

Aptima HPV Assay

Til bruk ved *in vitro*-diagnose.

Kun til eksport fra USA.

Allmenn informasjon	2
Beregnet bruk	2
Oppsummering og forklaring på testen	2
Prinsipper for prosedyren	3
Advarsler og forholdsregler	4
Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser	6
Oppsamling og oppbevaring av prøver	7
Kvalitetskontrollprosedyrer	31
Testtolking	32
Begrensninger	33
Analyseytelse med DTS System	35
Forventede resultater for Tigris DTS System: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA	44
Oppsett for klinisk studie av Aptima HPV Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver	45
Analyseytelse for Tigris DTS System	47
Forventede resultater for Panther System: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA	76
Oppsett for klinisk studie av Aptima HPV Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver	77
Analyseytelse for Panther System	79
Bibliografi	103

DTS™-systemene

DTS-systemene	9
Reagenser og materialer som følger med	9
Materialer som er nødvendige, men leveres separat ...	10
Valgfrie materialer	11
Testprosedyre for DTS-systemene	11
Prosedyremerknader	17

Panther™ System

Panther System	25
Reagenser og materialer som følger med	25
Materialer som er nødvendige, men leveres separat ...	26
Valgfrie materialer	26
Testprosedyre for Panther System	27
Prosedyremerknader	29

Tigris™ DTS System

Tigris DTS System	19
Reagenser og materialer som følger med	19
Materialer som er nødvendige, men leveres separat ...	20
Valgfrie materialer	21
Testprosedyre for Tigris DTS System	21
Prosedyremerknader	23

Allmenn informasjon

Beregnet bruk

Aptima HPV assay er en målplifiserende nukleinsyre-probetest for *in vitro* kvalitativ deteksjon av E6/E7 viralt budbringer-RNA (messenger RNA, mRNA) fra 14 høyrisiko typer av humant papillomavirus (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Aptima HPV assay skjeller ikke mellom de 14 høyrisikotypene.

- Aptima HPV assay indiseres til bruk ved screening av pasienter med ASC-US (atypiske skvamøse celler av ubestemt signifikans), Pap-test gir resultater til å bestemme behovet for henvisning til kolposkopi. Resultatene av denne testen er ikke beregnet til å forhindre kvinner fra å gå videre med kolkoskopi.
- Aptima HPV assay kan brukes med cervikal cytologi for å samtidig screene (samteste/co-teste) for å vurdere tilstedeværelse eller fravær av høyrisiko HPV-typer. Denne informasjonen, i tillegg til legens vurdering av cytologihistorikk, andre risikofaktorer og profesjonelle retningslinjer, kan brukes til å veilede pasienthåndtering.
- Aptima HPV assay kan brukes som en første primær screeningtest, med eller uten cervikal cytologi, for å identifisere kvinner som er utsatt for utvikling av livmorhalskreft eller tilstedeværelse av høygradig sykdom. Denne informasjonen, i tillegg til legens vurdering av pasientens screeninghistorikk, andre risikofaktorer og profesjonelle retningslinjer, kan brukes til å veilede pasienthåndtering.

Prøver fra livmorhalsen oppsamlet i ThinPrep™ celleprøveampuller som inneholder PreservCyt™-løsning, kan testes med Aptima HPV assay enten før eller etter celleprøvebehandlingen, samt prøver fra livmorhalsen, oppsamlet med Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver. Analysen kan brukes til å teste disse prøvetypene med enten Direct Tube Sampling (DTS) System, Tigris DTS System eller Panther System. Prøver fra livmorhalsen oppsamlet i SurePath konserveringsvæske kan testes med Aptima HPV assay på Tigris DTS System og Panther System.

Oppsummering og forklaring på testen

Livmorhalskreft er en av de mest vanlige kvinnelige krefttypene i verden. HPV er den etiologiske agensen som er ansvarlig for over 99 % av alle tilfeller av livmorhalskreft.^{1, 2, 3} HPV er et vanlig seksuelt overførbart DNA-virus som består av over 100 genotyper.⁴

HPV-virusgenomet er en dobbelttrådet, sirkulær DNA, med en lengde på omtrent 7900 basepar. Genomet har åtte overlappende åpne leserammer. Det er seks tidlige (E) gener, to sene (L) gener og én ikke-oversatt lang kontrollregion. L1- og L2-genene koder store og mindre kapsidproteiner. Tidlige gener regulerer HPV-virusreplikasjon. E6- og E7-genene fra høyrisiko HPV-genotyper er kjente onkogener. Proteiner uttrykt fra E6/E7 polycistronisk mRNA, endrer cellulær p53 og retinoblastom protein-funksjoner som fører til forstyrrelse i kontrollpunktene i celledyklusen og ustabilitet i cellegenomet.^{5, 6}

Fjorten HPV-genotyper regnes for å være patogene eller som høyrisiko for livmorhals sykdom.⁷ Flere studier har knyttet genotypene 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 og 68 til sykdomsutvikling.^{2, 5, 8} Pasienter som har en vedvarende infeksjon med en av disse typene, har økt risiko for å utvikle alvorlig dysplasi eller livmorhalskreft.^{7, 9}

HPV-infeksjoner er svært vanlig, og de fleste kvinner blir kvitt HPV-infeksjon i løpet av 6 til 12 måneder.^{8, 10} Tilstedeværelsen av HPV-nukleinsyre betyr ikke nødvendigvis at det finnes dysplasi eller kreft i livmorhalsen. Imidlertid er en effektiv metode for deteksjon av sykdom i

livmorhalsen å fokusere på de onkogeniske elementene i HPV som fostrer persistent virusinfeksjon og celletransformasjon.³

Aptima HPV Assay klinisk ytelse i primær screening av livmorhalskreft

Den kliniske ytelsen til Aptima HPV assay ved bruk i en primær screeningmodalitet har blitt undersøkt i flere studier av uavhengige utprøvere. Tretten gjennomarbeidede publikasjoner^{11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23} fra ti separate kliniske studier rapporterer ytelsen til Aptima HPV i primær screening hos kvinner som er opptatt i ni land (Kina, Canada, Frankrike, Mexico, England, Danmark, Nederland, USA og Tyskland). Data fra disse studiene viser at Aptima HPV har lignende klinisk ytelse i sammenligning med andre klinisk validerte HPV-tester ved bruk til primær screening for forstadier av livmorhalskreft og livmorhalskreft.

Prinsipper for prosedyren

Aptima HPV assay involverer tre hovedtrinn, som finner sted i ett enkelt rør: målinnfanging, målamplifisering med transkripsjonsmediert amplifikasjon (Transcription-Mediated Amplification, TMA),²⁴ og deteksjon av amplifikasjonsproduktene (amplikon) med hybridiseringsvernanalyse (Hybridization Protection Assay, HPA).²⁵ Analysen innbefatter en internkontroll (Internal Control, IC) for å overvåke innfanging, amplifisering og deteksjon av nukleinsyre så vel som operatør- eller instrumentfeil.

Prøvene oppsamles i eller overføres til et rør som inneholder prøvetransportmiddel (Specimen Transport Media, STM) som lyserer cellene, frigjør mRNA og beskytter det mot nedbryting under oppbevaring. Når Aptima HPV assay utføres, blir mål-mRNA isolert fra prøven ved hjelp av oppfangete oligomere som er koblet til magnetiske mikropartikler. De oppfangete oligomerne inneholder sekvenser som er komplementære til spesifikke regioner på HPV mRNA-målmolekylene, i tillegg til en streng av deoksyadenosin-rester. På hybridiseringstrinnet binder de sekvensspesifikke regionene på de oppfangete oligomerene seg til spesifikke regioner på HPV mRNA-målmolekylen. Det oppfangete oligomer:målkomplekset blir deretter oppfanget fra løsningen ved å redusere temperaturen på reaksjonen til romtemperatur. Denne temperaturreduksjonen medfører at det oppstår hybridisering mellom deoksyadenosin-regionen på det oppfangete oligomeret, og polydeoksytymidin-molekylene som er kovalent festet til de magnetiske partiklene. Mikropartiklene, inkludert de oppfangete HPV mRNA-målmolekylene bundet til dem, trekkes til side av reaksjonsrøret ved hjelp av magneter og supernatanten aspireres. Partiklene vaskes for å fjerne resterende prøvematrix som kan inneholde amplifiseringsinhibitorer.

Etter at målinnfangingen er ferdig, blir HPV mRNA amplifisert ved hjelp av TMA, som er en transkripsjonsbasert nukleinsyre-amplifiseringsmetode som bruker to enzymer, MMLV revers transkriptase og T7 RNA polymerase. Revers transkriptase brukes til å generere en DNA-kopi av mål-mRNA-sekvensen som inneholder en promotersekvens for T7 RNA polymerase. T7 RNA polymerase produserer flere kopier av RNA-amplikon fra DNA-kopimalen.

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

IC (Internal Control – internkontroll) legges til hver reaksjon via målinnfangingsreagensen. Internkontrollen overvåker trinnene for målinnfanging, -amplifisering og -deteksjon i analysen. Signalet for internkontrollen i hver reaksjon skjernes fra HPV-signalet gjennom differensialkinetikk

av lysemisjoner fra prøber med forskjellige etiketter.²⁶ Amplikon som er spesifikt for internkontrollen detekteres ved bruk av en probe med rask emisjon av lys (flasher). Amplikonet som er spesifikt for HPV detekteres med prøber med relativt langsommere lysemisjonskinetikk (glower). Dobbel kinetisk analyse (Dual Kinetic Assay, DKA) er en metode som brukes til å differensiere mellom signaler fra flasher- og glower-etikettene.²⁶

Advarsler og forholdsregler

- A. Til bruk ved *in vitro*-diagnose.
- B. Du finner flere spesifikke advarsler og forholdsregler i brukerhåndbøkene for DTS Systems, Tigris DTS System og Panther System.

Laboratorierelatert

- C. Bruk bare levert eller spesifisert engangs laboratorievarer.
- D. Bruk rutinemessige forholdsregler for laboratoriet. Ikke spis, drikk eller røyk i utpekte arbeidsområder. Bruk engangs pulverfrie hansker, vernebriller og laboratoriefrakker ved håndtering av prøver og settreagenser. Vask hendene grundig etter å ha håndtert prøver og settreagenser.
- E. **Advarsel: Irritanter og etsende stoffer:** Påse at Auto Detect 1 og Auto Detect 2 ikke kommer i kontakt med hud, øyne og slimhinner. Hvis disse væskene kommer i kontakt med hud eller øyner, skal disse stedene vaskes med vann. Hvis det forekommer søl med disse væskene, skal sølet fortynnes med vann før det tørkes opp.
- F. Arbeidsflater, pipetter og annet utstyr skal regelmessig dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. Se Testprosedyre for DTS Systems, Testprosedyre for Tigris DTS System eller Testprosedyre for Panther DTS System for mer informasjon.

Spesifikt for DTS Systems

- G. For å hindre at laboratorieområder blir kontaminert med amplikon, skal laboratorieområdet arrangeres med en enveis arbeidsflyt fra reagensklargjøring til deteksjon. Prøver, utstyr og reagenser skal ikke legges tilbake på stedet der det forrige trinnet ble utført. Personellet skal heller ikke gå tilbake til de forrige arbeidsområdene uten passende kontaminasjonsvern. Det anbefales sterkt å ha et separat område for deteksjon.

Prøverelatert

- H. Oppretthold riktige temperaturforhold under prøvetransport og -oppbevaring for å sikre prøvens integritet. Prøvestabiliteten har ikke blitt evaluert under andre transport- og oppbevaringsforhold enn de som er anbefalt.
- I. Utløpsdatoene på prøveoppsamling/overføringssettene og rørene gjelder oppsamlings-/overførings-stedet og ikke testingsinstitusjonen. Prøver som er oppsamlet/overført før disse utløpsdatoene er gyldige for testing, forutsatt at de har blitt transportert og oppbevart i samsvar med det aktuelle pakningsvedlegget, selv om disse utløpsdatoene er passert.
- J. Prøver kan være smittsomme. Bruk generelle forholdsregler ved utførelsen av denne analysen. Riktig håndterings- og avhendingsmetoder skal opprettes av laboratorielederen.

Bare personell som har tilfredsstillende opplæring i håndtering av smittsomt materiale skal ha tillatelse til å utføre denne prosedyren.

- K. Unngå krysskontaminasjon under håndteringen av prøven. Sørg for at prøvebeholderne ikke kommer i kontakt med hverandre, og kast brukt materiale slik at det ikke holdes/føres over åpne beholdere. Bytt hansker hvis de kommer i kontakt med prøven.
- L. Ved gjennomhulling under visse forhold kan væske komme ut av rørhettene. Se *Testprosedyre for DTS-systemene*, *Testprosedyre for Tigris DTS System* eller *Testprosedyre for Panther DTS System* for mer informasjon.
- M. ThinPrep flytende cytologiprøver og livmorhalsprøver oppsamlet for transport (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) skal ikke brukes hvis en oppsamlingsenhet ligger igjen i prøverøret.
- N. SurePath flytende cytologiprøver skal ikke brukes hvis det ikke finnes en oppsamlingsenhet i ampullen.

Analysereelatert

- O. Oppbevar reagensene ved angitte temperaturer. Utførelsen av analysen kan bli påvirket ved feil oppbevaring av reagenser.
- P. Unngå mikrobisk og ribonuklease-kontaminering av reagenser.
- Q. Ikke bruk settet etter utløpsdatoen.
- R. Ikke veksle, bland eller kombiner analysereagenser eller kalibratorer fra sett med forskjellig partinummer.
- S. Aptima analysevæsker, Aptima Auto Detect-reagenser, Aptima System væskekonserveringsmiddel (kun DTS Systems og Tigris DTS System) og Aptima HPV assay-kontroller (kun DTS System og Tigris DTS System) er ikke en del av hovedpartiet. Ethvert parti kan brukes.
- T. Det er nødvendig å blande analysereagensene grundig for å få nøyaktige analyseresultater.
- U. Spisser med vannavvisende plugg må brukes.

Spesifikt for DTS-systemene

- V. Minimum to repeterende pipetter må tilegnes denne analysen: den ene skal brukes i **målinnfangings-** og **amplifikasjons-** trinnene, og den andre i **etteramplifiserings-** trinnene.
- W. Når det brukes repeterende pipetter til tilførsel av reagens, må det unngås at pipettespissen berører røret for å hindre overføring fra det ene røret til det andre.
- X. Alle pipettene må rengjøres regelmessig som beskrevet under *Prosedyremerknader*.
- Y. Minst to separate SB100™-instrumenter er nødvendig, det ene for målinnfanging/-amplifisering, og det andre for etteramplifisering.
- Z. IKKE bruk forseglingskort. Det skal brukes nye forseglingskort for hvert trinn.

Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser

Ikke bruk reagenser etter utløpsdatoen som står på ampullene. Se nedenfor for flere oppbevaringsinstruksjoner.

A. Følgende reagenser skal oppbevares ved 2 °C til 8 °C (i kjøleskap) ved mottak:

HPV amplifiseringsreagens

HPV enzymreagens

HPV probereagens

HPV internkontrollreagens

HPV positive kalibratorer og negative kalibratorer

HPV positive kontroller og negative kontroller (kun DTS Systems og Tigris DTS System)

B. Følgende reagenser skal oppbevares ved 15 °C til 30 °C (romtemperatur):

HPV amplifiseringsrekonstitusjonsløsning

HPV enzymrekonstitusjonsløsning

HPV proberekonstitusjonsløsning

HPV målinnfangingsreagens

HPV valgreagens

Vaskeløsning

Oljereagens

Buffer for deaktiveringssvæske

Auto Detect-reagens 1

Auto Detect-reagens 2

Aptima System væskekonserveringsmiddel (kun Tigris DTS System)

C. Etter rekonstituering er følgende reagenser stabile i 30 dager når de oppbevares ved 2 °C til 8 °C:

HPV amplifiseringsreagens

HPV enzymreagens

HPV probereagens

D. Arbeidsmålinnfangingsreagensen (working Target Capture Reagent, wTCR) er stabil i 30 dager når den oppbevares ved 15 °C til 30 °C. Skal ikke kjøles.

E. Kasser eventuelle ubrukte rekonstituerte reagenser og wTCR etter 30 dager eller etter hovedpartiets utløpsdato, det som kommer først gjelder.

F. Aptima HPV assay-reagenser er stabile i kumulative 48 timer når de oppbevares på Tigris DTS System.

G. Aptima HPV assay-reagensene er stabile i kumulative 72 timer når de oppbevares på Panther System.

H. Probereagensen og rekonstituert probereagens er lysfølsomme. Oppbevar reagensene beskyttet mot lys.

- I. Reagensene skal ikke fryses.

Oppsamling og oppbevaring av prøver

A. Prøveoppsamling og -behandling

ThinPrep flytende cytologiprøver

1. Samle opp livmorhalsprøver i ThinPrep celleprøveampuller som inneholder PreservCyt-løsning med oppsamlingsenheter av typen kost eller cytobørste/spatel, i henhold til produsentens instruksjoner.
2. Før eller etter behandling med ThinPrep 2000 System, ThinPrep 3000 System, ThinPrep 5000 Processor eller ThinPrep 5000 Processor med Autoloader, overføres 1 ml ThinPrep flytende cytologiprøveoverføringsvær i henhold til instruksjonene i pakningsvedlegget for Aptima prøveoverføringssettet.

SurePath flytende cytologiprøver (kun Tigris DTS System og Panther System)

1. Samle opp en SurePath flytende cytologiprøve i henhold til bruksanvisningen for SurePath-celleprøven og/eller PrepStain System.
2. Overfør SurePath flytende cytologiprøve til et Aptima prøveoverføringsrør i henhold til instruksjonene i pakningsvedlegget for Aptima prøveoverføringssett.

Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver

Samle opp prøven i henhold til bruksanvisningen for Aptima CSCT-sett.

B. Transport og oppbevaring før testing

ThinPrep flytende cytologiprøver

1. Transporter ThinPrep flytende cytologiprøver ved 2 °C til 30 °C.
2. Prøvene skal overføres til Aptima prøveoverføringsrør innen 105 dager etter oppsamling.
3. Før overføringen skal ThinPrep flytende cytologiprøver oppbevares ved 2 °C til 30 °C, og ikke i mer enn 30 dager ved temperaturer over 8 °C.
4. ThinPrep flytende cytologiprøver overført til et Aptima prøveoverføringsrør kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C i opptil 60 dager.
5. Hvis lenger oppbevaring er nødvendig, kan ThinPrep flytende cytologiprøve eller ThinPrep flytende cytologiprøve fortynnet i prøveoverføringsrøret oppbevares ved -20 °C eller kaldere i opptil 24 måneder.

SurePath flytende cytologiprøver (kun Tigris DTS System og Panther System)

1. Transporter SurePath flytende cytologiprøver ved 2 °C til 25 °C.
2. Prøvene skal overføres til Aptima prøveoverføringsrør innen 7 dager etter oppsamling.
3. Før overføring skal SurePath flytende cytologiprøver oppbevares ved 2 °C til 25 °C.
4. SurePath flytende cytologiprøver overført til et Aptima prøveoverføringsrør kan oppbevares ved 2 °C til 25 °C i opptil 7 dager.

Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver

1. Transporter og oppbevar prøver ved 2 °C til 30 °C i opptil 60 dager.
2. Hvis lenger oppbevaring er nødvendig, kan transportsettprøver oppbevares ved -20 °C eller kaldere i opptil 24 måneder.

C. Behandling av SurePath flytende cytologiprøve (kun Tigris DTS System og Panther System)

Merknad: SurePath flytende cytologi prøver må behandles med Aptima overføringsløsning før testing med Aptima HPV assay.

1. Aptima overføringsløsning (kun Tigris DTS System og Panther System)

De behandlede prøvene kan oppbevares ved 2 °C til 8 °C i opptil 17 dager før testing med Aptima HPV assay. Se pakningsvedlegget for Aptima prøveroverføringssett for nærmere informasjon.

D. Oppbevaring av prøver etter testing

1. Prøver som har blitt analysert må oppbevares stående i et stativ.
2. Prøverør skal dekket med en ny, ren plast- eller foliebarriere.
3. Hvis analyserte prøver skal fryses eller sendes, skal den gjennomstikkbare hetten fjernes og en ny ugjennomstikkbare hette settes på prøverørene. Hvis prøvene skal sendes til testing på et annet sted, må de angitte temperaturene opprettholdes. Før man tar av hettene på prøver som tidligere har blitt testet og fått hettene satt tilbake på plass, skal prøverørene sentrifugeres i 5 minutter ved 420 relativ sentrifugalkraft (Relative Centrifugal Force, RCF) for å senke all væsken til bunnen på røret.

Merknad: Prøvematerialer må forsendes i tråd med gjeldende nasjonale og internasjonale transportbestemmelser.

DTS-systemene

Reagenser for Aptima HPV assay er oppført nedenfor for DTS Systems. Identifikasjonssymbolene for reagensene er også oppført ved siden av reagensnavnet.

Reagenser og materialer som følger med

Merknad: For informasjon om eventuelle fare- og sikkerhetssetninger som kan være forbundet med reagenser, se Safety Data Sheet Library (HMS-biblioteket) på www.hologic.com/sds.

Aptima HPV assay-sett, 100 tester, katalognr. 302610 (4 esker)

Kalibratorer og kontroller kan kjøpes separat. Se individuelle eskekatalognumre nedenfor.

Aptima HPV kjøleeske (oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

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

Aptima HPV romtemperatureske (oppbevares ved 15 °C til 30 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
AR	HPV amplifiseringsrekonstitusjonsløsning <i>Vannholdig løsning som inneholder konserveringsmidler.</i>	1 ampulle
ER	HPV enzymrekonstitusjonsløsning <i>HEPES bufret løsning som inneholder overflateaktivt stoff og glyserol.</i>	1 ampulle
PR	HPV proberekonstitusjonsløsning <i>Suksinatbufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	1 ampulle
S	HPV valgreagens <i>600 mM boratbufret løsning som inneholder overflateaktivt stoff.</i>	1 ampulle

Aptima HPV romtemperatureske
(oppbevares ved 15 °C til 30 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
TCR	HPV målinnfangingsreagens <i>Ikke-infeksiøs nukleinsyre i en bufret løsning som inneholder fastfase (< 0,5 mg/ml).</i>	1 ampulle
	Forseglingkort	1 pakke
	Rekonstitusjonskrager	3

Aptima HPV kalibratoreske (katalognr. 302554)
(oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
PCAL	HPV positiv kalibrator <i>Ikke-infeksiøs HPV 16 in vitro-transkript ved 1000 kopier per ml i en bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	5 ampuller
NCAL	HPV negativ kalibrator <i>Bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	5 ampuller

Aptima HPV kontrolleske (katalognr. 302556)
(oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
PC	HPV positiv kontroll <i>Lyserte, inaktiverede HPV negative og HPV positive kultiverte celler ved 25 celler per ml i en bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	5 ampuller
NC	HPV negativ kontroll <i>Lyserte, inaktiverede HPV negative kultiverte celler i en bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	5 ampuller

Materialer som er nødvendige, men leveres separat

***Merknad:** Materialer tilgjengelige fra Hologic har oppførte katalognumre, med mindre annet er angitt.*

	<u>Katalognr.</u>
Leader™ HC+ luminometer	104747
Hologic målinnfangingsystem (Target Capture System, TCS)	104555
2 SB100 tørrvarmebad/virvelblandere	105524F
Aptima Auto Detect-sett	301048C
Aptima Assay væskesett	302002C
Mikropipette, 1000 µl RAININ PR1000	104216
2 Eppendorf Repeater Plus-pipetter	105725
Spisser for repeterende pipetter (2,5 ml, 5,0 ml, 25,0 ml)	—
Spisser, 1000 µl P1000	105049
<i>Spisser med spesialdiameter er bare tilgjengelige fra Hologic</i>	
Enheter med ti rør (Ten Tube Units, TTU)	TU0022
TTU-stativ	104579

Kassetter med ti spisser (Ten Tip Cassettes, TTC)	104578
Aptima prøveoverføringssett	301154C
Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver	302657
Blekemiddel, minimum 5 % eller 0,7 M natriumhypoklorittløsning	—
Engangshansker	—
Aptima gjennomstikkbare hetter	105668
Ugjennomstikkbare erstatningshetter	103036A

Valgfrie materialer

	<u>Katalognr.</u>
TECAN Freedom EVO 100/4-instrument	900932
Aptima plattformplate, DTS 800	105200
Spisser, 1000 µl ledende, væskefølende	10612513 (Tecan)
Reagensbeholder (40 ml kvart-modul)	104765
Delt reagensbeholder (19 ml x 2 kvart-modul)	901172
Blekemiddelforsterker for rengjøring	302101

Testprosedyre for DTS-systemene

A. Klargjøring av arbeidsområde/utstyr

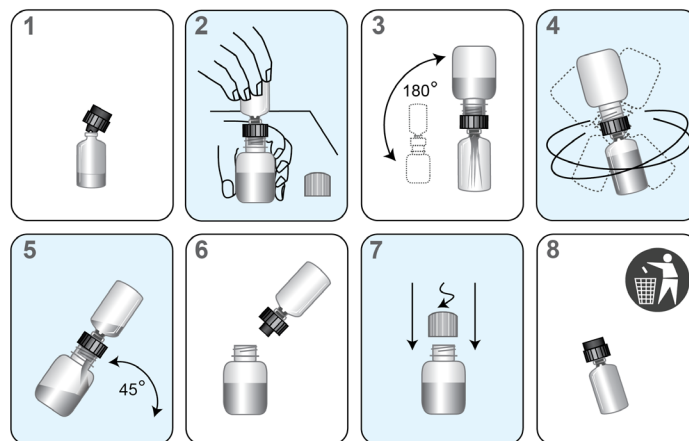
1. Før analysen starter, skal arbeidsflatene og pipettene tørkes med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La løsningen komme i kontakt med flatene og pipettene i minst 1 minutt og skyll deretter med vann. La ikke løsningen tørke inn. Dekk til benkeflaten der testen skal utføres med ren, plastforet, absorberende benkeovertrekk for laboratorier.
2. Legg et tilstrekkelig antall kassetter med ti spisser inn i målinnfangingsystemet (Target Capture System, TCS). Påse at TCS vaskeflaske er fylt med vaskeløsning og at aspirasjonsfordeleren er koblet til vakuumpumpen. Se *Target Capture System Operator's Manual* (brukerhåndboken for målinnfangingsystemet [Target Capture System, TCS]).
3. Klargjør TECAN Freedom EVO-instrumentet i samsvar med instruksjonene i brukerhåndboken og HPV-applikasjonsarket.
4. Klargjør SB100-instrumentet til føramplifisering i samsvar med instruksjonene i brukerhåndboken og HPV-applikasjonsarket. Slå på instrumentet, start APTIMA HPV PREAMP-protokollen og la instrumentet varmes opp til 62 °C.
5. Når amplifiseringstrinnet er ferdig, klargjøres SB100-instrumentet til etteramplifisering i samsvar med brukerhåndboken og HPV-applikasjonsarket. Slå på instrumentet og start APTIMA HPV PSTAMP-protokollen og la instrumentet varmes opp til 62 °C.
6. Når amplifikasjonstrinnet er ferdig, klagjøres Leader HC+ luminometer i samsvar med instruksjonene i brukerhåndboken etter tilførsel av probereagens som beskrevet i trinnene for etteramplifisering.

B. Rekonstitusjon av reagens/klargjøre et nytt sett

Merknad: Rekonstitusjon av reagens skal utføres før prøveoverføringen begynner.

1. Aptima HPV amplifikasjons-, enzym-, og probereagensene rekonstitueres ved å blande flaskene med lyofilisert reagens med rekonstitusjonsløsningen. Hvis det er nedkjølt, skal rekonstitusjonsløsningene nå romtemperatur før de brukes:

- a. Ordne parvis hver rekonstitusjonsløsning med sin lyofiliserte reagens. Påse at rekonstitusjonsløsningen og den lyofiliserte reagensen har samsvarende etikettfarger før rekonstitusjonskragen settes på.
- b. Åpne ampullen med lyofilisert reagens og sett den hakkede enden på rekonstitusjonskragen fast inn i ampulleåpningen (figur 1, trinn 1).
- c. Åpne tilsvarende flaske med rekonstitusjonsløsning og legg hetten på en ren, tildekket arbeidsflate.
- d. Mens løsningsflasken holdes på benken, settes den andre enden på rekonstitusjonskragen fast inn i flaskeåpningen (figur 1, trinn 2).
- e. Snu den monterte flasken og ampullen langsomt. La løsningen renne inn i glassbeholderen (figur 1, trinn 3).
- f. Virvle løsningen forsiktig i ampullen for å blande grundig. Unngå skumdannelse når ampullen virvles (figur 1, trinn 4).
- g. Vent på at den lyofiliserte reagensen opptas i blandingen, snu deretter flasken/ampullen og hold den i 45° vinkel for å redusere skumdannelse (figur 1, trinn 5). La all væske renne tilbake i flasken.
- h. Fjern rekonstitusjonskragen og glassampullen (figur 1, trinn 6).
- i. Sett hetten tilbake på plastflasken. Noter operatørinitialene og rekonstitusjonsdatoen på alle rekonstituerte reagensampuller (figur 1, trinn 7).
- j. Kast både rekonstitusjonskragen og glassampullen (figur 1, trinn 8).



Figur 1. DTS-systemenes rekonstitusjonsprosess

2. Klargjøre arbeidsmålinnfangingsreagensen (working Target Capture Reagent, wTCR)
 - a. Ordne de aktuelle flaskene med TCR og internkontroll parvis.
 - b. Åpne flasken med TCR og sett hetten på en ren, tildekket arbeidsflate.
 - c. Åpne flasken med internkontroll og hell alt innholdet opp i en flaske med TCR. En liten mengde væske kan forbli i ampullen med internkontroll.
 - d. Sett hetten på TCR-flasken og virvle løsningen forsiktig for å blande innholdet grundig. Unngå skumdannelse på dette trinnet.
 - e. Registrer operatørens initialer og dagens dato på etiketten.
 - f. Kasser internkontrollflasken og hetten.

- g. Det kan dannes bunnfall i wTCR. Bunnfallet kan oppløses ved å varme opp wTCR til en temperatur mellom 42 °C og 60 °C i opptil 90 minutter. La wTCR komme til romtemperatur før det tas i bruk.
3. Klargjøre valgreagensen
- Hvis valgreagensen inneholder bunnfall, varmes valgreagensen ved 60 °C ± 1 °C i opptil 45 minutter for å lette oppløsning av bunnfallet. Bland flasken forsiktig hvert 5. til 10. minutt. La valgreagensen komme til romtemperatur før den tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet eller tåkedannelsen vedvarer.

C. Klargjøre reagensen for tidligere rekonstituerte reagenser

1. Tidligere rekonstituert amplifikasjons-, enzym- og probereagenser må nå romtemperatur (15 °C til 30 °C) før analysen startes.
2. Hvis den rekonstituerte probereagensen inneholder bunnfall som ikke går tilbake til løsning ved romtemperatur, skal den oppvarmes ved en temperatur som ikke overstiger 60 °C i 1 til 2 minutter. Etter resuspensjon blandes ampullen med forsiktig snuing. Skal ikke brukes hvis bunnfall eller tåkedannelse finnes.
3. Hvis wTCR har bunnfall, varmes wTCR opp ved 42 °C til 60 °C i opptil 90 minutter. La wTCR komme til romtemperatur før det tas i bruk.
4. Hvis valgreagensen inneholder bunnfall, varmes valgreagensen ved 60 °C ± 1 °C i opptil 45 minutter for å lette oppløsning av bunnfallet. Bland flasken forsiktig hvert 5. til 10. minutt. La valgreagensen komme til romtemperatur før den tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet eller tåkedannelsen vedvarer.
5. Hver reagens blandes grundig ved å snu glasset forsiktig før den tas i bruk. Unngå skumdannelse når reagensene inverteres.

D. Sette opp stativ

1. La prøvene (kalibratorene, kontroller og prøver) komme opp til romtemperatur før prosessering.
2. Ikke virvelbland prøver.
3. Kontroller prøverørene før de gjennomhulles. Hvis et prøverør inneholder bobler eller har mindre mengde enn det som vanligvis observeres, skal røret sentrifugeres i 5 minutter ved 420 RCF for å sikre at det ikke finnes væske i hetten.

Merknad: Dersom instruksjonene i trinn 3 ikke følges, kan det oppstå væskeutstrømming fra prøverørheten.

4. Legg nok TTU i TTU-stativet til å romme kalibratorene, kontroller og prøver.
5. (Valgfritt) Opprett en arbeidsliste med programvaren Aptima Worklist Editor. Se avsnittet Worklist Editor i *Aptima Assay Software Operator's Manual* (brukerhåndboken til Aptima Assay-programvaren) for spesifikke instruksjoner.

Manuelle pipetteringsalternativer

1. Blande wTCR grundig (TCR pluss internkontroll). Bruk en repeterende pipette, og tilsett 100 µl wTCR i hvert reaksjonsrør.
2. Bruk en mikropipette, stikk hull på hetten på prøverøret og pass på at spissen ikke drives ned til bunnen på røret.
3. Bruk en ny pipettespiss for hver kalibrator, kontroll og prøve.
4. Tilsett 400 µl av den negative kalibratoren i de første tre rørene i den første TTUen.
5. Tilsett 400 µl av den positive kalibratoren i rør 4-6 i den første TTUen.
6. Tilsett 400 µl av den negative kontrollen til rør 7 i den første TTUen.
7. Tilsett 400 µl av den positive kontrollen til rør 8 i den første TTUen.
8. Tilsett 400 µl av hver prøve i resten av rørene.
9. Når alle prøvene har blitt pipettert, dekkes TTUene med forseglingskort. Fortsett til målinnfanging.

Alternativt TECAN Freedom EVO-instrument

Se *TECAN Freedom EVO 100/4 Application Sheet for the Aptima HPV Assay* (applikasjonsarket for TECAN Freedom EVO 100/4 for Aptima HPV Assay) for å finne spesifikke instruksjoner for tilførsel av wTCR og prøver hvis dette instrumentet brukes.

E. Målinnfanging

Du finner detaljert informasjon om bruken av SB100-instrumentet med Aptima HPV assay i *SB100 Dry Heat Bath/Vortexer Application Sheet for the Aptima HPV Assay* (applikasjonsarket for SB100 tørrvarmebad/virvelblander for Aptima HPV Assay).

Du finner informasjon om bruken av Hologic målinnfangingssystemet i *Target Capture System Operator's Manual* (brugerhåndboken for målinnfangingssystemet).

Merknad: Den repeterende pipetten som brukes ved målinnfanging og amplifikasjonen skal være utpekt til bruk bare i disse trinnene. Se *Testprosedyre for Tigris DTS System for mer informasjon*.

1. Dekk til forseglingskortene med SB100-rammen.
2. Når SB100-instrumentet har nådd 62 °C, holdes rammen og stativet sammen for å sørge for at TTUene låses på plass på stativene, og sett stativet på varmeblokken. Påse at innholdet ikke spruter på forseglingskortene. Roter de svarte knottene til lagrene låses inn i hullene på rammen.
3. Trykk på den aktuelle tasten for å starte programmet.
4. Når det angis av SB100 etter siste inkubasjon, skal stativet fjernes forsiktig fra varmeblokken. Påse at innholdet ikke sprutes på forseglingskortene.
5. Sett stativet på magnetplattformen på målinnfangingssystemet (Target Capture System, TCS) i 5 til 10 minutter. Utfør disse vasketrinnene:
 - a. Prime pumpe slangene til dispenseringsstasjonen ved å pumpe vaskeløsning gjennom dispenseringsfordeleren. Pumpe væske gjennom systemet til det ikke er luftbobler i slangen og alle 10 dysene leverer en jevn væskestrøm.
 - b. Slå på vakuumpumpen og koble aspirasjonsfordeleren fra den første koblingen mellom fordeleren og væskelåsflasken. Påse at vakuummåleren oppfyller spesifikasjonene for lekkasjetesten. Det kan ta 15 sekunder å gjøre denne avlesingen. Koble fordeleren til på nytt og sørg for at vakuummåleren oppfyller spesifikasjonene for vakuumnivået. La vakuumpumpen være påslått til alle målinnfangingstrinnene er utført og aspirasjonsfordeleren er tørr.
 - c. Fest aspirasjonsfordeleren godt til første sett med spisser. Aspirer all væske ved å senke spissene ned i den første TTUen til spissene kommer i kortvarig kontakt med bunnen på rørene. Ikke hold spissene i kontakt med bunnen på rørene.
 - d. Når aspirasjonen er ferdig, settes spissene inn i den opprinnelige spisskassetten. Gjenta aspirasjonstrinnene for gjenværende TTUer, og bruk en dedisert spiss for hver prøve.
 - e. Sett dispenseringsfordeleren over hver TTU og tilsett 1,0 ml vaskeløsning i hvert rør på TTUen ved hjelp av dispenseringsstasjonspumpen.
 - f. Dekk til rørene med et forseglingskort og ta stativet ut av TCS.
6. Dekk til forseglingskortene med SB100-rammen og sett dem forsiktig på SB100-varmeblokken. Velg den aktuelle tasten til å virvelblande rørene. Når virvelblandingen er ferdig, skal stativet tas ut.
7. Trykk på den aktuelle tasten på SB100-instrumentet for å fortsette å forvarme blokken.
8. Sett stativet tilbake på TCS og gjenta aspirasjonstrinnene i 5c og 5d ovenfor.
9. Når den siste aspirasjonen er ferdig, fjernes stativet fra magnetplattformen på TCS og kontroller rørene visuelt for å påse at all væske har blitt aspirert og alle rørene inneholder magnetiske partikkelkuler. Hvis det finnes væske, settes stativet tilbake på TCS-plattformen i 2 minutter og aspirasjonen gjentas for denne TTUen med de samme spissene som ble brukt tidligere for hver prøve.

10. Fortsett til amplifikasjonstrinnet.

F. Amplifisering

1. Tilsett amplifiseringsreagens og oljereagens.

Manuelle pipetteringsalternativer

- Bruk en repeterende pipette og tilsett 75 µl rekonstituert amplifiseringsreagens til hvert reaksjonsrør. Alle reaksjonsblandinger i stativet skal ha rød farge.
- Bruk den repeterende pipetten og tilsett 200 µl oljereagens.
- Dekk til rørene med forseglingskort.
- Fortsett til trinn 2.

Alternativt TECAN Freedom EVO-instrument

Se *TECAN Freedom EVO 100/4 Application Sheet for the Aptima HPV Assay* (applikasjonsarket for TECAN Freedom EVO 100/4 for Aptima HPV Assay) for spesifikke instruksjoner om tilsetting av amplifiserings- og oljereagenser, hvis dette instrumentet brukes.

- Dekk til forseglingskortene med SB100-rammen, og sett stativet forsiktig inn i varmeblokken.
- Trykk på den aktuelle tasten for å starte inkubasjonen.
- Når det angis, skal SB100-rammen tas ut. Ta ut og kast forseglingskortene og tilsett 25 µl rekonstituert enzymreagens med en repeterende pipette, mens stativet sitter i varmeblokken.
- Dekk til rørene med nye forseglingskort og SB100-rammen.
- Trykk på den aktuelle tasten for å starte amplifiseringsinkubasjonen.
- Når inkubasjonstrinnet er ferdig, fjernes stativet fra SB100-instrumentet og fortsett til etter-amplifiseringstrinnet.

G. Etteramplifisering

Slå på etteramplifiserings-instrumentet (SB100) og velg APTIMA HPV PSTAMP-protokollen for å varme opp instrumentet til 62 °C.

For spesifikk informasjon om bruk av SB100-instrumentet sammen med Aptima HPV assay, se *SB100 Dry Heat Bath/Vortexer Application Sheet for the Aptima HPV Assay* (applikasjonsarket for SB100 tørrvarmebad/virvelblander for Aptima HPV Assay).

Merknad: Den repeterende pipetten som brukes ved deteksjon skal være dedisert til bruk bare i disse trinnene. Se Advarsler og forholdsregler.

Merknad: Etteramplifiseringstrinnene skal fullføres i et område som er separat fra reagenstilberedelsen og før-amplifiseringstrinnene. Se Prosedyremerknader.

- Ta ut og kast forseglingskortene.
- Bruk den repeterende pipetten og tilsett 100 µl rekonstituert probereagens i hvert reaksjonsrør. Alle reaksjonsblandinger skal ha gul farge.
- Dekk til rørene med forseglingskort og SB100-rammen og sett stativet forsiktig inn i varmeblokken.
- Trykk på den aktuelle tasten for å starte virvelblanding/inkubasjons-trinnene.
- Når inkubasjonstrinnene er ferdige, fjern stativet og inkuber i romtemperatur i 5 minutter. Sørg for at den aktuelle tasten velges på SB100-tastaturet for å starte inkubasjonstiden.

6. Når 5 minutter er gått, som angitt på SB100-skjermen, tilsettes 250 µl valgreagens i hvert reaksjonsrør ved bruk av den repeterende pipetten. Alle reaksjonsblandinger skal ha rosa farge.
7. Dekk til rørene med forseglingskort og SB100-rammen, og sett stativet forsiktig i varmeblokken. Trykk på den aktuelle tasten for å starte virvelblanding/inkubasjonstrinnene.
8. Når inkubasjonen er ferdig, ta stativet ut av SB100-instrumentet og gå videre til deteksjon.

H. Deteksjon

1. Deteksjonstrinnet må utføres ved 18 °C til 28 °C.
2. Påse at det er tilstrekkelige mengder Auto Detect 1 og 2 for å fullføre testene.
3. Klargjør Leader HC+ luminometer ved å sette en tom TTU i kassettposisjon nr. 1 og utføre WASH (vaske)-protokollen. Se *Leader HC+ Luminometer Operator's Manual* (brukerhåndboken for Leader HC+ luminometer) for spesifikke instruksjoner.
4. Sett TTUene inn i luminometeret.
5. Logg på Aptima assay-programvaren for HPV. Hvis en arbeidsliste ble opprettet, skal det påses at egnet bane ble aktivert, slik at Aptima HPV assay-programvaren kan finne riktig arbeidsliste.
6. Klikk på **NEW RUN (NY KJØRING)**. Hvis en arbeidsliste ikke ble opprettet, tast inn antallet rør (kalibratører, kontroller og prøver). Klikk på **NEXT (NESTE)** og start kjøringen.

Merknad: Kjøringen må fullføres innen 2 timer før slutten på valgtrinnsinkubasjonen.

7. Tilbered deaktiveringsvæske ved å blande like deler 5 % til 7 % (0,7 M til 1,0 M) natriumhypoklorittløsning og Aptima-buffer for deaktiveringsvæske i en plastbeholder med stor hette. Sett på etikett og noter utløpsdatoen på plastbeholderen. Deaktiveringsvæsken er stabil i 4 uker i romtemperatur.
8. Når de brukte TTUene er tatt ut av luminometeret, settes TTUene inn i beholderen med deaktiveringsvæske. La TTUene bli i beholderen i 15 minutter før de kasseres. Riktig håndterings- og avhendingsmetoder skal opprettes av laboratorielederen.

Prosedyremerknader

A. Kalibratører

Hver kjøring på opptil 100 tester skal inneholde tre replikater hver av negativ kalibrator og positiv kalibrator. For å arbeide riktig med Aptima HPV assay-programvaren må de tre replikatene av den negative kalibratoren, fulgt av de tre replikatene av den positive kalibratoren, sitte i de første seks posisjonene i den første TTUen. Hvis de plasseres i feil posisjon, vil kjøringen mislykkes.

B. Kontroller

Hver kjøring på opptil 100 tester må inneholde ett replikat hver av negative kontroller og positive kontroller. Den negative kontrollen må være i sjuende. rørposisjon, fulgt av den positive kontrollen i åttende. rørposisjon. Hvis de plasseres i feil posisjon, vil kjøringen mislykkes.

C. Prøvepipettering

1. Prøvevolumet som tilsettes reaksjonsrøret skal være 400 µl ± 100 µl. For å oppnå riktig volumoverføring, anbefales det å kontrollere volumet som pipetteres inn i TTUen visuelt. Riktig prøvevolum er nødvendig for å oppnå nøyaktige resultater. Hvis riktig volum ikke er pipettert, skal arbeidsmålinnfangingsreagensen og prøven pipetteres på nytt i et nytt reaksjonsrør.

2. Tilsett prøvene forsiktig i hvert rør og unngå kontakt med kanten, slik at sjansen for overføring fra ett rør til et annet reduseres.

D. Temperatur

1. Romtemperatur defineres som 15 °C til 30 °C.
2. Deteksjonen er temperaturfølsom. Laborrietemperaturen i deteksjonsområdet skal være 18 °C til 28 °C.

E. Tid

Målinnfangings-, amplifiserings-, hybridiserings- og valgreaksjonene er alle tidsavhengige. Overhold tidene som er angitt i *Testprosedyre for DTS-systemene*.

F. Hanskepulver

Som i alle reagenssystemer, kan for mye pulver på hanskene føre til kontaminering av åpne rør. Pulverfrie hansker anbefales.

G. Dekontaminering

1. Laboriets benkeplater og pipetter må dekontamineres regelmessig med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La løsningen ha kontakt med flatene i minst ett minutt, og skyll deretter med vann. La ikke løsningen tørke inn. Klorinløsninger kan korrodere utstyr og metall. Korrodering av utstyret kan unngås med grundig skylling med vann.
2. Dekontaminer TECAN Freedom EVO-instrumentet i samsvar med instruksjonene i brukerhåndboken.
3. Dekontaminer SB100-instrumentene i samsvar med instruksjonene i *SB100 Dry Heat Bath/Vortexer Application Sheet for the Aptima HPV Assay* (applikasjonsarket for SB100 tørrvarmebad/virvelblander for Aptima HPV Assay).
4. Dekontaminer målinnfangingssystemet i samsvar med *Target Capture System Operator's Manual* (instruksjonene i brukerhåndboken for målinnfangingsystemet).
5. Tørk flatene på TCS-enheten og vask bufferejektorspissene med papirhåndklær fuktet med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. Skyll deretter med vann og tørk flatene med papirhåndklær.
6. Legg TTU-stativene i 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning og påse at de er dekket med løsningen. La stativene ligge i bløt i 10 minutter. Lengre eksponering kan skade stativene. Skyll stativene grundig med vann, legg dem på en ren, absorberende matte og la dem lufttørke fullstendig. Stativenes brukstid forlenges ved å la dem tørke stående, ikke opp-ned.
7. TTUer skal dekontamineres med deaktiveringsvæske, beskrevet i deteksjonstrinnene. TTUene skal ikke brukes på nytt.

Tigris DTS System

Reagenser for Aptima HPV assay er oppført nedenfor for Tigris DTS System. Identifikasjonssymbolene for reagensene er også oppført ved siden av reagensnavnet.

Reagenser og materialer som følger med

Aptima HPV assay-sett, 250 tester, katalognr. 302611 (4 esker)

Kalibratører og kontroller kan kjøpes separat. Se individuelle eskekatalognumre nedenfor.

Aptima HPV kjøleeske (oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

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

Aptima HPV romtemperatureske (oppbevares ved 15 °C til 30 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
AR	HPV amplifiseringsrekonstitusjonsløsning <i>Vannholdig løsning som inneholder konserveringsmidler.</i>	1 ampulle
ER	HPV enzymrekonstitusjonsløsning <i>HEPES bufret løsning som inneholder overflateaktivt stoff og glyserol.</i>	1 ampulle
PR	HPV proberekonstitusjonsløsning <i>Suksinatbufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	1 ampulle
S	HPV valgreagens <i>600 mM boratbufret løsning som inneholder overflateaktivt stoff.</i>	1 ampulle
TCR	HPV målinnfangingsreagens <i>Ikke-infeksiøs nukleinsyre i en bufret løsning som inneholder fastfase (< 0,5 mg/ml).</i>	1 ampulle
	Rekonstitusjonskrager	3
	Strekkodeark for hovedparti	1 ark

Aptima HPV kalibratoreske (katalognr. 302554)
(oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
PCAL	HPV positiv kalibrator <i>Ikke-infeksiøs HPV 16 in vitro-transkript ved 1000 kopier per ml i en bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	5 ampuller
NCAL	HPV negativ kalibrator <i>Bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	5 ampuller

Aptima HPV kontrolleske (katalognr. 302556)
(oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
PC	HPV positiv kontroll <i>Lyserte, inaktiverede HPV negative og HPV positive kultiverte celler ved 25 celler per ml i en bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	5 ampuller
NC	HPV negativ kontroll <i>Lyserte, inaktiverede HPV negative kultiverte celler i en bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	5 ampuller

Materialer som er nødvendige, men leveres separat

Merknad: Materialer tilgjengelige fra Hologic har oppførte katalognumre, med mindre annet er angitt.

	<u>Katalognr.</u>
Tigris DTS System	105118
Aptima assay væskesett	302382
<i>(Aptima vaskeløsning, Aptima buffer for deaktiveringsvæske og Aptima oljereagens)</i>	
Aptima Auto Detect-sett	301048
Aptima System væskekonserveringssett	302380
Spisser, 1000 µl ledende, væskefølende	10612513 (Tecan)
Tigris DTS System-kjøresett	301191
<i>Flerrør-enheter (Multi-tube Units, MTU)</i>	104772-02
<i>MTU-avfallspose for spisser</i>	900907
<i>MTU-avfallsavledere</i>	900931
<i>MTU-avfallsdeksler</i>	105523
Aptima prøveoverføringssett	301154C
Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver	302657
Aptima gjennomstikkbare hetter	105668
Ugjennomstikkbare erstatningshetter	103036A
Ekstra hetter for rekonstitusjonsløsninger for amplifikasjons- og probereagens	CL0041
Ekstra hetter for rekonstitusjonsløsninger for enzymreagenser	501616
Ekstra hetter for TCR- og valgreagens	CL0040
Blekemiddel, minimum 5 % eller 0,7 M natriumhypoklorittløsning	—
Vann for Tigris DTS System	—
<i>Se Tigris DTS System Operator's Manual (brukerhåndboken for Tigris DTS System) for spesifikasjoner</i>	

Engangshansker	—
Aptima overføringsløsningssett (kun for SurePath-prøver)	303658

Valgfrie materialer

	<u>Katalognr.</u>
Blekemiddelforsterker for rengjøring	302101

Testprosedyre for Tigris DTS System

Merknad: Se *Tigris DTS System Operator's Manual (brukerhåndboken for Tigris DTS System)* for mer prosedyreinformasjon om Tigris DTS System.

A. Klargjøre arbeidsområdet

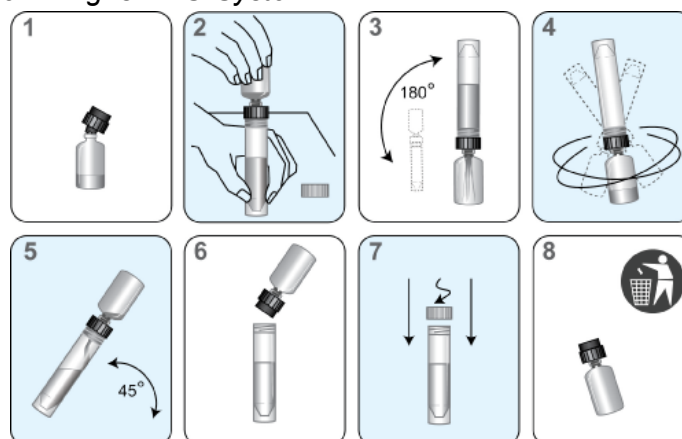
Rengjør arbeidsflater der reagenser og prøver blir tilberedt. Tørk av arbeidsflatene med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La natriumhypoklorittløsningen komme i kontakt med flatene i minst ett minutt og skyll deretter med vann. Pass på at ikke natriumhypoklorittløsningen tørker. Dekk til benkeflatene der reagensene og prøvene skal tilberedes med rene, plastforete, absorberende benkeovertrekk for laboratorier.

B. Reagenstilberedelse med et nytt sett

Merknad: *Reagensrekonstitusjon skal utføres før arbeidet begynner på Tigris DTS System.*

1. For å rekonstituere amplifikasjon-, enzym- og probereagenser blandes flaskene med lyofilisert reagens med rekonstitusjonsløsningen. Hvis de har vært oppbevart i kjøleskap, skal rekonstitusjonsløsningene komme opp til romtemperatur før de brukes.
 - a. Ordne parvis hver rekonstitusjonsløsning med sin lyofiliserte reagens. Påse at rekonstitusjonsløsningen og den lyofiliserte reagensen har samsvarende etikettfarger før rekonstitusjonskragen settes på.
 - b. Kontroller partinumrene på strekkodearket for hovedpartier for å påse at de riktige reagensene blir ordnet parvis.
 - c. Åpne ampullen med lyofilisert reagens og sett enden med hakket på rekonstitusjonskragen godt inn i ampulleåpningen (figur 2, trinn 1).
 - d. Åpne den tilsvarende rekonstitusjonsløsningen og legg hetten på en ren, tildekket arbeidsflate.
 - e. Mens løsningsflasken holdes på benken, settes den andre enden på rekonstitusjonskragen godt inn i flaskeåpningen (figur 2, trinn 2).
 - f. Snu de monterte flaskene langsomt. La løsningen tømmes fra flasken inn i glassampullen (figur 2, trinn 3).
 - g. Bland grundig ved å virvle løsningen forsiktig i flasken. Unngå at det dannes skum mens du virvler flasken (figur 2, trinn 4).
 - h. Vent til den lyofiliserte reagensen er opptatt i løsningen, og inverter deretter de sammenmonterte flaskene på nytt. Sett dem i 45° vinkel for å minimere skum (figur 2, trinn 5). La all væske renne tilbake i plastflasken.
 - i. Fjern rekonstitusjonskragen og glassampullen (figur 2, trinn 6).
 - j. Sett hetten tilbake på plastflasken. Noter operatørinitialene og rekonstitusjonsdatoen på alle rekonstituerte reagensampuller (figur 2, trinn 7).
 - k. Fjern rekonstitusjonskragen og glassampullen (figur 2, trinn 8).

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



Figur 2. Rekonstitusjonsprosessen i Tigris DTS System

2. Klargjør arbeidsmålinnfangingsreagensen (working Target Capture Reagent, wTCR):
 - a. Ordne de aktuelle flaskene med TCR og internkontroll parvis.
 - b. Kontroller reagensens partinumre på strekkodearket for hovedpartier for å påse at de riktige reagensene i settet blir ordnet parvis.
 - c. Åpne TCR-flasken og legg hetten på en ren, tildekket arbeidsflate.
 - d. Åpne flasken med internkontroll og tøm alt innholdet inn i TCR-flasken. Det kan forventes at en liten mengde væske forblir i internkontrollflasken.
 - e. Sett hetten på TCR-flasken og virvle løsningen forsiktig for å blande innholdet. Unngå skumdannelse på dette trinnet.
 - f. Noter operatørinitialene og dagens dato på etiketten.
 - g. Kasser internkontrollflasken og hetten.
 - h. Det kan dannes bunnfall i wTCR, som kan gi ugyldige resultater på grunn av feil ved volumverifisering. Bunnfallet kan løses opp ved å varme opp wTCR ved 42 °C til 60 °C i opptil 90 minutter. La wTCR komme til romtemperatur før det tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet vedvarer.
3. Klargjøre valgreagensen
 - a. Kontroller reagenspartinummeret på strekkodearket for hovedpartier for å være sikker på at det tilhører settet.
 - b. Hvis valgreagensen inneholder bunnfall, varmes valgreagensen ved 60 °C ± 1 °C i opptil 45 minutter for å lette oppløsning av bunnfallet. Bland flasken forsiktig hvert 5. til 10. minutt. La valgreagensen komme til romtemperatur før den tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet eller tåkedannelsen vedvarer.

Merknad: Blandes grundig ved forsiktig snuing av alle reagensene før de settes inn i systemet. Unngå skumdannelse når reagensene inverteres.

- C. Klargjøre reagensen for tidligere rekonstituerte reagenser
 1. Tidligere rekonstituerte amplifikasjons-, enzym- og probereagenser må nå romtemperatur (15 °C til 30 °C) før analysen startes.
 2. Hvis den rekonstituerte probereagensen inneholder bunnfall som ikke går tilbake til løsning ved romtemperatur, skal den oppvarmes ved en temperatur som ikke overstiger 60 °C i 1 til 2 minutter. Skal ikke brukes hvis bunnfall eller tåkedannelse finnes.

3. Hvis wTCR har bunnfall, varmes wTCR opp ved 42 °C til 60 °C i opptil 90 minutter. La wTCR komme til romtemperatur før det tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet vedvarer.
4. Hvis valgreagensen inneholder bunnfall, varmes valgreagensen ved 60 °C ± 1 °C i opptil 45 minutter for å lette oppløsning av bunnfallet. Bland flasken forsiktig hvert 5. til 10. minutt. La valgreagensen komme til romtemperatur før den tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet eller tåkedannelsen vedvarer.
5. Hver reagens skal blandes grundig ved å snu den forsiktig før den settes inn i systemet. Unngå skumdannelse når reagensene inverteres.
6. Ikke fyll opp reagensflaskene. Tigris DTS System vil gjenkjenne og avvise flasker som har blitt fylt helt opp.

D. Håndtere prøver

1. La prøvene (kalibratører, kontroller og prøver) komme opp til romtemperatur før prosessering.
2. **Ikke virvelbland prøver.**
3. SurePath flytende cytologiprøver må behandles med proteinase K før testing med Aptima HPV assay i henhold til instruksjonene i avsnittet *Testprosedyre for Tigris DTS System C*.
4. Kontroller prøverørene før de settes i stativet. Hvis et prøverør inneholder bobler eller har mindre mengde enn det som vanligvis observeres, skal røret sentrifugeres i 5 minutter ved 420 RCF for å sikre at det ikke finnes væske i hetten.

Merknad: Dersom instruksjonene i trinn 4 ikke følges, kan det oppstå væskeutstrømming fra prøverørheten.

E. Klargjøre systemet

Sett opp instrumentet og arbeidslisten i samsvar med instruksjonene i *Tigris DTS System Operator's Manual* (brukerhåndboken for Tigris DTS System) og avsnittet *Prosedyremerknader* nedenfor.

Prosedyremerknader

A. Kalibratører

1. Hver arbeidsliste skal inneholde 3 replikater av den negative kalibratoren og den positive kalibratoren. For å arbeide riktig med Aptima HPV assay-programvaren må den negative kalibratoren være i første rørposisjon i det første stativet på arbeidslisten, og den positive kalibratoren må være i den andre rørposisjonen i det første stativet på arbeidslisten.
2. Forsøk på å pipettere mer enn tre replikater fra et kalibratorrør kan føre til utilstrekkelig volum-feil.

B. Kontroller

1. Aptima HPV assay-programvaren krever kontroller på begynnelsen og slutten av kjøringen. Den negative kontrollen skal være i tredje rørposisjon på det første stativet, og den nest siste rørposisjonen på det siste stativet på arbeidslisten. Den positive kontrollen skal være i fjerde rørposisjon på det første stativet og i siste rørposisjon på det siste stativet på arbeidslisten.
2. Forsøk på å pipettere mer enn en gang fra et kontrollrør kan føre til utilstrekkelig volum-feil.

C. Temperatur

Romtemperatur defineres som 15 °C til 30 °C.

D. Hanskepulver

Som i alle reagenssystemer, kan for mye pulver på hanskene føre til kontaminering av åpne rør. Pulverfrie hansker anbefales.

Panther System

Reagensene til Aptima HPV assay er oppført nedenfor for Panther System. Identifikasjonssymbolene for reagensene er også oppført ved siden av reagensnavnet.

Reagenser og materialer som følger med

Aptima HPV assay, 250 tester, katalognr. 303093 (3 esker)

Aptima HPV assay, 100 tester, katalognr. 302929 (3 esker)

Kalibratorer kan kjøpes separat. Se de individuelle katalognumrene nedenfor.

Aptima HPV kjøleeske (oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

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

Aptima HPV romtemperatureske (oppbevares ved romtemperatur, 15 °C til 30 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
AR	HPV amplifiseringsrekonstitusjonsløsning <i>Vannholdig løsning som inneholder konserveringsmidler.</i>	1
ER	HPV enzymrekonstitusjonsløsning <i>HEPES bufret løsning som inneholder overflateaktivt stoff og glyserol.</i>	1
PR	HPV proberekonstitusjonsløsning <i>Suksinatbufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	1
S	HPV valgreagens <i>600 mM boratbufret løsning som inneholder overflateaktivt stoff.</i>	1
TCR	HPV målinnfangingsreagens <i>Ikke-infeksiøs nukleinsyre i en bufret løsning som inneholder fastfase (< 0,5 mg/ml).</i>	1
	Rekonstitusjonskrager	3
	Strekkodeark for hovedparti	1 ark

Aptima HPV kalibratoreske (katalognr. 302554)
(oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
PCAL	HPV positiv kalibrator <i>Ikke-infeksiøs HPV 16 in vitro-transkript ved 1000 kopier per ml i en bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	5 ampuller
NCAL	HPV negativ kalibrator <i>Bufret løsning som inneholder < 5 % vaskemiddel.</i>	5 ampuller

Materialer som er nødvendige, men leveres separat

Merknad: Materialer tilgjengelige fra Hologic har oppførte katalognumre, med mindre annet er angitt.

	<u>Katalognr.</u>
Panther System	303095
Panther kjøresett	303096
<i>Aptima Assay væskesett</i>	303014
<i>(Aptima vaskeløsning, Aptima buffer for deaktiveringsvæske og Aptima oljereagens)</i>	
<i>Aptima Auto Detect-sett</i>	303013
<i>Multirørenheter (Multi-tube Units, MTU)</i>	104772-02
<i>Panther avfallsposesett</i>	902731
<i>Panther deksel for avfallsbeholder</i>	504405
Spisser, 1000 µl ledende, væskefølende	10612513 (Tecan)
Aptima prøveoverføringssett	301154C
Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver	302657
Aptima gjennomstikkbare hetter	105668
Ugjennomstikkbare erstatningshetter	103036A
Ekstra hetter for 250 testsett:	
<i>Rekonstitusjonsløsninger for amplifiseringsreagens og probereagens</i>	CL0041
<i>Rekonstitusjonsløsning for enzymreagens</i>	501616
<i>TCR og valgreagens</i>	CL0040
Ekstra hetter for 100 testsett:	
<i>Rekonstitusjonsløsninger for amplifiseringsreagens og probereagens</i>	CL0041
<i>Rekonstitusjonsløsning for enzymreagens</i>	CL0041
<i>TCR og valgreagens</i>	501604
Blekemiddel, minimum 5 % eller 0,7 M natriumhypoklorittløsning	—
Engangshansker	—
Aptima overføringsløsningssett (kun for SurePath-prøver)	303658

Valgfrie materialer

	<u>Katalognr.</u>
Blekemiddelforsterker for rengjøring	302101

Testprosedyre for Panther System

Merknad: Se *Panther System Operator's Manual* (brukerhåndboken for Panther System) for mer prosedyreinformasjon om Panther System.

A. Klargjøre arbeidsområdet

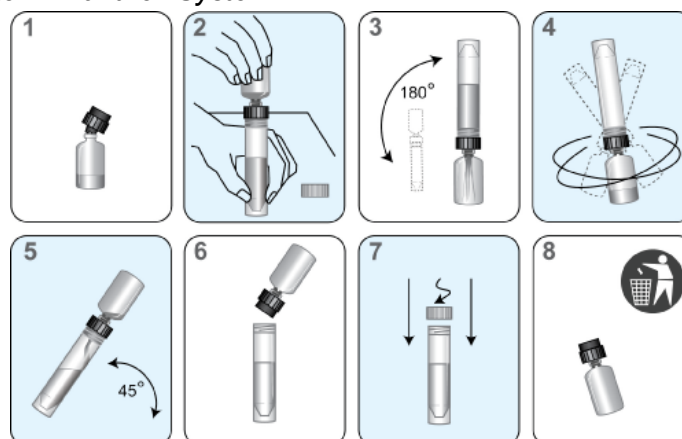
Rengjør arbeidsflater der reagenser og prøver blir tilberedt. Tørk av arbeidsflatene med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La natriumhypoklorittløsningen komme i kontakt med flatene i minst ett minutt og skyll deretter med vann. Pass på at ikke natriumhypoklorittløsningen tørker. Dekk til benkeflatene der reagensene og prøvene skal tilberedes med rene, plastforete, absorberende benkeovertrekk for laboratorier.

B. Reagenstilberedelse med et nytt sett

Merknad: Rekonstitusjon av reagensen skal utføres før noe arbeid på Panther System begynner.

1. For å rekonstituere amplifikasjon-, enzym- og probereagenser blandes flaskene med lyofilisert reagens med rekonstitusjonsløsningen. Hvis de har vært oppbevart i kjøleskap, skal rekonstitusjonsløsningene komme opp til romtemperatur før de brukes.
 - a. Ordne parvis hver rekonstitusjonsløsning med sin lyofiliserte reagens. Sørg for at rekonstitusjonsløsningen og reagensen har samsvarende etikettfarger før rekonstitusjonskragen påsettes.
 - b. Kontroller partinumrene på strekkodearket for hovedpartier for å påse at de riktige reagensene blir ordnet parvis.
 - c. Åpne ampullen med lyofilisert reagens og sett enden med hakket på rekonstitusjonskragen godt inn i ampulleåpningen (figur 3, trinn 1).
 - d. Åpne den tilsvarende rekonstitusjonsløsningen og legg hetten på en ren, tildekket arbeidsflate.
 - e. Mens du holder flasken med løsning på benken, sett den andre enden av rekonstitusjonskragen godt inn i flasken (figur 3, trinn 2).
 - f. Snu de monterte flaskene langsomt. La løsningen tømmes fra flasken inn i glassampullen (figur 3, trinn 3).
 - g. Bland grundig ved å virvle løsningen forsiktig i flasken. Unngå at det dannes skum mens du virvler flasken (figur 3, trinn 4).
 - h. Vent til den lyofiliserte reagensen er opptatt i løsningen, og inverter deretter de sammenmonterte flaskene på nytt. Sett dem i 45° vinkel for å minimere skum (figur 3, trinn 5). La all væske renne tilbake i plastflasken.
 - i. Fjern rekonstitusjonskragen og glassampullen (figur 3, trinn 6).
 - j. Sett hetten tilbake på plastflasken. Noter operatørinitialene og rekonstitusjonsdatoen på alle rekonstituerte reagensampuller (figur 3, trinn 7).
 - k. Fjern rekonstitusjonskragen og ampullen (figur 3, trinn 8).

Advarsel: Unngå skumdannelse når reagensene rekonstitueres. Skum ødelegger nivåfølsomheten i Panther System.



Figur 3. Rekonstitusjonsprosessen i Panther System

2. Klargjør arbeidsmålinnfangingsreagensen (working Target Capture Reagent, wTCR):
 - a. Ordne de aktuelle flaskene med TCR og internkontroll parvis.
 - b. Kontroller reagensens partinumre på strekkodearket for hovedpartier for å påse at de riktige reagensene i settet blir ordnet parvis.
 - c. Åpne TCR-flasken og legg hetten på en ren, tildekket arbeidsflate.
 - d. Åpne flasken med internkontroll og tøm alt innholdet inn i TCR-flasken. Det kan forventes at en liten mengde væske forblir i internkontrollflasken.
 - e. Sett hetten på TCR-flasken og virvle løsningen forsiktig for å blande innholdet. Unngå skumdannelse på dette trinnet.
 - f. Noter operatørinitialene og dagens dato på etiketten.
 - g. Kasser internkontrollflasken og hetten.
 - h. Det kan dannes bunnfall i wTCR, som kan gi ugyldige resultater på grunn av feil ved volumverifiseringen. Bunnfallet kan løses opp ved å varme opp wTCR ved 42 °C til 60 °C i opptil 90 minutter. La wTCR komme til romtemperatur før det tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet vedvarer.
3. Klargjøre valgreagensen
 - a. Kontroller reagenspartinummeret på strekkodearket for hovedpartier for å være sikker på at det tilhører settet.
 - b. Hvis valgreagensen inneholder bunnfall, varmes valgreagensen ved 60 °C ± 1 °C i opptil 45 minutter for å lette oppløsning av bunnfallet. Bland flasken forsiktig hvert 5. til 10. minutt. La valgreagensen komme til romtemperatur før den tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet eller tåkedannelsen vedvarer.

Merknad: Blandes grundig ved forsiktig snuing av alle reagensene før de settes inn i systemet. Unngå skumdannelse når reagensene inverteres.

C. Klargjøre reagensen for tidligere rekonstituerte reagenser

1. Tidligere rekonstituerte amplifikasjons-, enzym- og probereagenser må nå romtemperatur (15 °C til 30 °C) før analysen startes.
2. Hvis den rekonstituerte probereagensen inneholder bunnfall som ikke går tilbake til løsning ved romtemperatur, skal den oppvarmes ved en temperatur som ikke overstiger 60 °C i 1 til 2 minutter. Skal ikke brukes hvis bunnfall eller tåkedannelse finnes.
3. Hvis wTCR har bunnfall, varmes wTCR opp ved 42 °C til 60 °C i opptil 90 minutter. La wTCR komme til romtemperatur før det tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet vedvarer.
4. Hvis valgreagensen inneholder bunnfall, varmes valgreagensen ved 60 °C ± 1 °C i opptil 45 minutter for å lette oppløsning av bunnfallet. Bland flasken forsiktig hvert 5. til 10. minutt. La valgreagensen komme til romtemperatur før den tas i bruk. Skal ikke brukes hvis bunnfallet eller tåkedannelsen vedvarer.
5. Hver reagens blandes grundig ved å snu dem forsiktig før de settes inn i systemet. Unngå skumdannelse når reagensene inverteres.
6. Ikke fyll opp reagensflaskene. Panther System gjenkjenner og forkaster flasker som har blitt fylt helt opp.

D. Håndtere prøver

1. La prøvene (kalibratorene og prøvene) komme til romtemperatur før prosessering.
2. **Prøver må ikke virvles.**
3. Kontroller prøverørerne før de settes i stativet. Hvis et prøverør inneholder bobler eller har mindre mengde enn det som vanligvis observeres, skal røret sentrifuseres i 5 minutter ved 420 RCF for å sikre at det ikke finnes væske i hetten.

Merknad: Dersom instruksjonene i trinn 3 ikke følges, kan det oppstå væskeutstrømming fra prøverørheten.

E. Klargjøre systemet

1. Sett opp systemet i samsvar med instruksjonene i *Panther System Operator's Manual* (brugerhåndboken for Panther System) og avsnittet *Prosedyremerknader* nedenfor. Påse at det brukes reagensstativer og TCR-adaptore av riktig størrelse.
2. Sett inn prøvene.

Prosedyremerknader

A. Kalibratorer

1. For å arbeide riktig med Aptima HPV assay-programvaren på Panther System kreves tre replikater av den positive kalibratoren og tre replikater av den negative kalibratoren. En ampulle av hver kalibrator kan plasseres i hvilken som helst stativposisjon i hvilken som helst prøvebane i Panther System. Prøvepipettering begynner når én av følgende to forhold er oppfylt:
 - a. En positiv og negativ kalibrator blir i øyeblikket prosessert av systemet.
 - b. Gyldige resultater for kalibratore er registrert på systemet.
2. Når kalibratorrørene har blitt pipettert og blir prosessert for et spesifikt reagenssett, kan prøvene kjøres med det tilhørende analysereagenssettet i opptil 24 timer, med mindre:
 - a. Kalibratorene er ugyldige.
 - b. Det tilhørende analysereagenssettet fjernes fra systemet.
 - c. Det tilhørende analysereagenssettet har overskredet stabilitetsgrensene.

3. Forsøk på å pipettere mer enn tre replikater fra et kalibratorrør kan føre til prosesseringsfeil.
- B. Temperatur
Romtemperatur defineres som 15 °C til 30 °C.
- C. Hanskepulver
Som i alle reagenssystemer, kan for mye pulver på hanskene føre til kontaminering av åpne rør. Pulverfrie hansker anbefales.

Kvalitetskontrollprosedyrer

A. Kriterier for kjøringsvaliditet

Programvaren bestemmer automatisk kjøringsvaliditeten. Programvaren vil ugyldiggjøre en kjøring hvis noe av det følgende forekommer:

- Mer enn ett ugyldig negativt kalibratorreplikat.
- Mer enn ett ugyldig positivt kalibratorreplikat.
- En ugyldig negativ kontroll (kun DTS Systems og Tigris DTS System).
- En ugyldig positiv kontroll (kun DTS Systems og Tigris DTS System).

En kjøring kan ugyldiggjøres av en operatør hvis tekniske, operatørmessige, eller instrumentvanskeligheter observeres og dokumenteres ved gjennomføringen av analysen.

En ugyldig kjøring skal gjentas. Avbrutte kjøring må gjentas.

B. Kriterier for kalibratorgodkjennelse

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

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

C. Beregne internkontroll-cutoff

Internkontroll-cutoff bestemmes ut fra internkontroll (flasher)-signalet fra de gyldige negative kalibratorreplikatene.

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

D. Beregne analytt-cutoff

Analytt-cutoff bestemmes ut fra analytt (glower)-signalet fra de gyldige negative kalibratorreplikatene så vel som de gyldige positive kalibratorreplikatene.

$$\text{Analytt-cutoff} = [\text{middelverdien for analytt-RLU i de gyldige negative kalibratorreplikatene}] + [0,09 \times \text{middelverdien for analytt-RLU i de gyldige positive kalibratorreplikatene}]$$

E. Beregne analyttens signal-til-cutoff (S/CO)

Analytt-S/CO bestemmes ut fra analytt-RLU i testprøven og analytt-cutoff for kjøringen.

$$\text{Analytt-S/CO} = \frac{\text{analytt-RLU i testprøve}}{\text{analytt-cutoff}}$$

F. Kriteriene for kontrollgodkjennelse (kun DTS Systems og Tigris DTS System)

Den negative kontrollen må ha et gyldig negativt resultat (internkontroll-RLU \geq internkontroll-cutoff og analytt-S/CO $< 0,50$). Den positive kontrollen skal ha et gyldig positivt resultat (analytt-S/CO $\geq 0,50$).

Testtolking

Resultatene av analysetestene blir automatisk bestemt av analyseprogramvaren. Et testresultat kan være negativt, positivt eller ugyldig, som bestemt av internkontroll-RLU og S/CO for analytten. Et testresultat kan også være ugyldig på grunn av andre parametre (unormal kinetisk kurveform) som ligger utenfor normalt forventede områder. Innledende ugyldige testresultater skal gjentas.

Prøver i Aptima CSCT-settet kan fortynnes for å overvinne eventuelle hemmende substanser. Fortynn 1 del av den ugyldige prøven til 8 deler av prøvetransportmiddel (løsningen i CSCT-settrørene), for eksempel 560 µl av prøven opp i et nytt CSCT-settrør som inneholder 4,5 ml prøvetransportmiddel. Snu forsiktig den fortynnete prøven for å blande den og unngå skumdannelse. Test de fortynnete prøvene i samsvar med standard analyseprosedyre.

Merknad: Et minstevolum på 1,7 ml kreves for å teste 1 alikvot av prøven. Ikke fortynn en ugyldig fortynnet prøve. Hvis en fortynnet prøve gir ugyldig resultat, skal en ny prøve tas fra pasienten.

Resultat fra Aptima HPV Assay	Kriterier
Negativ	<i>Analytt S/CO < 0,50 Internkontroll ≥ Internkontroll-cuttoff Internkontroll ≤ 2 000 000 RLU</i>
Positiv	<i>Analytt S/CO ≥ 0,50 Internkontroll ≤ 2 000 000 RLU Analytt ≤ 13 000 000 RLU</i>
Ugyldig	<i>Internkontroll > 2 000 000 RLU eller Analytt-S/CO < 0,50 og Internkontroll < Internkontroll-cuttoff eller Analytt > 13 000 000 RLU</i>

Begrensninger

- A. Andre prøvetyper enn de som er identifisert i den beregnede bruken, har ikke blitt evaluert.
- B. Ytelsen til Aptima HPV assay har ikke blitt evaluert for HPV-vaksinerte personer.
- C. Aptima HPV assay har ikke blitt evaluert i tilfeller med mistenkt seksuell mishandling.
- D. Prevalens av HPV-infeksjon i en populasjon kan påvirke ytelsen. Positive prediktive verdier reduseres når populasjoner med lav forekomst eller personer uten risiko for infeksjon blir testet.
- E. ThinPrep flytende cytologiprøver som inneholder mindre enn 1 ml etter klargjøring av objektglass for ThinPrep celleprøve, er ansett å være inadekvate for Aptima HPV assay.
- F. Fjerning av 1 ml av en SurePath flytende cytologiprøve før cytologisk behandling har ikke blitt evaluert for innvirkning på cytologiresultatet.
- G. Testresultatene kan påvirkes av uriktig prøveoppsamling, oppbevaring eller prøvebehandling.
- H. Den interne kontrollen overvåker målinnfangings-, amplifiserings- og deteksjonstrinnene i analysen. Den er ikke ment å kontrollere om prøvetakingen fra livmorhalsen er adekvat.
- I. Et negativt Aptima HPV assay-resultat ekskluderer ikke muligheten for cytologiske abnormiteter eller fremtidig eller underliggende CIN2, CIN3 eller kreft.
- J. Personlige smøremidler som inneholder polykvaternium 15, kan forstyrre analyseytelsen når det finnes i konsentrasjoner større enn 0,025 % (v/v eller w/v) i en testprøve.
- K. Antifungale legemidler som inneholder tiokonazol, kan forstyrre analyseytelsen når det finnes i konsentrasjoner større enn 0,075 % (w/v) i en testprøve.
- L. Aptima HPV assay gir kvalitative resultater. Det kan derfor ikke gjøres en korrelasjon mellom størrelsen på et positivt analysesignal og uttrykksnivået på mRNA i en prøve.
- M. Deteksjon av høyrisiko HPV-mRNA er avhengig av antallet kopier som finnes i prøven, og kan påvirkes av prøveoppsamlingsmetoder, pasientfaktorer, infeksjonsstadium og tilstedeværelse av interfererende stoffer.
- N. Infeksjon med HPV er ikke en indikator på cytologisk HSIL eller underliggende høygrads CIN, og tyder heller ikke på at det vil utvikle seg CIN2, CIN3 eller kreft. De fleste kvinner infisert med én eller flere høyrisiko HPV-typer utvikler ikke CIN2, CIN3 eller kreft.
- O. Virkningene av andre potensielle variabler, f.eks. vaginal utflod, bruk av tamponger, vaginal skylling osv. samt prøveoppsamlingsvariabler har ikke blitt evaluert.
- P. Bruk av dette produktet må begrenses til personell som er opplært i bruken av Aptima HPV assay.
- Q. Krysskontaminasjon av prøver kan forårsake falskt positive resultater. Overføringsfrekvensen for Aptima HPV assay på Tigris DTS System er fastslått å være 0,3 % gjennom en ikke-klinisk studie.

- R. Resultatene fra Aptima HPV assay skal tolkes i samhold med andre laboratoriedata og kliniske data som er tilgjengelig for klinikeren.
- S. Falskt positive resultater kan forekomme med denne testen. *In vitro*-transkripter fra lavrisiko HPV-genotyper 26, 67, 70 og 82 utviste kryssreaktivitet med Aptima HPV assay.
- T. Det positive kontrollmaterialet er ikke ment å overvåke ytelsen ved analysens cutoff.

Analyseytelse med DTS System

Klinisk ytelse for Aptima HPV Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver

Over 700 ThinPrep flytende cytologiprøver ble oppsamlet fra europeiske kvinner som ble henvist til oppfølging på grunn av: én eller flere unormale celleprøver, en HPV-infeksjon eller andre grunner. Én milliliter (1,0 ml) av hver prøve ble fortynnet til 2,9 ml av Aptima prøvetransportmiddel og ett enkelt replikat testet med Aptima HPV assay. Cytologi, histologi og resultater fra en kommersielt tilgjengelig HPV DNA-test (HPV-DNA) var tilgjengelig for de fleste prøver. HPV-høyriskostatusen for hver prøve ble bestemt av samsvaret mellom Aptima og den kommersielt tilgjengelige HPV DNA-testen, og av tilleggsanalyse av prøvene med uoverensstemmende resultater ved hjelp av en amplifisert DNA-genotypetest. Sensitiviteten og spesifisiteten for deteksjon av HPV-nukleinsyre ble bestemt. Den kliniske sensitiviteten og spesifisiteten for deteksjon av sykdom, definert som celleforandring i livmorhalsen (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN) 2 eller større histologisk resultat, ble også beregnet for hele populasjonen av prøver, i tillegg til spesifikke undersett, basert på cytologiske resultater.

Sensitiviteten og spesifisiteten i Aptima HPV assay for deteksjon av høyrisiko HPV vises i tabell 1 for de 781 prøvene testet på DTS Systems. Sensitiviteten i analysen var 92,6 %, spesifisiteten var 98,5 %, og de positive og negative prediktive verdiene for deteksjon av høyrisiko HPV var henholdsvis 98,8 % og 90,9 %.

Tabell 1: Sensitiviteten og spesifisiteten i Aptima HPV Assay på DTS Systems for deteksjon av høyrisiko HPV

		Høyrisiko HPV		Totalt
		+	-	
Aptima HPV	+	412	5	417
	-	33	331	364
	Totalt	445	336	781

Sensitivitet (95 % KI (konfidensintervall)) = 92,6 % (89,8-94,7)

Spesifisitet (95 % KI) = 98,5 % (96,6-99,4)

Positiv prediktiv verdi = 98,8 %

Negativ prediktiv verdi = 90,9 %

Den kliniske sensitiviteten og spesifisiteten i Aptima HPV assay for deteksjon av \geq CIN2 vises i tabell 2a for de 753 prøvene med histologiske resultater testet på DTS Systems. Den kliniske sensitiviteten i analysen var 90,8 %, spesifisiteten var 55,7 %, og de positive og negative prediktive verdiene for deteksjon av \geq CIN2 var henholdsvis 32,1 % og 96,3 %. Sensitiviteten i Aptima HPV assay var tilsvarende HPV-DNA, som var 95,0 % (tabell 2b), men spesifisiteten i Aptima HPV assay var signifikant høyere enn HPV-DNA-spesifisiteten, som var 47,4 % i denne populasjonen for deteksjon av \geq CIN2-lesjoner. Av de 753 prøvene med histologiske resultater, hadde 159 et ASCUS cytologieresultat. Sensitiviteten og spesifisiteten i Aptima HPV assay i denne populasjonen var henholdsvis 92,3 % og 41,4 % for deteksjon av \geq CIN2.

Lignende analyser ble også utført med et klinisk endepunkt på \geq CIN3. Den kliniske sensitiviteten og spesifisiteten i Aptima HPV assay for deteksjon av \geq CIN3 vises i tabell 3a for de 753 prøvene med histologiske resultater testet på DTS Systems. Den kliniske sensitiviteten i analysen var 97,7 %, spesifisiteten var 52,9 %, og de positive og negative prediktive verdiene for deteksjon av \geq CIN3 var henholdsvis 21,3 % og 99,4 %. Sensitiviteten i Aptima HPV assay lignet igjen på den som gjelder for HPV-DNA, der sensitiviteten for deteksjon av \geq CIN3 var 98,9 % (tabell 3b) og spesifisiteten i Aptima HPV assay var

signifikant høyere enn spesifisiteten i HPV-DNA, som var 44,4 % i denne populasjonen for deteksjon av \geq CIN3-lesjoner. Av de 753 prøvene med histologiske resultater, hadde 159 et ASC-US cytologireultat. Sensitiviteten og spesifisiteten for Aptima HPV assay i denne populasjonen var henholdsvis 100 % og 40,1 % for deteksjon av \geq CIN3.

Disse resultatene, som ga lignende sensitivitet og signifikant høyere spesifisitet for Aptima HPV assay, sammenlignet med høyrisiko DNA-deteksjon, ligner på resultatene oppnådd i andre studier.^{27,28,29,30,31}

Tabell 2a: Sensitivitet og spesifisitet i Aptima HPV Assay på DTS Systems for deteksjon av sykdom (\geq CIN2)

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

Sensitivitet (95 % KI) = 90,8 % (84,9-94,5)

Spesifisitet (95 % KI) = 55,7 % (51,8-59,6)

Positiv prediktiv verdi = 32,1 %

Negativ prediktiv verdi = 96,3 %

Tabell 2b: Sensitivitet og spesifisitet i HPV-DNA-testen for deteksjon av sykdom (\geq CIN2)

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

Sensitivitet (95 % KI) = 95,0 % (90,1-97,6)

Spesifisitet (95 % KI) = 47,4 % (43,5-51,4)

Positiv prediktiv verdi = 29,4 %

Negativ prediktiv verdi = 97,6 %

Tabell 3a: Sensitivitet og spesifisitet i Aptima HPV Assay på DTS Systems for deteksjon av sykdom (\geq CIN3)

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

Sensitivitet (95 % KI) = 97,7 % (92,0-99,4)

Spesifisitet (95 % KI) = 52,9 % (49,1-56,6)

Positiv prediktiv verdi = 21,3 %

Negativ prediktiv verdi = 99,4 %

Tabell 3b: Sensitivitet og spesifisitet i HPV-DNA-testen for deteksjon av sykdom (\geq CIN3)

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

Sensitivitet (95 % KI) = 98,9 % (93,8-99,8)

Spesifisitet (95 % KI) = 44,4 % (40,7-48,2)

Positiv prediktiv verdi = 18,9 %

Negativ prediktiv verdi = 99,7 %

Klinisk ytelse for Aptima HPV Assay med livmorhalsprøver oppsamlet for transport

Parede ThinPrep flytende cytologiprøver og Aptima CSCT-settprøver ble oppsamlet fra 728 personer. Én milliliter (1,0 ml) av hver ThinPrep flytende cytologiprøve ble fortynnet i 2,9 ml av Aptima prøvetransportmiddel og ett enkelt replikat testet med Aptima HPV assay på DTS Systems. Ett enkelt replikat av hver CSCT-prøve ble også testet med Aptima HPV assay. Det prosentvise samsvaret for Aptima HPV assay mellom ThinPrep flytende cytologiprøver og CSCT-prøvene ble bestemt og vises i tabell 4.

Det prosentvise positive samsvaret var 95,1 % (95 % KI: 91,6-97,2), det prosentvise negative samsvaret var 95,9 % (95 % KI: 93,7-97,3), og det totale samsvaret var 95,6 % (95 % KI: 93,9-96,9). Det ble observert en sterk korrelasjon mellom den flytende den flytende celleprøven og transportsettprøvene ($\kappa = 0,90$).

Tabell 4: Totalt samsvar mellom Aptima HPV Assay-resultater fra ThinPrep flytende cytologiprøver og Aptima CSCT-prøver testet på DTS Systems

		ThinPrep flytende cytologiprøve		Totalt
		+	-	
Aptima CSCT-settprøve	+	233	20	253
	-	12	463	475
	Totalt	245	483	728

Positivt samsvar = 95,1 % (91,6-97,2)
 Negativt samsvar = 95,9 % (93,7-97,3)
 Generelt samsvar = 95,6 % (93,9-96,9)
 Kappa-koeffisient = 0,90

Analytisk sensitivitet

Den analytiske sensitiviteten i Aptima HPV assay for deteksjon av høyrisiko HPV ble bestemt ved å teste individuelle negative kliniske ThinPrep flytende cytologiprøver, tilsatt HPV *in vitro*-transkripter eller infiserte celler i ulike konsentrasjoner. Tretti replikater for hvert kopinivå ble testet med hvert av to reagenspartier for totalt 60 replikater. Probit regresjonsanalyse ble utført og den predikerte 95 % deteksjonsgrensen bestemt for hver HPV-type (tabell 5).

Probit regresjonsanalyse viser at HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 56, 58, 59, 66 og 68 hadde predikert 95 % deteksjonsgrenser mindre enn 100 kopier/reaksjon, og type 51 og 52 hadde predikert 95 % deteksjonsgrenser mellom 100 og 300 kopier/reaksjon.

Tabell 5: Predikert 95 % deteksjonsgrense i Aptima HPV Assay bestemt av Probit-analyse av DTS Systems-dataene

Mål	95 % deteksjonsgrense* (95 % konfidensgrenser)
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)

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

Analysens reproducerbarhet

Reproducerbarheten til Aptima HPV assay ble bestemt ved å teste 16 panelementer i triplikat i 2 kjøring med 2 reagensparti, på 3 instrumenter av 3 operatører. Testingen ble utført over 20 dager på ett studiested. Panelementene er beskrevet i tabell 6. Seks av panelementene var HPV-negative (3 var Aptima prøvetransportmidler og 3 var samlede ThinPrep flytende cytologi prøver), fire var HPV lavt positive (~95 % deteksjonsgrense), og seks var HPV moderat positive ($\geq \sim 3 \times 95$ % deteksjonsgrensen). De lavt positive og moderat positive panelementene bestod av enten *in vitro*-transkript (IVT) eller HPV-infiserte kultiverte celler i Aptima prøvetransportmiddel.

Tabell 6: Reproducerbarhetspanel for Aptima HPV Assay

Panelement	Beskrivelse	Konsentrasjon	Forventet HPV-resultat
1	STM-parti 1	I/A	Negativ
2	SiHa lavt positiv	1 celle/reaksjon	Positiv
3	HeLa lavt positiv	0,15 celle/reaksjon	Positiv
4	Klinisk sett 1	I/A	Negativ
5	ME180 moderat positiv	1 celle/reaksjon	Positiv
6	MS751 moderat positiv	1 celle/reaksjon	Positiv
7	SiHa og HeLa moderat positiv	10 celle/reaksjon og 1 celle/reaksjon	Positiv
8	STM-parti 2	I/A	Negativ
9	Klinisk sett 2	I/A	Negativ
10	HPV 16 IVT lavt positiv	30 kopier/reaksjon	Positiv
11	HPV 18 IVT lavt positiv	30 kopier/reaksjon	Positiv
12	STM-parti 3	I/A	Negativ
13	HPV 16 IVT moderat positiv	100 kopier/reaksjon	Positiv
14	HPV 18 IVT moderat positiv	100 kopier/reaksjon	Positiv
15	HPV 16 og HPV 18 moderat positiv	100/100 kopier/reaksjon	Positiv
16	Klinisk sett 3	I/A	Negativ

Ett hundre og åtte datapunkter for hvert element i reproducerbarhetspanelet ble analysert for DTS Systems, og resultatene av dette er oppsummert i tabell 7. Prosenten positiv for negative paneler rangerte fra 0 til 3,7, lavt positiv var ≥ 98 , og moderat positiv var 100. Samsvaret med forventet resultat var > 96 % for alle panelementer.

Gjennomsnittlig internkontroll-S/CO ble bestemt for de 6 negative panelementene (1, 4, 8, 9, 12 og 16). Inter-instrument-, -operatør-, -parti- og -kjøringsvariabilitet ble beregnet så vel som intra-kjøringsvariabilitet. Gjennomsnittlig internkontroll S/CO for de negative panelementene rangerte fra 1,76 til 1,92. Variasjonskoeffisienten (coefficient of variation, CV) for internkontrollens S/CO-verdier var ganske lav, < 10 % for alle parametrene som ble evaluert. Variabiliteten for analytt S/CO-verdiene for de negative panelementene ble ikke analysert for de negative panelementene på grunn av innebygget variabilitet når nullverdiene ble observert.

Gjennomsnittlig analytt S/CO ble bestemt for de 10 positive panelementene (2-3, 5-7, 10-11 og 13-15). Inter-instrument-, -operatør-, -parti- og -kjøringsvariabilitet ble beregnet så vel som intra-kjøringsvariabiliteten. De gjennomsnittlige analytt S/CO-verdiene rangerte fra 9,00 til 10,70 for lavt positive paneler og 8,84 til 15,75 for moderat positive paneler. De to panelementene som inneholdt to høyrisiko HPV-typer, panel 7 og 15, hadde gjennomsnittlige analytt S/CO-verdier på henholdsvis 22,90 og 23,37. Variasjonskoeffisientene for lavt positive og moderat positive panelementer var henholdsvis < 35 % og < 15 %, med den høyeste variabiliteten observert innenfor en kjøring. Internkontrollens S/CO-verdier ble ikke evaluert for de positive

panelementene, fordi internkontroll-RLU ikke er indikativ av en individuell reaksjons ytelse i en analyttpositiv prøve.

Tabell 7: Reproduserbarhet for Aptima HPV Assay på DTS Systems

					Gjennomsnittlig S/CO		S/CO variabilitetsanalyse*											
							Inter-instrument		Inter-operatør		Inter-parti		Inter-kjøring		Intra-kjøring		Totalt	
Panel-element	Beskrivelse	N	% positiv	Samsvar	IC	Analytt	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	Lavt pos	108	99,1	98,1 %	I/A	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	Lavt pos	108	100	99,1 %	I/A	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	Mod pos	107 [^]	100	100 %	I/A	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	Mod pos	108	100	100 %	I/A	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	Mod pos	107 [^]	100	100 %	I/A	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	Lavt pos	108	99,1	99,1 %	I/A	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	Lavt pos	108	98,1	98,1 %	I/A	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	Mod pos	108	100	100 %	I/A	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	Mod pos	108	100	100 %	I/A	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	Mod pos	108	100	100 %	I/A	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

*Internkontroll-S/CO-variabilitetsanalyse for de negative panelene (1, 4, 8, 9, 12, 16), analytt-S/CO-variabilitetsanalyse for de positive panelene (2, 3, 5, 6, 7, 10, 11, 13, 14, 15)

[^]1 ugyldig reaksjon ikke testet på nytt

S/CO = signal-til-cutoff-forhold

SD = standardavvik

I/A = ikke aktuelt

Kryssreaktivitet

Den analytiske spesifisiteten i Aptima HPV assay ble evaluert med PreservCyt løsningsmiddel fortynnet i Aptima prøvetransportmiddel og tilsatt kultiverte bakterier, gjær eller sopp, kultivert virus eller lavrisiko HPV *in vitro*-transkripter. Den analytiske sensitiviteten ble evaluert med samme panel, tilsatt en lav konsentrasjon av HPV-infiserte SiHa celler (1 celle per reaksjon). Organismene og testkonsentrasjonene er angitt i tabell 8. Ingen effekt på spesifisitet eller sensitivitet i Aptima HPV assay ble observert med noen av organismene som ble testet.

Tabell 8: Analytisk spesifisitetspanel

Organisme	Testkonsentrasjon	Organisme	Testkonsentrasjon
Bakterier			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Micrococcus luteus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2 x 10 ⁷ CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	5 x 10 ⁷ CFU/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Bacillus cereus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5 x 10 ⁷ CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	5 x 10 ⁷ CFU/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Neisseria gonorrhoeae og Chlamydia trachomatis</i>	5 x 10 ⁸ CFU/ ml 1,5 x 10 ⁴ TCID 50/ml
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	2 x 10 ⁴ TCID 50/ml	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Clostridium difficile</i>	6 x 10 ⁷ CFU/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Providencia stuartii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Ruminococcus productus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Fingoldia magna</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Serratia marcescens</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml		

Tabell 8: Analytisk spesifisitetspanel (fortsett)

Organisme	Testkonsentrasjon	Organisme	Testkonsentrasjon
Gjær/protozoer			
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 x 10 ⁷ celler/ml
Viruser			
Adenovirus 2	1 x 10 ⁶ vp/ml	Herpes simplex virus 1	2,5 x 10 ⁵ TCID 50/ml
Cytomegalovirus	33 TCID 50/ml	Herpes simplex virus 2	5 x 10 ⁴ TCID 50/ml
Epstein-Barr virus	4 x 10 ⁷ vp/ml	SV40	1,2 x 10 ⁴ TCID 50/ml
HIV-1	1,0 x 10 ⁶ kopier/ml		
Ikke-målttede HPV-genotyper			
HPV 6	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 53	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 11	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 61	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 42	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 71	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 43	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 81	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 44	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml		

Interferens

Substansene beskrevet i tabell 9 ble individuelt tilsatt i PreservCyt-løsning og Aptima prøvetransportmiddel (Specimen Transport Media, STM) ved 1 % og 10 % v/v eller w/v og testet med Aptima HPV assay. Alle substansene ble testet i nærvær og fravær av HPV-infiserte kultiverte celler (SiHa, 3 celler/reaksjon). Interferens ble ikke observert ved noen av substansene som ble testet, bortsett fra to av de fem smøremidlene som inneholdt polykvaternium 15 med konsentrasjoner på > 0,025 % i testprøven, og et antifungalt legemiddel som inneholdt tioconazol med konsentrasjoner på > 0,075 % i testprøven.

Tabell 9: Substanser testet for mulig interferens med Aptima HPV Assay

Produktkategori	Produktmerke eller -type
Smøremiddel	KY Sensual Mist (v/v)
	KY Warming Jelly (w/v)
	KY Warming Liquid (v/v)
	Astroglide personlig smøremiddel*
	Target-merke smørende væske*
Sæddrepende middel	Gynol II vaginalt prevensjonsmiddel original formel (w/v)
	Gynol II vaginalt prevensjonsmiddel ekstra styrke (w/v)
	Delfen vaginalt prevensjonsmiddel skum (w/v)
	Encare vaginalt prevensjonsmiddel (w/v)
	Conceptrol vaginalt prevensjonsmiddel (w/v)
Antifungalt/antikløe-legemiddel	Vagisil maksimal styrke (w/v)
	Monistat Soothing Care (w/v)
	Monistat 3 kombinasjonspakke (w/v)
	Target-merke tiokonazol 1 (w/v)
	Target-merke mikonazol 3 (w/v)
Iseddiksyre	EMD M/N AX0073-11 (v/v)
Helblod	helblod (v/v)

*Personlige smøremidler som inneholder polykvaternium 15.

Forventede resultater for Tigris DTS System: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA

Prevalensen av høyrisiko HPV-infeksjon varierer mye og påvirkes av flere faktorer, hvor alder er den største medvirkeren.^{32,33} Mange studier har undersøkt HPV-prevalensen som fastslått gjennom deteksjon av HPV-DNA, men få studier rapporterer prevalens basert på deteksjon av HPV-onkogent mRNA. Kvinner fra en rekke kliniske steder (n = 18), og som representerte en bred geografisk distribusjon og en mangfoldig populasjon (10 delstater i USA), ble registrert i en prospektiv klinisk studie kjent som CLEAR-studien.³⁴ Prevalensen av HPV-mRNA-positive prøver observert i den kliniske studien ble kategorisert samlet, etter aldersgruppe og teststed. Resultatene vises i tabell 10 for populasjonene atypiske plateepitelceller av ubestemt signifikans (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) og negativ for intraepitelial lesjon eller malignitet (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM).

Tabell 10: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA etter aldersgruppe, teststed og alle kombinert

	Positivitetsfrekvens % (x/n)	
	Populasjonen ASC-US (≥ 21 år)	Populasjonen NILM (≥ 30 år)
Alle	41,8 (400/958)	5,0 (540/10 871)
Aldersgruppe (år)		
21 til 29	60,3 (252/418)	I/A
30 til 39	36,8 (98/266)	6,9 (289/4199)
≥ 40	18,2 (50/274)	3,8 (251/6672)
Teststed		
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)

I/A = ikke aktuelt

Oppsett for klinisk studie av Aptima HPV Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver

En prospektiv, klinisk multisenterstudie i USA kjent som CLEAR-studien ble utført for å fastslå den kliniske ytelsen til Aptima HPV assay for deteksjon av intraepitelial neoplasi grad 2 i livmorhalsen eller alvorligere livmorhalssykdom (\geq CIN2). CLEAR-studien inkluderte en baselinjeevaluering og en 3-års oppfølgingsevaluering.³⁴

CLEAR-studien - baselineevaluering

Ved baseline for CLEAR-studien (baselinefasen) ble kvinner registrert i enten ASC-US-studien eller NILM-studien basert på cytologieresultater fra rutinemessig kreftscreening av livmorhals. Populasjonen i ASC-US-studien inkluderte kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater, og populasjonen i NILM-studien inkluderte kvinner 30 år og eldre med NILM-cytologieresultater. NILM-studien ble satt opp for å støtte tilleggskravet til screening for kvinner 30 år og eldre, da kvinner i denne aldersgruppen med cytologieresultater høyere enn ASC-US bør få kolposkopi uansett HPV-status.³⁵

Kvinner fra 18 kliniske steder, hovedsakelig obstetriske/gynekologiske klinikker, som dekket en bred geografisk distribusjon og en mangfoldig populasjon, ble opptatt i studien. Kvalifiserte kvinner ble tilordnet ASC-US-studien eller NILM-studien basert på deres henviste ThinPrep væskebaserte cytologiprøve. Ved baseline ble residuale henvisningsprøver fra kvinner i ASC-US-studien og i NILM-studien testet med både Aptima HPV assay og en kommersielt tilgjengelig HPV-DNA-test.

Ved baselinjen ble alle kvinner i ASC-US-studien henvist til kolposkopi, uansett HPV-testresultat. En endocervikal utskrapningsbiopsi (endocervical curettage biopsy, ECC) og cervikale stansbiopsier (1 biopsi fra hver av de 4 kvadrantene) ble tatt. Hvis en lesjon var synlig, ble det tatt en stansbiopsi (rettet metode, 1 biopsi per lesjon), og det ble tatt biopsier fra kvadranter uten synlig lesjon i transformasjonssonen (tilfeldig metode).

I NILM-studien ble kvinner som var positive med Aptima HPV assay og/eller den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen, så vel som tilfeldig utvalgte kvinner som var negative med begge analyser, henvist til kolposkopi for baseline-evaluering. De tilfeldig utvalgte kvinnene som var negative for begge analyser, ble inkludert for å korrigere for verifikasjonsbias med justerte ytelsesestimer generert ved hjelp av en multippel imputering-metode. En ECC-biopsi ble tatt fra alle kvinner som deltok på kolposkopien. Stansbiopsier ble tatt fra kun synlige lesjoner (rettet metode, 1 biopsi per lesjon).

Sykdomsstatusen ble fastslått ut fra et konsensus-histologisk granskningspanel, som var basert på enighet mellom minst 2 ekspertpatologer. Ekspertpatologene var blindet overfor kvinnens HPV-status. De var også blindet for cytologistatus, samt hverandres histologidiagnoser. Hvis de tre patologene av uenige, gjennomgikk alle 3 patologer objektglassene ved et flerhodet mikroskop for å bli enige. Utprøvere, klinikere og kvinner var blindet overfor HPV-testresultatene til etter fullføring av kolposkopibesøket, for å unngå bias. Ved baseline ble klinisk ytelse av Aptima HPV assay for deteksjon av \geq CIN2 og intraepitelial neoplasi grad 3 i livmorhalsen eller alvorligere livmorhalssykdom (\geq CIN3) vurdert i forhold til status for livmorhalssykdommen som ble bestemt ved baseline. Klinisk ytelse for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen ble også fastslått for direkte sammenligning med Aptima HPV assay-resultatene.

CLEAR-studien - Oppfølgingsvurdering

Kvinner i NILM-studien fra 14 kliniske områder var kvalifisert til å delta i den 3-årige oppfølgingsfasen av studien dersom: i) de hadde et kolposkopibesøk ved baseline, og de ikke hadde \geq CIN2, eller ii) de ikke hadde et kolposkopibesøk ved baseline. Oppfølgingsfasen av studien besto av årlige besøk. På disse besøkene ble cervikal prøvetaking for cytologi utført for hver kvinne, og noen kvinner ble undersøkt med en kommersielt tilgjengelig HPV-test. Kvinner med ASC-US eller mere alvorlige cytologiresultater under oppfølgingsperioden ble henvist til kolposkopi ved bruk av samme biopsi og histologiske undersøkelsesprosedyrer utført for NILM studiens baseline vurdering. Status for livmorhalssykdom på et oppfølgingsbesøk ble ansett som "negativ", basert på NILM-cytologi, eller for kvinner med unormale cytologi testresultater, basert på normale CIN1 konsensushistologisk granskningspanel. Kvinner der \geq CIN2 ble oppdaget under oppfølgingsperioden ble ansett for å ha gjennomført oppfølgingen og deltok ikke i noen besøk etter at \geq CIN2 ble oppdaget. Kvinner som ikke hadde \geq CIN2 oppdaget under oppfølgingsperioden, men som deltok på et studiebesøk i oppfølgingsår 1 og/eller oppfølgingsår 2 og som deltok på et studiebesøk på oppfølgingsår 3, ble ansett for å ha fullført oppfølgingen.

Målet med oppfølgingsstudien var å sammenligne den kumulative 3-årige risikoen for livmorhalssykdom hos kvinner med baseline positive Aptima HPV assay-resultater med den kumulative 3-årige risikoen for livmorhalssykdom hos kvinner med baseline negative Aptima HPV assay-resultater. Den 3-årige statusen for livmorhalssykdom ble fastsatt som følger:

- Positiv livmorhalssykdom (\geq CIN2 og eller \geq CIN3) - Kvinner som hadde \geq CIN2 oppdaget ved baseline eller under oppfølging.
- Negativ status for livmorhalssykdom (\geq CIN2) - Kvinner som fullførte oppfølging uten påvisning av \geq CIN2 og som ikke ble ansett for å ha "ubestemmelig" status for livmorhalssykdom.
- Ubestemmelig status for livmorhalssykdom - Kvinner som hadde unormale cytologi testresultater under oppfølging og som ikke hadde påfølgende CRHP- resultater, eller kvinner med utilstrekkelig cytologi på siste besøk.
- Manglet for oppfølging - Kvinner som ikke fullførte oppfølging og som ikke ble ansett for å ha "ubestemmelig" status for livmorhalssykdom.

Klinisk ytelse av Aptima HPV assay for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 ble evaluert i forhold til den 3-årige statusen for livmorhalssykdom.

Analyseytelse for Tigris DTS System

Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Klinisk ytelse for Aptima HPV Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver

Det var totalt 1252 kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater registrert i ASC-US-studien. Av disse ble 294 kvinner avregistrert, og 19 hadde en ubestemt sykdomsdiagnose. Alle ble ekskludert fra analysen. De gjenværende 939 evaluerbare kvinnene var 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater, Aptima HPV assay-resultater og bestemt sykdomsstatus. Nittien (91) kvinner hadde \geq CIN2, og førtien (41) hadde \geq CIN3. Prevalensen av \geq CIN2 og \geq CIN3 hos evaluerbare kvinner med ASC-US-cytologieresultater var henholdsvis 9,7 % og 4,4 %. Resultatene av Aptima HPV assay i henhold til diagnosene fra det konsensus-histologiske granskningspanelet vises i tabell 11.

Tabell 11: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Resultater av Aptima HPV Assay i henhold til diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel

Resultat fra Aptima HPV Assay*	HPV-DNA-test	Diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel						
		Ubestemt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Kreft	Totalt
Positiv	Positiv	6	170	113	41	32	1	363
Positiv	Negativ	0	7	0	1	2	0	10
Positiv	Intet resultat***	0	14	11	0	2	0	27
Negativ	Positiv	0	47	13	2	3	0	65
Negativ	Negativ	10	371	55	6	1	0	443
Negativ	Intet resultat***	3	40	7	0	0	0	50
Totalt		19	649	199	50	40	1****	958

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

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

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

****Én pasient hadde adenokarsinom in situ (AIS).

Kliniske ytelsesestimater for Aptima HPV assay, inkludert sensitivitet, spesifisitet, positiv prediktiv verdi (PPV) og negativ prediktiv verdi (NPV) for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 basert på evaluering av alle biopsier og inkludering av kun rettede biopsier, vises i tabell 12, og det samme gjelder estimater for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen.

Tabell 12: Populasjonen ASC-US ≥ 21 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av ≥ CIN2 og ≥ CIN3

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

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

**Konsensus-histologisk resultat ble utledet basert på kun resultater fra rettede biopsier. Kvinner uten rettede biopsier gjenspeiler en normal kolposkopi og er inkludert i disse analysene som ikke-syke (< CIN2 eller < CIN3 etter hva som er aktuelt). En konsensus ble ikke alltid nådd når kun rettede biopsier var inkludert.

Ved evaluering av alle biopsier var de kliniske sensitivitetsestimatene for Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen, der begge analyseresultater er tilgjengelige, lignende for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 (forskjeller i sensitivitetsestimater var ikke statistisk signifikante: sensitivitetsforskjell = -2,3 % [95 % KI: -9,5 %, 4,8 %]). Kliniske spesifisitetsestimater for Aptima HPV assay for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 var høyere enn de for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen (forskjeller i spesifisitetsestimater var statistisk signifikante). For \geq CIN2 var spesifisitetsforskjellen 6,8 % (95 % KI: 4,9 %, 9,0 %). NPV var lignende, men for deteksjonen av \geq CIN2 var PPV for Aptima HPV assay litt høyere enn PPV for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen (20,1 % mot 18,7 %).

Av de 91 tilfellene \geq CIN2 ble 60 (65,9 %) identifisert i rettede biopsier og 31 (34,1 %) identifisert fra tilfeldige og/eller ECC-biopsier (dvs. ikke i rettede biopsier). Disse funnene er tilsvarende resultatene fra publiserte studier, der ca. 25 % til 40 % av tilfeller \geq CIN2 ble identifisert fra kun tilfeldige og/eller ECC-biopsiprøver.^{36,37} Ved bruk av kun rettede biopsier til å fastslå sykdomsstatus (forutsatt at kvinner uten rettede biopsier hadde normale histologieresultater fordi ingen synlige lesjoner var til stede) var prevalensen av \geq CIN2 og \geq CIN3 i studien henholdsvis 6,4 % og 3,1 %. De kliniske sensitivitetsestimatene for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 var høyere for begge tester ved bruk av kun rettede biopsier enn estimer beregnet ved bruk av alle biopsier. For begge analyser var den kliniske spesifisiteten ved bruk av kun rettede biopsier lignende spesifisiteten oppnådd med alle biopsier inkludert. Følgelig, når kun rettede biopsier ble brukt, var spesifisiteten for Aptima HPV assay signifikant høyere enn den for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen.

Kliniske ytelsesestimater for Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen vises etter aldersgruppe i tabell 13 og tabell 14 (henholdsvis \geq CIN2 og \geq CIN3, basert på evaluering av alle biopsier).

Tabell 13: Populasjonen ASC-US ≥ 21 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av ≥ CIN2 etter aldersgruppe

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

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

Tabell 14: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av \geq CIN3 etter aldersgruppe

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

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

Den absolutte risikoen for sykdom (\geq CIN2 og \geq CIN3, basert på evaluering av alle biopsier) i henhold til Aptima HPV assay-resultat og den relative risikoen for sykdom, for positive kontra negative Aptima HPV assay-resultater vises i tabell 15, og det samme gjelder estimatene for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen. Den relative risikoen for \geq CIN2 var 9,1 (95 % KI: 5,0, 16,5), som indikerer at en kvinne som var Aptima HPV assay-positiv hadde 9,1 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 sammenlignet med en kvinne som var Aptima HPV assay-negativ. Den relative risikoen for \geq CIN3 var 12,8 (95 % KI: 4,6, 35,6).

Tabell 15: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test

	Assay-resultat	Aptima HPV Assay N=939		HPV-DNA-test N=865*	
		Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
\geq CIN2	Positiv	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)
	Negativ	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)		2,3 (10/443) (1,2, 3,8)	
	Prevalens (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
\geq CIN3	Positiv	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)
	Negativ	0,7 (4/545) (0,2, 1,7)		0,7 (3/443) (0,2, 1,7)	
	Prevalens (%)	4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	

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

Absolutte og relative risikoestimer for sykdom (\geq CIN2 og \geq CIN3, basert på evaluering av alle biopsier) for Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen vises etter aldersgruppe i tabell 16.

Tabell 16: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test etter aldersgruppe

	Alder	Assay-resultat	Aptima HPV Assay N=939		HPV-DNA-test N=865*	
			Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
\geq CIN2	21 til 29 år		N=415		N=389	
		Positiv	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)
		Negativ	3,6 (6/165) (1,5, 7,0)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalens (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 til 39 år		N=262		N=239	
		Positiv	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)
		Negativ	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalens (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
	\geq 40 år		N=262		N=237	
		Positiv	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)
		Negativ	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)		1,6 (3/184) (0,4, 3,4)	
		Prevalens (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)	
\geq CIN3	21 til 29 år		N=415		N=389	
		Positiv	10,4 (26/250) (8,9, 11,4)	17,2 (2,4, 125)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Kan ikke beregnes
		Negativ	0,6 (1/165) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalens (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 til 39 år		N=262		N=239	
		Positiv	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)
		Negativ	0,6 (1/167) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalens (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
	\geq 40 år		N=262		N=237	
		Positiv	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)
		Negativ	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)		0,5 (1/184) (0,0, 1,8)	
		Prevalens (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)	

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

Populasjonen NILM \geq 30 år: Klinisk ytelse for Aptima HPV Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver ved baseline

Totalt 11 644 kvinner med NILM-cytologieresultater ble registrert i NILM-studien. Av disse ble 773 kvinner avregistrert og ekskludert fra baseline-evalueringen. De gjenværende 10 871 evaluerbare kvinnene var 30 år og eldre med NILM-cytologieresultater og Aptima HPV assay-resultater. Av de 540 kvinnene med positive Aptima HPV assay-resultater fikk 335 kolposkopi ved baseline. Av de 10 331 kvinnene med negative Aptima HPV assay-resultater fikk 530 kolposkopi ved baseline. Tjue (20) kvinner hadde \geq CIN2, og elleve (11) hadde \geq CIN3; 799 kvinner hadde normal/CIN1-histologi; 46 kvinner hadde ubestemt sykdomsstatus. Resultatene av Aptima HPV assay i henhold til diagnosen fra det konsensus-histologiske granskningspanelet ved baseline vises i tabell 17.

Tabell 17: Populasjonen NILM \geq 30 år: Resultater av Aptima HPV Assay og en HPV DNA-test gjennom diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel ved baseline

Resultat fra Aptima HPV Assay*	HPV-DNA-test	Diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel						
		Ubestemt	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Kreft	Totalt
Positiv	Positiv	11	212	11	4	7	2	247
Positiv	Negativ	7	59	0	1	0	1	68
Positiv	Intet resultat**	3	16	1	0	0	0	20
Negativ	Positiv	10	170	8	2	1	0	191
Negativ	Negativ	15	313	9	1	0	0	338
Negativ	Intet resultat**	0	0	0	1	0	0	1
Totalt		46	770	29	9	8	3***	865

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

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

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

Totalt 10 052 kvinner hadde uverifisert (inkludert ubestemt) sykdomsstatus (tabell 18). Fordi kun tilfeldig utvalgte kvinner med negativt resultat for både Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen ble henvist til kolposkopi, var andelen kvinner med uverifisert sykdomsstatus høy i denne gruppen (96,6 %). For å justere for denne verifikasjonsbiasen ble det brukt en multipl imputering-metode til å estimere antallet kvinner med sykdom som ville ha blitt identifisert hvis alle kvinner hadde fått kolposkopi. Både verifikasjonsbiasjusterte ytelsesestimater og ujusterte ytelsesestimater, basert på de 819 kvinnene med verifisert sykdomsstatus ved baseline, vises.

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

Resultat fra Aptima HPV Assay*	HPV-DNA-test	Totalt antall kvinner	Verifisert sykdomsstatus: \geq CIN2		Verifisert sykdomsstatus: \geq CIN3		Uverifisert sykdomsstatus
			Kvinner med sykdom (\geq CIN2)	Kvinner uten sykdom ($<$ CIN2)	Kvinner med sykdom (\geq CIN3)	Kvinner uten sykdom ($<$ CIN3)	Kvinner med ukjent sykdomsstatus (% ukjente)
Positiv	Positiv	360	13	223	9	227	124 (34,4 %)
Positiv	Negativ	150	2	59	1	60	89 (59,3 %)
Positiv	Intet resultat**	30	0	17	0	17	13 (43,3 %)
Negativ	Positiv	306	3	178	1	180	125 (40,8 %)
Negativ	Negativ	9420	1	322	0	323	9097 (96,6 %)
Negativ	Intet resultat**	605	1	0	0	1	604 (99,8 %)
Totalt		10 871	20	799	11	808	10 052 (92,5 %)

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

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

Den justerte prevalensen av \geq CIN2 og \geq CIN3 hos kvinner med NILM-cytologiretultater var henholdsvis 0,9 % og 0,4 %. De justerte absolutte og relative risikoestimaterne for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 ved baseline vises i tabell 19. Den justerte relative risikoen for \geq CIN2 var 8,1 (95 % KI: 2,3, 28,1), som indikerer at en kvinne som var Aptima HPV assay-positiv hadde 8,1 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 sammenlignet med en kvinne som var Aptima HPV assay-negativ. Den justerte relative risikoen for \geq CIN3 var 34,5 (95 % KI: 2,7, 443,3). De ujusterte absolutte og relative risikoestimaterne for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 ved baseline vises samlet i tabell 20 og etter aldersgruppe i tabell 21.

Tabell 19: Populasjonen NILM \geq 30 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test (verifikasjonsbiasjusterte estimater) ved baseline

Assay-resultat		Aptima HPV Assay		HPV-DNA-test	
		Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
\geq CIN2	Positiv	4,7 (2,9, 7,6)	8,1 (2,3, 28,1)	3,7 (2,3, 6,0)	7,3 (1,6, 33,4)
	Negativ	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalens (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Positiv	3,3 (1,4, 7,6)	34,5 (2,7, 443,3)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,4)
	Negativ	0,1 (0,0, 1,6)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalens (%)	0,4		0,4	

Tabell 20: Populasjonen NILM \geq 30 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test (ujusterte estimater) ved baseline

Assay-resultat		Aptima HPV Assay N=819		HPV-DNA-test N=801*	
		Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
\geq CIN2	Positiv	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)
	Negativ	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalens (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
\geq CIN3	Positiv	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)
	Negativ	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalens (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

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

Tabell 21: Populasjonen NILM ≥ 30 år: Absolutte og relative risikoer for ≥ CIN2 og ≥ CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test etter aldersgruppe (ujusterte estimater) ved baseline

	Alder	Assay-resultat	Aptima HPV Assay N=819		HPV-DNA-test N=801*	
			Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
≥ CIN2	30 til 39 år		N=384		N=377	
		Positiv	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)
		Negativ	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		1,2 (2/161) (0,2, 4,4)	
		Prevalens (%)	2,3 (9/384)		2,4 (9/377)	
	≥ 40 år		N=435		N=424	
		Positiv	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)
		Negativ	1,4 (4/288) (0,4, 3,5)		0,4 (1/223) (0,0, 2,5)	
		Prevalens (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥ CIN3	30 til 39 år		N=384		N=377	
		Positiv	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)
		Negativ	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		0,6 (1/161) (0,0, 3,4)	
		Prevalens (%)	1,6 (6/384)		1,6 (6/377)	
	≥ 40 år		N=435		N=424	
		Positiv	3,4 (5/147) (1,1, 7,8)	Kan ikke beregnes	2,5 (5/201) (0,8, 5,7)	Kan ikke beregnes
		Negativ	0,0 (0/288) (0,0, 1,3)		0,0 (0/223) (0,0, 1,6)	
		Prevalens (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

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

Justerte kliniske ytelsesestimater for Aptima HPV assay, inkludert sensitivitet, spesifisitet, PPV og NPV for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3, vises i tabell 22, og det samme gjelder estimater for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen. Ujusterte kliniske ytelsesestimater vises i tabell 23. Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen hadde lignende sensitivitet, mens spesifisiteten var signifikant høyere for Aptima HPV assay (ikke-overlappende 95 % KI-er). Prediktive verdiestimater for Aptima HPV assay var klinisk relevante og lignende estimatene for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen. NPV var lignende, men for deteksjonen av \geq CIN2 var PPV for Aptima HPV assay litt høyere enn PPV for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen (4,7 % mot 3,7 %).

Tabell 22: Populasjonen NILM \geq 30 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 (verifikasjonsbiasjusterte estimater) ved baseline

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

Tabell 23: Populasjonen NILM \geq 30 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 (ujusterte estimater) ved baseline

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

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

Direkte sammenligning av Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen demonstrerer lignende sensitivitet og statistisk signifikant forbedret spesifisitet for Aptima HPV assay sammenlignet med den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen for deteksjon av \geq CIN2, som vist av forholdstallene for sant positive og falskt positive forekomster (henholdsvis tabell 24 og tabell 25).

Tabell 24: Populasjonen NILM \geq 30 år: Forholdstall for sant positive forekomster (Aptima HPV Assay/ HPV-DNA-test) for kvinner med \geq CIN2 (ujusterte estimater) ved baseline

		HPV-DNA-test		Totalt
		Positiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Positiv	13	2	15 (78,9 %)
	Negativ	3	1	4
	Totalt	16 (84,2 %)	3	19
Forholdstall for sant positive forekomster = 0,94 (15/16) (95 % KI: 0,67, 1,20)				

Tabell 25: Populasjonen NILM \geq 30 år: Forholdstall for falskt positive forekomster (Aptima HPV Assay/ HPV-DNA-test) for kvinner med $<$ CIN2 (ujusterte estimater) ved baseline

		HPV-DNA-test		Totalt
		Positiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Positiv	223	59	282 (36,1 %)
	Negativ	178	322	500
	Totalt	401 (51,3 %)	381	782
Forholdstall for falskt positive forekomster = 0,70 (282/401) (95 % KI: 0,64, 0,77)				

NILM ≥ 30 årig befolkning: Aptima HPV assay kliniske resultater etter 3 års oppfølging

Det var 10854 evaluerbare kvinner på 30 år og eldre med NILM cytologieresultater og gyldige Aptima HPV assay-resultater ved baseline som var kvalifisert for oppfølgingsfasen. Av kvinnene uten ≥CIN2, 66,9 % (7251/10834) som fullførte 1-årig med et PAP oppfølgingsbesøk, 60,2 % (6522/10825) 2-årig, og 58,6 % (6344/10818) for 3-årig. Totalt 58,8 % (6 380/10854) av kvinnene med fullført studie (hadde ≥CIN2 ved baseline eller under oppfølging, og/eller gjennomført obligatorisk besøk).

Av de 10854 kvinnene hadde 540 (5,0 %) positive Aptima HPV assay-resultater ved studiestart. Av disse 540 kvinnene hadde 263 (48,7 %) enten positiv eller negativ 3-årig sykdomsfri status basert på cytologi- eller colposcopy/biopsieresultater. De resterende 10314 kvinnene hadde negative Aptima HPV assay-resultater ved studiestart. Av disse 10314 kvinnene hadde 5943 (67,6 %) enten positiv eller negativ 3-årig sykdomsstatus. Av de 6206 kvinnene med 3 års sykdomsfri status, hadde 47 kvinner ≥CIN2 og 23 inkludert med ≥CIN3; 6159 kvinner hadde normal/CIN1 ved konsensus-histologisk granskningspanel. Grunnlagsresultatene av Aptima HPV assay og en kommersielt tilgjengelig HPV DNA assay, og 3-årig sykdomsstatus (inkluderer baseline og oppfølgingsevaluering) av konsensus-histologisk granskningspanel, er presentert i tabell 26.

Tabell 26: NILM ≥ 30-årig populasjon: Klassifisering av kvinner som ble kvalifisert for oppfølgingsfasen ved baseline Aptima HPV assay-resultater, baseline HPV DNA testresultater og sykdomsstatus ≥CIN2 og ≥CIN3, ubekreftet) bestemt i baseline og oppfølgingsfaser

Aptima HPV Assay-resultater	HPV DNA-prøve	Totalt ant. Kvinner	Uten sykdomsstatus ≥CIN2		Bekreftet sykdomsstatus ≥CIN3		Ubekreftet sykdomsstatus	
			Syke kvinner (≥CIN2)	Ikke syke kvinner (≥CIN3)	Syke kvinner (≥CIN2)	Ikke syke kvinner (≥CIN3)	Manglet oppfølging	Ubestemt*
Positiv	Positiv	360	22	154	15	161	165	19
Positiv	Negativ	150	2	72	1	73	68	8
Positiv	Intet resultat**	30	2	11	1	12	14	3
Negativ	Positiv	304	6	146	3	149	133	19
Negativ	Negativ	9 405	14	5 455	3	5 466	3 735	201
Negativ	Intet resultat**	605	1	321	0	322	269	14
Totalt		10 854	47	6 159	23	6 183	4 384	264

*Kvinner som hadde unormale cytologi testresultater under oppfølging og som ikke etterpå hadde et etterfølgende resultat for konsensus-histologisk granskningspanel, og kvinner med utilstrekkelig cytologi på siste besøk. 174 kvinner med ubestemt sykdomsstatus gjennomførte oppfølging i.h.t. protokoll.

**635 kvinner med Aptima HPV assay-resultater hadde ikke HPV DNA-testresultater, primært på grunn av utilstrekkelig volum av cytologprøver.

Den 3-årige kumulative sykdomsrisikoen for (≥CIN2 og ≥CIN3) er basert på Kaplan-Meier estimat (overlevelsesanalyser) og inkluderer sykdom oppdaget ved baseline eller oppfølging. Kvinner som hadde en viss sykdomsindikasjon (ASC-US eller mer alvorlige cytologieresultater), men uten resultater fra konsensus-historisk granskningspanel, ble inkludert i analysen ved hjelp av multippel imputeringsmetode for å forutsi antallet kvinner med sykdom som ville ha blitt identifisert hvis kvinnene hadde gjennomgått kolposkopi.

De 3-årige kumulative absolutte og relative risikoestimer for deteksjon av ≥CIN2 og ≥CIN3 er vist i tabell 27.

Tabell 27: NILM \geq 30 års populasjon: 3-årige kumulative absolutte og relative risikoestimer* for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV assay og en HPV DNA-prøve ved baseline

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

*De 3-års kumulative risikoer justert for andre mulige skjevheter var lik risikoen i denne tabellen. På grunn av forutsette risikoforskjeller ved år 1 og år 2 for de to gruppene av kvinner i oppfølgingsstudien (de med kolposkopi ved baseline og de uten kolposkopi ved baseline) ble bare den 3-års kumulative risikoen for de kombinerte gruppene rapportert.

Den 3-års kumulerte utbredelsen av \geq CIN2 og \geq CIN3 hos kvinner med resultater for NILM cytologi ved baseline var henholdsvis 0,68 % og 0,34 %. Den relative risikoen for \geq CIN2 var 22,55 (95 % CI: 12,68, 40,10), noe som indikerer at en kvinne som er Aptima HPV assay-positiv er 22,55 ganger mer sannsynlig å ha \geq CIN2 enn en kvinne som er Aptima HPV assay-negativ. Den relative risikoen for \geq CIN3 var 44,12 (95 % CI: 16,91, 111,10).

Klinisk ytelse for Aptima HPV Assay med SurePath flytende cytologiprøver

SurePath-prøver behandlet med Aptima overføringsløsning

SurePath flytende cytologiprøver ble oppsamlet fra canadiske kvinner (n = 558) som ble henvist til oppfølging på grunn av én eller flere unormale celleprøver, en HPV-infeksjon eller andre grunner. En alikvot (0,5 ml) av hver prøve ble overført til et Aptima prøveoverføringsrør og deretter behandlet med Aptima overføringsløsning. Ett enkelt replikat av hver prøve ble testet med Aptima HPV assay. En separat alikvot (1 ml) av hver prøve ble fjernet for evaluering med en kommersielt tilgjengelig HPV-PCR-test. Den kliniske sensitiviteten for deteksjon av sykdom, definert som et histologieresultat \geq CIN3, ble beregnet for både Aptima HPV assay og HPV-PCR-testen, som vist i tabell 28, med de positive og negative prediktive verdiene.

Tabell 28: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-PCR-test for deteksjon av \geq CIN3

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

Tabell 29: Sensitivitet for Aptima HPV Assay med SurePath og ThinPrep flytende cytologiprøver

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

Ytelse for Aptima HPV Assay med livmorhalsprøver oppsamlet for transport

Parede ThinPrep flytende cytologiprøver og Aptima CSCT-settprøver ble oppsamlet fra 735 personer. Én milliliter (1,0 ml) av hver ThinPrep flytende cytologiprøve ble fortynnet i 2,9 ml av Aptima prøvetransportmiddel og ett enkelt replikat testet med Aptima HPV assay på Tigris DTS System. Ett enkelt replikat av hver CSCT-prøve ble også testet med Aptima HPV assay. Prosentvis samsvar for Aptima HPV assay mellom ThinPrep flytende cytologiprøve og CSCT-prøven ble bestemt, og resultatene vises i tabell 30.

Det prosentvise positive samsvaret var 95,9 % (95 % KI: 92,6-97,8), det prosentvise negative samsvaret var 95,5 % (95 % KI: 93,3-97,0), og det totale samsvaret var 95,6 % (95 % KI: 93,9-96,9). Det ble observert en sterk korrelasjon mellom den flytende cytologiprøven og transportsettprøvene ($\kappa = 0,90$).

Tabell 30: Totalt samsvar i Aptima HPV Assay-resultater fra ThinPrep flytende cytologiprøve og Aptima oppsamlings- og transportsett for livmorhalsprøver testet på Tigris DTS System

		ThinPrep flytende cytologiprøve		Totalt
		Positiv	Negativ	
Aptima CSCT-settprøve	Positiv	234	22	256
	Negativ	10	469	479
	Totalt	244	491	735

Positivt samsvar = 95,9 % (92,6-97,8)
 Negativt samsvar = 95,5 % (93,3-97,0)
 Generelt samsvar = 95,6 % (93,9-96,9)
 Kappa-koeffisient = 0,90

Analytisk sensitivitet

Deteksjonsgrensen (Limit of Detection, LOD) ved den kliniske cutoff er konsentrasjonen av HPV-RNA som gir et positivt resultat (over den kliniske cutoff) 95 % av tiden.

Deteksjonsgrensen for Aptima HPV assay ble fastslått ved å teste fortynningspaneler med *in vitro*-transkripter (IVT) for alle 14 høyrisiko genotyper og 4 HPV-infiserte cellelinjer: SiHa, HeLa, MS751 og ME180 (ATCC, Manassas, Virginia, USA). For IVT-panelene ble prøvetransportmidler tilsatt IVT i ulike konsentrasjoner og deretter fortynnet med individuelle negative ThinPrep flytende cytologiprøver før testing. For de HPV-infiserte cellepanelene ble sett med HPV-negative ThinPrep flytende cytologiprøver tilsatt HPV-infiserte celler i ulike konsentrasjoner og deretter fortynnet med prøvetransportmiddel før testing. Tretti replikater for hvert kopinivå ble testet med hvert av to reagenspartier for totalt 60 replikater. Testing ble utført over 14 dager, med 1 til 12 kjøring per dag og 5 replikater for en gitt genotype- og konsentrasjonstesting i hver kjøring. 95 % deteksjonsgrensen ble beregnet ut fra Probit-regresjonsanalyse av positivitetsresultatene for hvert fortynningspanel.

Probit-analyseresultatene, tabell 31, viser at HPV 16, 18, 31, 33, 35, 38, 45, 58, 59 og 68 hadde 95 % deteksjonsgrenser på under 100 kopier/reaksjon, og type 51, 52, 56 og 66 hadde 95 % deteksjonsgrenser på mellom 100 og 300 kopier/reaksjon. De fire cellelinjene som ble testet, hadde 95 % deteksjonsgrenser på under 1 celle/reaksjon.

Tabell 31: Deteksjonsgrense ved klinisk cutoff for Aptima HPV Assay

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

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

Analysens presisjon

Presisjonen til Aptima HPV assay ble evaluert i to studier ved bruk av samme 20-elementers panel. Studie 1 ble utført på 3 eksterne teststeder for å bestemme analysens reproduserbarhet. Studie 2 ble utført internt for å måle analysens repeterbarhet. Panelet inkluderte 10 HPV-positive elementer med konsentrasjoner ved eller over deteksjonsgrensen for analysen (forventet positivitet: $\geq 95\%$), 4 HPV-positive elementer med konsentrasjoner under deteksjonsgrensen for analysen (forventet positivitet: $> 0\%$ til $< 25\%$), og 6 HPV-negative elementer. HPV-positive panelelementer ble tilberedt ved å tilsette *in vitro* RNA-transkriptor (IVT) i prøvetransportmiddel (Specimen Transport Media, STM) eller HPV-infiserte kultiverte celler (SiHa, HeLa, ME180 og MS751; ATCC, Manassas, Virginia, USA) i PreservCyt-løsning. HPV-negative panelelementer ble tilberedt med STM eller samlede residuale ThinPrep flytende cytologiprøver.

I studie 1 utførte 2 operatører på hvert av de 3 teststedene (1 instrument per sted) 1 Aptima HPV assay-arbeidsliste per dag over 3 dager for hvert av 3 reagenspartier. Hver arbeidsliste inneholdt 3 replikater av hvert av elementene i reproduserbarhetspanelet. Ett hundre og sekstio (162) individuelle prøverør ble testet for hvert panelelement (3 steder x 1 instrument x 2 operatører x 3 partier x 3 arbeidslister x 3 replikater). I studie 2 ble testing utført internt over 20 dager med totalt 162 reaksjoner testet for hvert panelelement (1 sted x 3 instrumenter x 3 operatører x 3 partier x 2 arbeidslister x 3 replikater).

Panelementene er beskrevet i tabell 32a (paneelementer med forventet positivt resultat) og tabell 32b (paneelementer med forventet negativt resultat), sammen med et sammendrag av samsvaret mellom forventede resultater og analytt S/CO-verdier ved 2,5., 50. og 97,5. persentil i S/CO-distribusjonen. Analytt S/CO-variabilitet for panelementene med forventet positivt resultat vises i tabell 33 for studie 1 og tabell 34 for studie 2.

Positiv-samsvaret for de HPV-positive panelelementene med konsentrasjoner ved eller over analysens deteksjonsgrense varierte fra 95,1 % til 100 % i studie 1 og fra 93,2 % til 100 % i studie 2 for 9 av de 10 panelelementene. Det resterende HPV-positive panelelementet ga 77,2 % samsvar i studie 1 og 79,0 % samsvar i studie 2, som var lavere enn forventet, men konsekvent mellom de 2 studiene. Negativ-samsvaret for de høyt HPV-negative panelelementene med konsentrasjoner under analysens deteksjonsgrense varierte fra 78,8 % til 93,8 % i studie 1 og fra 82,1 % til 95,7 % i studie 2. Samsvaret med forventede resultater for de HPV-negative panelelementene varierte fra 96,9 % til 100 % i studie 1 og fra 96,3 % til 100 % i studie 2.

Tabell 32a: Reproduserbarhetsstudie 1 og 2 for Aptima HPV Assay: panelbeskrivelse, positiv-samsvar og persentildistribusjon av analytt S/CO-verdier for panelelementer med forventet positivt resultat

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon)	Studie 1 (3 teststeder)	Studie 2 (1 teststed)
	% positiv-samsvar (95 % KI)	% positiv-samsvar (95 % KI)
HPV 16 og HPV 18 IVT (100 kopier)	100 (161/161) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (3 celler) og HeLa-celler (7,5 celler)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (100 kopier)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (160/160) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (100 kopier)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-celler (1 celle)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)
ME180-celler (0,3 celler)	95,1 (154/162) (90,6, 97,5)	93,2 (151/162) (88,3, 96,2)
HPV 18 IVT (30 kopier)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (30 kopier)	100 (162/162) (97,7, 100)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
HeLa-celler (2,5 celler)	100 (162/162) (97,7, 100)	95,6 (152/159) (91,2, 97,9)
SiHa-celler (1 celle)*	77,2 (125/162) (70,1, 83,0)	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)

IVT = *in vitro*-transkript. IVT ble tilsatt i STM, og celler ble tilsatt i PreservCyt-løsning.

*Forventet % positiv-samsvar ~95 %; observert lavere mulighet pga. produksjonsvariabilitet i panelelementet.

Tabell 32b: Reproduserbarhetsstudie 1 og 2 for Aptima HPV Assay: Panelbeskrivelse, negativ-samsvar og persentildistribusjon av analytt S/CO-verdier for panelelementer med forventet negativt resultat

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon)	Studie 1 (3 teststeder)	Studie 2 (1 teststed)
	% negativ-samsvar (95 % KI)	% negativ-samsvar (95 % KI)
HPV 18 IVT (1 kopi)*	78,8 (126/160) (71,8, 84,4)	83,3 (135/162) (76,8, 88,3)
HPV 16 IVT (1 kopi)*	80,9 (131/162) (74,1, 86,2)	88,3 (143/162) (82,4, 92,4)
HeLa-celler (0,05 celler)*	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)	82,1 (133/162) (75,5, 87,2)
SiHa-celler (0,03 celler)*	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
STM-parti 1	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM-parti 2	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM-parti 3	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
ThinPrep-sett 1	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
ThinPrep-sett 2	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)	96,3 (156/162) (92,2, 98,3)
ThinPrep-sett 3	100 (162/162) (97,7, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

STM = prøvetransportmiddel; IVT = *in vitro*-transkript. IVT ble tilsatt i STM, og celler ble tilsatt i PreservCyt-løsning.

*Forventet % negativ-samsvar > 75 % og < 100 %.

Tabell 33: Reproduserbarhetsstudie 1 for Aptima HPV Assay: Signalvariabilitet for panelelementer med forventet positivt resultat

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon)	n	Gjen- nom- snittlig S/CO	Mellom studiesteder		Mellom operatører		Mellom partier		Mellom arbeidslister		Innen arbeidslister		Totalt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV 16 og HPV 18 IVT (100 kopier)	161 [^]	23,4	0,1	0,4	0,1	0,4	0,9	4,0	0	0	1,6	7,0	1,9	8,1
SiHa-celler (3 celler) og HeLa-celler (7,5 celler)	162	17,9	0	0	1,4	8,1	0	0	0,6	3,1	5,1	28,6	5,3	29,9
HPV 18 IVT (100 kopier)	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 kopier)	162	10,8	0,2	1,5	0	0	0,1	1,1	0,3	2,6	0,3	3,1	0,5	4,5
MS751-celler (1 celle)	162	13,3	0,3	2,1	0	0	1,0	7,8	0,9	7,1	2,2	16,2	2,6	19,4
ME180-celler (0,3 celler)	162	6,5	0,2	3,2	0	0	0,6	8,6	0,4	5,5	2,4	36,2	2,5	37,7
HPV 18 IVT (30 kopier)	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 kopier)	162	10,8	0,1	0,8	0	0	0,1	1,3	0,4	3,8	0,9	8,4	1,0	9,3
HeLa-celler (2,5 celler)	162	12,4	0	0	0,4	3,3	0,4	3,1	0	0	2,3	18,4	2,4	19,0
SiHa-celler (1 celle)	162	7,5	0,3	3,7	1,0	13,0	0	0	0	0	4,8	63,6	4,9	65,0

SD = standardavvik; CV = variasjonskoeffisient; IVT = *in vitro*-transkript; S/CO = signal-til-cuttoff-forhold

[^]Én prøve hadde et ugyldig Aptima HPV assay-resultat og ble ikke inkludert i analysen.

Merknad: Variabiliteten fra noen faktorer kan være numerisk negative. Dette kan skje hvis variabiliteten på grunn av disse faktorene var svært liten. I disse tilfellene er SD og CV angitt som 0.

Tabell 34: Reproduserbarhetsstudie 2 for Aptima HPV Assay: Signalvariabilitet for panelementer med forventet positivt resultat

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon)	n	Gjen- nom- snittlig S/CO	Mellom instrumenter		Mellom operatører		Mellom partier		Mellom arbeidslister		Innen arbeidslister		Totalt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV 16 og HPV 18 IVT (100 kopier)	162	23,2	0,4	1,5	0,6	2,3	0,8	3,4	0,8	3,4	1,5	6,3	2,0	8,4
SiHa-celler (3 celler) og HeLa-celler (7,5 celler)	162	18,6	0	0	1,7	9,3	0	0	3,5	18,6	3,7	20,0	5,4	28,9
HPV 18 IVT (100 kopier)	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 kopier)	162	10,8	0	0	0,1	1,3	0	0	0,2	2,2	0,7	6,1	0,7	6,6
MS751-celler (1 celle)	162	13,6	0	0	0,6	4,3	0	0	2,5	18,4	2,1	15,2	3,3	24,2
ME180-celler (0,3 celler)	162	5,8	0	0	0,6	10,8	0,5	9,4	2,2	36,9	1,7	29,7	2,9	49,5
HPV 18 IVT (30 kopier)	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 kopier)	162	10,5	0	0	0,1	1,3	0,2	2,0	1,6	14,9	1,2	11,2	2,0	18,8
HeLa-celler (2,5 celler)	159 [^]	12,0	0,6	5,1	1,0	8,5	0	0	2,8	23,8	2,0	16,6	3,7	30,6
SiHa-celler (1 celle)	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 = standardavvik; CV = variasjonskoeffisient; IVT = *in vitro*-transkript; S/CO = signal-til-cut-off-forhold

[^]Fem prøver hadde ugyldige Aptima HPV assay-resultater (2 for HPV 18 IVT (100 kopier), 3 for HeLa-celler (2,5 celler)) og ble ikke inkludert i analysene.

Merknad: Variabiliteten fra noen faktorer kan være numerisk negative. Dette kan skje hvis variabiliteten på grunn av disse faktorene var svært liten. I disse tilfellene er SD og CV angitt som 0.

En tredje studie ble også utført for å fastslå analysens reproduserbarhet ved å teste et 6-elementers panel med samlede kliniske ThinPrep flytende cytologiprøver. Seks unike sett med residuale HPV-negative ThinPrep flytende cytologiprøver ble tilberedt som matrisen, og to av dem ble testet som HPV-negative panelementer. Fire unike sett med HPV-positive ThinPrep flytende cytologiprøver ble brukt til å tilberede de lavt (n = 2) og høyt (n = 2) HPV-positive panelementene. De lavt positive panelementene hadde konsentrasjoner ved deteksjonsgrensen for analysen (forventet positivitet: $\geq 95\%$ fastslått for hvert enkelt HPV-positive sett gjennom testing av serielle foryndringer av blandingene). De høyt positive panelementene hadde konsentrasjoner ved 1-2 log over den estimerte deteksjonsgrensen for hvert enkelt HPV-positive sett (forventet positivitet: 100 % positivitet). Hvert panelement ble på testdagen overført (1 ml) til et Aptima prøveoverføringsrør som inneholdt STM. Testing ble utført internt av 2 operatører med 1 reagensparti og 3 instrumenter over 6 dager (3 dager for hver operatør), som testet 2 kjøring per dag der panelet ble testet i duplikat.

Panelementene er beskrevet i tabell 35, sammen med et sammendrag av samsvaret mellom forventede resultater og analytt S/CO-verdier ved 2,5., 50. og 97,5. persentil av signaldistribusjonen. Analytt S/CO-variabilitet for panelementene med forventet positivt resultat vises i tabell 36.

Samsvaret var 100 % for de høyt HPV-positive panelementene, $\geq 98,6\%$ for de lavt HPV-positive panelementene og $\geq 94,4\%$ for de HPV-negative panelementene.

Tabell 35: Reproduserbarhetsstudie 3 for Aptima HPV Assay: Panelbeskrivelse, prosentvis samsvar

Panelbeskrivelse	% samsvar (95 % KI)
Lavt positiv 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Lavt positiv 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Høyt positiv 1	100 (72/72) (94,9, 100)
Høyt positiv 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Negativ 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Negativ 2	94,4 (68/72) (86,6, 97,8)

Tabell 36: Reproduserbarhetsstudie 3 for Aptima HPV Assay: Signalanalyse for panelelementer med forventet positivt resultat

Panelbeskrivelse	n	Gjen- nom- snittlig S/CO	Mellom instrumenter		Mellom operatører		Mellom partier		Mellom arbeidslister		Innen arbeidslister		Totalt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Lavt positiv 1	72	9,8	0	0	0	0	0	0	2,2	22,8	3,0	30,4	3,7	38,0
Lavt positiv 2	72	10,5	0	0	2,2	21,0	0,9	9,0	3,7	35,3	2,7	26,1	5,2	49,5
Høyt positiv 1	72	22,7	1,3	5,6	0	0	0,1	0,5	3,0	13,3	3,7	16,4	5,0	21,9
Høyt positiv 2	72	23,9	0	0	0	0	0	0	2,9	12,3	3,0	12,4	4,2	17,4

SD = standardavvik; CV = variasjonskoeffisient; S/CO = signal-til-cut-off-forhold

Merknad: Variabiliteten fra noen faktorer kan være numerisk negative. Dette kan skje hvis variabiliteten på grunn av disse faktorene var svært liten. I disse tilfellene er SD og CV angitt som 0.

Kryssreaktivitet

Den analytiske spesifisiteten i Aptima HPV assay ble evaluert med PreservCyt løsningsmiddel fortynnet 1:2,9 i STM og tilsatt kultiverte bakterier, gjær eller sopp, kultivert virus eller lavrisiko HPV *in vitro*-transkripter. Organismene og testkonsentrasjonene er angitt i tabell 37.

Studiekriteriene for å vurdere effekten av tilstedeværelse av mikroorganisme på spesifisiteten i analysen var basert på positivitet. Kryssreaktivitet ble observert med lavrisiko HPV-genotyper 26, 67, 70 og 82, men ikke med noen av de andre organismene som ble testet.

Tabell 37: Analytisk spesifisitetspanel: organismer og konsentrasjon uten kryssreaktivitet

Organisme	Testkonsentrasjon uten kryssreaktivitet	Organisme	Testkonsentrasjon uten kryssreaktivitet
Bakterier			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Micrococcus luteus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2 x 10 ⁷ CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	5 x 10 ⁷ CFU/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Bacillus cereus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5 x 10 ⁷ CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	5 x 10 ⁷ CFU/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Neisseria gonorrhoeae og Chlamydia trachomatis</i>	2,5 x 10 ⁷ CFU/ml 2,3 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3,2 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Clostridium difficile</i>	6 x 10 ⁷ CFU/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Providencia stuartii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Ruminococcus productus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Fingoldia magna</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Serratia marcescens</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ ml		

Tabell 37: Analytisk spesifisitetspanel: organismer og konsentrasjon uten kryssreaktivitet (fortsett)

Organisme	Testkonsentrasjon uten kryssreaktivitet	Organisme	Testkonsentrasjon uten kryssreaktivitet
Gjær/protozoer			
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 x 10 ⁷ celler/ml
Viruser			
Adenovirus 2	1 x 10 ⁷ vp/ml	Herpes simplex virus 1	2,5 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
Cytomegalovirus	5,6 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	Herpes simplex virus 2	5 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Epstein-Barr virus	4,3 x 10 ⁶ vp/ml	SV40	1,2 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
HIV-1	1,0 x 10 ⁶ kopier/ml		
Ikke-målede HPV-genotyper			
HPV 6	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 61	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 11	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 67	1 kopi/ml
HPV 26	2,5 kopier/ml	HPV 69	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 30	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 70	1 kopi/ml
HPV 34	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 71	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 42	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 73	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 43	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 81	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 44	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 82	1 kopier/ml
HPV 53	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml	HPV 85	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml
HPV 54	2,5 x 10 ⁶ kopier/ml		

vp = virale partikler

CFU = kolonidannende enheter

TCID₅₀ = vevskultur smittedose 50

Merknad: Fet skrift angir typer der kryssreaktivitet (> 5 % positivitet) ble observert da de ble testet i konsentrasjoner større enn det som er oppgitt i tabellen.

Den analytiske sensitiviteten til Aptima HPV assay ved tilstedeværelse av mikroorganismer ble evaluert med det samme panelet som er beskrevet i tabell 37, som også ble tilsatt en lav konsentrasjon av HPV-infiserte SiHa-celler (1 celle per reaksjon). Studiekriteriene for å vurdere effekten av tilstedeværelse av mikroorganisme på sensitiviteten i analysen var basert på positivitet. Sensitiviteten i Aptima HPV assay ble ikke påvirket av noen av organismene som ble testet.

Interferens

Stoffene beskrevet i tabell 38 ble enkeltvis tilsatt i PreservCyt-løsning ved 1 % og 10 % v/v eller w/v, fortynnet med STM og deretter testet med Aptima HPV assay. Alle substansene ble testet i nærvær og fravær av HPV-infiserte kultiverte celler (SiHa, 3 celler/reaksjon). Interferens ble observert med to av de sju smøremidlene som inneholdt polykvaternium 15, og med én av de fem soppdrepende legemidlene som inneholdt tiokonazol. Interferens ble ikke observert med noen av de andre stoffene som ble testet.

Tabell 38: Substanser testet for mulig interferens med Aptima HPV Assay

Produktkategori	Produktmerke eller -type	Høyeste konsentrasjon* testet som ikke interfererer med analysens ytelse
Smøremiddel	KY Sensual Mist	10 % v/v
	KY Warming Jelly	10 % w/v
	KY Warming Liquid	10 % v/v
	CVS-merke personlig smøremiddel	10 % w/v
	Target-merke varmende massasjekrem og personlig smøremiddel	10 % v/v
	Astroglide personlig smøremiddel	0,3 % w/v (0,075 % w/v testprøve)
	Target-merke smørende væske	0,1 % v/v (0,025 % v/v testprøve)
Sæddrepende middel	Gynol II vaginalt prevensjonsmiddel original formel	10 % w/v
	Gynol II vaginalt prevensjonsmiddel ekstra styrke	10 % w/v
	Delfen vaginalt prevensjonsmiddel skum	10 % w/v
	Encare vaginalt prevensjonsmiddel	10 % w/v
	Conceptrol vaginalt prevensjonsmiddel	10 % w/v
Antifungalt/antiklø- legemiddel	Vagisil maksimal styrke	10 % w/v
	Monistat Soothing Care	10 % w/v
	Monistat 3 kombinasjonspakke	10 % w/v
	Target-merke tiokonazol 1	0,3 % w/v (0,075 % w/v testprøve)
	Target-merke mikonazol 3	10 % w/v
Iseddiksyre	EMD M/N AX0073-11	10 % v/v
Helblod	fullblod	10 % v/v

*Personlige smøremidler som inneholder polykvaternium 15.

Forventede resultater for Panther System: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA

Prevalensen av høyrisiko HPV-infeksjon varierer mye og påvirkes av flere faktorer, hvor alder er den største medvirkeren.^{32,33} Mange studier har undersøkt HPV-prevalensen som fastslått gjennom deteksjon av HPV-DNA, men få studier rapporterer prevalens basert på deteksjon av HPV-onkogen mRNA. Kvinner fra en rekke kliniske steder (n = 18), og som representerte en bred geografisk distribusjon og en mangfoldig populasjon (10 delstater i USA), ble registrert i en prospektiv klinisk studie kjent som CLEAR-studien.³⁴ Prevalensen av HPV-mRNA-positive prøver observert i den kliniske studien, som fastslått av Aptima HPV assay på Panther System, ble kategorisert samlet, etter aldersgruppe og teststed. Resultatene vises i tabell 39 for populasjonene atypiske plateepitelceller av ubestemt signifikans (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) og negativ for intraepitelial lesjon eller malignitet (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM).

Tabell 39: Prevalens av høyrisiko HPV-mRNA etter aldersgruppe, teststed og alle kombinert

	Positivitetsfrekvens % (x/n)	
	Populasjonen ASC-US (≥ 21 år)	Populasjonen NILM (≥ 30 år)
Alle	42,3 (404/956)	4,7 (512/10 860)
Aldersgruppe (år)		
21 til 29	60,0 (251/418)	I/A
30 til 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
Teststed		
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)

I/A = ikke aktuelt

Oppsett for klinisk studie av Aptima HPV Assay med ThinPrep flytende cytologiprøver

Aptima HPV assay på Panther System ble evaluert ved bruk av resterende henvisningscytologiprøver innhentet fra kvinner som har avgitt sitt samtykke til dette under den prospektive, flersenters kliniske studien i USA kjent som CLEAR-studien.³⁴

CLEAR-studien - baseline-evaluering

CLEAR-studien ble utført for å fastslå den kliniske ytelsen til Aptima HPV assay på Tigris DTS System for deteksjon av intraepitelial neoplasi grad 2 i livmorhalsen eller alvorligere livmorhalssykdom (\geq CIN2). CLEAR-studien inkluderte en baseline-evaluering og en 3-års oppfølgingsevaluering. Kvinner ble registrert i enten ASC-US-studien eller NILM-studien basert på cytologieresultater fra rutinemessig kreftscreening av livmorhals. Populasjonen i ASC-US-studien inkluderte kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologieresultater, og populasjonen i NILM-studien inkluderte kvinner 30 år og eldre med NILM-cytologieresultater. NILM-studien ble satt opp for å støtte tilleggskravet til screening for kvinner 30 år og eldre, da kvinner i denne aldersgruppen med cytologieresultater høyere enn ASC-US bør få kolposkopi uansett HPV-status.³⁵

Kvinner fra 18 kliniske steder, hovedsakelig obstetriske/gynekologiske klinikker, som dekket en bred geografisk distribusjon og en mangfoldig populasjon, ble tatt opp i studien. Kvalifiserte kvinner ble tilordnet ASC-US-studien eller NILM-studien basert på deres henviste ThinPrep væskebaserte cytologiprøve. Ved baseline ble residuale henvisningsprøver fra kvinner i ASC-US-studien og i NILM-studien innledningsvis testet med både Aptima HPV assay på Tigris DTS System og en kommersielt tilgjengelig HPV-DNA-test. Prøvene ble deretter arkivert og oppbevart ved -70°C inntil testing med Aptima HPV assay på Panther System.

Ved baseline i CLEAR-studien (baselinefasen) ble alle kvinner i ASC-US-studien henvist til kolposkopi, uansett HPV-testresultat. En endocervikal utskrapningsbiopsi (endocervical curettage biopsi, ECC) og cervikale stansebiopsier (1 biopsi fra hver av de 4 kvadrantene) ble tatt. Hvis en lesjon var synlig, ble det tatt en stansebiopsi (rettet metode, 1 biopsi per lesjon), og det ble tatt biopsier fra kvadranter uten synlig lesjon i transformasjonssonen (tilfeldig metode).

I NILM-studien ble kvinner som var positive med Aptima HPV assay på Tigris DTS System og/eller den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen, så vel som tilfeldig utvalgte kvinner som var negative med begge analyser, henvist til kolposkopi for baseline-evaluering. De tilfeldig utvalgte kvinnene som var negative for begge analyser, ble inkludert for å korrigere for verifikasjonsbias med justerte ytelsesestimer generert ved hjelp av en multipl imputering-metode. En ECC-biopsi ble tatt fra alle kvinner som deltok på kolposkopien. Stansebiopsier ble tatt fra kun synlige lesjoner (rettet metode, 1 biopsi per lesjon).

Sykdomsstatusen ble fastslått ut fra et konsensus-histologisk granskningspanel, som var basert på enighet mellom minst 2 ekspertpatologer. Ekspertpatologene var blindet overfor kvinnens HPV-status. De var også blindet overfor cytologistatus, samt hverandres histologidiagnoser. Hvis alle 3 patologer var uenige, gjennomgikk alle 3 patologer objektglassene ved et flerhodet mikroskop for å bli enige. hverandres histologidiagnoser. Utprøvere, klinikere og kvinner var blindet overfor HPV-testresultatene til etter fullførelse av kolposkopibesøket, for å unngå bias. Ved baseline ble klinisk ytelse av Aptima HPV assay for deteksjon av \geq CIN2 og intraepitelial neoplasi grad 3 i livmorhalsen eller alvorligere livmorhalssykdom (\geq CIN3) vurdert i forhold til den statusen på livmorhalssykdommen som ble bestemt ved baseline. Klinisk ytelse for den kommersielt tilgjengelige HPV DNA-testen ble også fastslått for direkte sammenligning med Aptima HPV assay-resultatene.

CLEAR-studien - Oppfølgingsvurdering

Kvinner i NILM-studien fra 14 kliniske områder var kvalifisert til å delta i den 3-årige oppfølgingsfasen av studien dersom: i) de hadde et kolposkopibesøk ved baseline, og de ikke hadde \geq CIN2, eller ii) de ikke hadde et kolposkopibesøk ved baseline. Oppfølgingsfasen av studien besto av årlige besøk. På disse besøkene ble cervikal prøvetaking for cytologi utført for hver kvinne, og noen kvinner ble undersøkt med en kommersielt tilgjengelig HPV-test. Kvinner med ASC-US eller mere alvorlige cytologiresultater under oppfølgingsperioden ble henvist til kolposkopi ved bruk av samme biopsi og histologiske undersøkelsesprosedyrer utført for NILM studiens baseline vurdering. Status for livmorhalssykdom på et oppfølgingsbesøk ble ansett som "negativ", basert på NILM-cytologi, eller for kvinner med unormale cytologi testresultater, basert på normale CIN1 konsensushistologisk granskningspanel. Kvinner der \geq CIN2 ble oppdaget under oppfølgingsperioden ble ansett for å ha gjennomført oppfølgingen og deltok ikke i noen besøk etter at \geq CIN2 ble oppdaget. Kvinner som ikke hadde \geq CIN2 oppdaget under oppfølgingsperioden, men som deltok på et studiebesøk i oppfølgingsår 1 og/eller oppfølgingsår 2 og som deltok på et studiebesøk på oppfølgingsår 3, ble ansett for å ha fullført oppfølgingen.

Målet med oppfølgingsstudien var å sammenligne den kumulative 3-årige risikoen for livmorhalssykdom hos kvinner med baseline positive Aptima HPV assay-resultater med den kumulative 3-årige risikoen for livmorhalssykdom hos kvinner med baseline negative Aptima HPV assay-resultater. Den 3-årige statusen for livmorhalssykdom ble fastsatt som følger:

- Positiv livmorhalssykdom (\geq CIN2 og eller \geq CIN3) - Kvinner som hadde \geq CIN2 oppdaget ved baseline eller under oppfølging.
- Negativ status for livmorhalssykdom (\geq CIN2) - Kvinner som fullførte oppfølging uten påvisning av \geq CIN2 og som ikke ble ansett for å ha "ubestemmelig" status for livmorhalssykdom.
- Ubestemmelig status for livmorhalssykdom - Kvinner som hadde unormale cytologi testresultater under oppfølging og som ikke hadde påfølgende CRHP- resultater, eller kvinner med utilstrekkelig cytologi på siste besøk.
- Manglet for oppfølging - Kvinner som ikke fullførte oppfølging og som ikke ble ansett for å ha "ubestemmelig" status for livmorhalssykdom.

Klinisk ytelse av Aptima HPV assay for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 ble evaluert i forhold til den 3-årige statusen for livmorhalssykdom.

Analyseytelse for Panther System

Populasjonen ASC-US ≥ 21 år: Klinisk ytelse av Aptima HPV Assay

Det var totalt 1252 kvinner 21 år og eldre med ASC-US-cytologiresultater registrert i ASC-US-studien. Av disse ble 294 kvinner avregistrert. De gjenværende 958 kvinnene var kvalifisert for testing på Panther System. To kvinner manglet prøver, og 19 hadde en ubestemt sykdomsdiagnose. Alle ble ekskludert fra analysen. De gjenværende 937 evaluerbare kvinnene var 21 år og eldre med ASC-US-cytologiresultater, Aptima HPV assay-resultater på Panther System og bestemt sykdomsstatus. Nittien (91) kvinner hadde ≥ CIN2, og førtien (41) hadde ≥ CIN3. Prevalensen av ≥ CIN2 og ≥ CIN3 hos evaluerbare kvinner med ASC-US-cytologiresultater var henholdsvis 9,7 % og 4,4 %. Resultatene av Aptima HPV assay i henhold til diagnosene fra det konsensus-histologiske granskningspanelet vises i tabell 40.

Tabell 40: Populasjonen ASC-US ≥ 21 år: Resultater av Aptima HPV Assay i henhold til diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel

Resultat fra Aptima HPV Assay*	HPV-DNA-test	Diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel						
		Ubestemt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Kreft	Totalt
Positiv	Positiv	6	178	110	40	32	1	367
Positiv	Negativ	0	5	2	0	2	0	9
Positiv	Intet resultat***	0	15	11	0	2	0	28
Negativ	Positiv	0	39	15	3	3	0	60
Negativ	Negativ	10	372	53	7	1	0	443
Negativ	Intet resultat***	3	39	7	0	0	0	49
Totalt		19	648	198	50	40	1****	956

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

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

***77 kvinner med Aptima HPV assay-resultater fikk ingen HPV-DNA-testresultater, hovedsakelig pga. utilstrekkelig cytologi prøvevolum.

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

Kliniske ytelsesestimater for Aptima HPV assay, inkludert sensitivitet, spesifisitet, positiv prediktiv verdi (PPV) og negativ prediktiv verdi (NPV) for deteksjon av ≥ CIN2 og ≥ CIN3 basert på evaluering av alle biopsier og inkludering av kun rettede biopsier, vises i tabell 41, og det samme gjelder estimater for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen.

Tabell 41: Populasjonen ASC-US ≥ 21 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av ≥ CIN2 og ≥ CIN3

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

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

**Konsensus-histologisk resultat ble utledet basert på kun resultater fra rettede biopsier. Kvinner uten rettede biopsier gjenspeiler en normal kolposkopi og er inkludert i disse analysene som ikke-syke (< CIN2 eller < CIN3 etter hva som er aktuelt). En konsensus ble ikke alltid nådd når kun rettede biopsier var inkludert.

Ved evaluering av alle biopsier var de kliniske sensitivitetsestimatene for Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen lignende for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 (forskjellene i sensitivitetsestimater var ikke statistisk signifikante). For \geq CIN2 var sensitivitetsforskjellen -4,5 % (95 % KI: -12,2 %, 2,5 %). Kliniske spesifisitetsestimater for Aptima HPV assay for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 var høyere enn de for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen (forskjeller i spesifisitetsestimater var statistisk signifikante). For \geq CIN2 var spesifisitetsforskjellen 6,1 % (95 % KI: 4,2 %, 8,2 %). NPV var lignende, men for deteksjonen av \geq CIN2 var PPV for Aptima HPV assay litt høyere enn PPV for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen (19,3 % mot 18,8 %).

Av de 91 tilfellene \geq CIN2 ble 60 (65,9 %) identifisert i rettede biopsier og 31 (34,1 %) identifisert fra tilfeldige og/eller ECC-biopsier (dvs. ikke i rettede biopsier). Disse funnene er tilsvarende resultatene fra publiserte studier, der ca. 25 % til 40 % av tilfeller \geq CIN2 ble identifisert fra kun tilfeldige og/eller ECC-biopsiprøver.^{36,37} Ved bruk av kun rettede biopsier til å fastslå sykdomsstatus (forutsatt at kvinner uten rettede biopsier hadde normale histologieresultater fordi ingen synlige lesjoner var til stede) var prevalensen av \geq CIN2 og \geq CIN3 i studien henholdsvis 6,4 % og 3,1 %. De kliniske sensitivitetsestimatene for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 var høyere for begge tester ved bruk av kun rettede biopsier enn estimater beregnet ved bruk av alle biopsier. For begge analyser var den kliniske spesifisiteten ved bruk av kun rettede biopsier lignende spesifisiteten oppnådd med alle biopsier inkludert. Følgelig, når kun rettede biopsier ble brukt, var spesifisiteten for Aptima HPV assay signifikant høyere enn den for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen.

Kliniske ytelsesestimater for Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen vises etter aldersgruppe i tabell 42 og tabell 43 (henholdsvis \geq CIN2 og \geq CIN3, basert på evaluering av alle biopsier).

Tabell 42: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av \geq CIN2 etter aldersgruppe

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

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

Tabell 43: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av \geq CIN3 etter aldersgruppe

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

*74 kvinner med Aptima HPV assay-resultater fikk ingen HPV-DNA-testresultater, hovedsakelig pga. utilstrekkelig cytologi prøvevolum.

Den absolutte risikoen for sykdom (\geq CIN2 og \geq CIN3, basert på evaluering av alle biopsier) i henhold til Aptima HPV assay-resultat og den relative risikoen for sykdom, for positive kontra negative Aptima HPV assay-resultater vises i tabell 44, og det samme gjelder estimatene for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen. Den relative risikoen for \geq CIN2 var 7,4 (95 % KI: 4,3, 13,0), som indikerer at en kvinne som var Aptima HPV assay-positiv hadde 7,4 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 sammenlignet med en kvinne som var Aptima HPV assay-negativ. Den relative risikoen for \geq CIN3 var 12,5 (95 % KI: 4,5, 34,9).

Tabell 44: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test

	Assay-resultat	Aptima HPV Assay N=937		HPV-DNA-test N=863*	
		Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
\geq CIN2	Positiv	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)
	Negativ	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prevalens (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
\geq CIN3	Positiv	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)
	Negativ	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prevalens (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

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

Absolutte og relative risikoestimer for sykdom (\geq CIN2 og \geq CIN3, basert på evaluering av alle biopsier) for Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen vises etter aldersgruppe i tabell 45.

Tabell 45: Populasjonen ASC-US \geq 21 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test etter aldersgruppe

	Alder	Assay-resultat	Aptima HPV Assay N=937		HPV-DNA-test N=863*	
			Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
\geq CIN2	21 til 29 år		N=415		N=389	
		Positiv	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)
		Negativ	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalens (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 til 39 år		N=261		N=238	
		Positiv	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)
		Negativ	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalens (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	\geq 40 år		N=261		N=236	
		Positiv	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)
		Negativ	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)	
		Prevalens (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	
\geq CIN3	21 til 29 år		N=415		N=389	
		Positiv	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Kan ikke beregnes
		Negativ	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalens (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 til 39 år		N=261		N=238	
		Positiv	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)
		Negativ	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalens (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	\geq 40 år		N=261		N=236	
		Positiv	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)
		Negativ	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)	
		Prevalens (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

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

Populasjonen NILM ≥ 30 år: Klinisk ytelse av Aptima HPV Assay med ThinPrep væskecytologiprøver ved baseline

Totalt 11 644 kvinner med NILM-cytologieresultater ble registrert i NILM-studien. Av disse ble 773 avregistrert. De gjenværende 10 871 kvinnene var kvalifisert for testing på Panther System. Elleve kvinner manglet prøver og ble ekskludert fra baseline-evalueringen av Aptima HPV assay på Panther System. De gjenværende 10 860 evaluerbare kvinnene var 30 år og eldre med NILM-cytologieresultater og Aptima HPV assay-resultater på Panther System. Av de 512 kvinnene med positive Aptima HPV assay-resultater på Panther System fikk 284 kolposkopi ved baseline. Av de 10 348 kvinnene med negative Aptima HPV assay-resultater fikk 580 kolposkopi ved baseline. Tjue (20) kvinner hadde ≥ CIN2, og elleve (11) hadde ≥ CIN3; 798 kvinner hadde normal/CIN1-histologi; 46 kvinner hadde ubestemt sykdomsstatus. Resultatene av Aptima HPV assay på Panther System i henhold til diagnosen fra det konsensus-histologiske granskningspanelet ved baseline vises i tabell 46.

Tabell 46: Populasjonen NILM ≥ 30 år: Resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test i henhold til diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel ved baseline

Resultat fra Aptima HPV Assay*	HPV-DNA-test	Diagnose fra konsensus-histologisk granskningspanel						
		Ubestemt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Kreft	Totalt
Positiv	Positiv	11	211	12	4	7	2	247
Positiv	Negativ	2	19	0	0	0	1	22
Positiv	Intet resultat***	2	12	1	0	0	0	15
Negativ	Positiv	10	170	7	2	1	0	190
Negativ	Negativ	20	353	9	2	0	0	384
Negativ	Intet resultat***	1	4	0	1	0	0	6
Totalt		46	769	29	9	8	3****	864

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

**46 pasienter møtte opp til kolposkopi, men en diagnose kunne ikke stilles pga. følgende: biopsiprøver fastslått å være inadequate (n = 29), ingen biopsier tatt (n = 15), og biopsiglass tapt (n = 2).

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

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

Totalt 10 042 kvinner hadde uverifisert (inkludert ubestemt) sykdomsstatus ved baseline (tabell 47). Fordi kun tilfeldig utvalgte kvinner med negativt resultat for både Aptima HPV assay på Tigris DTS System og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen ble henvist til kolposkopi, var andelen kvinner med uverifisert sykdomsstatus høy i denne gruppen (96,6 %). For å justere for denne verifikasjonsbiasen ble det brukt en multipl imputeringsmetode til å estimere antallet kvinner med sykdom som ville ha blitt identifisert hvis alle kvinner hadde fått kolposkopi. Både verifikasjonsbiasjusterte ytelsesestimater og ujusterte ytelsesestimater, basert på de 818 kvinnene med verifisert sykdomsstatus ved baseline vises.

Tabell 47: Populasjonen NILM \geq 30 år: Klassifisering av evaluerbare NILM-kvinner i henhold til resultater fra Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test, sykdomsstatus (\geq CIN2 og \geq CIN3) og sykdomsverifikasjonsstatus

Resultat fra Aptima HPV Assay*		HPV-DNA-test	Totalt antall kvinner	Verifisert sykdomsstatus: \geq CIN2		Verifisert sykdomsstatus: \geq CIN3		Uverifisert sykdomsstatus
Panther System	Tigris DTS System			Kvinner med sykdom (\geq CIN2)	Kvinner uten sykdom ($<$ CIN2)	Kvinner med sykdom (\geq CIN3)	Kvinner uten sykdom ($<$ CIN3)	Kvinner med ukjent sykdomsstatus (% ukjente)
Positiv	Positiv	Positiv	313	13	189	9	193	111 (35,5 %)
Positiv	Positiv	Negativ	37	1	18	1	18	18 (48,6 %)
Positiv	Positiv	Intet resultat**	22	0	13	0	13	9 (40,9 %)
Positiv	Negativ	Positiv	70	0	34	0	34	36 (51,4 %)
Positiv	Negativ	Negativ	60	0	1	0	1	59 (98,3 %)
Positiv	Negativ	Intet resultat**	10	0	0	0	0	10 (100 %)
Negativ	Positiv	Positiv	46	0	33	0	33	13 (28,3 %)
Negativ	Positiv	Negativ	113	1	41	0	42	71 (62,8 %)
Negativ	Positiv	Intet resultat**	8	0	4	0	4	4 (50,0 %)
Negativ	Negativ	Positiv	236	3	144	1	146	89 (37,7 %)
Negativ	Negativ	Negativ	9354	1	321	0	322	9032 (96,6 %)
Negativ	Negativ	Intet resultat**	591	1	0	0	1	590 (99,8 %)
Totalt			10 860	20	798	11	807	10 042 (92,5 %)

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

**631 kvinner med Aptima HPV assay-resultater fikk ingen HPV-DNA-testresultater, hovedsakelig pga. utilstrekkelig cytologi prøvevolum.

Den justerte prevalensen av \geq CIN2 og \geq CIN3 hos kvinner med NILM-cytologiresultater var henholdsvis 0,9 % og 0,4 %. De justerte absolutte og relative risikoestimatene for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 ved baseline vises i tabell 48. Den justerte relative risikoen for \geq CIN2 var 7,5 (95 % KI: 2,1, 26,3), som indikerer at en kvinne som var Aptima HPV assay-positiv hadde 7,5 ganger så stor sannsynlighet for å ha \geq CIN2 sammenlignet med en kvinne som var Aptima HPV assay-negativ. Den justerte relative risikoen for \geq CIN3 var 24,9 (95 % KI: 2,0, 307,0). De ujusterte absolutte og relative risikoestimatene for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 ved baseline vises samlet i tabell 49 og etter aldersgruppe i tabell 50.

Tabell 48: Populasjonen NILM \geq 30 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test (verifikasjonsbiasjusterte estimer) ved baseline

	Assay-resultat	Aptima HPV Assay		HPV-DNA-test	
		Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
\geq CIN2	Positiv	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negativ	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalens (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Positiv	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negativ	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalens (%)	0,4		0,4	

Tabell 49: Populasjonen NILM \geq 30 år: Absolutte og relative risikoer for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test (ujusterte estimer) ved baseline

	Assay-resultat	Aptima HPV Assay N=818		HPV-DNA-test N=800*	
		Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
\geq CIN2	Positiv	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)
	Negativ	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalens (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
\geq CIN3	Positiv	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)
	Negativ	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalens (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

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

Tabell 50: Populasjonen NILM ≥ 30 år: Absolutte og relative risikoer for ≥ CIN2 og ≥ CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test etter aldersgruppe (ujusterte estimater) ved baseline

	Alder	Assay-resultat	Aptima HPV Assay N=818		HPV-DNA-test N=800*	
			Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)	Absolutt risiko (95 % KI)	Relativ risiko (95 % KI)
≥ CIN2	30 til 39 år		N=383		N=376	
		Positiv	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)
		Negativ	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Prevalens (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 år		N=435		N=424	
		Positiv	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)
		Negativ	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
		Prevalens (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥ CIN3	30 til 39 år		N=383		N=376	
		Positiv	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)
		Negativ	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
		Prevalens (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	≥ 40 år		N=435		N=424	
		Positiv	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Kan ikke beregnes	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Kan ikke beregnes
		Negativ	0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
		Prevalens (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

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

Justerte kliniske ytelsesestimater for Aptima HPV assay, inkludert sensitivitet, spesifisitet, PPV og NPV for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3, vises i tabell 51, og det samme gjelder estimater for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen. Ujusterte kliniske ytelsesestimater vises i tabell 52. Aptima HPV assay og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen hadde lignende sensitivitet, mens spesifisiteten var signifikant høyere for Aptima HPV assay (ikke-overlappende 95 % KI-er). Prediktive verdiestimater for Aptima HPV assay var klinisk relevante og lignende estimatene for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen. NPV var lignende, men for deteksjonen av \geq CIN2 var PPV for Aptima HPV assay litt høyere enn PPV for den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen (4,5 % mot 3,7 %).

Tabell 51: Populasjonen NILM \geq 30 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 (verifikasjonsbiasjusterte estimater) ved baseline

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

Tabell 52: Populasjonen NILM \geq 30 år: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-DNA-test for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 (ujusterte estimater) ved baseline

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

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

Direkte sammenligning av Aptima HPV assay på Panther System og den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen demonstrerer lignende sensitivitet og statistisk signifikant forbedret spesifisitet for Aptima HPV assay sammenlignet med den kommersielt tilgjengelige HPV-DNA-testen for deteksjon av \geq CIN2, som vist av forholdstallene for sant positive og falskt positive forekomster (henholdsvis tabell 53 og tabell 54).

Tabell 53: Populasjonen NILM \geq 30 år: Forholdstall for sant positive forekomster (Aptima HPV Assay/ HPV-DNA-test) for kvinner med \geq CIN2 (ujusterte estimater) ved baseline

		HPV-DNA-test		Totalt
		Positiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Positiv	13	1	14 (73,7 %)
	Negativ	3	2	5
	Totalt	16 (84,2 %)	3	19
Forholdstall for sant positive forekomster = 0,88 (14/16) (95 % KI: 0,65, 1,10)				

Tabell 54: Populasjonen NILM \geq 30 år: Forholdstall for falskt positive forekomster (Aptima HPV Assay/ HPV-DNA-test) for kvinner med $<$ CIN2 (ujusterte estimater) ved baseline

		HPV-DNA-test		Totalt
		Positiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Positiv	223	19	242 (31,0 %)
	Negativ	177	362	539
	Totalt	400 (51,2 %)	381	781
Forholdstall for falskt positive forekomster = 0,61 (242/400) (95 % KI: 0,55, 0,66)				

NILM \geq 30 års populasjon: Aptima HPV assay klinisk ytelse Panther-systemets kliniske ytelse etter 3 års oppfølging

Det var 10843 kvinner på 30 år eller eldre med NILM cytologieresultater og gyldige Aptima HPV assay-resultater på Panther-systemet ved baseline som var godkjent for oppfølgingsfasen. Av kvinner uten \geq CIN2 fullførte 67,0 % (7247/10823) av kvinnene år 1 oppfølgings PAP-besøk, 60,3 % (6517/10814) år 2 og 58,7 % (6339/10807) for år 3. Generelt fullførte 58,8 % (6375/10843) av kvinnene studien (hadde \geq CIN2 ved baseline eller under oppfølging, og/eller fullførte nødvendige besøk).

Av de 10843 vurderbare kvinnene hadde 511 (4,7 %) positive Aptima HPV assay-resultater på Panther-systemet ved baseline. Av disse 511 kvinnene hadde 255 enten positiv eller negativ 3-årig sykdomsstatus basert på resultatene fra cytologi eller kolposkopi. De gjenværende 10332 kvinnene hadde negative resultater for Aptima HPV assay på Panther-systemet ved baseline. Av disse 10332 kvinnene hadde 5946 (57,5 %) enten positiv eller negativ 3-årig sykdomsstatus. Av de 6201 av kvinnene med 3-årig sykdomsstatus hadde 47 kvinner \geq CIN2 deriblant 23 med \geq CIN3; 6154 kvinner hadde normal CIN1 fra konsensus-histologisk granskningspanel. Basalineresultater fra Aptima HPV assay på Panther-systemet

og kommersielt tilgjengelig HPV DNA assay, og den 3-årige sykdomsstatusen (inkluderer baseline og oppfølgingsvurdering) fra konsensus-histologisk granskningspanel er presentert i tabell 55.

Tabell 55: NILM \geq 30 års populasjon: Klassifisering av godkjente kvinner for oppfølgingsfasen av baseline Aptima HPV assay-resultater, baseline HPV DNA prøveresultater og sykdomsstatus (\geq CIN2, \geq CIN3, ubekreftet) avgjort i baseline og oppfølgingsfaser

Aptima HPV Assay-resultater	HPV DNA-prøve	Totalt ant. Kvinner	Uten sykdomsstatus \geq CIN2		Bekreftet sykdomsstatus \geq CIN3		Ubekreftet sykdomsstatus	
			Syke kvinner (\geq CIN2)	Ikke syke kvinner (\geq CIN3)	Syke kvinner (\geq CIN2)	Ikke syke kvinner (\geq CIN3)	Manglet oppfølging	Ubestemt*
Positiv	Positiv	382	23	171	16	178	167	21
Positiv	Negativ	97	1	48	1	48	44	4
Positiv	Intet resultat**	32	2	10	1	11	17	3
Negativ	Positiv	281	5	129	2	132	130	17
Negativ	Negativ	9 452	15	5 476	3	5 488	3 756	205
Negativ	Intet resultat**	599	1	320	0	321	264	14
Totalt		10 843	47	6 154	23	6 178	4 378	264

*Kvinner som hadde unormale cytologi testresultater under oppfølging og som ikke etterpå hadde et etterfølgende resultat for konsensus-histologisk granskningspanel, og kvinner med utilstrekkelig cytologi på siste besøk. 174 kvinner med ubestemt sykdomsstatus gjennomførte oppfølging i.h.t. protokoll.

**631 kvinner med Aptima HPV assay-resultater hadde ikke HPV DNA-testresultater, primært på grunn av utilstrekkelig volum av cytologprøver.

Den 3-årige kumulative sykdomsrisikoen for (\geq CIN2 og \geq CIN3) er basert på Kaplan-Meier estimat (overlevelsesanalysr) og inkluderer sykdom oppdaget ved baseline eller oppfølging. Kvinner som hadde en viss sykdomsindikasjon (ASC-US eller mer alvorlige cytologiresultater), men uten resutater fra konsensus-historisk granskningspanel, ble inkludert i analysen ved hjelp av multipl imputeringsmetode for å forutsi antallet kvinner med sykdom som ville ha blitt identifisert hvis kvinnene hadde gjennomgått kolposkopi.

De 3-årige kumulative absolutte og relative risikoestimer for deteksjon av \geq CIN2 og \geq CIN3 er vist i Tabell 56.

Tabell 56: NILM \geq 30 års populasjon: 3-årige kumulative absolutte og relative risikoestimer* for \geq CIN2 og \geq CIN3 for resultater av Aptima HPV Assay og en HPV DNA-prøve ved baseline

	Assay-resultater	Aptima HPV Assay		HPV DNA-prøve	
		Absolutt risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)	Absolutt risiko (95 % CI)	Relativ risiko (95 % CI)
\geq CIN2	Positive	7,90 (5,50, 11,27)	24,45 (13,85, 43,15)	6,43 (4,50, 9,14)	22,71 (12,20, 42,30)
	Negative	0,32 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Utbredelse (%)	0,68		0,68	
\geq CIN3	Positive	5,23 (3,34, 8,13)	57,11 (21,09, 154,62)	4,14 (2,62, 6,52)	51,34 (17,74, 148,58)
	Negative	0,09 (0,04, 0,23)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Utbredelse (%)	0,34		0,35	

*De 3-års kumulative risikoer justert for andre mulige skjevheter var lik risikoen i denne tabellen. På grunn av forutsette risikoforskjeller ved år 1 og år 2 for de to gruppene av kvinner i oppfølgingsstudien (de med kolposkopi ved baseline og de uten kolposkopi ved baseline) ble bare den 3-års kumulative risikoen for de kombinerte gruppene rapportert.

Den 3-års kumulerte utbredelsen av \geq CIN2 og \geq CIN3 hos kvinner med resultater for NILM cytologi ved baseline var henholdsvis 0,68 % og 0,34 %. Den relative risikoen for \geq CIN2 var 24,45 (95 % CI: 13.85, 43.15), noe som indikerer at en kvinne som er Aptima HPV assay-positiv på Panther-systemet er 24,45 ganger mer sannsynlig å ha \geq CIN2 enn en kvinne som er Aptima HPV assay-negativ. Den relative risikoen for \geq CIN3 var 57,11 (95 % CI: 21.09, 154.62).

Klinisk ytelse for Aptima HPV Assay med SurePath flytende cytologiprøver

SurePath flytende cytologiprøver ble oppsamlet fra canadiske kvinner (n = 558) som ble henvist til oppfølging på grunn av én eller flere unormale celleprøver, en HPV-infeksjon eller andre grunner. En alikvot (0,5 ml) av hver prøve ble overført til et Aptima prøveoverføringsrør og deretter behandlet med Aptima overføringsløsning. Ett enkelt replikat av hver prøve ble testet med Aptima HPV assay. En separat alikvot (1 ml) av hver prøve ble fjernet for evaluering med en kommersielt tilgjengelig HPV-PCR-test. Den kliniske sensitiviteten for deteksjon av sykdom, definert som et histologiresultat \geq CIN3, ble beregnet for både Aptima HPV assay og HPV-PCR-testen, som vist i tabell 57, med de positive og negative prediktive verdiene.

Tabell 57: Ytelse av Aptima HPV Assay og en HPV-PCR-test for deteksjon av \geq CIN3

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

Ytelse for Aptima HPV Assay med livmorhalsprøver oppsamlet for transport

Høyrisiko HPV-positive og høyrisiko HPV-negative kliniske prøver oppsamlet fra både screening- (rutinemessig besøk) og henviste (kolposkopibesøk) populasjoner med Aptima CSCT-sett, ble testet med Aptima HPV assay på Panther og Tigris DTS System ved bruk av to reagenspartier. Samsvaret mellom Panther og Tigris DTS System for CSCT-prøver vises i tabell 58.

For CSCT-prøver var det totale samsvaret mellom Panther og Tigris DTS Systems > 98 %, som vist i tabell 58. Av de 632 kliniske prøvene som ble testet, var 69 CIN2+ og 38 var CIN3+. Sensitiviteten i Aptima HPV assay for deteksjon av CIN2+ var 97,1 % (95 % KI: 90,0-99,2 %) på Panther System og 98,6 % (95 % KI: 92,2-99,7) på Tigris DTS System. Sensitivitet for deteksjon av CIN3+ var 100 % (KI: 90,8-100 %) på både Panther og Tigris DTS Systems.

Tabell 58: Samsvar mellom Aptima HPV Assay-resultater fra Aptima CSCT-prøver testet på Tigris DTS og Panther Systems

		Tigris DTS System		Totalt
		Positiv	Negativ	
Panther System	Positiv	490	3	493
	Negativ	9	130	139
	Totalt	499	133	632

Generelt samsvar = 98,1 % (KI 96,7-98,9)

Positivt samsvar = 98,2 % (KI 96,6-99,0)

Negativt samsvar = 97,7 % (KI 93,6-99,2)

Analytisk sensitivitet

Deteksjonsgrensen (Limit of Detection, LOD) ved den kliniske cutoff er konsentrasjonen av HPV-RNA som gir et positivt resultat (over den kliniske cutoff) 95 % av tiden. Deteksjonsgrensen for Aptima HPV assay ble fastslått ved å teste fortynningspaneler med *in vitro*-transkripter (IVT) for alle 14 høyrisiko genotyper og 4 HPV-infiserte cellelinjer: SiHa, HeLa, MS751 og ME180 (ATCC, Manassas, Virginia, USA). For IVT-panelene ble prøvetransportmidler tilsatt IVT i ulike konsentrasjoner og deretter fortynnet med individuelle negative ThinPrep flytende cytologiprøver før testing. For de HPV-infiserte cellepanelene ble sett med HPV-negative ThinPrep flytende cytologiprøver tilsatt HPV-infiserte celler i ulike konsentrasjoner og deretter fortynnet med prøvetransportmiddel før testing. Tretti replikater for hvert kopinivå ble testet med hvert av to reagenspartier for totalt 60 replikater. Testing ble utført over 17 dager, med 1 til 12 kjøring per dag og 5 replikater for en gitt genotype og konsentrasjon testet i hver kjøring. 95 % deteksjonsgrensen ble beregnet ut fra Probit-regresjonsanalyse av positivitetsresultatene for hvert fortynningspanel.

Probit-analysresultatene i tabell 59 viser at HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 og 68 hadde 95 % deteksjonsgrenser på under 100 kopier/reaksjon, og type 52, 58 og 66 hadde 95 % deteksjonsgrenser på mellom 100 og 500 kopier/reaksjon. De fire cellelinjene som ble testet, hadde 95 % deteksjonsgrenser på under 1 celle/reaksjon.

Tabell 59: Deteksjonsgrense ved klinisk cutoff for Aptima HPV Assay

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

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

Analysens presisjon

Presisjonen til Aptima HPV assay ble evaluert i to studier ved bruk av samme 20-elementers panel. Studie 1 ble utført på 3 steder, 2 eksterne og 1 internt, og studie 2 ble utført internt. Panelet inkluderte 13 HPV-positive elementer med konsentrasjoner ved eller over deteksjonsgrensen for analysen (forventet positivitet: $\geq 95\%$), 3 HPV-positive elementer med konsentrasjoner under deteksjonsgrensen for analysen (forventet positivitet: $> 0\%$ til $< 25\%$), og 4 HPV-negative elementer. HPV-positive panelementer ble tilberedt ved å tilsette *in vitro* RNA-transkripter (IVT) i PreservCyt-løsning fortynnet med prøvetransportmiddel (Specimen Transport Media, STM) eller HPV-infiserte kultiverte celler (SiHa, HeLa og MS751; ATCC, Manassas, Virginia, USA) i samlede negative ThinPrep flytende cytologi prøver fortynnet med STM. HPV-negative panelementer ble tilberedt med PreservCyt-løsning eller samlede negative ThinPrep flytende cytologi prøver fortynnet med STM.

I studie 1 utførte 2 operatører på hvert av de 3 teststedene (1 instrument per sted) 2 Aptima HPV assay-arbeidslister per dag (1 med hvert reagensparti) over 3 dager. Hver arbeidsliste inneholdt 3 replikater av hvert av elementene i reproducerbarhetspanelet. Ett hundre og åtte (108) individuelle prøverør ble testet for hvert panelement (3 steder x 1 instrument x 2 operatører x 2 partier x 3 arbeidslister x 3 replikater). I studie 2 ble testing utført internt over 13 dager med totalt 162 reaksjoner testet for hvert panelement (1 sted x 3 instrumenter x 3 operatører x 3 partier x 2 arbeidslister x 3 replikater).

Panelementene er beskrevet i tabell 60a (panelementer med forventet positivt resultat) og tabell 60b (panelementer med forventet negativt resultat), sammen med et sammendrag av samsvaret mellom forventede resultater og analytt S/CO-verdier ved 2,5., 50. og 97,5. persentil i S/CO-distribusjonen. Analytt S/CO-variabilitet for panelementene med forventet positivt resultat vises i tabell 61 for studie 1 og tabell 62 for studie 2.

Tabell 60a: Presisjonsstudie 1 og 2 for Aptima HPV Assay: Panelbeskrivelse, positiv-samsvar og persentildistribusjon av analytt S/CO-verdier for panelelementer med forventet positivt resultat

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon)	Studie 1 (3 teststeder)	Studie 2 (1 teststed)
	% positiv-samsvar (95 % KI)	% positiv-samsvar (95 % KI)
Høyt HPV-positiv klinisk prøve 1	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Høyt HPV-positiv klinisk prøve 2	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (1830 kopier)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,1, 100)
HPV 18 IVT (1550 kopier)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 1	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 2	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 3	100 (108/108) (96,6, 100)	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 4	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 16 IVT (183 kopier)	100 (102/102) (96,4, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (155 kopier)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (159/159) (97,6, 100)
MS751-celler (0,63 celler)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa-celler (0,35 celler)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-celler (0,90 celler)	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)

IVT = *in vitro*-transkript

*Forventet % positiv-samsvar ~95 %; observert lavere mulighet pga. produksjonsvariabilitet i panelelementet.

Tabell 60b: Presisjonsstudie 1 og 2 for Aptima HPV Assay: Panelbeskrivelse, negativ-samsvar og persentildistribusjon av analytt S/CO-verdier for panelelementer med forventet negativt resultat

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon)	Studie 1 (3 teststeder)	Studie 2 (1 teststed)
	% negativ-samsvar (95 % KI)	% negativ-samsvar (95 % KI)
MS751-celler (0,005 celler)	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)
SiHa-celler (0,008 celler)	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
HeLa-celler (0,02 celler)	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)
HPV-negativ klinisk prøve 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ klinisk prøve 2	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt-løsning 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt-løsning 2	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (161/161) (97,7, 100)

IVT = *in vitro*-transkript.

*Forventet % negativ-samsvar > 75 % og < 100 %.

Tabell 61: Presisjonsstudie 1 for Aptima HPV Assay: Signalvariabilitet for panelelementer med forventet positivt resultat

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon)	n	Gjen- nom- snittlig S/CO	Mellom instrumenter		Mellom operatører		Mellom partier		Mellom arbeidslister		Innen arbeidslister		Totalt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Høyt HPV-positiv klinisk prøve 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
Høyt HPV-positiv klinisk prøve 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 kopier)	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 kopier)	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
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 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
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 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
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 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
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 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 kopier)	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 kopier)	108	11,78	0,00	0,0	0,43	3,7	0,00	0,0	1,12	9,5	1,97	16,7	2,30	19,6
MS751-celler (0,63 celler)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
HeLa-celler (0,35 celler)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
SiHa-celler (0,90 celler)	107*	7,74	0,37	4,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,85	49,8	3,87	50,1

*Tolv prøver hadde ugyldige Aptima HPV assay-resultater (1 for høyt HPV-positiv klinisk prøve 1, 1 for høyt HPV-positiv klinisk prøve 2, 1 for HPV 16 IVT (1830 kopier), 1 for HPV 18 IVT (1550 kopier), 1 for lavt HPV-positiv klinisk prøve 1, 6 for HPV 16 IVT (183 kopier) og 1 for SiHa-celler (0,90 celler)).

CV = variasjonskoeffisient; IVT = *in vitro*-transkript; SD = standardavvik

Merknad: Variabiliteten fra noen faktorer kan være numerisk negative. Dette kan skje hvis variabiliteten på grunn av disse faktorene var svært liten. I disse tilfellene er SD og CV angitt som null.

Tabell 62: Presisjonsstudie 2 for Aptima HPV Assay: Signalvariabilitet for panelelementer med forventet positivt resultat

Panelbeskrivelse (kopier eller celler/reaksjon)	n	Gjen- nom- snittlig S/CO	Mellom instrumenter		Mellom operatører		Mellom partier		Mellom arbeidslister		Innen arbeidslister		Totalt	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Høyt HPV-positiv klinisk prøve 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
Høyt HPV-positiv klinisk prøve 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 kopier)	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 kopier)	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
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 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
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 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
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 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
Lavt HPV-positiv klinisk prøve 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 kopier)	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 kopier)	159*	11,40	0,16	1,4	0,17	1,5	1,21	10,6	0,23	2,0	1,17	10,3	1,72	15,0
MS751-celler (0,63 celler)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
HeLa-celler (0,35 celler)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
SiHa-celler (0,90 celler)	162	7,30	0,32	4,3	0,00	0,0	0,93	12,7	1,04	14,3	3,49	47,8	3,77	51,7

*Seks prøver hadde ugyldige Aptima HPV assay-resultater (1 for høyt HPV-positiv klinisk prøve 1, 1 for HPV 16 IVT (1830 kopier), 1 for lavt HPV-positiv klinisk prøve 3, 3 for HPV 18 IVT (155 kopier).

CV = variasjonskoeffisient; IVT = *in vitro*-transkript; SD = standardavvik

Merknad: Variabiliteten fra noen faktorer kan være numerisk negative. Dette kan skje hvis variabiliteten på grunn av disse faktorene var svært liten. I disse tilfellene er SD og CV angitt som null.

Kryssreaktivitet

Testing med potensielt kryssreaktive organismer for Aptima HPV assay ble utført med Tigris DTS System. Se *Kryssreaktivitet* (tabell 37) i avsnittet Tigris DTS System for resultater.

Interferens

Testing med potensielt interfererende stoffer for Aptima HPV assay ble utført med Tigris DTS System. Se *Interferens* (tabell 38) i avsnittet Tigris DTS System for resultater.

Bibliografi

1. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* **189**:12-19.
2. **Li N., 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. Sunsum, 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. Weischenk, 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 Candian 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

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

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



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

Du finner flere kontaktopplysninger på www.hologic.com.

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

Hologic, Aptima, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep og Tigris er varemerker og/eller registrerte varemerker som tilhører Hologic, Inc. og/eller dets datterselskaper i USA og/eller andre land.
eppendorf (stilisert) og REPEATER er varemerker for Eppendorf AG.

RAININ er et varemerke for Rainin Instruments, LLC.

TECAN og FREEDOM EVO er varemerker for Tecan Group AG.

SUREPATH og PREPSTAIN er varemerker eid av TriPath Imaging, Inc.

Alle andre varemerker som kan finnes i dette pakningsvedlegget, eies av sine respektive eiere.

© 2007–2017 Hologic, Inc. Med enerett.
AW-14517-1801 Rev. 003

2017-04