

## Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Bestemd voor *in-vitro* diagnostiek.  
Uitsluitend voor de Amerikaanse export.

<b>Algemene informatie</b> .....	<b>2</b>
Beoogd gebruik .....	2
Samenvatting en uitleg van de test .....	2
Principes van de procedure .....	3
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen .....	4
Vereisten voor opslag en hantering van reagentia .....	5
Monsternamen en -opslag .....	6
<b>Testinterpretatie</b> .....	<b>20</b>
<b>Beperkingen</b> .....	<b>21</b>
<b>Verwachte resultaten Tigris DTS System: prevalentie van hoog-risico HPV-mRNA</b> .....	<b>23</b>
<b>Prestaties Tigris DTS System Assay</b> .....	<b>24</b>
<b>Verwachte resultaten Panther System: Prevalentie van hoog-risico HPV-mRNA</b> .....	<b>43</b>
<b>Prestaties Panther System Assay</b> .....	<b>44</b>
<b>Bibliografie</b> .....	<b>61</b>

### Tigris™ DTS™ System

<b>Tigris DTS System</b> .....	<b>8</b>
Geleverde reagentia en materialen .....	8
Benodigde, maar apart geleverde materialen .....	9
Testprocedure Tigris DTS System .....	10
Procedurele opmerkingen .....	12

### Panther™ System

<b>Panther System</b> .....	<b>13</b>
Geleverde reagentia en materialen .....	13
Benodigde, maar apart geleverde materialen .....	14
Testprocedure Panther System .....	15
Procedurele opmerkingen .....	17

## Algemene informatie

### Beoogd gebruik

Het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay (Aptima HPV 16 18/45-genotype-assay) is een *in-vitro* nucleïnezuuramplificatietest voor de kwalitatieve detectie van viraal E6/E7-boodschapper-RNA (mRNA) van type 16, 18 en 45 hoog-risico HPV-typen van humaan papillomavirus (HPV) in de monsters van vrouwen met positieve Aptima HPV assay-resultaten. HPV mRNA wordt gedetecteerd in baarmoederhalskanker-Pap-monsters voor vloeistofcytologie in ThinPrep™-flesjes die PreservCyt™-oplossing bevatten, voorafgaand of na de Pap-verwerking, of in monsters die met het Aptima-pakket voor verzameling en transport van baarmoederhalsmonsters zijn genomen. Baarmoederhalsmonsters die in SurePath-conserveringsvloeistof zijn verzameld, kunnen met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay worden getest. Het assay wordt gebruikt met het Tigris DTS System en het Panther System.

### Samenvatting en uitleg van de test

Baarmoederhalskanker is een van de meest voorkomende kankervormen bij vrouwen ter wereld. HPV is het etiologische agens dat verantwoordelijk is voor meer dan 99% van alle gevallen van baarmoederhalskanker.<sup>1,2,3</sup> HPV is een DNA-virus dat gewoonlijk seksueel wordt overgebracht en omvat meer dan 100 genotypen.<sup>4</sup>

Het viraal genoom van HPV is een dubbelstrengs, cirkelvormig DNA van circa 7.900 baseparen lengte. Het genoom heeft acht overlappende open leesframes. Er zijn zes vroege (E) genen, twee late (L) genen en één ongetransleerd lang controlegebied. De L1- en L2-genen coderen voor de grote en kleine capsid-eiwitten. De vroege genen reguleren de virale replicatie van HPV. De E6- en E7-genen van hoog-risico HPV-genotypen zijn bekende oncogenen. Eiwitten van expressie van polycistronisch E6/E7-mRNA veranderen de functies van cellulair p53 en retinoblastoma-eiwit, wat leidt tot verstoring van controle van de celcyclus en tot instabiliteit van het celgenoom.<sup>5,6</sup>

Veertien HPV-genotypen worden gezien als pathogeen of als hoog-risico voor de progressie van de baarmoederhals.<sup>7</sup> Meerdere onderzoeken hebben genotypen 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 en 68 gekoppeld aan ziekteprogressie.<sup>2,5,8</sup> Patiënten met een persistente infectie met een van deze typen hebben een groter risico op het ontwikkelen van ernstige cervicale dysplasie of baarmoederhalskanker.<sup>7,9</sup>

In onderzoeken is aangetoond dat verschillende typen hoog-risico HPV de kans op het ontwikkelen van ernstige dysplasie of baarmoederhalskanker in verschillende mate vergroten. Wereldwijd zijn HPV-typen 16, 18 en 45 in verband gebracht met ongeveer 80% van alle gevallen van invasieve baarmoederhalskanker.<sup>2,10</sup> Deze drie typen worden gevonden in 75% van alle plaveiselcelcarcinomen, waarbij type 16 verantwoordelijk is voor het grootste deel (85%) van deze infecties. Bij adenocarcinomen worden in 80-94% van de gevallen, HPV-typen 16, 18 en 45 gevonden, waarbij met type 18 en 45 verantwoordelijk zijn voor bijna de helft van deze infecties.<sup>2,10</sup> De aanwezigheid van HPV-type 18 in het vroege stadium van baarmoederhalskanker is in verband gebracht met een slechte prognose.<sup>11</sup> De aanwezigheid van HPV-type 18 en 45 in prekanker-laesies is groter dan vermeld, dit kan worden veroorzaakt door de aanwezigheid van occulte laesies in het baarmoederhalskanaal die niet worden bereikt met colposcopische onderzoek.<sup>12</sup> Bij vrouwen die zijn geïnfecteerd met HPV type 16 en/of 18 is het cumulatieve risico op baarmoederhals 10 maal hoger dan het risico op de ontwikkeling van een ziekte door andere hoog-risico typen.<sup>13,14,15</sup>

## Principes van de procedure

Het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay bestaat uit drie hoofdstappen die in één reageerbuis plaatsvinden: zuivering, amplificatie door transcriptiegemedieerde amplificatie (Transcription-Mediated Amplification, TMA)<sup>16</sup> en detectie van de amplificatieproducten (amplicon) met het hybridisatieprotectieassay (Hybridization Protection Assay, HPA).<sup>17</sup> Het assay bevat een interne controle (IC) voor het volgen van zuivering, amplificatie en detectie van nucleïnezuren, en van fouten van bediener of instrument.

De monsters worden verzameld in of overgebracht naar een reageerbuis met monstertransportmedium (Specimen Transport Media, STM) dat de cellen lyseert, het mRNA vrijmaakt en dit tegen afbraak tijdens opslag beschermt. Als het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay is uitgevoerd, wordt het doel-mRNA van het monster geïsoleerd met zuiveringsoligomeren die aan magnetische microdeeltjes zijn gekoppeld. De zuiveringsoligomeren bevatten basenvolgorde die complementair zijn aan specifieke gebieden van de HPV-mRNA-doelmoleculen, gekoppeld aan een reeks deoxyadenosineresten. Tijdens de hybridisatiestap binden de basenvolgorde-specifieke gebieden van de zuiveringsoligomeren aan specifieke gebieden van het HPV-mRNA-doelmolecuul. Het complex van zuiveringsoligomeer en doelmolecuul wordt vervolgens uit de oplossing gewonnen door de temperatuur van de reactie tot kamertemperatuur te laten dalen. Door deze temperatuurverlaging kan hybridisatie optreden tussen het deoxyadenosinegebied op de zuiveringsoligomeer en de poly-deoxythymidinmoleculen die covalent aan de magnetische deeltjes zijn gebonden. De microdeeltjes worden, samen met de hieraan gebonden HPV-mRNA-doelmoleculen, met magneten naar de kant van de reageerbuis getrokken en het supernatant wordt weggezogen. De deeltjes worden gewassen voor het verwijderen van resten van de monstermatrix die stoffen kunnen bevatten die de amplificatie remmen.

Nadat de zuivering voltooid is, wordt het HPV-mRNA met TMA geamplificeerd. TMA is een transcriptiegebaseerde methode voor amplificatie van nucleïnezuren, die van twee enzymen gebruik maakt: MMLV reverse transcriptase en T7 RNA-polymerase. Het reverse transcriptase wordt gebruikt voor het maken van een DNA-kopie van de mRNA-doelsequentie met een promotorsequentie voor T7 RNA-polymerase. Door het T7 RNA-polymerase worden meerdere kopieën RNA-amplicon van het DNA-kopiesjabloon gemaakt.

Het amplicon wordt met HPA gedetecteerd met enkelstrengs-nucleïnezuurprobes met chemoluminescente labels die complementair zijn aan het amplicon. De gelabelde nucleïnezuurprobes hybridiseren specifiek met het amplicon. Het selectiereagens maakt onderscheid tussen gehybridiseerde en ongehybridiseerde probes door het label op ongehybridiseerde probes te inactiveren. Tijdens de detectiestap wordt licht dat door de gelabelde RNA-DNA-hybriden wordt uitgezonden, in een luminometer gemeten als fotonsignalen die relatieve lichteenheden (Relative Light Units, RLU) worden genoemd. De uiteindelijke assayresultaten worden geïnterpreteerd op basis van de signal-to-cutoff (S/CO) van de analyt.

De interne controle (IC) wordt via het zuiveringsreagens aan elke reactie toegevoegd. Met de IC worden de zuiverings-, amplificatie- en detectiestappen van het assay gecontroleerd. De dubbele-kinetiekassay (Dual Kinetic Assay, DKA) is de methode die wordt gebruikt om onderscheid te maken tussen de HPV-signalen en het IC-sigitaal.<sup>18</sup> Het IC- en HPV 16-amplicon worden gedetecteerd met een probe met een snelle lichtemissie (flitser). Het IC-sigitaal in elke reactie wordt van het HPV 16-sigitaal onderscheiden door de mate van de lichtemissie. Amplicons die specifiek zijn voor HPV 18 en 45 worden gedetecteerd met probes met een relatief langzamere kinetiek van lichtemissie (gloeier).

## Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- A. Bestemd voor *in-vitro* diagnostiek.
- B. Raadpleeg voor aanvullende, specifieke waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen met betrekking tot de instrumentatie de *Tigris DTS System Operator's Manual* (bedieningshandleiding van het Tigris DTS System) of de *Panther System Operator's Manual* (bedieningshandleiding van het Panther System).

### Met betrekking tot het laboratorium

- C. Gebruik alleen de geleverde of aangegeven wegwerp-laboratoriumartikelen.
- D. Gebruik de normale laboratoriumvoorzorgsmaatregelen. Eet, drink of rook niet in de aangegeven werkgebieden. Draag poederloze wegwerphandschoenen, oogbescherming en labjassen tijdens het hanteren van monsters en pakketreagentia. Was de handen grondig na het hanteren van monsters en pakketreagentia.
- E. **Waarschuwing: Irriterende en bijtende stoffen:** Voorkom contact van Auto Detect 2 met huid, ogen en slijmvliezen. Als deze vloeistof met huid of ogen in contact komt, wast u het getroffen gebied met water. Als deze vloeistof wordt gemorst, moet het gemorste materiaal met water worden verdund voordat het droog wordt geveegd.
- F. Werkoppervlakken, pipetten en overige apparatuur moeten regelmatig worden ontsmet met 2,5 tot 3,5% (0,35 tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Zie de testprocedure van het *Testprocedure Tigris DTS System* of de testprocedure van het *Testprocedure Panther System* voor meer informatie.

### Met betrekking tot monsters



- G. Zorg voor de juiste transport- en opslagtemperatuur, zodat het monster goed blijft. De stabiliteit van monsters is niet beoordeeld onder andere transport- en opslagomstandigheden dan de aanbevolen omstandigheden.
- H. De uiterste gebruiksdatums op verzamel- en overdrachtpakketten en reageerbuizen voor monsters hebben betrekking op de locatie voor verzameling en niet op de testfaciliteit. Monsters die voorafgaand aan deze uiterste gebruiksdatums zijn verzameld/overgebracht, kunnen worden getest indien deze volgens de toepasselijke bijsluiters zijn getransporteerd en opgeslagen, ook als deze uiterste gebruiksdatums verlopen zijn.
- I. De monsters kunnen besmettelijk zijn. Gebruik tijdens het uitvoeren van dit assay universele voorzorgsmaatregelen. Er moet door de laboratoriumdirecteur worden vastgelegd wat de juiste methoden voor hanteren en afvoeren zijn. Deze procedure mag alleen worden uitgevoerd door personeel dat voldoende is getraind in het omgaan met besmettelijke materialen.
- J. Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin het monster wordt gehanteerd. Zorg ervoor dat monstercontainers niet met elkaar in contact komen en werp gebruikte materialen weg zonder over open containers te gaan. Vervang uw handschoenen als deze met monster in contact komen.
- K. Bij doorprikken kan er onder bepaalde omstandigheden vloeistof uit reageerbuisdoppen komen. Zie de testprocedure van het *Testprocedure Tigris DTS System* of de testprocedure van het *Testprocedure Panther System* voor meer informatie.
- L. Monsters van ThinPrep-vloeistofcytologie en Aptima baarmoederhalsmonsternamen en -transport (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) moeten worden afgekeurd als er een monsternamen-instrument in het monsterbuisje is achtergebleven.

- M. SurePath-vloeistofcytologiemonsters moeten worden afgekeurd als er geen monsternameninstrument in het flesje aanwezig is.

### Met betrekking tot assays

- N. Sla reagentia op de aangegeven temperaturen op. De prestaties van het assay kunnen afwijken door het gebruik van verkeerd opgeslagen reagentia.
- O. Voorkom vervuiling van reagentia door micro-organismen en ribonuclease.
- P. Gebruik het pakket niet na de uiterste gebruiksdatum.
- Q. Verwissel, meng of combineer assayreagentia of kalibratiemiddelen van pakketten met verschillende partijnummers niet.
- R. Aptima assay-vloeistoffen, Aptima- systeemvloeistofconserveringsmiddel (alleen Tigris DTS System) en Auto Detect-reagentia maken geen deel uit van de hoofdpartij; elke partij kan worden gebruikt.
- S. Voor nauwkeurige assayresultaten moeten de assayreagentia goed worden gemengd.
- T. Er moeten puntjes met hydrofobe afsluitingen worden gebruikt.
- U. Sommige reagentia van dit pakket zijn voorzien van risico- en veiligheidssymbolen.

**Opmerking:** Gevarencommunicatie volgt de classificaties in veiligheidsinformatiebladen (VIB's) van de EU. Informatie over gevarencommunicatie specifiek voor uw regio vindt u in de regio-specifieke SDS (VIB) in de bibliotheek met veiligheidsinformatiebladen (Safety Data Sheet Library) op [www.hologicds.com](http://www.hologicds.com).

<b>EU-gevareninformatie</b>	
	<p><b>Selectiereagens</b>  <b>BOORZUUR 1 – 5%</b>            Natriumhydroxide &lt; 1%  <b>WAARSCHUWING</b>            H315 – Veroorzaakt huidirritatie            H319 – Veroorzaakt ernstige oogirritatie</p>
	<p><b>Zuiveringsreagens</b>  <b>EDTA 1 – 5%</b>            H411 – Giftig voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen            P273 – Voorkom lozing in het milieu            P280 – Oogbescherming/gelaatsbescherming dragen</p>

### Vereisten voor opslag en hantering van reagentia

Gebruik reagentia niet na de uiterste gebruiksdatum op de flesjes. Zie hieronder voor aanvullende opslagaanwijzingen.

- A. De volgende reagentia worden na ontvangst bij 2 °C tot 8 °C (gekoeld) bewaard:
- HPV 16 18/45-amplificatiereagens
  - HPV 16 18/45-enzymreagens
  - HPV 16 18/45-probereagens
  - HPV 16 18/45-interne-controlereagens
  - HPV 16 18/45 positieve kalibratiemiddelen en HPV 16 18/45 negatieve kalibratiemiddelen

- B. De volgende reagentia worden bij 15 °C tot 30 °C (kamertemperatuur) bewaard:
- HPV 16 18/45-amplificatiereconstitutieplossing
  - HPV 16 18/45-enzymreconstitutieplossing
  - HPV 16 18/45-probereconstitutieplossing
  - HPV 16 18/45-zuiveringsreagens
  - HPV 16 18/45-selectiereagens
  - Wasoplossing
  - Oliereagens
  - Buffer voor deactiveringsvloeistof
  - Auto Detect-reagens 1
  - Auto Detect-reagens 2
  - Aptima-systeemvloeistofconserveringsmiddel (alleen Tigris DTS System)
- C. Na reconstitutie zijn de volgende reagentia 30 dagen stabiel als deze bij 2 °C tot 8 °C worden bewaard:
- HPV 16 18/45-amplificatiereagens
  - HPV 16 18/45-enzymreagens
  - HPV 16 18/45-probereagens
- D. Werkzuiveringsreagens (working Target Capture Reagent, wTCR) is 30 dagen stabiel inden bewaard bij 15 °C tot 30 °C. Niet koelen.
- E. Werp ongebruikte gereconstitueerde reagentia en wTCR weg na 30 dagen of na de uiterste gebruiksdatum van de hoofdpartij (wat het eerst is).
- F. De Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-reagentia zijn stabiel voor cumulatief 48 uur, indien bewaard in het Tigris DTS System.
- G. De Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-reagentia zijn stabiel voor cumulatief 72 uur, indien bewaard in het Panther System.
- H. Het probereagens en gereconstitueerde probereagens zijn lichtgevoelig. Sla de reagentia beschermd tegen licht op.
- I. Bevries de reagentia niet.

## Monstername en -opslag

- A. Monstername en -verwerking

### *ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters*

1. Verzamel baarmoederhalsmonsters volgens de aanwijzingen van de fabrikant met monstername-instrumenten van het type bezem of cytoborstel/spatel en plaats deze in ThinPrep-Pap-testflesjes met PreservCyt-oplossing.
2. Voorafgaand aan of na verwerking met ThinPrep 2000 System, ThinPrep 3000 System, ThinPrep 5000 Processor, ThinPrep 5000 Processor met Autolader of ThinPrep Genesis Processor, brengt u 1 ml van het ThinPrep-vloeistofcytologiespecimen over in een Aptima Specimen Transfer Tube [specimenoverdrachtsbuis] volgens de bijsluiters van de Aptima Specimen Transfer Kit [specimenoverdrachtset].

*SurePath-vloeistofcytologiemonsters*

1. Verzamel een SurePath-vloeistofcytologiemonster volgens de gebruiksaanwijzing van de SurePath-Paptest en/of het PrepStain-systeem.
2. Breng het SurePath-vloeistofcytologiemonster over in een Aptima-monsteroverdrachtbuis volgens de aanwijzingen in de bijsluiters van het Aptima-monsteroverdrachtpakket.

*Monsters van Aptima-pakket voor verzameling en transport van baarmoederhalsmonsters*

Verzamel het monster volgens de gebruiksaanwijzing van het CSCT-pakket.

## B. Transport en opslag voorafgaand aan testen

*ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters*

1. Transporteer de ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters bij 2 °C tot 30 °C.
2. Monsters moeten binnen 105 dagen na afname in een Aptima-monsteroverdrachtbuis worden overgebracht.
3. Voorafgaand aan overdracht moeten ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters bij 2 °C tot 30 °C worden bewaard, met niet meer dan 30 dagen bij een temperatuur boven 8 °C.
4. ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters die in een Aptima-monsteroverdrachtbuis zijn overgebracht, kunnen maximaal 60 dagen bij 2 °C tot 30 °C worden bewaard.
5. Als langer bewaren nodig is, kan het ThinPrep-vloeistofcytologiemonster of het ThinPrep-vloeistofcytologiemonster verdund in de monsteroverdrachtbuis maximaal 24 maanden bij -20 tot -70 °C worden bewaard.

*SurePath-vloeistofcytologiemonsters*

1. Transporteer de SurePath-vloeistofcytologiemonsters bij 2 °C tot 25 °C.
2. Monsters moeten binnen 7 dagen na afname in een Aptima-monsteroverdrachtbuis worden overgebracht.
3. Voorafgaand aan overdracht moeten SurePath-vloeistofcytologiemonsters bij 2 °C tot 25 °C worden bewaard.
4. SurePath-vloeistofcytologiemonsters die in een Aptima-monsteroverdrachtbuis zijn overgebracht, kunnen maximaal 7 dagen bij 2 °C tot 25 °C worden bewaard.
5. Overgebrachte SurePath-monsters moeten voorafgaand aan het testen met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay worden behandeld met de Aptima-overdrachttoplossing. Behandelde monsters kunnen voorafgaand aan het testen met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay maximaal 17 dagen bij 2 °C tot 8 °C worden bewaard. Raadpleeg de bijsluiters van het monsteroverdrachtpakket voor meer informatie.

*Monsters van Aptima-pakket voor verzameling en transport van baarmoederhalsmonsters*

1. Transporteer en bewaar monsters maximaal 60 dagen bij 2 °C tot 30 °C.
2. Als langer bewaren nodig is, kunnen transportpakketmonsters maximaal 24 maanden bij -20 °C tot -70 °C worden bewaard.

## C. Monsteropslag na testen

1. Monsters waarop het assay is uitgevoerd, moeten rechttop in een rek worden bewaard.
2. Monsterbuizen moeten met een nieuwe, schone plastic of folieafsluiting worden afgedekt.
3. Als monsters waarop het assay is uitgevoerd bevroren of verzonden moeten worden, verwijder dan de doorprikbare dop en breng nieuwe, ondoordringbare doppen op de monsterbuizen aan. Als monsters voor testen naar een andere faciliteit moeten worden verzonden, moeten de aangegeven temperaturen worden aangehouden. Voordat u eerder geteste en opnieuw afgesloten monsters opent, centrifugeert u de buizen 5 minuten bij 420 relatieve centrifugaalkracht (Relative Centrifugal Force, RCF) om alle vloeistof onderin de buis te brengen.

**Opmerking:** Monsters moeten volgens de van toepassing zijnde plaatselijke, nationale en internationale transportregelgeving worden vervoerd.

## Tigris DTS System

### Geleverde reagentia en materialen

**Aptima HPV 16 18/45 genotype assay**-pakket, 100 tests (3 dozen), cat.nr. 303234

Kalibratiemiddelen zijn afzonderlijk verkrijgbaar. Zie de afzonderlijke dooscatalogusnummers hieronder.

#### Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Gekoelde doos (na ontvangst bij 2 °C tot 8 °C bewaren)

Symbool	Onderdeel	Hoeveelheid
<b>A</b>	<b>HPV 16 18/45-amplificatiereagens</b> <i>Niet-infectueuze nucleïne-zuren gedroogd in gebufferde oplossing met &lt; 5% vulstof.</i>	1 flesje
<b>E</b>	<b>HPV 16 18/45-enzymreagens</b> <i>Reverse transcriptase en RNA-polymerase gedroogd in HEPES-gebufferde oplossing met &lt; 10% vulstof.</i>	1 flesje
<b>P</b>	<b>HPV 16 18/45-probereagens</b> <i>Niet-infectueuze chemoluminescente DNA-probes (&lt; 500 ng/flesje) gedroogd in succinaatgebufferde oplossing met &lt; 5% detergens.</i>	1 flesje
<b>IC</b>	<b>HPV 16 18/45-interne-controlereagens</b> <i>Niet-infectueus RNA-transcript in gebufferde oplossing met &lt; 5% detergens.</i>	1 flesje

#### Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay-kamertemperatuordoos (na ontvangst bij 15 °C tot 30 °C bewaren)

Symbool	Onderdeel	Hoeveelheid
<b>AR</b>	<b>HPV 16 18/45-amplificatiereconstitutieoplossing</b> <i>Oplossing in water met conserveringsmiddelen.</i>	1 flesje
<b>ER</b>	<b>HPV 16 18/45-enzymreconstitutieoplossing</b> <i>HEPES-gebufferde oplossing met een surfactant en glycerol.</i>	1 flesje
<b>PR</b>	<b>HPV 16 18/45-probereconstitutieoplossing</b> <i>Succinaatgebufferde oplossing met &lt; 5% detergens.</i>	1 flesje
<b>S</b>	<b>HPV 16 18/45-selectiereagens</b> <i>600 mM boraatgebufferde oplossing met surfactant.</i>	1 flesje
<b>TCR</b>	<b>HPV 16 18/45-zuiveringsreagens</b> <i>Niet-infectueus nucleïne-zuur in een gebufferde oplossing met vaste fase (&lt; 0,5 mg/ml).</i>	1 flesje
	<b>Reconstitutiekragen</b>	3
	<b>Streepjescodeblad hoofdpartij</b>	1 blad



**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay-kalibratiemiddelendoos (cat.nr. 303235)**  
(na ontvangst bij 2 °C tot 8 °C bewaren)

Symbool	Onderdeel	Hoeveelheid
PCAL1	<b>HPV 16 18/45-positief-kalibratiemiddel 1</b> <i>Niet-infectueus HPV 18 in-vitro transcript in 750 kopieën/ml in een succinaatgebufferde oplossing met &lt; 5% detergens.</i>	5 flesjes
PCAL2	<b>HPV 16 18/45-positief-kalibratiemiddel 2</b> <i>Niet-infectueus HPV 16 in-vitro transcript in 1.000 kopieën/ml in een succinaatgebufferde oplossing met &lt; 5% detergens.</i>	5 flesjes
NCAL	<b>HPV 16 18/45-negatief-kalibratiemiddel</b> <i>Gebufferde oplossing met &lt; 5% detergens.</i>	5 flesjes

### Benodigde, maar apart geleverde materialen

**Opmerking:** Voor materialen die bij Hologic verkrijgbaar zijn, is het catalogusnummer opgenomen, tenzij anders aangegeven.

	<u>Cat.nr.</u>
Tigris DTS System	105118
Tigris DTS System-werkpakket	301191
<i>Apparaten voor meerdere buizen (Multi-tube Units, MTU)</i>	104772-02
<i>Afvalzak MTU-puntjes</i>	900907
<i>MTU-afvaldeflectoren</i>	900931
<i>MTU-afvaldekkingen</i>	105523
Aptima assay-vloeistofpakket	302382
<i>(Aptima-wasoplossing, Aptima-buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima-oliereagens)</i>	
Aptima Auto Detect-pakket	301048
Aptima-systeemvloeistofconserveringsmiddelpakket	302380
Puntjes, 1.000 µl, geleidend, vloeistofregistrerend	10612513 (Tecan)
Aptima-monsteroverdrachtpakket	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit — afdrukbaar	PRD-05110
Aptima-pakket voor verzameling en transport van baarmoederhalsmonsters	302657
Aptima doorprikbare doppen	105668
Niet-doorprikbare reservedoppen	103036A
Reservedoppen voor 100 testpakketten:	
<i>Reconstitutieoplossingen amplificatie- en probereagens</i>	CL0041
<i>Reconstitutieoplossingen enzymreagens</i>	CL0041
<i>TCR en selectiereagens</i>	501604
Bleekmiddel, minimaal 5% of 0,7 M natriumhypochlorietoplossing	—
Water voor het Tigris DTSSystem	—
<i>raadpleeg de Tigris DTS System Operator's Manual (bedieningshandleiding van het Tigris DTS System) voor specificaties</i>	
Wegwerphandschoenen	—
Aptima-overdrachtoplossingpakket (alleen voor SurePath-monsters)	303658

### Optionele materialen

	<u>Cat.nr.</u>
Bleekmiddelversterker voor reiniging	302101

## Testprocedure Tigris DTS System

**Opmerking:** Raadpleeg de *Tigris DTS System Operator's Manual (bedieningshandleiding van het Tigris DTS System)* voor aanvullende informatie over procedures.

### A. Voorbereiding werkgebied

Reinig de werkoppervlakken waar reagentia worden bereid. Veeg de werkoppervlakken en pipetten af met 2,5 tot 3,5% (0,35 tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Laat de natriumhypochlorietoplossing ten minste 1 minuut in contact met de oppervlakken en pipetten en spoel vervolgens met water. Laat de natriumhypochlorietoplossing niet opdrogen. Bedek het tafelloppervlak waarop de reagentia worden bereid met een schone, absorberende laboratoriumtafelafdekking met een plastic achterkant.

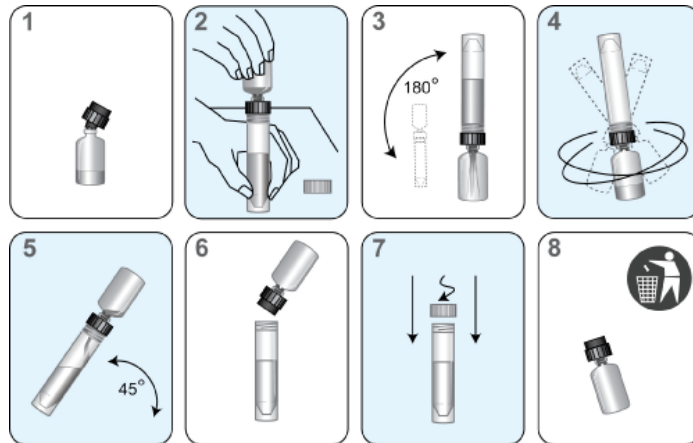
### B. Reagensvoorbereiding van een nieuw pakket.

**Opmerking:** Voordat u met het Tigris DTS System begint te werken, moet de reagensreconstitutie worden uitgevoerd.

1. Voor het reconstitueren van de amplificatie-, enzym- en probe-reagentia, voegt u de flessen gevriesdroogd reagens samen met de reconstitutieoplossing. Indien gekoeld, laat u de reconstitutieoplossingen op kamertemperatuur komen voordat u deze gebruikt.
  - a. Voeg elke reconstitutieoplossing bij het bijbehorende gevriesdroogde reagens.
  - b. Controleer de partijnummers op het streepjescodeblad van de hoofdpartij om u ervan te verzekeren dat de juiste reagentia bij elkaar worden gebruikt.
  - c. Open het flesje gevriesdroogd reagens en breng het uiteinde van de reconstitutiekraag met de inkeping in de opening van het flesje (Afbeelding 1, stap 1).
  - d. Open de bijbehorende reconstitutieoplossing en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
  - e. Houd de fles met oplossing op de tafel en steek het andere uiteinde van de reconstitutiekraag in de opening van de fles (Afbeelding 1, stap 2).
  - f. Keer de gekoppelde flessen langzaam om. Laat de oplossing uit de fles in het glazen flesje lopen (Afbeelding 1, stap 3).
  - g. Zwenk de oplossing rustig in het flesje om grondig te mengen. Voorkom schuimvorming bij het zwenken van het flesje (Afbeelding 1, stap 4).
  - h. Wacht tot het gevriesdroogde reagens oplost en draai vervolgens de flessen weer om met een hoek van 45° om schuimvorming te minimaliseren (Afbeelding 1, stap 5). Laat alle vloeistof terug in de plastic fles lopen.
  - i. Verwijder de reconstitutiekraag en het glazen flesje (Afbeelding 1, stap 6).
  - j. Sluit de plastic fles opnieuw af. Noteer de initialen van de bediener en de huidige datum op het etiket (Afbeelding 1, stap 7).
  - k. Werp de reconstitutiekraag en het flesje weg (Afbeelding 1, stap 8).

**Waarschuwing:** Voorkom schuimvorming bij het reconstitueren van reagentia. Schuim stoort de niveaudetectie in het Tigris DTS System.

**Opmerking:** Meng amplificatie-, enzym-, probe- en selectiereagentia grondig door ze rustig om te keren voordat u deze in het systeem laadt. Voorkom schuimvorming tijdens het omkeren van reagentia.



**Afbeelding 1. Reconstitutieproces Tigris DTS System**

2. Bereid het werksuiveringsreagens (wTCR) voor:
  - a. Plaats de bij elkaar horende flessen TCR en IC bij elkaar.
  - b. Controleer de reagenspartijnummers op het streepjescodeblad van de hoofdpartij om u ervan te verzekeren dat de juiste reagentia bij elkaar worden gebruikt.
  - c. Open de TCR-fles en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
  - d. Open de IC-fles en giet de hele inhoud ervan in de TCR-fles. Er kan een kleine hoeveelheid vloeistof in de IC-fles achterblijven.
  - e. Doe de dop op de TCR-fles en zwenk de oplossing rustig om de inhoud te mengen. Voorkom schuimvorming tijdens deze stap.
  - f. Noteer de initialen van de bediener en de huidige datum op het etiket.
  - g. Werp de IC-fles en -dop weg.
  - h. Er kan zich precipitaat vormen in het wTCR, wat foutieve resultaten kan geven vanwege volumeverificatiefouten. U kunt het precipitaat oplossen door het wTCR maximaal 90 minuten op te warmen bij 42 °C tot 60 °C. Laat het wTCR vóór gebruik op kamertemperatuur komen. Niet gebruiken als precipitaat aanwezig blijft.
3. Selectiereagens bereiden
  - a. Controleer het reagenspartijnummer op het streepjescodeblad van de hoofdpartij om u ervan te verzekeren dat het bij het pakket hoort.
  - b. Als het selectiereagens precipitaat bevat, verwarmt u het selectiereagens maximaal 45 minuten bij 60 ± 1 °C om het oplossen van het precipitaat te vergemakkelijken. Meng de fles elke 5 tot 10 minuten voorzichtig. Laat het selectiereagens vóór gebruik op kamertemperatuur komen. Niet gebruiken als precipitaat of troebelheid aanwezig blijft.

**Opmerking:** Meng grondig door alle reagentia rustig te kantelen, voordat u deze in het systeem laadt. Voorkom schuimvorming tijdens het omkeren van reagentia.

- C. Reagensvoorbereiding voor eerder gereconstitueerde reagentia:
  1. U moet eerder gereconstitueerd amplificatie-, enzym- of probereagens op kamertemperatuur (15 °C tot 30 °C) laten komen voordat u met het assay begint.
  2. Als gereconstitueerd probereagens precipitaat bevat dat niet bij kamertemperatuur weer oplost, verwarmt u dit 1 tot 2 minuten bij een temperatuur die niet boven de 60 °C komt. Niet gebruiken als precipitaat of troebelheid aanwezig is.

3. Als het wTCR precipitaat bevat, verwarmt u deze maximaal 90 minuten bij 42 °C tot 60 °C. Laat het wTCR vóór gebruik op kamertemperatuur komen. Niet gebruiken als precipitaat aanwezig blijft.
4. Als het selectiereagens precipitaat bevat, verwarmt u het selectiereagens maximaal 45 minuten bij  $60 \pm 1$  °C om het oplossen van het precipitaat te vergemakkelijken. Meng de fles elke 5 tot 10 minuten voorzichtig. Laat het selectiereagens vóór gebruik op kamertemperatuur komen. Niet gebruiken als precipitaat of troebelheid aanwezig blijft.
5. Meng elk reagens grondig door voorafgaand aan laden in het systeem rustig om te keren. Voorkom schuimvorming tijdens het omkeren van reagentia.
6. Vul reagensflessen niet af. Aangevulde flessen worden door het Tigris DTS System herkend en afgekeurd.

#### D. Omgaan met monsters

1. Laat de monsters (kalibratiemiddelen en weefselmonsters) op kamertemperatuur komen voordat u deze verwerkt.
2. **Meng de monsters niet met een reageerbuis mixer.**
3. Inspecteer monsterbuizen voordat u deze in het rek plaatst. Als een monsterbuisje bellen bevat of een kleiner volume dan doorgaans, centrifugeert u de buis 5 minuten op 420 RCF om ervoor te zorgen dat er geen vloeistof in de dop zit.

**Opmerking:** Als u stap 3 niet opvolgt, kan dit ervoor zorgen dat er vloeistof uit de monsterbuisdop komt.

#### E. Voorbereiding systeem

Stel het instrument en de werklIJst in volgens de aanwijzingen in de *Tigris DTS System Operator's Manual* (bedieningshandleiding van het Tigris DTS System) en de onderstaande paragraaf met *Procedurele opmerkingen*.

## Procedurele opmerkingen

### A. Kalibratiemiddel

1. Elke werklIJst moet 2 replicaties van zowel het negatieve kalibratiemiddel als elk positief kalibratiemiddel bevatten. Voor goede werking met de Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-software moet het negatieve kalibratiemiddel in de eerste buisplaats staan van het eerste rek van de werklIJst, moet het positieve kalibratiemiddel 1 in de tweede buisplaats van het eerste rek van de werklIJst staan en moet het positieve kalibratiemiddel 2 in de derde buisplaats van het eerste rek van de werklIJst staan.
2. Als u meer dan twee replicaties uit een kalibratiebuis probeert te pipetteren, kan dit door onvoldoende volume in fouten resulteren.
3. Kalibratiemiddelen moeten met de overeenkomstige hoofdpartij reagentia worden gebruikt. De bediener moet ervoor zorgen dat de juiste partij kalibratiemiddelen wordt gebruikt met de overeenkomstige hoofdpartij pakketreagentia zoals aangegeven op het streepjescodeblad van de hoofdpartij. Bij het bestellen van meer kalibratiemiddelen moeten de juiste partijnummers worden genoemd.

### B. Temperatuur

Kamertemperatuur is gedefinieerd als 15 °C tot 30 °C.

### C. Handschoenpoeder

Net als bij elk reagenssysteem kan overmatig poeder van sommige handschoenen geopende buizen besmetten. Aanbevolen wordt poederloze handschoenen te gebruiken.

## Panther System

### Geleverde reagentia en materialen

**Aptima HPV 16 18/45 genotype assay**, 100 tests (3 dozen), cat.nr. 303236

Kalibratiemiddelen zijn afzonderlijk verkrijgbaar. Zie de afzonderlijke dooscatalogusnummers hieronder.

#### Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Gekoelde doos (na ontvangst bij 2 °C tot 8 °C bewaren)

Symbool	Onderdeel	Hoeveelheid
<b>A</b>	<b>HPV 16 18/45-amplificatiereagens</b> <i>Niet-infectueuze nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing met &lt; 5% vulstof.</i>	1 flesje
<b>E</b>	<b>HPV 16 18/45-enzymreagens</b> <i>Reverse transcriptase en RNA-polymerase gedroogd in HEPES-gebufferde oplossing met &lt; 10% vulstof.</i>	1 flesje
<b>P</b>	<b>HPV 16 18/45-probereagens</b> <i>Niet-infectueuze chemoluminescente DNA-probes (&lt; 500 ng/flesje) gedroogd in succinaatgebufferde oplossing met &lt; 5% detergens.</i>	1 flesje
<b>IC</b>	<b>HPV 16 18/45-interne-controlereagens</b> <i>Niet-infectueus RNA-transcript in gebufferde oplossing met &lt; 5% detergens.</i>	1 flesje

#### Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay-kamertemperatuordoos (na ontvangst bij 15 °C tot 30 °C bewaren)

Symbool	Onderdeel	Hoeveelheid
<b>AR</b>	<b>HPV 16 18/45-amplificatiereconstitutieoplossing</b> <i>Oplossing in water met conserveringsmiddelen.</i>	1 flesje
<b>ER</b>	<b>HPV 16 18/45-enzymreconstitutieoplossing</b> <i>HEPES-gebufferde oplossing met een surfactant en glycerol.</i>	1 flesje
<b>PR</b>	<b>HPV 16 18/45-probereconstitutieoplossing</b> <i>Succinaatgebufferde oplossing met &lt; 5% detergens.</i>	1 flesje
<b>S</b>	<b>HPV 16 18/45-selectiereagens</b> <i>600 mM boraatgebufferde oplossing met surfactant.</i>	1 flesje
<b>TCR</b>	<b>HPV 16 18/45-zuiveringsreagens</b> <i>Niet-infectueus nucleïnezuur in een gebufferde oplossing met vaste fase (&lt; 0,5 mg/ml).</i>	1 flesje
	<b>Reconstitutiekragen</b>	3
	<b>Streepjescodeblad hoofdpartij</b>	1 blad

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay-kalibratiemiddelendoos (cat.nr. 303235)**  
(na ontvangst bij 2 °C tot 8 °C bewaren)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid
PCAL1	<b>HPV 16 18/45-positief-kalibratiemiddel 1</b> <i>Niet-infectueus HPV 18 in-vitro transcript in 750 kopieën/ml in een succinaatgebufferde oplossing met &lt; 5% detergens.</i>	5 flesjes
PCAL2	<b>HPV 16 18/45-positief-kalibratiemiddel 2</b> <i>Niet-infectueus HPV 16 in-vitro transcript in 1.000 kopieën/ml in een succinaatgebufferde oplossing met &lt; 5% detergens.</i>	5 flesjes
NCAL	<b>HPV 16 18/45-negatief-kalibratiemiddel</b> <i>Gebufferde oplossing met &lt; 5% detergens.</i>	5 flesjes

### Benodigde, maar apart geleverde materialen

**Opmerking:** Voor materialen die bij Hologic verkrijgbaar zijn, is het catalogusnummer opgenomen, tenzij anders aangegeven.

	<u>Cat.nr.</u>
Panther System	303095
Panther-werkpakket	303096
<i>Aptima assay-vloeistofpakket</i>	303014
<i>(Aptima-wasoplossing, Aptima-buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima-oliereagens)</i>	
<i>Aptima Auto Detect-pakket</i>	303013
<i>Apparaten voor meerdere buizen (Multi-tube Units, MTU)</i>	104772-02
<i>Panther-afvalzakpakket</i>	902731
<i>Panther-afvalbakdeksel</i>	504405
Puntjes, 1.000 µl, geleidend, vloeistofregistrerend	10612513 (Tecan)
Aptima-monsteroverdrachtpakket	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit — afdrukbaar	PRD-05110
Aptima-pakket voor verzameling en transport van baarmoederhalsmonsters	302657
Aptima doorprikbare doppen	105668
Niet-doorprikbare reservedoppen	103036A
Reservedoppen voor 100 testpakketten:	
<i>Reconstitutieoplossingen amplificatie- en probereagens</i>	CL0041
<i>Reconstitutieoplossingen enzymreagens</i>	CL0041
<i>TCR en selectiereagens</i>	501604
Bleekmiddel, minimaal 5% of 0,7 M natriumhypochlorietoplossing	—
Wegwerphandschoenen	—
Aptima-overdrachtoplossingpakket (alleen voor SurePath-monsters)	303658

### Optionele materialen

	<u>Cat.nr.</u>
Bleekmiddelversterker voor reiniging	302101

## Testprocedure Panther System

**Opmerking:** Raadpleeg de *Panther System Operator's Manual (bedieningshandleiding van het Panther System)* voor aanvullende informatie over Panther System-procedures.

### A. Voorbereiding werkgebied

Reinig de werkoppervlakken waar reagentia en monsters worden bereid. Veeg de werkoppervlakken af met 2,5 tot 3,5% (0,35 tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Laat de natriumhypochlorietoplossing ten minste 1 minuut in contact met de oppervlakken en was vervolgens met water. Laat de natriumhypochlorietoplossing niet opdrogen. Bedek het tafeloppervlak waarop de reagentia en monsters worden bereid met een schone, absorberende laboratoriumtafelafdekking met een plastic achterkant.

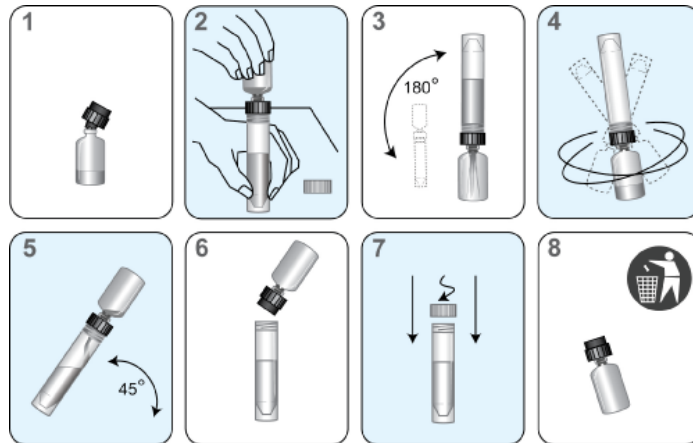
### B. Reagensvoorbereiding van een nieuw pakket.

**Opmerking:** Voordat u met het Panther System begint te werken, moet de reagensrestitutie worden uitgevoerd.

1. Voor het reconstitueren van de amplificatie-, enzym- en probe-reagentia, voegt u de flessen gevriesdroogd reagens samen met de reconstitutieoplossing. Indien gekoeld, laat u de reconstitutieoplossingen op kamertemperatuur komen voordat u deze gebruikt.
  - a. Voeg elke reconstitutieoplossing bij het bijbehorende gevriesdroogde reagens. Verzekert u ervan dat de etiketkleur van de reconstitutieoplossing en het reagens overeenkomen, voordat u de reconstitutie kraag aanbrengt.
  - b. Controleer de partijnummers op het streepjescodeblad van de hoofdpartij om u ervan te verzekeren dat de juiste reagentia bij elkaar worden gebruikt.
  - c. Open het flesje gevriesdroogd reagens en breng het uiteinde van de reconstitutie kraag met de inkeping in de opening van het flesje (Afbeelding 2, stap 1).
  - d. Open de bijbehorende reconstitutieoplossing en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
  - e. Houd de fles met oplossing op de tafel en steek het andere uiteinde van de reconstitutie kraag in de fles (Afbeelding 2, stap 2).
  - f. Keer de gekoppelde flessen langzaam om. Laat de oplossing uit de fles in het glazen flesje lopen (Afbeelding 2, stap 3).
  - g. Zwenk de oplossing rustig in de fles om grondig te mengen. Voorkom schuimvorming bij het zwenken van het flesje (Afbeelding 2, stap 4).
  - h. Wacht tot het gevriesdroogde reagens oplost en draai vervolgens het flessensamenstel weer om met een hoek van 45° om schuimvorming te minimaliseren (Afbeelding 2, stap 5). Laat alle vloeistof terug in de plastic fles lopen.
  - i. Verwijder de reconstitutie kraag en het glazen flesje (Afbeelding 2, stap 6).
  - j. Sluit de plastic fles opnieuw af. Noteer de initialen van de bediener en de huidige datum op het etiket (Afbeelding 2, stap 7).
  - k. Werp de reconstitutie kraag en het flesje weg (Afbeelding 2, stap 8).

**Waarschuwing:** Voorkom schuimvorming bij het reconstitueren van reagentia. Schuim stoort de niveaudetectie in het Panther System.

**Opmerking:** Meng amplificatie-, enzym-, probe- en selectiereagentia grondig door ze rustig om te keren voordat u deze in het systeem laadt. Voorkom schuimvorming tijdens het omkeren van reagentia.



**Afbeelding 2. Reconstitutieproces Panther System**

2. Bereid het werksuiveringsreagens (wTCR) voor:
  - a. Plaats de bij elkaar horende flessen TCR en IC bij elkaar.
  - b. Controleer de reagenspartijnummers op het streepjescodeblad van de hoofdpartij om u ervan te verzekeren dat de juiste reagentia bij elkaar worden gebruikt.
  - c. Open de TCR-fles en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
  - d. Open de IC-fles en giet de hele inhoud ervan in de TCR-fles. Er kan een kleine hoeveelheid vloeistof in de IC-fles achterblijven.
  - e. Doe de dop op de TCR-fles en zwenk de oplossing rustig om de inhoud te mengen. Voorkom schuimvorming tijdens deze stap.
  - f. Noteer de initialen van de bediener en de huidige datum op het etiket.
  - g. Werp de IC-fles en -dop weg.
  - h. Er kan zich precipitaat vormen in het wTCR, wat foutieve resultaten kan geven vanwege volumeverificatiefouten. U kunt het precipitaat oplossen door het wTCR maximaal 90 minuten op te warmen bij 42 °C tot 60 °C. Laat het wTCR vóór gebruik op kamertemperatuur komen. Niet gebruiken als precipitaat aanwezig blijft.
3. Maak het selectiereagens klaar:
  - a. Controleer het reagenspartijnummer op het streepjescodeblad van de hoofdpartij om u ervan te verzekeren dat het bij het pakket hoort.
  - b. Als het selectiereagens precipitaat bevat, verwarmt u het selectiereagens maximaal 45 minuten bij  $60 \pm 1$  °C om het oplossen van het precipitaat te vergemakkelijken. Meng de fles elke 5 tot 10 minuten voorzichtig. Laat het selectiereagens vóór gebruik op kamertemperatuur komen. Niet gebruiken als precipitaat of troebelheid aanwezig blijft.

**Opmerking:** Meng grondig door alle reagentia rustig te kantelen, voordat u deze in het systeem laadt. Voorkom schuimvorming tijdens het omkeren van reagentia.

C. Reagensvoorbereiding voor eerder gereconstitueerde reagentia:

1. Eerder gereconstitueerd amplificatie-, enzym- of probereagens moet op kamertemperatuur (15 °C tot 30 °C) komen, voordat u met het assay begint.
2. Als gereconstitueerd probereagens precipitaat bevat dat niet bij kamertemperatuur weer oplost, verwarmt u dit 1 tot 2 minuten bij een temperatuur die niet boven de 60 °C komt. Niet gebruiken als precipitaat of troebelheid aanwezig is.



3. Als het wTCR precipitaat bevat, verwarmt u deze maximaal 90 minuten bij 42 °C tot 60 °C. Laat het wTCR vóór gebruik op kamertemperatuur komen. Niet gebruiken als precipitaat aanwezig blijft.
4. Als het selectiereagens precipitaat bevat, verwarmt u het selectiereagens maximaal 45 minuten bij  $60 \pm 1$  °C om het oplossen van het precipitaat te vergemakkelijken. Meng de fles elke 5 tot 10 minuten voorzichtig. Laat het selectiereagens vóór gebruik op kamertemperatuur komen. Niet gebruiken als precipitaat of troebelheid aanwezig blijft.
5. Meng elk reagens grondig door voorafgaand aan laden in het systeem rustig om te keren. Voorkom schuimvorming tijdens het omkeren van reagentia.
6. Vul reagensflessen niet af. Aangevulde flessen worden door het Panther System herkend en afgekeurd.

#### D. Omgaan met monsters

1. Laat de monsters (kalibratiemiddelen, monsters en eventuele door de gebruiker verschaft externe monsters voor kwaliteitscontrole) op kamertemperatuur komen voordat u deze verwerkt.
2. **Meng de monsters niet met een reageerbuis mixer.**
3. Inspecteer monsterbuizen voordat u deze in het rek plaatst. Als een monsterbuisje bellen bevat of een kleiner volume dan doorgaans, centrifugeert u de buis 5 minuten op 420 RCF om ervoor te zorgen dat er geen vloeistof in de dop zit.

**Opmerking:** Als u stap 3 niet opvolgt, kan dit ervoor zorgen dat er vloeistof uit de monsterbuisdop komt.

#### E. Voorbereiding systeem

Stel het instrument en de werklijst in volgens de aanwijzingen in de *Panther System Operator's Manual* (bedieningshandleiding van het Panther System) en de onderstaande paragraaf met *Procedurele opmerkingen*. Zorg ervoor dat u reagensrekken en TCR-adapters van het juiste formaat gebruikt.

## Procedurele opmerkingen

### A. Kalibratiemiddel

1. Voor goede werking met de Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-software op het Panther System zijn twee replicaties van het negatieve kalibratiemiddel en van elk positief kalibratiemiddel vereist. Van elk kalibratiemiddel kan één flesje in elke willekeurige rekplaats in elke monsterrij van het Panther System worden geplaatst. Het pipetteren van monsters begint als aan een van de volgende twee condities is voldaan:
  - a. Er worden op dit moment een positief en negatief kalibratiemiddel door het Panther System verwerkt.
  - b. Er zijn geldige resultaten voor de kalibratiemiddelen op het Panther System geregistreerd.
2. Nadat de kalibratiebuizen voor een specifiek reagenspakket zijn gepipetteerd en worden verwerkt, kunnen gedurende maximaal 24 uur monsters worden verwerkt met het bijbehorende assayreagenspakket, tenzij:
  - a. De kalibratiemiddelen ongeldig zijn.
  - b. Het bijbehorende assayreagenspakket uit het Panther System verwijderd is.
  - c. Het bijbehorende assayreagenspakket de stabiliteitsgrenzen heeft overschreden.
3. Als u meer dan twee replicaties uit een kalibratiebuis probeert te pipetteren, kan dit door onvoldoende volume in fouten resulteren.

**B. Temperatuur**

Kamertemperatuur is gedefinieerd als 15 °C tot 30 °C.

**C. Handschoenpoeder**

Net als bij elk reagenssysteem kan overmatig poeder van sommige handschoenen geopende buizen besmetten. Aanbevolen wordt poederloze handschoenen te gebruiken.

## Kwaliteitsbeheerprocedures

### A. Geldigheidscriteria voor testreeksen

De geldigheid van testreeksen wordt automatisch door de software bepaald. Door de software wordt een testreeks ongeldig verklaard als een van de volgende condities optreedt:

- Van de replicaties van het negatieve kalibratiemiddel is er meer dan één ongeldig.
- Van de replicaties van het positieve kalibratiemiddel 1 is er meer dan één ongeldig.
- Van de replicaties van het positieve kalibratiemiddel 2 is er meer dan één ongeldig.
- Van alle zes replicaties van de kalibratiemiddelen samen is er meer dan één ongeldig.

Een testreeks kan door een bediener ongeldig worden verklaard als er tijdens het uitvoeren van het assay technische, bedienings- of instrumentproblemen zijn geconstateerd.

Ongeldige testreeksen moeten worden herhaald. Afgebroken testreeksen moeten worden herhaald.

### B. Acceptatiecriteria kalibratiemiddelen

In de onderstaande tabel worden de RLU-criteria weergegeven voor de negatieve en positieve kalibratiemiddelreplicaties.

	<b>Tigris DTS System</b>	<b>Panther System</b>
<b>Negatief kalibratiemiddel</b>		
18/45 RLU	$\geq 0$ en $\leq 60.000$ RLU	$\geq 0$ en $\leq 60.000$ RLU
IC/16 RLU	$\geq 75.000$ en $\leq 300.000$ RLU	$\geq 75.000$ en $\leq 300.000$ RLU
<b>Positief kalibratiemiddel 1</b>		
18/45 RLU	$\geq 850.000$ en $\leq 2.200.000$ RLU	$\geq 800.000$ en $\leq 2.200.000$ RLU
IC/16 RLU	$\leq 475.000$ RLU	$\leq 475.000$ RLU
<b>Positief kalibratiemiddel 2</b>		
18/45 RLU	$\leq 115.000$ RLU	$\leq 115.000$ RLU
IC/16 RLU	$\geq 625.000$ en $\leq 4.000.000$ RLU	$\geq 625.000$ en $\leq 4.000.000$ RLU

### C. IC-cutoff

De IC-cutoff wordt bepaald aan de hand van het IC/16-analytsignaal van de geldige negatieve kalibratiemiddelreplicaties.

$$\text{IC-cutoff} = 0,5 \times [\text{gemiddelde IC/16 RLU van de geldige negatieve kalibratiemiddelreplicaties}]$$

### D. Analyt 16-cutoff

De analytcutoff voor HPV 16 wordt bepaald aan de hand van het IC/16 RLU-signaal van de geldige negatieve kalibratiemiddelreplicaties en de geldige positieve kalibratiemiddel 2-replicaties.

$$\text{Analyt 16-cutoff} = 2 \times [\text{gemiddelde IC/16 RLU van de geldige negatieve kalibratiemiddelreplicaties}] + 0,1 \times [\text{gemiddelde IC/16 RLU van de geldige positieve kalibratiemiddel 2-replicaties}]$$

### E. Analyt 18/45-cutoff

De analytcutoff voor HPV 18/45 wordt bepaald aan de hand van het 18/45 RLU-signaal van de geldige negatieve kalibratiemiddelreplicaties en de geldige positieve kalibratiemiddel 1-replicaties.

$$\text{Analyt 18/45-cutoff} = 1 \times [\text{gemiddelde 18/45 RLU van de geldige negatieve kalibratiemiddelreplicaties}] + 0,18 \times [\text{gemiddelde 18/45 RLU van de geldige positieve kalibratiemiddel 1-replicaties}]$$

## Testinterpretatie

Testresultaten worden automatisch door de assaysoftware bepaald. Een testresultaat kan negatief zijn voor zowel HPV 16 als HPV 18/45, negatief voor HPV 16 en positief voor HPV 18/45, positief voor HPV 16 en negatief voor HPV 18/45, positief voor zowel HPV 16 als HPV 18/45 of kan ongeldig zijn zoals bepaald door de in de onderstaande tabel vermelde IC RLU en S/CO-verhoudingen. Testresultaten kunnen ook ongeldig zijn omdat andere parameters buiten het normale verwachte bereik vallen (abnormale vorm kinetiekgrafiek). Ongeldige testresultaten moeten worden herhaald.

Monsters van het CSCT-pakket mogen worden verdund tegen mogelijke remmende stoffen. Verdun 1 deel van het ongeldige monster in 8 delen monstertransportmedium (de oplossing in CSCT-pakketbuisen), zoals 560 µl monster in een nieuwe CSCT-pakketbuis met 4,5 ml monstertransportmedium. Meng het verdunde monster door te kantelen. Voorkom schuimvorming. Test het verdunde monster volgens de standaardassayprocedure.

**Opmerking:** Verdun ongeldige verdunde monsters niet verder. Als een verdund monster een ongeldig resultaat geeft, moet u een nieuw monster van de patiënt verkrijgen.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay- resultaat	Criteria
<b>Negatief - 16</b> <b>Negatief - 18/45</b>	<i>IC/HPV 16 RLU ≥ IC-cuttoff en</i> <i>HPV 16 S/CO &lt; 1,00 en</i> <i>HPV 18/45 S/CO &lt; 1,00</i>
<b>Negatief - 16</b> <b>Positief - 18/45</b>	<i>HPV 16 S/CO &lt; 1,00 en</i> <i>HPV 18/45 S/CO ≥ 1,00 en</i> <i>HPV 18/45 RLU ≤ 3.000.000</i>
<b>Positief - 16</b> <b>Negatief - 18/45</b>	<i>HPV 16 S/CO ≥ 1,00 en</i> <i>IC/HPV 16 RLU ≤ 4.000.000 en</i> <i>HPV 18/45 S/CO &lt; 1,00</i>
<b>Positief - 16</b> <b>Positief - 18/45</b>	<i>HPV 16 S/CO ≥ 1,00 en</i> <i>IC/HPV 16 RLU ≤ 4.000.000 en</i> <i>HPV 18/45 S/CO ≥ 1,00 en</i> <i>HPV 18/45 RLU ≤ 3.000.000</i>
<b>Ongeldig</b>	<i>HPV 16 S/CO &lt; 1,00 en</i> <i>HPV 18/45 S/CO &lt; 1,00 en</i> <i>IC/HPV 16 RLU &lt; IC-cuttoff</i>  <i>of</i> <i>IC/HPV 16 RLU &gt; 4.000.000</i>  <i>of</i> <i>HPV 18/45 RLU &gt; 3.000.000</i>

## Beperkingen

- A. Andere monstertypen dan in het beoogd gebruik aangegeven, zijn niet beoordeeld.
- B. De prestaties van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay zijn niet voor HPV-gevaccineerde vrouwen beoordeeld.
- C. Het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay is niet beoordeeld voor gevallen van mogelijk seksueel misbruik.
- D. De prevalentie van HPV-infectie in een populatie kan de prestaties beïnvloeden. De positieve voorspellende waarde is kleiner bij testpopulaties met lage prevalentie of bij vrouwen zonder infectierisico.
- E. ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters van minder dan 1 ml na voorbereiding van het ThinPrep-Paptestuitsrijkje worden als onvoldoende voor het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay beschouwd.
- F. De testresultaten kunnen worden beïnvloed door verkeerde monstername, opslag of monsterverwerking.
- G. De interne controle wordt gebruikt voor het controleren van de zuiverings-, amplificatie- en detectiestappen van het assay. Zij is niet bedoeld om te controleren of de monstername van baarmoederhalsmonsters voldoende is.
- H. Een negatief Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultaat sluit de mogelijkheid van cytologische afwijkingen of toekomstige of onderliggende CIN2, CIN3 of kanker niet uit.
- I. De resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay zijn kwalitatief. Er kan daarom geen verband worden gelegd tussen de sterkte van een positief assaysignaal en het expressieniveau van mRNA in een monster.
- J. Detectie van hoog-risico HPV-mRNA (typen 16, 18 en 45) is afhankelijk van het aantal kopieën in het monster en kan door monsternamemethoden, patiëntfactoren, het infectiestadium en de aanwezigheid van storende stoffen worden beïnvloed.
- K. Infectie met HPV is geen indicator voor cytologische HSIL of onderliggende hoge CIN-waarde en impliceert ook niet dat zich CIN2, CIN3 of kanker zal ontwikkelen. De meeste vrouwen die met een of meer HPV-typen met hoog risico zijn geïnfecteerd, ontwikkelen geen CIN2, CIN3 of kanker.
- L. De volgende materialen kunnen de prestaties van het assay beïnvloeden als deze in testmonsters aanwezig zijn in grotere concentraties dan gespecificeerd: vaginale glijmiddelen (die Polyquaternium 15 bevatten) in een gehalte van 1% g/v, antischimmelcrème (die tioconazol bevat) in een gehalte van 0,03% g/v, slijm in een gehalte van 0,3% g/v, intravaginale hormonen (die progesteron bevatten) in een gehalte van 1% g/v, *Trichomonas vaginalis* in een hoeveelheid van  $3 \times 10^4$  cellen/ml.
- M. Hoge concentraties aan HPV 45 kunnen het vermogen aantasten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay om de aanwezigheid van kleine gehalten aan HPV 16 te detecteren.
- N. Het effect van andere potentiële variabelen, zoals vaginale afscheiding, tampongebruik, douchen enz. en van monsternamevariabelen is niet beoordeeld.
- O. Gebruik van dit product kan worden beperkt tot personeel dat getraind is in het gebruik van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay.

- P. Kruisbesmetting van monsters kan vals-positieve resultaten veroorzaken. Met niet-klinische onderzoek is vastgesteld dat het percentage overdracht van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay op het Tigris DTS System en op het Panther System respectievelijk 0,35% en 0,19% is.
- Q. Het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay moet worden beoordeeld in combinatie met andere laboratorium- en klinische gegevens die de arts tot zijn beschikking heeft.

## Verwachte resultaten Tigris DTS System: Prevalentie van hoog-risico HPV-mRNA

De prevalentie van infectie met hoog-risico HPV varieert sterk en wordt door meerdere factoren beïnvloed, waarbij leeftijd de grootste invloed heeft.<sup>19,20</sup> In veel onderzoeken is de prevalentie van HPV onderzocht, zoals bepaald door de detectie van HPV-DNA. Slechts weinig onderzoeken rapporteren echter over de prevalentie op basis van de detectie van oncogeen HPV-mRNA. Vrouwen van diverse klinische locaties (n=18) met een grote geografische verdeling en een diverse populatie (10 staten binnen de VS) werden opgenomen in een prospectief klinisch onderzoek, dat bekend is als het CLEAR-onderzoek, voor evaluatie van het Aptima HPV assay, dat 14 typen HPV met hoog risico detecteert.<sup>21</sup> De monsters van de vrouwen die in het CLEAR-onderzoek positieve met het Aptima HPV assay-resultaten opleverden, werden in een afzonderlijk klinisch onderzoek geëvalueerd met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. De prevalentie van HPV 16, 18, en 45, evenals de overige 11 hoog-risico HPV-typen die zijn waargenomen in het klinisch onderzoek, werden op basis van de resultaten van testen met het Aptima HPV assay en het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay globaal, per leeftijdsgroep en per testlocatie gecategoriseerd. De resultaten worden in Tabel 1 weergegeven voor de populatie met atypische plaveiselcellen van onbepaalde betekenis (ASC-US: Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance) en voor de populatie die negatief was voor intra-epitheellaesie of maligniteit (NILM: Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy).

**Tabel 1:** Prevalentie hoog-risico HPV-mRNA per leeftijdsgroep, testlocatie en alles gecombineerd

	% positief (x/n)							
	ASC-US-populatie (≥ 21 jaar)				NILM-populatie (≥ 30 jaar)			
	HPV 16 Pos	HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	11 overige HR* Pos	HPV 16 Pos	HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	11 overige HR* Pos
<b>Alle</b>	7,8 (71/912)	5,2 (47/912)	0,3 (3/912)	25,5 (233/912)	0,4 (47/10.846)	0,4 (47/10.846)	0 (0/10.846)	3,9 (421/10.846)
<b>Leeftijdsgroep (jaar)</b>								
<b>21 tot 29</b>	13,2 (51/386)	4,9 (19/386)	0,5 (2/386)	38,3 (148/386)	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.
<b>30 tot 39</b>	5,4 (14/257)	7,0 (18/257)	0,4 (1/257)	21,8 (56/257)	0,7 (30/4.188)	0,6 (27/4.188)	0 (0/4.188)	5,3 (221/4.188)
<b>≥ 40</b>	2,2 (6/269)	3,7 (10/269)	0 (0/269)	10,8 (29/269)	0,3 (17/6.658)	0,3 (20/6.658)	0 (0/6.658)	3,0 (200/6.658)
<b>Testlocatie</b>								
<b>1</b>	9,0 (27/301)	4,3 (13/301)	0,7 (2/301)	24,9 (75/301)	0,4 (13/3.666)	0,5 (18/3.666)	0 (0/3.666)	3,8 (141/3.666)
<b>2</b>	7,4 (23/310)	6,1 (19/310)	0 (0/310)	26,5 (82/310)	0,5 (18/3.671)	0,5 (17/3.671)	0 (0/3.671)	3,7 (136/3.671)
<b>3</b>	7,0 (21/301)	5,0 (15/301)	0,3 (1/301)	25,2 (76/301)	0,5 (16/3.509)	0,3 (12/3.509)	0 (0/3.509)	4,1 (144/3.509)

n.v.t. = niet van toepassing, HR = hoog-risico, Pos = positief

\* HPV typen 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 en 68

## Prestaties Tigris DTS System Assay

### Opzet klinisch onderzoek Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay met ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters

Het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay werd geëvalueerd met behulp van verwijzings-Pap-monsters die met toestemming waren verkregen van vrouwen tijdens het prospectieve, multicenter klinische Amerikaanse onderzoek dat bekend is als het CLEAR-onderzoek. Het CLEAR-onderzoek werd uitgevoerd om de klinische prestaties van het Aptima HPV assay te bepalen in de detectie van cervicale intra-epitheliale neoplasie graad 2 of ernstiger baarmoederhalsaandoening ( $\geq$ CIN2). Op basis van de vloeistofgebaseerde ThinPrep-cytologieresultaten bij hun verwijzing na routinematige screening op baarmoederhalskanker, werden vrouwen in ofwel het ASC-US-onderzoek ofwel het NILM-onderzoek opgenomen. De ASC-US-onderzoekspopulatie omvatte vrouwen van 21 jaar en ouder met ASC-US-cytologieresultaten, en de NILM-onderzoekspopulatie omvatte vrouwen van 30 jaar of ouder met NILM-cytologieresultaten.

Er zijn vrouwen geanalyseerd uit 18 klinische locaties, vooral verloskundige of gynaecologische klinieken, met een brede geografische verdeling en een diverse populatie. Tijdens het CLEAR-onderzoek werden overgebleven doorverwijzings-Pap-monsters zowel met het Aptima HPV assay als met een commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test getest. Voor het klinische onderzoek van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay werden overgebleven doorverwijzings-Pap-monsters met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay getest.

Alle vrouwen in het ASC-US-onderzoek werden onafhankelijk van de resultaten van hun Aptima HPV assay en commercieel verkrijgbare HPV DNA-test doorverwezen naar colposcopie. Er zijn endocervicaal curettage (ECC)- en cervicale punchbipten (1 biopsie van elk van de 4 kwadranten) genomen. Als er een laesie zichtbaar was, is er een punchbiopt genomen (gerichte methode, 1 biopsie per laesie), en bij kwadranten zonder zichtbare laesie is bij de squamocolumnaire junctie (willekeurige methode) een biopsie uitgevoerd.

In het NILM-onderzoek werden vrouwen met een positief resultaat van het Aptima HPV assay en/of van de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test, evenals willekeurig geselecteerde vrouwen met voor beide assays een negatief resultaat, voor de basisevaluatie naar colposcopie doorverwezen. Van elke vrouw die colposcopie heeft ondergaan, is een ECC-biopt verkregen. Punch-biopten werden alleen van zichtbare laesies genomen (gerichte methode, 1 biopt per laesie). De nacontrole gedurende 3 jaar met jaarlijkse cytologiecontroles van vrouwen in het NILM-onderzoek die bij aanvang geen  $\geq$ CIN2 hadden, is gaande. Vrouwen met ASC-US of ernstiger cytologieresultaten tijdens de vervolperiode worden met dezelfde biopsieprocedure als voor de basisevaluatie naar colposcopie doorverwezen.

De ziektestatus is bepaald uit een consensus-histologiebeoordelingspanel, gebaseerd op overeenstemming tussen ten minste 2 pathologie-experts. De pathologie-experts waren niet op de hoogte van de HPV- en cytologiestatus van de vrouwen en ook niet van elkaars histologiediagnoses. Voor het voorkomen van bias werden de onderzoekers, artsen en vrouwen pas na het afronden van het colposcopiebezoek op de hoogte gebracht van de testresultaten van het Aptima HPV assay en van de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test.

Voor de validatie van het beoogde gebruik van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay als reflextest van een positief resultaat van een Aptima HPV assay, kwamen overgebleven doorverwijzings-Pap-monsters van alle evalueerbare vrouwen in het ASC-US-onderzoek en het NILM-onderzoek met een positief Aptima HPV assay-resultaat in aanmerking voor het testen met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. De klinische prestaties van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay voor de detectie van  $\geq$ CIN2 en cervicale intra-epitheliale neoplasie graad 3 of ernstiger baarmoederhalsaandoening ( $\geq$ CIN3) werden geëvalueerd.



## ASC-US-populatie van $\geq 21$ jaar: klinische prestaties Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay met ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters

In totaal waren er 400 beoordeelbare vrouwen van 21 jaar of ouder met ASC-US-cytologieresultaten en positieve Aptima HPV assay-resultaten van wie de doorverwijzings-Pap-monsters in aanmerking kwamen voor het testen met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Hiervan hadden 46 vrouwen geen doorverwijzings-Pap-monsters voor het testen en hadden 6 een onbepaalde ziektediagnose, deze werden allen uit de analyse gehouden. De overgebleven 348 beoordeelbare vrouwen met een duidelijke ziektestatus hadden geldige Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultaten op basis van reflextests na een positief Aptima HPV assay-resultaat. Zevenenzestig (67) vrouwen hadden  $\geq$ CIN2 en 29 hadden  $\geq$ CIN3.

Van de 348 evalueerbare vrouwen met positieve Aptima HPV assay-resultaten hadden 117 vrouwen een positief Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultaat, wat op de aanwezigheid van HPV-16 en/of HPV 18/45 duidt, en hadden 231 vrouwen een negatief resultaat, wat op de aanwezigheid van een of meer van de andere 11 hoog-risico HPV-typen duidt, zoals gedetecteerd door de Aptima HPV assay (d.w.z. HPV-typen 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 en 68). Nog eens 545 beoordeelbare vrouwen van 21 jaar en ouder met ASC-US-cytologieresultaten hadden tijdens het CLEAR-onderzoek negatieve Aptima HPV assay-resultaten. Een negatief resultaat van het Aptima HPV assay geeft aan dat er geen van de 14 hoog-risico typen HPV aanwezig is en deze resultaten werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief. De prevalentie van  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 in beoordeelbare vrouwen met ASC-US-cytologieresultaten was respectievelijk 8,8% en 3,7%. De resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per Aptima HPV assay-resultaat en per diagnose door het consensus-histologiebeoordelingspanel worden weergegeven in Tabel 2.

**Tabel 2:** ASC-US-populatie van  $\geq 21$  jaar: resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay per diagnose door consensus-histologiebeoordelingspanel

Aptima HPV Assay-resultaat	AHPV-GT Assay-resultaat*	Interpretatie	Diagnose consensus-histologiebeoordelingspanel						
			Onbepaald**	Normaal	CIN1	CIN2	CIN3	Kanker	Totaal
Positief	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Pos	1	27	18	11	14	0	71
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 18/45 Pos	3	23	14	3	3	1	47
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	2	125	73	23	10	0	233
Totaal			6	176	105	38	28	1	354
Negatief	HPV 16/18/45 Neg***	HR HPV Neg	13	458	75	8	4	0	558
Totaal			19	634	180	46	32	1****	912

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, CIN1 = cervicale intraepitheliale neoplasie graad 1, HR = hoog-risico, Neg = negatief, Pos = positief

\*Alle monsters hadden eindresultaten (na de laatste test of na het oplossen van aanvankelijk ongedige resultaten volgens de procedure).

\*\*19 vrouwen gingen naar het colposcopiebezoek, maar kregen geen diagnose gesteld vanwege de volgende redenen: < 5 biopten verkregen, alle met histologieresultaat normaal/CIN1 (n=15), geen biopten verkregen (n=3) en bioptglasjes verloren gegaan (n=1).

\*\*\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

\*\*\*\*Een vrouw had adenocarcinoma in situ (AIS).

In Tabel 3 wordt het absolute ziekterisico ( $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3) op basis van Aptima HPV 16 18/45 genotype assay- en Aptima HPV assay-resultaten weergegeven. Het risico van  $\geq$ CIN2 bij vrouwen bij wie HPV-typen 16, 18 en/of 45 aanwezig was, was 29,1% vergeleken met 14,3% bij vrouwen bij wie een of meer van de andere 11 hoog-risico HPV-typen aanwezig was en 2,2% bij vrouwen bij wie geen hoog-risico type HPV aanwezig was. De absolute risico's worden per leeftijdsgroep weergegeven in Tabel 4.

**Tabel 3:** ASC-US-populatie van  $\geq$  21 jaar: absoluut risico op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay

Aptima HPV Assay-resultaat	AHPV-GT Assay-resultaat	Interpretatie	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absoluut risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)
Positief	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	29,1 (34/117) (22,4, 36,0)	16,2 (19/117) (11,4, 21,1)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	35,7 (25/70) (26,1, 45,9)	20,0 (14/70) (12,6, 28,0)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	15,9 (7/44) (7,2, 28,3)	9,1 (4/44) (2,9, 19,5)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	14,3 (33/231) (10,9, 17,9)	4,3 (10/231) (2,4, 6,8)
	Pos of Neg	HR HPV Pos	19,3 (67/348) (17,1, 21,3)	8,3 (29/348) (6,9, 9,4)
Negatief	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)	0,7 (4/545) (0,2, 1,6)
Prevalentie			8,8% (79/893)	3,7% (33/893)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

**Tabel 4:** ASC-US-populatie van  $\geq 21$  jaar: absoluut risico op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay per leeftijdsgroep

	Aptima HPV Assay-resultaat	AHPV-GT Assay-resultaat	Interpretatie	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Absoluut risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)
21 tot 29 jaar	Positief	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	26,8 (19/71) (18,3, 35,7)	15,5 (11/71) (9,3, 21,8)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	28,0 (14/50) (17,5, 39,6)	18,0 (9/50) (9,9, 26,9)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	15,8 (3/19) (3,7, 36,3)	5,3 (1/19) (0,2, 22,5)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	17,0 (25/147) (12,6, 21,5)	5,4 (8/147) (2,8, 8,5)
		Pos of Neg	HR HPV Pos	20,2 (44/218) (17,6, 22,5)	8,7 (19/218) (7,1, 9,8)
	Negatief	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	3,6 (6/165) (1,5, 6,9)	0,6 (1/165) (0,0, 2,7)
Prevalentie				13,1% (50/383)	5,2% (20/383)
30 tot 39 jaar	Positief	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	32,3 (10/31) (19,0, 45,9)	16,1 (5/31) (7,0, 25,4)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	18,8 (3/16) (3,0, 40,6)	12,5 (2/16) (1,3, 30,8)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	12,7 (7/55) (6,2, 20,5)	3,6 (2/55) (0,6, 9,1)
		Pos of Neg	HR HPV Pos	19,8 (17/86) (15,1, 23,9)	8,1 (7/86) (4,7, 10,3)
	Negatief	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)	0,6 (1/167) (0,0, 2,3)
Prevalentie				7,5% (19/253)	3,2% (8/253)
$\geq 40$ jaar	Positief	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	66,7 (4/6) (27,1, 93,5)	33,3 (2/6) (6,2, 69,2)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	11,1 (1/9) (0,5, 39,7)	11,1 (1/9) (0,5, 37,1)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	3,4 (1/29) (0,1, 14,0)	0 (0/29) (0,0, 8,2)
		Pos of Neg	HR HPV Pos	13,6 (6/44) (6,5, 20,6)	6,8 (3/44) (1,8, 11,4)
	Negatief	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)
Prevalentie				3,9% (10/257)	1,9% (5/257)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

In Tabel 5 wordt het relatieve ziekterisico weergegeven voor positieve resultaten vergeleken met negatieve resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Vrouwen bij wie HPV-type 16, 18 en/of 45 aanwezig was, hadden een 13,2 maal grotere kans op een  $\geq$ CIN2 en een 22,1 maal grotere kans op  $\geq$ CIN3 dan vrouwen bij wie geen hoog-risico HPV-typen aanwezig was. Vrouwen bij wie HPV-type 16, 18 en/of 45 aanwezig was, hadden een 2,0 maal grotere kans op een  $\geq$ CIN2 en een 3,8 maal grotere kans op  $\geq$ CIN3 dan vrouwen bij wie één of meer van de andere 11 hoog-risico HPV-typen aanwezig was.

**Tabel 5:** ASC-US-populatie van  $\geq$  21 jaar: relatief risico op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay

Interpretatie Aptima Assay-resultaten*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relatief risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. HR HPV-negatief	13,2 (7,0, 24,7)	22,1 (7,7, 63,8)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. overige HR HPV-positief	2,0 (1,3, 3,1)	3,8 (1,8, 7,8)
Overige HR HPV-positief vs. HR HPV-negatief	6,5 (3,4, 12,3)	5,9 (1,9, 18,6)
HR HPV-positief vs. HR HPV-negatief	8,7 (4,8, 15,9)	11,4 (4,0, 32,0)
Prevalentie	8,8% (79/893)	3,7% (33/893)

CI = betrouwbaarheidsinterval (Confidence Interval), HR = hoog-risico

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

De waarschijnlijkheidsverhoudingen ( $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3) volgens het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultaat worden weergegeven in Tabel 6. Vrouwen met een  $\geq$ CIN2 hebben een 4,2 maal grotere kans dat HPV-type 16, 18 en/of 45 aanwezig is en vrouwen met een  $\geq$ CIN3 een 5,1 maal grotere kans.

**Tabel 6:** ASC-US-populatie van  $\geq$  21 jaar: waarschijnlijkheidsverhoudingen voor  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay

Interpretatie Aptima Assay-resultaten*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Waarschijnlijkheids- verhouding (95% CI)	Waarschijnlijkheids- verhouding (95% CI)
HPV 16- en/of 18/45-positief	4,2 (3,0, 5,8)	5,1 (3,4, 6,9)
Overige HR HPV-positief	1,7 (1,3, 2,3)	1,2 (0,6, 1,9)
HR HPV-negatief	0,2 (0,1, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

CI = betrouwbaarheidsinterval (Confidence Interval), HR = hoog-risico

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

## NILM-populatie van $\geq 30$ jaar: klinische prestaties Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay met ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters

In totaal waren er 540 beoordeelbare vrouwen van 30 jaar of ouder met NILM-cytologieresultaten en positieve Aptima HPV assay-resultaten van wie de doorverwijzings-Pap-monsters in aanmerking kwamen voor het testen met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Hiervan hadden 25 vrouwen geen doorverwijzings-Pap-monsters voor het testen, deze werden allen uit de analyse gehouden. De overgebleven 515 beoordeelbare vrouwen hadden geldige Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultaten. Hiervan ondergingen er 317 colposcopie. Vijftien (15) vrouwen hadden  $\geq$ CIN2 en 10  $\geq$ CIN3. 283 Vrouwen hadden normale/CIN1-histologie en 19 vrouwen hadden een onbepaalde ziektestatus.

Van de 298 evalueerbare vrouwen met een duidelijke ziektestatus en een positief Aptima HPV assay-resultaat hadden 61 vrouwen een positief Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultaat, wat op de aanwezigheid van HPV-16 en/of HPV 18/45 duidt, en hadden 237 vrouwen een negatief resultaat, wat op de aanwezigheid van een of meer van de andere 11 hoog-risico HPV-typen duidt. Nog eens 505 beoordeelbare vrouwen van 30 jaar en ouder met NILM-cytologieresultaten en een duidelijke ziektestatus hadden tijdens het CLEAR-onderzoek negatieve Aptima HPV assay-resultaten. Een negatief resultaat van het Aptima HPV assay geeft aan dat er geen van de 14 hoog-risico typen HPV aanwezig is en deze resultaten werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief. De resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per Aptima HPV assay-resultaat en per diagnose door het consensus-histologiebeoordelingspanel worden weergegeven in Tabel 7.

**Tabel 7:** NILM-populatie van  $\geq 30$  jaar: resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay per diagnose door consensus-histologiebeoordelingspanel

Aptima HPV Assay-resultaat	AHPV-GT Assay-resultaat*	Interpretatie	Diagnose consensus-histologiebeoordelingspanel						
			Onbepaald**	Normaal	CIN1	CIN2	CIN3	Kanker	Totaal
Positief	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Pos	2	27	0	0	3	1	33
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 18/45 Pos	1	26	1	1	0	2	31
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	0	0	0	0	0	0	0
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	16	218	11	4	4	0	253
Totaal			19	271	12	5	7	3	317
Negatief	HPV 16/18/45 Neg***	HR HPV Neg	25	483	17	4	1	0	530
Totaal			44	754	29	9	8	3****	847

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief

\*Alle monsters hadden uiteindelijk geldige resultaten (na de eerste test of na het oplossen van aanvankelijk ongeldige resultaten volgens de procedure).

\*\*44 vrouwen gingen naar het colposcopiebezoek, maar kregen geen diagnose gesteld vanwege de volgende redenen: er kon geen consensus worden bereikt vanwege monsters die niet voldeden (n=28), geen bipten verkregen vanwege onderliggende factoren (n=13), geen bipten verkregen of onderzocht vanwege fouten (n=3).

\*\*\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

\*\*\*\*Drie vrouwen hadden adenocarcinoma in situ (AIS).

Van de 515 vrouwen met positieve Aptima HPV assay- en Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultaten, hadden 217 vrouwen een ongeverifieerde (inclusief onbepaalde) ziektestatus (Tabel 8). Van de 10.331 vrouwen met negatieve Aptima HPV assay-resultaten in het oorspronkelijke CLEAR-onderzoek, hadden 9.826 een ongeverifieerde ziektestatus. Omdat alleen willekeurig geselecteerde vrouwen met negatieve resultaten voor zowel het Aptima HPV assay als de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test voor colposcopie zijn verwezen, is het aandeel van vrouwen met ongeverifieerde ziektestatus in deze groep hoog (96,6%). Voor het corrigeren voor deze verificatiebias is een multiële-imputatiemethode gebruikt voor het schatten van het aantal vrouwen met ziekte die zouden zijn geïdentificeerd als alle vrouwen colposcopie hadden ondergaan. Zowel voor verificatiebias gecorrigeerde als ongecorrigeerde prestatieschattingen op basis van de 803 vrouwen met geverifieerde ziektestatus zijn weergegeven.

**Tabel 8:** NILM-populatie van  $\geq 30$  jaar: classificatie van beoordeelbare NILM-vrouwen op testresultaten van Aptima HPV assay, Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en HPV-DNA, op ziektestatus ( $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3) en ziekteverificatiestatus

Aptima HPV Assay-resultaat*	AHPV-GT Assay-resultaat*	HPV-DNA-test	Totaal aantal vrouwen	Geverifieerde ziektestatus: $\geq$ CIN2		Geverifieerde ziektestatus: $\geq$ CIN3		Ongeverifieerde ziektestatus
				Zieke vrouwen ( $\geq$ CIN2)	Niet-zieke vrouwen ( $\geq$ CIN2)	Zieke vrouwen ( $\geq$ CIN3)	Niet-zieke vrouwen ( $\geq$ CIN3)	Vrouwen met onbekende ziektestatus (% onbekend)
<b>Positief</b>	Positief	Positief	83	6	48	5	49	29 (34,9%)
	Positief	Negatief	9	1	5	1	5	3 (33,3%)
	Positief	Geen resultaat**	2	0	1	0	1	1 (50,0%)
	Negatief	Positief	271	7	171	4	174	93 (34,3%)
	Negatief	Negatief	137	1	52	0	53	84 (61,3%)
	Negatief	Geen resultaat**	13	0	6	0	6	7 (53,8%)
Totaal			515	15	283	10	288	217 (42,1%)
<b>Negatief</b>	n.v.t.***	Positief	306	3	178	1	180	125 (40,8%)
	n.v.t.***	Negatief	9.420	1	322	0	323	9.097 (96,6%)
	n.v.t.***	Geen resultaat**	605	1	0	0	1	604 (99,8%)
Totaal			10.846	20	783	11	792	10.043 (92,6%)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, n.v.t. = niet van toepassing

\*Alle monsters hadden uiteindelijk geldige resultaten (na de eerste test of na het oplossen van aanvankelijk ongeldige resultaten volgens de procedure).

\*\*620 vrouwen met Aptima HPV assay-resultaten hadden geen HPV-DNA-testresultaten, vooral doordat het cytologiemonster onvoldoende volume had.

\*\*\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

In Tabel 9a wordt het gecorrigeerde absolute ziekterisico ( $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3) op basis van Aptima HPV 16 18/45 genotype assay- en Aptima HPV assay-resultaten weergegeven. Het risico van  $\geq$ CIN2 bij vrouwen bij wie HPV-typen 16, 18 en/of 45 aanwezig was, was 12,6% vergeleken met 3,4% bij vrouwen bij wie een of meer van de andere 11 hoog-risico HPV-typen aanwezig was en 0,6% bij vrouwen bij wie geen hoog-risico type HPV aanwezig was. Het ongecorrigeerde absolute ziekterisico wordt in totaal in Tabel 9b en per leeftijdsgroep in Tabel 10 weergegeven.

**Tabel 9a:** NILM-populatie van  $\geq 30$  jaar: absoluut risico op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay (voor verificatiebias gecorrigeerde schattingen)

Aptima HPV Assay-resultaat	AHPV-GT Assay-resultaat	Interpretatie	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absoluut risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)
<b>Positief</b>	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	12,6 (3,7, 21,4)	9,5 (2,1, 16,8)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	14,5 (2,1, 26,9)	12,1 (0,7, 23,4)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	10,7 (0,0, 22,5)	6,9 (0,0, 16,2)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	n.v.t.	n.v.t.
	HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	3,4 (1,2, 5,6)	1,8 (0,1, 3,5)
	Pos of Neg	HR HPV Pos	5,0 (2,6, 7,5)	3,2 (1,3, 5,2)
<b>Negatief</b>	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	0,6 (0,1, 1,2)	0,4 (0,0, 0,7)
Prevalentie			0,9%	0,5%

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief, n.v.t. = niet van toepassing

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

**Tabel 9b:** NILM-populatie van  $\geq 30$  jaar: absoluut risico op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay (ongecorrigeerde schattingen)

Aptima HPV Assay-resultaat	AHPV-GT Assay-resultaat	Interpretatie	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absoluut risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)
<b>Positief</b>	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	11,5 (7/61) (5,4, 18,9)	9,8 (6/61) (4,6, 15,2)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	12,9 (4/31) (4,0, 26,0)	12,9 (4/31) (4,3, 23,8)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	10,0 (3/30) (2,4, 23,0)	6,7 (2/30) (0,8, 17,7)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	n.v.t. (0/0)	n.v.t. (0/0)
	HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	3,4 (8/237) (1,7, 5,3)	1,7 (4/237) (0,6, 3,2)
	Pos of Neg	HR HPV Pos	5,0 (15/298) (3,6, 6,2)	3,4 (10/298) (2,3, 3,9)
<b>Negatief</b>	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)
Prevalentie			2,5% (20/803)	1,4% (11/803)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief, n.v.t. = niet van toepassing

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

**Tabel 10:** NILM-populatie van ≥ 30 jaar: het absolute en relatieve risico op ≥CIN2 en ≥CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en het Aptima HPV assay per leeftijdsgroep (ongecorrigeerde schattingen)

	Aptima HPV Assay-resultaat	AHPV-GT Assay-resultaat	Interpretatie	≥CIN2	≥CIN3
				Absoluut risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)
30 tot 39 jaar	Positief	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	8,8 (3/34) (2,2, 17,8)	5,9 (2/34) (1,0, 13,3)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	0,0 (0/17) (0,0, 15,5)	0,0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	17,6 (3/17) (3,2, 35,4)	11,8 (2/17) (1,3, 27,0)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	n.v.t. (0/0)	n.v.t. (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	4,0 (5/124) (1,7, 6,2)	2,4 (3/124) (0,7, 4,2)
		Pos of Neg	HR HPV Pos	5,1 (8/158) (3,2, 6,1)	3,2 (5/158) (1,5, 4,0)
	Negatief	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	0,5 (1/217) (0,0, 1,9)	0,5 (1/217) (0,0, 1,7)
Prevalentie				2,4% (9/375)	1,6% (6/375)
≥ 40 jaar	Positief	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	14,8 (4/27) (4,7, 27,3)	14,8 (4/27) (5,1, 22,8)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	28,6 (4/14) (6,3, 50,7)	28,6 (4/14) (6,4, 46,5)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	0,0 (0/13) (0,0, 20,1)	0,0 (0/13) (0,0, 17,1)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	n.v.t. (0/0)	n.v.t. (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	2,7 (3/113) (0,7, 5,8)	0,9 (1/113) (0,0, 3,1)
		Pos of Neg	HR HPV Pos	5,0 (7/140) (2,6, 7,0)	3,6 (5/140) (1,9, 4,2)
	Negatief	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,4 (4/288) (0,5, 2,5)	0,0 (0/288) (0,0, 0,8)
Prevalentie				2,6% (11/428)	1,2% (5/428)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief, n.v.t. = niet van toepassing  
 \*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.



In Tabel 11 (verificatiebias gecorrigeerd) en Tabel 12 (ongecorrigeerd) wordt het relatieve ziekterisico weergegeven voor positieve resultaten vergeleken met negatieve resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Vrouwen bij wie HPV-type 16, 18 en/of 45 aanwezig was, hadden een 20,9 maal grotere kans op een  $\geq$ CIN2 en een 29,4 maal grotere kans op  $\geq$ CIN3 dan vrouwen bij wie geen hoog-risico HPV-typen aanwezig was. Vrouwen bij wie HPV-type 16, 18 en/of 45 aanwezig was, hadden een 3,7 maal grotere kans op een  $\geq$ CIN2 en een 5,3 maal grotere kans op  $\geq$ CIN3 dan vrouwen bij wie één of meer van de andere 11 hoog-risico HPV-typen aanwezig was.

**Tabel 11:** NILM-populatie van  $\geq$  30 jaar: relatief risico op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay (voor verificatiebias gecorrigeerde schattingen)

Testinterpretatie Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relatief risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. HR HPV Neg	20,9 (6,3, 69,3)	29,4 (7,2, 120,8)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. overige HR HPV Pos	3,7 (1,5, 9,5)	5,3 (1,5, 18,2)
Overige HR HPV Pos vs. HR HPV Neg	5,6 (1,8, 17,7)	5,6 (1,2, 26,0)
HR HPV Pos vs. HR HPV Neg	8,5 (2,9, 24,8)	10,1 (2,7, 38,2)
Prevalentie	0,9%	0,5%

CI = betrouwbaarheidsinterval (Confidence Interval), HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

**Tabel 12:** NILM-populatie van  $\geq$  30 jaar: het relatieve risico op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en het Aptima HPV assay (ongecorrigeerde schattingen)

Testinterpretatie Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relatief risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. HR HPV Neg	11,6 (3,8, 35,4)	49,7 (6,1, 406)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. overige HR HPV Pos	3,4 (1,3, 9,0)	5,8 (1,7, 20,0)
Overige HR HPV Pos vs. HR HPV Neg	3,4 (1,1, 10,3)	8,5 (1,0, 75,8)
HR HPV Pos vs. HR HPV Neg	5,1 (1,9, 13,8)	16,9 (2,2, 132)
Prevalentie	2,5% (20/803)	1,4% (11/803)

CI = betrouwbaarheidsinterval (Confidence Interval), HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

De waarschijnlijkheidsverhoudingen ( $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3) volgens het Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay-resultaat worden weergegeven in Tabel 13 (verificatiebias gecorrigeerd) en Tabel 14 (ongecorrigeerd). Vrouwen met een  $\geq$ CIN2 hebben een 17,1 maal grotere kans dat HPV-type 16, 18 en/of 45 aanwezig is en vrouwen met een  $\geq$ CIN3 een 21,9 maal grotere kans.

**Tabel 13:** NILM-populatie van  $\geq$  30 jaar: waarschijnlijkheidsverhoudingen voor  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay (voor verificatiebias gecorrigeerde schattingen)

Testinterpretatie Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Waarschijnlijkheidsverhouding (95% CI)	Waarschijnlijkheidsverhouding (95% CI)
HPV 16 en/of 18/45 Pos	17,1 (6,2, 46,9)	21,9 (7,3, 65,2)
Overige HR HPV Pos	4,2 (1,7, 10,1)	3,8 (1,2, 12,6)
HR HPV-negatief	0,7 (0,5, 1,0)	0,7 (0,4, 1,1)

CI = betrouwbaarheidsinterval (Confidence Interval), HR = hoog-risico, Pos = positief

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

**Tabel 14:** NILM-populatie van  $\geq$  30 jaar: waarschijnlijkheidsverhoudingen voor  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay (ongecorrigeerde schattingen)

Testinterpretatie Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Waarschijnlijkheidsverhouding (95% CI)	Waarschijnlijkheidsverhouding (95% CI)
HPV 16 en/of 18/45 Pos	5,1 (2,3, 9,1)	7,9 (3,5, 12,9)
Overige HR HPV Pos	1,4 (0,7, 2,2)	1,2 (0,4, 2,3)
HR HPV-negatief	0,4 (0,1, 0,7)	0,1 (0,0, 0,6)

CI = betrouwbaarheidsinterval (Confidence Interval), HR = hoog-risico, Pos = positief

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

## Klinische prestaties van Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay met SurePath-vloeistofcytologiemonsters

Er werden SurePath-vloeistofcytologiemonsters afgenomen bij Canadese vrouwen die vanwege één of meer afwijkende Pap-tests, een HPV-infectie of een andere reden waren doorverwezen voor vervolgonderzoek. Van elk monster werd een aliquot (0,5 ml) overgebracht in een Aptima-monsterverdrachtbuis en vervolgens behandeld met de Aptima-overdrachttoplossing. Elk monster werd in enkelvoud getest met het Aptima HPV assay (n=494). Positieve monsters werden vervolgens met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay getest. Van elk monster werd een afzonderlijk aliquot (1 ml) genomen voor evaluatie met een commercieel verkrijgbare HPV-PCR-test (n=557). In Tabel 15 wordt het absolute ziekterisico ( $\geq$ CIN3) op basis van Aptima HPV 16 18/45 genotype assay- en Aptima HPV assay-resultaten weergegeven. Voor de commercieel verkrijgbare HPV-PCR-test die HPV 16 en HPV 18 onderscheidt, maar niet HPV 45, afzonderlijk van de andere hoog-risico genotypen, worden vergelijkbare resultaten weergegeven. In Tabel 16 wordt het relatieve ziekterisico weergegeven voor positieve genotype-resultaten vergeleken met negatieve genotype-resultaten voor het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en de HPV PCR-test.

**Tabel 15:** Absoluut risico op  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en een commercieel verkrijgbare HPV-PCR-test

HR HPV-resultaat	Genotype-resultaat	Interpretatie	Aptima Absoluut risico $\geq$ CIN3 (95% CI)	HPV PCR Absoluut risico $\geq$ CIN3 (95% CI)
<b>Positief</b>	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45* Pos	HPV 16 en/of HPV 18/45* Pos	14,6 (9,6-19,5)	14,4 (10,4-18,1)
	HPV 16 Pos en HPV 18/45* Neg	Alleen HPV 16 Pos	19,4 (12,0-26,8)	16,8 (11,6-21,9)
	HPV 16 Neg en/of HPV 18/45* Pos	Alleen HPV 18/45* Pos	3,3 (0,1-13,8)	7,1 (1,0-18,8)
	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45* Pos	HPV 16 en HPV 18/45* Pos	25,0 (1,3-75,2)	14,3 (0,7-49,9)
	HPV 16 Neg en/of HPV 18/45* Neg	Overige HR HPV Pos	2,5 (1,4-3,7)	2,1 (1,1-3,3)
	Pos of Neg	HR HPV Pos	9,8 (8,1-11,2)	8,5 (7,0-9,5)
<b>Negatief**</b>	HPV 16 Neg en/of HPV 18/45* Neg	HR HPV Neg	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
Prevalentie (%)			4,9%	5,0%

HR = hoog-risico; Pos = positief, Neg = negatief

\*De HPV PCR-test onderscheidt alleen HPV 16 en HPV 18 uit de andere 12 hoog risico genotypen, waaronder HPV 45.

\*\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

**Tabel 16:** Relatief risico op  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en een commercieel verkrijgbare HPV-PCR-test

Aptima Assay-resultaten		HPV PCR-testresultaten	
Testinterpretatie	Relatief risico $\geq$ CIN3 (95% CI)	Testinterpretatie	Relatief risico $\geq$ CIN3 (95% CI)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. HR HPV-negatief	14,8 (4,3-50,3)	HPV 16- en/of 18-positief vs. HR HPV-negatief	12,6 (3,8-41,9)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. overige HR HPV-positief	2,0 (0,8-4,6)	HPV 16- en/of 18-positief vs. overige HR HPV-positief	3,9 (1,6-9,5)
Overige HR HPV-positief vs. HR HPV-negatief	7,5 (2,0-28,6)	Overige HR HPV-positief vs. HR HPV-negatief	3,2 (0,8-12,8)
HR HPV-positief vs. HR HPV-negatief	10,0 (3,0-32,7)	HR HPV-positief vs. HR HPV-negatief	7,4 (2,3-24,3)
Prevalentie	4,9%	Prevalentie	5,0%

## Klinische prestaties van Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay met baarmoederhalsmonsternamen en transportmonsters

Er werden CSCT-monsters verzameld van vrouwen tijdens een routinematige screening of follow-upbezoek en deze werden getest met de Aptima HPV assay. Overgebleven CSCT-monsters (n=378) met een positief Aptima HPV assay-resultaat werden getest met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay op het Tigris DTS System. Het HPV-genotype van elk monster werd bepaald met behulp van een a DNA-genotyperingstest. Monsters waarvan de resultaten van de genotyperingstests (DNA en Aptima HPV 16 18/45 genotype assay) strijdig met elkaar waren, werden getest met een gevalideerde reverse-transcriptase PCR-sequencing-test om duidelijkheid te verschaffen over de HPV 16-, HPV-18- en HPV-45-status ervan. De klinische overeenkomst (positief en negatief) van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay voor de detectie van hoog-risico HPV-16, 18 en 45 werd vastgesteld. De resultaten worden weergegeven in Tabel 17.

**Tabel 17:** De klinische overeenkomst van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay op het Tigris DTS System voor de detectie van hoog-risico HPV-16, 18 en 45 in CSCT-monsters.

		Referentiemethode				Totaal
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	
<b>Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay</b>	<b>HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg</b>	125	0	1	0	126
	<b>HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos</b>	0	43	0	1	44
	<b>HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos</b>	0	0	8	1	9
	<b>HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg</b>	1	1	0	197	199
	<b>Totaal</b>	126	44	9	199	378

Pos = positief, Neg = negatief

Positieve overeenkomst: 98,3% (176/179) (95% CI: 95,2, 99,4)

Negatieve overeenkomst: 99,0% (197/199) (95% CI: 96,4, 99,7)

## Gevoeligheid analyse

De detectielimiet (Limit of Detection, LOD) bij de klinische cutoff is een concentratie die in 95% van de gevallen positief (boven de klinische cutoff) is. De LOD van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay werd bepaald door het testen van afzonderlijke negatieve klinische ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters met verschillende concentraties toegevoegde HPV *in-vitro* transcripts. Met elk van drie reagenspartijen zijn voor een totaal van 90 replicaties dertig replicaties van elk kopieniveau getest. Testen werden gedurende 6 dagen uitgevoerd, met 3 testreeksen per dag, waarbij in elke reeks 5 replicaties van een bepaald genotype werden getest. De 95%-detectielimiet (Tabel 18) werd berekend uit de Probit-regressieanalyse van de positieve resultaten voor elke verdunningspanel.

**Tabel 18:** Detectielimiet (Limit of Detection, LOD) bij de klinische cutoff van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay

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

\*kopieën per reactie voor *in-vitro* transcripts en cellen per reactie voor cellijnen

## Nauwkeurigheid assay

De nauwkeurigheid van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay werd in twee onderzoeken met hetzelfde panel van 22 onderdelen geëvalueerd. Onderzoek 1 is voor het bepalen van de reproduceerbaarheid van het assay op 3 externe testlocaties uitgevoerd. Onderzoek 2 is intern uitgevoerd voor het bepalen van de nauwkeurigheid in het laboratorium. Het panel bevatte 14 HPV 16- en/of 18/45-positieve onderdelen met concentraties op of boven de detectiegrens van het assay (verwachte positiviteit  $\geq 95\%$ ), 5 HPV 16- en/of 18/45-positieve onderdelen met concentraties onder de detectiegrens van het assay (verwachte positiviteit  $>0\%$  tot  $<25\%$ ) en 3 HPV-negatieve onderdelen. HPV 16- en/of 18/45-positieve panelonderdelen werden bereid door toevoeging van HPV-geïnfecteerde kweekcellen (SiHa, HeLa en MS751; ATCC, Manassas, Virginia) aan gepoolde overgebleven klinische ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters of door het verdunnen van klinische HPV 16-, 18- en/of 45-monsters in gepoolde overgebleven ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters. HPV-negatieve panelonderdelen werden bereid met gepoolde klinische ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters.

In onderzoek 1 voerden 2 bedieners op elk van de 3 testlocaties (1 instrument per locatie) gedurende 3 dagen 2 Aptima HPV 16 18/45 genotype assay -werklijsten per dag uit. Testen werden uitgevoerd met 1 reagenspartij. Elke werklijst omvatte 3 replicaties van elk onderdeel van het reproduceerbaarheidspanel. Er zijn voor elk panelonderdeel honderdacht (108) afzonderlijke monsterbuizen getest (3 locaties x 1 instrument x 2 bedieners x 1 partij x 2 werklijsten per dag x 3 dagen x 3 replicaties). In onderzoek 2 vonden de tests intern gedurende 20 dagen plaats, met in totaal 162 reacties voor elk panelonderdeel (1 locatie x 3 instrumenten x 3 bedieners x 3 partijen x 2 werklijsten x 3 replicaties).

De panelonderdelen worden in Tabel 19a en Tabel 19b beschreven, met een samenvatting van de overeenkomst met de verwachte resultaten voor respectievelijk HPV 16 en HPV 18/45.

**Tabel 19a:** Aptima HPV 16 18/45 genotype assay Nauwkeurigheidsonderzoek 1 en 2: beschrijving panel en percentage overeenkomst met verwachte resultaten voor HPV 16

Beschrijving panel (cellen/reactie)	HPV 16 verwacht resultaat	Percentage positieve overeenkomst (95% CI)	
		Onderzoek 1 (3 testlocaties)	Onderzoek 2 (1 testlocatie)
SiHa-cellen (3,0 cellen)	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa-cellen (0,6 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-cellen (11,0 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinisch monster 1	Positief	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinisch monster 1	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa-cellen (1,6 cellen) en HeLa-cellen (3,3 cellen)	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa-cellen (1,6 cellen) en MS751-cellen (42,5 cellen)	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa-cellen (15,7 cellen) en HeLa-cellen (0,3 cellen)	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa-cellen (15,7 cellen) en MS751-cellen (4,3 cellen)	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-cellen (1,6 cellen)	Positief	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
HeLa-cellen (0,3 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
MS751-cellen (4,3 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinisch monster 2	Positief	97,2 (104/107) (92,1, 99,0)	94,4 (152/161) (88,7, 97,0)
HPV 18/45 klinisch monster 2	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-cellen (0,1 cellen)	Negatief	85,2 (92/108) (77,3, 90,7)	84,6 (137/162) (78,2, 89,3)
HeLa-cellen (0,02 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-cellen (0,04 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinisch monster 3	Negatief	95,4 (103/108) (89,6, 98,0)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 18/45 klinisch monster 3	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV-negatief klinisch monster 1	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatief klinisch monster 2	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatief klinisch monster 3	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = score betrouwbaarheidsinterval

**Opmerking:** Het percentage overeenkomst kan zijn beïnvloed door variaties in het toevoegen, verdunnen en/of nemen van aliquots.

**Tabel 19b:** Aptima HPV 16 18/45 genotype assay Nauwkeurigheidsonderzoek 1 en 2: beschrijving panel en percentage overeenkomst met verwachte resultaten voor HPV 18/45

Beschrijving panel (cellen/reactie)	Percentage positieve overeenkomst (95% CI)		
	Verwachte resultaten voor HPV 18/45	Onderzoek 1 (3 testlocaties)	Onderzoek 2 (1 testlocatie)
SiHa-cellen (3,0 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
HeLa-cellen (0,6 cellen)	Positief	93,5 (101/108) (87,2, 96,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
MS751-cellen (11,0 cellen)	Positief	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 16 klinisch monster 1	Negatief	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinisch monster 1	Positief	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa-cellen (1,6 cellen) en HeLa-cellen (3,3 cellen)	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-cellen (1,6 cellen) en MS751-cellen (42,5 cellen)	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa-cellen (15,7 cellen) en HeLa-cellen (0,3 cellen)	Positief	63,9 (69/108) (54,5, 72,3)	67,7 (109/161) (60,1, 74,4)
SiHa-cellen (15,7 cellen) en MS751-cellen (4,3 cellen)	Positief	98,1 (106/108) (93,5, 99,5)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
SiHa-cellen (1,6 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HeLa-cellen (0,3 cellen)	Positief	71,3 (77/108) (62,1, 79,0)	92,5 (149/161) (87,4, 95,7)
MS751-cellen (4,3 cellen)	Positief	86,1 (93/108) (78,3, 91,4)	69,1 (112/162) (61,6, 75,7)
HPV 16 klinisch monster 2	Negatief	100 (107/107) (96,5, 100)	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)
HPV 18/45 klinisch monster 2	Positief	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	79,6 (129/162) (72,8, 85,1)
SiHa-cellen (0,1 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa-cellen (0,02 cellen)	Negatief	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	86,4 (140/162) (80,3, 90,9)
MS751-cellen (0,04 cellen)	Negatief	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
HPV 16 klinisch monster 3	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV 18/45 klinisch monster 3	Negatief	80,6 (87/108) (72,1, 86,9)	81,5 (132/162) (74,8, 86,7)
HPV-negatief klinisch monster 1	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV-negatief klinisch monster 2	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatief klinisch monster 3	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4(161/162) (96,6, 99,9)

CI = score betrouwbaarheidsinterval

**Opmerking:** Het percentage overeenkomst kan zijn beïnvloed door variaties in het toevoegen, verdunnen en/of nemen van aliquots.

## Kruisreactiviteit

De gevoeligheid van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay werd geëvalueerd door het testen van gepoolde overgebleven ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters die 1:2,9 waren verdund in STM (vergelijkbaar met overbrengen van het monster in een Aptima-monsteroverdrachtbuis) waaraan gekweekte bacteriën, gist of fungi; gekweekte virus; of niet-gezochte HPV *in-vitro* transcripts waren toegevoegd. De organismen en testconcentraties waarvoor geen kruisreactiviteit werd waargenomen, worden geïdentificeerd in Tabel 20. De onderzoekscriteria voor de beoordeling van het effect van de aanwezigheid van micro-organismen op de specificiteit van het assay waren gebaseerd op positiviteit.

**Tabel 20:** Panel analytische specificiteit: organismen en concentratie zonder kruisreactiviteit

Organisme	Testconcentratie zonder kruisreactiviteit	Organisme	Testconcentratie zonder kruisreactiviteit
<b>Bacteriën</b>			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium*</i>	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 <sup>5</sup> IFU/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Prevotaella bivia</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml		
<b>Niet-gezochte hoog-risico HPV-genotypen*</b>			
HPV 31	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml	HPV 56	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml
HPV 33	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml	HPV 58	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml
HPV 35	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml	HPV 59	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml
HPV 39	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml	HPV 66	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml
HPV 51	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml	HPV 68	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml
HPV 52	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml		
<b>Gist/protozoën</b>			
<i>Candida albicans</i>	1x10 <sup>5</sup> CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis**</i>	1x10 <sup>5</sup> cellen/ml
<b>Virussen</b>			
Adenovirus	5,25x10 <sup>7</sup> PFU/ml	HIV-1	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml
Cytomegalovirus	1,58x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	Herpes simplex-virus 1	3,39x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml



**Tabel 20:** Panel analytische specificiteit: organismen en concentratie zonder kruisreactiviteit (*vervolg*)

Organisme	Testconcentratie zonder kruisreactiviteit	Organisme	Testconcentratie zonder kruisreactiviteit
Epstein-Barr-virus	1,59x10 <sup>6</sup> TD <sub>50</sub> /ml	Herpes simplex-virus 2	2,29x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
<b>Niet-gezochte andere HPV-genotypen*</b>			
HPV 6	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml	HPV 53	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml
HPV 11	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml	HPV 67	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml
HPV 26	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml	HPV 69	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml
HPV 30	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml	HPV 70	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml
HPV 34	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml	HPV 73	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml
HPV 42	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml	HPV 82	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml
HPV 43	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml	HPV 85	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml
HPV 44	2,5x10 <sup>6</sup> kopieën/ml		

CFU = kolonievormende eenheden, PFU = plaquevormende eenheden, TD<sub>50</sub> = transformatiedosis 50, TCID<sub>50</sub> = infectieve dosis weefselkweek 50

\**In-vitro* transcript getest.

\*\*Hoewel geen kruisreactiviteit voor *Trichomonas vaginalis* werd waargenomen, werd wel interferentie waargenomen (zie hieronder).

De analytische gevoeligheid van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay in aanwezigheid van micro-organismen werd geëvalueerd met hetzelfde panel dat in Tabel 20 is beschreven, waaraan ook een lage concentratie HPV-geïnfecteerde SiHa-cellen (1,6 cellen per reactie) en HPV-geïnfecteerde HeLa-cellen (0,3 cellen/reactie) is toegevoegd. De onderzoekscriteria voor het beoordelen van het effect van de aanwezigheid van micro-organismen op de gevoeligheid van het assay zijn op positiviteit gebaseerd. De aanwezigheid van micro-organismen resulteerde niet in interferentie met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, uitgezonderd *Trichomonas vaginalis* (TV). Er werd interferentie waargenomen met TV wanneer dit aanwezig was in een concentratie groter dan 3 x 10<sup>4</sup> cellen/ml.

## Interferentie

De in Tabel 21 beschreven stoffen zijn afzonderlijk toegevoegd aan ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters die 1:2,9 waren verdund in STM, in de in de tabel vermelde concentraties. Alle stoffen zijn getest in het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay in de aan- en afwezigheid van met HPV geïnfecteerde kweekcellen (SiHa, 1,6 cellen/reactie en HeLa, 0,3 cellen/reactie). Er werd interferentie waargenomen met de volgende materialen wanneer deze aanwezig waren in grotere concentraties dan gespecificeerd: vaginale glijmiddelen (die Polyquaternium 15 bevatten) in een gehalte van 1% g/v, antischimmelcrème (die tioconazol bevat) in een gehalte van 0,03% g/v, slijm in een gehalte van 0,3% g/v, intravaginale hormonen (die progesteron bevatten) in een gehalte van 1% g/v.

**Tabel 21:** Stoffen die getest zijn op mogelijke interferentie met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay

Productcategorie	Merk of type product	Hoogste geteste concentratie die het assay niet beïnvloedde*
Vaginaal glijmiddel	KY natural feeling liquid	10% v/v
	up & up vloeibaar intienglijmiddel (Target-merk)	
	Astroglide**	1% g/v
Spermicide/contraceptieve gel	Vaginale anticonceptieschuim (VCF)	10% g/v
	Options Conceptrol anticonceptiegel	
Antischimmelcrème	up & up miconazol 3 (Target-merk)	10% g/v
	Monistat 3 Combination Pack	
	up & up tioconazol 1 (Target-merk)	0,03% g/v
Intiendouche	Summer's Eve intiendouche	10% v/v
	up & up vaginale douche (Target-merk)	
Intiemspray	Summer's Eve intiemdeospray	10% g/v
	FDS intiemdeospray	
Slijm	Porcien slijm	0,3% g/v
Intravaginale hormonen	Estrace vaginale crème (oestrogeen)	10% g/v
	Crinone crème (progesteron)	1% g/v
Volbloed***	volbloed	5% v/v
Leukocyten	leukocyten	1x10 <sup>7</sup> cellen/ml
IJsazijn-wasoplossing <sup>^</sup>	IJsazijn + CytoLyt-oplossing	2,6% v/v

\*concentratie in testmonster: ThinPrep-vloeistofcytologiemonster 1:2,9 verdund in STM (vergelijkbaar met overbrengen van het monster in een Aptima-monsteroverdrachtbuis)

\*\*glijmiddelen met Polyquaternium 15.

\*\*\*volbloed verstoort het assay wanneer die aanwezig was in een testconcentratie van 10% v/v

<sup>^</sup>issazijn-wasoplossing werd bereid door 1 deel ijsazijn en 9 delen CytoLyt-oplossing te mengen zoals aangegeven in de ThinPrep 2000 System Operator's Manual (bedieningshandleiding van het ThinPrep 2000 System).

## Verwachte resultaten Panther System: Prevalentie van hoog-risico HPV-mRNA

De prevalentie van infectie met hoog-risico HPV varieert sterk en wordt door meerdere factoren beïnvloed, waarbij leeftijd de grootste invloed heeft.<sup>19,20</sup> In veel onderzoeken is de prevalentie van HPV onderzocht, zoals bepaald door de detectie van HPV-DNA. Slechts weinig onderzoeken rapporteren echter over de prevalentie op basis van de detectie van oncogeen HPV-mRNA. Vrouwen van diverse klinische locaties (n=18) met een grote geografische verdeling en een diverse populatie (10 staten binnen de VS) werden opgenomen in een prospectief klinisch onderzoek, dat bekend is als het CLEAR-onderzoek, voor evaluatie van het Aptima HPV assay, dat 14 typen HPV met hoog risico detecteert.<sup>21</sup> De monsters van de vrouwen die in het CLEAR-onderzoek positieve Aptima HPV assay-resultaten op het Panther System opleverden, werden in een afzonderlijk klinisch onderzoek geëvalueerd met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay op het Panther System. De prevalentie van HPV 16, 18/45, evenals de overige 11 hoog-risico HPV-typen die zijn waargenomen in het klinisch onderzoek, zijn op basis van de resultaten van testen met het Aptima HPV assay en het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay op het Panther System globaal, per leeftijdsgroep en per testlocatie gecategoriseerd. Een negatief resultaat van het Aptima HPV assay op het Panther System geeft aan dat er geen van de 14 hoog-risico typen HPV aanwezig is en deze resultaten werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief op het Panther System. De resultaten worden in Tabel 22 weergegeven voor de ASC-US-populatie (ASC-US: Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, atypische plaveiselcellen van onbepaalde betekenis) en de NILM-populatie (NILM: Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, negatief voor intra-epitheellaesie of maligniteit).

**Tabel 22:** Prevalentie hoog-risico HPV-mRNA per leeftijdsgroep, testlocatie en alles gecombineerd

	% positief (x/n)							
	ASC-US-populatie (≥ 21 jaar)				NILM-populatie (≥ 30 jaar)			
	HPV 16 Pos	HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	11 overige HR* Pos	HPV 16 Pos	HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	11 overige HR* Pos
<b>Alle</b>	7,8 (71/911)	5,3 (48/911)	0,3 (3/911)	26,0 (237/911)	0,5 (50/10.839)	0,5 (49/10.839)	<0,1 (1/10.839)	3,6 (391/10.839)
<b>Leeftijdsgroep (jaar)</b>								
<b>21 tot 29</b>	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.
<b>30 tot 39</b>	5,5 (14/255)	6,7 (17/255)	0,4 (1/255)	23,1 (59/255)	0,7 (31/4.183)	0,7 (31/4.183)	0 (0/4.183)	5,1 (215/4.183)
<b>≥ 40</b>	1,9 (5/268)	4,1 (11/268)	0 (0/268)	11,6 (31/268)	0,3 (19/6.656)	0,3 (18/6.656)	<0,1 (1/6.656)	2,6 (176/6.656)
<b>Testlocatie**</b>								
<b>1</b>	5,6 (17/304)	6,6 (20/304)	0,3 (1/304)	27,0 (82/304)	0,4 (16/3.610)	0,4 (16/3.610)	<0,1 (1/3.610)	3,6 (130/3.610)
<b>2</b>	9,6 (29/303)	3,6 (11/303)	0,3 (1/303)	26,4 (80/303)	0,5 (18/3.614)	0,4 (15/3.614)	0 (0/3.614)	3,6 (130/3.614)
<b>3</b>	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3.615)	0,5 (18/3.615)	0 (0/3.615)	3,6 (131/3.615)

n.v.t. = niet van toepassing, HR = hoog-risico, Pos = positief

Opmerking: Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay op het Panther System werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief op het Panther System.

\* HPV typen 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 en 68

\*\* In de NILM-populatie werden niet alle vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay op het Panther System getest met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay op het Panther System. Voor de analyse per testlocatie, werden de resultaten van deze vrouwen willekeurig aan één van de 3 testlocaties toegewezen.

## Prestaties Panther System Assay

### Opzet klinisch onderzoek Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay met ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters

Het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay op het Panther System werd geëvalueerd met behulp van verwijzingscytologiemonsters die met toestemming waren verkregen van vrouwen tijdens het prospectieve, multicenter klinische Amerikaanse onderzoek dat bekend is als het CLEAR-onderzoek. Het CLEAR-onderzoek werd uitgevoerd om de klinische prestaties van het Aptima HPV assay op het Tigris DTS System te bepalen in de detectie van cervicale intra-epitheliale neoplasie graad 2 of ernstiger baarmoederhalsaandoening ( $\geq$ CIN2). Op basis van de vloeistofgebaseerde ThinPrep-cytologieresultaten bij hun verwijzing na routinematige screening op baarmoederhalskanker, werden vrouwen in ofwel het ASC-US-onderzoek ofwel het NILM-onderzoek opgenomen. De ASC-US-onderzoekspopulatie omvatte vrouwen van 21 jaar en ouder met ASC-US-cytologieresultaten, en de NILM-onderzoekspopulatie omvatte vrouwen van 30 jaar of ouder met NILM-cytologieresultaten.

Er zijn vrouwen geanalyseerd uit 18 klinische locaties, vooral verloskundige of gynaecologische klinieken, met een brede geografische verdeling en een diverse populatie. Tijdens het CLEAR-onderzoek werden overgebleven doorverwijzingscytologiemonsters zowel met het Aptima HPV assay op het Tigris DTS System als met een commercieel verkrijgbare, FDA-goedgekeurde HPV-DNA-test getest. In aanmerking komende doorverwijzingscytologiemonsters uit het CLEAR-onderzoek werden met het Aptima HPV assay op het Panther System getest. Voor het klinische onderzoek van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay werden overgebleven doorverwijzingscytologiemonsters met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay op het Panther System getest.

Alle vrouwen in het ASC-US-onderzoek zijn onafhankelijk van hun HPV-testresultaten doorverwezen naar colposcopie. Er zijn endocervicaal curettage (ECC)- en cervicale punchbiopten (1 biopsie van elk van de 4 kwadranten) genomen. Als er een laesie zichtbaar was, is er een punchbiopt genomen (gerichte methode, 1 biopsie per laesie), en bij kwadranten zonder zichtbare laesie is bij de squamocolumnaire junctie (willekeurige methode) een biopsie uitgevoerd.

In het NILM-onderzoek werden vrouwen met een positief resultaat van het Aptima HPV assay op het Tigris DTS System en/of van de FDA-goedgekeurde HPV-DNA-test, evenals willekeurig geselecteerde vrouwen die bij beide assays negatief waren, voor de basisevaluatie naar colposcopie doorverwezen. Van elke vrouw die colposcopie heeft ondergaan, is een ECC-biopt verkregen. Punch-biopten werden alleen van zichtbare laesies genomen (gerichte methode, 1 biopt per laesie). De nacontrole gedurende 3 jaar met jaarlijkse cytologiecontroles van vrouwen in het NILM-onderzoek die geen  $\geq$ CIN2 hebben, is gaande. Vrouwen met ASC-US of ernstiger cytologieresultaten tijdens de vervolgperiode worden met dezelfde biopsieprocedure als voor de basisevaluatie naar colposcopie doorverwezen.

De ziektestatus is bepaald uit een consensus-histologiebeoordelingspanel, gebaseerd op overeenstemming tussen ten minste 2 pathologie-experts. De pathologie-experts waren niet op de hoogte van de HPV- en cytologiestatus van de vrouwen en ook niet van elkaars histologiediagnoses. Voor het voorkomen van bias waren de onderzoekers, artsen en vrouwen niet op de hoogte van de HPV-testresultaten tot na het afronden van het colposcopiebezoek.

Voor de validatie van het beoogde gebruik van het Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay op het Panther System als reflextest voor een positief Aptima HPV assay-monster, kwamen overgebleven doorverwijzingscytologiemonsters van alle evalueerbare vrouwen in het ASC-US-onderzoek en het NILM-onderzoek met een positief Aptima HPV assay-resultaat in aanmerking voor het testen met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay op het Panther System. De klinische prestaties van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay op het Panther System voor de detectie van  $\geq$ CIN2 en cervicale intra-epitheliale neoplasie graad 3 of ernstiger baarmoederhalsaandoening ( $\geq$ CIN3) werden geëvalueerd.

## ASC-US-populatie van $\geq 21$ jaar: klinische prestaties Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay met ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters

In totaal waren er 404 beoordeelbare vrouwen van 21 jaar of ouder met ASC-US-cytologieresultaten en positieve Aptima HPV assay-resultaten op het Panther System van wie de doorverwijzingscytologiemonsters in aanmerking kwamen voor het testen met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay op het Panther System. Hiervan hadden 45 vrouwen niet voldoende doorverwijzingscytologiemonster beschikbaar voor het testen in dit onderzoek en hadden 6 een onbepaalde ziektediagnose, na een ontbrekende analysewaarde, deze werden allen uit de prestatieberekeningen gehouden. De 353 beoordeelbare vrouwen met een duidelijke ziektestatus hadden geldige Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultaten op het Panther System op basis van reflextests na een positief Aptima HPV assay-resultaat op het Panther System. Zevenenzestig (67) vrouwen hadden  $\geq$ CIN2 en 30 hadden  $\geq$ CIN3.

Van de 353 evalueerbare vrouwen met positieve Aptima HPV assay-resultaten op het Panther System hadden 118 vrouwen een positief Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultaat op het Panther System, wat op de aanwezigheid van HPV-16 en/of HPV 18/45 duidt, en hadden 235 vrouwen een negatief resultaat, wat op de aanwezigheid van een of meer van de andere 11 hoog-risico HPV-typen duidt, zoals gedetecteerd door de Aptima HPV assay (d.w.z. HPV-typen 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 en 68). Nog eens 539 beoordeelbare vrouwen van 21 jaar en ouder met ASC-US-cytologieresultaten hadden negatieve Aptima HPV assay-resultaten op het Panther System. Een negatief resultaat van het Aptima HPV assay geeft aan dat er geen van de 14 hoog-risico typen HPV aanwezig is en deze resultaten werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief op het Panther System. De prevalentie van  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 in beoordeelbare vrouwen met ASC-US-cytologieresultaten was respectievelijk 9,1% en 3,8%. Op basis van het testen met het Panther System worden de resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per Aptima HPV assay-resultaat en per diagnose door het consensus-histologiebeoordelingspanel weergegeven in Tabel 23.

**Tabel 23:** ASC-US-populatie van  $\geq 21$  jaar: resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay per diagnose door consensus-histologiebeoordelingspanel

Aptima HPV Assay-resultaat	AHPV-GT Assay-resultaat*	Interpretatie	Diagnose consensus-histologiebeoordelingspanel						
			Onbepaald**	Normaal	CIN1	CIN2	CIN3	Kanker	Totaal
Positief	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Pos	1	26	18	11	15	0	71
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 18/45 Pos	3	23	16	2	3	1	48
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	2	132	70	23	10	0	237
Totaal			6	182	104	37	29	1	359
Negatief	HPV 16/18/45 Neg***	HR HPV Neg	13	450	75	10	4	0	552
Totaal			19	632	179	47	33	1****	911

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, CIN1 = cervicale intraepitheliale neoplasie graad 1, HR = hoog-risico, Neg = negatief, Pos = positief

\*Alle monsters hadden eindresultaten (na de laatste test of na het oplossen van aanvankelijk ongeldige resultaten volgens de procedure).

\*\*19 vrouwen gingen naar het colposcopiebezoek, maar kregen geen diagnose gesteld vanwege de volgende redenen: < 5 biopten verkregen, alle met histologieresultaat normaal/CIN1 (n=15), geen biopten verkregen (n=3) en bioptglasjes verloren gegaan (n=1).

\*\*\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

\*\*\*\*Eén vrouw had adenocarcinoma in situ (AIS).

In Tabel 24 wordt het absolute ziekterisico ( $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3) op basis van Aptima HPV 16 18/45 genotype assay- en Aptima HPV assay-resultaten weergegeven. Het risico van  $\geq$ CIN2 bij vrouwen bij wie HPV-typen 16, 18 en/of 45 aanwezig was, was 28,8% vergeleken met 14,0% bij vrouwen bij wie een of meer van de andere 11 hoog-risico HPV-typen aanwezig was en 2,6% bij vrouwen bij wie geen hoog-risico type HPV aanwezig was. Het absolute ziekterisico wordt per leeftijdsgroep weergegeven in Tabel 25.

**Tabel 24:** ASC-US-populatie van  $\geq$  21 jaar: absoluut risico op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay

Aptima HPV Assay-resultaat	AHPV-GT Assay-resultaat	Interpretatie	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absoluut risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)
<b>Positief</b>	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	28,8 (34/118) (22,2, 35,7)	16,9 (20/118) (12,1, 21,8)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	37,1 (26/70) (27,4, 47,4)	21,4 (15/70) (13,8, 29,5)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	13,3 (6/45) (5,5, 25,1)	8,9 (4/45) (2,9, 19,1)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	14,0 (33/235) (10,7, 17,7)	4,3 (10/235) (2,3, 6,7)
	Pos of Neg	HR HPV Pos	19,0 (67/353) (16,8, 21,1)	8,5 (30/353) (7,1, 9,6)
<b>Negatief</b>	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)	0,7 (4/539) (0,2, 1,6)
Prevalentie			9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

**Tabel 25:** ASC-US-populatie van  $\geq 21$  jaar: absoluut risico op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay per leeftijdsgroep

	Aptima HPV Assay-resultaat	AHPV-GT Assay-resultaat	Interpretatie	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Absoluut risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)
21 tot 29 jaar	Positief	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	27,4 (20/73) (19,0, 36,2)	16,4 (12/73) (10,3, 22,5)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	29,4 (15/51) (18,8, 41,1)	19,6 (10/51) (11,3, 28,5)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	15,0 (3/20) (3,6, 34,6)	5,0 (1/20) (0,2, 21,6)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	17,1 (25/146) (12,7, 21,7)	5,5 (8/146) (2,8, 8,6)
		Pos of Neg	HR HPV Pos	20,5 (45/219) (17,9, 23,0)	9,1 (20/219) (7,5, 10,2)
	Negatief	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	4,2 (7/166) (1,9, 7,6)	0,6 (1/166) (0,0, 2,7)
Prevalentie				13,5% (52/385)	5,5% (21/385)
30 tot 39 jaar	Positief	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	30,0 (9/30) (16,5, 43,9)	16,7 (5/30) (6,9, 26,2)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	13,3 (2/15) (1,3, 35,2)	13,3 (2/15) (1,3, 32,1)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	12,1 (7/58) (5,7, 19,5)	3,4 (2/58) (0,5, 8,5)
		Pos of Neg	HR HPV Pos	18,2 (16/88) (13,4, 22,3)	8,0 (7/88) (4,6, 10,0)
	Negatief	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)
Prevalentie				7,6% (19/251)	3,2% (8/251)
$\geq 40$ jaar	Positief	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	80,0 (4/5) (36,8, 99,0)	40,0 (2/5) (6,3, 78,2)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	10,0 (1/10) (0,4, 36,6)	10,0 (1/10) (0,4, 33,1)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	3,2 (1/31) (0,1, 13,2)	0 (0/31) (0,0, 7,8)
		Pos of Neg	HR HPV Pos	13,0 (6/46) (6,1, 19,7)	6,5 (3/46) (1,7, 10,9)
	Negatief	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)
Prevalentie				3,9% (10/256)	2,0% (5/256)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

In Tabel 26 wordt het relatieve ziekterisico weergegeven voor positieve resultaten vergeleken met negatieve resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Vrouwen bij wie HPV-type 16, 18 en/of 45 aanwezig was, hadden een 11,1 maal grotere kans op een  $\geq$ CIN2 en een 22,8 maal grotere kans op  $\geq$ CIN3 dan vrouwen bij wie geen hoog-risico HPV-typen aanwezig was. Vrouwen bij wie HPV-type 16, 18 en/of 45 aanwezig was, hadden een 2,1 maal grotere kans op een  $\geq$ CIN2 en een 4,0 maal grotere kans op  $\geq$ CIN3 dan vrouwen bij wie één of meer van de andere 11 hoog-risico HPV-typen aanwezig was.

**Tabel 26:** ASC-US-populatie van  $\geq$  21 jaar: relatief risico op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay

Interpretatie Aptima Assay-resultaten*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relatief risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. HR HPV-negatief	11,1 (6,2, 20,0)	22,8 (8,0, 65,6)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. overige HR HPV-positief	2,1 (1,3, 3,1)	4,0 (1,9, 8,2)
Overige HR HPV-positief vs. HR HPV-negatief	5,4 (2,9, 9,9)	5,7 (1,8, 18,1)
HR HPV-positief vs. HR HPV-negatief	7,3 (4,2, 12,8)	11,5 (4,1, 32,2)
Prevalentie	9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

CI = betrouwbaarheidsinterval (Confidence Interval), HR = hoog-risico

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

De waarschijnlijkheidsverhoudingen ( $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3) volgens het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultaat worden weergegeven in Tabel 27. Vrouwen met een  $\geq$ CIN2 hebben een 4,1 maal grotere kans dat HPV-type 16, 18 en/of 45 aanwezig is en vrouwen met een  $\geq$ CIN3 een 5,2 maal grotere kans.

**Tabel 27:** ASC-US-populatie van  $\geq$  21 jaar: waarschijnlijkheidsverhoudingen voor  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay

Interpretatie Aptima Assay-resultaten*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Waarschijnlijkheids- verhouding (95% CI)	Waarschijnlijkheids- verhouding (95% CI)
HPV 16- en/of 18/45-positief	4,1 (2,9, 5,6)	5,2 (3,5, 7,0)
Overige HR HPV-positief	1,6 (1,2, 2,1)	1,1 (0,6, 1,8)
HR HPV-negatief	0,3 (0,2, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

CI = betrouwbaarheidsinterval (Confidence Interval), HR = hoog-risico

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.



## NILM-populatie van $\geq 30$ jaar: klinische prestaties Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay met ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters

In totaal waren er 512 beoordeelbare vrouwen van 30 jaar of ouder met NILM-cytologieresultaten en positieve Aptima HPV assay-resultaten op het Panther System van wie de doorverwijzingscytologiemonsters in aanmerking kwamen voor het testen met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Hiervan hadden 21 vrouwen (11 ondergingen colposcopie, 10 ondergingen geen colposcopie) niet voldoende doorverwijzingscytologiemonster beschikbaar voor het testen in dit onderzoek, na een ontbrekende analysewaarde, deze werden allen uit de prestatieberekeningen gehouden. De 491 beoordeelbare vrouwen hadden geldige Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultaten. Hiervan ondergingen er 273 colposcopie. Veertien (14) vrouwen hadden  $\geq$ CIN2 en 10  $\geq$ CIN3; 245 vrouwen hadden normale/CIN1-histologie en 14 vrouwen hadden een onbepaalde ziektestatus.

Van de 259 evalueerbare vrouwen met een duidelijke ziektestatus en positieve Aptima HPV assay-resultaten op het Panther System hadden 65 vrouwen een positief Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultaat op het Panther System, wat op de aanwezigheid van HPV-16 en/of HPV 18/45 duidt, en hadden 194 vrouwen een negatief resultaat, wat op de aanwezigheid van een of meer van de andere 11 hoog-risico HPV-typen duidt. Nog eens 549 beoordeelbare vrouwen van 30 jaar en ouder met NILM-cytologieresultaten en een duidelijke ziektestatus hadden negatieve Aptima HPV assay-resultaten op het Panther System. Een negatief resultaat van het Aptima HPV assay geeft aan dat er geen van de 14 hoog-risico typen HPV aanwezig is en deze resultaten werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief op het Panther System. De resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay per Aptima HPV assay-resultaat en per diagnose door het consensus-histologiebeoordelingspanel worden weergegeven in Tabel 28.

**Tabel 28:** NILM-populatie van  $\geq 30$  jaar: resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay per diagnose door consensus-histologiebeoordelingspanel

Aptima HPV Assay-resultaat	AHPV-GT Assay-resultaat*	Interpretatie	Diagnose consensus-histologiebeoordelingspanel						
			Onbepaald**	Normaal	CIN1	CIN2	CIN3	Kanker	Totaal
Positief	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Pos	2	28	0	0	3	1	34
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 18/45 Pos	1	28	1	1	0	2	33
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	0	1	0	0	0	0	1
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	11	175	12	3	4	0	205
Totaal			14	232	13	4	7	3	273
Negatief	HPV 16/18/45 Neg***	HR HPV Neg	31	527	16	5	1	0	580
Totaal			45	759	29	9	8	3****	853

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief

\*Alle monsters hadden uiteindelijk geldige resultaten (na de eerste test of na het oplossen van aanvankelijk ongeldige resultaten volgens de procedure).

\*\*45 vrouwen gingen naar het colposcopiebezoek, maar kregen geen diagnose gesteld vanwege de volgende redenen: er kon geen consensus worden bereikt vanwege monsters die niet voldeden (n=29), geen biopten verkregen vanwege onderliggende factoren (n=13), geen biopten verkregen of onderzocht vanwege fouten (n=3).

\*\*\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

\*\*\*\*Drie vrouwen hadden adenocarcinoma in situ (AIS).

Van de 491 vrouwen met positieve Aptima HPV assay-resultaten op het Panther System en Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-resultaten op het Panther System, hadden 232 vrouwen een ongeverifieerde (inclusief onbepaalde) ziektestatus (Tabel 29). Van de 10.348 vrouwen met negatieve Aptima HPV assay-resultaten in het oorspronkelijke CLEAR-onderzoek, hadden 9.799 een ongeverifieerde ziektestatus. Omdat het onderzoek zodanig was opgezet dat alleen willekeurig geselecteerde vrouwen met negatieve resultaten voor zowel het Aptima HPV assay op het Tigris DTS System als de FDA-goedgekeurde HPV-DNA-test doorverwezen worden voor een colposcopie, was het aandeel van vrouwen met ongeverifieerde ziektestatus in deze groep hoog (96,2%). Voor het corrigeren voor deze verificatiebias is een multi-pele-imputatiemethode gebruikt voor het schatten van het aantal vrouwen met ziekte die zouden zijn geïdentificeerd als alle vrouwen colposcopie hadden ondergaan. Zowel voor verificatiebias gecorrigeerde als ongecorrigeerde prestatieschattingen op basis van de 808 vrouwen met geverifieerde ziektestatus zijn weergegeven.

**Tabel 29:** NILM-populatie van  $\geq 30$  jaar: classificatie van beoordeelbare NILM-vrouwen op testresultaten van Aptima HPV assay, Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en HPV-DNA, op ziektestatus ( $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3) en ziekteverificatiestatus

Aptima HPV Assay-resultaat*	AHPV-GT Assay-resultaat*	HPV-DNA-test	Totaal aantal vrouwen	Geverifieerde ziektestatus: $\geq$ CIN2		Geverifieerde ziektestatus: $\geq$ CIN3		Ongeverifieerde ziektestatus
				Zieke vrouwen ( $\geq$ CIN2)	Niet-zieke vrouwen ( $<$ CIN2)	Zieke vrouwen ( $\geq$ CIN3)	Niet-zieke vrouwen ( $<$ CIN3)	Vrouwen met onbekende ziektestatus (% onbekend)
<b>Positief</b>	Positief	Positief	88	6	52	5	53	30 (34,1%)
	Positief	Negatief	10	1	5	1	5	4 (40,0%)
	Positief	Geen resultaat**	2	0	1	0	1	1 (50,0%)
	Negatief	Positief	291	7	169	4	172	115 (39,5%)
	Negatief	Negatief	85	0	14	0	14	71 (83,5%)
	Negatief	Geen resultaat**	15	0	4	0	4	11 (73,3%)
Totaal			491	14	245	10	249	232 (47,3%)
<b>Negatief</b>	n.v.t.***	Positief	282	3	177	1	179	102 (36,2%)
	n.v.t.***	Negatief	9.467	2	362	0	364	9.103 (96,2%)
	n.v.t.***	Geen resultaat**	599	1	4	0	5	594 (99,2%)
Totaal			10.839	20	788	11	797	10.031 (92,5%)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, n.v.t. = niet van toepassing

\*Alle monsters hadden uiteindelijk geldige resultaten (na de eerste test of na het oplossen van aanvankelijk ongedige resultaten volgens de procedure).

\*\*616 vrouwen met Aptima HPV assay-resultaten hadden geen HPV-DNA-testresultaten, vooral doordat het cytologiemonster onvoldoende volume had.

\*\*\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

In Tabel 30a wordt het gecorrigeerde absolute ziekterisico ( $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3) op basis van Aptima HPV 16 18/45 genotype assay- en Aptima HPV assay-resultaten weergegeven. Het risico van  $\geq$ CIN2 bij vrouwen bij wie HPV-typen 16, 18 en/of 45 aanwezig was, was 10,8% vergeleken met 3,8% bij vrouwen bij wie een of meer van de andere 11 hoog-risico HPV-typen aanwezig was en 1,0% bij vrouwen bij wie geen hoog-risico type HPV aanwezig was. Het ongecorrigeerde absolute ziekterisico wordt in totaal in Tabel 30b en per leeftijdsgroep in Tabel 31 weergegeven.

**Tabel 30a:** NILM-populatie van  $\geq$  30 jaar: absoluut risico op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay (voor verificatiebias gecorrigeerde schattingen)

Aptima HPV Assay- resultaat	AHPV-GT Assay-resultaat	Interpretatie	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absoluut risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)
Positief	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	9,7 (4,6, 20,2)	8,5 (3,8, 19,2)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	10,4 (4,0, 27,1)	10,3 (3,9, 27,1)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	8,8 (2,9, 26,4)	6,5 (1,7, 25,1)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	0,0	0,0
	HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	3,2 (1,6, 6,3)	1,8 (0,6, 4,9)
	Pos of Neg	HR HPV Pos	4,6 (2,8, 7,4)	3,2 (1,7, 5,9)
Negatief	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	0,7 (0,2, 2,5)	0,2 (0,0, 4,8)
Prevalentie			1,1%	0,8%

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief, n.v.t. = niet van toepassing

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

**Tabel 30b:** NILM-populatie van  $\geq$  30 jaar: absoluut risico op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay (ongecorrigeerde schattingen)

Aptima HPV Assay- resultaat	AHPV-GT Assay-resultaat	Interpretatie	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Absoluut risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)
Positief	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	10,8 (7/65) (5,1, 17,7)	9,2 (6/65) (4,3, 14,2)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	12,5 (4/32) (3,7, 25,2)	12,5 (4/32) (3,9, 23,1)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	9,4 (3/32) (2,2, 21,8)	6,3 (2/32) (0,9, 16,8)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	0,0 (0/1) (0,0, 93,5)	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)
	HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	3,6 (7/194) (1,7, 6,0)	2,1 (4/194) (0,7, 3,9)
	Pos of Neg	HR HPV Pos	5,4 (14/259) (3,7, 6,8)	3,9 (10/259) (2,6, 4,5)
Negatief	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)
Prevalentie			2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief, n.v.t. = niet van toepassing

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

**Tabel 31:** NILM-populatie van  $\geq 30$  jaar: het absolute op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en het Aptima HPV assay per leeftijdsgroep (ongecorrigeerde schattingen)

	Aptima HPV Assay-resultaat	AHPV-GT Assay-resultaat	Interpretatie	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
				Absoluut risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)
30 tot 39 jaar	Positief	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	8,1 (3/37) (2,0, 16,4)	5,4 (2/37) (0,9, 12,3)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	15,0 (3/20) (3,9, 30,6)	10,0 (2/20) (1,0, 22,8)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	n.v.t. (0/0)	n.v.t. (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	3,6 (4/111) (1,2, 6,2)	2,7 (3/111) (0,7, 4,7)
		Pos of Neg	HR HPV Pos	4,7 (7/148) (2,6, 6,1)	3,4 (5/148) (1,6, 4,3)
	Negatief	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)
Prevalentie				2,4% (9/378)	1,6% (6/378)
$\geq 40$ jaar	Positief	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45 Pos	14,3 (4/28) (4,8, 26,4)	14,3 (4/28) (5,0, 21,9)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Alleen HPV 16 Pos	26,7 (4/15) (6,4, 47,9)	26,7 (4/15) (6,5, 43,1)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Alleen HPV 18/45 Pos	0 (0/12) (0,0, 21,5)	0 (0/12) (0,0, 18,6)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 en 18/45 Pos	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)	0,0 (0/1) (0,0, 93,1)
		HPV 16/18/45 Neg	Overige HR HPV Pos	3,6 (3/83) (1,0, 7,8)	1,2 (1/83) (0,0, 4,1)
		Pos of Neg	HR HPV Pos	6,3 (7/111) (3,3, 8,9)	4,5 (5/111) (2,3, 5,4)
	Negatief	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0 (0/319) (0,0, 0,8)
Prevalentie				2,6% (11/430)	1,2% (5/430)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 genotype assay, HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief, n.v.t. = niet van toepassing

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

In Tabel 32 (verificatiebias gecorrigeerd) en Tabel 33 (ongecorrigeerd) wordt het relatieve ziekterisico weergegeven voor positieve resultaten vergeleken met negatieve resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay. Vrouwen bij wie HPV-type 16, 18 en/of 45 aanwezig was, hadden een 12,7 maal grotere kans op een  $\geq$ CIN2 en een 18,4 maal grotere kans op  $\geq$ CIN3 dan vrouwen bij wie geen hoog-risico HPV-typen aanwezig was. Vrouwen bij wie HPV-type 16, 18 en/of 45 aanwezig was, hadden een 2,9 maal grotere kans op een  $\geq$ CIN2 en een 3,8 maal grotere kans op  $\geq$ CIN3 dan vrouwen bij wie één of meer van de andere 11 hoog-risico HPV-typen aanwezig was.

**Tabel 32:** NILM-populatie van  $\geq$  30 jaar: relatief risico op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay (voor verificatiebias gecorrigeerde schattingen)

Testinterpretatie Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relatief risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. HR HPV Neg	12,9 (3,1, 54,6)	53,3 (1,5, >999)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. overige HR HPV Pos	3,0 (1,1, 8,8)	4,8 (1,2, 19,2)
Overige HR HPV Pos vs. HR HPV Neg	4,3 (1,2, 15,1)	11,0 (0,4, 289,2)
HR HPV Pos vs. HR HPV Neg	6,1 (1,8, 21,0)	20,2 (0,7, 567,7)
Prevalentie	1,1%	0,8%

CI = betrouwbaarheidsinterval (Confidence Interval), HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

**Tabel 33:** NILM-populatie van  $\geq$  30 jaar: het absolute en relatieve risico op  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en het Aptima HPV assay (ongecorrigeerde schattingen)

Testinterpretatie Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relatief risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. HR HPV Neg	9,9 (3,4, 28,4)	50,7 (6,2, 414,4)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. overige HR HPV Pos	3,0 (1,1, 8,2)	4,5 (1,3, 15,4)
Overige HR HPV Pos vs. HR HPV Neg	3,3 (1,1, 9,7)	11,3 (1,3, 100,7)
HR HPV Pos vs. HR HPV Neg	4,9 (1,9, 12,7)	21,2 (2,7, 164,7)
Prevalentie	2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

CI = betrouwbaarheidsinterval (Confidence Interval), HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

De waarschijnlijkheidsverhoudingen ( $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3) volgens het Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay-resultaat worden weergegeven in Tabel 34 (verificatiebias gecorrigeerd) en Tabel 35 (ongecorrigeerd). Vrouwen met een  $\geq$ CIN2 hebben een 17,1 maal grotere kans dat HPV-type 16, 18 en/of 45 aanwezig is en vrouwen met een  $\geq$ CIN3 een 21,9 maal grotere kans.

**Tabel 34:** NILM-populatie van  $\geq$  30 jaar: waarschijnlijkheidsverhoudingen voor  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay (voor verificatiebias gecorrigeerde schattingen)

Interpretatie Aptima Assay-resultaten*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Waarschijnlijkheidsverhouding (95% CI)	Waarschijnlijkheidsverhouding (95% CI)
HPV 16- en/of 18/45-positief	11,2 (3,3, 38,4)	24,1 (2,6, 225,9)
Overige HR HPV-positief	3,5 (1,3, 9,4)	4,7 (0,7, 29,8)
HR HPV-negatief	0,8 (0,6, 1,1)	0,4 (0,1, 2,2)

CI = betrouwbaarheidsinterval (Confidence Interval), HR = hoog-risico

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

**Tabel 35:** NILM-populatie van  $\geq$  30 jaar: waarschijnlijkheidsverhoudingen voor  $\geq$ CIN2 en  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en Aptima HPV assay (ongecorrigeerde schattingen)

Interpretatie Aptima Assay-resultaten*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Waarschijnlijkheidsverhouding (95% CI)	Waarschijnlijkheidsverhouding (95% CI)
HPV 16- en/of 18/45-positief	4,8 (2,1, 8,5)	7,4 (3,3, 12,0)
Overige HR HPV-positief	1,5 (0,7, 2,5)	1,5 (0,5, 2,9)
HR HPV-negatief	0,4 (0,2, 0,8)	0,1 (0,0, 0,6)

CI = betrouwbaarheidsinterval (Confidence Interval), HR = hoog-risico

\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

## Klinische prestaties van Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay met SurePath-vloeistofcytologiemonsters

Er werden SurePath-vloeistofcytologiemonsters afgenomen bij Canadese vrouwen die vanwege één of meer afwijkende Pap-tests en HPV-infectie of een andere reden waren doorverwezen voor vervolgonderzoek. Van elk monster werd een aliquot (0,5 ml) overgebracht in een Aptima-monsterverdrachtbuis en vervolgens behandeld met de Aptima-overdrachttoplossing. Elk monster werd in enkelvoud getest met het Aptima HPV assay (n=481). Positieve monsters werden vervolgens met het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en het Aptima HPV assay getest. De resultaten worden in Tabel 36 weergegeven. Voor de commercieel verkrijgbare HPV-PCR-test die HPV 16 en HPV 18 onderscheidt, maar niet HPV 45, afzonderlijk van de andere hoog-risico genotypen, worden vergelijkbare resultaten weergegeven. In Tabel 37 wordt het relatieve ziekterisico weergegeven voor positieve genotype-resultaten vergeleken met negatieve genotype-resultaten voor het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en de HPV PCR-test.

**Tabel 36:** Absoluut risico op  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en een commercieel verkrijgbare HPV-PCR-test

HR HPV-resultaat	Genotype-resultaat	Interpretatie	Aptima Absoluut risico $\geq$ CIN3 (95% CI)	HPV PCR Absoluut risico $\geq$ CIN3 (95% CI)
Positief	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45* Pos	HPV 16 en/of HPV 18/45* Pos	12,5 (7,6-17,3)	14,4 (10,4-18,1)
	HPV 16 Pos en HPV 18/45* Neg	Alleen HPV 16 Pos	16,4 (9,2-23,9)	16,8 (11,6-21,9)
	HPV 16 Neg en/of HPV 18/45* Pos	Alleen HPV 18/45* Pos	3,3 (0,1-13,2)	7,1 (1,0-18,8)
	HPV 16 Pos en/of HPV 18/45* Pos	HPV 16 en HPV 18/45* Pos	33,3 (1,8-83,7)	14,3 (0,7-49,9)
	HPV 16 Neg en/of HPV 18/45* Neg	Overige HR HPV Pos	2,0 (1,0-3,1)	2,1 (1,1-3,3)
	Pos of Neg	HR HPV Pos	10,2 (8,4-11,7)	8,5 (7,0-9,5)
Negatief**	HPV 16 Neg en/of HPV 18/45* Neg	HR HPV Neg	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
Prevalentie (%)			4,0%	5,0%

HR = hoog-risico, Pos = positief, Neg = negatief

\*De HPV PCR-test onderscheidt alleen HPV 16 en HPV 18 uit de andere 12 hoog risico genotypen, waaronder HPV 45.

\*\*Vrouwen met een negatief resultaat van het Aptima HPV assay werden voor de analyse beschouwd als Aptima HPV 16 18/45 genotype assay-negatief.

**Tabel 37:** Relatief risico op  $\geq$ CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay en een commercieel verkrijgbare HPV-PCR-test

Aptima Assay-resultaten		HPV PCR-testresultaten	
Testinterpretatie	Relatief risico $\geq$ CIN3 (95% CI)	Testinterpretatie	Relatief risico $\geq$ CIN3 (95% CI)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. HR HPV-negatief	13,1 (3,7-45,9)	HPV 16- en/of 18/45-positief vs. HR HPV-negatief	12,6 (3,8-41,9)
HPV 16- en/of 18/45-positief vs. overige HR HPV-positief	2,0 (0,7-5,4)	HPV 16- en/of 18/45-positief vs. overige HR HPV-positief	3,9 (1,6-9,5)
Overige HR HPV-positief vs. HR HPV-negatief	6,6 (1,6-27,1)	Overige HR HPV-positief vs. HR HPV-negatief	3,2 (0,8-12,8)
HR HPV-positief vs. HR HPV-negatief	10,7 (3,3-35,1)	HR HPV-positief vs. HR HPV-negatief	7,4 (2,3-24,3)
Prevalentie	4,0%	Prevalentie	5,0%

## Klinische prestaties van Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay met baarmoederhalsmonsternamen en transportmonsters

De prestaties van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay werden geëvalueerd met behulp van CSCT-monsters die waren verkregen van vrouwen die waren doorverwezen voor een follow-upbezoek vanwege een afwijkend Pap-resultaat. Elk monster werd eerst getest met het Aptima HPV assay (n=651). Monsters met een positief Aptima HPV assay-resultaat (n=414) werden vervolgens getest met het Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay op zowel het Tigris DTS System als het Panther System.

De klinische overeenkomst van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay voor de detectie van hoog-risico HPV-16, 18 en 45 voor het Panther System werd bepaald op basis van het Tigris DTS System-resultaat als de referentiemethode. Het percentage positieve en negatieve overeenkomst en de bijbehorende 95% betrouwbaarheidsintervalscores werden berekend. De resultaten worden weergegeven in Tabel 38.

**Tabel 38:** De klinische overeenkomst van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay op het Panther System voor de detectie van hoog-risico HPV-16, 18 en 45 in CSCT-monsters

		Resultaten Tigris DTS System				Totaal
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	
Resultaten Panther System	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	194	0	1	3	198
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	0	34	0	0	34
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	0	0	7	0	7
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	1	1	0	173	175
	<b>Totaal</b>	195	35	8	176	414

Pos = positief, Neg = negatief

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

Negatieve overeenkomst: 98,3% (173/176) (95% CI: 95,1, 99,4)

## Gevoeligheid analyse

De detectielimiet (Limit of Detection, LOD) bij de klinische cutoff is een concentratie die in 95% van de gevallen positief (boven de klinische cutoff) is. De LOD van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay werd geschat door het testen van afzonderlijke of gepoolde negatieve klinische ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters met verschillende concentraties toegevoegde HPV *in-vitro* transcripts of HPV-geïnfecteerde kweekcellen (SiHa, HeLa en MS751; ATCC, Manassas, Virginia). Met elk van twee reagenspartijen zijn voor een totaal van 120 replicaties 60 replicaties van elk kopieniveau getest voor *in-vitro* transcriptpanels. Met elk van twee reagenspartijen zijn voor een totaal van 60 replicaties 30 replicaties van elk kopieniveau getest voor cellijnpanels. Testen werden gedurende acht dagen uitgevoerd, met minimaal drie testreeksen per dag, waarbij in elke reeks vijf replicaties van een bepaald genotype werden getest. De 95%-detectielimiet (Tabel 39) werd berekend uit de Probit-regressieanalyse van de positieve resultaten voor elke verdunningspaneel.



**Tabel 39:** Detectielimiet (Limit of Detection, LOD) bij de klinische cutoff van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay

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

\*kopieën per reactie voor *in-vitro* transcripts en cellen per reactie voor cellijnen

## Nauwkeurigheid assay

De nauwkeurigheid van het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay werd in twee onderzoeken met hetzelfde panel van 24 onderdelen geëvalueerd. Onderzoek 1 is voor het bepalen van de reproduceerbaarheid van het assay op 3 externe testlocaties uitgevoerd. Onderzoek 2 is intern uitgevoerd voor het bepalen van de nauwkeurigheid in het laboratorium. Het panel bevatte 17 HPV 16- en/of 18/45-positieve onderdelen met concentraties op of boven de detectiegrens van het assay (verwachte positiviteit  $\geq 95\%$ ), 3 HPV 16- en/of 18/45-positieve onderdelen met concentraties onder de detectiegrens van het assay (verwachte positiviteit  $>0\%$  tot  $<25\%$ ) en 4 HPV-negatieve onderdelen. HPV 16-, 18 en/of 45-positieve panelonderdelen werden bereid door toevoeging van *in-vitro* transcript of HPV-geïnfecteerde kweekcellen (SiHa, HeLa en MS751; ATCC, Manassas, Virginia) aan gepoolde overgebleven ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters of door het verdunnen van klinische HPV 16- en/of 18/45-monsters in gepoolde overgebleven ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters. HPV-negatieve panelonderdelen werden bereid met gepoolde klinische ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters of PreservCyt-oplossing.

In onderzoek 1 voerden 2 bedieners op elk van de 3 testlocaties (1 instrument per locatie) gedurende 3 dagen 2 Aptima HPV 16 18/45 genotype assay -werklijsten per dag uit. Testen werden uitgevoerd met 2 reagenspartijen. Elke werkljst omvatte 3 replicaties van elk onderdeel van het reproduceerbaarheidspanel. Er zijn voor elk panelonderdeel honderdacht (108) afzonderlijke monsterbuizen getest (3 locaties x 1 instrument x 2 bedieners x 2 partijen x 3 dagen x 3 replicaties). In onderzoek 2 vonden de tests intern gedurende 13 dagen plaats, met in totaal 162 reacties voor elk panelonderdeel (1 locatie x 3 instrumenten x 3 bedieners x 3 partijen x 2 werkljsten x 3 replicaties).

De panelonderdelen worden in Tabel 40a en Tabel 40b beschreven, met een samenvatting van de overeenkomst met de verwachte resultaten voor respectievelijk HPV 16 en HPV 18/45.

**Tabel 40a:** Aptima HPV 16 18/45 genotype assay Nauwkeurigheidsonderzoek 1 en 2: beschrijving panel en percentage overeenkomst met verwachte resultaten voor HPV 16

Beschrijving panel (kopieën of cellen/reactie)	HPV 16 verwacht resultaat	Percentage positieve overeenkomst (95% CI)	
		Onderzoek 1 (3 testlocaties)	Onderzoek 2 (1 testlocatie)
HPV 16-IVT (240 kopieën)	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18-IVT (260 kopieën)	Negatief	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45-IVT (350 kopieën)	Negatief	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV 16 klinisch monster 1	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinisch monster 1	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa-cellen (4 cellen) en HeLa-cellen (0,7 cellen)	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-cellen (0,4 cellen) en HeLa-cellen (7 cellen)	Positief	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
SiHa-cellen (0,4 cellen)	Positief	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
HeLa-cellen (0,7 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-cellen (0,2 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (158/159) (96,5, 99,9)
HPV 16-IVT (24 kopieën)	Positief	100 (107/107) (96,5, 100)	96,9 (157/162) (93,2, 98,7)
HPV 18-IVT (26 kopieën)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45-IVT (35 kopieën)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinisch monster 2	Positief	98,1 (105/107) (93,4, 99,5)	98,8 (160/162) (95,7, 99,7)
HPV 16 klinisch monster 3	Positief	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
HPV 18/45 klinisch monster 2	Negatief	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinisch monster 3	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-cellen (0,001 cellen)	Negatief	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (158/161) (94,8, 99,4)
HeLa-cellen (0,001 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-cellen (0,006 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatief klinisch monster 1	Negatief	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatief klinisch monster 2	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatief PreservCyt 1	Negatief	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatief PreservCyt 2	Negatief	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = score betrouwbaarheidsinterval

**Opmerking:** Het percentage overeenkomst kan zijn beïnvloed door variaties in het toevoegen, verdunnen en/of nemen van aliquots.

**Tabel 40b:** Aptima HPV 16 18/45 genotype assay Nauwkeurigheidsonderzoek 1 en 2: beschrijving panel en percentage overeenkomst met verwachte resultaten voor HPV 18/45

Beschrijving panel (kopieën of cellen/reactie)	Percentage positieve overeenkomst (95% CI)		
	Verwachte resultaten voor HPV 18/45	Onderzoek 1 (3 testlocaties)	Onderzoek 2 (1 testlocatie)
HPV 16-IVT (240 kopieën)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18-IVT (260 kopieën)	Positief	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45-IVT (350 kopieën)	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinisch monster 1	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinisch monster 1	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa-cellen (4 cellen) en HeLa-cellen (0,7 cellen)	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-cellen (0,4 cellen) en HeLa-cellen (7 cellen)	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-cellen (0,4 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HeLa-cellen (0,7 cellen)	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-cellen (0,2 cellen)	Positief	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	88,7 (141/159) (84,5, 93,5)
HPV 16-IVT (24 kopieën)	Negatief	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18-IVT (26 kopieën)	Positief	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45-IVT (35 kopieën)	Positief	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
HPV 16 klinisch monster 2	Negatief	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 klinisch monster 3	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45 klinisch monster 2	Positief	100 (107/107) (96,5, 100)	95,7 (155/162) (91,7, 98,0)
HPV 18/45 klinisch monster 3	Positief	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa-cellen (0,001 cellen)	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
HeLa-cellen (0,001 cellen)	Negatief	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
MS751-cellen (0,006 cellen)	Negatief	75,0 (81/108) (66,1, 82,2)	88,3 (143/162) (84,2, 93,2)
HPV-negatief klinisch monster 1	Negatief	99,1 (106/107) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatief klinisch monster 2	Negatief	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatief PreservCyt 1	Negatief	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatief PreservCyt 2	Negatief	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = score betrouwbaarheidsinterval

**Opmerking:** Het percentage overeenkomst kan zijn beïnvloed door variaties in het toevoegen, verdunnen en/of nemen van aliquots.

**Kruisreactiviteit**

Testen met potentieel kruisreactieve organismen voor het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay werden uitgevoerd met behulp van het Tigris DTS System. Zie *Kruisreactiviteit* (Tabel 20) in de paragraaf Tigris DTS System voor de resultaten.

**Interferentie**

Testen met potentieel storende organismen voor het Aptima HPV 16 18/45 genotype assay werden uitgevoerd met behulp van het Tigris DTS System. Zie *Interferentie* (Tabel 21) in de paragraaf Tigris DTS System voor de resultaten.

## Bibliografie

1. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 189:12-19.
2. **Li N., Franceschi S., Howell-Jones R., Snijders P.J.F., Clifford G.M.** Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer.* 2011;128: 927-935. doi 10.1002/ijc.25396
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer.* 64(3):211-5.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond).* 110(5):525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* 16(1):1-17.
6. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90(12):5583-7.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* 325(7364): 572-579.
8. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer.* 108(3):329-33. Erratum in: *Int J Cancer.* 108(6):945.
9. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol.* 73(1): 65-70.
10. **De Sanjose S., et al.** 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet.* DOI 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
11. **Burger R.A., B. J. Monk, T. Kurosaki, H. Anton-Culver, S. Vasilv, M. L. Berman and S.P. Wilczynski.** 1996. Human Papillomavirus Type 18: Association with poor prognosis in early stage cervical cancer. *J. Nat. Cancer institute.* 88(19): 1361-1368.
12. **Safaeian M., M. Schiffman, J. Gage, D. Solomon, C. Wheeler and P. Castle.** 2009. Detection of Precancerous Cervical Lesions Is Differential by Human Papillomavirus Type. *Cancer Res.* 69(8): 3262-3266.
13. **Khan, M.J., P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder, M. Sherman, D.R. Scott, B.B. Rush, A.G. Glass and M. Schiffman.** 2005. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J. Natl. Cancer Inst.* 97(14): 1072-1079.
14. **ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.** HPV Genotyping Clinical Update. 2009. [http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical\\_update\\_20090408.pdf](http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical_update_20090408.pdf). Accessed March 22, 2012.
15. **Wright T.C., S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E.J. Wilkinson and D. Solomon.** 2007. 2006 Consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *Journal of Lower Genital Tract Disease.* 11(4):201-222.
16. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
17. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem.* 35: 1588-1594.
18. **Nelson, N.C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* 35:8429-8438.
19. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. *Annals Int Med.* 148:493.
20. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet.* 366, 991.
21. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. 2013. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* 208(2):144-145.



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

**Hologic BVBA**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

Klantenservice: +1 800 442 9892  
customersupport@hologic.com  
Technische ondersteuning: +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

Bezoek [www.hologic.com](http://www.hologic.com) voor meer contactgegevens.

Dit product is uitsluitend bedoeld voor gebruik voor *in-vitro* diagnostiek van mensen.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, PreservCyt, ThinPrep en Tigris en bijbehorende logo's zijn handelsmerken en/of gedeponeerde handelsmerken van Hologic, Inc. en/of haar dochterondernemingen in de Verenigde Staten en/of andere landen.

RAININ is een handelsmerk van Rainin Instruments, LLC.

SUREPATH en PREPSTAIN zijn handelsmerken van TriPath Imaging, Inc.

Alle andere handelsmerken die mogelijk op deze bijsluiters vernoemd zijn, zijn de eigendom van hun respectieve eigenaars.

Dit product is mogelijk beschermd door een of meer Amerikaanse (VS) octrooien vermeld op [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2007-2019 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.  
AW-11504-1501 Rev. 009

2019-03