tunnistusraja) ja kuusi kohtalaisen HPV-positiivisia ($\geq \sim 3x$ 95 % tunnistusraja). Alhaiset ja kohtalaiset positiiviset paneelin jäsenet koostuivat joko *in vitro* -transkripteista (IVT) tai HPV-infektoiduista viljellyistä soluista Aptima-näytteensiirtoaineessa.

Taulukko 6: Aptima HPV Assayn uusittavuuspaneeli

| Paneelin jäsen | Kuvaus | Pitoisuus | Odotettu HPV-tulos |
|----------------|---|---------------------------|--------------------|
| 1 | STM erä 1 | E/S | Negatiivinen |
| 2 | SiHa alhainen positiivinen | 1 solu/rxn | Positiivinen |
| 3 | HeLa alhainen positiivinen | 0,15 solu/rxn | Positiivinen |
| 4 | Kliininen yhdistelmä 1 | E/S | Negatiivinen |
| 5 | ME180 kohtalainen positiivinen | 1 solu/rxn | Positiivinen |
| 6 | MS751 kohtalainen positiivinen | 1 solu/rxn | Positiivinen |
| 7 | SiHa ja HeLa kohtalainen positiivinen | 10 solu/rxn ja 1 solu/rxn | Positiivinen |
| 8 | STM erä 2 | E/S | Negatiivinen |
| 9 | Kliininen yhdistelmä 2 | E/S | Negatiivinen |
| 10 | HPV 16 IVT alhainen positiivinen | 30 kopiota/rxn | Positiivinen |
| 11 | HPV 18 IVT alhainen positiivinen | 30 kopiota/rxn | Positiivinen |
| 12 | STM erä 3 | E/S | Negatiivinen |
| 13 | HPV 16 IVT kohtalainen positiivinen | 100 kopiota/rxn | Positiivinen |
| 14 | HPV 18 IVT kohtalainen positiivinen | 100 kopiota/rxn | Positiivinen |
| 15 | HPV 16 ja HPV 18 kohtalainen positiivinen | 100/100 kopiota/rxn | Positiivinen |
| 16 | Kliininen yhdistelmä 3 | E/S | Negatiivinen |

DTS Systems -järjestelmien osalta analysoitiin satakahdeksan datakohtaa kultakin uusittavuuspaneelin jäseneltä ja tuloksista esitetään yhteenveto taulukossa 7. Positiivinen prosentti negatiivisista paneeleista vaihteli välillä 0–3,7, alhainen positiivinen oli ≥ 98 ja kohtalainen positiivinen oli 100. Yhtäpitävyys odotetun tuloksen kanssa oli > 96 % kaikkien paneelin jäsenten osalta.

Keskimääräinen sisäisen kontrollin (internal control, IC) analyysin signaalin ja raja-arvon suhde (signal to cutoff, S/CO) määritettiin 6 negatiivisen paneelin jäsenen osalta (1, 4, 8, 9, 12 ja 16), instrumentin, käyttäjän, erän ja ajon välinen vaihtelevuus laskettiin samoin kuin ajon sisäinen vaihtelevuus. Negatiivisten paneelin jäsenten keskimääräinen IC S/CO vaihteli välillä 1,76–1,92. IC S/CO -arvojen vaihtelukerroin (CV) oli melko alhainen, < 10 % kaikkien arvioitujen parametrien osalta. Analyysin S/CO-arvojen vaihtelevuutta negatiivisten paneelin jäsenten osalta ei analysoitu luontaisen vaihtelevuuden vuoksi, kun nolla-arvoja havaitaan.

Keskimääräinen analyysin S/CO määritettiin 10 positiivisen paneelin jäsenen osalta (2–3, 5–7, 10–11 ja 13–15), instrumentin, käyttäjän, erän ja ajon välinen vaihtelevuus laskettiin samoin kuin ajon sisäinen vaihtelevuus. Keskimääräiset analyysin S/CO-arvot vaihtelivat välillä 9,00–10,70 alhaisten positiivisten paneelien osalta ja välillä 8,84–15,75 kohtalaisten positiivisten paneelien osalta. Kahden kahta korkean riskin HPV-tyyppiä sisältävän paneelin jäsenen, paneelit 7 ja 15, keskimääräiset analyysin S/CO-arvot olivat vastaavasti 22,90 ja 23,37. Alhaisen positiivisen ja kohtalaisen positiivisen paneelin jäsenten vaihtelukertoimet olivat vastaavasti < 35 % ja < 15 %, ajossa havaitut korkeimmat vaihtelevuudet. IC S/CO -arvoja ei arvioitu positiivisten paneelin jäsenten osalta, sillä IC RLU ei osoita yksilöllisen reaktion suorituskykyä analyysin positiivisessa näytteessä.

Taulukko 7: Aptima HPV Assayn uusittavuus DTS Systems -järjestelmillä

| | | | | | Keskimääräinen S/CO | | S/CO:n vaihtelevuusanalyysi* | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------------------|----------------|--------------|-------------------------|----------|------------------------------|--------|--------------------|--------|---------------|--------|----------------|--------|-----------------|--------|----------|--------|
| | | | | | | | Instrumenttien välinen | | Käyttäjien välinen | | Erien välinen | | Ajojen välinen | | Ajojen sisäinen | | Yhteensä | |
| Paneelin jäsen | Kuvaus | N | % positiivinen | Yhtäpitävyys | Sisäinen kontrolli (IC) | Analyysi | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) |
| 1 | Neg | 108 | 0,0 | 100 % | 1,92 | 0,00 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 1,5 | 0,0 | 1,9 | 0,0 | 0,7 | 0,1 | 5,8 | 0,1 | 6,3 |
| 2 | Alh pos | 108 | 99,1 | 98,1 % | E/S | 10,68 | 0,3 | 2,6 | 0,0 | 0,0 | 0,4 | 4,1 | 0,0 | 0,0 | 2,0 | 19,0 | 2,1 | 19,6 |
| 3 | Alh pos | 108 | 100 | 99,1 % | E/S | 10,65 | 0,5 | 4,7 | 0,0 | 0,0 | 0,3 | 2,5 | 0,3 | 3,0 | 2,4 | 22,3 | 2,5 | 23,1 |
| 4 | Neg | 108 | 0,0 | 100 % | 1,80 | 0,00 | 0,0 | 2,1 | 0,0 | 1,8 | 0,0 | 0,2 | 0,0 | 0,7 | 0,1 | 6,6 | 0,1 | 7,2 |
| 5 | Koht pos | 107 [^] | 100 | 100 % | E/S | 8,84 | 0,2 | 1,8 | 0,1 | 0,8 | 0,2 | 2,3 | 0,0 | 0,0 | 0,6 | 7,2 | 0,7 | 7,8 |
| 6 | Koht pos | 108 | 100 | 100 % | E/S | 15,75 | 0,4 | 2,4 | 0,4 | 2,6 | 1,1 | 7,0 | 0,1 | 0,9 | 0,6 | 3,9 | 1,4 | 8,7 |
| 7 | Koht pos | 107 [^] | 100 | 100 % | E/S | 22,90 | 0,7 | 3,2 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 2,1 | 9,1 | 2,2 | 9,7 |
| 8 | Neg | 108 | 0,0 | 100 % | 1,85 | 0,00 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 2,2 | 0,0 | 1,1 | 0,0 | 1,5 | 0,1 | 6,1 | 0,1 | 6,8 |
| 9 | Neg | 108 | 3,7 | 96,3 % | 1,76 | 0,06 | 0,0 | 0,0 | 0,1 | 3,6 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 1,3 | 0,1 | 7,5 | 0,1 | 8,4 |
| 10 | Alh pos | 108 | 99,1 | 99,1 % | E/S | 10,61 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 1,8 | 16,8 | 1,8 | 16,8 |
| 11 | Alh pos | 108 | 98,1 | 98,1 % | E/S | 9,04 | 0,0 | 0,0 | 0,4 | 4,1 | 0,0 | 0,0 | 0,9 | 10,0 | 2,9 | 32,6 | 3,1 | 34,3 |
| 12 | Neg | 108 | 0,0 | 100 % | 1,85 | 0,00 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 1,3 | 0,0 | 1,0 | 0,1 | 7,6 | 0,1 | 7,8 |
| 13 | Koht pos | 108 | 100 | 100 % | E/S | 10,99 | 0,1 | 1,4 | 0,1 | 0,8 | 0,0 | 0,2 | 0,0 | 0,0 | 0,4 | 3,9 | 0,5 | 4,2 |
| 14 | Koht pos | 108 | 100 | 100 % | E/S | 12,22 | 0,3 | 2,6 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 1,6 | 12,8 | 1,6 | 13,0 |
| 15 | Koht pos | 108 | 100 | 100 % | E/S | 23,37 | 0,7 | 2,8 | 0,3 | 1,5 | 0,0 | 0,0 | 0,1 | 0,6 | 2,5 | 10,5 | 2,6 | 11,0 |
| 16 | Neg | 108 | 0,9 | 99,1 % | 1,79 | 0,03 | 0,0 | 2,3 | 0,0 | 1,7 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 1,1 | 0,1 | 7,5 | 0,1 | 8,1 |

*IC S/CO -arvojen vaihtelevuusanalyysi negatiivisten paneelien osalta (1, 4, 8, 9, 12, 16); analyysin S/CO-arvojen vaihtelevuusanalyysi positiivisten paneelien osalta (2, 3, 5, 6, 7, 10, 11, 13, 14, 15)

[^]1 invalidia reaktiota ei testattu uudelleen

S/CO = signaalin ja raja-arvon suhde

SD = keskihajonta

E/S = ei soveltu

Ristireaktiivisuus

Aptima HPV assayn analyttinen spesifisyys arvioitiin PreservCyt-liuoksella, joka laimennettiin Aptima-näytteensiirtoaineeseen ja terästettiin viljelyillä bakteereilla, hiivalla tai sienillä, viljelyillä viruksella tai alhaisen riskin HPV *in vitro* -transkripteilla. Analyttinen herkkyys arvioitiin samalla paneelilla, joka terästettiin alhaisen pitoisuuden HPV-infektoiduilla SiHa-soluilla (1 solu reaktiota kohti). Organismit ja testipitoisuudet esitetään taulukossa 8. Millään testatulla organismilla ei havaittu olevan mitään vaikutuksia Aptima HPV assayn spesifisyyteen tai herkkyyteen.

Taulukko 8: Analyttinen spesifisyyspaneeli

| Organismi | Testipitoisuus | Organismi | Testipitoisuus |
|--|------------------------------|---|--|
| Bakteerikanta | | | |
| <i>Acinetobacter lwoffii</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Listeria monocytogenes</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Actinomyces israelii</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Micrococcus luteus</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Alcaligenes faecalis</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Mobiluncus curtisii</i> | 2x10 ⁷ CFU/ml |
| <i>Atopobium vaginae</i> | 5x10 ⁷ CFU/ml | <i>Mycobacterium smegmatis</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Bacillus cereus</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Mycoplasma fermentans</i> | 5x10 ⁷ CFU/ml |
| <i>Bacteroides fragilis</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Mycoplasma genitalium</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Bacteroides ureolyticus</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Mycoplasma hominis</i> | 5x10 ⁷ CFU/ml |
| <i>Bifidobacterium adolescentis</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Bifidobacterium breve</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Neisseria gonorrhoeae ja Chlamydia trachomatis</i> | 5x10 ⁸ CFU/ml 1,5x10 ⁴ TCID 50/ml |
| <i>Campylobacter fetus-fetus</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Neisseria meningitidis</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | 2x10 ⁴ TCID 50/ml | <i>Peptoniphilus lacrimalis</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Clostridium difficile</i> | 6x10 ⁷ CFU/ml | <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Propionibacterium acnes</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Corynebacterium genitalium</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Proteus mirabilis</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Corynebacterium xerosis</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Proteus vulgaris</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Providencia stuartii</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Escherichia coli</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Ruminococcus productus</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Fingoldia magna</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Serratia marcescens</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Staphylococcus aureus</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Haemophilus ducreyi</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Streptococcus pyogenes</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Lactobacillus crispatus</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Streptococcus sanguinis</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Ureaplasma urealyticum</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml |
| <i>Lactobacillus jensenii</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | | |

Taulukko 8: Analyttinen spesifisyyspaneeli (jatkuu)

| Organismi | Testipitoisuus | Organismi | Testipitoisuus |
|--------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| Hiiva/prototsoa | | | |
| <i>Candida albicans</i> | 1x10 ⁸ CFU/ml | <i>Trichomonas vaginalis</i> | 1x10 ⁷ solua/ml |
| Virukset | | | |
| Adenovirus 2 | 1x10 ⁸ vp/ml | Herpes simplex virus 1 | 2,5x10 ⁵ TCID 50/ml |
| Sytomegalovirus | 33 TCID 50/ml | Herpes simplex virus 2 | 5x10 ⁴ TCID 50/ml |
| Epstein-Barr-virus | 4x10 ⁷ vp/ml | SV40 | 1,2x10 ⁴ TCID 50/ml |
| HIV-1 | 1,0x10 ⁶ kopiota/ml | | |
| Ei-kohdistetut HPV-genotyypit | | | |
| HPV 6 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml | HPV 53 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml |
| HPV 11 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml | HPV 61 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml |
| HPV 42 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml | HPV 71 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml |
| HPV 43 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml | HPV 81 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml |
| HPV 44 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml | | |

Interferenssi

Taulukossa 9 kuvatut aineet testattiin erikseen PreservCyt-liuokseen ja Aptima-näytteen siirtoaineeseen (Specimen Transport Media, STM) 1 %:n ja 10 %:n pitoisuuksilla (v/v tai w/v) ja testattiin Aptima HPV assaylla. Kaikki aineet testattiin HPV-infektoitujen viljeltyjen solujen (SiHa, 3 soluja/reaktio) kanssa ja ilman. Interferenssiä ei havaittu minkään testatun aineen osalta paitsi kahdessa viidestä liukastusaineesta, jotka sisälsivät polykvaterniumia-15 > 0,025 %:n pitoisuuksilla testinäytteessä, ja antifungaalisessa lääkkeessä, joka sisälsi tiokonatsolia > 0,075 %:n pitoisuuksilla testinäytteessä.

Taulukko 9: Aineet, jotka testattiin mahdollisen interferenssin varalta Aptima HPV Assayn kanssa

| Tuotekategoria | Tuotemerkki tai -tyyppi |
|--------------------------------------|---|
| Liukastusaine | KY Sensual Mist (v/v) |
| | KY Warming Jelly (w/v) |
| | KY Warming Liquid (v/v) |
| | Astroglide Personal Lubricant* |
| | Target Brand Lubricating Liquid* |
| Spermisidi | Gynol II Vaginal Contraceptive Original Formula (w/v) |
| | Gynol II Vaginal Contraceptive Extra Strength (w/v) |
| | Delfen Vaginal Contraceptive Foam (w/v) |
| | Encare Vaginal Contraceptive (w/v) |
| | Conceptrol Vaginal Contraceptive (w/v) |
| Antifungaalinen/kutinaa estävä lääke | Vagisil Maximum Strength (w/v) |
| | Monistat Soothing Care (w/v) |
| | Monistat 3 Combination Pack (w/v) |
| | Target Brand Tioconazole 1 (w/v) |
| | Target Brand Miconazole 3 (w/v) |
| Jäätikkahappo | EMD M/N AX0073-11 (v/v) |
| Kokoveri | kokoveri (v/v) |

*Henkilökohtaiset liukastusaineet, jotka sisältävät polykvaterniumia-15.

Tigris DTS System -järjestelmän odotetut tulokset: Korkean riskin HPV mRNA:n esiintyvyys

Korkean riskin HPV-infektion esiintyvyys vaihtelee laajasti ja siihen vaikuttavat useat eri tekijät, joista suurin on ikä.^{32,33} Monissa tutkimuksissa on tutkittu HPV:n esiintyvyyttä HPV DNA:n tunnistuksen määrittämänä, mutta harvat tutkimukset raportoivat esiintyvyyttä HPV:n onkogeenisien mRNA:n tunnistuksen perusteella. Naisia useista eri kliinisistä tutkimuspaikoista (n=18), jotka edustivat laajaa maantieteellistä jakautumaa ja monipuolista populaatiota (10 osavaltiota Yhdysvalloissa), otettiin mukaan prospektiiviseen kliiniseen tutkimukseen nimeltään CLEAR-tutkimus.³⁴ Kliinisessä tutkimuksessa tarkkailtu positiivisten HPV mRNA -näytteiden esiintyvyys luokiteltiin yleisesti, ikäryhmän mukaan ja testipaikan mukaan. Tulokset esitetään taulukossa 10 ASC-US-populaation (lievä levyepiteelisolukon muutos eli atypia) ja NILM-populaation (negatiivinen intraepiteeliaalisen leesio tai maligniteetin osalta) osalta.

Taulukko 10: Korkean riskin HPV mRNA:n esiintyvyys ikäryhmän, testauspaikan ja yhdistettyjen tulosten mukaan

| | Positiivisten tulosten % (x/n) | |
|---------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| | ASC-US-populaatio (≥ 21 vuotta) | NILM-populaatio (≥ 30 vuotta) |
| Kaikki | 41,8 (400/958) | 5,0 (540/10 871) |
| Ikäryhmät (vuotta) | | |
| 21–29 | 60,3 (252/418) | E/S |
| 30–39 | 36,8 (98/266) | 6,9 (289/4199) |
| ≥ 40 | 18,2 (50/274) | 3,8 (251/6672) |
| Testauspaikka | | |
| 1 | 41,6 (134/322) | 4,7 (172/3682) |
| 2 | 41,4 (150/362) | 5,2 (194/3702) |
| 3 | 42,3 (116/274) | 5,0 (174/3487) |

E/S = ei sovellu

Aptima HPV Assayn kliinisen tutkimuksen asetelma ThinPrep-nestesytologianäytteillä

Yhdysvalloissa tehdyssä prospektiivisessä kliinisessä monikeskustutkimuksessa, joka tunnetaan nimellä CLEAR-tutkimus, määritettiin Aptima HPV assayn kliinistä suorituskykyä kohdunkaulan intraepiteliaalisen neoplasian tason 2 tai vakavamman kohdunkaulan taudin (\geq CIN2) tunnistamisessa. CLEAR-tutkimus sisälsi alkuarvioinnin ja kolmivuotisen seuranta-arvioinnin³⁴.

CLEAR-tutkimus – alkuarviointi

CLEAR tutkimuksen alkuarvioinnissa (alkuarviointivaihe) naiset otettiin joko ASC-US-tutkimusryhmään tai NILM-tutkimusryhmään kohdunkaulan syövän rutiiniseulonnan sytologisten tulosten perusteella. ASC-US-tutkimuspopulaatiossa oli 21-vuotiaita ja sitä vanhempia naisia, joilla oli ASC-US-sytologiatuloksia, ja NILM-tutkimuspopulaatiossa oli 30-vuotiaita ja sitä vanhempia naisia, joilla oli NILM-sytologiatuloksia. NILM-tutkimuksen tarkoitus oli tukea lisäseulontatarvetta vähintään 30-vuotiaille naisille, sillä tämän ikäisille naisille, joiden sytologiatulokset ylittävät ASC-US-rajaa, tulisi tehdä kolposkopia huolimatta heidän HPV-tilastaan.³⁵

Tutkimukseen otettiin naisia 18 kliinisestä tutkimuspaikasta, pääasiallisesti synnytys- ja naistentautiklinikoilta laajalta maantieteellisestä alueelta ja monipuolisesta populaatiosta. Kriteerit täyttävät naiset nimettiin ASC-US-tutkimukseen tai NILM-tutkimukseen heidän ThinPrep-lähetenesytologianäytteensä perusteella. Alkuarviointivaiheessa naisilta ASC-US-tutkimuksesta ja NILM-tutkimuksesta jäljelle jääneet lähetepotilasnäytteet testattiin sekä Aptima HPV assaylla että kaupallisesti saatavana olevalla HPV DNA -testillä.

Alkuarvioinnissa kaikki ASC-US-tutkimuksen naiset lähetettiin kolposkopiaan huolimatta heidän HPV-testituloksistaan. Kohdunkaulansisäinen kaavintanäyte (Endocervical Curettage, ECC) ja kohdunkaulan koepalabiopsia (1 biopsia kustakin 4 neljänneksestä) otettiin. Jos leesio oli näkyvässä, siitä otettiin koepala (suora menetelmä, 1 biopsia leesiota kohti) ja neljänneksistä, jossa leesiota ei ollut näkyvässä, otettiin biopsianäyte levy- ja lieriöepiteelin yhtymäkohdasta (satunnainen menetelmä).

NILM-tutkimuksessa Aptima HPV assayssa ja/tai kaupallisesti saatavilla olevassa HPV DNA -testissä positiiviset naiset sekä satunnaisesti valitut naiset, joiden tulokset olivat negatiiviset kummassakin määrittämisessä, lähetettiin kolposkopiaan lähtöarvon arviointia varten. Satunnaisesti valitut naiset, joiden tulokset olivat negatiiviset kummassakin määrittämisessä, otettiin mukaan korjaamaan moni-imputaatiomenetelmällä säädettyjen suorituskykyarvioiden varmennusharhaa. ECC-biopsia otettiin kustakin kolposkopiaan osallistuneesta naisesta. Koepalabiopsia otettiin vain näkyvistä leesioista (suora menetelmä, 1 biopsia leesiota kohti).

Taudin tila määritettiin yksimielisen histologisen asiantuntijaneelin toimesta, jossa vähintään 2 asiantuntijapatologia olivat samaa mieltä. Asiantuntijapatologit sokkoutettiin naisen HPV-tilan osalta. Heidät sokkoutettiin myös sytologiatilansa ja toistensa histologiadiagnoosien osalta. Jos kaikki kolme patologia olivat eri mieltä, he tarkastelivat kuvia mikroskoopilla saavuttaakseen konsensuksen. Harhaa vältettiin sokkouttamalla tutkijat, klinikot ja naiset HPV-testituloksen osalta siihen asti, kunnes kolposkopiakäynti oli tehty.

Alkuarvioinnissa Aptima HPV Assayn kliininen suorituskyky \geq CIN2:n ja kohdunkaulan intraepiteliaalisen neoplasian asteen 3 tai vakavamman kohdunkaulan taudin (\geq CIN3) tunnistamisen osalta arvioitiin suhteessa kohdunkaulasairaustilaan joka oli määritetty alkuarvioinnissa. Kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin kliininen suorituskyky arvioitiin myös verrattuna suoraan Aptima HPV assayn tuloksiin.

CLEAR-tutkimus – seuranta-arviointi

NILM-tutkimukseen osallistuneet naiset 14 kliinisestä tutkimuspaikasta olivat oikeutetut ottamaan osaa tutkimuksen komivuotiseen seurantavaiheeseen jos i) heillä oli ollut kolposkopiakäynti alkuarvioinnin yhteydessä ja heillä ei ollut \geq CIN2, tai ii) heillä ei ollut ollut kolposkopiakäyntiä alkuarvioinnin yhteydessä. Tutkimuksen seurantavaihe koostui vuosittaisista käynneistä. Näillä käynneillä jokaiselle naiselle suoritettiin näytteenotto kohdunkaulasta sytologiaa varten, ja jotkut naisista testattiin kaupallisesti saatavilla olevalla HPV-testillä. Naiset, joilla oli ASC-US tai vakavampia sytologiatuloksia seurantajakson aikana ohjattiin kolposkopiaan käyttäen samoja biopsia- ja histologiatutkimusproseduureja joita käytettiin NILM-tutkimuksen alkuarvioinnissa. Kohdunkaulan patologinen tila katsottiin olevan "negatiivinen" NILM-sytologian perusteella, tai naisilla joilla oli epänormaalit sytologiatestitulokset, perustuen normaaliin tai CIN1-histologiatarkastuspaneelin konsensustuloksiin. Naisten joilta havaittiin \geq CIN2 seurantajakson aikana katsottiin läpäisseen seurannan eikä heiltä pyydetty käyntejä \geq CIN2:n havaitsemisen jälkeen. Naisten joilta ei havaittu \geq CIN2 seurantajakson aikana mutta jotka kävivät tutkimuskäynnillä 1. ja/tai 2. seurantavuonna ja jotka kävivät tutkimuskäynnillä 3. seurantavuonna katsottiin läpäisseen seurannan.

Seurantatutkimuksen tavoitteena oli verrata kumulatiivista kolmen vuoden kohdunkaulasairausriskiä naisilla joiden Aptima HPV assay -alkututkimustulokset olivat positiiviset niiden naisten kumulatiiviseen kolmen vuoden kohdunkaulasairausriskiin joiden Aptima HPV assay -alkututkimustulokset olivat negatiiviset. Kolmen vuoden kohdunkaulasairaus tila määritettiin seuraavasti:

- Positiivinen kohdunkaulasairaus tila (\geq CIN2 ja/tai \geq CIN3) – naiset joilta todettiin \geq CIN2 alkututkimuksessa tai seurannassa.
- Negatiivinen kohdunkaulasairaus tila ($<$ CIN2) – naiset jotka läpäisivät seurannan ilman että heillä todettiin \geq CIN2 ja joiden kohdunkaulasairaus tilan ei katsottu olevan "määrittelemätön".
- Määrittelemätön kohdunkaulasairaus tila – naiset joiden sytologiatestitulokset olivat epänormaalit seurannan aikana ja joilla ei ollut sitä seuraavaa histologia-arviointipaneelin konsensustulosta, tai naiset joiden sytologia viimeisellä käynnillä ei ollut riittävä.
- Hävinneet seurannassa – naiset jotka eivät läpäisseet seurantaa ja joiden kohdunkaulasairaus tilan ei katsottu olevan "määrittelemätön".

Aptima HPV assayn kliininen tehokkuus \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n toteamisessa arvioitiin suhteessa kolmen vuoden kohdunkaulasairaus tilaan.

Tigris DTS System -järjestelmän määrittämisen suorituskyky

ASC-US \geq 21-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn kliininen suorituskyky ThinPrep-nestesytologianäytteillä

Yhteensä 1 252 naista, jotka olivat vähintään 21-vuotiaita ja joilla oli ASC-US-sytologiatulokset, otettiin mukaan ASC-US-tutkimukseen. Näistä 294 naista keskeyttivät tutkimuksen ja 19 naisella oli määrittämätön taudin diagnoosi. Kaikki poissuljettiin analyysistä. Loput 939 arvioitavaa naista olivat vähintään 21-vuotiaita ja heillä oli ASC-US-sytologiatulokset, Aptima HPV assayn tulokset ja vakuuttava taudin tila.

Yhdeksälläkymmenellä yhdellä (91) naisella oli \geq CIN2 ja neljälläkymmenellä yhdellä (41) oli \geq CIN3. \geq CIN2- ja \geq CIN3- esiintyvyyden arvioitavilla naisilla ASC-US-sytologiatuloksissa oli vastaavasti 9,7 % ja 4,4 %. Aptima HPV assayn tulokset yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin diagnoosin perusteella esitetään taulukossa 11.

Taulukko 11: ASC-US \geq 21-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn tulokset yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin diagnoosin perusteella

| Aptima HPV Assayn tulos* | HPV DNA -testi | Yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin diagnoosi | | | | | | |
|--------------------------|----------------|--|----------|------|------|------|-------|----------|
| | | Määrittämätön** | Normaali | CIN1 | CIN2 | CIN3 | Syöpä | Yhteensä |
| Positiivinen | Positiivinen | 6 | 170 | 113 | 41 | 32 | 1 | 363 |
| Positiivinen | Negatiivinen | 0 | 7 | 0 | 1 | 2 | 0 | 10 |
| Positiivinen | Ei tulosta*** | 0 | 14 | 11 | 0 | 2 | 0 | 27 |
| Negatiivinen | Positiivinen | 0 | 47 | 13 | 2 | 3 | 0 | 65 |
| Negatiivinen | Negatiivinen | 10 | 371 | 55 | 6 | 1 | 0 | 443 |
| Negatiivinen | Ei tulosta*** | 3 | 40 | 7 | 0 | 0 | 0 | 50 |
| Yhteensä | | 19 | 649 | 199 | 50 | 40 | 1**** | 958 |

*Kaikilla näytteillä oli lopulliset validit tulokset (ensimmäisessä testauksessa tai kun ensimmäiset toimenpidekohtaiset invalidit oli ratkaistu)

**19 tutkittavaa osallistuivat kolposkopiakäyntiin, mutta diagnoosia ei voitu määrittää seuraavista syistä: < 5 biopsiapotilasnäytettä otettu, joiden kaikkien histologiatulos normaali/CIN1 (n=15), ei biopsianäytteitä otettu (n=3) ja biopsianäytteet hukattu (n=1).

***Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 77 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrä.

****Yhdellä tutkittavalla oli adenokarsinoma in situ (AIS).

Aptima HPV assayn kliiniset suorituskykyarvioinnit mukaan lukien herkkyys, spesifisyys, positiivinen prediktivinen arvo (Positive Predictive Value, PPV) ja negatiivinen prediktivinen arvo (Negative Predictive Value, NPV) \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n tunnistamisessa kaikkien biopsia-arviointien osalta mukaan lukien vain ohjatut biopsiat on esitetty taulukossa 12, samoin kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin arviot.

Taulukko 12: ASC-US ≥ 21-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin suorituskyky ≥CIN2- ja ≥CIN3-tunnistuksessa

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

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 74 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävää määrää.

**Yksimielinen histologiatus saatiin käyttämällä vain suorien biopsioiden tuloksia. Naiset, joille ei tehty ohjattuja biopsioita, edustavat normaalia kolposkopiaa ja on sisällytetty näihin analyysihin taudittomina (<CIN2 tai <CIN3, kuten asianmukaista). Yksimielisyyttä ei aina saavutettu, kun vain ohjatut biopsiat otettiin mukaan.

Kun kaikkia biopsioita arvioitiin, Aptima HPV assayn ja kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin kliiniset herkkyysarviot tilanteissa, joissa molemmat määritystulokset olivat saatavana \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n tunnistamiseen, olivat samanlaiset (herkkyysarvioiden erot eivät olleet tilastollisesti merkittäviä: herkkyysero = -2,3 % (95 % CI: -9,5 %, 4,8 %)). Aptima HPV assayn kliiniset spesifisyysarviot \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n tunnistamiseen olivat korkeammat kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin (erot spesifisyysarvioissa olivat tilastollisesti merkittäviä). \geq CIN2:n osalta spesifisyysero oli 6,8 % (95 % CI: 4,9 %, 9,0 %). NPVt olivat samanlaiset lukuunottamatta \geq CIN2:n tunnistamista ja Aptima HPV assayn PPV oli hieman korkeampi kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin (20,1 % vs. 18,7 %).

Yhteensä 91 \geq CIN2-tapauksesta 60 tapausta (65,9 %) tunnistettiin ohjatuissa biopsioissa ja 31 tapausta (34,1 %) tunnistettiin satunnaisista ja/tai ECC-biopsioista (ts. ei ohjatuista biopsioista). Nämä löydökset ovat verrattavissa julkaistuihin tutkimuksiin, joissa noin 25–40 % \geq CIN2-tapauksista tunnistettiin vain satunnaisista ja/tai ECC-biopsioista.^{36,37} Kun taudin tila määritetään vain ohjatun biopsian perusteella (edellyttäen, että naisilla, joille ei tehty ohjattua biopsiaa, oli normaalit histologiatulokset siitä syystä, ettei näkyviä leesioita esiintynyt), \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n esiintyvyys tutkimuksessa oli vastaavasti 6,4 % ja 3,1 %. Kliiniset herkkyysarviot \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n tunnistamiseen olivat korkeammat molemmissa testeissä käytettäessä vain ohjattuja biopsioita kuin arvioissa, jotka laskettiin käyttäen kaikkia biopsioita. Molemmissa määrityksissä kliininen spesifisyys käyttäen vain ohjattuja biopsioita oli samanlainen kuin spesifisyys joka saatiin, kun kaikki biopsiat otettiin mukaan. Samoin kun käytettiin vain ohjattuja biopsioita, Aptima HPV assayn spesifisyys oli merkittävästi korkeampi kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin.

Aptima HPV assayn ja kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin kliiniset suorituskykyarviot esitetään ikäryhmittäin taulukossa 13 ja taulukossa 14 (\geq CIN2 ja \geq CIN3 vastaavasti kaikkien biopsioiden arviointiin perustuen).

Taulukko 13: ASC-US ≥ 21-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin suorituskyky ≥CIN2-tunnistuksessa ikäryhmittäin

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

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 74 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrä.

Taulukko 14: ASC-US ≥ 21-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin suorituskyky ≥CIN3-tunnistuksessa ikäryhmittäin

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

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 74 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrä.

Taudin absoluuttinen riski (\geq CIN2 ja \geq CIN3, kaikkien biopsioiden arviointiin perustuen) Aptima HPV assayn tuloksen perusteella ja taudin suhteellinen riski Aptima HPV assayn positiivisen vs. negatiivisen tuloksen perusteella esitetään taulukossa 15 samoin kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin arviot. \geq CIN2:n suhteellinen riski oli 9,1 (95 % CI: 5,0, 16,5), mikä osoittaa, että naisella, jonka Aptima HPV assayn tulos oli positiivinen, oli 9,1 kertaa yhtä todennäköinen mahdollisuus olla \geq CIN2 kuin naisella, jonka Aptima HPV assayn tulos oli negatiivinen. \geq CIN3:n suhteellinen riski oli 12,8 (95 % CI: 4,6, 35,6).

Taulukko 15: ASC-US \geq 21-vuotiaiden populaatio: \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n absoluuttiset ja suhteelliset riskit Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin tulosten perusteella

| | Määrittystulos | Aptima HPV Assay N=939 | | HPV DNA -testi N=865* | |
|-------------|-----------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) |
| \geq CIN2 | Positiivinen | 20,1 (79/394) (18,1, 22,0) | 9,1 (5,0, 16,5) | 18,7 (79/422) (17,0, 20,4) | 8,3 (4,4, 15,8) |
| | Negatiivinen | 2,2 (12/545) (1,2, 3,5) | | 2,3 (10/443) (1,2, 3,8) | |
| | Esiintyvyys (%) | 9,7 (91/939) | | 10,3 (89/865) | |
| \geq CIN3 | Positiivinen | 9,4 (37/394) (8,1, 10,4) | 12,8 (4,6, 35,6) | 8,5 (36/422) (7,4, 9,4) | 12,6 (3,9, 40,6) |
| | Negatiivinen | 0,7 (4/545) (0,2, 1,7) | | 0,7 (3/443) (0,2, 1,7) | |
| | Esiintyvyys (%) | 4,4 (41/939) | | 4,5 (39/865) | |

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 74 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrä.

Taudin absoluuttiset ja suhteelliset riskiarviot (\geq CIN2 ja \geq CIN3, kaikkien biopsioiden arviointiin perustuen) Aptima HPV assayn ja kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin osalta esitetään ikäryhmittäin taulukossa 16.

Taulukko 16: ASC-US \geq 21-vuotiaiden populaatio: \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n absoluuttiset ja suhteelliset riskit Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin tulosten perusteella ikäryhmittäin

| | Ikä | Määrittelytulos | Aptima HPV Assay N=939 | | HPV DNA -testi N=865* | |
|-------------|------------------|------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | | | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) |
| \geq CIN2 | 21–29 vuotta | | N=415 | | N=389 | |
| | | Positiivinen | 22,0 (55/250) (19,6, 24,2) | 6,1 (2,7, 13,7) | 20,8 (56/269) (19,0, 22,5) | 8,3 (2,7, 26,1) |
| | | Negatiivinen | 3,6 (6/165) (1,5, 7,0) | | 2,5 (3/120) (0,6, 6,4) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 14,7 (61/415) | | 15,2 (59/389) | |
| | 30–39 vuotta | | N=262 | | N=239 | |
| | | Positiivinen | 18,9 (18/95) (14,7, 22,7) | 15,8 (3,8, 66,7) | 16,0 (16/100) (11,8, 19,6) | 5,6 (1,9, 16,1) |
| | | Negatiivinen | 1,2 (2/167) (0,2, 3,5) | | 2,9 (4/139) (0,9, 5,9) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 7,6 (20/262) | | 8,4 (20/239) | |
| | \geq 40 vuotta | | N=262 | | N=237 | |
| | | Positiivinen | 12,2 (6/49) (5,8, 18,4) | 6,5 (1,9, 22,2) | 13,2 (7/53) (6,9, 18,7) | 8,1 (2,2, 30,2) |
| | | Negatiivinen | 1,9 (4/213) (0,6, 3,4) | | 1,6 (3/184) (0,4, 3,4) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 3,8 (10/262) | | 4,2 (10/237) | |
| \geq CIN3 | 21–29 vuotta | | N=415 | | N=389 | |
| | | Positiivinen | 10,4 (26/250) (8,9, 11,4) | 17,2 (2,4, 125) | 9,3 (25/269) (8,2, 10,0) | Ei laskettavissa |
| | | Negatiivinen | 0,6 (1/165) (0,0, 2,8) | | 0,0 (0/120) (0,0, 2,5) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 6,5 (27/415) | | 6,4 (25/389) | |
| | 30–39 vuotta | | N=262 | | N=239 | |
| | | Positiivinen | 8,4 (8/95) (5,2, 10,4) | 14,1 (1,8, 111) | 7,0 (7/100) (3,9, 9,1) | 4,9 (1,0, 22,9) |
| | | Negatiivinen | 0,6 (1/167) (0,0, 2,4) | | 1,4 (2/139) (0,2, 3,6) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 3,4 (9/262) | | 3,8 (9/239) | |
| | \geq 40 vuotta | | N=262 | | N=237 | |
| | | Positiivinen | 6,1 (3/49) (1,6, 10,2) | 6,5 (1,1, 38,0) | 7,5 (4/53) (2,9, 10,7) | 13,9 (1,6, 122) |
| | | Negatiivinen | 0,9 (2/213) (0,1, 2,0) | | 0,5 (1/184) (0,0, 1,8) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 1,9 (5/262) | | 2,1 (5/237) | |

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 74 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrä.

NILM ≥ 30-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn kliininen suorituskyky ThinPrep-nestesyttologianäytteillä alkuarvioinnissa

Yhteensä NILM-sytologiatuloksia oli 11 644 naisella, jotka osallistuivat NILM-tutkimukseen. Näistä 773 naista keskeyttivät tutkimuksen ja heidät poissuljettiin alkuarvioinnista. Jäljelle jääneet 10 871 arvioitavaa naista olivat 30-vuotiaita tai sitä vanhempia ja heillä oli sekä NILM-sytologiatulokset että Aptima HPV Assayn tulokset. Positiivisen Aptima HPV assayn tuloksen omaavista 540 naisesta 335 naiselle tehtiin kolposkopia alkuarvioinnissa. Negatiivisen Aptima HPV assayn tuloksen omaavista 10 331 naisesta 530 naiselle tehtiin kolposkopia alkuarvioinnissa. Kahdellakymmenellä (20) naisella oli ≥CIN2 ja yhdellätoista (11) oli ≥CIN3; 799 naisella oli normaali/CIN1-histologia, 46 naisella oli määrittämätön taudin tila. Aptima HPV Assayn alkuarvioinnin tulokset yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin diagnoosin perusteella esitetään taulukossa 17.

Taulukko 17: NILM ≥ 30-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn ja HPV DNA-testin tulokset tulokset yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin diagnoosin perusteella alkuarvioinnissa

| Aptima HPV Assayn tulos* | HPV DNA -testi | Yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin diagnoosi | | | | | | |
|--------------------------|----------------|--|----------|------|------|------|-------|----------|
| | | Määrittämätön | Normaali | CIN1 | CIN2 | CIN3 | Syöpä | Yhteensä |
| Positiivinen | Positiivinen | 11 | 212 | 11 | 4 | 7 | 2 | 247 |
| Positiivinen | Negatiivinen | 7 | 59 | 0 | 1 | 0 | 1 | 68 |
| Positiivinen | Ei tulosta** | 3 | 16 | 1 | 0 | 0 | 0 | 20 |
| Negatiivinen | Positiivinen | 10 | 170 | 8 | 2 | 1 | 0 | 191 |
| Negatiivinen | Negatiivinen | 15 | 313 | 9 | 1 | 0 | 0 | 338 |
| Negatiivinen | Ei tulosta** | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Yhteensä | | 46 | 770 | 29 | 9 | 8 | 3*** | 865 |

*Kaikilla näytteillä oli lopulliset validit tulokset (ensimmäisessä testauksessa tai kun ensimmäiset toimenpidekohtaiset invalidit oli ratkaistu)

**Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 21 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävää määrää.

***Kolmella naisella oli adenokarsinoma in situ (AIS).

Yhteensä 10 052 naisella oli vahvistamaton (mukaan lukien määrittämätön) taudin tila alkuarvioinnissa (taulukko 18). Koska vain satunnaisesti valitut naiset, joilla oli negatiivinen tulos sekä Aptima HPV assayssa että kaupallisesti saatavana olevassa HPV DNA -testissä, lähetettiin kolposkopiaan, tässä ryhmässä olevien vahvistamattoman taudin tilan omaavien naisten määrä oli suuri (96,6 %). Tämän varmennusharhan säätämiseen käytettiin imputaatiomenetelmää, jolla arvioitiin niiden naisten määrän arvio, joiden tauti olisi tunnistettu, jos kaikille naisille olisi tehty kolposkopia. Sekä varmennusharhasäädetyt suorituskykyarviot että säätämättömät suorituskykyarviot vahvistetun taudin tilan alkuarvioinnissa omaavalta 819 naiselta esitetään.

Taulukko 18: NILM \geq 30-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin tulosten arvioitavien NILM-naisten luokitus, taudin tila (\geq CIN2 ja \geq CIN3) ja taudin varmennustila alkuarvioinnissa

| Aptima HPV Assayn tulos* | HPV DNA -testi | Naisia yhteensä | Varmistettu taudin tila: \geq CIN2 | | Varmistettu taudin tila: \geq CIN3 | | Varmistamaton taudin tila |
|--------------------------|----------------|-----------------|--------------------------------------|----------------------------|--------------------------------------|----------------------------|--|
| | | | Sairaant naiset (\geq CIN2) | Ei-sairaant naiset (<CIN2) | Sairaant naiset (\geq CIN3) | Ei-sairaant naiset (<CIN3) | Naiset, joiden taudin tila tuntematon (% tuntematon) |
| Positiivinen | Positiivinen | 360 | 13 | 223 | 9 | 227 | 124 (34,4 %) |
| Positiivinen | Negatiivinen | 150 | 2 | 59 | 1 | 60 | 89 (59,3 %) |
| Positiivinen | Ei tulosta** | 30 | 0 | 17 | 0 | 17 | 13 (43,3 %) |
| Negatiivinen | Positiivinen | 306 | 3 | 178 | 1 | 180 | 125 (40,8 %) |
| Negatiivinen | Negatiivinen | 9420 | 1 | 322 | 0 | 323 | 9097 (96,6 %) |
| Negatiivinen | Ei tulosta** | 605 | 1 | 0 | 0 | 1 | 604 (99,8 %) |
| Yhteensä | | 10 871 | 20 | 799 | 11 | 808 | 10 052 (92,5 %) |

*Kaikilla näytteillä oli lopulliset tulokset (ensimmäisessä testauksessa tai kun ensimmäiset toimenpidekohtaiset invalidit oli ratkaistu).

**Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 635 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävää määrää.

Säädetty \geq CIN2- ja \geq CIN3- esiintyvyys naisilla NILM-sytologiatuloksissa oli vastaavasti 0,9 % ja 0,4 %. Säädetyt absoluuttiset ja suhteelliset riskiarviot \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n tunnistamiseen alkuarvioinnissa esitetään taulukossa 19. \geq CIN2:n säädetty suhteellinen riski oli 8,1 (95 % CI: 2,3, 28,1), mikä osoittaa, että naisella, jonka Aptima HPV assayn tulos oli positiivinen, on 8,1 kertaa yhtä todennäköinen mahdollisuus olla \geq CIN2 kuin naisella, jonka Aptima HPV assayn tulos oli negatiivinen. \geq CIN3:n säädetty suhteellinen riski oli 34,5 (95 % CI: 2,7, 443,3). Säättämättömät absoluuttiset ja suhteelliset riskit \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n tunnistamiseen alkuarvioinnissa yleensä esitetään taulukossa 20 ja ikäryhmittäin taulukossa 21.

Taulukko 19: NILM \geq 30-vuotiaiden populaatio: \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n absoluuttiset ja suhteelliset riskit Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin tulosten perusteella alkuarvioinnissa (varmennusharhasäädetyt arviot)

| Määrittystulos | | Aptima HPV Assay | | HPV DNA -testi | |
|----------------|-----------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| | | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) |
| \geq CIN2 | Positiivinen | 4,7 (2,9, 7,6) | 8,1 (2,3, 28,1) | 3,7 (2,3, 6,0) | 7,3 (1,6, 33,4) |
| | Negatiivinen | 0,6 (0,2, 1,9) | | 0,5 (0,1, 2,1) | |
| | Esiintyvyys (%) | 0,9 | | 0,9 | |
| \geq CIN3 | Positiivinen | 3,3 (1,4, 7,6) | 34,5 (2,7, 443,3) | 2,3 (1,3, 4,1) | 21,0 (1,0, 423,4) |
| | Negatiivinen | 0,1 (0,0, 1,6) | | 0,1 (0,0, 2,4) | |
| | Esiintyvyys (%) | 0,4 | | 0,4 | |

Taulukko 20: NILM \geq 30-vuotiaiden populaatio: \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n absoluuttiset ja suhteelliset riskit Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin tulosten perusteella alkuarvioinnissa (säättämättömät arviot)

| Määrittystulos | | Aptima HPV Assay N=819 | | HPV DNA -testi N=801* | |
|----------------|-----------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| | | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) |
| \geq CIN2 | Positiivinen | 4,8 (15/314) (3,4, 5,8) | 4,8 (1,8, 13,1) | 3,8 (16/417) (2,9, 4,4) | 4,9 (1,4, 16,7) |
| | Negatiivinen | 1,0 (5/505) (0,4, 1,9) | | 0,8 (3/384) (0,2, 1,9) | |
| | Esiintyvyys (%) | 2,4 (20/819) | | 2,4 (19/801) | |
| \geq CIN3 | Positiivinen | 3,2 (10/314) (2,2, 3,7) | 16,1 (2,1, 125) | 2,4 (10/417) (1,6, 2,7) | 9,2 (1,2, 71,6) |
| | Negatiivinen | 0,2 (1/505) (0,0, 0,9) | | 0,3 (1/384) (0,0, 1,1) | |
| | Esiintyvyys (%) | 1,3 (11/819) | | 1,4 (11/801) | |

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 18 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrä.

Taulukko 21: NILM ≥ 30-vuotiaiden populaatio: ≥CIN2:n ja ≥CIN3:n absoluuttiset ja suhteelliset riskit Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin tulosten perusteella ikäryhmittäin alkuarvioinnissa (säättämättömät arvot)

| | Ikä | Määrittystulos | Aptima HPV Assay N=819 | | HPV DNA -testi N=801* | |
|-------|--------------|------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | | | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) |
| ≥CIN2 | 30–39 vuotta | | N=384 | | N=377 | |
| | | Positiivinen | 4,8 (8/167) (2,1, 9,2) | 10,4 (1,3, 82,3) | 3,2 (7/216) (1,3, 6,6) | 2,6 (0,5, 12,4) |
| | | Negatiivinen | 0,5 (1/217) (0,0, 2,5) | | 1,2 (2/161) (0,2, 4,4) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 2,3 (9/384) | | 2,4 (9/377) | |
| | ≥ 40 vuotta | | N=435 | | N=424 | |
| | | Positiivinen | 4,8 (7/147) (1,9, 9,6) | 3,4 (1,0, 11,5) | 4,5 (9/201) (2,1, 8,3) | 10,0 (1,3, 78,1) |
| | | Negatiivinen | 1,4 (4/288) (0,4, 3,5) | | 0,4 (1/223) (0,0, 2,5) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 2,5 (11/435) | | 2,4 (10/424) | |
| ≥CIN3 | 30–39 vuotta | | N=384 | | N=377 | |
| | | Positiivinen | 3,0 (5/167) (1,0, 6,8) | 6,5 (0,8, 55,1) | 2,3 (5/216) (0,8, 5,3) | 3,7 (0,4, 31,6) |
| | | Negatiivinen | 0,5 (1/217) (0,0, 2,5) | | 0,6 (1/161) (0,0, 3,4) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 1,6 (6/384) | | 1,6 (6/377) | |
| | ≥ 40 vuotta | | N=435 | | N=424 | |
| | | Positiivinen | 3,4 (5/147) (1,1, 7,8) | Ei laskettavissa | 2,5 (5/201) (0,8, 5,7) | Ei laskettavissa |
| | | Negatiivinen | 0,0 (0/288) (0,0, 1,3) | | 0,0 (0/223) (0,0, 1,6) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 1,1 (5/435) | | 1,2 (5/424) | |

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 18 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävää määrää.

Säädetyt kliiniset Aptima HPV assayn suorituskykyarviot mukaan lukien herkkyys, spesifisyys, PPV ja NPV \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n tunnistamiseen esitetään taulukossa 22, samoin kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin arviot. Säätämättömät kliiniset suorituskykyarviot esitetään taulukossa 23. Aptima HPV assaylla ja kaupallisesti saatavana olevalla HPV DNA -testillä oli samanlainen herkkyys, kun taas Aptima HPV assayn spesifisyys oli merkittävästi korkeampi (ei-päällekkäiset 95 %:n CI:t). Aptima HPV assayn prediktivisen arvon arviot olivat kliinisesti asiaankuuluvia ja samanlaisia kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin. NPV:t olivat samanlaiset lukuunottamatta \geq CIN2:n tunnistamista ja Aptima HPV assayn PPV oli hieman korkeampi kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin (4,7 % vs. 3,7 %).

Taulukko 22: NILM \geq 30-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin suorituskyky \geq CIN2- ja \geq CIN3-tunnistuksessa alkuarvioinnissa (varmennusharhasäädetyt arviot)

| | Suorituskyky | Aptima HPV Assay | | HPV DNA -testi | |
|-------------|-----------------|------------------|--------------|----------------|--------------|
| | | Arvio | (95 % CI) | Arvio | (95 % CI) |
| \geq CIN2 | Herkkyys (%) | 31,0 | (5,9, 56,1) | 35,4 | (3,8, 66,9) |
| | Spesifisyys (%) | 95,2 | (94,8, 95,6) | 93,7 | (93,2, 94,2) |
| | PPV (%) | 4,7 | (2,9, 7,6) | 3,7 | (2,3, 6,0) |
| | NPV (%) | 99,4 | (98,1, 99,8) | 99,5 | (97,9, 99,9) |
| | Esiintyvyys (%) | 0,9 | | 0,9 | |
| \geq CIN3 | Herkkyys (%) | 61,5 | (14,0, 100) | 56,4 | (0,4, 100) |
| | Spesifisyys (%) | 95,2 | (94,8, 95,6) | 93,6 | (93,1, 94,1) |
| | PPV (%) | 3,3 | (1,4, 7,6) | 2,3 | (1,3, 4,1) |
| | NPV (%) | 99,9 | (98,4, 100) | 99,9 | (97,6, 100) |
| | Esiintyvyys (%) | 0,4 | | 0,4 | |

Taulukko 23: NILM \geq 30-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin suorituskyky \geq CIN2- ja \geq CIN3-tunnistuksessa alkuarvioinnissa (säätämättömät arviot)

| | Suorituskyky | Aptima HPV Assay N=819 | | HPV DNA -testi N=801* | |
|-------------|-------------------------|---------------------------|--------------|--------------------------|--------------|
| | | Arvio | (95 % CI) | Arvio | (95 % CI) |
| \geq CIN2 | Herkyys (%) | 75,0 (15/20) | (53,1, 88,8) | 84,2 (16/19) | (62,4, 94,5) |
| | Spesifisyys (%) | 62,6 (500/799) | (59,2, 65,9) | 48,7 (381/782) | (45,2, 52,2) |
| | PPV (%) | 4,8 (15/314) | (3,4, 5,8) | 3,8 (16/417) | (2,9, 4,4) |
| | NPV (%) | 99,0 (500/505) | (98,1, 99,6) | 99,2 (381/384) | (98,1, 99,8) |
| | Esiintyvyyys (%) | 2,4 (20/819) | | 2,4 (19/801) | |
| \geq CIN3 | Herkyys (%) | 90,9 (10/11) | (62,3, 98,4) | 90,9 (10/11) | (62,3, 98,4) |
| | Spesifisyys (%) | 62,4 (504/808) | (59,0, 65,7) | 48,5 (383/790) | (45,0, 52,0) |
| | PPV (%) | 3,2 (10/314) | (2,2, 3,7) | 2,4 (10/417) | (1,6, 2,7) |
| | NPV (%) | 99,8 (504/505) | (99,1, 100) | 99,7 (383/384) | (98,9, 100) |
| | Esiintyvyyys (%) | 1,3 (11/819) | | 1,4 (11/801) | |

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 18 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrä.

Aptima HPV Assayn ja kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin suora vertailu osoittaa samanlaista herkkyyttä ja tilastollisesti merkittävää Aptima HPV Assayn parempaa spesifisyyttä verrattuna kaupallisesti saatavana olevaan HPV DNA -testiin \geq CIN2:n tunnistamisessa, kuten todellisten positiivisten ja virheellisten positiivisten lukujen suhde osoittaa (vastaavasti taulukossa 24 ja taulukossa 25).

Taulukko 24: NILM \geq 30-vuotiaiden populaatio: Todellisten positiivisten lukujen suhde (Aptima HPV Assay/HPV DNA -testi) naisilla, joilla on \geq CIN2 alkuarvioinnissa (säätämättömät arviot)

| | | HPV DNA -testi | | Yhteensä |
|--|--------------|----------------|--------------|-------------|
| | | Positiivinen | Negatiivinen | |
| Aptima HPV Assay | Positiivinen | 13 | 2 | 15 (78,9 %) |
| | Negatiivinen | 3 | 1 | 4 |
| | Yhteensä | 16 (84,2 %) | 3 | 19 |
| Todellisten positiivisten lukujen suhde = 0,94 (15/16) (95 % CI: 0,67, 1,20) | | | | |

Taulukko 25: NILM \geq 30-vuotiaiden populaatio: Virheellisten positiivisten lukujen suhde (Aptima HPV Assay/HPV DNA -testi) naisilla, joilla on \geq CIN2 alkuarvioinnissa (säätämättömät arviot)

| | | HPV DNA -testi | | Yhteensä |
|--|--------------|----------------|--------------|--------------|
| | | Positiivinen | Negatiivinen | |
| Aptima HPV Assay | Positiivinen | 223 | 59 | 282 (36,1 %) |
| | Negatiivinen | 178 | 322 | 500 |
| | Yhteensä | 401 (51,3 %) | 381 | 782 |
| Virheellisten positiivisten lukujen suhde = 0,70 (282/401) (95 % CI: 0,64, 0,77) | | | | |

NILM \geq 30 vuotiaassa väestössä: Aptima HPV Assayn kliininen tehokkuus kolmen vuoden seurannan jälkeen

Yli 30-vuotiaita arvioitavia naisia NILM-sytologiatuloksilla ja valideilla alkuarvioinnin Aptima HPV assay -tuloksilla, jotka olivat kelpollisia seurantavaiheeseen, oli yhteensä 10 854. Naisista joilla ei ollut \geq CIN2, 66,9% (7 251/10 834) kävi vuoden 1 PAP-seurantakäynnillä, 60,2% (6 522/10 825) kävi vuoden 2 seurantakäynnillä ja 58,6% (6 344/ 10 818) vuoden 3 seurantakäynnillä. Kokonaisuudessaan 58,8% (6 380/10 854) naisista läpäisi tutkimuksen (heillä oli \geq CIN2 alkuarvioinnissa tai seurannan aikana, ja/tai he kävivät vaadituilla käynneillä).

Näistä 10 854 naisesta 540:llä (5,0%) oli positiivinen Aptima HPV assay -tulos alkuarvioinnissa. Näistä 540 naisesta 263:lla (48,7%) oli joko positiivinen tai negatiivinen kolmen vuoden tautitila perustuen sytologian tai kolposkopian/biopsian tuloksiin. Jäljelle jäävillä 10 314 naisella oli negatiiviset Aptima HPV assay -tulokset alkuarvioinnissa. Näistä 10 314 naisesta 5 943:lla (57,6%) oli joko positiivinen tai negatiivinen kolmen vuoden tautitila. Niistä 6 206 naisesta joilla oli kolmen vuoden tautitila, 47 naista oli \geq CIN2, mukaan lukien 23 joilla oli \geq CIN3; 6 159 naisella oli normaali/CIN1 yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin mukaan. Alkuarvioinnin Aptima HPV assay -tulokset ja kaupallisesti saatavilla olevan HPV DNA-testin tulokset sekä kolmen vuoden tautitila (sisältäen alkuarvioinnin ja seuranta-arvioinnin) yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin mukaan on esitetty taulukko 26.

Taulukko 26: NILM \geq 30 vuotiaassa väestössä: Naisten luokittelu seurantavaiheeseen soveltuviksi perustuen alkuarvioinnin Aptima HPV Assay -tuloksiin, alkuarvioinnin HPV DNA-testin tuloksiin ja tautitilaan (\geq CIN2, \geq CIN3, toteamaton) määritettynä alkuarviointi- ja seurantavaiheissa

| Aptima HPV Assay -tulos | HPV DNA -testi | Naisia yhteensä | Todettu tautitila: \geq CIN2 | | Todettu tautitila: \geq CIN3 | | Toteamaton tautitila | |
|-------------------------|----------------|-----------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|----------------------------|-------------------|
| | | | Sairastuneet naiset (\geq CIN2) | Ei-sairastuneet naiset (<CIN2) | Sairastuneet naiset (\geq CIN2) | Ei-sairastuneet naiset (<CIN2) | Kadonneet seurannan aikana | Määrittelemätön * |
| Positiivinen | Positiivinen | 360 | 22 | 154 | 15 | 161 | 165 | 19 |
| Positiivinen | Negatiivinen | 150 | 2 | 72 | 1 | 73 | 68 | 8 |
| Positiivinen | Ei tulosta** | 30 | 2 | 11 | 1 | 12 | 14 | 3 |
| Negatiivinen | Positiivinen | 304 | 6 | 146 | 3 | 149 | 133 | 19 |
| Negatiivinen | Negatiivinen | 9 405 | 14 | 5 455 | 3 | 5 466 | 3 735 | 201 |
| Negatiivinen | Ei tulosta** | 605 | 1 | 321 | 0 | 322 | 269 | 14 |
| Yhteensä | | 10 854 | 47 | 6 159 | 23 | 6 183 | 4 384 | 264 |

*Naiset joiden sytologiatulokset olivat epänormaalit seurannan aikana ja joilla ei ollut sen jälkeistä yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin tulosta, ja naiset joiden sytologia viimeisellä käynnillä ei ollut riittävä. 174 naista joiden tautitila oli määrittelemätön, suoritti seurannan ohjeiden mukaan.

**635 naista joiden Aptima HPV Assay -tuloksille ei ollut HPV DNA-testituloksia johtuen pääasiassa liian pienestä sytologianäytteestä.

Kolmen vuoden kumulatiivinen sairausriski (\geq CIN2 ja \geq CIN3) perustuu Kaplan-Meier -arvioon (elinaikataulukkoanalyysi) ja sisältää sairaudet jotka on todettu alkuarvioinnissa tai seurannassa. Naisilla joilla oli jokin merkki sairaudesta (ASC-US tai sitä vakavammat sytologiatulokset) mutta joilla ei ollut yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin tulosta sisällytettiin analyysiin käyttäen moni-imputointimenetelmää ennustamaan niiden sairastuneiden naisten määrä jotka olisi tunnistettu jos he olisivat käyneet kolposkopiassa.

Kolmen vuoden kumulatiivinen absoluuttinen ja relatiivinen riskiarvio \geq CIN2 ja \geq CIN3 toteamiselle on esitetty taulukko 27.

Taulukko 27: NILM \geq 30 Years Population: 3-Year Cumulative Absolute and Relative Risks* of \geq CIN2 and \geq CIN3 for Results of the Aptima HPV Assay and an HPV DNA Test at Baseline

| | Testitulokset | Aptima HPV Assay | | HPV DNA-testi | |
|-------------|-----------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | | Absoluuttinen riski (95% CI) | Relatiivinen riski (95% CI) | Absoluuttinen riski (95% CI) | Relatiivinen riski (95% CI) |
| \geq CIN2 | Positiivinen | 7,39 (5,12, 10,59) | 22,55 (12,68, 40,10) | 6,42 (4,50, 9,13) | 22,71 (12,19, 42,29) |
| | Negatiivinen | 0,33 (0,21, 0,51) | | 0,28 (0,17, 0,47) | |
| | Esiintyvyys (%) | 0,68 | | 0,68 | |
| \geq CIN3 | Positiivinen | 4,66 (2,94, 7,36) | 44,12 (16,91, 115,10) | 4,14 (2,62, 6,52) | 51,33 (17,74, 148,55) |
| | Negatiivinen | 0,11 (0,04, 0,25) | | 0,08 (0,03, 0,22) | |
| | Esiintyvyys (%) | 0,34 | | 0,35 | |

*Kolmen vuoden kumulatiiviset riskit säädettyinä muiden mahdollisten harhojen varalta olivat samankaltaiset tämän taulukon riskeihin nähden. Johtuen odotetuista eroista riskeissä vuosina 1 ja 2 näille kahdelle ryhmälle naisia seurantatutkimuksessa (ne joilla oli kolposkopia alkuarvioinnissa ja ne joilla ei ollut kolposkopiaa alkuarvioinnissa), ilmoitetaan ainoastaan kolmen vuoden kumulatiivinen riski näille ryhmille yhdessä.

Kolmen vuoden kumulatiivinen \geq CIN2 ja \geq CIN3 -esiintyvyys naisilla joiden NILM-sytologiatulokset alkuarvioinnissa olivat järjestyksessä 0,68% ja 0,34%. Relatiivinen \geq CIN2-riski oli 22,55 (95% CI: 12,68, 40,10), mikä indikoi että naisella joka on Aptima HPV Assay -positiivinen on 22,55-kertainen \geq CIN2-riski kun naisella joka on Aptima HPV Assay -negatiivinen. Relatiivinen \geq CIN3 -riski oli 44,12 (95% CI: 16,91, 115,10).

Aptima HPV Assayn kliininen suorituskyky SurePath-nestesytologianäytteillä

Aptima-siirtonesteellä käsitellyt SurePath-potilasnäytteet

SurePath-nestesytologianäytteet kerättiin kanadalaisilta naisilta (n=558), jotka oli lähetetty seurantaan yhden tai useamman poikkeavan papakokeen, HPV-infektion tai jonkin muun syyn johdosta. Kustakin potilasnäytteestä siirrettiin alikvootti (0,5 ml) Aptima-näytteensiirtoputkeen ja se käsiteltiin sitten Aptima-siirtonesteellä. Kunkin potilasnäytteen yksi replikaatti testattiin Aptima HPV assaylla. Erillinen alikvootti (1 ml) kustakin potilasnäytteestä erotettiin arviointia varten kaupallisesti saatavana olevalla HPV PCR -testillä. Taudin tunnistamisen kliininen herkkyys (määritettynä \geq CIN3:n histologisena tuloksena) laskettiin sekä Aptima HPV assayn että HPV PCR -testin osalta ja tulokset esitetään taulukossa 28, sekä positiiviset että negatiiviset prediktiviset arvot.

Taulukko 28: Aptima HPV Assayn ja HPV PCR -testin suorituskyky \geq CIN3:n tunnistamisessa

| Suorituskyky | Aptima HPV Assay N=558 | | HPV PCR -testi N=558 | |
|------------------------|---------------------------|---------------|-------------------------|---------------|
| | Arvio | (95 % CI) | Arvio | (95 % CI) |
| Herkkyys (%) | 89,3 (25/28) | (72,8 - 96,3) | 89,3 (25/28) | (72,8 - 96,3) |
| Spesifisyys (%) | 56,8 (301/530) | (52,5 - 60,9) | 49,1 (260/530) | (44,8 - 53,3) |
| PPV (%) | 9,8 (25/254) | (8,1 - 11,2) | 8,5 (25/295) | (7,0 - 9,5) |
| NPV (%) | 99,0 (301/304) | (97,6 - 99,8) | 98,9 (260/263) | (97,2 - 99,7) |
| Esiintyvyys (%) | 5,0 (28/558) | | 5,0 (28/558) | |

Taulukko 29: Aptima HPV Assayn herkkyys SurePath- ja ThinPrep-nestesytologianäytteillä

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

Aptima HPV Assayn suorituskyky potilasnäytteiden keräämisessä CSCT-tarvikesarjalla

Pareiksi yhdistetyt ThinPrep-nestesytologianäytteet ja Aptima CSCT -tarvikesarjan potilasnäytteet kerättiin 735 tutkittavalta. Yksi millilitra (1,0 ml) kutakin ThinPrep-nestesytologianäytettä laimennettiin 2,9 ml:aan Aptima-näytteensiirtoainetta ja yksi replikaatti testattiin Aptima HPV assaylla Tigris DTS System -järjestelmässä. Kunkin CSCT-potilasnäytteen yksi replikaatti testattiin myös Aptima HPV assaylla. Aptima HPV assayn prosenttiyhtäpitävyys ThinPrep-nestesytologianäytteiden ja CSCT-potilasnäytteiden välillä määritettiin ja tulokset esitetään taulukossa 30.

Positiivinen prosenttiyhtäpitävyys oli 95,9 % (95 % luottamusväli: 92,6–97,8); negatiivinen prosenttiyhtäpitävyys oli 95,5 % (95 % luottamusväli: 93,3–97,0); ja yleinen prosenttiyhtäpitävyys oli 95,6 % (95 % luottamusväli: 93,9–96,9). Nestemäisten sytologianäytteiden ja siirtotarvikesarjan potilasnäytteiden välillä havaittiin voimakasta korrelaatiota ($\kappa = 0,90$).

Taulukko 30: Aptima HPV Assayn Tigris DTS System -järjestelmällä testattujen ThinPrep-nestesytologianäytetulosten ja Aptima Cervical Specimen Collection and Transport -tarvikesarjan potilasnäytetulosten yleinen yhtäpitävyys

| | | ThinPrep-nestesytologianäyte | | Yhteensä |
|--------------------------------------|--------------|------------------------------|--------------|----------|
| | | Positiivinen | Negatiivinen | |
| Aptima CSCT-tarvikesarjapotilasnäyte | Positiivinen | 234 | 22 | 256 |
| | Negatiivinen | 10 | 469 | 479 |
| | Yhteensä | 244 | 491 | 735 |

Positiivinen yhtäpitävyys = 95,9 % (92,6–97,8)

Negatiivinen yhtäpitävyys = 95,5 % (93,3–97,0)

Yleinen yhtäpitävyys = 95,6 % (93,9–96,9)

Kappa-kerroin = 0,90

Analyttinen herkkyys

Tunnistusraja (limit of detection, LOD) kliinisessä raja-arvossa on HPV RNA:n positiivisen tuloksen antava pitoisuus (kliinisen raja-arvon yläpuolella) 95 % ajasta. Aptima HPV assayn tunnistusraja määritettiin testaamalla *in vitro* -transkriptien (IVT) laimennuspaneeleja kaikkien 14 korkean riskin genotyypin osalta ja 4 HPV-infektoidun solulinjan: SiHa, HeLa, MS751 ja ME180 (ATCC, Manassas, Virginia) osalta. IVT-paneelien osalta näytteensiirtoaine terästettiin IVT-transkriptien eri pitoisuuksilla ja laimennettiin sitten erillisillä negatiivisilla ThinPrep-nestesytologianäytteillä ennen testaamista. HPV-infektoidujen solupaneelien osalta HPV-negatiivisten ThinPrep-nestesytologianäytteiden yhdistelmiä terästettiin HPV-infektoiduilla soluilla eri pitoisuuksilla ja sitten laimennettiin näytteensiirtoaineella ennen testaamista. Kutakin kopiota testattiin kolmekymmentä replikaattia kummallakin reagenssierällä, yhteensä 60 replikaattia. Testit tehtiin 14 päivän aikana 1–12 ajoa päivää kohti ja 5 tietyn genotyypin ja pitoisuuden replikaattia testattiin kussakin ajossa. 95 %:n tunnistusraja laskettiin Probit-regressioanalyysillä kunkin laimennuspaneelin positiivisista tuloksista.

Probit-regressioanalyysin tulokset (taulukossa 31) osoittavat, että HPV-tyypeillä 16, 18, 31, 33, 35, 38, 45, 58, 59 ja 68 oli 95 %:n tunnistusrajat alle 100 kopiota/reaktio, ja tyypeillä 51, 52, 56 ja 66 oli 95 %:n tunnistusrajat 100–300 kopion/reaktion välillä. Neljän testatun solulinjan tunnistusraja oli 95 % alle 1 solu/reaktio.

Taulukko 31: Tunnistusraja Aptima HPV Assayn kliinisessä raja-arvossa

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

*kopiota reaktiota kohti *in vitro* -transkriptien osalta ja soluja reaktiota kohti solulinjojen osalta

Määrittämisen tarkkuus

Aptima HPV assayn tarkkuus arvioitiin kahdessa tutkimuksessa käyttämällä samaa 20 jäsenen paneelia. Tutkimus 1 tehtiin 3 ulkopuolisessa testauspaikassa määrittämisen uusittavuuden määrittämiseksi. Tutkimus 2 tehtiin omassa toimipaikassa määrittämisen toistettavuuden mittaamiseksi. Paneelissa oli 10 HPV-positiivista jäsentä määrittämisen tunnistusrajan pitoisuuksilla tai sitä korkeammilla pitoisuuksilla (odotettu positiivisuus: $\geq 95\%$), 4 HPV-positiivista jäsentä määrittämisen tunnistusrajaa alhaisemmillä pitoisuuksilla (odotettu positiivisuus: $>0\% - <25\%$) ja 6 HPV-negatiivista jäsentä. HPV-positiiviset paneelin jäsenet valmistettiin terästäväällä ne *in vitro* RNA -transkripteilla (IVT) näytteensiirtoaineeseen (Specimen Transport Media, STM) tai HPV-infektoidut viljellyt solut (SiHa, HeLa, ME180 ja MS751; ATCC, Manassas, Virginia) PreservCyt-liuokseen. HPV-negatiiviset paneelin jäsenet valmistettiin näytteensiirtoaineella tai yhdistetyillä jäljelle jääneillä ThinPrep-nestesyttologianäytteillä.

Tutkimuksessa 1 kussakin 3 testauspaikassa (1 instrumentti tutkimuspaikkaa kohti) 2 käyttäjää teki 1 Aptima HPV assayn työlistan päivää kohti 3 päivän ajan kullakin 3 reagenssierällä. Kukin työlista sisälsi 3 replikaattia kutakin uusittavuuspaneelin jäsentä. Satakuusikymmentäkaksi (162) erillistä näyteputkea testattiin kunkin paneelin jäsenen osalta (3 tutkimuspaikkaa x 1 instrumentti x 2 käyttäjää x 3 erää x 3 työlistaa x 3 replikaattia). Tutkimuksessa 2 testaus tehtiin omassa toimipaikassa 20 päivän aikana ja yhteensä 162 reaktiota testattiin kunkin paneelin jäsenen osalta (1 tutkimuspaikka x 3 instrumenttia x 3 käyttäjää x 3 erää x 2 työlistaa x 3 replikaattia).

Paneelin jäsenet kuvataan taulukossa 32a (paneelin jäsenet, joiden odotetaan tuottavan positiiviset tulokset) ja taulukossa 32b (paneelin jäsenet, joiden odotetaan tuottavan negatiiviset tulokset) sekä yhteenveto yhtäpitävyydestä odotettujen tulosten ja analyysin S/CO-arvojen kanssa S/CO-jakauman prosentteilla 2,5, 50 ja 97,5. Analyysin S/CO:n vaihtelevuus niiden paneelin jäsenten osalta, joiden odotettiin tuottavan positiivisen tuloksen, esitetään taulukossa 33 tutkimuksen 1 osalta ja taulukossa 34 tutkimuksen 2 osalta.

Positiivinen yhtäpitävyys määrittämisen tunnistusrajanpitoisuudella tai sen yläpuolella olevien HPV-positiivisten paneelin jäsenten osalta oli 95,1–100 % tutkimuksessa 1 ja 93,2–100 % tutkimuksessa 2 yhteensä 9 paneelin jäsenen osalta 10 paneelin jäsenestä. Loput HPV-positiiviset paneelin jäsenet aikaansaivat 77,2 % yhtäpitävyyden tutkimuksessa 1 ja 79,0 % yhtäpitävyyden tutkimuksessa 2, mikä oli odotettua alhaisempi, mutta yhtenevä 2 tutkimuksen välillä. Negatiivinen yhtäpitävyys määrittämisen tunnistusrajanpitoisuuden alapuolella olevien HPV-negatiivisten paneelin jäsenten osalta oli 78,8–93,8 % tutkimuksessa 1 ja 82,1–95,7 % tutkimuksessa 2. Yhtäpitävyys odotettujen tulosten osalta HPV-negatiivisilla paneelin jäsenillä oli 96,9–100 % tutkimuksessa 1 ja 96,3–100 % tutkimuksessa 2.

Taulukko 32a: Aptima HPV Assayn uusittavuus, tutkimukset 1 ja 2: Paneelin kuvaus, positiivinen yhtäpitävyys ja analyysin S/CO-arvojen prosenttijakauma odotetun positiivisen tuloksen antavien paneelin jäsenten osalta

| Paneelin kuvaus (koppioita tai soluja/reaktio) | Tutkimus 1 (3 testauspaikkaa) | Tutkimus 2 (1 testauspaikka) |
|--|---|---|
| | % positiivinen yhtäpitävyys (95 % CI) | % positiivinen yhtäpitävyys (95 % CI) |
| HPV 16 ja HPV 18 IVT (100 kopiota) | 100 (161/161) (97,7, 100) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| SiHa-solut (3 solua) ja HeLa-solut (7,5 solua) | 100 (162/162) (97,7, 100) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| HPV 18 IVT (100 kopiota) | 100 (162/162) (97,7, 100) | 100 (160/160) (97,7, 100) |
| HPV 16 IVT (100 kopiota) | 100 (162/162) (97,7, 100) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| MS751-solut (1 solu) | 99,4 (161/162) (96,6, 99,9) | 96,9 (157/162) (93,0, 98,7) |
| ME180-solut (0,3 solua) | 95,1 (154/162) (90,6, 97,5) | 93,2 (151/162) (88,3, 96,2) |
| HPV 18 IVT (30 kopiota) | 99,4 (161/162) (96,6, 99,9) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| HPV 16 IVT (30 kopiota) | 100 (162/162) (97,7, 100) | 97,5 (158/162) (93,8, 99,0) |
| HeLa-solut (2,5 solua) | 100 (162/162) (97,7, 100) | 95,6 (152/159) (91,2, 97,9) |
| SiHa-solut (1 solu)* | 77,2 (125/162) (70,1, 83,0) | 79,0 (128/162) (72,1, 84,6) |

IVT = *in vitro* -transkripti. IVT terästettiin nesteensiirtoaineeseen ja solut terästettiin PreservCyt-liuokseen.

*Odotettu positiivisen yhtäpitävyyden % ~95 %; havaittu alhaisempi ja johtui mahdollisesti paneelin jäsenten tuotantoeroavuuksista.

Taulukko 32b: Aptima HPV Assayn uusittavuus, tutkimukset 1 ja 2: Paneelin kuvaus, negatiivinen yhtäpitävyys ja analyysin S/CO-arvojen prosenttijakauma odotetun negatiivisen tuloksen antavien paneelin jäsenten osalta

| Paneelin kuvaus (kopioita tai soluja/reaktio) | Tutkimus 1 (3 testauspaikkaa) | Tutkimus 2 (1 testauspaikka) |
|---|---|---|
| | % negatiivinen yhtäpitävyys (95 % CI) | % negatiivinen yhtäpitävyys (95 % CI) |
| HPV 18 IVT (1 kopio)* | 78,8 (126/160) (71,8, 84,4) | 83,3 (135/162) (76,8, 88,3) |
| HPV 16 IVT (1 kopio)* | 80,9 (131/162) (74,1, 86,2) | 88,3 (143/162) (82,4, 92,4) |
| HeLa-solut (0,05 solua)* | 79,0 (128/162) (72,1, 84,6) | 82,1 (133/162) (75,5, 87,2) |
| SiHa-solut (0,03 solua)* | 93,8 (152/162) (89,0, 96,6) | 95,7 (155/162) (91,4, 97,9) |
| STM erä 1 | 100 (162/162) (97,7, 100) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| STM erä 2 | 99,4 (160/161) (96,6, 99,9) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| STM erä 3 | 99,4 (161/162) (96,6, 99,9) | 99,4 (161/162) (96,6, 99,9) |
| ThinPrep yhdistelmä 1 | 97,5 (158/162) (93,8, 99,0) | 97,5 (158/162) (93,8, 99,0) |
| ThinPrep yhdistelmä 2 | 96,9 (157/162) (93,0, 98,7) | 96,3 (156/162) (92,2, 98,3) |
| ThinPrep yhdistelmä 3 | 100 (162/162) (97,7, 100) | 99,4 (161/162) (96,6, 99,9) |

STM = näytteensiirtoaine; IVT = *in vitro* -transkripti. IVT terästettiin nesteensiirtoaineeseen ja solut terästettiin PreservCyt-liuokseen.

* Odotettu negatiivisen yhtäpitävyyden % > 75 % ja < 100 %.

Taulukko 33: Aptima HPV Assayn uusittavuus, tutkimus 1: Signaalin vaihtelevuus odotetun positiivisen tuloksen antavien paneelin jäsenten osalta

| Paneelin kuvaus (kopioita tai soluja/reaktio) | n | Keski- mää- räinen S/CO | Tutkimus- paikkojen välillä | | Käyttäjien välillä | | Erien välillä | | Työlistojen välillä | | Työlistojen sisällä | | Yhteensä | |
|---|------------------|----------------------------------|-----------------------------------|--------|-----------------------|--------|---------------|--------|------------------------|--------|------------------------|--------|----------|--------|
| | | | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) |
| HPV 16 ja HPV 18 IVT (100 kopiota) | 161 [^] | 23,4 | 0,1 | 0,4 | 0,1 | 0,4 | 0,9 | 4,0 | 0 | 0 | 1,6 | 7,0 | 1,9 | 8,1 |
| SiHa-solut (3 solua) ja HeLa-solut (7,5 solua) | 162 | 17,9 | 0 | 0 | 1,4 | 8,1 | 0 | 0 | 0,6 | 3,1 | 5,1 | 28,6 | 5,3 | 29,9 |
| HPV 18 IVT (100 kopiota) | 162 | 11,8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,8 | 6,4 | 0,1 | 0,9 | 1,2 | 10,1 | 1,4 | 12,0 |
| HPV 16 IVT (100 kopiota) | 162 | 10,8 | 0,2 | 1,5 | 0 | 0 | 0,1 | 1,1 | 0,3 | 2,6 | 0,3 | 3,1 | 0,5 | 4,5 |
| MS751-solut (1 solu) | 162 | 13,3 | 0,3 | 2,1 | 0 | 0 | 1,0 | 7,8 | 0,9 | 7,1 | 2,2 | 16,2 | 2,6 | 19,4 |
| ME180-solut (0,3 solua) | 162 | 6,5 | 0,2 | 3,2 | 0 | 0 | 0,6 | 8,6 | 0,4 | 5,5 | 2,4 | 36,2 | 2,5 | 37,7 |
| HPV 18 IVT (30 kopiota) | 162 | 9,0 | 0,7 | 7,3 | 0 | 0 | 0,7 | 7,2 | 0,8 | 8,3 | 2,3 | 25,3 | 2,6 | 28,5 |
| HPV 16 IVT (30 kopiota) | 162 | 10,8 | 0,1 | 0,8 | 0 | 0 | 0,1 | 1,3 | 0,4 | 3,8 | 0,9 | 8,4 | 1,0 | 9,3 |
| HeLa-solut (2,5 solua) | 162 | 12,4 | 0 | 0 | 0,4 | 3,3 | 0,4 | 3,1 | 0 | 0 | 2,3 | 18,4 | 2,4 | 19,0 |
| SiHa-solut (1 solu) | 162 | 7,5 | 0,3 | 3,7 | 1,0 | 13,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4,8 | 63,6 | 4,9 | 65,0 |

SD = keskihajonta; CV = vaihtelukerroin; IVT = *in vitro* -transkripti; S/CO = signaalin ja raja-arvon suhde

[^]Yhdellä näytteellä oli invalidi Aptima HPV assayn tulos eikä sitä sisällytetty analyysiin.

Huomautus: Joistakin tekijöistä johtuva vaihtelu voi olla numeerisesti negatiivista. Tämä voi tapahtua, jos noista tekijöistä johtuva vaihtelu on hyvin pientä. Näissä tapauksissa keskihajonta ja vaihtelukerroin näytetään 0:n muodossa.

Taulukko 34: Aptima HPV Assayn uusittavuus, tutkimus 2: Signaalin vaihtelevuus odotetun positiivisen tuloksen antavien paneelin jäsenten osalta

| Paneelin kuvaus (koppioita tai soluja/reaktio) | n | Keski- mää- räinen S/CO | Instrument- tien välillä | | Käyttäjien välillä | | Erien välillä | | Työlistojen välillä | | Työlistojen sisällä | | Yhteensä | |
|--|------------------|----------------------------------|-----------------------------|--------|-----------------------|--------|---------------|--------|------------------------|--------|------------------------|--------|----------|--------|
| | | | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) |
| HPV 16 ja HPV 18 IVT (100 kopiota) | 162 | 23,2 | 0,4 | 1,5 | 0,6 | 2,3 | 0,8 | 3,4 | 0,8 | 3,4 | 1,5 | 6,3 | 2,0 | 8,4 |
| SiHa-solut (3 solua) ja HeLa-solut (7,5 solua) | 162 | 18,6 | 0 | 0 | 1,7 | 9,3 | 0 | 0 | 3,5 | 18,6 | 3,7 | 20,0 | 5,4 | 28,9 |
| HPV 18 IVT (100 kopiota) | 160 [^] | 11,9 | 0,1 | 0,6 | 0,2 | 1,6 | 0,8 | 7,0 | 0,4 | 3,6 | 1,3 | 11,3 | 1,7 | 13,8 |
| HPV 16 IVT (100 kopiota) | 162 | 10,8 | 0 | 0 | 0,1 | 1,3 | 0 | 0 | 0,2 | 2,2 | 0,7 | 6,1 | 0,7 | 6,6 |
| MS751-solut (1 solu) | 162 | 13,6 | 0 | 0 | 0,6 | 4,3 | 0 | 0 | 2,5 | 18,4 | 2,1 | 15,2 | 3,3 | 24,2 |
| ME180-solut (0,3 solua) | 162 | 5,8 | 0 | 0 | 0,6 | 10,8 | 0,5 | 9,4 | 2,2 | 36,9 | 1,7 | 29,7 | 2,9 | 49,5 |
| HPV 18 IVT (30 kopiota) | 162 | 8,8 | 0,4 | 4,4 | 0,5 | 6,0 | 0,7 | 7,9 | 1,0 | 11,5 | 1,9 | 21,4 | 2,4 | 26,6 |
| HPV 16 IVT (30 kopiota) | 162 | 10,5 | 0 | 0 | 0,1 | 1,3 | 0,2 | 2,0 | 1,6 | 14,9 | 1,2 | 11,2 | 2,0 | 18,8 |
| HeLa-solut (2,5 solua) | 159 [^] | 12,0 | 0,6 | 5,1 | 1,0 | 8,5 | 0 | 0 | 2,8 | 23,8 | 2,0 | 16,6 | 3,7 | 30,6 |
| SiHa-solut (1 solu) | 162 | 7,4 | 0,9 | 12,5 | 0 | 0 | 0,7 | 9,3 | 1,8 | 24 | 4,2 | 56,8 | 4,7 | 63,8 |

SD = keskihajonta; CV = vaihtelukerroin; IVT = *in vitro* -transkripti; S/CO = signaalin ja raja-arvon suhde

[^]Viidellä näytteellä oli invalidit Aptima HPV assayn tulokset (2 HPV 18 IVT (100 kopiota), 3 HeLa-solua (2,5 solua)) eikä niitä otettu mukaan analyysiin.

Huomautus: Joistakin tekijöistä johtuva vaihtelu voi olla numeerisesti negatiivista. Tämä voi tapahtua, jos noista tekijöistä johtuva vaihtelu on hyvin pientä. Näissä tapauksissa keskihajonta ja vaihtelukerroin näytetään 0:n muodossa.

Kolmas tutkimus tehtiin myös määrittelyn uusittavuuden määrittämiseksi testaamalla 6-jäseninen paneeli yhdistettyjä kliinisiä ThinPrep-nestesytologianäytteitä. Kuusi ainutkertaista jäljelle jäänyttä HPV-negatiivista ThinPrep-nestesytologianäyteyhdistelmää valmistettiin matriisiksi, joista kaksi testattiin HPV-negatiivisena paneelin jäsenenä. Neljää ainutkertaista jäljelle jäänyttä HPV-positiivista ThinPrep-nestesytologianäyteyhdistelmää käytettiin valmistelemaan alhaisen (n=2) ja korkean (n=2) HPV-positiivisen paneelin jäsenet. Alhaisen positiivisen paneelin jäsenten pitoisuudet olivat määrittelyn tunnistusrajalta (odotettu positiivisuus: $\geq 95\%$ määritettiin kullekin erillisille HPV-positiiviselle yhdistelmälle testaamalla yhdistelmien sarjalaimennuksia). Korkean positiivisen paneelin jäsenten pitoisuudet olivat 1–2 lokia kunkin erillisen positiivisen yhdistelmän arvioidun tunnistusrajan yläpuolella (odotettu positiivisuus: 100 % positiivisuus). Kukin paneelin jäsen siirrettiin (1 ml) näytteensiirtoainetta sisältävään Aptima-näytteensiirtoputkeen testauspäivänä. Testauksen teki omassa toimipaikassa 2 käyttäjää 1 reagenssierällä, 3 instrumentilla 6 päivän aikana (3 päivää kumpikin käyttäjä) testaamalla 2 ajoa päivää kohti, joissa paneeli testattiin kahtena kopiona.

Paneelin jäsenet kuvataan taulukossa 35, sekä yhteenveto yhtäpitävyydestä odotettujen tulosten ja analyysin S/CO-arvojen kanssa S/CO-arvojen signaalijakauman prosenteilla 2,5, 50 ja 97,5. Analyysin S/CO-vaihtelevuus niiden paneelin jäsenten osalta, joiden odotettiin tuottavan positiivisen tuloksen esitetään taulukossa 36.

Yhtäpitävyys oli 100 % korkean HPV-positiivisen paneelin jäsenten osalta, $\geq 98,6$ % alhaisen HPV-positiivisen paneelin jäsenten osalta ja $\geq 94,4$ % HPV-negatiivisen paneelin jäsenten osalta.

Taulukko 35: Aptima HPV Assayn uusittavuus, tutkimus 3: Paneelin kuvaus, yhtäpitävyysprosentti

| Paneelin kuvaus | % yhtäpitävyys (95 % CI) |
|-------------------------|------------------------------|
| Alhainen positiivinen 1 | 98,6 (71/72) (92,5, 99,8) |
| Alhainen positiivinen 2 | 100 (72/72) (94,9, 100) |
| Korkea positiivinen 1 | 100 (72/72) (94,9, 100) |
| Korkea positiivinen 2 | 100 (72/72) (94,9, 100) |
| Negatiivinen 1 | 98,6 (71/72) (92,5, 99,8) |
| Negatiivinen 2 | 94,4 (68/72) (86,6, 97,8) |

Taulukko 36: Aptima HPV Assayn uusittavuus, tutkimus 3: Signaalianalyysi odotetun positiivisen tuloksen antavien paneelin jäsenten osalta

| Paneelin kuvaus | n | Keski- määrä- nen S/CO | Instrument- tien välillä | | Käyttäjien välillä | | Erien välillä | | Työlistojen välillä | | Työlistojen sisällä | | Yhteensä | |
|-------------------------|----|---------------------------------|-----------------------------|--------|-----------------------|--------|---------------|--------|------------------------|--------|------------------------|--------|----------|--------|
| | | | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) |
| Alhainen positiivinen 1 | 72 | 9,8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,2 | 22,8 | 3,0 | 30,4 | 3,7 | 38,0 |
| Alhainen positiivinen 2 | 72 | 10,5 | 0 | 0 | 2,2 | 21,0 | 0,9 | 9,0 | 3,7 | 35,3 | 2,7 | 26,1 | 5,2 | 49,5 |
| Korkea positiivinen 1 | 72 | 22,7 | 1,3 | 5,6 | 0 | 0 | 0,1 | 0,5 | 3,0 | 13,3 | 3,7 | 16,4 | 5,0 | 21,9 |
| Korkea positiivinen 2 | 72 | 23,9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,9 | 12,3 | 3,0 | 12,4 | 4,2 | 17,4 |

SD = keskihajonta; CV = vaihtelukerroin; S/CO = signaalin ja raja-arvon suhde

Huomautus: Joistakin tekijöistä johtuva vaihtelu voi olla numeerisesti negatiivista. Tämä voi tapahtua, jos noista tekijöistä johtuva vaihtelu on hyvin pientä. Näissä tapauksissa keskihajonta ja vaihtelukerroin näytetään 0:n muodossa.

Ristireaktiivisuus

Aptima HPV assayn analyttinen spesifisyys arvioitiin PreservCyt-liuoksella, joka laimennettiin näytteensiirtoaineeseen suhteessa 1:2,9 ja terästettiin viljelyillä bakteereilla, hiivalla tai sienillä, viljelyillä viruksella tai alhaisen riskin HPV *in vitro* -transkripteillä. Organismit ja testipitoisuudet esitetään taulukossa 37. Tutkimuskriteerit mikro-organismien esiintyvyyden vaikutuksen arvioinnista määrittämisen spesifisyyteen perustettiin positiivisuuteen.

Ristireaktiivisuutta havaittiin alhaisen riskin HPV-genotyypeillä 26, 67, 70 ja 82, mutta ei millään muulla testatulla organismilla.

Taulukko 37: Analyttinen spesifisyyspaneeli: Organismit ja pitoisuus ilman ristireaktiivisuutta

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

Taulukko 37: Analyttinen spesifisyyspaneeli: Organismit ja pitoisuus ilman ristireaktiivisuutta (jatkuu)

| Organismi | Testipitoisuus ilman ristireaktiivisuutta | Organismi | Testipitoisuus ilman ristireaktiivisuutta |
|--------------------------------------|--|------------------------------|--|
| Hiiva/prototsoa | | | |
| <i>Candida albicans</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Trichomonas vaginalis</i> | 1x10 ⁷ solua/ml |
| Virukset | | | |
| Adenovirus 2 | 1x10 ⁷ vp/ml | Herpes simplex virus 1 | 2,5x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml |
| Sytomegalovirus | 5,6x10 ² TCID ₅₀ /ml | Herpes simplex virus 2 | 5x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml |
| Epstein-Barr-virus | 4,3x10 ⁶ vp/ml | SV40 | 1,2x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml |
| HIV-1 | 1,0x10 ⁶ kopiota/ml | | |
| Ei-kohdistetut HPV-genotyypit | | | |
| HPV 6 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml | HPV 61 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml |
| HPV 11 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml | HPV 67 | 1 kopio/ml |
| HPV 26 | 2,5 kopiota/ml | HPV 69 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml |
| HPV 30 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml | HPV 70 | 1 kopio/ml |
| HPV 34 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml | HPV 71 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml |
| HPV 42 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml | HPV 73 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml |
| HPV 43 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml | HPV 81 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml |
| HPV 44 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml | HPV 82 | 1 kopio/ml |
| HPV 53 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml | HPV 85 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml |
| HPV 54 | 2,5x10 ⁶ kopiota/ml | | |

vp = virushiukkaset

CFU = pesäkkeitä muodostavat yksiköt

TCID₅₀ = kudostiljelyn infektoiva annos 50

Huomautus: Lihavoitu teksti osoittaa tyyppisiä, joissa ristireaktiivisuutta (> 5 % positiivisuus) havaittiin testattuna yli taulukossa merkityillä pitoisuuksilla.

Aptima HPV assayn analyttinen herkkyys mikro-organismien esiintyessä arvioitiin samalla paneelilla, joka kuvattiin taulukossa 37, joka myös terästettiin alhaisen pitoisuuden HPV-infektoiduilla SiHa-soluilla (1 solu reaktiota kohti). Tutkimuskriteerit mikro-organismien esiintyvyyden vaikutuksen arvioinnista määrittelyn herkkyteen perustettiin positiivisuuteen. Mitkään testatut organismit eivät vaikuttaneet Aptima HPV assayn herkkyteen.

Interferenssi

Taulukossa 38 kuvatut aineet terästettiin erikseen PreservCyt-liuokseen 1 %:n ja 10 %:n pitoisuuksilla (v/v tai w/v), laimennettiin näytteensiirtoaineella ja testattiin Aptima HPV assaylla. Kaikki aineet testattiin HPV-infektoidujen viljeltyjen solujen (SiHa, 3 soluja/reaktio) kanssa ja ilman. Interferenssiä havaittiin kahdella seitsemästä liukastusaineesta, jotka sisälsivät polykvaterniumia-15 ja yhdellä viidestä antifungaalisesta lääkkeestä, joka sisälsi tiokonatsolia. Interferenssiä ei havaittu millään muulla testatulla aineella.

Taulukko 38: Aineet, jotka testattiin mahdollisen interferenssin varalta Aptima HPV Assayn kanssa

| Tuotekategoria | Tuotemerkki tai -tyyppi | Korkein testattu pitoisuus*, joka ei haitannut määrittelyn suorituskykyä |
|---|--|--|
| Liukastusaine | KY Sensual Mist | 10 % v/v |
| | KY Warming Jelly | 10 % w/v |
| | KY Warming Liquid | 10 % v/v |
| | CVS Brand Personal Lubricant | 10 % w/v |
| | Target Brand Warming Massage Lotion and Personal Lubricant | 10 % v/v |
| | Astroglide Personal Lubricant | 0,3 % w/v (0,075 % w/v testinäyte) |
| | Target Brand Lubricating Liquid | 0,1 % w/v (0,025 % w/v testinäyte) |
| Spermisidi | Gynol II Vaginal Contraceptive Original Formula | 10 % w/v |
| | Gynol II Vaginal Contraceptive Extra Strength | 10 % w/v |
| | Delfen Vaginal Contraceptive Foam | 10 % w/v |
| | Encare Vaginal Contraceptive | 10 % w/v |
| | Conceptrol Vaginal Contraceptive | 10 % w/v |
| Antifungaalinen/kutinaa estävä lääke | Vagisil Maximum Strength | 10 % w/v |
| | Monistat Soothing Care | 10 % w/v |
| | Monistat 3 Combination Pack | 10 % w/v |
| | Target Brand Tioconazole 1 | 0,3 % w/v (0,075 % w/v testinäyte) |
| | Target Brand Miconazole 3 | 10 % w/v |
| Jäätikkahappo | EMD M/N AX0073-11 | 10 % v/v |
| Kokoveri | kokoveri | 10 % v/v |

*Henkilökohtaiset liukastusaineet, jotka sisältävät polykvaterniumia-15.

Panther System -järjestelmän odotetut tulokset: Korkean riskin HPV mRNA:n esiintyvyys

Korkean riskin HPV-infektion esiintyvyys vaihtelee laajasti ja siihen vaikuttavat useat eri tekijät, joista suurin on ikä.^{32,33} Monissa tutkimuksissa on tutkittu HPV:n esiintyvyyttä HPV DNA:n tunnistuksen määrittämänä, mutta harvat tutkimukset raportoivat esiintyvyyttä HPV:n onkogeeneisen mRNA:n tunnistuksen perusteella. Naisia useista eri kliinisistä tutkimuspaikoista (n=18), jotka edustivat laajaa maantieteellistä jakautumaa ja monipuolista populaatiota (10 osavaltiota Yhdysvalloissa), otettiin mukaan prospektiiviseen kliiniseen tutkimukseen nimeltään CLEAR-tutkimus.³⁴ Panther System -järjestelmällä tehdyn Aptima HPV assayn määrittämisen mukaan kliinisessä tutkimuksessa tarkkailtu positiivisten HPV mRNA -näytteiden esiintyvyys luokiteltiin yleisesti, ikäryhmän mukaan ja testipaikan mukaan. Tulokset esitetään taulukossa 39 ASC-US-populaation (lievä levyepiteelisolukon muutos eli atypia) ja NILM-populaation (negatiivinen intraepiteliaalisen leesio tai maligniteetin osalta) osalta.

Taulukko 39: Korkean riskin HPV mRNA:n esiintyvyys ikäryhmän, testauspaikan ja yhdistettyjen tulosten mukaan

| | Positiivisten tulosten % (x/n) | |
|---------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| | ASC-US-populaatio (≥ 21 vuotta) | NILM-populaatio (≥ 30 vuotta) |
| Kaikki | 42,3 (404/956) | 4,7 (512/10 860) |
| Ikäryhmät (vuotta) | | |
| 21–29 | 60,0 (251/418) | E/S |
| 30–39 | 38,1 (101/265) | 6,8 (286/4192) |
| ≥ 40 | 19,0 (52/273) | 3,4 (226/6668) |
| Testauspaikka | | |
| 1 | 41,5 (134/323) | 3,7 (304/8286) |
| 2 | 43,1 (137/318) | 9,2 (118/1285) |
| 3 | 42,2 (133/315) | 7,0 (90/1289) |

E/S = ei sovellu

Aptima HPV Assayn kliininen tutkimusasetelma ThinPrep-nestesytologianäytteillä

Aptima HPV Assay Panther Systemillä arvioitiin käyttäen ylitse jääneitä lähetesyttologianäytteitä jotka oli kerätty naisilta heidän suostumuksellaan Yhdysvalloissa prospektiivisessä kliinisessä monikeskustutkimuksessa, joka tunnetaan nimellä CLEAR-tutkimus.³⁴

CLEAR-tutkimus - alkuarviointi

CLEAR-tutkimuksessa määritettiin Aptima HPV assayn kliinistä suorituskykyä kohdunkaulan intraepiteliaalisen neoplasian tason 2 tai vakavamman kohdunkaulan taudin (\geq CIN2) tunnistamisessa Tigris DTS System -järjestelmässä. CLEAR-tutkimus sisälsi alkuarvioinnin ja kolmen vuoden seuranta-arvioinnin. Naiset otettiin joko ASC-US-tutkimusryhmään tai NILM-tutkimusryhmään kohdunkaulan syövän rutiiniseulonnan sytologisten tulosten perusteella. ASC-US-tutkimuspopulaatiossa oli 21-vuotiaita ja sitä vanhempia naisia, joilla oli ASC-US-sytologiatuloksia, ja NILM-tutkimuspopulaatiossa oli 30-vuotiaita ja sitä vanhempia naisia, joilla oli NILM-sytologiatuloksia. NILM-tutkimuksen tarkoitus oli tukea lisäseulontatarvetta vähintään 30-vuotiaille naisille, sillä tämän ikäisille naisille, joiden sytologiatulokset ylittävät ASC-US-rajat, tulisi tehdä kolposkopia huolimatta heidän HPV-tilastaan.³⁵

Tutkimukseen otettiin naisia 18 kliinisestä tutkimuspaikasta, pääasiallisesti synnytys- ja naistentautiklinikoilta laajalta maantieteellisestä alueelta ja monipuolisesta populaatiosta. Kriteerit täyttävät naiset nimettiin ASC-US-tutkimukseen tai NILM-tutkimukseen heidän ThinPrep-lähetenesytologianäytteensä perusteella. Alkuarvioinnissa naisilta ASC-US-tutkimuksessa ja NILM-tutkimuksessa jäljelle jääneet lähetepotilasnäytteet testattiin aluksi sekä Aptima HPV assaylla Tigris DTS System -järjestelmää käyttäen että kaupallisesti saatavana olevalla HPV DNA -testillä. Potilasnäytteitä arkistoitiin ja säilytettiin -70 °C:ssa, kunnes ne testattiin Aptima HPV assaylla Panther System -järjestelmää käyttäen.

CLEAR-tutkimuksen alkuarvioinnissa (alkuarviointivaihe) kaikki ASC-US-tutkimuksen naiset lähetettiin kolposkopiaan huolimatta heidän HPV-testituloksistaan. Kohdunkaulansisäinen kaavintanäyte (Endocervical Curettage, ECC) ja kohdunkaulan koepalabiopsia (1 biopsia kustakin 4 neljänneksestä) otettiin. Jos leesio oli näkyvässä, siitä otettiin koepala (suora menetelmä, 1 biopsia leesiota kohti) ja neljänneksistä, jossa leesioita ei ollut näkyvässä, otettiin biopsianäyte levy- ja lieriöepiteelin yhtymäkohdasta (satunnainen menetelmä).

NILM-tutkimuksessa Aptima HPV assayssa Tigris DTS System -järjestelmää käyttäen ja/tai kaupallisesti saatavilla olevassa HPV DNA -testissä positiiviset naiset sekä satunnaisesti valitut naiset, joiden tulokset olivat negatiiviset kummassakin määrittämisessä, lähetettiin kolposkopiaan lähtöarvon arviointia varten. Satunnaisesti valitut naiset, joiden tulokset olivat negatiiviset kummassakin määrittämisessä, otettiin mukaan korjaamaan useilla eri imputaatiomenetelmillä säädettyjen suorituskykyarvioiden varmennusharhaa. ECC-biopsia otettiin kustakin kolposkopiaan osallistuneesta naisesta. Koepalabiopsia otettiin vain näkyvästä leesioista (suora menetelmä, 1 biopsia leesiota kohti).

Taudin tila määritettiin yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin toimesta, jossa vähintään 2 asiantuntijapatologia olivat samaa mieltä. Asiantuntijapatologit sokkoutettiin naisen HPV-tilan osalta. Heidät sokkoutettiin myös sytologiatilan sekä toistensa histologiadiagnoosien osalta. Mikäli kaikki kolme patologia olivat eri mieltä, he tutkivat kuvia mikroskooppilla saavuttaakseen yksimielisyyden. Harhaa vältettiin sokkouttamalla tutkijat, klinikot ja naiset HPV-testituloksen osalta siihen asti, kunnes kolposkopiakäynti oli tehty.

Alkuarvioinnissa Aptima HPV Assayn kliininen suorituskyky määritettiin \geq CIN2:n ja kohdunkaulan intraepiteliaalisen neoplasian asteen 3 tai vakavamman kohdunkaulan taudin (\geq CIN3) tunnistamisen osalta suhteessa kohdunkaulasairaustilaan joka oli määritetty alkuarvioinnissa. Kaupallisesti saatavilla olevan HPV DNA -testin kliininen suorituskyky arvioitiin myös verrattuna suoraan Aptima HPV assayn tuloksiin.

CLEAR-tutkimus - seuranta-arviointi

Naiset NILM-tutkimuksesta 14 kliinisestä testipaikasta soveltuivat osallistumaan tutkimuksen kolmivuotiseen seurantavaiheeseen jos: i) heillä oli ollut kolposkopiakäynti alkuarvioinnissa ja heillä ei ollut \geq CIN2, tai ii) heillä ei ollut kolposkopiakäyntiä alkuarvioinnissa. Tutkimuksen seurantavaihe koostui vuosittaisista käynneistä. Näillä käynneillä naisille suoritettiin näytteenotto kohdunkaulasta sytologiaa varten, ja osa naisista testattiin myös kaupallisesti saatavilla olevalla HPV-testillä. Naiset, joilla oli ASC-US tai vakavammat sytologiatulokset seurantajakson aikana, ohjattiin kolposkopiaan käyttäen samoja biopsia- ja histologiatutkimusproseduureja, joita käytettiin NILM-tutkimuksen alkuarvioinnissa. Kohdunkaulatauti seurantakäynnillä katsottiin "negatiiviseksi" perustuen NILM-sytologiaan tai naisilla joiden sytologiatulokset olivat epänormaalit, perustuen normaaleihin tai CIN1 yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin tuloksiin. Naisten joilla todettiin \geq CIN2 seurantajakson aikana katsottiin läpäisseen seurannan ja heillä ei ollut käyntejä sen jälkeen kun \geq CIN2 havaittiin. Naisten joilla ei todettu \geq CIN2 seurantajakson aikana mutta jotka kävivät tutkimuskäynnillä seurantavuonna 1 ja/tai seurantavuonna 2, ja jotka kävivät tutkimuskäynnillä seurantavuonna 3 katsottiin myös läpäisseen seurannan.

Seurantatutkimuksen tavoite oli verrata kumulatiivista kolmen vuoden kohdunkaulasairausriskiä naisilla joiden alkuarvioinnin Aptima HPV Assay -tulos oli positiivinen niiden naisten kumulatiiviseen kolmen vuoden kohdunkaulasairausriskiin joiden alkuarvioinnin Aptima HPV Assay -tulos oli negatiivinen. Kolmen vuoden kohdunkaulatauti määritettiin seuraavasti:

- Positiivinen kohdunkaulatauti (\geq CIN2 and/or \geq CIN3) - Naiset joilla todettiin \geq CIN2 alkuarvioinnissa tai seurannassa.
- Negatiivinen kohdunkaulatauti (<CIN2) - Naiset jotka läpäisivät seurannan ilman että heillä todettiin \geq CIN2 ja joiden kohdunkaulatauti ei katsottu olevan "määrittelemätön".
- Määrittelemätön kohdunkaulatauti - Naiset joiden sytologiatestitulokset olivat epänormaalit seurannan aikana ja joilla ei ollut sen jälkeistä yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin tulosta, tai naiset joiden sytologia viimeisellä käynnillä ei ollut riittävä.
- Kadonneet seurannan aikana - Naiset jotka eivät läpäisseet seurantaa ja joiden kohdunkaulatauti ei katsottu olevan "määrittelemätön".

Aptima HPV Assayn kliininen tehokkuus \geq CIN2 ja \geq CIN3 toteamisessa Panther System -järjestelmässä arvioitiin suhteessa kolmen vuoden kohdunkaulatautiin.

Panther System -järjestelmän määrittämisen suorituskyky

ASC-US ≥ 21-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn kliininen suorituskyky

Yhteensä 1 252 naista, jotka olivat vähintään 21-vuotiaita ja joilla oli ASC-US-sytologiatulokset, otettiin mukaan ASC-US-tutkimukseen, ja näistä 294 naista keskeyttivät. Loput 958 naista täyttivät testauskriteerit Panther System -järjestelmällä. Kahdella naisella oli puuttuvia näytteitä ja 19 naisella oli määrittämätön taudin diagnoosi. Kaikki poissuljettiin analyysistä. Loput 937 arvioitavaa naista olivat vähintään 21-vuotiaita ja heillä oli ASC-US-sytologiatulokset, Aptima HPV assayn tulokset Panther System -järjestelmää käyttäen ja vakuuttava taudin tila. Yhdeksälläkymmenellä yhdellä (91) naisella oli ≥CIN2 ja neljälläkymmenellä yhdellä (41) oli ≥CIN3. ≥CIN2- ja ≥CIN3-esiintyvyyden arvioitavilla naisilla ASC-US-sytologiatuloksissa oli vastaavasti 9,7 % ja 4,4 %. Aptima HPV assayn tulokset yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin diagnoosin perusteella esitetään taulukossa 40.

Taulukko 40: ASC-US ≥ 21-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn tulokset yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin diagnoosin perusteella

| Aptima HPV Assayn tulos* | HPV DNA -testi | Yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin diagnoosi | | | | | | |
|--------------------------|----------------|--|----------|------|------|------|-------|----------|
| | | Määrittämätön** | Normaali | CIN1 | CIN2 | CIN3 | Syöpä | Yhteensä |
| Positiivinen | Positiivinen | 6 | 178 | 110 | 40 | 32 | 1 | 367 |
| Positiivinen | Negatiivinen | 0 | 5 | 2 | 0 | 2 | 0 | 9 |
| Positiivinen | Ei tulosta*** | 0 | 15 | 11 | 0 | 2 | 0 | 28 |
| Negatiivinen | Positiivinen | 0 | 39 | 15 | 3 | 3 | 0 | 60 |
| Negatiivinen | Negatiivinen | 10 | 372 | 53 | 7 | 1 | 0 | 443 |
| Negatiivinen | Ei tulosta*** | 3 | 39 | 7 | 0 | 0 | 0 | 49 |
| Yhteensä | | 19 | 648 | 198 | 50 | 40 | 1**** | 956 |

*Kaikilla näytteillä oli lopulliset validit tulokset (ensimmäisessä testauksessa tai kun ensimmäiset toimenpidekohtaiset invalidit oli ratkaistu).

**19 tutkittavaa osallistuivat kolposkopiakäyntiin, mutta diagnoosia ei voitu määrittää seuraavista syistä: < 5 biopsiapotilasnäytettä otettu, joiden kaikkien histologiatulos normaali/CIN1 (n=15), ei biopsianäytteitä otettu (n=3) ja biopsianäytteet hukattu (n=1).

***Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 77 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrä.

****Yhdellä tutkittavalla oli adenokarsinoma in situ (AIS).

Aptima HPV assayn kliiniset suorituskykyarvioinnit mukaan lukien herkkyys, spesifisyys, positiivinen prediktioarvo (positive predictive value, PPV) ja negatiivinen prediktioarvo (negative predictive value, NPV) ≥CIN2:n ja ≥CIN3:n tunnistamisessa kaikkien biopsiarviointien osalta mukaan lukien vain ohjatut biopsiat on esitetty taulukossa 41, samoin kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin arviot.

Taulukko 41: ASC-US ≥ 21-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin suorituskyky ≥CIN2- ja ≥CIN3-tunnistuksessa

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

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 74 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrää.

**Yksimielinen histologiatulos saatiin käyttämällä vain suorien biopsioiden tuloksia. Naiset, joille ei tehty ohjattuja biopsioita, edustavat normaalia kolposkopiaa ja on sisällytetty näihin analyyseihin taudittomina (<CIN2 tai <CIN3, kuten asianmukaista). Yksimielisyyttä ei aina saavutettu, kun vain ohjatut biopsiat otettiin mukaan.

Kun kaikkia biopsioita arvioitiin, Aptima HPV assayn ja kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin kliiniset herkkyysarviot tilanteissa, joissa molemmat määrittelytulokset olivat saatavana \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n tunnistamiseen, olivat samanlaiset (herkkyysarvioiden erot eivät olleet tilastollisesti merkittäviä). \geq CIN2:n osalta herkkyysero oli -4,5 % (95 % CI: -12,2 %, 2,5 %). Aptima HPV assayn kliiniset spesifisyysarviot \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n tunnistamiseen olivat korkeammat kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin (erot spesifisyysarvioissa olivat tilastollisesti merkittäviä). \geq CIN2:n osalta spesifisyysero oli 6,1 % (95 % CI: 4,2 %, 8,2 %). NPVt olivat samanlaiset lukuunottamatta \geq CIN2:n tunnistamista ja Aptima HPV assayn PPV oli hieman korkeampi kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin (19,3 % vs. 18,8 %).

Yhteensä 91 \geq CIN2-tapauksesta 60 tapausta (65,9 %) tunnistettiin ohjatuissa biopsioissa ja 31 tapausta (34,1 %) tunnistettiin satunnaisista ja/tai ECC-biopsioista (ts. ei ohjatuista biopsioista). Nämä löydökset ovat verrattavissa julkaistuihin tutkimuksiin, joissa noin 25–40 % \geq CIN2-tapauksista tunnistettiin vain satunnaisista ja/tai ECC-biopsioista.^{36,37} Kun taudin tila määritetään vain ohjatun biopsian perusteella (edellyttäen, että naisilla, joille ei tehty ohjattua biopsiaa, oli normaalit histologiatulokset siitä syystä, ettei näkyviä leesioita esiintynyt), \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n esiintyvyys tutkimuksessa oli vastaavasti 6,4 % ja 3,1 %. Kliiniset herkkyysarviot \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n tunnistamiseen olivat korkeammat molemmissa testeissä käytettäessä vain ohjattuja biopsioita kuin arvioissa, jotka laskettiin käyttäen kaikkia biopsioita. Molemmissa määrittelyissä kliininen spesifisyys käyttäen vain ohjattuja biopsioita oli samanlainen kuin spesifisyys joka saatiin, kun kaikki biopsiat otettiin mukaan. Samoin kun käytettiin vain ohjattuja biopsioita, Aptima HPV assayn spesifisyys oli merkittävästi korkeampi kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin.

Aptima HPV assayn ja kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin kliiniset suorituskykyarviot esitetään ikäryhmittäin taulukossa 42 ja taulukossa 43 (\geq CIN2 ja \geq CIN3 vastaavasti kaikkien biopsioiden arviointiin perustuen).

Taulukko 42: ASC-US ≥ 21-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin suorituskyky ≥CIN2-tunnistuksessa ikäryhmittäin

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

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 74 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrä.

Taulukko 43: ASC-US ≥ 21-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin suorituskyky ≥CIN3-tunnistuksessa ikäryhmittäin

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

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 74 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrä.

Taudin absoluuttinen riski (\geq CIN2 ja \geq CIN3, kaikkien biopsioiden arviointiin perustuen) Aptima HPV assayn tuloksen perusteella ja taudin suhteellinen riski Aptima HPV assayn positiivisen vs. negatiivisen tuloksen perusteella esitetään taulukossa 44 samoin kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin arviot. \geq CIN2:n suhteellinen riski oli 7,4 (95 % CI: 4,3, 13,0), mikä osoittaa, että naisella, jonka Aptima HPV assayn tulos oli positiivinen, oli 7,4 kertaa yhtä todennäköinen mahdollisuus olla \geq CIN2 kuin naisella, jonka Aptima HPV assayn tulos oli negatiivinen. \geq CIN3:n suhteellinen riski oli 12,5 (95 % CI: 4,5, 34,9).

Taulukko 44: ASC-US \geq 21-vuotiaiden populaatio: \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n absoluuttiset ja suhteelliset riskit Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin tulosten perusteella

| | Määrittystulos | Aptima HPV Assay N=937 | | HPV DNA -testi N=863* | |
|-------------|------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) |
| \geq CIN2 | Positiivinen | 19,3 (77/398) (17,3, 21,2) | 7,4 (4,3, 13,0) | 18,8 (79/421) (17,0, 20,4) | 8,3 (4,4, 15,8) |
| | Negatiivinen | 2,6 (14/539) (1,5, 4,0) | | 2,3 (10/442) (1,2, 3,8) | |
| | Esiintyvyyys (%) | 9,7 (91/937) | | 10,3 (89/863) | |
| \geq CIN3 | Positiivinen | 9,3 (37/398) (8,0, 10,3) | 12,5 (4,5, 34,9) | 8,6 (36/421) (7,4, 9,4) | 12,6 (3,9, 40,6) |
| | Negatiivinen | 0,7 (4/539) (0,2, 1,7) | | 0,7 (3/442) (0,2, 1,7) | |
| | Esiintyvyyys (%) | 4,4 (41/937) | | 4,5 (39/863) | |

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 74 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapöytäselvitystä ei ollut riittävä määrä.

Taudin absoluuttiset ja suhteelliset riskiarviot (\geq CIN2 ja \geq CIN3, kaikkien biopsioiden arviointiin perustuen) Aptima HPV assayn ja kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin osalta esitetään ikäryhmittäin taulukossa 45.

Taulukko 45: ASC-US \geq 21-vuotiaiden populaatio: \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n absoluuttiset ja suhteelliset riskit Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin tulosten perusteella ikäryhmittäin

| | Ikä | Määrittystulos | Aptima HPV Assay N=937 | | HPV DNA -testi N=863* | |
|-------------|------------------|------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | | | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) |
| \geq CIN2 | 21–29 vuotta | | N=415 | | N=389 | |
| | | Positiivinen | 21,7 (54/249) (19,3, 23,9) | 5,1 (2,4, 11,0) | 20,8 (56/269) (19,0, 22,5) | 8,3 (2,7, 26,1) |
| | | Negatiivinen | 4,2 (7/166) (1,9, 7,7) | | 2,5 (3/120) (0,6, 6,4) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 9,7 (61/415) | | 15,2 (59/389) | |
| | 30–39 vuotta | | N=261 | | N=238 | |
| | | Positiivinen | 17,3 (17/98) (13,1, 21,1) | 9,4 (2,8, 31,3) | 16,2 (16/99) (11,8, 19,8) | 5,6 (1,9, 16,3) |
| | | Negatiivinen | 1,8 (3/163) (0,4, 4,3) | | 2,9 (4/139) (0,9, 5,9) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 7,7 (20/261) | | 8,4 (20/238) | |
| | \geq 40 vuotta | | N=261 | | N=236 | |
| | | Positiivinen | 11,8 (6/51) (5,6, 17,7) | 6,2 (1,8, 21,1) | 13,2 (7/53) (6,9, 18,7) | 8,1 (2,2, 30,1) |
| | | Negatiivinen | 1,9 (4/210) (0,6, 3,4) | | 1,6 (3/183) (0,4, 3,4) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 3,8 (10/261) | | 4,2 (10/236) | |
| \geq CIN3 | 21–29 vuotta | | N=415 | | N=389 | |
| | | Positiivinen | 10,4 (26/249) (9,0, 11,5) | 17,3 (2,4, 127) | 9,3 (25/269) (8,2, 10,0) | Ei laskettavissa |
| | | Negatiivinen | 0,6 (1/166) (0,0, 2,8) | | 0,0 (0/120) (0,0, 2,5) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 6,5 (27/415) | | 6,4 (25/389) | |
| | 30–39 vuotta | | N=261 | | N=238 | |
| | | Positiivinen | 8,2 (8/98) (5,0, 10,1) | 13,3 (1,7, 105) | 7,1 (7/99) (4,0, 9,2) | 4,9 (1,0, 23,2) |
| | | Negatiivinen | 0,6 (1/163) (0,0, 2,4) | | 1,4 (2/139) (0,2, 3,6) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 3,4 (9/261) | | 3,8 (9/238) | |
| | \geq 40 vuotta | | N=261 | | N=236 | |
| | | Positiivinen | 5,9 (3/51) (1,6, 9,7) | 6,2 (1,1, 36,0) | 7,5 (4/53) (2,9, 10,7) | 13,8 (1,6, 121) |
| | | Negatiivinen | 1,0 (2/210) (0,1, 2,0) | | 0,5 (1/183) (0,0, 1,8) | |
| | | Esiintyvyyys (%) | 1,9 (5/261) | | 2,1 (5/236) | |

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 74 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapöytänäytettä ei ollut riittävä määrä.

NILM ≥ 30-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn kliininen suorituskyky ThinPrep-nestesytologianäytteillä alkuarvioinnissa

Yhteensä NILM-sytologiatuloksia oli 11 644 naisella, jotka osallistuivat NILM-tutkimukseen, näistä 773 naista keskeyttivät. Loput 10 871 naista täyttivät testauskriteerit Panther System -järjestelmällä. Yhdellätoista naisella oli puuttuvia näytteitä ja heidät poissuljettiin Aptima HPV Assayn alkuarvioinnista Panther System -järjestelmällä. Jäljelle jääneet 10 860 arvioitavaa naista olivat 30-vuotiaita tai sitä vanhempia ja heillä oli sekä NILM-sytologiatulokset että Aptima HPV assayn tulokset Panther System -järjestelmää käyttäen. Panther System -järjestelmällä saadun positiivisen Aptima HPV assayn tuloksen omaavista 512 naisesta 284 naiselle tehtiin kolposkopia alkuarvioinnissa. Negatiivisen Aptima HPV assayn tuloksen omaavista 10 348 naisesta 580 naiselle tehtiin kolposkopia alkuarvioinnissa. Kahdellakymmenellä (20) naisella oli ≥CIN2 ja yhdellätoista (11) oli ≥CIN3; 798 naisella oli normaali/CIN1-histologia, 46 naisella oli määrittämätön taudin tila. Aptima HPV assayn tulokset Panther System -järjestelmällä yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin diagnoosin perusteella alkuarvioinnissa esitetään taulukossa 46.

Taulukko 46: NILM ≥ 30-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin tulokset yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin diagnoosin perusteella alkuarvioinnissa

| Aptima HPV Assayn tulos* | HPV DNA -testi | Yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin diagnoosi | | | | | | |
|--------------------------|----------------|--|----------|------|------|------|-------|----------|
| | | Määrittämätön** | Normaali | CIN1 | CIN2 | CIN3 | Syöpä | Yhteensä |
| Positiivinen | Positiivinen | 11 | 211 | 12 | 4 | 7 | 2 | 247 |
| Positiivinen | Negatiivinen | 2 | 19 | 0 | 0 | 0 | 1 | 22 |
| Positiivinen | Ei tulosta*** | 2 | 12 | 1 | 0 | 0 | 0 | 15 |
| Negatiivinen | Positiivinen | 10 | 170 | 7 | 2 | 1 | 0 | 190 |
| Negatiivinen | Negatiivinen | 20 | 353 | 9 | 2 | 0 | 0 | 384 |
| Negatiivinen | Ei tulosta*** | 1 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 6 |
| Yhteensä | | 46 | 769 | 29 | 9 | 8 | 3**** | 864 |

*Kaikilla näytteillä oli lopulliset validit tulokset (ensimmäisessä testauksessa tai kun ensimmäiset toimenpidekohtaiset invalidit oli ratkaistu).

**46 tutkittavaa osallistuivat kolposkopiakäyntiin, mutta diagnoosia ei voitu määrittää seuraavista syistä: biopsiapotilasnäytteiden määritettiin olevat riittämättömät (n=29), biopsianäytteitä ei otettu (n=15) ja biopsianäytteet hukattiin (n=2).

***Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 21 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrä.

****Kolmella naisella oli adenokarsinoma in situ (AIS).

Yhteensä 10 042 naisella oli vahvistamaton (mukaan lukien määrittämätön) taudin tila alkuarvioinnissa (taulukko 47). Koska kolposkopiaan lähetettiin vain ne satunnaisesti valitut naiset, joilla oli negatiivinen tulos sekä Aptima HPV assayssa Tigris DTS System -järjestelmää käyttäen että kaupallisesti saatavana olevassa HPV DNA -testissä, tässä ryhmässä olevien vahvistamattoman taudin tilan omaavien naisten määrä oli suuri (96,6 %). Tämän varmennusharhan säätämiseen käytettiin imputaatiomenetelmää, jolla arvioitiin niiden naisten määrän arvio, joiden tauti olisi tunnistettu, jos kaikille naisille olisi tehty kolposkopia. Sekä varmennusharhasäädetyt suorituskykyarviot että säätämättömät suorituskykyarviot vahvistetun taudin tilan alkuarvioinnissa omaavalta 818 naiselta esitetään.

Taulukko 47: NILM \geq 30-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin tulosten arvioitavien NILM-naisten luokitus, taudin tila (\geq CIN2 ja \geq CIN3) ja taudin varmennustila

| Aptima HPV Assayn tulos* | | HPV DNA -testi | Naisia yhteensä | Varmistettu taudin tila: \geq CIN2 | | Varmistettu taudin tila: \geq CIN3 | | Varmistamaton taudin tila |
|-----------------------------|--------------------------------|----------------|-----------------|--------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|---------------------------|--|
| Panther System -järjestelmä | Tigris DTS System -järjestelmä | | | Sairaat naiset (\geq CIN2) | Ei-sairaat naiset (<CIN2) | Sairaat naiset (\geq CIN3) | Ei-sairaat naiset (<CIN3) | Naiset, joiden taudin tila tuntematon (% tuntematon) |
| Positiivinen | Positiivinen | Positiivinen | 313 | 13 | 189 | 9 | 193 | 111 (35,5 %) |
| Positiivinen | Positiivinen | Negatiivinen | 37 | 1 | 18 | 1 | 18 | 18 (48,6 %) |
| Positiivinen | Positiivinen | Ei tulosta** | 22 | 0 | 13 | 0 | 13 | 9 (40,9 %) |
| Positiivinen | Negatiivinen | Positiivinen | 70 | 0 | 34 | 0 | 34 | 36 (51,4 %) |
| Positiivinen | Negatiivinen | Negatiivinen | 60 | 0 | 1 | 0 | 1 | 59 (98,3 %) |
| Positiivinen | Negatiivinen | Ei tulosta** | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 (100 %) |
| Negatiivinen | Positiivinen | Positiivinen | 46 | 0 | 33 | 0 | 33 | 13 (28,3 %) |
| Negatiivinen | Positiivinen | Negatiivinen | 113 | 1 | 41 | 0 | 42 | 71 (62,8 %) |
| Negatiivinen | Positiivinen | Ei tulosta** | 8 | 0 | 4 | 0 | 4 | 4 (50,0 %) |
| Negatiivinen | Negatiivinen | Positiivinen | 236 | 3 | 144 | 1 | 146 | 89 (37,7 %) |
| Negatiivinen | Negatiivinen | Negatiivinen | 9354 | 1 | 321 | 0 | 322 | 9032 (96,6 %) |
| Negatiivinen | Negatiivinen | Ei tulosta** | 591 | 1 | 0 | 0 | 1 | 590 (99,8 %) |
| Yhteensä | | | 10 860 | 20 | 798 | 11 | 807 | 10 042 (92,5 %) |

*Kaikilla näytteillä oli lopulliset tulokset (ensimmäisessä testauksessa tai kun ensimmäiset toimenpidekohtaiset invalidit oli ratkaistu).

**Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 631 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrä.

Säädetty \geq CIN2- ja \geq CIN3-esiintyvyys naisilla NILM-sytologiatuloksissa oli vastaavasti 0,9 % ja 0,4 %. Säädetyt absoluuttiset ja suhteelliset riskiarviot \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n tunnistamiseen alkuarvioinnissa esitetään taulukossa 48. \geq CIN2:n säädetty suhteellinen riski oli 7,5 (95 % CI: 2,1, 26,3), mikä osoittaa, että naisella, jonka Aptima HPV assayn tulos oli positiivinen, on 7,5 kertaa yhtä todennäköinen mahdollisuus olla \geq CIN2 kuin naisella, jonka Aptima HPV assayn tulos oli negatiivinen. \geq CIN3:n säädetty suhteellinen riski oli 24,9 (95 % CI: 2,0, 307,0). Säättämättömät absoluuttiset ja suhteelliset riskit \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n tunnistamiseen alkuarvioinnissa yleensä esitetään taulukossa 51 ja ikäryhmittäin taulukossa 52.

Taulukko 48: NILM \geq 30-vuotiaiden populaatio: \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n absoluuttiset ja suhteelliset riskit Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin tulosten perusteella alkuarvioinnissa (varmennusharhasäädetyt arviot)

| | Määrittystulos | Aptima HPV Assay | | HPV DNA -testi | |
|-------------|-----------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| | | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) |
| \geq CIN2 | Positiivinen | 4,5 (2,7, 7,4) | 7,5 (2,1, 26,3) | 3,7 (2,3, 6,1) | 7,3 (1,6, 33,5) |
| | Negatiivinen | 0,6 (0,2, 1,9) | | 0,5 (0,1, 2,1) | |
| | Esiintyvyys (%) | 0,9 | | 0,9 | |
| \geq CIN3 | Positiivinen | 3,0 (1,6, 5,5) | 24,9 (2,0, 307,0) | 2,3 (1,3, 4,1) | 21,0 (1,0, 423,8) |
| | Negatiivinen | 0,1 (0,0, 1,7) | | 0,1 (0,0, 2,4) | |
| | Esiintyvyys (%) | 0,4 | | 0,4 | |

Taulukko 49: NILM \geq 30-vuotiaiden populaatio: \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n absoluuttiset ja suhteelliset riskit Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin tulosten perusteella alkuarvioinnissa (säättämättömät arviot)

| | Määrittystulos | Aptima HPV Assay N=818 | | HPV DNA -testi N=800* | |
|-------------|-----------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| | | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) |
| \geq CIN2 | Positiivinen | 5,2 (14/269) (3,5, 6,6) | 4,8 (1,9, 12,3) | 3,8 (16/416) (2,9, 4,5) | 4,9 (1,4, 16,8) |
| | Negatiivinen | 1,1 (6/549) (0,5, 1,9) | | 0,8 (3/384) (0,2, 1,9) | |
| | Esiintyvyys (%) | 2,4 (20/818) | | 2,4 (19/800) | |
| \geq CIN3 | Positiivinen | 3,7 (10/269) (2,5, 4,3) | 20,4 (2,6, 159) | 2,4 (10/416) (1,6, 2,7) | 9,2 (1,2, 71,8) |
| | Negatiivinen | 0,2 (1/549) (0,0, 0,8) | | 0,3 (1/384) (0,0, 1,1) | |
| | Esiintyvyys (%) | 1,3 (11/818) | | 1,4 (11/800) | |

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 18 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrä.

Taulukko 50: NILM \geq 30-vuotiaiden populaatio: \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n absoluuttiset ja suhteelliset riskit Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin tulosten perusteella ikäryhmittäin alkuarvioinnissa (säättämättömät arviot)

| | Ikä | Määrittystulos | Aptima HPV Assay N=818 | | HPV DNA -testi N=800* | |
|-----------------|------------------|---------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | | | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) | Absoluuttinen riski (95 % CI) | Suhteellinen riski (95 % CI) |
| \geq CIN2 | 30–39 vuotta | | N=383 | | N=376 | |
| | | Positiivinen | 4,6 (7/153) (2,5, 5,9) | 5,3 (1,1, 25,0) | 3,3 (7/215) (1,8, 4,1) | 2,6 (0,6, 12,4) |
| | | Negatiivinen | 0,9 (2/230) (0,1, 2,2) | | 1,2 (2/161) (0,2, 3,2) | |
| | | Esiintyvyys (%) | 2,3 (9/383) | | 2,4 (9/376) | |
| | \geq 40 Vuotta | | N=435 | | N=424 | |
| | | Positiivinen | 6,0 (7/116) (3,2, 8,5) | 4,8 (1,4, 16,1) | 4,5 (9/201) (2,9, 5,3) | 10,0 (1,3, 78,1) |
| Negatiivinen | | 1,3 (4/319) (0,4, 2,3) | 0,4 (1/223) (0,0, 1,8) | | | |
| Esiintyvyys (%) | 2,5 (11/435) | | 2,4 (10/424) | | | |
| \geq CIN3 | 30–39 vuotta | | N=383 | | N=376 | |
| | | Positiivinen | 3,3 (5/153) (1,6, 4,1) | 7,5 (0,9, 63,7) | 2,3 (5/215) (1,1, 2,9) | 3,7 (0,4, 31,7) |
| | | Negatiivinen | 0,4 (1/230) (0,0, 1,6) | | 0,6 (1/161) (0,0, 2,2) | |
| | | Esiintyvyys (%) | 1,6 (6/383) | | 1,6 (6/376) | |
| | \geq 40 vuotta | | N=435 | | N=424 | |
| | | Positiivinen | 4,3 (5/116) (2,2, 5,1) | Ei laskettavissa | 2,5 (5/201) (1,3, 2,8) | Ei laskettavissa |
| Negatiivinen | | 0,0 (0/319) (0,0, 0,8) | 0,0 (0/223) (0,0, 1,1) | | | |
| Esiintyvyys (%) | 1,1 (5/435) | | 1,2 (5/424) | | | |

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 18 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapöytänäytettä ei ollut riittävää määrää.

Säädetyt kliiniset Aptima HPV assayn suorituskykyarviot mukaan lukien herkkyys, spesifisyys, PPV ja NPV \geq CIN2:n ja \geq CIN3:n tunnistamiseen alkuarvioinnissa esitetään taulukossa 51, samoin kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin arviot. Säätämättömät kliiniset suorituskykyarviot esitetään taulukossa 52. Aptima HPV assaylla ja kaupallisesti saatavana olevalla HPV DNA -testillä oli samanlainen herkkyys, kun taas Aptima HPV assayn spesifisyys oli merkittävästi korkeampi (ei-päällekkäiset 95 %:n CI:t). Aptima HPV assayn prediktivisen arvon arviot olivat kliinisesti asiaankuuluvia ja samanlaisia kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin. NPV:t olivat samanlaiset lukuunottamatta \geq CIN2:n tunnistamista ja Aptima HPV assayn PPV oli hieman korkeampi kuin kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin (4,5 % vs. 3,7 %).

Taulukko 51: NILM \geq 30-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin suorituskyky \geq CIN2- ja \geq CIN3-tunnistuksessa alkuarvioinnissa (varmennusharhasäädetyt arviot)

| | Suorituskyky | Aptima HPV Assay | | HPV DNA -testi | |
|-------------|-----------------|------------------|--------------|----------------|--------------|
| | | Arvio | (95 % CI) | Arvio | (95 % CI) |
| \geq CIN2 | Herkkyys (%) | 28,4 | (4,9, 51,8) | 35,4 | (3,8, 66,9) |
| | Spesifisyys (%) | 95,5 | (95,1, 95,9) | 93,7 | (93,2, 94,2) |
| | PPV (%) | 4,5 | (2,7, 7,4) | 3,7 | (2,3, 6,1) |
| | NPV (%) | 99,4 | (98,1, 99,8) | 99,5 | (97,9, 99,9) |
| | Esiintyvyys (%) | 0,9 (0,0, 1,9) | | 0,9 (0,0, 1,9) | |
| \geq CIN3 | Herkkyys (%) | 54,0 | (3,6, 100) | 56,4 | (0,4, 100) |
| | Spesifisyys (%) | 95,4 | (95,0, 95,8) | 93,6 | (93,1, 94,1) |
| | PPV (%) | 3,0 | (1,6, 5,5) | 2,3 | (1,3, 4,1) |
| | NPV (%) | 99,9 | (98,3, 100) | 99,9 | (97,6, 100) |
| | Esiintyvyys (%) | 0,4 (0,0, 1,2) | | 0,4 (0,0, 1,3) | |

Taulukko 52: NILM ≥ 30-vuotiaiden populaatio: Aptima HPV Assayn ja HPV DNA -testin suorituskyky ≥CIN2- ja ≥CIN3-tunnistuksessa alkuarvioinnissa (säättämättömät arviot)

| | Suorituskyky | Aptima HPV Assay N=818 | | HPV DNA -testi N=800* | |
|-------|-------------------------|---------------------------|--------------|--------------------------|--------------|
| | | Arvio | (95 % CI) | Arvio | (95 % CI) |
| ≥CIN2 | Herkkyys (%) | 70,0 (14/20) | (48,1, 85,5) | 84,2 (16/19) | (62,4, 94,5) |
| | Spesifisyys (%) | 68,0 (543/798) | (64,7, 71,2) | 48,8 (381/781) | (45,3, 52,3) |
| | PPV (%) | 5,2 (14/269) | (3,5, 6,6) | 3,8 (16/416) | (2,9, 4,5) |
| | NPV (%) | 98,9 (543/549) | (98,1, 99,5) | 99,2 (381/384) | (98,1, 99,8) |
| | Esiintyvyyys (%) | 2,4 (20/818) | | 2,4 (19/800) | |
| ≥CIN3 | Herkkyys (%) | 90,9 (10/11) | (62,3, 98,4) | 90,9 (10/11) | (62,3, 98,4) |
| | Spesifisyys (%) | 67,9 (548/807) | (64,6, 71,0) | 48,5 (383/789) | (45,1, 52,0) |
| | PPV (%) | 3,7 (10/269) | (2,5, 4,3) | 2,4 (10/416) | (1,6, 2,7) |
| | NPV (%) | 99,8 (548/549) | (99,2, 100) | 99,7 (383/384) | (98,9, 100) |
| | Esiintyvyyys (%) | 1,3 (11/818) | | 1,4 (11/800) | |

*Aptima HPV assayn tulokset omaavista naisista 18 naisella ei ollut HPV DNA -testituloksia pääasiassa siitä syystä, että sytologiapotilasnäytettä ei ollut riittävä määrä.

Aptima HPV Assayn Panther-järjestelmässä ja kaupallisesti saatavana olevan HPV DNA -testin suora vertailu osoittaa samanlaista herkkyyttä ja tilastollisesti merkittävää Aptima HPV Assayn parempaa spesifisyyttä verrattuna kaupallisesti saatavana olevaan HPV DNA -testiin \geq CIN2:n tunnistamisessa, kuten todellisten positiivisten ja virheellisten positiivisten lukujen suhde osoittaa (vastaavasti taulukossa 53 ja taulukossa 54).

Taulukko 53: NILM \geq 30-vuotiaiden populaatio: Todellisten positiivisten lukujen suhde (Aptima HPV Assay/HPV DNA -testi) naisilla, joilla on \geq CIN2 alkuarvioinnissa (säättämättömät arviot)

| | | HPV DNA -testi | | Yhteensä |
|--|--------------|----------------|--------------|-------------|
| | | Positiivinen | Negatiivinen | |
| Aptima HPV Assay | Positiivinen | 13 | 1 | 14 (73,7 %) |
| | Negatiivinen | 3 | 2 | 5 |
| | Yhteensä | 16 (84,2 %) | 3 | 19 |
| Todellisten positiivisten lukujen suhde = 0,88 (14/16) (95 % CI: 0,65, 1,10) | | | | |

Taulukko 54: NILM \geq 30-vuotiaiden populaatio: Virheellisten positiivisten lukujen suhde (Aptima HPV Assay/HPV DNA -testi) naisilla, joilla on $<$ CIN2 alkuarvioinnissa (säättämättömät arviot)

| | | HPV DNA -testi | | Yhteensä |
|--|--------------|----------------|--------------|--------------|
| | | Positiivinen | Negatiivinen | |
| Aptima HPV Assay | Positiivinen | 223 | 19 | 242 (31,0 %) |
| | Negatiivinen | 177 | 362 | 539 |
| | Yhteensä | 400 (51,2 %) | 381 | 781 |
| Virheellisten positiivisten lukujen suhde = 0,61 (242/400) (95 % CI: 0,55, 0,66) | | | | |

Yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin tulosta Aptima HPV Assayn kliininen tehokkuus Panther System -järjestelmässä kolmen vuoden seurannan jälkeen

Seurantavaiheeseen soveltuvia 30-vuotiaita ja sitä vanhempia naisia joilla oli NILM-sytologiatulokset ja validit Aptima HPV Assay -tulokset Panther System -järjestelmällä alkuarvioinnissa oli 10 843. Naisista joilla ei oltu todettu \geq CIN2, 67,0% (7 247/10 823) suoritti vuoden 1, 60,3% (6 517/10 814) vuoden 2 ja 58,7% (6 339/10 807) vuoden 3 PAP-seurantakäynnin. Kokonaisuudessaan 58,8% (6 375/10 843) naisista läpäisi tutkimuksen (heillä oli \geq CIN2 alkuarvioinnissa tai seurannan aikana, ja/tai he tekivät vaaditut käynnit).

Näistä 10 843 arviointikelpoisesta naisesta 511:lla (4,7%) oli positiivinen Aptima HPV Assay -tulos Panther System -järjestelmällä alkuarvioinnissa. Näistä 511 naisesta 255:lla (49,9%) oli joko positiivinen tai negatiivinen kolmen vuoden tautitila perustuen sytologia- tai kolposkopia/biopsiatuloksiin. Jäljelle jääneillä 10 322 naisella oli negatiivinen Aptima HPV Assay -tulos Panther System -järjestelmällä alkuarvioinnissa. Näistä 10 322 naisesta 5 946:lla (57,5%) oli joko positiivinen tai negatiivinen kolmen vuoden tautitila. Niistä 6 201 naisesta joilla oli kolmen vuoden tautitila, 47 naisella oli \geq CIN2, mukaan lukien 23 joilla \geq CIN3; 6 154 naisella oli yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin arvioima normaali/CIN1. Alkuarvioinnin

tulokset Aptima HPV Assaylla Panther System -järjestelmässä ja kaupallisesti saatavilla olevalla HPV DNA-testillä, sekä kolmen vuoden tautitila (sisältäen alku- ja seurantaarvioinnin) yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin mukaan on esitetty taulukko 55.

Taulukko 55: NILM \geq 30 vuotiaassa väestössä: Naisten luokittelu seurantavaiheeseen soveltuviksi alkuarvioinnin Aptima HPV Assay -tulosten, alkuarvioinnin HPV DNA-testitulosten ja alkuarvioinnin ja seurantavaiheiden aikana määritetyn tautitilan (\geq CIN2, \geq CIN3, toteamaton) mukaan

| Aptima HPV Assay -tulos | HPV DNA - testi | Naisia yhteensä | Todettu tautitila: \geq CIN2 | | Todettu tautitila: \geq CIN3 | | Toteamaton tautitila | |
|-------------------------|-----------------|-----------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|----------------------------|-------------------|
| | | | Sairastuneet naiset (\geq CIN2) | Ei-sairastuneet naiset (<CIN2) | Sairastuneet naiset (\geq CIN2) | Ei-sairastuneet naiset (<CIN2) | Kadonneet seurannan aikana | Määrittelemätön * |
| Positiivinen | Positiivinen | 382 | 23 | 171 | 16 | 178 | 167 | 21 |
| Positiivinen | Negatiivinen | 97 | 1 | 48 | 1 | 48 | 44 | 4 |
| Positiivinen | Ei tulosta** | 32 | 2 | 10 | 1 | 11 | 17 | 3 |
| Negatiivinen | Positiivinen | 281 | 5 | 129 | 2 | 132 | 130 | 17 |
| Negatiivinen | Negatiivinen | 9 452 | 15 | 5 476 | 3 | 5 488 | 3 756 | 205 |
| Negatiivinen | Ei tulosta** | 599 | 1 | 320 | 0 | 321 | 264 | 14 |
| Yhteensä | | 10 843 | 47 | 6 154 | 23 | 6 178 | 4 378 | 264 |

*Naiset joiden sytologiatestitulokset olivat epänormaalit seurannan aikana ja joilla ei ollut sen jälkeistä yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin tulosta, ja naiset joiden sytologia viimeisellä käynnillä ei ollut riittävä. 174 naista joiden tautitila oli määrittelemätön, suoritti seurannan ohjeiden mukaan.

**631 naista joiden Aptima HPV Assay -tuloksille ei ollut HPV DNA-testituloksia johtuen pääasiassa liian pienestä sytologianäytteestä.

Kolmen vuoden kumulatiivinen tautiriski (\geq CIN2 and \geq CIN3) perustuu Kaplan-Meier arvioon (elinaikataulukkoanalyysi) ja sisältää taudit jotka on todettu alkuarvioinnissa tai seurannassa. Naiset joilla oli jokin merkki taudista (ASC-US tai vakavammat sytologiatulokset) mutta ei yksimielisen histologisen asiantuntijapaneelin tulosta sisällytettiin analyysiin käyttämällä moni-imputointimenetelmää niiden naisten lukumäärän ennustamiseksi, joilta tauti olisi todettu, mikäli he olisivat menneet kolposkopiaan.

Kolmen vuoden kumulatiivinen absoluuttinen ja relatiivinen riskiarvio \geq CIN2 ja \geq CIN3 toteamiselle on esitetty taulukko 56.

Taulukko 56: NILM \geq 30 vuotiaassa väestössä: Kolmen vuoden kumulatiivinen absoluuttinen ja relatiivinen \geq CIN2 ja \geq CIN3 riski* tuloksille Aptima HPV Assaysta ja HPV DNA-testistä alkuarvioinnissa

| | Testitulokset | Aptima HPV Assay | | HPV DNA-testi | |
|-------------|-----------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | | Absoluuttinen riski (95% CI) | Relatiivinen riski (95% CI) | Absoluuttinen riski (95% CI) | Relatiivinen riski (95% CI) |
| \geq CIN2 | Positiivinen | 7,90 (5,50, 11,27) | 24,45 (13,85, 43,15) | 6,43 (4,50, 9,14) | 22,71 (12,20, 42,30) |
| | Negatiivinen | 0,32 (0,21, 0,51) | | 0,28 (0,17, 0,47) | |
| | Esiintyvyys (%) | 0,68 | | 0,68 | |
| \geq CIN3 | Positiivinen | 5,23 (3,34, 8,13) | 57,11 (21,09, 154,62) | 4,14 (2,62, 6,52) | 51,34 (17,74, 148,58) |
| | Negatiivinen | 0,09 (0,04, 0,23) | | 0,08 (0,03, 0,22) | |
| | Esiintyvyys (%) | 0,34 | | 0,35 | |

*Kolmen vuoden kumulatiivinen riskit säädettynä muiden mahdollisten harhojen varalta olivat samankaltaiset tässä talukossa oleviin riskeihin nähden. Johtuen odotetuista eroista riskeissä vuosina 1 ja 2 kahdelle naisryhmälle seurantatutkimuksessa (ne joilla oli kolposkopia alkuarvioinnissa ja ne joilla ei ollut kolposkopiaa alkuarvioinnissa), ilmoitettiin ainoastaan kolmen vuoden kumulatiivinen riski ryhmille yhdessä.

Kolmen vuoden kumulatiivinen \geq CIN2 ja \geq CIN3 esiintyvyys naisilla joilla NILM-sytologiatulokset alkuarvioinnissa olivat järjestyksessä 0,68% ja 0,34%. Relatiivinen \geq CIN2 riski oli 24,45 (95% CI 13,85, 43,15), mikä indikoi että naisella joka on Aptima HPV Assay positiivinen Panther System -järjestelmällä oli 24,45 kertaa suurempi \geq CIN2 todennäköisyys kuin naisella joka on Aptima HPV Assay negatiivinen. Relatiivinen \geq CIN3 riski oli 57,11 (95% CI: 21,09, 154,62).

Aptima HPV Assayn kliininen suorituskyky SurePath-nestesytologianäytteillä

SurePath-nestesytologianäytteet kerättiin kanadalaisilta naisilta (n=558), jotka oli lähetetty seurantaan yhden tai useamman poikkeavan papakokeen, HPV-infektion tai jonkin muun syyn johdosta. Kustakin potilasnäytteestä siirrettiin alikvootti (0,5 ml) Aptima-näytteensiirtoputkeen ja se käsiteltiin sitten Aptima-siirtonesteellä. Kunkin potilasnäytteen yksi replikaatti testattiin Aptima HPV assaylla. Erillinen alikvootti (1 ml) kustakin potilasnäytteestä erotettiin arviointia varten kaupallisesti saatavana olevalla HPV PCR -testillä. Taudin tunnistamisen kliininen herkkyys (määritettynä \geq CIN3:n histologisena tuloksena) laskettiin sekä Aptima HPV assayn että HPV PCR -testin osalta ja tulokset esitetään taulukossa 57, sekä positiiviset että negatiiviset prediktiviset arvot.

Taulukko 57: Aptima HPV Assayn ja HPV PCR -testin suorituskyky \geq CIN3:n tunnistamisessa

| Suorituskyky | Aptima HPV Assay N=558 | | HPV PCR -testi N=558 | |
|------------------------|---------------------------|---------------|-------------------------|---------------|
| | Arvio | (95 % CI) | Arvio | (95 % CI) |
| Herkkyys (%) | 89,3 (25/28) | (72,8 - 96,3) | 89,3 (25/28) | (72,8 - 96,3) |
| Spesifisyys (%) | 58,7 (311/530) | (54,4 - 62,8) | 49,1 (260/530) | (44,8 - 53,3) |
| PPV (%) | 10,2 (25/244) | (8,4 - 11,7) | 8,5 (25/295) | (7,0 - 9,5) |
| NPV (%) | 99,0 (311/314) | (97,6 - 99,8) | 98,9 (260/263) | (97,2 - 99,7) |
| Esiintyvyys (%) | 5,0 (28/558) | | 5,0 (28/558) | |

Aptima HPV Assayn suorituskyky potilasnäytteiden keräämisessä CSCT-tarvikesarjalla

Korkean riskin HPV-positiiviset ja korkean riskin HPV-negatiiviset kliiniset potilasnäytteet, jotka otettiin sekä seulontakäynnillä (rutiinikäynti) että lähetekäynnillä (kolposkopiakäynti) populaatioilta Aptima CSCT -tarvikesarjalla, testattiin Aptima HPV assaylla Panther System- ja Tigris DTS System -järjestelmillä käyttäen kahta eri reagenssierää. Yhtäpitävyys Panther System- ja Tigris DTS System -järjestelmien välillä CSCT-potilasnäytteiden osalta esitetään taulukossa 58.

CSCT-potilasnäytteiden osalta yleinen yhtäpitävyys Panther System- ja Tigris DTS System -järjestelmien välillä oli > 98 %, kuten taulukossa 58 on esitetty. Yhteensä 632 testatusta kliinisestä potilasnäytteestä 69 potilasnäytettä oli CIN2+ ja 38 potilasnäytettä CIN3+. Aptima HPV assayn herkkyys CIN2+:n tunnistamisessa oli 97,1 % (95 % C.I. 90,0–99,2 %) Panther System -järjestelmällä ja 98,6 % (95 % CI: 92,2–99,7) Tigris DTS System -järjestelmällä. CIN3+-tunnistuksen herkkyys oli 100 % (CI: 90,8–100 %) sekä Panther System- että Tigris DTS System -järjestelmillä.

Taulukko 58: Aptima HPV Assayn tulosten yhtäpitävyys Panther System- ja Tigris DTS System -järjestelmillä testatuista Aptima CSCT -potilasnäytteistä

| | | Tigris DTS System -järjestelmä | | |
|-----------------------------|--------------|--------------------------------|--------------|----------|
| | | Positiivinen | Negatiivinen | Yhteensä |
| Panther System -järjestelmä | Positiivinen | 490 | 3 | 493 |
| | Negatiivinen | 9 | 130 | 139 |
| | Yhteensä | 499 | 133 | 632 |

Yleinen yhtäpitävyys = 98,1 % (CI 96,7–98,9)

Positiivinen yhtäpitävyys = 98,2 % (CI 96,6–99,0)

Negatiivinen yhtäpitävyys = 97,7 % (CI 93,6–99,2)

Analyttinen herkkyys

Tunnistusraja (limit of detection, LOD) kliinisessä raja-arvossa on HPV RNA:n positiivisen tuloksen antava pitoisuus (kliinisen raja-arvon yläpuolella) 95 % ajasta. Aptima HPV assayn tunnistusraja määritettiin testaamalla *in vitro* -transkriptien (IVT) laimennuspaneeleja kaikkien 14 korkean riskin genotyypin osalta ja 4 HPV-infektoidun solulinjan: SiHa, HeLa, MS751 ja ME180 (ATCC, Manassas, Virginia) osalta. IVT-paneelien osalta näytteensiirtoaine terästettiin IVT-transkriptien eri pitoisuuksilla ja laimennettiin sitten erillisillä negatiivisilla ThinPrep- nestesyttologianäytteillä ennen testaamista. HPV-infektoidujen solupaneelien osalta HPV-negatiivisten ThinPrep- nestesyttologianäytteiden yhdistelmiä terästettiin HPV-infektoiduilla soluilla eri pitoisuuksilla ja sitten laimennettiin näytteensiirtoaineella ennen testaamista. Kutakin kopiotasoa testattiin kolmekymmentä replikaattia kummallakin reagenssierällä, yhteensä 60 replikaattia. Testit tehtiin 17 päivän aikana 1–12 ajoa päivää kohti ja 5 tietyn genotyypin ja pitoisuuden replikaattia testattiin kussakin ajossa. 95 %:n tunnistusraja laskettiin Probit-regressioanalyysillä kunkin laimennuspaneelin positiivisista tuloksista.

Probit-analyysin tulokset (taulukossa 59) osoittavat, että HPV-tyypeillä 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 ja 68 oli 95 %:n tunnistusrajat alle 100 kopiota/reaktio, ja tyypeillä 52, 58 ja 66 oli 95 % tunnistusrajat 100–500 kopion/reaktion välillä. Neljän testatun solulinjan tunnistusraja oli 95 % alle 1 solu/reaktio.

Taulukko 59: Tunnistusraja Aptima HPV Assayn kliinisessä raja-arvossa

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

*Kopioita reaktiota kohti *in vitro* -transkriptien osalta ja solua reaktiota kohti solulinjojen osalta

Määrittelyn tarkkuus

Aptima HPV assayn tarkkuus arvioitiin kahdessa tutkimuksessa käyttämällä samaa 20 jäsenen paneelia. Tutkimus 1 tehtiin 3 tutkimuspaikassa, 2 ulkoisessa ja 1 sisäisessä, ja tutkimus 2 tehtiin omassa toimipaikassa. Paneelissa oli 13 HPV-positiivista jäsentä määrittelyn tunnistusrajan pitoisuuksilla tai sitä korkeammilla pitoisuuksilla (odotettu positiivisuus: $\geq 95\%$), 3 HPV-positiivista jäsentä määrittelyn tunnistusrajaa alhaisemmilla pitoisuuksilla (odotettu positiivisuus: $>0\% - <25\%$) ja 4 HPV-negatiivista jäsentä. HPV-positiiviset paneelin jäsenet valmistettiin terästäväällä ne *in vitro* RNA -transkripteilla (IVT) PreservCyt-liuoksella laimennettuun näytteensiirtoaineeseen (Specimen Transport Media, STM) tai terästäväällä HPV-infektoidut viljellyt solut (SiHa, HeLa ja MS751; ATCC, Manassas, Virginia) yhdistettyihin negatiivisiin, näytteensiirtoaineella laimennettuihin ThinPrep-nestesytologianäytteisiin. HPV-negatiiviset paneelin jäsenet valmistettiin PreservCyt-liuoksella tai näytteensiirtoaineella laimennetuilla yhdistetyillä negatiivisilla ThinPrep-nestesytologianäytteillä.

Tutkimuksessa 1 kussakin 3 testauspaikassa (1 instrumentti tutkimuspaikkaa kohti) 2 käyttäjää teki 2 Aptima HPV assayn työstää päivää kohti (1 kutakin reagenssierää) 3 päivän ajan. Kukin työstää sisälsi 3 replikaattia kutakin uusittavuuspaneelin jäsentä. Satakahdeksan (108) erillistä näyteputkea testattiin kunkin paneelin jäsenen osalta (3 tutkimuspaikkaa x 1 instrumentti x 2 käyttäjää x 2 erää x 3 työstää x 3 replikaattia). Tutkimuksessa 2 testaus tehtiin omassa toimipaikassa 13 päivän aikana ja yhteensä 162 reaktiota testattiin kunkin paneelin jäsenen osalta (1 tutkimuspaikka x 3 instrumenttia x 3 käyttäjää x 3 erää x 2 työstää x 3 replikaattia).

Paneelin jäsenet kuvataan taulukossa 60a (paneelin jäsenet, joiden odotetaan tuottavan positiiviset tulokset) ja taulukossa 60b (paneelin jäsenet, joiden odotetaan tuottavan negatiiviset tulokset) sekä yhteenveto yhtäpitävyydestä odotettujen tulosten ja analyysin S/CO-arvojen kanssa S/CO-jakauman prosentteilla 2,5, 50 ja 97,5. Analyysin S/CO:n vaihtelevuus niiden paneelin jäsenten osalta, joiden odotettiin tuottavan positiivisen tuloksen, esitetään taulukossa 61 tutkimuksen 1 osalta ja taulukossa 62 tutkimuksen 2 osalta.

Taulukko 60a: Aptima HPV Assayn tarkkuustutkimukset 1 ja 2: Paneelin kuvaus, positiivinen yhtäpitävyys ja analyysin S/CO-arvojen prosenttijakauma odotetun positiivisen tuloksen antavien paneelin jäsenten osalta

| Paneelin kuvaus (kopioita tai soluja/reaktio) | Tutkimus 1 (3 testauspaikkaa) | Tutkimus 2 (1 testauspaikka) |
|---|---|---|
| | % positiivinen yhtäpitävyys (95 % CI) | % positiivinen yhtäpitävyys (95 % CI) |
| HPV korkea positiivinen kliininen näyte 1 | 100 (107/107) (96,5, 100) | 100 (161/161) (97,7, 100) |
| HPV korkea positiivinen kliininen näyte 2 | 100 (107/107) (96,5, 100) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| HPV 16 IVT (1830 kopiota) | 100 (107/107) (96,5, 100) | 100 (161/161) (97,1, 100) |
| HPV 18 IVT (1550 kopiota) | 100 (107/107) (96,5, 100) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| HPV alhainen positiivinen kliininen näyte 1 | 94,4 (101/107) (83,3, 97,4) | 89,5 (145/162) (83,3, 93,3) |
| HPV alhainen positiivinen kliininen näyte 2 | 88,0 (95/108) (80,5, 92,8) | 92,0 (149/162) (86,8, 95,3) |
| HPV alhainen positiivinen kliininen näyte 3 | 100 (108/108) (96,6, 100) | 97,5 (157/161) (93,8, 99,0) |
| HPV alhainen positiivinen kliininen näyte 4 | 90,7 (98/108) (83,8, 94,9) | 92,6 (150/162) (87,5, 95,7) |
| HPV 16 IVT (183 kopiota) | 100 (102/102) (96,4, 100) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| HPV 18 IVT (155 kopiota) | 100 (108/108) (96,6, 100) | 100 (159/159) (97,6, 100) |
| MS751-solut (0,63 solua) | 100 (108/108) (96,6, 100) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| HeLa-solut (0,35 solua) | 100 (108/108) (96,6, 100) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| SiHa-solut (0,90 solua) | 87,9 (94/107) (80,3, 92,8) | 89,5 (145/162) (83,8, 93,3) |

IVT = *in vitro* -transkripti

*Odotettu positiivisen yhtäpitävyyden % ~95 %; havaittu alhaisempi ja johtui mahdollisesti paneelin jäsenten tuotantoeroavuuksista.

Taulukko 60b: Aptima HPV Assayn tarkkuustutkimukset 1 ja 2: Paneelin kuvaus, negatiivinen yhtäpitävyys ja analyysin S/CO-arvojen prosenttijakauma odotetun negatiivisen tuloksen antavien paneelin jäsenten osalta

| Paneelin kuvaus (kopioita tai soluja/reaktio) | Tutkimus 1 (3 testauspaikkaa) | Tutkimus 2 (1 testauspaikka) |
|---|---|---|
| | % negatiivinen yhtäpitävyys (95 % CI) | % negatiivinen yhtäpitävyys (95 % CI) |
| MS751-solut (0,005 solua) | 87,0 (94/108) (79,4, 92,1) | 93,8 (152/162) (89,0, 96,6) |
| SiHa-solut (0,008 solua) | 97,2 (105/108) (92,1, 99,1) | 95,7 (155/162) (91,4, 97,9) |
| HeLa-solut (0,02 solua) | 70,4 (76/108) (61,2, 78,2) | 67,3 (109/162) (59,8, 74,0) |
| HPV-negatiivinen kliininen näyte 1 | 99,1 (107/108) (94,9, 99,8) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| HPV-negatiivinen kliininen näyte 2 | 97,2 (105/108) (92,1, 99,1) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| PreservCyt-liuos 1 | 99,1 (107/108) (94,9, 99,8) | 100 (162/162) (97,7, 100) |
| PreservCyt-liuos 2 | 99,1 (107/108) (94,9, 99,8) | 100 (161/161) (97,7, 100) |

IVT = *in vitro* -transkripti.

*Odotettu negatiivisen yhtäpitävyyden % > 75 % ja < 100 %.

Taulukko 61: Aptima HPV Assayn tarkkuustutkimus 1: Signaalin vaihtelevuus odotetun positiivisen tuloksen antavien paneelin jäsenten osalta

| Paneelin kuvaus (kopioita tai soluja/reaktio) | n | Keski- mää- räinen S/CO | Instrument- tien välillä | | Käyttäjien välillä | | Erien välillä | | Työlistojen välillä | | Työlistojen sisällä | | Yhteensä | |
|---|------|----------------------------------|-----------------------------|--------|-----------------------|--------|---------------|--------|------------------------|--------|------------------------|--------|----------|--------|
| | | | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) |
| HPV korkea positiivinen kliininen näyte 1 | 107* | 29,34 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 1,43 | 4,9 | 1,87 | 6,4 | 1,49 | 5,1 | 2,79 | 9,5 |
| HPV korkea positiivinen kliininen näyte 2 | 107* | 30,09 | 0,55 | 1,8 | 0,00 | 0,0 | 1,06 | 3,5 | 0,73 | 2,4 | 2,21 | 7,3 | 2,61 | 8,7 |
| HPV 16 IVT (1830 kopiota) | 107* | 11,20 | 0,09 | 0,8 | 0,16 | 1,4 | 0,03 | 0,3 | 0,14 | 1,3 | 0,46 | 4,1 | 0,52 | 4,6 |
| HPV 18 IVT (1550 kopiota) | 107* | 14,89 | 0,18 | 1,2 | 0,00 | 0,0 | 0,20 | 1,3 | 0,14 | 0,9 | 1,53 | 10,3 | 1,56 | 10,5 |
| HPV alhainen positiivinen kliininen näyte 1 | 107* | 8,24 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 3,23 | 39,2 | 3,23 | 39,2 |
| HPV alhainen positiivinen kliininen näyte 2 | 108 | 7,07 | 0,00 | 0,0 | 0,41 | 5,8 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 4,57 | 64,7 | 4,59 | 65,0 |
| HPV alhainen positiivinen kliininen näyte 3 | 108 | 10,23 | 0,26 | 2,5 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 1,32 | 12,9 | 3,23 | 31,6 | 3,49 | 34,2 |
| HPV alhainen positiivinen kliininen näyte 4 | 108 | 4,68 | 0,50 | 10,7 | 0,20 | 4,2 | 0,00 | 0,0 | 0,99 | 21,1 | 3,02 | 64,6 | 3,22 | 68,9 |
| HPV 16 IVT (183 kopiota) | 102* | 11,09 | 0,08 | 0,7 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,26 | 2,3 | 0,54 | 4,9 | 0,61 | 5,5 |
| HPV 18 IVT (155 kopiota) | 108 | 11,78 | 0,00 | 0,0 | 0,43 | 3,7 | 0,00 | 0,0 | 1,12 | 9,5 | 1,97 | 16,7 | 2,30 | 19,6 |
| MS751-solut (0,63 solua) | 108 | 10,73 | 0,00 | 0,0 | 0,59 | 5,5 | 0,72 | 6,7 | 0,82 | 7,6 | 1,86 | 17,3 | 2,23 | 20,8 |
| HeLa-solut (0,35 solua) | 108 | 6,78 | 0,00 | 0,0 | 0,56 | 8,3 | 0,00 | 0,0 | 1,23 | 18,2 | 3,08 | 45,5 | 3,37 | 49,7 |
| SiHa-solut (0,90 solua) | 107* | 7,74 | 0,37 | 4,8 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 3,85 | 49,8 | 3,87 | 50,1 |

*Kahdellatoista näytteellä oli invalidi Aptima HPV assayn tulos (1 HPV korkea positiivinen kliininen näyte 1, 1 HPV korkea positiivinen kliininen näyte 2, 1 HPV 16 IVT (1830 kopiota), 1 HPV 18 IVT (1550 kopiota), 1 HPV alhainen positiivinen kliininen näyte 1, 6 HPV 16 IVT (183 kopiota) ja 1 SiHa-solut (0,90 solua)).

CV = vaihteluserroin; IVT = *in vitro* -transkripti; SD = keskihajonta

Huomautus: Joistakin tekijöistä johtuva vaihtelu voi olla numeerisesti negatiivista. Tämä voi tapahtua, jos noista tekijöistä johtuva vaihtelu on hyvin pientä. Näissä tapauksissa keskihajonta ja vaihteluserroin näytetään 0:n muodossa.

Taulukko 62: Aptima HPV Assayn tarkkuustutkimus 2: Signaalin vaihtelevuus odotetun positiivisen tuloksen antavien paneelin jäsenten osalta

| Paneelin kuvaus (kopioita tai soluja/reaktio) | n | Keski- mää- räinen S/CO | Instrument- tien välillä | | Käyttäjien välillä | | Erien välillä | | Työlistojen välillä | | Työlistojen sisällä | | Yhteensä | |
|---|------|----------------------------------|-----------------------------|--------|-----------------------|--------|---------------|--------|------------------------|--------|------------------------|--------|----------|--------|
| | | | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) |
| HPV korkea positiivinen kliininen näyte 1 | 161* | 26,81 | 0,75 | 2,8 | 0,00 | 0,0 | 0,91 | 3,4 | 0,48 | 1,8 | 1,84 | 6,9 | 2,24 | 8,3 |
| HPV korkea positiivinen kliininen näyte 2 | 162 | 28,83 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,96 | 3,3 | 0,65 | 2,3 | 2,35 | 8,2 | 2,62 | 9,1 |
| HPV 16 IVT (1830 kopiota) | 161* | 11,07 | 0,14 | 1,2 | 0,00 | 0,0 | 0,05 | 0,5 | 0,16 | 1,4 | 0,32 | 2,9 | 0,39 | 3,5 |
| HPV 18 IVT (1550 kopiota) | 162 | 13,34 | 0,14 | 1,1 | 0,12 | 0,9 | 1,00 | 7,5 | 0,31 | 2,3 | 0,75 | 5,6 | 1,31 | 9,8 |
| HPV alhainen positiivinen kliininen näyte 1 | 162 | 7,57 | 0,56 | 7,5 | 0,55 | 7,3 | 0,63 | 8,3 | 0,00 | 0,0 | 3,61 | 47,7 | 3,75 | 49,5 |
| HPV alhainen positiivinen kliininen näyte 2 | 162 | 7,59 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 5,25 | 69,2 | 5,25 | 69,2 |
| HPV alhainen positiivinen kliininen näyte 3 | 161* | 8,83 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,26 | 3,0 | 0,00 | 0,0 | 3,48 | 39,4 | 3,49 | 39,5 |
| HPV alhainen positiivinen kliininen näyte 4 | 162 | 4,95 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,75 | 15,2 | 0,00 | 0,0 | 3,35 | 67,6 | 3,43 | 69,3 |
| HPV 16 IVT (183 kopiota) | 162 | 11,02 | 0,13 | 1,2 | 0,11 | 1,0 | 0,12 | 1,1 | 0,13 | 1,2 | 0,54 | 4,9 | 0,59 | 5,4 |
| HPV 18 IVT (155 kopiota) | 159* | 11,40 | 0,16 | 1,4 | 0,17 | 1,5 | 1,21 | 10,6 | 0,23 | 2,0 | 1,17 | 10,3 | 1,72 | 15,0 |
| MS751-solut (0,63 solua) | 162 | 9,87 | 0,76 | 7,7 | 0,00 | 0,0 | 0,65 | 6,6 | 0,65 | 6,6 | 1,41 | 14,3 | 1,85 | 18,7 |
| HeLa-solut (0,35 solua) | 162 | 7,80 | 0,55 | 7,0 | 0,00 | 0,0 | 0,85 | 10,9 | 0,00 | 0,0 | 2,44 | 31,3 | 2,65 | 33,9 |
| SiHa-solut (0,90 solua) | 162 | 7,30 | 0,32 | 4,3 | 0,00 | 0,0 | 0,93 | 12,7 | 1,04 | 14,3 | 3,49 | 47,8 | 3,77 | 51,7 |

*Kuudella näytteellä oli invalidi Aptima HPV assayn tulos (1 HPV korkea positiivinen kliininen näyte 1, 1 HPV 16 IVT (1830 kopiota), 1 HPV alhainen positiivinen kliininen näyte 3, 3 HPV 18 IVT (155 kopiota)).

CV = vaihtelukerroin; IVT = *in vitro* -transkripti; SD = keskihajonta

Huomautus: Joistakin tekijöistä johtuva vaihtelu voi olla numeerisesti negatiivista. Tämä voi tapahtua, jos noista tekijöistä johtuva vaihtelu on hyvin pientä. Näissä tapauksissa keskihajonta ja vaihtelukerroin näytetään 0:n muodossa.

Ristireaktiivisuus

Mahdollisesti Aptima HPV assayn kanssa ristireagoivien organismien testi tehtiin Tigris DTS System -järjestelmällä. Tulokset esitetään kohdassa *Ristireaktiivisuus* (taulukko 37) Tigris DTS System -järjestelmän osassa.

Interferenssi

Mahdollisesti Aptima HPV assayn kanssa interferenssiä aiheuttavien aineiden testi tehtiin Tigris DTS System -järjestelmällä. Tulokset esitetään kohdassa *Interferenssi* (taulukko 38) Tigris DTS System -järjestelmän osassa.

Viiteluettelo

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

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



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

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

Tekninen tuki: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

For more contact information visit www.hologic.com.

Tämä tuote on tarkoitettu käytettäväksi vain ihmisen *in vitro* -diagnoosissa.

Hologic, Aptima, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep ja Tigris ovat tavaramerkkejä ja/tai rekisteröityjä tavaramerkkejä, jotka omistaa Hologic, Inc. ja/tai sen tytäryhtiöt Yhdysvalloissa ja/tai muissa maissa.

eppendorf (stailattu) ja REPEATER ovat Eppendorf AG:n tavaramerkkejä.

RAININ on Rainin Instruments, LLC:n tavaramerkki.

TECAN ja FREEDOM EVO ovat Tecan Group AG:n tavaramerkkejä.

SUREPATH ja PREPSTAIN ovat TriPath Imaging, Inc:n tavaramerkkejä.

Muut tässä pakkauksen tuoteselosteessa mahdollisesti esiintyvät tavaramerkit ovat niiden vastaavien omistajiensa omaisuutta.

© 2007-2017 Hologic, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.
AW-14517-1701 Rev. 003

2017-04