

Aptima HPV Assay

Bestemd voor *in-vitro* diagnostiek.

Voor de VS. Uitsluitend voor export.

Algemene informatie	2
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	6
Monsternamen en -opslag	7
Kwaliteitsbeheerprocedures	31
Testinterpretatie	32
Beperkingen	33
Assayprestaties DTS-systemen	35
Verwachte resultaten Tigris DTS System: Prevalentie van hoog-risico HPV-mRNA	44
Opzet klinisch onderzoek Aptima HPV Assay met ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters	45
Prestaties Tigris DTS System Assay	47
Verwachte resultaten Panther System: Prevalentie van hoog-risico HPV-mRNA	76
Opzet klinisch onderzoek Aptima HPV Assay met ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters	77
Prestaties Panther System Assay	79
Bibliografie	103

DTS™-systemen

DTS-systemen	9
Geleverde reagentia en materialen	9
Benodigde, maar apart geleverde materialen	10
Optionele materialen	11
Testprocedure DTS-systemen	11
Procedurele opmerkingen	17

Tigris™ DTS System

Tigris DTS System	19
Geleverde reagentia en materialen	19
Benodigde, maar apart geleverde materialen	20
Optionele materialen	21
Testprocedure Tigris DTS System	21
Procedurele opmerkingen	23

Panther™ System

Panther System	25
Geleverde reagentia en materialen	25
Benodigde, maar apart geleverde materialen	26
Optionele materialen	26
Testprocedure Panther System	27
Procedurele opmerkingen	29

Algemene informatie

Beoogd gebruik

Het Aptima HPV assay (Aptima-HPV-assay) is een test met amplificatie van doelnucleïnezuren voor de kwalitatieve *in-vitro* detectie van E6/E7 viraal messenger-RNA (mRNA) van 14 hoog-risico typen van humaan papillomavirus (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Het Aptima HPV assay maakt geen onderscheid tussen de 14 hoog-risicotypen.

- Het Aptima HPV assay is geïndiceerd voor gebruik bij het screenen van patiënten met atypische plaveiselcellen van onbepaald belang (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) als resultaat bij papuitstrijkjes om de nood voor verwijzing naar colposcopie te bepalen. De resultaten van deze test zijn niet bedoeld om te voorkomen dat vrouwen doorgaan voor een colposcopie.
- Het Aptima HPV assay kan gebruikt worden in combinatie met cervicale cytologie om daarnaast tescreenen (co-test) voor het beoordelen van de aanwezigheid of afwezigheid van HPVtypes met hoog risico. Deze informatie, samen met de beoordeling van cytologische voorgeschiedenis door de arts, andere risicofactoren en professionele richtlijnen, kan gebruikt worden om patiëntenbeheer te begeleiden.
- Het Aptima HPV assay kan gebruikt worden als eerstelijns primaire screeningstest, met of zonder cervicale cytologie, om vrouwen te identificeren die verhoogd risico lopen op de ontwikkeling van cervicale kanker of die bekend zijn met de aanwezigheid van een hooggradig letsel. Deze informatie, samen met de beoordeling van de cytologische voorgeschiedenis door de arts, andere risicofactoren en professionele richtlijnen, kan gebruikt worden om uw patiëntenbeheer te managen.

Baarmoedermonsters (uitstrijkjes) in ThinPrep™-Paptestflesjes met PreservCyt™-oplossing kunnen voor of na Pap-verwerking met het Aptima HPV assay worden getest, net als baarmoedermonsters die met het Aptima-pakket voor verzameling en transport van baarmoedermonsters zijn genomen. Het assay kan worden gebruikt voor het testen van deze monstertypen met Direct Tube Sampling (DTS)-systemen, het Tigris DTS System of het Panther System. Cervicale monsters die in SurePath-conserveringsvloeistof zijn verzameld kunnen met het Aptima HPV assay op het Tigris DTS System en het Panther System worden getest.

Samenvatting en uitleg van de test

Baarmoederhalskanker is een van de meest voorkomende kankervormen bij vrouwen ter wereld. HPV is de etiologische oorzaak van meer dan 99% van alle gevallen van baarmoederhalskanker.^{1, 2, 3} HPV is een algemeen seksueel overdraagbaar DNA-virus met meer dan 100 genotypen.⁴

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 hoogrisico-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.^{5, 6}

Veertien HPV-genotypen worden geacht pathogeen te zijn of een hoog risico op het ontstaan van baarmoederhalsziekte in te houden.⁷ Meerdere onderzoeken hebben genotypen 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 en 68 gekoppeld aan ziekteprogressie.^{2, 5, 8} Patiënten met een persisterende infectie met een van deze typen hebben een verhoogd risico op het ontwikkelen van ernstige dysplasie of baarmoederhalscarcinoom.^{7, 9}

HPV-infecties zijn zeer algemeen, en bij de meeste vrouwen gaan deze binnen 6 tot 12 maanden over.^{8, 10} De aanwezigheid van HPV-nucleïnezuren betekent niet dat er cervicale dysplasie of baarmoederhalskanker aanwezig is. Een effectieve benadering voor de detectie van cervicale aandoeningen is echter het richten op die oncogene elementen van HPV die voor persisterende virale infectie en celtransformatie zorgen.³

Klinische prestaties van het Aptima HPV assay bij primaire screening voor cervicale kanker

De klinische prestatie van het Aptima HPV assay, wanneer gebruikt in een primaire screeningmodaliteit, werd in meerdere studies onderzocht door onafhankelijke onderzoekers. Dertien collegiaal getoetste publicaties^{11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23} van tien afzonderlijke klinische studies melden de prestatie van Aptima HPV bij primaire screening onder vrouwen die in negen landen zijn ingeschreven (China, Canada, Frankrijk, Mexico, Engeland, Denemark, Nederland, de Verenigde Staten en Duitsland). De gegevens van deze studies tonen aan dat Aptima gelijkwaardige klinische prestaties vertoont in vergelijking met andere klinisch gevalideerde HPV-tests in het kader van primaire screening voor cervicale pre-kanker voorstadia en kanker.

Principes van de procedure

Het Aptima HPV assay bestaat uit drie hoofdstappen die in één reageerbuis plaatsvinden: zuivering, amplificatie door transcriptiegemedieerde amplificatie (Transcription-Mediated Amplification, TMA)²⁴ en detectie van de amplificatieproducten (amplicon) met het hybridisatieprotectieassay (Hybridization Protection Assay, HPA).²⁵ 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 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 deoxyadenosinereeks. 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 van de gelabelde RNA:DNA-hybriden gemeten als fotonsignalen in een luminometer (relatieve lichteenheden of Relative Light Units (RLU) 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. Het IC-sigitaal in elke reactie wordt van het HPV-sigitaal onderscheiden door de verschillende kinetiek van de lichtemissie van probes met verschillende labels.²⁶ IC-specifiek amplicon wordt gedetecteerd met een probe met een snelle lichtemissie (flitser). Amplicon specifiek voor HPV wordt gedetecteerd met probes met een relatief langzamere kinetiek van lichtemissie (gloeier). De dubbele-kinetiekassay (Dual Kinetic Assay, DKA) is een methode voor het van elkaar onderscheiden van de signalen van flits- en gloeilabels.²⁶

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- A. Bestemd voor *in-vitro* diagnostiek.
- B. Raadpleeg voor aanvullende, specifieke waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen de bedieningshandleidingen van de DTS, Tigris DTS en Panther Systems.

Met betrekking op 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 1 en Auto Detect 2 met huid, ogen en slijmvliezen. Als deze vloeistoffen met huid of ogen in contact komen, wast u het getroffen gebied met water. Als deze vloeistoffen worden gemorst, verdunt u het gemorste materiaal met water, voordat u het droogveegt.
- F. Werkoppervlakken, pipetten en overige apparatuur moeten regelmatig worden ontsmet met 2,5 tot 3,5% (0,35 tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Raadpleeg de *DTS Systems testprocedure*, de Tigris DTS System testprocedure, of de Panther DTS System testprocedure voor meer informatie.

Specifiek voor DTS-systemen

- G. Om te voorkomen dat laboratoriumgebieden met amplicon worden besmet, moet het laboratoriumgebied worden ingedeeld met een unidirectionele werkstroom van reagensvoorbereiding tot detectie. Monsters, apparatuur en reagentia mogen niet worden teruggebracht naar het gebied waar een vorige stap is uitgevoerd. Ook mag personeel niet zonder goede beschermingsmaatregelen tegen besmetting naar eerdere werkgebieden teruggaan. Het wordt sterk aanbevolen een apart gebied voor detectie aan te wijzen.

Met betrekking op monsters

- H. 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.
- I. De uiterste gebruiksdatum op verzamelings- en overdrachtpakketten en reageerbuizen voor monsters hebben betrekking op de locatie voor verzameling en overdracht, en niet op de testfaciliteit. Monsters die voorafgaand aan deze uiterste gebruiksdatums zijn verzameld/overgebracht, kunnen worden getest indien deze volgens de toepasselijke bijsluiter zijn getransporteerd en opgeslagen, ook als deze uiterste gebruiksdatums verlopen zijn.
- J. 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.
- K. 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.
- L. Bij doorprikken kan er onder bepaalde omstandigheden vloeistof uit reageerbuisdoppen komen. Zie *Testprocedure DTS-systemen*, *Tigris DTS System Test Procedure* of *Panther DTS System Test Procedure* voor meer informatie.
- M. Monsters van ThinPrep-vloeistofcytologie en baarmoedermonstername en -transport (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) moeten worden afgekeurd als er een monstername-instrument in het monsterbuisje is achtergebleven.
- N. Monsters van SurePath-vloeistofcytologie moeten worden afgekeurd als er geen monstername-instrument in het monsterbuisje aanwezig is.

Met betrekking op assays

- O. Sla reagentia op de aangegeven temperaturen op. De prestaties van het assay kunnen afwijken door het gebruik van verkeerd opgeslagen reagentia.
- P. Voorkom vervuiling van reagentia door micro-organismen en ribonuclease.
- Q. Gebruik het pakket niet na de uiterste gebruiksdatum.
- R. Verwissel, meng of combineer assayreagentia of kalibratiemiddelen van pakketten met verschillende partijnummers niet.

- S. Aptima-assayvloeistoffen, Aptima Auto Detect-reagentia, Aptima-systeemvloeistofconserveermiddel (alleen DTS Systems en Tigris DTS Systems) en Aptima HPV assay-controles (alleen DTS Systems en Tigris DTS Systems) maken geen deel uit van de hoofdpartij; elke partij kan worden gebruikt.
- T. Voor nauwkeurige assayresultaten moeten de assayreagentia goed worden gemengd.
- U. Er moeten punten met hydrofobe afsluitingen worden gebruikt.

Specifiek voor DTS-systemen

- V. Minimaal twee repeatpipetten moeten voor gebruik met deze assay worden gereserveerd: een voor gebruik in de **zuiverings-** en **amplificatie** stappen en een voor gebruik in de **post-amplificatie** stappen.
- W. Als u voor het toevoegen van reagentia repeatpipetten gebruikt, raakt u de buis niet met de pipetpunt aan om overdracht van de ene buis naar de andere te voorkomen.
- X. Alle pipetten moeten regelmatig worden gereinigd, zoals beschreven in *Procedurele opmerkingen*.
- Y. Er zijn ten minste twee aparte SB100™-instrumenten vereist: een voor zuivering/amplificatie en een voor post-amplificatie.
- Z. Gebruik afsluitkaarten NIET opnieuw. Voor elke stap moet u nieuwe afsluitkaarten gebruiken.

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 tot 8 °C (gekoeld) bewaard:
 - HPV-amplificatiereagens.
 - HPV-enzymreagens.
 - HPV-probereagens.
 - Interne-controlereagens HPV.
 - Positieve en negatieve kalibratiemiddelen HPV.
 - Positieve en negatieve controle HPV (alleen DTS en Tigris DTS Systems).
- B. De volgende reagentia worden bij 15 tot 30 °C (kamertemperatuur) bewaard:
 - HPV-amplificatiereconstitutieoplossing.
 - HPV-enzymreconstitutieoplossing.
 - HPV-probereconstitutieoplossing.
 - HPV-zuiveringsreagens.
 - HPV-selectiereagens.
 - Wasoplossing.
 - Oliereagens.
 - Buffer voor deactiveringsvloeistof.
 - Auto Detect-reagens 1.

- Auto Detect-reagens 2.
Vloeibaar conserveringsmiddel Aptima-systeem (alleen Tigris DTS System).
- C. Na reconstitutie zijn de volgende reagentia 30 dagen stabiel als deze bij 2 tot 8 °C worden bewaard:
- HPV-amplificatiereagens.
 - HPV-enzymreagens.
 - HPV-probereagens.
- D. Werkzuiveringsreagens (working Target Capture Reagent, wTCR) is 30 dagen stabiel inden bewaard bij 15 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 assay-reagentia zijn stabiel voor cumulatief 48 uur, indien bewaard in het Tigris DTS System.
- G. De Aptima HPV assay-reagentia zijn stabiel voor cumulatief 72 uur, indien bewaard in het Panther System.
- H. De 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 met broomtype- of cytobrush/spatel monstername-instrumenten volgens de aanwijzingen van de fabrikant baarmoedermonsters in ThinPrep-Paptestflesjes met PreservCyt-oplossing.
2. Voor of na verwerking met het ThinPrep 2000 System, ThinPrep 3000 System, ThinPrep 5000 Processor, of ThinPrep 5000 Processor met Autoloader, brengt u volgens de aanwijzingen in de bijsluiter van het Aptima-monsteroverdrachtpakket 1 ml van het ThinPrep-vloeistofcytologiemonster over in een Aptima-monsteroverdracht buis.

SurePath-vloeistofcytologiemonsters (alleen Tigris DTS System en Panther System):

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 bijsluiter van het Aptima-monsteroverdrachtpakket.

Monsters Aptima-pakket voor verzameling en transport van baarmoedermonsters.

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

- B. Transport en opslag voorafgaand aan testen.

ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters:

1. Transporteer de ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters bij 2 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 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 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 °C of kouder worden bewaard.

SurePath-vloeistofcytologiemonsters (alleen Tigris DTS System en Panther System):

1. Transporteer de SurePath-vloeistofcytologiemonsters bij 2 tot 25 °C.
2. Monsters moeten binnen 7 dagen na afname in een Aptima-monsteroverdrachtbuis worden overgebracht.
3. Voorafgaand aan verzending moeten SurePath-vloeistofcytologiemonsters bij 2 tot 25 °C worden bewaard.
4. SurePath-vloeistofcytologiemonsters die in een Aptima-monsteroverdrachtbuis zijn overgebracht, kunnen maximaal 7 dagen bij 2 tot 25 °C worden bewaard.

Monsters Aptima-pakket voor verzameling en transport van baarmoedermonsters:

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

C. Behandeling van SurePath-vloeistofcytologiemonsters (alleen Tigris DTS System en Panther System):

Opmerking: *SurePath-vloeistofcytologiemonsters moeten worden behandeld met de Aptima-overdracht oplossing voordat ze worden getest met het Aptima HPV assay.*

1. Aptima-overdracht oplossing (alleen Tigris DTS System en Panther System)

Behandelde monsters kunnen maximaal 17 dagen bij 2 tot 8 °C worden bewaard, voorafgaand aan het testen met het Aptima HPV assay. Raadpleeg de bijsluiters van het Aptima-monsteroverdracht pakket voor meer informatie.

D. Monsteropslag na testen:

1. Monsters waarop het assay is uitgevoerd, moeten rechtop 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, verwijdert u de doorprikbare dop en brengt u 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 monsterbuizen 5 minuten bij 420 RCF (Relative Centrifugal Force) om alle vloeistof onderin de buis te brengen.

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

DTS-systemen

Hieronder vindt u een overzicht van de reagentia voor het Aptima HPV assay voor de DTS-systemen. Naast de naam van het reagens worden tevens de identificatiesymbolen weergegeven.

Geleverde reagentia en materialen

Opmerking: Informatie over eventuele gevarenaanduidingen en veiligheidsmaatregelen die met reagentia in verband worden gebracht, vindt u in de Safety Data Sheet Library (bibliotheek met veiligheidsinformatiebladen) op www.hologic.com/sds.

Aptima HPV assay-pakket, 100 tests, cat.nr. 302610 (4 dozen).

Kalibratiemiddelen en controles zijn afzonderlijk verkrijgbaar. Zie de afzonderlijke dooscatalogusnummers hieronder.

Aptima HPV gekoelde doos (na ontvangst bewaren bij 2 tot 8 °C)

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

Aptima HPV-kamertemperatuordoos (na ontvangst bewaren bij 15 tot 30 °C)

Symbool	Onderdeel	Hoeveelheid
AR	HPV-amplificatiereconstitutieoplossing <i>Oplossing in water met conserveringsmiddelen.</i>	1 flesje
ER	HPV-enzymreconstitutieoplossing <i>HEPES-gebufferde oplossing met een surfactant en glycerol.</i>	1 flesje
PR	HPV-probereconstitutieoplossing <i>Succinaatgebufferde oplossing met < 5% detergens.</i>	1 flesje
S	HPV-selectiereagens <i>600 mM boraatgebufferde oplossing met surfactant.</i>	1 flesje

Aptima HPV-kamertemperatuurdoos
(na ontvangst bewaren bij 15 tot 30 °C)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid
TCR	HPV-zuiveringsreagens <i>Niet-infectueus nucleïnezuur in een gebufferde oplossing met vaste fase (< 0,5 mg/ml).</i>	1 flesje
	Afsluitkaarten	1 verpakking
	Reconstitutiekragen	3

Aptima HPV-kalibratiemiddelendoos (cat. nr. 302554)
(na ontvangst bewaren bij 2 tot 8 °C)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid
PCAL	Positief kalibratiemiddel HPV <i>Niet-infectueus HPV 16 in-vitro transcript in 1.000 kopieën/ml in een succinaatgebufferde oplossing met < 5% detergens.</i>	5 flesjes
NCAL	Negatief kalibratiemiddel HPV <i>Gebufferde oplossing met < 5% detergens.</i>	5 flesjes

Aptima HPV-controlesdoos (cat. nr. 302556)
(na ontvangst bewaren bij 2 tot 8 °C)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid
PC	Positieve controle HPV <i>Gelyseerde, geïnactiverde HPV-negatieve en -positieve kweekcellen met 25 cellen/ml in een gebufferde oplossing met < 5% detergens.</i>	5 flesjes
NC	Negatieve controle HPV <i>Gelyseerde, geïnactiverde HPV-negatieve kweekcellen in een gebufferde oplossing met < 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>
Leader™ HC+ Luminometer	104747
Hologic-zuiveringssysteem (Target Capture System, TCS)	104555
2 SB100-droogwarmtebaden/vortexers	105524F
Aptima Auto Detect-pakket	301048C
Aptima-assayvloeistofpakket	302002C
Micropipet, 1.000 µl RAININ PR1000	104216
2 eppendorf Repeater Plus-pipetten	105725
Repeatpipetpunten (2,5 ml, 5,0 ml, 25,0 ml)	—
Punten, 1.000 µl P1000	105049
<i>Punten met afwijkende diameter alleen verkrijgbaar bij Hologic</i>	
Apparaat voor tien buizen (Ten Tube Unit, TTU)	TU0022

TTU-rek	104579
Cassette voor tien punten (Ten Tip Cassette, TTC)	104578
Aptima-monsteroverdrachtpakket	301154C
Aptima-pakket voor verzameling en transport van baarmoedermonsters	302657
Bleekmiddel, minimaal 5% of 0,7 M natriumhypochlorietoplossing	—
Wegwerphandschoenen	—
Aptima doorprikbare doppen	105668
Vervangende niet-doorprikbare doppen	103036A

Optionele materialen

	<u>Cat. nr.</u>
TECAN Freedom EVO 100/4-instrument	900932
Aptima-dekplaat DTS 800	105200
Punten, 1.000 µl, geleidend, vloeistofregistrerend	10612513 (Tecan)
Reagensreservoir (40 ml kwartmodule)	104765
Opgedeeld reagensreservoir (19 ml x 2 kwartmodule)	901172
Bleekmiddelversterker voor reiniging	302101

Testprocedure DTS-systemen

A. Voorbereiding werkgebied/apparatuur:

1. Voordat u met het assay begint, veegt u werkoppervlakken en pipetten af met 2,5 tot 3,5% (0,35 tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Laat de oplossing ten minste 1 minuut in contact met de oppervlakken en was vervolgens met water. Laat de oplossing niet opdrogen. Bedek het tafelloppervlak waarop de test zal worden uitgevoerd met schone, absorberende laboratoriumtafelafdekking met een plastic achterkant.
2. Plaats voldoende cassettes van tien punten in het zuiveringssysteem (Target Capture System, TCS). Zorg ervoor dat de TCS-wasfles met wasoplossing is gevuld en dat het opzuigverdeeltstuk op de vacuümpomp is aangesloten. Raadpleeg de *Target Capture System Operator's Manual (bedieningshandleiding van het gericht zuiveringssysteem)*.
3. Bereid het TECAN Freedom EVO-instrument voor volgens de aanwijzingen in de bedieningshandleiding en op het HPV-toepassingsblad.
4. Bereid het SB100-pre-amplificatieinstrument voor volgens de aanwijzingen in de bedieningshandleiding en op het HPV-toepassingsblad. Schakel het instrument in en start het "APTIMA HPV PREAMP"-protocol voor het opwarmen van het instrument tot 62 °C.
5. Na afronding van de amplificatiestap bereidt u het SB100-postamplificatieinstrument voor volgens de aanwijzingen in de bedieningshandleiding en op het HPV-toepassingsblad. Schakel het instrument in en start het "APTIMA HPV PSTAMP"-protocol voor het opwarmen van het instrument tot 62 °C.
6. Na afronding van de amplificatiestap bereidt u na toevoeging van het probereagens zoals beschreven in de postamplificatiestappen de Leader HC+ Luminometer voor volgens de aanwijzingen in de bedieningshandleiding.

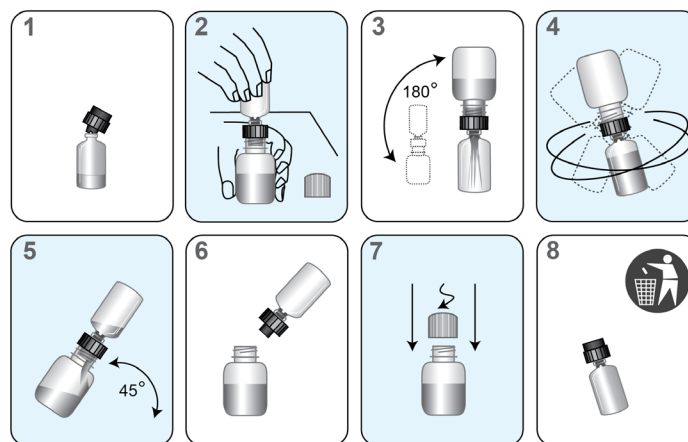
B. Reagensrestitutie/voorbereiding van een nieuw pakket.

Opmerking: Reagensrestitutie moet worden uitgevoerd voordat u de monsteroverdracht start.

1. Voor het reconstitueren van de Aptima HPV-amplificatie-, enzym- en probereagentia, 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 de bijbehorende gevriesdroogde reagens. Verzekert u ervan dat de etiketkleur van de reconstitutieoplossing en de gevriesdroogde reagens overeenkomen, voordat u de reconstitutiekraag aanbrengt.
- b. Open het flesje gevriesdroogde reagens en breng het uiteinde van de reconstitutiekraag met de inkeping in de opening van het flesje (Afbeelding 1, Stap 1).
- c. Open de bijbehorende reconstitutieoplossingsfles en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
- d. Houd de oplossingsfles op de tafel en breng het andere uiteinde van de reconstitutiekraag stevig in de opening van de fles (Afbeelding 1, Stap 2).
- e. Keer fles en flesje langzaam om. Laat de oplossing in het glazen flesje lopen (Afbeelding 1, Stap 3).
- f. Zwenk de oplossing rustig in het flesje om grondig te mengen. Voorkom schuimvorming bij het zwenken van het flesje (Afbeelding 1, Stap 4).
- g. Wacht tot het gevriesdroogde reagens oplost en draai vervolgens het geheel van fles en flesje om met een hoek van 45° om schuimvorming te minimaliseren (Afbeelding 1, Stap 5). Laat alle vloeistof terug in de fles lopen.
- h. Verwijder de reconstitutiekraag en het glazen flesje (Afbeelding 1, Stap 6).
- i. Sluit de plastic fles opnieuw af. Noteer de initialen van de bediener en de reconstitutedatum op de flesjes gereconstitueerd reagens (Afbeelding 1, Stap 7).
- j. Werp de reconstitutiekraag en het glazen flesje weg (Afbeelding 1, Stap 8).



Afbeelding 1. Reconstitutieproces DTS-systemen

2. Bereid het werkuiveringsreagens (wTCR) voor:
 - a. Plaats de bij elkaar horende flessen TCR en IC bij elkaar.
 - b. Open de TCR-fles en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
 - c. Open de IC-fles en giet de hele inhoud ervan in een TCR-fles. Er kan een kleine hoeveelheid vloeistof in het IC-flesje achterblijven.
 - d. Doe de dop op de TCR-fles en zwenk de oplossing rustig om de inhoud grondig te mengen. Voorkom schuimvorming tijdens deze stap.
 - e. Noteer de initialen van de bediener en de huidige datum op het etiket.
 - f. Werp de IC-fles en -dop weg.

- g. Er kan zich precipitaat vormen in de wTCR. U kunt het precipitaat oplossen door de wTCR maximaal 90 minuten op te warmen bij een temperatuur van tussen 42 en 60 °C. Laat de wTCR vóór gebruik op kamertemperatuur komen.

3. Maak het selectiereagens klaar.

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 voor gebruik op kamertemperatuur komen. Niet gebruiken als precipitaat of troebelheid aanwezig blijft.

C. Reagensvoorbereiding voor eerder gereconstitueerde reagentia:

1. Eerder gereconstitueerd amplificatie-, enzym- of probereagens moet op kamertemperatuur (15 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. Na hersuspendering mengt u het flesje door rustig om te keren. Niet gebruiken als precipitaat of troebelheid aanwezig is.
3. Als de wTCR precipitaat bevat, verwarmt u deze maximaal 90 minuten bij 42 tot 60 °C. Laat de wTCR vóór gebruik op kamertemperatuur komen.
4. 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 voor gebruik op kamertemperatuur komen. Niet gebruiken als precipitaat of troebelheid aanwezig blijft.
5. Meng elk reagens grondig door voorafgaand aan gebruik rustig om te keren. Voorkom schuimvorming tijdens het omkeren van reagentia.

D. Rekopstelling:

1. Laat de monsters (kalibratiemiddelen, controles en weefselmonsters) op kamertemperatuur komen voordat u deze verwerkt.
2. Meng de monsters niet met een reageerbuis mixer.
3. Inspecteer monsterbuisjes voordat u deze doorprikt. 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.

4. Plaats voldoende TTU's in het TTU-rek voor de kalibratiemiddelen, controles en monsters.
5. (Optioneel) Maak een werklijst met de Aptima-werklijsteditor. Raadpleeg het gedeelte over de werklijsteditor in de *Aptima Assay Software Operator's Manual* (bedieningshandleiding van de Aptima-assaysoftware) voor specifieke aanwijzingen.

Optie met handmatig pipetteren:

1. Meng de wTCR (TCR plus IC) grondig. Voeg met een repeatpipet 100 µl wTCR aan elke reactiebuis toe.
2. Doorprik met een micropipet de dop van het monsterbuisje. Let er daarbij op dat u de punt niet tot de bodem van het buisje stoot.
3. Gebruik een nieuwe pipetpunt voor elk kalibratiemiddel, controle en monster.
4. Voeg 400 µl negatief kalibratiemiddel toe aan de eerste drie buizen in de eerste TTU.
5. Voeg 400 µl positief kalibratiemiddel toe aan de buizen 4-6 van de eerste TTU.
6. Voeg 400 µl negatieve controle toe aan buis 7 van de eerste TTU.
7. Voeg 400 µl positieve controle toe aan buis 8 van de eerste TTU.

8. Voeg 400 µl van elk monster toe aan de overgebleven buizen.
9. Als alle monsters zijn gepipetteerd, dekt u de TTU's met afsluitkaarten af en gaat u verder met de zuivering.

Optie met het TECAN Freedom EVO-instrument.

Raadpleeg het *TECAN Freedom EVO 100/4-toepassingsblad voor het Aptima HPV Assay* voor specifieke aanwijzingen voor het toevoegen van wTCR en monsters met dit instrument.

E. Zuivering.

Raadpleeg voor meer informatie over het gebruik van het SB100-instrument met het Aptima HPV assay het *toepassingsblad voor de SB100-droogwarmtebad/vortexer voor het Aptima HPV Assay*.

Raadpleeg de *bedieningshandleiding van het Target Capture System (gericht zuiveringssysteem)* voor informatie over het gebruiken van het Hologic-zuiveringssysteem.

Opmerking: De repeatpipet die voor zuivering en amplificatie wordt gebruikt, mag alleen voor deze stappen worden gebruikt. Zie de *Tigris DTS System Testprocedure* voor meer informatie.

1. Dek de afsluitkaarten af met het SB100-frame.
2. Als het SB100-instrument op 62 °C is, houdt u het frame en het rek bij elkaar om ervoor te zorgen dat de TTU's op het rek worden vastgezet en laat u het rek in het verwarmingsblok glijden. Zorg ervoor dat u de inhoud niet op de afsluitkaarten spat. Draai de zwarte knoppen tot de lagers in de gaten in het frame vallen.
3. Druk op de juiste toets voor het starten van het programma.
4. Als dit na de laatste incubatie op de display van de SB100 wordt aangegeven, verwijdert u het rek voorzichtig uit het verwarmingsblok, waarbij u erop let dat u de inhoud niet op de afsluitkaarten spat.
5. Plaats het rek 5 tot 10 minuten op de magnetische basis van het zuiveringssysteem (TCS). Voer de volgende wasstappen uit:
 - a. Spoel de pomplijnen van het toedienstation door wasoplossing door het toedienverdeelstuk te pompen. Pomp voldoende vloeistof door het systeem, zodat er geen luchtbellens in de lijn zitten en alle 10 de spuitmonden een gestage vloeistofstroom afgeven.
 - b. Schakel de vacuümpomp in en koppel het opzuigverdeelstuk los bij de eerste aansluiting tussen het verdeelstuk en de opvangfles. Verzekert u ervan dat de vacuümmeter aan de lektetspecificatie voldoet. Het kan 15 seconden kosten deze meting te bereiken. Sluit het verdeelstuk opnieuw aan en verzekert u ervan dat de vacuümmeter aan de vacuümniveauspecificatie voldoet. Laat de vacuümpomp aan staan tot alle zuiveringsstappen zijn voltooid en het opzuigverdeelstuk droog is.
 - c. Breng het opzuigverdeelstuk stevig aan op de eerste puntenset. Zuig alle vloeistof op door de punten in de eerste TTU te steken tot de punten kort in contact met de bodems van de buizen komen. Houd de punten niet in contact met de bodems van de buizen.
 - d. Als het opzuigen voltooid is, drukt u de punten in de originele puntencassette af. Herhaal de opzuigstappen voor de overige TTU's, met voor elk monster een aparte punt.
 - e. Plaats het toedienverdeelstuk boven elke TTU en breng met de toedienstationpomp 1,0 ml wasoplossing in elke buis van de TTU.
 - f. Bedek de buizen met een afsluitkaart en verwijder het rek uit de TCS.

6. Dek de afsluitkaarten af met het SB100-frame en plaats dit voorzichtig op het SB100-verwarmingsblok. Druk op de juiste toets voor het mengen van de buizen. Na het mengen verwijdert u het rek.
7. Druk op het SB100-instrument op de juiste toets voor het voortzetten van het voorverwarmen van het blok.
8. Plaats het rek terug op de TCS en herhaal de opzuigstappen in 5c en 5d hierboven.
9. Na de laatste keer opzuigen verwijdert u het rek van de magnetische basis van de TCS en inspecteert u op het oog of alle vloeistof uit de buizen is opgezogen en of alle buizen pellets van magnetische deeltjes bevatten. Als er vloeistof te zien is, plaatst u het rek 2 minuten op de TCS-basis terug en herhaalt u het opzuigen voor die TTU met dezelfde punten die u eerder voor elk monster gebruikte.
10. Ga verder met de amplificatiestap.

F. Amplificatie:

1. Voeg amplificatiereagens en oliereagens toe.

Optie met handmatig pipetteren:

- a. Voeg met een repeatpipet 75 µl gereconstitueerd amplificatiereagens aan elke reactiebuis toe. Alle reactiemengsels in het rek moeten rood zijn.
- b. Voeg met een repeatpipet 200 µl oliereagens toe.
- c. Bedek de buizen met afsluitkaarten.
- d. Ga verder met Stap 2.

Optie met het TECAN Freedom EVO-instrument.

Raadpleeg het *TECAN Freedom EVO 100/4-toepassingsblad voor het Aptima HPV Assay* voor specifieke aanwijzingen voor het toevoegen van amplificatie- en oliereagentia met dit instrument.

2. Dek de afsluitkaarten af met het SB100-frame en plaats het rek voorzichtig in het verwarmingsblok.
3. Druk op de juiste toets voor het starten van de incubatie.
4. Verwijder het SB100-frame wanneer dit wordt aangegeven. Verwijder de afsluitkaarten en werp deze weg, en voeg 25 µl gereconstitueerd enzymreagens toe met een repeatpipet, terwijl het rek nog in het verwarmingsblok zit.
5. Bedek de buizen met nieuwe afsluitkaarten en het SB100-frame.
6. Druk op de juiste toets voor het starten van de amplificatieincubatie.
7. Wanneer de incubatiestap is voltooid, verwijdert u het rek van het SB100-instrument en gaat u verder met de postamplificatiestap.

G. Postamplificatie.

Schakel het SB100-postamplificatie-instrument in en selecteer het "APTIMA HPV PSTAMP"-protocol voor het opwarmen van het instrument tot 62 °C.

Raadpleeg voor specifieke informatie over het gebruik van het SB100-instrument met het Aptima HPV assay het *toepassingsblad voor de SB100-droogwarmtebad/vortexer voor het Aptima HPV Assay*.

Opmerking: De repeatpipet die voor detectie wordt gebruikt, mag alleen voor deze stappen worden gebruikt. Zie de waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen.

Opmerking: Postamplificatiestappen moeten in een gebied gescheiden van de reagensvoorbereidings- en pre-amplificatiestappen worden uitgevoerd. Zie de procedurele opmerkingen.

1. Verwijder de afsluitkaarten en werp deze weg.
2. Voeg met een repeatpipet 100 µl gereconstitueerd probereagens aan elke reactiebuis toe. Alle reactiemengsels moeten geel zijn.
3. Dek de buizen af met de afsluitkaarten en het SB100-frame en plaats het rek voorzichtig in het verwarmingsblok.
4. Druk op de juiste toets voor het starten van de meng/incubatiestappen.
5. Wanneer de incubatiestap is voltooid, verwijdert u het rek en incubeert u 5 minuten bij kamertemperatuur. Zorg ervoor dat u de juiste toets op het toetsenblok van de SB100 indrukt voor het starten van de incubatietijd.
6. Als op de display van de SB100 wordt aangegeven dat de 5 minuten voorbij zijn, voegt u met een repeatpipet 250 µl selectiereagens aan elke reactiebuis toe. Alle reactiemengsels moeten roze zijn.
7. Dek de buizen af met de afsluitkaarten en het SB100-frame en plaats het rek voorzichtig in het verwarmingsblok. Druk op de juiste toets voor het starten van de meng/incubatiestappen.
8. Wanneer de incubatiestap is voltooid, verwijdert u het rek van het SB100-instrument en gaat u verder met de detectiestap.

H. Detectie:

1. De detectiestap moet bij 18 °C tot 28 °C worden uitgevoerd.
2. Zorg voor voldoende volume Auto Detect 1 en 2 voor het voltooien van de tests.
3. Bereid de Leader HC+ Luminometer voor door een lege TTU op cassettepositie nummer 1 te plaatsen en het WASprotocol uit te voeren. Raadpleeg de *bedieningshandleiding van de Leader HC+ Luminometer* voor specifieke aanwijzingen.
4. Plaats de TTU's in de luminometer.
5. Meld u aan bij de Aptima assay-software voor HPV. Als er een werklijst is gemaakt, verzekert u zich ervan dat het juiste pad is ingeschakeld, zodat de Aptima HPV assay-software de juiste werklijst kan vinden.
6. Klik op **NEW RUN** (nieuwe reeks). Als er geen werklijst is gemaakt, voert u het aantal buizen in (kalibratiemiddelen, controles en monsters). Klik op **NEXT** (volgende) om de testreeks te starten.

Opmerking: De testreeks moet binnen 2 uur van het einde van de selectiestapincubatie zijn voltooid.

7. Bereid deactiveringsvloeistof voor door gelijke volumes van 5 tot 7% (0,7 tot 1,0 M) natriumhypochlorietoplossing en Aptima-buffer voor deactiveringsvloeistof in een plastic fles met grote dop te mengen. Etiketeer en schrijf de uiterste gebruiksdatum op de plastic fles. Deactiveringsvloeistof is bij kamertemperatuur 4 weken stabiel.
8. Nadat u de gebruikte TTU's uit de luminometer hebt verwijderd, plaatst u de TTU's in de fles met deactiveringsvloeistof. Laat de TTU's 15 minuten in de fles, voordat u deze weggooit. Er moet door de laboratoriumdirecteur worden vastgelegd wat de juiste methoden voor hanteren en afvoeren zijn.

Procedurele opmerkingen

A. Kalibratiemiddelen.

Elke testreeks van maximaal 100 tests moet drie replicaties van zowel het negatieve als het positieve kalibratiemiddel bevatten. Voor goede werking met de Aptima HPV assay-software moeten de drie replicaties van het negatieve kalibratiemiddel gevolgd door de drie replicaties van het positieve kalibratiemiddel in de eerste zes plaatsen van de eerste TTU staan. Bij verkeerde plaatsing mislukt de testreeks.

B. Controles.

Elke testreeks van maximaal 100 tests moet één replicaat van zowel de negatieve als de positieve controle bevatten. De negatieve controle moet in buisplaats zeven staan, gevolgd door de positieve controle in buisplaats acht. Bij verkeerde plaatsing mislukt de testreeks.

C. Monsters pipetteren:

1. Het monstervolume dat aan de reactiebuis wordt toegevoegd, moet 400 ± 100 µl zijn. Visuele controle van het in de TTU gepipetteerde volume wordt aanbevolen om zeker te stellen dat het juiste volume is overgebracht. Voor nauwkeurige resultaten is het juiste monstervolume vereist. Als niet het juiste volume is gepipetteerd, pipetteert u opnieuw zuiveringsreagens en het monster in een nieuwe reactiebuis.
2. Breng de monsters voorzichtig in de buizen, waarbij u contact met de rand vermijdt om de kans op overdracht van de ene buis naar de andere te minimaliseren.

D. Temperatuur:

1. Kamertemperatuur is gedefinieerd als 15 tot 30 °C.
2. Detectie is temperatuurgevoelig. De laboratoriumtemperatuur in het detectiegebied moet 18 tot 28 °C zijn.

E. Tijd.

De zuiverings-, amplificatie-, hybridizatie- en selectiereacties zijn alle tijdafhankelijk. Houd u aan de tijden die in *Testprocedure DTS-systemen* zijn aangegeven.

F. Handschoenpoeder.

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

G. Ontsmetting:

1. Het oppervlak van laboratoriumtafels en pipetten moet regelmatig met 2,5 tot 3,5% (0,35 tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing worden ontsmet. Laat de oplossing ten minste 1 minuut in contact met de oppervlakken en was vervolgens met water. Laat de oplossing niet opdrogen. Chlooroplossingen kunnen apparatuur en metalen aantasten. Was apparatuur grondig met water om aantasting te voorkomen.
2. Ontsmet het TECAN Freedom EVO-instrument volgens de aanwijzingen in de bedieningshandleiding.
3. Ontsmet het SB100-instrument volgens de aanwijzingen in het *toepassingsblad voor de SB100-droogwarmtebad/vortexer voor het Aptima HPV Assay*.
4. Ontsmet het zuiveringssysteem volgens de aanwijzingen in de *bedieningshandleiding van het zuiveringssysteem*.
5. Veeg het oppervlak van het TCS-apparaat en de wasbufferejectorpunten af met papieren doekjes met 2,5 tot 3,5% (0,35 tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Was vervolgens met water en droog de oppervlakken volledig met papieren doekjes.

6. Dompel de TTU-rekken onder in 2,5 tot 3,5% (0,35 tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Zorg er daarbij voor dat de rekken geheel onder komen. Houd de rekken 10 minuten ondergedompeld. Langere blootstelling kan de rekken beschadigen. Was de rekken grondig met water, plaats op een schone, absorberende doek en laat grondig aan de lucht drogen. Laat voor een langere levensduur de rekken rechtop drogen, en niet ondersteboven.
7. TTU's moeten met deactiveringsvloeistof worden ontsmet, zoals beschreven in de stap voor detectie. Gebruik de TTU's niet opnieuw.

Tigris DTS System

Hieronder vindt u een overzicht van de reagentia voor het Aptima HPV assay voor het Tigris DTS System. Naast de naam van het reagens worden tevens de identificatiesymbolen weergegeven.

Geleverde reagentia en materialen

Aptima HPV assay-pakket, 250 tests, cat. nr. 302611 (4 dozen).

Kalibratiemiddelen en controles zijn afzonderlijk verkrijgbaar. Zie de afzonderlijke dooscatalogusnummers hieronder.

Aptima HPV gekoelde doos (na ontvangst bewaren bij 2 tot 8 °C)

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

Aptima HPV-kamertemperatuurdoos (na ontvangst bewaren bij 15 tot 30 °C)

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

Aptima HPV-kalibratiemiddelendoos (cat. nr. 302554)
(na ontvangst bewaren bij 2 tot 8 °C)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid
PCAL	Positief kalibratiemiddel HPV <i>Niet-infectueus HPV 16 in-vitro transcript in 1.000 kopieën/ml in een succinaatgebufferde oplossing met < 5% detergens.</i>	5 flesjes
NCAL	Negatief kalibratiemiddel HPV <i>Gebufferde oplossing met < 5% detergens.</i>	5 flesjes

Aptima HPV-controlesdoos (cat. nr. 302556)
(na ontvangst bewaren bij 2 tot 8 °C)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid
PC	Positieve controle HPV <i>Gelyseerde, geïnactiveerde HPV-negatieve en -positieve kweekcellen met 25 cellen/ml in een gebufferde oplossing met < 5% detergens.</i>	5 flesjes
NC	Negatieve controle HPV <i>Gelyseerde, geïnactiveerde HPV-negatieve kweekcellen in een gebufferde oplossing met < 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
Aptima-assayvloeistofpakket <i>(Aptima-wasoplossing, Aptima-buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima-oliereagens)</i>	302382
Aptima Auto Detect-pakket	301048
Pakket vloeibaar conserveringsmiddel Aptima-systeem	302380
Punten, 1.000 µl, geleidend, vloeistofregistrerend	10612513 (Tecan)
Gebruikspakket Tigris DTS System	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-afvalafdekkingen</i>	105523
Aptima-monsteroverdrachtpakket	301154C
Aptima-pakket voor verzameling en transport van baarmoedermonsters	302657
Aptima doorprikbare doppen	105668
Vervangende niet-doorprikbare doppen	103036A
Reservedoppen voor reconstitutieoplossingen amplificatie- en probereagens	CL0041
Reservedoppen voor reconstitutieoplossing enzymreagens	501616
Reservedop voor TCR en selectiereagens	CL0040
Bleekmiddel, minimaal 5% of 0,7 M natriumhypochlorietoplossing	—

Water voor het Tigris DTS System	—
<i>Raadpleeg de 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 bedieningshandleiding van het Tigris DTS System voor aanvullende informatie over procedures.*

A. Voorbereiding werkgebied.

Reinig de werkoppervlakken waar reagentia en monsters worden voorbereid. 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 tafelloppervlak waarop de reagentia en monsters worden voorbereid met schone, absorberende laboratoriumtafelafdekking met een plastic achterkant.

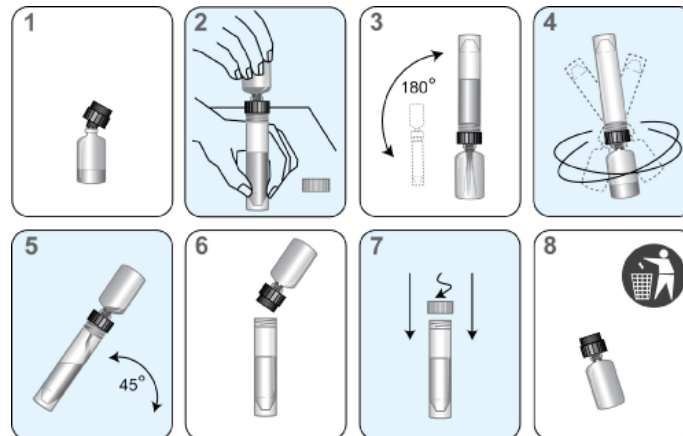
B. Reagensvoorbereiding van een nieuw pakket.

Opmerking: *Reagensreconstitutie moet worden uitgevoerd voordat u met het Tigris DTS System gaat werken.*

1. Voor het reconstitueren van de amplificatie-, enzym- en probereagentia, 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 de bijbehorende gevriesdroogde reagens. Verzekert u ervan dat de etiketkleur van de reconstitutieoplossing en de gevriesdroogde reagens overeenkomen, voordat u de reconstitutiekraag aanbrengt.
 - b. Controleer de partijnummers op het streepjescodeblad van de hoofdp partij 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 oplossingsfles op de tafel en breng het andere uiteinde van de reconstitutie kraag in de opening van 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 de fles (Afbeelding 2, 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 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 reconstitutedatum op alle flesjes gereconstitueerd reagens (Afbeelding 2, Stap 7).

- k. Werp de reconstitutiekraag en het glazen flesje weg (Afbeelding 2, Stap 8).

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



Afbeelding 2. 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 hoofdpakket om u ervan te verzekeren dat de juiste reagentia van het pakket 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 de wTCR, wat foutieve resultaten kan geven vanwege volumeverificatiefouten. U kunt het precipitaat oplossen door de wTCR maximaal 90 minuten op te warmen bij 42 tot 60 °C. Laat de 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 hoofdpakket 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 voor 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 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 de wTCR precipitaat bevat, verwarmt u deze maximaal 90 minuten bij 42 tot 60 °C. Laat de 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 ± 1 °C om het oplossen van het precipitaat te vergemakkelijken. Meng de fles elke 5 tot 10 minuten voorzichtig. Laat het selectiereagens voor 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, controles en weefselmonsters) op kamertemperatuur komen voordat u deze verwerkt.
2. **Meng de monsters niet met een reageerbuis mixer.**
3. SurePath-vloeistofcytologiemonsters moeten voorafgaand aan tests met het Aptima HPV assay volgens de aanwijzingen in *Tigris DTS System Testprocedure*, onderdeel C met proteïnase K worden behandeld.
4. Inspecteer monsterbuisjes 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 4 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 *bedieningshandleiding van het Tigris DTS System* en de onderstaande paragraaf met *procedurele opmerkingen*.

Procedurele opmerkingen

A. Kalibratiemiddelen.

1. Elke werklijst moet 3 replicaties van zowel het negatieve als het positieve kalibratiemiddel bevatten. Voor goede werking met de Aptima HPV assay-software moet het negatieve kalibratiemiddel in de eerste buisplaats staan van het eerste rek van de werklijst, en het positieve kalibratiemiddel in de tweede buisplaats van het eerste rek van de werklijst.
2. Als u meer dan drie replicaties uit een kalibratiebuis probeert te pipetteren, kan dit tot fouten door onvoldoende volume leiden.

B. Controles.

1. Voor de Aptima HPV assay-software zijn controles aan het begin en het einde van de testreeks vereist. De negatieve controle moet in de derde buisplaats van het eerste rek en in de voorlaatste buisplaats van het laatste rek van de werklIJst staan. De positieve controle moet in de vierde buisplaats van het eerste rek en in de laatste buisplaats van het laatste rek van de werklIJst staan.
2. Als u meer dan één keer uit een controlebuis probeert te pipetteren, kan dit tot fouten door onvoldoende volume leiden.

C. Temperatuur.

Kamertemperatuur is gedefinieerd als 15 tot 30 °C.

D. Handschoenpoeder.

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

Panther System

Hieronder vindt u een overzicht van de reagentia voor het Aptima HPV assay voor het Panther System. Naast de naam van het reagens worden tevens de identificatiesymbolen weergegeven.

Geleverde reagentia en materialen

Aptima HPV assay, 250 tests, cat. nr. 303093 (3 dozen).

Aptima HPV assay, 100 tests, cat. nr. 302929 (3 dozen).

Kalibratiemiddelen zijn afzonderlijk verkrijgbaar. Zie de afzonderlijke catalogusnummers hieronder.

Aptima HPV gekoelde doos (na ontvangst bewaren bij 2 tot 8 °C)

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

Aptima HPV-kamertemperatuurdoos (na ontvangst bewaren bij kamertemperatuur, 15 tot 30 °C)

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

Aptima HPV-kalibratiemiddelendoos (cat. nr. 302554)
(na ontvangst bewaren bij 2 tot 8 °C)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid
PCAL	Positief kalibratiemiddel HPV <i>Niet-infectueus HPV 16 in-vitro transcript in 1.000 kopieën/ml in een succinaatgebufferde oplossing met < 5% detergens.</i>	5 flesjes
NCAL	Negatief kalibratiemiddel HPV <i>Gebufferde oplossing met < 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-assayvloeistofpakket</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
Punten, 1.000 µl, geleidend, vloeistofregistrerend	10612513 (Tecan)
Aptima-monsteroverdracht pakket	301154C
Aptima-pakket voor verzameling en transport van baarmoedermonsters	302657
Aptima doorprikbare doppen	105668
Vervangende niet-doorprikbare doppen	103036A
Reservedoppen voor 250 testpakketten:	
<i>Reconstitutieoplossingen amplificatie- en probereagens</i>	CL0041
<i>Reconstitutieoplossing enzymreagens</i>	501616
<i>TCR en selectiereagens</i>	CL0040
Reservedoppen voor 100 testpakketten:	
<i>Reconstitutieoplossingen amplificatie- en probereagens</i>	CL0041
<i>Reconstitutieoplossing enzymreagens</i>	CL0041
<i>TCR en selectiereagens</i>	501604
Bleekmiddel, minimaal 5% of 0,7 M natriumhypochlorietoplossing	—
Wegwerphandschoenen	—
Aptima-overdracht oplossing pakket (alleen voor SurePath-monsters)	303658

Optionele materialen

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

Testprocedure Panther System

Opmerking: Raadpleeg de bedieningshandleiding van het Panther System voor aanvullende informatie over procedures.

A. Voorbereiding werkgebied.

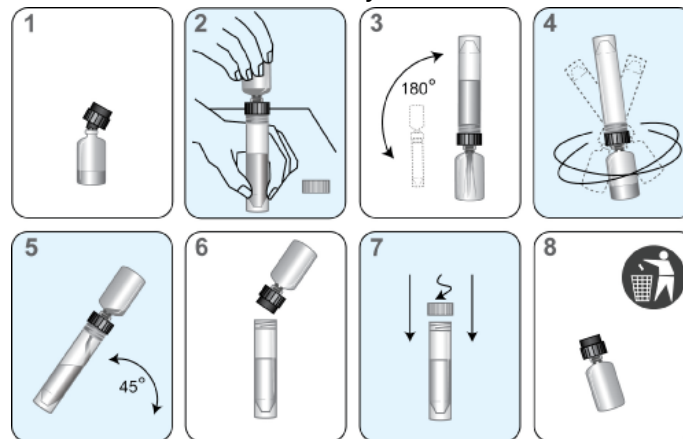
Reinig de werkoppervlakken waar reagentia en monsters worden voorbereid. Veeg de werkoppervlakken af met 2,5 tot 3,5% (0,35 tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Laat de natriumhypochlorietoplossing ten minste 1 minuut in contact met de oppervlakken en was vervolgens met water. Laat de natriumhypochlorietoplossing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

B. Reagensvoorbereiding van een nieuw pakket.

Opmerking: Reagensreconstitutie moet worden uitgevoerd voordat u met het Panther System gaat werken.

1. Voor het reconstitueren van de amplificatie-, enzym- en probereagentia, 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 de 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 3, Stap 1).
 - d. Open de bijbehorende reconstitutieoplossing en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
 - e. Houd de oplossingsfles op de tafel en breng het andere uiteinde van de reconstitutie kraag stevig in de fles (Afbeelding 3, Stap 2).
 - f. Keer de gekoppelde flessen langzaam om. Laat de oplossing uit de fles in het glazen flesje lopen (Afbeelding 3, Stap 3).
 - g. Zwenk de oplossing rustig in de fles om grondig te mengen. Voorkom schuimvorming bij het zwenken van de fles (Afbeelding 3, 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 3, Stap 5). Laat alle vloeistof terug in de plastic fles lopen.
 - i. Verwijder de reconstitutie kraag en het glazen flesje (Afbeelding 3, Stap 6).
 - j. Sluit de plastic fles opnieuw af. Noteer de initialen van de bediener en de reconstitutedatum op alle flesjes gereconstitueerd reagens (Afbeelding 3, Stap 7).
 - k. Werp de reconstitutie kraag en het flesje weg (Afbeelding 3, Stap 8).

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



Afbeelding 3. Reconstitutieproces Panther System

2. Bereid het werkzuiveringsreagens (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 van het pakket 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 de wTCR, wat foutieve resultaten kan geven vanwege volumeverificatiefouten. U kunt het precipitaat oplossen door de wTCR maximaal 90 minuten op te warmen bij 42 tot 60 °C. Laat de 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 ± 1 °C om het oplossen van het precipitaat te vergemakkelijken. Meng de fles elke 5 tot 10 minuten voorzichtig. Laat het selectiereagens voor 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 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 de wTCR precipitaat bevat, verwarmt u deze maximaal 90 minuten bij 42 tot 60 °C. Laat de 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 ± 1 °C om het oplossen van het precipitaat te vergemakkelijken. Meng de fles elke 5 tot 10 minuten voorzichtig. Laat het selectiereagens voor 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 en weefselmonsters) op kamertemperatuur komen voordat u deze verwerkt.
2. **Meng de monsters niet met een reageerbuis mixer.**
3. Inspecteer monsterbuisjes 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:

1. Stel het systeem in volgens de aanwijzingen in de *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.
2. Plaats de monsters.

Procedurele opmerkingen

A. Kalibratiemiddelen:

1. Voor goede werking met de Aptima HPV assay-software op het Panther System zijn drie replicaties van het positieve kalibratiemiddel en drie replicaties van het negatieve 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 systeem verwerkt.
 - b. Er zijn geldige resultaten voor de kalibratiemiddelen op het systeem 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 systeem verwijderd is.
 - c. Het bijbehorende assayreagenspakket de stabiliteitsgrenzen heeft overschreden.
 3. Als u meer dan drie replicaties uit een kalibratiebuis probeert te pipetteren, kan dit tot verwerkingsfouten leiden.
- B. Temperatuur.
Kamertemperatuur is gedefinieerd als 15 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:

- Meerdere ongeldige replicaties negatieve kalibratiemiddel.
- Meerdere ongeldige replicaties positieve kalibratiemiddel.
- Ongeldige negatieve controle (alleen DTS en Tigris DTS Systems).
- Ongeldige positieve controle (alleen DTS en Tigris DTS Systems).

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.

Negatief kalibratiemiddel	Analyt	≥ 0 en ≤ 45.000 RLU
	IC	≥ 75.000 en ≤ 400.000 RLU
Positief kalibratiemiddel	Analyt	≥ 480.000 en $\leq 1.850.000$ RLU
	IC	≤ 450.000 RLU

C. Berekening IC-cutoff.

De IC-cutoff wordt bepaald aan de hand van het IC(flits)-signaal van de geldige negatieve kalibratiemiddelreplicaties.

$$IC-cutoff = 0,5 \times [gemiddelde\ IC-RLU\ van\ de\ geldige\ negatieve\ kalibratiemiddelreplicaties]$$

D. Berekening analyt-cutoff.

De analyt-cutoff wordt bepaald aan de hand van het analyt(gloeï)-signaal van de geldige negatieve kalibratiemiddelreplicaties en van het analytsignaal van de geldige positieve kalibratiemiddelreplicaties

$$Analyt-cutoff = [gemiddelde\ analyt-RLU\ van\ de\ geldige\ negatieve\ kalibratiemiddelreplicaties] + [0,09 \times gemiddelde\ analyt-RLU\ van\ de\ geldige\ positieve\ kalibratiemiddelreplicaties]$$

E. Berekening signal-to-cutoff (S/CO) van de analyt.

De analyt-S/CO wordt bepaald aan de hand van de analyt-RLU van het testmonster en de analyt-cutoff van de testreeks.

$$Analyt-S/CO = \frac{analyt-RLU\ testmonster}{analyt-cutoff}$$

F. Acceptatiecriteria controles (alleen DTS en Tigris DTS Systems).

De negatieve controle moet een geldig negatief resultaat hebben (IC-RLU \geq IC-cutoff en analyt-S/CO < 0,50). De positieve controle moet een geldig positief resultaat hebben (analyt-S/CO \geq 0,50).

Testinterpretatie

Assaytestresultaten worden automatisch door de assaysoftware bepaald. Testresultaten kunnen negatief, positief of ongeldig zijn, zoals bepaald door de IC-RLU en de S/CO voor de analyt. Testresultaten kunnen ook ongeldig zijn omdat andere parameters buiten het normale verwachte bereik vallen (abnormale vorm kinetiekgrafiek). In eerste instantie ongeldige testresultaten moeten worden herhaald.

Monsters van het Aptima 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: Voor het testen van 1 deel van het monster is een minimumvolume van 1,7 ml nodig. 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 Assay-resultaat	Criteria
Negatief	<i>Analyt-S/CO < 0,50 IC ≥ IC-cutoff IC ≤ 2.000.000 RLU</i>
Positief	<i>Analyt-S/CO ≥ 0,50 IC ≤ 2.000.000 RLU Analyt ≤ 13.000.000 RLU</i>
Ongeldig	<i>IC > 2.000.000 RLU of Analyt-S/CO < 0,50 en IC < IC-cutoff of Analyt > 13.000.000 RLU</i>

Beperkingen

- A. Andere monstertypen dan in het beoogd gebruik aangegeven, zijn niet beoordeeld.
- B. De prestaties van het Aptima HPV assay zijn niet voor HPV-gevaccineerde vrouwen beoordeeld.
- C. Het Aptima HPV 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-Paptestuutstrijkje worden als onvoldoende voor het Aptima HPV assay beschouwd.
- F. De invloed op het cytologieresultaat van het voorafgaand aan cytologische verwerking verwijderen van 1 ml SurePath-vloeistofcytologiemonster is niet beoordeeld.
- G. De testresultaten kunnen worden beïnvloed door verkeerde monstername, opslag of monsterverwerking.
- H. 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.
- I. Een negatief Aptima HPV assay-resultaat sluit de mogelijkheid van cytologische afwijkingen of toekomstige of onderliggende CIN2, CIN3 of kanker niet uit.
- J. Glijmiddelen met polyquaternium 15 kunnen de prestaties van het assay beïnvloeden als deze in testmonsters aanwezig zijn in concentraties groter dan 0,025% (v/v of g/v).
- K. Antischimmelmedicatie met tioconazol kan de prestaties van het assay beïnvloeden als deze in testmonsters aanwezig zijn in concentraties groter dan 0,075% (g/v).
- L. Het Aptima HPV assay geeft kwalitatieve resultaten. Er kan daarom geen verband worden gelegd tussen de sterkte van een positief assaysignaal en het expressieniveau van mRNA in een monster.
- M. Detectie van HPV-mRNA met hoog risico is afhankelijk van het aantal kopieën in het monster en kan door monsternamemethoden, patiëntfactoren, infectiestadium en aanwezigheid van storende stoffen worden beïnvloed.
- N. 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.
- O. Het effect van andere potentiële variabelen, zoals vaginale afscheiding, tampongebruik, douchen enz. en van monsternamevariabelen is niet beoordeeld.
- P. Gebruik van dit product moet worden beperkt tot personeel getraind in het gebruik van het Aptima HPV assay.

- Q. Kruisbesmetting van monsters kan vals-positieve resultaten veroorzaken. Het overdrachtpercentage van het Aptima HPV assay op het Tigris DTS System is in een niet-klinisch onderzoek bepaald op 0,3%.
- R. Het Aptima HPV assay moet samen met andere laboratorium- en klinische gegevens worden beoordeeld, die de arts tot zijn beschikking heeft.
- S. In deze test kunnen vals-positieve resultaten optreden. *In-vitro* transcripts van HPV-genotypen met laag risico 26, 67, 70 en 82 vertonen kruisreactiviteit met het Aptima HPV assay.
- T. Het materiaal van de positieve controle is niet bedoeld voor het bewaken van de prestaties bij de assay-cutoff.

Assayprestaties DTS-systemen

Klinische prestaties Aptima HPV Assay met ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters

Er zijn meer dan 700 ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters verzameld van Europese vrouwen die voor vervolgonderzoek waren verwezen vanwege: een of meer afwijkende Pap-tests, een HPV-infectie of een andere reden. Eén milliliter (1,0 ml) van elk monster is verdund in 2,9 ml Aptima-monstertransportmedium, en één replicaat is met het Aptima HPV assay getest. Cytology, histologie en resultaten van een commercieel verkrijgbare HPV DNA-test (HPV-DNA) zijn voor de meeste monsters beschikbaar. De status van het hoog-risico-HPV van elk monster is bepaald door vergelijking tussen de Aptima-test en de commercieel verkrijgbare HPV DNA-test en door aanvullende analyse van monsters met afwijkende resultaten met een genotyperingstest op geamplificeerd DNA. De gevoeligheid en specificiteit voor detectie van HPV-nucleïnezuur is bepaald. Tevens zijn de klinische gevoeligheid en specificiteit voor de detectie van ziekte, gedefinieerd als een histologieresultaat van cervicale intraepitheliale neoplasie (CIN) 2 of hoger, berekend voor de gehele monsterpopulatie en voor specifieke subsets op basis van cytologische resultaten.

De gevoeligheid en specificiteit van het Aptima HPV assay voor detectie van hoog-risico-HPV wordt weergegeven in Tabel 1 voor de 781 monsters die op de DTS-systemen zijn getest. De gevoeligheid van het assay was 92,6%, de specificiteit was 98,5% en de positief en negatief voorspellende waarden voor detectie van hoog-risico-HPV waren respectievelijk 98,8% en 90,9%.

Tabel 1: De gevoeligheid en specificiteit van het Aptima HPV Assay voor detectie van hoog-risico-HPV op de DTS-systemen

		Hoog-risico-HPV		Totaal
		+	-	
Aptima-HPV	+	412	5	417
	-	33	331	364
Totaal		445	336	781

Gevoeligheid (95% CI [Confidence Interval, betrouwbaarheidsinterval]) = 92,6% (89,8-94,7)

Specificiteit (95% CI) = 98,5% (96,6-99,4)

Positief voorspellende waarde = 98,8%

Negatief voorspellende waarde = 90,9%

De klinische gevoeligheid en specificiteit van het Aptima HPV assay voor detectie van \geq CIN2 wordt weergegeven in Tabel 2a voor de 753 monsters met histologieresultaten die op de DTS-systemen zijn getest. De klinische gevoeligheid van het assay was 90,8%, de specificiteit was 55,7% en de positief en negatief voorspellende waarden voor detectie van \geq CIN2 waren respectievelijk 32,1% en 96,3%. De gevoeligheid van het Aptima HPV assay was vergelijkbaar met HPV-DNA, namelijk 95,0% (Tabel 2b), maar de specificiteit van het Aptima HPV assay was significant hoger dan die van HPV-DNA, die 47,4% was in deze populatie voor detectie van laesies van \geq CIN2. Van de 753 monsters met histologieresultaten hadden er 159 een ASCUS-cytologieresultaat. De gevoeligheid en specificiteit van het Aptima HPV assay in deze populatie waren respectievelijk 92,3% en 41,4% voor detectie van \geq CIN2.

Gelijksoortige analyses zijn ook uitgevoerd met een klinisch eindpunt van \geq CIN3. De klinische gevoeligheid en specificiteit van het Aptima HPV assay voor detectie van \geq CIN3 wordt weergegeven in Tabel 3a voor de 753 monsters met histologieresultaten die op de DTS-systemen zijn getest. De klinische gevoeligheid van het assay was 97,7%, de specificiteit was 52,9% en de positief en negatief voorspellende waarden voor detectie van \geq CIN3 waren respectievelijk 21,3% en 99,4%. Weer was de gevoeligheid van het Aptima HPV assay vergelijkbaar met die van HPV-DNA, met een detectiegevoeligheid voor \geq CIN3 van 98,9% (Tabel 3b), en was de specificiteit van het Aptima HPV assay significant hoger dan die van HPV-

DNA, die 44,4% was in deze populatie voor detectie van laesies van \geq CIN3. Van de 753 monsters met histologieresultaten hadden er 159 een ASCUS-cytologieresultaat. De gevoeligheid en specificiteit van het Aptima HPV assay in deze populatie waren respectievelijk 100% en 40,1% voor detectie van \geq CIN3.

Deze resultaten, met gelijksoortige gevoeligheid en significant hogere specificiteit voor het Aptima HPV assay, vergeleken met detectie van hoog-risico-DNA, zijn in lijn met resultaten uit andere onderzoeken.^{27,28,29,30,31}

Tabel 2a: De gevoeligheid en specificiteit van het Aptima HPV Assay voor detectie van ziekte (\geq CIN2) op de DTS-systemen

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

Gevoeligheid (95% CI) = 90,8% (84,9-94,5)

Specificiteit (95% CI) = 55,7% (51,8-59,6)

Positief voorspellende waarde = 32,1%

Negatief voorspellende waarde = 96,3%

Tabel 2b: De gevoeligheid en specificiteit van de HPV-DNA-test voor detectie van ziekte (\geq CIN2)

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

Gevoeligheid (95% CI) = 95,0% (90,1-97,6)

Specificiteit (95% CI) = 47,4% (43,5-51,4)

Positief voorspellende waarde = 29,4%

Negatief voorspellende waarde = 97,6%

Tabel 3a: De gevoeligheid en specificiteit van het Aptima HPV Assay voor detectie van ziekte (\geq CIN3) op de DTS-systemen

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

Gevoeligheid (95% CI) = 97,7% (92,0-99,4)

Specificiteit (95% CI) = 52,9% (49,1-56,6)

Positief voorspellende waarde = 21,3%

Negatief voorspellende waarde = 99,4%

Tabel 3b: De gevoeligheid en specificiteit van de HPV-DNA-test voor detectie van ziekte (\geq CIN3)

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

Gevoeligheid (95% CI) = 98,9% (93,8-99,8)

Specificiteit (95% CI) = 44,4% (40,7-48,2)

Positief voorspellende waarde = 18,9%

Negatief voorspellende waarde = 99,7%

Klinische prestaties Aptima HPV Assay met baarmoedermonsternamen en transportmonsters

Er zijn gekoppelde ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters en Aptima CSCT-pakketmonsters verzameld van 728 proefpersonen. Eén milliliter (1,0 ml) van elk ThinPrep-vloeistofcytologiemonster is verdund in 2,9 ml Aptima-monstertransportmedium, en één replicaat is met het Aptima HPV assay op de DTS-systemen getest. Tevens is met het Aptima HPV assay één replicaat van elk CSCT-monster getest. Het overeenkomstpercentage tussen het Aptima HPV assay van de ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters en dat van de CSCT-monsters is bepaald, en wordt in Tabel 4 weergegeven.

Het percentage positieve overeenkomst was 95,1% (95% CI: 91,6-97,2). Het percentage negatieve overeenkomst was 95,9% (95% CI: 93,7-97,3). En de totale overeenkomst was 95,6% (95% CI: 93,9-96,9). Er was een sterke correlatie tussen de vloeistof-Pap- en transportpakketmonsters ($\kappa = 0,90$).

Tabel 4: De totale overeenkomst van Aptima HPV Assay-resultaten van ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters en die van Aptima CSCT-monsters getest op de DTS-systemen

		ThinPrep-vloeistofcytologiemonster		Totaal
		+	-	
Aptima CSCT-pakketmonster	+	233	20	253
	-	12	463	475
	Totaal	245	483	728

Positieve overeenkomst = 95,1% (91,6-97,2)
 Negatieve overeenkomst = 95,9% (93,7-97,3)
 Totale overeenkomst = 95,6% (93,9-96,9)
 Kappa-coëfficiënt = 0,90

Gevoeligheidsanalyse

De analysegevoeligheid van het Aptima HPV assay voor detectie van hoog-risico-HPV is bepaald door het testen van afzonderlijke negatieve klinische ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters met verschillende concentraties toegevoegde HPV *in-vitro* transcripts of geïnfecteerde cellen. Met elk van twee reagenspartijen zijn voor een totaal van 60 replicaties dertig replicaties van elk kopieniveau getest. Er is een probit-regressieanalyse uitgevoerd en de voorspelde 95%-detectielimiet voor elk HPV-type is bepaald (Tabel 5).

Probit-regressieanalyse laat zien dat HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 56, 58, 59, 66 en 68 voorspelde 95%-detectielimieten van minder dan 100 kopieën/reactie hadden, en typen 51 en 52 van tussen 100 en 300 kopieën/reactie.

Tabel 5: Voorspelde 95%-detectielimiet van het Aptima HPV Assay, bepaald door probit-analyse van de gegevens van de DTS-systemen

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

*Kopieën per reactie voor *in-vitro* transcripts en cellen per reactie voor cellijnen.

Reproduceerbaarheid assay

De reproduceerbaarheid van het Aptima HPV assay is bepaald door het in drievoud testen van 16 panelonderdelen in 2 testreeksen met 2 reagenspartijen, op 3 instrumenten door 3 bedieners. De tests werden gedurende 20 dagen op één locatie uitgevoerd. De panelonderdelen worden in Tabel 6 beschreven. Zes van de panelonderdelen zijn HPV-negatief (3 zijn Aptima-monstertransportmedium en 3 zijn gepoolde ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters), vier HPV-zwakpositief (~ 95%-detectielimiet) en zes HPV-matigpositief ($\geq \sim 3x$ de 95%-detectielimiet). De laag en matig positieve paneelonderdelen bestonden uit ofwel *in-vitro* transcript (IVT) ofwel HPV-geïnfecteerde kweekcellen in Aptima-monstertransportmedium.

Tabel 6: Reproduceerbaarheidspanel Aptima HPV Assay

Panelonderdeel	Beschrijving	Concentratie	Verwacht HPV-resultaat
1	STM-partij 1	n.v.t.	Negatief
2	SiHa-laagpositief	1 cel/reactie	Positief
3	HeLa-laagpositief	0,15 cel/reactie	Positief
4	Klinische pool 1	n.v.t.	Negatief
5	ME180-matigpositief	1 cel/reactie	Positief
6	MS751-matigpositief	1 cel/reactie	Positief
7	SiHa- en HeLa-matigpositief	10 cellen/reactie en 1 cel/reactie	Positief
8	STM-partij 2	n.v.t.	Negatief
9	Klinische pool 2	n.v.t.	Negatief
10	HPV 16 IVT-laagpositief	30 kopieën/reactie	Positief
11	HPV 18 IVT-laagpositief	30 kopieën/reactie	Positief
12	STM-partij 3	n.v.t.	Negatief
13	HPV 16 IVT-matigpositief	100 kopieën/reactie	Positief
14	HPV 18 IVT-matigpositief	100 kopieën/reactie	Positief
15	HPV 16- en HPV 18-matigpositief	100/100 kopieën/reactie	Positief
16	Klinische pool 3	n.v.t.	Negatief

Voor elk reproduceerbaarheidspanelonderdeel zijn voor de DTS-systemen honderdacht gegevenspunten geanalyseerd, waarvan het resultaat in Tabel 7 is samengevat. Het percentage positief voor de negatieve panels lag tussen 0 en 3,7. Laag-positief was ≥ 98 en matig-positief 100. De overeenkomst met het verwachte resultaat was $> 96\%$ voor alle panelonderdelen.

Voor de 6 negatieve panelonderdelen (1, 4, 8, 9, 12 en 16) is de gemiddelde IC-S/CO bepaald. De variatie tussen instrumenten, bedieners, partijen en testreeksen is berekend, alsmede de variatie binnen testreeksen. De gemiddelde IC-S/CO voor de negatieve panelonderdelen lag tussen 1,76 en 1,92. De coëfficiënt voor variatie (CV) voor de IC-S/CO-waarden was vrij laag, $< 10\%$ voor alle beoordeelde parameters. De variatie in de analyt-S/CO-waarden voor de negatieve panelonderdelen is vanwege de inherente variatie bij het observeren van nulwaarden niet geanalyseerd voor de negatieve panelonderdelen.

Voor de 10 positieve panelonderdelen (2-3, 5-7, 10-11 en 13-15) is de gemiddelde analyt-S/CO bepaald. De variatie tussen instrumenten, bedieners, partijen en testreeksen is berekend, alsmede de variatie binnen testreeksen. De gemiddelde analyt-S/CO-waarden lagen tussen 9,00 en 10,70 voor de laag-positieve panels en tussen 8,84 en 15,75 voor de matig-positieve panels. De twee panelonderdelen met 2 hoog-risico HPV-typen, panel 7 en 15, hadden gemiddelde analyt-S/CO-waarden van respectievelijk 22,90 en 23,37. De CV's voor de laag-positieve en matig-positieve panelonderdelen waren respectievelijk $< 35\%$ en $< 15\%$, met de hoogste waargenomen variatie binnen een testreeks. De IC-S/CO-waarden voor de positieve panelonderdelen zijn niet beoordeeld, omdat de IC-RLU's niet indicatief zijn voor de prestaties van een afzonderlijke reactie in een analyt-positief monster.

Tabel 7: Reproduceerbaarheid Aptima HPV Assay op de DTS-systemen

Panel- onder- deel	Beschrijving	N	% positief	Overeen- komst	Gemiddelde S/CO		Variatie-analyse S/CO*											
							Tussen instrumenten		Tussen bedieners		Tussen partijen		Tussen testreeksen		Binnen testreeksen		Totaal	
							SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
1	Neg.	108	0,0	100%	1,92	0,00	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	1,9	0,0	0,7	0,1	5,8	0,1	6,3
2	Laag-pos.	108	99,1	98,1%	n.v.t.	10,68	0,3	2,6	0,0	0,0	0,4	4,1	0,0	0,0	2,0	19,0	2,1	19,6
3	Laag-pos.	108	100	99,1%	n.v.t.	10,65	0,5	4,7	0,0	0,0	0,3	2,5	0,3	3,0	2,4	22,3	2,5	23,1
4	Neg.	108	0,0	100%	1,80	0,00	0,0	2,1	0,0	1,8	0,0	0,2	0,0	0,7	0,1	6,6	0,1	7,2
5	Matig-pos.	107 [^]	100	100%	n.v.t.	8,84	0,2	1,8	0,1	0,8	0,2	2,3	0,0	0,0	0,6	7,2	0,7	7,8
6	Matig-pos.	108	100	100%	n.v.t.	15,75	0,4	2,4	0,4	2,6	1,1	7,0	0,1	0,9	0,6	3,9	1,4	8,7
7	Matig-pos.	107 [^]	100	100%	n.v.t.	22,90	0,7	3,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,1	9,1	2,2	9,7
8	Neg.	108	0,0	100%	1,85	0,00	0,0	0,0	0,0	2,2	0,0	1,1	0,0	1,5	0,1	6,1	0,1	6,8
9	Neg.	108	3,7	96,3%	1,76	0,06	0,0	0,0	0,1	3,6	0,0	0,0	0,0	1,3	0,1	7,5	0,1	8,4
10	Laag-pos.	108	99,1	99,1%	n.v.t.	10,61	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	16,8	1,8	16,8
11	Laag-pos.	108	98,1	98,1%	n.v.t.	9,04	0,0	0,0	0,4	4,1	0,0	0,0	0,9	10,0	2,9	32,6	3,1	34,3
12	Neg.	108	0,0	100%	1,85	0,00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	1,0	0,1	7,6	0,1	7,8
13	Matig-pos.	108	100	100%	n.v.t.	10,99	0,1	1,4	0,1	0,8	0,0	0,2	0,0	0,0	0,4	3,9	0,5	4,2
14	Matig-pos.	108	100	100%	n.v.t.	12,22	0,3	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	12,8	1,6	13,0
15	Matig-pos.	108	100	100%	n.v.t.	23,37	0,7	2,8	0,3	1,5	0,0	0,0	0,1	0,6	2,5	10,5	2,6	11,0
16	Neg.	108	0,9	99,1%	1,79	0,03	0,0	2,3	0,0	1,7	0,0	0,0	0,0	1,1	0,1	7,5	0,1	8,1

*Variatie-analyse IC-S/CO voor de negatieve panels (1, 4, 8, 9, 12, 16), variatie-analyse analyt-S/CO voor de positieve panels (2, 3, 5, 6, 7, 10, 11, 13, 14, 15).

[^]1 ongeldige reactie niet opnieuw getest

S/CO = verhouding signaal tot cut-off

SD = standaardafwijking

n.v.t. = niet van toepassing

Kruisreactiviteit

De analytische specificiteit van het Aptima HPV assay is beoordeeld met PreservCyt-oplossingsmedium verdund in Aptima-monstertransportmedium en met toevoeging van gekweekte bacteriën, gist of schimmels, of van gekweekt virus, of van laag-risico HPV *in-vitro* transcripts. De analytische gevoeligheid is beoordeeld met hetzelfde panel, met toevoeging van een lage concentratie met HPV geïnfecteerde SiHa-cellen (1 cel per reactie). De organismen en testconcentraties worden in Tabel 8 weergegeven. Er is bij geen van de geteste organismen een effect op de specificiteit of gevoeligheid van het Aptima HPV assay waargenomen.

Tabel 8: Panel analytische specificiteit

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

Tabel 8: Panel analytische specificiteit (vervolg)

Organisme	Test-concentratie	Organisme	Test-concentratie
Gist/protozoën			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ cellen/ml
Virussen			
Adenovirus 2	1x10 ⁶ vp/ml	Herpes simplex-virus 1	2,5x10 ⁵ TCID 50/ml
Cytomegalovirus	33 TCID 50/ml	Herpes simplex-virus 2	5x10 ⁴ TCID 50/ml
Epstein-Barr-virus	4x10 ⁷ vp/ml	SV40	1,2x10 ⁴ TCID 50/ml
HIV-1	1,0x10 ⁶ kopieën/ml		
Niet-gezochte HPV-genotypen			
HPV 6	2,5x10 ⁶ kopieën/ml	HPV 53	2,5x10 ⁶ kopieën/ml
HPV 11	2,5x10 ⁶ kopieën/ml	HPV 61	2,5x10 ⁶ kopieën/ml
HPV 42	2,5x10 ⁶ kopieën/ml	HPV 71	2,5x10 ⁶ kopieën/ml
HPV 43	2,5x10 ⁶ kopieën/ml	HPV 81	2,5x10 ⁶ kopieën/ml
HPV 44	2,5x10 ⁶ kopieën/ml		

Interferentie

De in Tabel 9 beschreven stoffen zijn afzonderlijk in hoeveelheden van 1% en 10% v/v of g/v aan PreservCyt-oplossing en Aptima-monstertransportmedium (Specimen Transport Media, STM) toegevoegd, en getest met het Aptima HPV assay. Alle stoffen zijn getest in aan- en afwezigheid van met HPV geïnfecteerde kweekcellen (SiHa, 3 cellen/reactie). Er is geen interferentie waargenomen bij de geteste stoffen, behalve bij twee van de vijf glijmiddelen met polyquaternium 15 in concentraties > 0,025% in het testmonster, en bij een anti-schimmelmedicijn met tioconazol in concentraties > 0,075% in het testmonster.

Tabel 9: Stoffen die getest zijn op mogelijke interferentie met het Aptima HPV Assay

Productcategorie	Merk of type product
Glijmiddel	KY Sensual Mist (v/v)
	KY Warming Jelly (g/v)
	KY Warming Liquid (v/v)
	Astroglide Personal Lubricant*
	Target Brand Lubricating Liquid*
Spermicide	Gynol II Vaginal Contraceptive Original Formula (g/v)
	Gynol II Vaginal Contraceptive Extra Strength (g/v)
	Delfen Vaginal Contraceptive Foam (g/v)
	Encare Vaginal Contraceptive (g/v)
	Conceptrol Vaginal Contraceptive (g/v)
Anti-schimmel/anti-jeukmedicijnen	Vagisil Maximum Strength (g/v)
	Monistat Soothing Care (g/v)
	Monistat 3 Combination Pack (g/v)
	Target Brand Tioconazole 1 (g/v)
	Target Brand Miconazole 3 (g/v)
Perazijnzuur	EMD M/N AX0073-11 (v/v)
Volbloed	Volbloed (v/v)

*Glijmiddelen met polyquaternium 15.

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.^{32,33} 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 verschillende klinische locaties (n = 18) met een grote geografische verdeling en een diverse populatie (10 staten binnen de VS) zijn opgenomen in een prospectief klinisch onderzoek, het CLEAR-onderzoek.³⁴ De prevalentie van HPV-mRNA positieve monsters die in het klinisch onderzoek is waargenomen, is algemeen, op leeftijdsgroep en op testlocatie gecategoriseerd. De resultaten worden in Tabel 10 weergegeven voor de ASC-US-populatie (atypische plaveiselcellen van onbepaalde betekenis, Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance) en de NILM-populatie (negatief voor intra-epitheellaesie of maligniteit, Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy).

Tabel 10: Prevalentie hoog-risico HPV-mRNA op leeftijdsgroep, testlocatie en alles gecombineerd

	% positief (x/n)	
	ASC-US-populatie (≥ 21 jaar)	NILM-populatie (≥ 30 jaar)
Alle	41,8 (400/958)	5,0 (540/10.871)
Leeftijdsgroep (jaar)		
21 tot 29	60,3 (252/418)	n.v.t.
30 tot 39	36,8 (98/266)	6,9 (289/4.199)
≥ 40	18,2 (50/274)	3,8 (251/6.672)
Testlocatie		
1	41,6 (134/322)	4,7 (172/3.682)
2	41,4 (150/362)	5,2 (194/3.702)
3	42,3 (116/274)	5,0 (174/3.487)

n.v.t. = niet van toepassing

Opzet klinisch onderzoek Aptima HPV Assay met ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters

Er is een prospectief, multicenter Amerikaanse klinisch onderzoek, bekend als het CLEAR-onderzoek, uitgevoerd voor het vaststellen van de klinische prestaties van het Aptima HPV assay in de detectie van cervicale intra-epitheliale neoplasie graad 2 of ernstiger baarmoederhalsaandoening (\geq CIN2). Het CLEAR-onderzoek omvatte een basislijnevaluatie en een 3 jaar durende opvolgingsevaluatie.³⁴

CLEAR Trial – Baseline Evaluation

Op basis van cytologieresultaten uit routinematige screening op baarmoederhalskanker zijn vrouwen bij de basislijn van het CLEAR-onderzoek (basislijnfase) 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. Het NILM-onderzoek is opgezet voor het ondersteunen van de claim voor aanvullende screening voor vrouwen van 30 jaar en ouder, aangezien vrouwen in dit leeftijdsbereik met cytologieresultaten groter dan ASC-US onafhankelijk van hun HPV-status colposcopie moeten ondergaan.³⁵

Er zijn vrouwen geanalyseerd uit 18 klinische locaties, vooral verloskundige of gynaecologische klinieken, met een brede geografische verdeling en een diverse populatie. In aanmerking komende vrouwen zijn op basis van hun vloeistofgebaseerde ThinPrep-cytologiemonster in het ASC-US- of het NILM-onderzoek opgenomen. Bij de basislijn werden overgebleven doorverwijzingsmonsters van vrouwen in het ASC-US-onderzoek en in het NILM-onderzoek met zowel het Aptima HPV assay als met een commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test getest.

Alle vrouwen in het ASC-US-onderzoek zijn bij de basislijn 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 overgangszone (willekeurige methode) een biopsie uitgevoerd.

In het NILM-onderzoek zijn vrouwen die positief waren in het Aptima HPV assay en/of de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test, evenals willekeurig geselecteerde vrouwen die bij beide assays negatief waren, voor de basisevaluatie naar colposcopie doorverwezen. De willekeurig geselecteerde vrouwen die voor beide assays negatief waren, zijn opgenomen om te corrigeren voor verificatie-bias met bijgestelde prestatieschattingen die met een multipel-imputatiemethode zijn gemaakt. Van elke vrouw die colposcopie heeft ondergaan, is een ECC-biopt verkregen. Punch-biopten zijn alleen van zichtbare laesies genomen (gerichte methode, 1 biopt per laesie).

De ziektestatus was bepaald door een consensus-histologiebeoordelingspanel, gebaseerd op overeenstemming van tenminste 2 pathologie-experts. De pathologie-experts waren niet op de hoogte van de HPV-status van de vrouw, en ook niet van de cytologiestatus en van elkaars histologiediagnoses. Indien de 3 pathologie-experts niet overeen kwamen, beoordeelde alle 3 de experts coupes onder een meerkoppige microscoop om tot consensus te komen. 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. De klinische prestaties van het Aptima HPV assay werd beoordeeld ten opzichte van de cervicale ziektestatus, zoals bepaald bij de basislijn, voor de detectie van \geq CIN2 en cervicale intra-epitheliale neoplasie graad 3 of

ernstiger baarmoederaandoening (\geq CIN3). Tevens zijn voor directe vergelijking met de resultaten van het Aptima HPV assay de klinische prestaties van de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test bepaald.

CLEAR-onderzoek– Opgvolgingsevaluatie

Vrouwen in het NILN-onderzoek uit 14 klinische centra kwamen in aanmerking voor deelname aan de 3 jaar durende opvolgingsfase van het onderzoek indien: i) ze bij de basislijn een colposcopiebezoek hadden en geen \geq CIN2 hadden, of ii) ze hadden geen colposcopiebezoek bij de basislijn. De opvolgingsfase van het onderzoek bestond uit jaarlijkse bezoeken. Bij deze bezoeken werd voor elke vrouw cervicale monsters afgenomen voor cytologie, en sommige vrouwen werden getest met een commercieel beschikbare HPVtest. Vrouwen met ASC-US of meer ernstige cytologieresultaten tijdens de opvolgingsperiode werden doorverwezen naar colposcopie, gebruikmakend van dezelfde biopsie en histologische onderzoeksprocedures die werden uitgevoerd tijdens de basislijnevaluatie van het NILM-onderzoek. Cervicale ziektestatus tijdens een opvolgingsbezoek werd als 'negatief' beschouwd op basis van NILM-cytologie of, voor vrouwen met afwijkende cytologie, op basis van normale resultaten of resultaten van een CIN1 consensus-histologiebeoordelingspanel. Vrouwen met \geq CIN2, gedetecteerd tijdens de opvolgingsperiode, werden beschouwd als voltooid voor opvolging en woonden geen bezoeken bij nadat \geq CIN2 gedetecteerd was. Vrouwen bij wie geen \geq CIN2 gedetecteerd was tijdens de opvolgingsperiode maar die in opvolgingsjaar 1 en/of opvolgingsjaar 2 een onderzoeksbezoek aflegden en die in opvolgingsjaar 3 een onderzoeksbezoek aflegden, werden beschouwd als voltooid voor opvolging.

De doelstelling van het opvolgingsonderzoek was het vergelijken van het cumulatieve risico na 3 jaar op cervicale ziekte bij vrouwen met positieve Aptima HPV assay-resultaten bij de basislijn met het cumulatieve risico na 3 jaar op cervicale ziekte bij vrouwen met negatieve Aptima HPV assay-resultaten bij de basislijn. De cervicale ziektestatus na 3 jaar werd als volgt bepaald:

- Positieve cervicale ziektestatus (\geq CIN2 en/of \geq CIN3) – vrouwen bij wie \geq CIN2 gedetecteerd werd tijdens basislijn of opvolging.
- Negatieve cervicale ziektestatus ($<$ CIN2) – vrouwen die opvolging voltooid hadden zonder detectie van \geq CIN2 en van wie niet gedacht werd een 'onbepaalde' cervicale ziektestatus te hebben.
- Onbepaalde cervicale ziektestatus – vrouwen die afwijkende resultaten hadden op de cytologietest tijdens opvolging en die geen daaropvolgend consensusresultaat van het histologiebeoordelingspanel, of vrouwen met onvoldoende cytologie tijdens hun laatste bezoek.
- Verloren voor opvolging – vrouwen die opvolging niet voltooiden en van wie men niet dacht dat ze een 'onbepaalde' cervicale ziektestatus hadden.

Klinische prestatie van de Aptima HPV assay voor detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 werd geëvalueerd ten opzichte van de cervicale ziektestatus na 3 jaar.

Prestaties Tigris DTS System Assay

ASC-US-populatie van ≥ 21 jaar: Klinische prestaties Aptima HPV Assay met ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters

In totaal zijn 1.252 vrouwen van 21 jaar en ouder met ASC-US-cytologieresultaten in het ASC-US- onderzoek opgenomen. Hiervan zijn 294 vrouwen teruggetrokken en hadden 19 vrouwen een onbepaalde ziektediagnose. Deze zijn allen uit de analyse gehouden. De overgebleven 939 beoordeelbare vrouwen waren 21 jaar en ouder, met ASC-US-cytologieresultaten, Aptima HPV assay-resultaten en duidelijke ziektestatus. Eenennegentig (91) vrouwen hadden \geq CIN2 en eenenveertig (41) \geq CIN3. De prevalentie van \geq CIN2 en \geq CIN3 in beoordeelbare vrouwen met ASC-US-cytologieresultaten was respectievelijk 9,7% en 4,4%. De resultaten van het Aptima HPV assay vergeleken met de diagnoses uit het consensus-histologiebeoordelingspanel vindt u in Tabel 11.

Tabel 11: ASC-US-populatie van ≥ 21 jaar: de resultaten van het Aptima HPV Assay op diagnoses uit het consensus-histologiebeoordelingspanel

Aptima HPV Assayresultaat*	HPV-DNA-test	Diagnose consensus-histologiebeoordelingspanel						Totaal
		Onbepaald**	Normaal	CIN1	CIN2	CIN3	Kanker	
Positief	Positief	6	170	113	41	32	1	363
Positief	Negatief	0	7	0	1	2	0	10
Positief	Geen resultaat***	0	14	11	0	2	0	27
Negatief	Positief	0	47	13	2	3	0	65
Negatief	Negatief	10	371	55	6	1	0	443
Negatief	Geen resultaat***	3	40	7	0	0	0	50
Totaal		19	649	199	50	40	1****	958

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

**19 proefpersonen 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 bioptglaasjes verloren gegaan (n = 1).

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

****Eén proefpersoon had adenocarcinoma in situ (AIS).

In Tabel 12 worden de geschatte klinische prestaties van het Aptima HPV assay, inclusief gevoeligheid, specificiteit, positief voorspellende waarde (Positive Predictive Value, PPV) en negatief voorspellende waarde (Negative Predictive Value, NPV) voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 op basis van beoordeling van alle biopten en van alleen gerichte biopten weergegeven, alsmede de schattingen voor de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test.

Tabel 12: ASC-US-populatie van ≥ 21 jaar: De prestaties van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3.

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

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

**Het consensus-histologieresultaat is alleen afgeleid van resultaten van gerichte biopten. Vrouwen zonder gerichte biopten representeren een normale colposcopie en zijn als niet-ziek (<CIN2 of <CIN3, zoals van toepassing) in de analyses opgenomen. Er werd niet altijd een consensus bereikt als alleen gerichte biopten werden meegenomen.

Bij beoordeling van alle biopten waren de schattingen van de klinische gevoeligheid van het Aptima HPV assay en de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test, waarbij beide assayresultaten beschikbaar waren voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3, gelijksoortig (het verschil in geschatte gevoeligheid was niet statistisch significant: gevoeligheidsverschil = - 2,3% [95% CI: - 9,5%, 4,8%]). De schattingen van de klinische gevoeligheid van het Aptima HPV assay voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 waren hoger dan die voor de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test (de verschillen in geschatte gevoeligheid waren statistisch significant). Het verschil in specificiteit voor \geq CIN2 was 6,8% (95% CI: 4,9%, 9,0%). De NPV's waren vergelijkbaar, maar voor de detectie van \geq CIN2 was de PPV voor het Aptima HPV assay licht hoger dan de PPV voor de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test (20,1% tegenover 18,7%).

Van de 91 \geq CIN2-gevallen werden er 60 (65,9%) geïdentificeerd in gerichte biopten en 31 (34,1%) uit willekeurige en/of ECC-biopten (dus niet in gerichte biopten). Deze bevindingen zijn vergelijkbaar met de resultaten van gepubliceerde onderzoeken, waarin circa 25 tot 40% van de gevallen van \geq CIN2 werden geïdentificeerd uit alleen willekeurige en/of ECC-biopten.^{36,37} Met gebruik van alleen gerichte biopten voor het vaststellen van de ziektestatus (aangenomen dat vrouwen zonder gerichte biopten normale histologieresultaten hadden, omdat er geen zichtbare laesies aanwezig waren), was de prevalentie van \geq CIN2 en \geq CIN3 in het onderzoek respectievelijk 6,4% en 3,1%. De schattingen van de klinische gevoeligheid voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 waren voor beide tests hoger met alleen gerichte biopten dan wanneer de schattingen met alle biopten werden berekend. Voor beide assays was de klinische specificiteit met alleen gerichte biopten vergelijkbaar met de specificiteit die met beoordeling van alle biopten werd verkregen. Bij gebruik van alleen gerichte biopten was de specificiteit van het Aptima HPV assay dan ook significant hoger dan die van de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test.

De geschatte klinische prestaties van het Aptima HPV assay en van de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test worden op leeftijdsgroep weergegeven in Tabel 13 en Tabel 14 (respectievelijk \geq CIN2 en \geq CIN3, gebaseerd op beoordeling van alle biopten).

Tabel 13: ASC-US-populatie van ≥ 21 jaar: De prestaties van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test voor de detectie van \geq CIN2 op leeftijdsgroep

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

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

Tabel 14: ASC-US-populatie van ≥ 21 jaar: De prestaties van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test voor de detectie van \geq CIN3 op leeftijdsgroep

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

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

In Tabel 15 worden het absolute ziekterisico (\geq CIN2 en \geq CIN3, gebaseerd op beoordeling van alle biopten) op Aptima HPV assay-resultaat, en het relatieve ziekterisico voor positieve versus negatieve Aptima HPV assay-resultaten weergegeven, evenals de schattingen voor de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test. Het relatieve risico van \geq CIN2 was 9,1 (95% CI: 5,0, 16,5), wat betekent dat een vrouw die Aptima HPV assay-positief was, 9,1 keer waarschijnlijker \geq CIN2 heeft dan een vrouw die Aptima HPV assay-negatief was. Het relatieve risico van \geq CIN3 was 12,8 (95% CI: 4,6, 35,6).

Tabel 15: ASC-US-populatie van \geq 21 jaar: Het absolute en relatieve risico op \geq CIN2 en \geq CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test

	Assayresultaat	Aptima HPV Assay N = 939		HPV-DNA-test N = 865*	
		Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
\geq CIN2	Positief	20,1 (79/394) (18,1, 22,0)	9,1 (5,0, 16,5)	18,7 (79/422) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Negatief	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)		2,3 (10/443) (1,2, 3,8)	
	Prevalentie (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
\geq CIN3	Positief	9,4 (37/394) (8,1, 10,4)	12,8 (4,6, 35,6)	8,5 (36/422) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Negatief	0,7 (4/545) (0,2, 1,7)		0,7 (3/443) (0,2, 1,7)	
	Prevalentie (%)	4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	

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

Het geschatte absolute en relatieve ziekterisico (\geq CIN2 en \geq CIN3, gebaseerd op beoordeling van alle biopten) van het Aptima HPV assay en van de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test wordt op leeftijdsgroep weergegeven in Tabel 16.

Tabel 16: ASC-US-populatie van ≥ 21 jaar: Het absolute en relatieve risico op \geq CIN2 en \geq CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test op leeftijdsgroep

	Leeftijd	Assayresultaat	Aptima HPV Assay N = 939		HPV-DNA-test N = 865*	
			Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
\geq CIN2	21 tot 29 jaar		N = 415		N = 389	
		Positief	22,0 (55/250) (19,6, 24,2)	6,1 (2,7, 13,7)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)
		Negatief	3,6 (6/165) (1,5, 7,0)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalentie (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 tot 39 jaar		N = 262		N = 239	
		Positief	18,9 (18/95) (14,7, 22,7)	15,8 (3,8, 66,7)	16,0 (16/100) (11,8, 19,6)	5,6 (1,9, 16,1)
		Negatief	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalentie (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)	
	≥ 40 jaar		N = 262		N = 237	
Positief		12,2 (6/49) (5,8, 18,4)	6,5 (1,9, 22,2)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,2)	
Negatief		1,9 (4/213) (0,6, 3,4)		1,6 (3/184) (0,4, 3,4)		
Prevalentie (%)		3,8 (10/262)		4,2 (10/237)		
\geq CIN3	21 tot 29 jaar		N = 415		N = 389	
		Positief	10,4 (26/250) (8,9, 11,4)	17,2 (2,4, 125)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Niet berekenbaar
		Negatief	0,6 (1/165) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalentie (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 tot 39 jaar		N = 262		N = 239	
		Positief	8,4 (8/95) (5,2, 10,4)	14,1 (1,8, 111)	7,0 (7/100) (3,9, 9,1)	4,9 (1,0, 22,9)
		Negatief	0,6 (1/167) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalentie (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)	
	≥ 40 jaar		N = 262		N = 237	
Positief		6,1 (3/49) (1,6, 10,2)	6,5 (1,1, 38,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,9 (1,6, 122)	
Negatief		0,9 (2/213) (0,1, 2,0)		0,5 (1/184) (0,0, 1,8)		
Prevalentie (%)		1,9 (5/262)		2,1 (5/237)		

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

NILM-populatie van ≥ 30 jaar: Klinische prestaties Aptima HPV Assay met ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters bij basislijn

In totaal zijn 11.644 vrouwen met NILM-cytologieresultaten in het NILM-onderzoek opgenomen. Hiervan zijn 773 vrouwen teruggetrokken en uit de basislijnevaluatie gehouden. De overgebleven 10.871 beoordeelbare vrouwen waren 30 jaar en ouder, met NILM-cytologieresultaten en Aptima HPV assay-resultaten. Van de 540 vrouwen met positieve Aptima HPV assay-resultaten ondergingen er 335 colposcopie bij de basislijn. Van de 10.331 vrouwen met negatieve Aptima HPV assay-resultaten ondergingen er 530 colposcopie bij de basislijn. Twintig (20) vrouwen hadden \geq CIN2 en elf (11) \geq CIN3. 799 vrouwen hadden normale/CIN1-histologie. 46 vrouwen hadden een onbepaalde ziektestatus. De resultaten van het Aptima HPV assay vergeleken met de diagnoses uit het consensus-histologiebeoordelingspanel bij de basislijn vindt u in Tabel 17.

Tabel 17: NILM-populatie van ≥ 30 jaar: De resultaten van het Aptima HPV Assay en een HPV DNAtest door de diagnoses uit het consensus-histologiebeoordelingspanel bij de basislijn

Aptima HPV Assay- resultaat*	HPV-DNA- test	Diagnose consensus-histologiebeoordelingspanel						
		Onbepaald	Normaal	CIN1	CIN2	CIN3	Kanker	Totaal
Positief	Positief	11	212	11	4	7	2	247
Positief	Negatief	7	59	0	1	0	1	68
Positief	Geen resultaat**	3	16	1	0	0	0	20
Negatief	Positief	10	170	8	2	1	0	191
Negatief	Negatief	15	313	9	1	0	0	338
Negatief	Geen resultaat**	0	0	0	1	0	0	1
Totaal		46	770	29	9	8	3***	865

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

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

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

In totaal hadden 10.052 vrouwen een ongeverifieerde (inclusief onbepaalde) ziektestatus bij de basislijn (Tabel 18). 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 verificatie-bias is een multipele-imputatiemethode gebruikt voor het schatten van het aantal vrouwen met ziekte die zouden zijn geïdentificeerd als alle vrouwen colposcopie hadden ondergaan. Zowel voor verificatie-bias gecorrigeerde als ongecorrigeerde prestatieschattingen op basis van de 819 vrouwen met geverifieerde ziektestatus bij de basislijn zijn weergegeven.

Tabel 18: NILM-populatie van ≥ 30 jaar: Classificatie van beoordeelbare NILM-vrouwen op Aptima HPV Assay- en HPV-DNA-testresultaten, ziektestatus (\geq CIN2 en \geq CIN3) en ziekteverificatiestatus bij de basislijn

Aptima HPV 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)
Positief	Positief	360	13	223	9	227	124 (34,4%)
Positief	Negatief	150	2	59	1	60	89 (59,3%)
Positief	Geen resultaat**	30	0	17	0	17	13 (43,3%)
Negatief	Positief	306	3	178	1	180	125 (40,8%)
Negatief	Negatief	9.420	1	322	0	323	9.097 (96,6%)
Negatief	Geen resultaat**	605	1	0	0	1	604 (99,8%)
Totaal		10.871	20	799	11	808	10.052 (92,5%)

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

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

De gecorrigeerde prevalentie van \geq CIN2 en \geq CIN3 in vrouwen met NILM-cytologieresultaten was respectievelijk 0,9% en 0,4%. Het gecorrigeerde, geschatte absolute en relatieve risico van detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 bij de basislijn wordt in Tabel 19 weergegeven. Het gecorrigeerde relatieve risico van \geq CIN2 was 8,1 (95% CI: 2,3, 28,1), wat betekent dat een vrouw die Aptima HPV assay-positief was, 8,1 keer waarschijnlijker \geq CIN2 heeft dan een vrouw die Aptima HPV assay-negatief was. Het gecorrigeerde relatieve risico van \geq CIN3 was 34,5 (95% CI: 2,7, 443,3). Het ongecorrigeerde, geschatte absolute en relatieve risico van detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 bij de basislijn wordt in Tabel 20 weergegeven en op leeftijdsgroep in Tabel 21.

Tabel 19: NILM-populatie van \geq 30 jaar: Het absolute en relatieve risico op \geq CIN2 en \geq CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test (voor verificatie-bias gecorrigeerde schattingen) bij de basislijn

Assayresultaat		Aptima HPV Assay		HPV-DNA-test	
		Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
\geq CIN2	Positief	4,7 (2,9, 7,6)	8,1 (2,3, 28,1)	3,7 (2,3, 6,0)	7,3 (1,6, 33,4)
	Negatief	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalentie (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Positief	3,3 (1,4, 7,6)	34,5 (2,7, 443,3)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,4)
	Negatief	0,1 (0,0, 1,6)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalentie (%)	0,4		0,4	

Tabel 20: NILM-populatie van \geq 30 jaar: Het absolute en relatieve risico op \geq CIN2 en \geq CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test (ongecorrigeerde schattingen) bij de basislijn

Assayresultaat		Aptima HPV Assay N = 819		HPV-DNA-test N = 801*	
		Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
\geq CIN2	Positief	4,8 (15/314) (3,4, 5,8)	4,8 (1,8, 13,1)	3,8 (16/417) (2,9, 4,4)	4,9 (1,4, 16,7)
	Negatief	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalentie (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
\geq CIN3	Positief	3,2 (10/314) (2,2, 3,7)	16,1 (2,1, 125)	2,4 (10/417) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,6)
	Negatief	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalentie (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

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

Tabel 21: NILM-populatie van ≥ 30 jaar: Het absolute en relatieve risico op \geq CIN2 en \geq CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test op leeftijdsgroep (ongecorrigeerde schattingen) bij de basislijn

	Leeftijd	Assayresultaat	Aptima HPV Assay N = 819		HPV-DNA-test N = 801*	
			Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
\geq CIN2	30 tot 39 jaar		N = 384		N = 377	
		Positief	4,8 (8/167) (2,1, 9,2)	10,4 (1,3, 82,3)	3,2 (7/216) (1,3, 6,6)	2,6 (0,5, 12,4)
		Negatief	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		1,2 (2/161) (0,2, 4,4)	
		Prevalentie (%)	2,3 (9/384)		2,4 (9/377)	
	≥ 40 jaar		N = 435		N = 424	
		Positief	4,8 (7/147) (1,9, 9,6)	3,4 (1,0, 11,5)	4,5 (9/201) (2,1, 8,3)	10,0 (1,3, 78,1)
		Negatief	1,4 (4/288) (0,4, 3,5)		0,4 (1/223) (0,0, 2,5)	
		Prevalentie (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
\geq CIN3	30 tot 39 jaar		N = 384		N = 377	
		Positief	3,0 (5/167) (1,0, 6,8)	6,5 (0,8, 55,1)	2,3 (5/216) (0,8, 5,3)	3,7 (0,4, 31,6)
		Negatief	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		0,6 (1/161) (0,0, 3,4)	
		Prevalentie (%)	1,6 (6/384)		1,6 (6/377)	
	≥ 40 jaar		N = 435		N = 424	
		Positief	3,4 (5/147) (1,1, 7,8)	Niet berekenbaar	2,5 (5/201) (0,8, 5,7)	Niet berekenbaar
		Negatief	0,0 (0/288) (0,0, 1,3)		0,0 (0/223) (0,0, 1,6)	
		Prevalentie (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

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

In Tabel 22 worden de gecorrigeerde, geschatte klinische prestaties van het Aptima HPV assay, inclusief gevoeligheid, specificiteit, PPV en NPV voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 weergegeven, alsmede de schattingen voor de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test. Ongecorrigeerde schattingen van de klinische prestaties worden weergegeven in Tabel 23. De gevoeligheid van het Aptima HPV assay en van de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test waren vergelijkbaar, terwijl de specificiteit significant hoger was voor het Aptima HPV assay (niet-overlappende 95% CI's). De schattingen voor de voorspellende waarde van het Aptima HPV assay waren klinisch relevant en vergelijkbaar met de schattingen voor de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test. De NPV's waren vergelijkbaar, maar voor de detectie van \geq CIN2 was de PPV voor het Aptima HPV assay licht hoger dan de PPV voor de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test (4,7% tegenover 3,7%).

Tabel 22: NILM-populatie van \geq 30 jaar: De prestaties van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 (voor verificatie-bias gecorrigeerde schattingen) bij de basislijn

	Prestaties	Aptima HPV Assay		HPV-DNA-test	
		Schatting	(95% CI)	Schatting	(95% CI)
\geq CIN2	Gevoeligheid (%)	31,0	(5,9, 56,1)	35,4	(3,8, 66,9)
	Specificiteit (%)	95,2	(94,8, 95,6)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,7	(2,9, 7,6)	3,7	(2,3, 6,0)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Prevalentie (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Gevoeligheid (%)	61,5	(14,0, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Specificiteit (%)	95,2	(94,8, 95,6)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,3	(1,4, 7,6)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,4, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prevalentie (%)	0,4		0,4	

Tabel 23: NILM-populatie van ≥ 30 jaar: De prestaties van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test voor de detectie van ≥CIN2 en ≥CIN3 (ongecorrigeerde schattingen) bij de basislijn

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

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

Een directe vergelijking van het Aptima HPV assay met de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test laat een gelijksoortige gevoeligheid zien en een statistisch significant verbeterde specificiteit van het Aptima HPV assay ten opzichte van de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test voor detectie van \geq CIN2, zoals blijkt uit de verhoudingen van echt- en vals-positieven (respectievelijk Tabel 24 en Tabel 25).

Tabel 24: NILM-populatie van \geq 30 jaar: Verhouding van echt-positieven (Aptima HPV Assay/HPV-DNA-test) voor vrouwen met \geq CIN2 (ongecorrigeerde schattingen) bij de basislijn

		HPV-DNA-test		Totaal
		Positief	Negatief	
Aptima HPV Assay	Positief	13	2	15 (78,9%)
	Negatief	3	1	4
	Totaal	16 (84,2%)	3	19
Verhouding van echt-positieven = 0,94 (15/16) (95% CI: 0,67, 1,20)				

Tabel 25: NILM-populatie van \geq 30 jaar: Verhouding van vals-positieven (Aptima HPV Assay/HPV-DNA-test) voor vrouwen met $<$ CIN2 (ongecorrigeerde schattingen) bij de basislijn

		HPV-DNA-test		Totaal
		Positief	Negatief	
Aptima HPV Assay	Positief	223	59	282 (36,1%)
	Negatief	178	322	500
	Totaal	401 (51,3%)	381	782
Verhouding van vals-positieven = 0,70 (282/401) (95% CI: 0,64, 0,77)				

NILM-populatie = 30 jaar: Aptima HPV assay klinische prestatie na 3 jaar opvolging

Er waren 10.854 evalueerbare vrouwen van 30 jaar of ouder met NILM cytologieresultaten en geldige Aptima HPV assay-resultaten bij de basislijn die in aanmerking kwamen voor de opvolgingsfase. Van de vrouwen zonder \geq CIN2, voltooidde 66,9% (7251/10.834) van de vrouwen na 1 jaar opvolging een papuitstrijkbezoek, 60,2% (6.522/10.825) na jaar 2, en 58,6% (6344/10.818) na jaar 3. In het algemeen voltooidde 58,8% (6380/10.854) van de vrouwen het onderzoek (hadden \geq CIN2 bij de basislijn of tijdens opvolging, en/of voltooiden vereiste bezoeken).

Van de 10.854 vrouwen hadden 540 (5,0%) positieve Aptima HPV assay testresultaten. Van deze 540 vrouwen hadden 263 (48,7%) ofwel positieve of negatieve ziektestatus na 3 jaar op basis van cytologie of colposcopie-/biopsieresultaten. De resterende 10.314 vrouwen waren negatief voor Aptima HPV assay-resultaten bij de basislijn. Van deze 10.314 vrouwen hadden 5943 (57,6%) ofwel positieve of negatieve ziektestatus na 3 jaar. Van de 6206 vrouwen met ziektestatus na 3 jaar, hadden 47 vrouwen \geq CIN2, inclusief 47 \geq CIN3; 6159 vrouwen hadden normale/CIN1, bepaald door het Consensus-histologiebeoordelingspanel. De basislijnresultaten van de Aptima HPV assay en een commercieel beschikbaar HPV DNA-assay, en de ziektestatus na 3 jaar (inclusief basislijn en opvolgingsevaluatie), bepaald door het consensus-histologiebeoordelingspanel, worden in Tabel 26 weergegeven..

Tabel 26: NILM-populatie = 30 jaar: classificatie van vrouwen die in aanmerking komen voor de opvolgingsfase volgens de basislijnresultaten op de Aptima HPV assay, de Aptima HPV assay-resultaten, basislijn HPV DNA-testresultaten en ziektestatus (\geq CIN2, \geq CIN3, niet geverifieerd) zoals bepaald in de basislijn en opvolgingsfasen.

Resultado no Aptima HPV Assay	Teste de DNA do HPV	Total de Mulheres	Estado de Doença Verificado: \geq CIN2		Estado de Doença Verificado: \geq CIN3		Estado de Doença Não Verificado	
			Mulheres Doentes (\geq CIN2)	Mulheres Não Doentes (<CIN2)	Mulheres Doentes (\geq CIN3)	Mulheres Não Doentes (<CIN3)	Perdidas para Acompanhamento	Indeterminado*
Positivo	Positivo	360	22	154	15	161	165	19
Positivo	Negativo	150	2	72	1	73	68	8
Positivo	Sem Resultado**	30	2	11	1	12	14	3
Negativo	Positivo	304	6	146	3	149	133	19
Negativo	Negativo	9,405	14	5,455	3	5,466	3,735	201
Negativo	Sem Resultado**	605	1	321	0	322	269	14
Total		10,854	47	6,159	23	6,183	4,384	264

*Vrouwen die afwijkende cytologietestresultaten hebben tijdens opvolging en die geen daaropvolgend consensusresultaat van het histologiebeoordelingspanel, en vrouwen met onvoldoende cytologie bij hun laatste bezoek. 174 vrouwen met onbepaalde ziektestatus voltooiden de opvolging volgens het protocol.

**635 vrouwen met Aptima HPV testresultaten hadden geen HPV DNA-testresultaten, voornamelijk omwille van onvoldoende volume cytologisch monstermateriaal.

Het cumulatief ziekterisico na 3 jaar (\geq CIN2 en \geq CIN3) is gebaseerd op een Kaplan-Meierschatting (tabelonderzoek) en omvat ziekte die gedetecteerd is bij de basislijn of tijdens opvolging. Vrouwen die enige ziekte-indicatie toonden (ASC-US of meer ernstige cytologieresultaten) maar zonder consensusresultaat van het histologiebeoordelingspanel werden opgenomen in de analyse door een methode met meervoudige berekening om het aantal vrouwen te voorspellen met ziekte die geïdentificeerd zouden geweest zijn moesten de vrouwen een colposcopie ondergaan hebben.

De cumulatieve absolute en relatieve risicoschattingen voor detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 worden in Tabel 27 getoond.

Tabel 27: NILM-populatie = 30 jaar: classificatie van vrouwen die in aanmerking komen voor de opvolgingsfase volgens de basislijnresultaten op de Aptima HPV assay, de Aptima HPV assay-resultaten, basislijn HPV DNA-testresultaten en ziektestatus (\geq CIN2, \geq CIN3, niet geverifieerd) zoals bepaald in de basislijn en opvolgingsfasen.

	Resultado do Ensaio	Aptima HPV Assay		Teste de ADN HPV	
		Risco Absoluto (95% CI)	Risco Relativo (95% CI)	Risco Absoluto (95% CI)	Risco Relativo (95% CI)
\geq CIN2	Positivo	7,39 (5,12, 10,59)	22,55 (12,68, 40,10)	6,42 (4,50, 9,13)	22,71 (12,19, 42,29)
	Negativo	0,33 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Prevalência (%)	0,68		0,68	
\geq CIN3	Positivo	4,66 (2,94, 7,36)	44,12 (16,91, 115,10)	4,14 (2,62, 6,52)	51,33 (17,74, 148,55)
	Negativo	0,11 (0,04, 0,25)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Prevalência (%)	0,34		0,35	

*De cumulatieve risico's na 3 jaar, aangepast voor andere mogelijke vertekeningen, waren gelijkaardig aan de risico's in deze tabel. Omwille van verwachte verschillen in risico's na 1 jaar en na 2 jaar voor de twee groepen vrouwen in het opvolgingsonderzoek (deze met colposcopie bij de basislijn en deze zonder colposcopie bij de basislijn), werd enkel het cumulatieve risico na 3 jaar gemeld voor de gecombineerde groepen.

Het cumulatief voorkomen na 3 jaar van \geq CIN2 en \geq CIN3 bij vrouwen met NILM cytologieresultaten bedroeg respectievelijk 0,68% en 0,34%. Het relatieve risico op \geq CIN2 bedroeg 22,55 (95% BI: 12,68; 40,10), wat aangeeft dat een vrouw die positief is voor het Aptima HPV assay 22,55 maal meer kans heeft om \geq CIN2 dan een vrouw die negatief is voor het Aptima HPV assay. Het relatieve risico op \geq CIN3 be 44.12 (95% CI: 16.91, 115.10).

Klinische prestaties van het Aptima HPV Assay met SurePath-vloeistofcytologiemonsters

SurePath-monsters behandeld met Aptima-overdracht oplossing

Er werden SurePath-vloeistofcytologiemonsters afgenomen bij Canadese vrouwen (n = 558) 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-monsteroverdrachtbuis en vervolgens behandeld met de Aptima-overdracht oplossing. Elk monster werd in enkelvoud getest met het Aptima HPV assay. Van elk monster werd een apart aliquot (1 ml) genomen voor evaluatie met een commercieel verkrijgbare HPV-PCR-test. De klinische gevoeligheid wat betreft de detectie van ziekte, gedefinieerd als een histologische uitslag \geq CIN3, werd berekend voor zowel het Aptima HPV assay als de HPV-PCR-test, zoals getoond in Tabel 28, met de positief en negatief voorspellende waarden.

Tabel 28: Prestaties van het Aptima HPV Assay en een HPV-PCR-test wat betreft de detectie van \geq CIN3

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

Tabel 29: Gevoeligheid Aptima HPV Assay met SurePath- en ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters

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

Prestaties Aptima HPV Assay met baarmoedermonstername en transport-monsters

Er zijn gekoppelde ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters en Aptima CSCT-pakketmonsters verzameld van 735 proefpersonen. Eén milliliter (1,0 ml) van elk ThinPrep-vloeistofcytologiemonster is verdund in 2,9 ml Aptima-monstertransportmedium, en één replicaat is met het Aptima HPV assay op de Tigris DTS Systems getest. Tevens is met het Aptima HPV assay één replicaat van elk CSCT-monster getest. Het overeenkomstpercentage tussen het Aptima HPV assay van het ThinPrep-vloeistofcytologiemonster en dat van het CSCT-monster is bepaald, en wordt in Tabel 30 weergegeven.

Het percentage positieve overeenkomst was 95,9% (95% CI: 92,6-97,8). Het percentage negatieve overeenkomst was 95,5% (95% CI: 93,3-97,0). En de totale overeenkomst was 95,6% (95% CI: 93,9-96,9). Er was een sterke correlatie tussen de vloeistofcytologie- en transportpakketmonsters ($\kappa = 0,90$)

Tabel 30: De totale overeenkomst van Aptima HPV Assay-resultaten van ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters en die van monsters van het Aptima-pakket voor verzameling en transport van baarmoedermonsters getest op het Tigris DTS System

		ThinPrep-vloeistofcytologiemonster		Totaal
		Positief	Negatief	
Aptima CSCT-pakketmonster	Positief	234	22	256
	Negatief	10	469	479
	Totaal	244	491	735

Positieve overeenkomst = 95,9% (92,6-97,8)
 Negatieve overeenkomst = 95,5% (93,3-97,0)
 Totale overeenkomst = 95,6% (93,9-96,9)
 Kappa-coëfficiënt = 0,90

Gevoeligheid analyse

De detectielimiet (Limit of Detection, LOD) bij de klinische cutoff is de concentratie HPV RNA die in 95% van de gevallen een positief resultaat oplevert (boven de klinische cutoff). De LOD van het Aptima HPV assay is bepaald door middel van het testen van verdunningspanelen van *in-vitro* transcripts (IVT) voor alle 14 hoog-risico genotypen en 4 HPV-geïnfecteerde cellijnen: SiHa, HeLa, MS751 en ME180 (ATCC, Manassas, Virginia). Voor de IVT-panelen is aan monstertransportmedium IVT in diverse concentraties toegevoegd en het aldus verkregen medium is vervolgens voorafgaand aan het testen verdund met afzonderlijke negatieve ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters. Voor de HPV-geïnfecteerde celpanelen zijn aan gepoolde HPV-negatieve vloeistofcytologiemonsters HPV-geïnfecteerde cellen in diverse concentraties toegevoegd en de aldus verkregen pools zijn vervolgens voorafgaand aan het testen verdund met monstertransportmedium. Met elk van twee reagenspartijen zijn voor een totaal van 60 replicaties dertig replicaties van elk kopieniveau getest. Testen zijn gedurende 14 dagen uitgevoerd, met 1 tot 12 testreeksen per dag, waarbij in elke reeks 5 replicaties van een bepaald genotype en concentratie zijn getest. De 95%-detectielimiet is berekend uit de Probit-regressieanalyse van de positieve resultaten voor elke verdunningspaneel.

De resultaten van de Probit-analyse, Tabel 31, laten zien dat HPV 16, 18, 31, 33, 35, 38, 45, 58, 59 en 68 95%-detectielimieten van minder dan 100 kopieën/reactie hebben en dat typen 51, 52, 56 en 66 95%-detectielimieten tussen 100 en 300 kopieën/reactie hebben. De vier geteste cellijnen hebben 95%-detectielimieten van minder dan 1 cel/reactie.

Tabel 31: Detectielimiet (Limit of Detection, LOD) bij de klinische cutoff van het Aptima HPV Assay.

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

*Kopieën per reactie voor *in-vitro* transcripts en cellen per reactie voor cellijnen.

Nauwkeurigheid assay

De nauwkeurigheid van het Aptima HPV assay is in twee onderzoeken met hetzelfde panel van 20 onderdelen beoordeeld. Onderzoek 1 is voor het bepalen van de reproduceerbaarheid van het assay op 3 externe testlocaties uitgevoerd. Onderzoek 2 is intern voor het meten van de herhaalbaarheid van het assay uitgevoerd. Het panel bevatte 10 HPV-positieve onderdelen met concentraties op of boven de detectiegrens van het assay (verwachte positiviteit $\geq 95\%$), 4 HPV-positieve onderdelen met concentraties onder de detectiegrens van het assay (verwachte positiviteit $> 0\%$ tot $< 25\%$) en 6 HPV-negatieve onderdelen. HPV-positieve panelonderdelen werden bereid door toevoeging van *in-vitro* RNA-transcripts (IVT) aan monstertransportmedium (STM) of met HPV geïnficeerde kweekcellen (SiHa, HeLa, ME180 en MS751; ATCC, Manassas, Virginia) in PreservCyt-oplossing. HPV-negatieve panelonderdelen zijn bereid met STM of gepoolde ThinPrep-vloeistofcytologiemonsterresten.

In onderzoek 1 voerden 2 bedieners voor elk van 3 reagenspartijen op elk van de 3 testlocaties (1 instrument per locatie) gedurende 3 dagen 1 Aptima HPV assay-werklijst per dag uit. Elke werkljst omvatte 3 replicaties van elk onderdeel van het reproduceerbaarheidspanel. Er zijn voor elk panelonderdeel honderdtweeënzestig (162) afzonderlijke monsterbuisjes getest (3 locaties x 1 instrument x 2 bedieners x 3 partijen x 3 werkljsten 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 werkljsten x 3 replicaties).

De panelonderdelen worden in Tabel 32a (panelonderdelen met verwacht positief resultaat) en Tabel 32b (panelonderdelen met verwacht negatief resultaat) beschreven, met een samenvatting van de overeenkomst met de verwachte resultaten en analyt-S/CO-waarden op de 2,5-, 50- en 97,5-percentielen voor de S/CO-spreiding. De analyt-S/CO-variantie voor de panelonderdelen met verwacht positief resultaat wordt in Tabel 33 weergegeven voor onderzoek 1 en in Tabel 34 voor onderzoek 2.

De positieve overeenkomst voor de HPV-positieve panelonderdelen met concentraties op of boven de detectiegrens van het assay lag voor 9 van de 10 panelonderdelen tussen 95,1 en 100% in onderzoek 1 en tussen 93,2 en 100% in onderzoek 2. Het overgebleven HPV-positieve panelonderdeel gaf 77,2% overeenkomst in onderzoek 1 en 79,0% in onderzoek 2, wat lager was dan verwacht, maar consistent tussen de 2 onderzoeken. De negatieve overeenkomst voor de HPV-sterk negatieve panelonderdelen met concentraties onder de detectiegrens van het assay lag tussen 78,8 en 93,8% in onderzoek 1 en tussen 82,1 en 95,7% in onderzoek 2. De overeenkomst met de verwachte resultaten voor de HPV-negatieve panelonderdelen lag tussen 96,9 en 100% in onderzoek 1 en tussen 96,3 en 100% in onderzoek 2.

Tabel 32a: Reproduceerbaarheidspanel Aptima HPV Assay onderzoek 1 en 2: Beschrijving panel, positieve overeenkomst en percentielverdeling van analyt-S/CO-waarden voor panelonderdelen met verwacht positief resultaat

Beschrijving panel (aantal cellen/reactie)	Onderzoek 1 (3 testlocaties)	Onderzoek 2 (1 testlocatie)
	% positieve overeenkomst (95% CI)	% positieve overeenkomst (95% CI)
HPV 16- en HPV 18-IVT (100 kopieën)	100 (161/161) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-cellen (3 cellen) en HeLa-cellen (7,5 cellen)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18-IVT (100 kopieën)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (160/160) (97,7, 100)
HPV 16-IVT (100 kopieën)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-cellen (1 cel)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)
ME180-cellen (0,3 cellen)	95,1 (154/162) (90,6, 97,5)	93,2 (151/162) (88,3, 96,2)
HPV 18-IVT (30 kopieën)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16-IVT (30 kopieën)	100 (162/162) (97,7, 100)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
HeLa-cellen (2,5 cellen)	100 (162/162) (97,7, 100)	95,6 (152/159) (91,2, 97,9)
SiHa-cellen (1 cel)*	77,2 (125/162) (70,1, 83,0)	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)

IVT = *in-vitro* transcript. IVT is aan STM toegevoegd en de cellen zijn aan PreservCyt-oplossing toegevoegd.

*Verwacht % positieve overeenkomst ~ 95%; lager waargenomen mogelijk vanwege productievaryatie van het panelonderdeel.

Tabel 32b: Reproduceerbaarheid Aptima HPV Assay onderzoek 1 en 2: beschrijving panel, negatieve overeenkomst en percentielverdeling van analyt-S/CO-waarden voor panelonderdelen met verwacht negatief resultaat

Beschrijving panel (aantal cellen/reactie)	Onderzoek 1 (3 testlocaties)	Onderzoek 2 (1 testlocatie)
	% negatieve overeenkomst (95% CI)	% negatieve overeenkomst (95% CI)
HPV 18-IVT (1 kopie)*	78,8 (126/160) (71,8, 84,4)	83,3 (135/162) (76,8, 88,3)
HPV 16-IVT (1 kopie)*	80,9 (131/162) (74,1, 86,2)	88,3 (143/162) (82,4, 92,4)
HeLa-cellen (0,05 cellen)*	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)	82,1 (133/162) (75,5, 87,2)
SiHa-cellen (0,03 cellen)*	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
STM-partij 1	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM-partij 2	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM-partij 3	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
ThinPrep-pool 1	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
ThinPrep-pool 2	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)	96,3 (156/162) (92,2, 98,3)
ThinPrep-pool 3	100 (162/162) (97,7, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

STM = monstertransportmedium, IVT = *in-vitro* transcript. IVT is aan STM toegevoegd en de cellen zijn aan PreservCyt-oplossing toegevoegd.

*Verwacht % negatieve overeenkomst > 75% en < 100%.

Tabel 33: Reproduceerbaarheid Aptima HPV Assay onderzoek 1: signaalvariatie voor panelonderdelen met verwacht positief resultaat

Beschrijving panel (aantal cellen/reactie)	n	Gemid- delde S/CO	Tussen locaties		Tussen bedieners		Tussen partijen		Tussen werklijsten		Binnen werklijsten		Totaal	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV 16- en HPV 18-IVT (100 kopieën)	161 [^]	23,4	0,1	0,4	0,1	0,4	0,9	4,0	0	0	1,6	7,0	1,9	8,1
SiHa-cellen (3 cellen) en HeLa-cellen (7,5 cellen)	162	17,9	0	0	1,4	8,1	0	0	0,6	3,1	5,1	28,6	5,3	29,9
HPV 18-IVT (100 kopieën)	162	11,8	0	0	0	0	0,8	6,4	0,1	0,9	1,2	10,1	1,4	12,0
HPV 16-IVT (100 kopieën)	162	10,8	0,2	1,5	0	0	0,1	1,1	0,3	2,6	0,3	3,1	0,5	4,5
MS751-cellen (1 cel)	162	13,3	0,3	2,1	0	0	1,0	7,8	0,9	7,1	2,2	16,2	2,6	19,4
ME180-cellen (0,3 cellen)	162	6,5	0,2	3,2	0	0	0,6	8,6	0,4	5,5	2,4	36,2	2,5	37,7
HPV 18-IVT (30 kopieën)	162	9,0	0,7	7,3	0	0	0,7	7,2	0,8	8,3	2,3	25,3	2,6	28,5
HPV 16-IVT (30 kopieën)	162	10,8	0,1	0,8	0	0	0,1	1,3	0,4	3,8	0,9	8,4	1,0	9,3
HeLa-cellen (2,5 cellen)	162	12,4	0	0	0,4	3,3	0,4	3,1	0	0	2,3	18,4	2,4	19,0
SiHa-cellen (1 cel)	162	7,5	0,3	3,7	1,0	13,0	0	0	0	0	4,8	63,6	4,9	65,0

SD = standaardafwijking, CV = variatiecoëfficiënt, IVT = *in-vitro* transcript, S/CO = verhouding signaal/cutoff

[^]Eén monster had een ongeldig Aptima HPV assay-resultaat en is niet in de analyse meegenomen.

Opmerking: De variatie van sommige factoren kan numeriek negatief zijn. Dit kan optreden als de variatie door deze factoren erg klein is. In die gevallen worden de SD en CV als 0 weergegeven.

Tabel 34: Reproduceerbaarheid Aptima HPV Assay onderzoek 2: Signaalvariatie voor panelonderdelen met verwacht positief resultaat

Beschrijving panel (aantal cellen/reactie)	n	Gemiddelde S/CO	Tussen instrumenten		Tussen bedieners		Tussen partijen		Tussen werklijsten		Binnen werklijsten		Totaal	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV 16- en HPV 18-IVT (100 kopieën)	162	23,2	0,4	1,5	0,6	2,3	0,8	3,4	0,8	3,4	1,5	6,3	2,0	8,4
SiHa-cellen (3 cellen) & HeLa-cellen (7,5 cellen)	162	18,6	0	0	1,7	9,3	0	0	3,5	18,6	3,7	20,0	5,4	28,9
HPV 18-IVT (100 kopieën)	160 [^]	11,9	0,1	0,6	0,2	1,6	0,8	7,0	0,4	3,6	1,3	11,3	1,7	13,8
HPV 16-IVT (100 kopieën)	162	10,8	0	0	0,1	1,3	0	0	0,2	2,2	0,7	6,1	0,7	6,6
MS751-cellen (1 cel)	162	13,6	0	0	0,6	4,3	0	0	2,5	18,4	2,1	15,2	3,3	24,2
ME180-cellen (0,3 cellen)	162	5,8	0	0	0,6	10,8	0,5	9,4	2,2	36,9	1,7	29,7	2,9	49,5
HPV 18-IVT (30 kopieën)	162	8,8	0,4	4,4	0,5	6,0	0,7	7,9	1,0	11,5	1,9	21,4	2,4	26,6
HPV 16-IVT (30 kopieën)	162	10,5	0	0	0,1	1,3	0,2	2,0	1,6	14,9	1,2	11,2	2,0	18,8
HeLa-cellen (2,5 cellen)	159 [^]	12,0	0,6	5,1	1,0	8,5	0	0	2,8	23,8	2,0	16,6	3,7	30,6
SiHa-cellen (1 cel)	162	7,4	0,9	12,5	0	0	0,7	9,3	1,8	24	4,2	56,8	4,7	63,8

SD = standaardafwijking, CV = variatiecoëfficiënt, IVT = *in-vitro* transcript, S/CO = verhouding signaal/cutoff

[^]Vijf monsters hadden ongeldige Aptima HPV assay-resultaten (2 voor HPV 18-IVT (100 kopieën), 3 voor HeLa-cellen (2,5 cellen)) en zijn niet in de analyse meegenomen.

Opmerking: De variatie van sommige factoren kan numeriek negatief zijn. Dit kan optreden als de variatie door deze factoren erg klein is. In die gevallen worden de SD en CV als 0 weergegeven.

Er is tevens een derde onderzoek voor het bepalen van de assayreproduceerbaarheid uitgevoerd door het testen van een panel van 6 onderdelen van gepoolde klinische ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters. Zes unieke pools van overgebleven HPV-negatieve ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters zijn als matrix voorbereid, waarvan twee als HPV-negatieve panelonderdelen zijn getest. Vier unieke pools van HPV-positieve ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters zijn gebruikt voor het maken van de laag- (n = 2) en hoog- (n = 2) HPV-positieve panelonderdelen. De laag-positieve panelonderdelen hadden concentraties op de detectiegrens van het assay (verwachte positiviteit $\geq 95\%$, bepaald voor elke afzonderlijke HPV-positieve pool door het testen van verdunningsreeksen van de pools). De hoog-positieve panelonderdelen hadden concentraties van 1-2 logs boven de geschatte detectiegrens voor elke afzonderlijke HPV-positieve pool (verwachte positiviteit 100%). Van elk panelonderdeel is op de testdag 1 ml in een Aptima-monsteroverdrachtbuis met STM overgebracht. De tests zijn intern door 2 bedieners met 1 reagenspartij op 3 instrumenten uitgevoerd gedurende 6 dagen (3 dagen per bediener), waarbij per dag 2 reeksen zijn getest waarin het panel dubbel is getest.

De panelonderdelen worden in Tabel 35 beschreven met een samenvatting van de overeenkomst met de verwachte resultaten en analyt-S/CO-waarden voor de 2,5-, 50- en 97,5-percentielen van de signaalspreiding. De analyt-S/CO-variantie voor de panelonderdelen met verwacht positief resultaat wordt in Tabel 36 weergegeven.

De overeenkomst was 100% voor de HPV-hoogpositieve panelonderdelen, $\geq 98,6\%$ voor the HPV-laag-positieve panelonderdelen en $\geq 94,4\%$ voor de HPV-negatieve panelonderdelen.

Tabel 35: Reproduceerbaarheid Aptima HPV Assay onderzoek 3: Beschrijving panel, overeenkomstpercentage

Beschrijving panel	% overeenkomst (95% CI)
Laag-positief 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Laag-positief 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Hoog-positief 1	100 (72/72) (94,9, 100)
Hoog-positief 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Negatief 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Negatief 2	94,4 (68/72) (86,6, 97,8)

Tabel 36: Reproduceerbaarheid Aptima HPV Assay onderzoek 3: Signaalanalyse voor panelonderdelen met verwacht positief resultaat

Beschrijving panel	n	Gemiddelde S/CO	Tussen instrumenten		Tussen bedieners		Tussen partijen		Tussen werkljsten		Binnen werkljsten		Totaal	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Laag-positief 1	72	9,8	0	0	0	0	0	0	2,2	22,8	3,0	30,4	3,7	38,0
Laag-positief 2	72	10,5	0	0	2,2	21,0	0,9	9,0	3,7	35,3	2,7	26,1	5,2	49,5
Hoog-positief 1	72	22,7	1,3	5,6	0	0	0,1	0,5	3,0	13,3	3,7	16,4	5,0	21,9
Hoog-positief 2	72	23,9	0	0	0	0	0	0	2,9	12,3	3,0	12,4	4,2	17,4

SD = standaardafwijking, CV = variatiecoëfficiënt, S/CO = verhouding signaal/cutoff

Opmerking: De variatie van sommige factoren kan numeriek negatief zijn. Dit kan optreden als de variatie door deze factoren erg klein is. In die gevallen worden de SD en CV als 0 weergegeven.

Kruisreactiviteit

De analytische specificiteit van het Aptima HPV assay is beoordeeld met PreservCyt-oplossingsmedium 1:2,9 verdund in STM, met toevoeging van gekweekte bacteriën, gist of schimmels, gekweekt virus, of van laag-risico HPV *in-vitro* transcripts. De organismen en testconcentraties worden in Tabel 37 weergegeven. De onderzoekscriteria voor het beoordelen van het effect van de aanwezigheid van micro-organismen op de specificiteit van het assay zijn op positiviteit gebaseerd. Er is kruisreactiviteit waargenomen met laag-risico HPV-genotypen 26, 67, 70 en 82, maar niet met een van de andere geteste organismen.

Tabel 37: Panel analytische specificiteit: organismen en concentratie zonder kruisreactiviteit

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

Tabel 37: Panel analytische specificiteit: organismen en concentratie zonder kruisreactiviteit (vervolg)

Organisme	Testconcentratie zonder kruisreactiviteit	Organisme	Testconcentratie zonder kruisreactiviteit
Gist/protozoën			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ cellen/ml
Virussen			
Adenovirus 2	1x10 ⁷ vp/ml	Herpes simplex-virus 1	2,5x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
Cytomegalovirus	5,6x10 ² TCID ₅₀ /ml	Herpes simplex-virus 2	5x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Epstein-Barr-virus	4,3x10 ⁶ vp/ml	SV40	1,2 x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
HIV-1	1,0x10 ⁶ kopieën/ml		
Niet-gezochte HPV-genotypen			
HPV 6	2,5x10 ⁶ kopieën/ml	HPV 61	2,5x10 ⁶ kopieën/ml
HPV 11	2,5x10 ⁶ kopieën/ml	HPV 67	1 kopie/ml
HPV 26	2,5 kopieën/ml	HPV 69	2,5x10 ⁶ kopieën/ml
HPV 30	2,5x10 ⁶ kopieën/ml	HPV 70	1 kopie/ml
HPV 34	2,5x10 ⁶ kopieën/ml	HPV 71	2,5x10 ⁶ kopieën/ml
HPV 42	2,5x10 ⁶ kopieën/ml	HPV 73	2,5x10 ⁶ kopieën/ml
HPV 43	2,5x10 ⁶ kopieën/ml	HPV 81	2,5x10 ⁶ kopieën/ml
HPV 44	2,5x10 ⁶ kopieën/ml	HPV 82	1 kopie/ml
HPV 53	2,5x10 ⁶ kopieën/ml	HPV 85	2,5x10 ⁶ kopieën/ml
HPV 54	2,5x10 ⁶ kopieën/ml		

vp = virusdeeltjes

CFU = kolonievormende eenheden

TCID₅₀ = infectieve dosis weefselkweek 50

Opmerking: Vet geeft typen aan waarbij kruisreactiviteit (> 5% positiviteit) is waargenomen bij het testen van concentraties groter dan die in de tabel.

De analytische gevoeligheid van het Aptima HPV assay in aanwezigheid van micro-organismen is beoordeeld met hetzelfde panel dat in Tabel 37 is beschreven, waaraan ook een lage concentratie met HPV geïnfecteerde SiHa-cellen (1 cel per 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 gevoeligheid van het Aptima HPV assay werd niet door een van de geteste organismen beïnvloed.

Interferentie

De in Tabel 38 beschreven stoffen zijn afzonderlijk in hoeveelheden van 1% en 10% v/v of g/v aan PreservCyt-oplossing toegevoegd en met STM verdund, en vervolgens getest met het Aptima HPV assay. Alle stoffen zijn getest in aan- en afwezigheid van met HPV geïnfecteerde kweekcellen (SiHa, 3 cellen/reactie). Interferentie is waargenomen met twee van de zeven glijmiddelen die polyquaternium 15 bevatten, en met een van de vijf anti-schimmelmedicijnen die tioconazol bevatten. Er is geen interferentie waargenomen met een van de overige geteste stoffen.

Tabel 38: Stoffen die getest zijn op mogelijke interferentie met het Aptima HPV Assay

Productcategorie	Merk of type product	Hoogste geteste concentratie* die de assayprestaties niet beïnvloedde
Glijmiddel	KY Sensual Mist	10% v/v
	KY Warming Jelly	10% g/v
	KY Warming Liquid	10% v/v
	CVS Brand Personal Lubricant	10% g/v
	Target Brand Warming Massage Lotion and Personal Lubricant	10% v/v
	Astroglide Personal Lubricant	0,3% g/v (testmonster 0,075% g/v)
	Target Brand Lubricating Liquid	0,1% v/v (testmonster 0,025% v/v)
Spermicide	Gynol II Vaginal Contraceptive Original Formula	10% g/v
	Gynol II Vaginal Contraceptive Extra Strength	10% g/v
	Delfen Vaginal Contraceptive Foam	10% g/v
	Encare Vaginal Contraceptive	10% g/v
	Conceptrol Vaginal Contraceptive	10% g/v
Anti-schimmel/ anti-jeukmedicijnen	Vagisil Maximum Strength	10% g/v
	Monistat Soothing Care	10% g/v
	Monistat 3 Combination Pack	10% g/v
	Target Brand Tioconazole 1	0,3% g/v (testmonster 0,075% g/v)
	Target Brand Miconazole 3	10% g/v
Perazijnzuur	EMD M/N AX0073-11	10% v/v
Volbloed	Volbloed	10% v/v

*Glijmiddelen met polyquaternium 15.

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.^{32,33} 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 verschillende klinische locaties (n = 18) met een grote geografische verdeling en een diverse populatie (10 staten binnen de VS) zijn opgenomen in een prospectief klinisch onderzoek, het CLEAR-onderzoek.³⁴ De prevalentie van HPV mRNA-positieve monsters die is waargenomen in het klinisch onderzoek, zoals vastgesteld door middel van het Aptima HPV assay op het Panther System, is globaal, per leeftijdsgroep en per testlocatie gecategoriseerd. De resultaten worden in Tabel 39 weergegeven voor de ASC-US-populatie (atypische plaveiselcellen van onbepaalde betekenis, Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance) en de NILM-populatie (negatief voor intra-epitheelliesie of maligniteit, Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy).

Tabel 39: Prevalentie hoog-risico HPV-mRNA op leeftijdsgroep, testlocatie en alles gecombineerd

	% positief (x/n)	
	ASC-US-populatie (≥ 21 jaar)	NILM-populatie (≥ 30 jaar)
Alle	42,3 (404/956)	4,7 (512/10.860)
Leeftijdsgroep (jaar)		
21 tot 29	60,0 (251/418)	n.v.t.
30 tot 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4.192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6.668)
Testlocatie		
1	41,5 (134/323)	3,7 (304/8.286)
2	43,1 (137/318)	9,2 (118/1.285)
3	42,2 (133/315)	7,0 (90/1.289)

n.v.t. = niet van toepassing

Opzet klinisch onderzoek Aptima HPV Assay met ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters

Het Aptima HPV assay op het Panther System werd geëvalueerd aan de hand van overblijvende doorverwijzingsmonsters, afgenomen bij daar toestemming toe verlenende vrouwen tijdens het prospectieve, multicentrische klinisch onderzoek, gekend als het CLEARonderzoek.³⁴

CLEAR-onderzoek – Basislijnevaluatie

Het CLEAR-onderzoek werd uitgevoerd voor het vaststellen van de klinische prestaties van het Aptima HPV op het Tigris DTS-systeem in de detectie van cervicale intra-epitheliale neoplasie graad 2 of ernstiger baarmoederhalsaandoening (\geq CIN2).³⁴ Het CLEAR-onderzoek omvatte een basislijnevaluatie en een 3 jaar durende opvolgingsevaluatie. Op basis van cytologieresultaten uit routinematige screening op baarmoederhalskanker zijn 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. Het NILM-onderzoek is opgezet voor het ondersteunen van de claim voor aanvullende screening voor vrouwen van 30 jaar en ouder, aangezien vrouwen in dit leeftijdsbereik met cytologieresultaten groter dan ASC-US onafhankelijk van hun HPV-status colposcopie moeten ondergaan.³⁵

Er zijn vrouwen opgenomen uit 18 klinische locaties, vooral verloskundige of gynaecologische klinieken, met een brede geografische verdeling en een diverse populatie. In aanmerking komende vrouwen zijn op basis van hun vloeistofgebaseerde ThinPrep-cytologiemonster in het ASC-US- of het NILM-onderzoek opgenomen. Bij de basislijn werden overgeblevendoorverwijzingsmonsters van vrouwen in het ASC-US-onderzoek en in het NILM-onderzoek eerst zowel met het Aptima HPV assay op het Tigris DTS System als met een commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test getest. Vervolgens zijn de monsters gearhiveerd en bewaard bij -70 °C totdat zij met het Aptima HPV assay op het Panther System zijn getest.

Alle vrouwen in het ASC-US-onderzoek zijn bij de basislijn van het CLEAR-onderzoek (basislijnfase) 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 zijn vrouwen met een positief resultaat van het Aptima HPV assay op het Tigris DTS System en/of de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test, evenals willekeurig geselecteerde vrouwen met voor beide assays een negatief resultaat, voor de basisevaluatie naar colposcopie doorverwezen. De willekeurig geselecteerde vrouwen die voor beide assays negatief waren, zijn opgenomen om te corrigeren voor verificatiebias met bijgestelde prestatieschattingen die met een multi-pele-imputatiemethode zijn gemaakt. Van elke vrouw die colposcopie heeft ondergaan, is een ECC-biopt verkregen. Punch-biopten zijn alleen van zichtbare laesies genomen (gerichte methode, 1 biopt per laesie).

De ziektestatus is bepaald door een consensus-histologiebeoordelingspanel, gebaseerd op overeenstemming tussen ten minste 2 pathologie-experts. De pathologie-experts waren niet op de hoogte van de HPV-status van de vrouw, en ook niet van de cytologiestatus en van elkaars histologiediagnoses. Indien de 3 pathologie-experts niet overeen kwamen, onderzochten alle 3 de experts coupes onder een meerkoppige microscoop om tot consensus te komen. 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.

De klinische prestaties van het Aptima HPV assay voor de detectie van \geq CIN2 en cervicale intraepitheliale neoplasie graad 3 of ernstiger baarmoederhalsaandoening (\geq CIN3), werd beoordeeld ten opzichte van de cervicale ziektestatus, zoals bepaald bij de basislijn. Tevens zijn voor directe vergelijking met de resultaten van het Aptima HPV assay de klinische prestaties van de commercieel beschikbare HPV-DNA-test bepaald.

CLEAR-onderzoek - opvolgingsevaluatie

Vrouwen in het NILM-onderzoek uit 14 klinische centra kwamen in aanmerking voor deelname aan de 3 jaar durende opvolgingsfase van het onderzoek indien: i) ze bij de basislijn een colposcopiebezoek hadden en geen \geq CIN2 hadden, of ii) ze hadden geen colposcopiebezoek bij de basislijn. De opvolgingsfase van het onderzoek bestond uit jaarlijkse bezoeken. Bij deze bezoeken werd voor elke vrouw cervicale monsters afgenomen voor cytologie, en sommige vrouwen werden getest met een commercieel beschikbare HPVtest. Vrouwen met ASC-US of meer ernstige cytologieresultaten tijdens de opvolgingsperiode werden doorverwezen naar colposcopie, gebruikmakend van dezelfde biopsie en histologische onderzoeksprocedures die werden uitgevoerd tijdens de basislijnevaluatie van het NILM-onderzoek. Cervicale ziektestatus tijdens een opvolgingsbezoek werd als 'negatief' beschouwd op basis van NILM-cytologie of, voor vrouwen met afwijkende cytologie, op basis van normale resultaten of resultaten van een CIN1 consensus-histologiebeoordelingspanel. Vrouwen met \geq CIN2, gedetecteerd tijdens de opvolgingsperiode, werden beschouwd als voltooid voor opvolging en woonden geen bezoeken bij nadat \geq CIN2 gedetecteerd was. Vrouwen bij wie geen \geq CIN2 gedetecteerd was tijdens de opvolgingsperiode maar die in opvolgingsjaar 1 en/of opvolgingsjaar 2 een onderzoeksbezoek aflegden en die in opvolgingsjaar 3 een onderzoeksbezoek aflegden, werden beschouwd als voltooid voor opvolging.

De doelstelling van het opvolgingsonderzoek was het vergelijken van het cumulatieve risico na 3 jaar op cervicale ziekte bij vrouwen met positieve Aptima HPV assay-resultaten bij de basislijn met het cumulatieve risico na 3 jaar op cervicale ziekte bij vrouwen met negatieve Aptima HPV assay-resultaten bij de basislijn. De cervicale ziektestatus na 3 jaar werd als volgt bepaald:

- Positieve cervicale ziektestatus (\geq CIN2 en/of \geq CIN3) – vrouwen bij wie \geq CIN2 gedetecteerd werd tijdens basislijn of opvolging.
- Negatieve cervicale ziektestatus ($<$ CIN2) – vrouwen die opvolging voltooid hadden zonder detectie van \geq CIN2 en van wie niet gedacht werd een 'onbepaalde' cervicale ziektestatus te hebben.
- Onbepaalde cervicale ziektestatus – vrouwen die afwijkende resultaten hadden op de cytologietest tijdens opvolging en die geen daaropvolgend consensusresultaat van het histologiebeoordelingspanel, of vrouwen met onvoldoende cytologie tijdens hun laatste bezoek.
- Verloren voor opvolging – vrouwen die opvolging niet voltooiden en van wie men niet dacht dat ze een 'onbepaalde' cervicale ziektestatus hadden.

Klinische prestatie van het Aptima HPV assay voor detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 werd geëvalueerd ten opzichte van de cervicale ziektestatus na 3 jaar.

Prestaties Panther System Assay

ASC-US-populatie van ≥ 21 jaar: klinische prestaties van Aptima HPV Assay

In totaal zijn 1.252 vrouwen van 21 jaar en ouder met ASC-US-cytologieresultaten in het ASC-US-onderzoek opgenomen, hiervan zijn 294 vrouwen teruggetrokken. De overgebleven 958 vrouwen komen in aanmerking voor het testen op het Panther System. Bij twee vrouwen ontbraken monsters en 19 vrouwen hadden een onbepaalde ziektediagnose, zij zijn alle uit de analyse gehouden. De overgebleven 937 beoordeelbare vrouwen waren 21 jaar en ouder, met ASC-US-cytologieresultaten, resultaten van het Aptima HPV assay op het Panther System en een duidelijke ziektestatus. Eenennegentig (91) vrouwen hadden \geq CIN2 en eenenveertig (41) \geq CIN3. De prevalentie van \geq CIN2 en \geq CIN3 in beoordeelbare vrouwen met ASC-US-cytologieresultaten was respectievelijk 9,7% en 4,4%. De resultaten van het Aptima HPV assay per diagnose door het consensus-histologiebeoordelingspanel worden weergegeven in Tabel 40.

Tabel 40: ASC-US-populatie van ≥ 21 jaar: resultaten van het Aptima HPV Assay per diagnose door consensus-histologiebeoordelingspanel

Aptima HPV Assay-resultaat*	HPV-DNA-test	Diagnose consensus-histologiebeoordelingspanel						
		Onbepaald**	Normaal	CIN1	CIN2	CIN3	Kanker	Totaal
Positief	Positief	6	178	110	40	32	1	367
Positief	Negatief	0	5	2	0	2	0	9
Positief	Geen resultaat***	0	15	11	0	2	0	28
Negatief	Positief	0	39	15	3	3	0	60
Negatief	Negatief	10	372	53	7	1	0	443
Negatief	Geen resultaat***	3	39	7	0	0	0	49
Totaal		19	648	198	50	40	1****	956

*Alle monsters hadden uiteindelijk geldige resultaten (na de eerste 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).

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

****Eén proefpersoon had adenocarcinoma in situ (AIS).

In Tabel 41 worden de geschatte klinische prestaties van het Aptima HPV assay, inclusief gevoeligheid, specificiteit, positief voorspellende waarde (Positive Predictive Value, PPV) en negatief voorspellende waarde (Negative Predictive Value, NPV) voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 op basis van beoordeling van alle biopten en van alleen gerichte biopten weergegeven, evenals de schattingen voor de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test.

Tabel 41: ASC-US-populatie van ≥ 21 jaar: prestaties van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3

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

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

**Het consensus-histologieresultaat is alleen afgeleid van resultaten van gerichte biopten. Vrouwen zonder gerichte biopten representeren een normale colposcopie en zijn als niet-ziek (<CIN2 of <CIN3, zoals van toepassing) in de analyses opgenomen. Er werd niet altijd een consensus bereikt als alleen gerichte biopten werden meegenomen.

Bij beoordeling van alle biopten waren de schattingen van de klinische gevoeligheid van het Aptima HPV assay en de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3, waarbij beide assayresultaten beschikbaar waren, vergelijkbaar (het verschil in geschatte gevoeligheid was niet statistisch significant). Het verschil in gevoeligheid voor \geq CIN2 was -4,5% (95% CI: -12,2%, 2,5%). De schattingen van de klinische gevoeligheid van het Aptima HPV assay voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 waren hoger dan die voor de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test (de verschillen in geschatte specificiteit waren statistisch significant). Het verschil in specificiteit voor \geq CIN2 was 6,1% (95% CI: 4,2%, 8,2%). De NPV's waren vergelijkbaar, maar voor de detectie van \geq CIN2 was de PPV voor het Aptima HPV assay licht hoger dan de PPV voor de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test (19,3% tegenover 18,8%).

Van de 91 \geq CIN2-gevallen werden er 60 (65,9%) geïdentificeerd in gerichte biopten en 31 (34,1%) uit willekeurige en/of ECC-biopten (dus niet in gerichte biopten). Deze bevindingen zijn vergelijkbaar met de resultaten van gepubliceerde onderzoeken, waarin circa 25 tot 40% van de gevallen van \geq CIN2 werden geïdentificeerd uit alleen willekeurige en/of ECC-biopten.^{36,37} Met gebruik van alleen gerichte biopten voor het vaststellen van de ziektestatus (aangenomen dat vrouwen zonder gerichte biopten normale histologieresultaten hadden, omdat er geen zichtbare laesies aanwezig waren), was de prevalentie van \geq CIN2 en \geq CIN3 in het onderzoek respectievelijk 6,4% en 3,1%. De schattingen van de klinische gevoeligheid voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 waren voor beide tests hoger met alleen gerichte biopten dan wanneer de schattingen met alle biopten werden berekend. Voor beide assays was de klinische specificiteit met alleen gerichte biopten vergelijkbaar met de specificiteit die met beoordeling van alle biopten werd verkregen. Bij gebruik van alleen gerichte biopten was de specificiteit van het Aptima HPV assay dan ook significant hoger dan die van de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test.

De geschatte klinische prestaties van het Aptima HPV assay en van de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test worden per leeftijdsgroep weergegeven in Tabel 42 and Tabel 43 (respectievelijk \geq CIN2 en \geq CIN3, gebaseerd op beoordeling van alle biopten).

Tabel 42: ASC-US-populatie van ≥ 21 jaar: prestaties van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test voor de detectie van \geq CIN2 per leeftijdsgroep

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

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

Tabel 43: ASC-US-populatie van ≥ 21 jaar: prestaties van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test voor de detectie van \geq CIN3 per leeftijdsgroep

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

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

In Tabel 44 worden het absolute ziekterisico (\geq CIN2 en \geq CIN3, gebaseerd op beoordeling van alle biopten) per Aptima HPV assay-resultaat en het relatieve ziekterisico voor positieve versus negatieve Aptima HPV assay-resultaten weergegeven, evenals de schattingen voor de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test. Het relatieve risico van \geq CIN2 was 7,4 (95% CI: 4,3, 13,0), wat betekent dat een vrouw die Aptima HPV assay-positief is, 7,4 keer waarschijnlijker \geq CIN2 heeft dan een vrouw die Aptima HPV assay-negatief is. Het relatieve risico van \geq CIN3 was 12,5 (95% CI: 4,5, 34,9)

Tabel 44: ASC-US-populatie van \geq 21 jaar: absolute en relatieve risico op \geq CIN2 en \geq CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test

	Assayresultaat	Aptima HPV Assay N = 937		HPV-DNA-test N = 863*	
		Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
\geq CIN2	Positief	19,3 (77/398) (17,3, 21,2)	7,4 (4,3, 13,0)	18,8 (79/421) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Negatief	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prevalentie (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
\geq CIN3	Positief	9,3 (37/398) (8,0, 10,3)	12,5 (4,5, 34,9)	8,6 (36/421) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Negatief	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prevalentie (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

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

Het geschatte absolute en relatieve ziekterisico (\geq CIN2 en \geq CIN3, gebaseerd op beoordeling van alle biopten) van het Aptima HPV assay en van de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test wordt per leeftijdsgroep weergegeven in Tabel 45.

Tabel 45: ASC-US-populatie van \geq 21 jaar: absolute en relatieve risico op \geq CIN2 en \geq CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test per leeftijdsgroep

	Leeftijd	Assayresultaat	Aptima HPV Assay N = 937		HPV-DNA-test N = 863*	
			Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
\geq CIN2	21 tot 29 jaar		N = 415		N = 389	
		Positief	21,7 (54/249) (19,3, 23,9)	5,1 (2,4, 11,0)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)
		Negatief	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalentie (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 tot 39 jaar		N = 261		N = 238	
		Positief	17,3 (17/98) (13,1, 21,1)	9,4 (2,8, 31,3)	16,2 (16/99) (11,8, 19,8)	5,6 (1,9, 16,3)
		Negatief	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalentie (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	\geq 40 jaar		N = 261		N = 236	
		Positief	11,8 (6/51) (5,6, 17,7)	6,2 (1,8, 21,1)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,1)
		Negatief	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)	
		Prevalentie (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	
\geq CIN3	21 tot 29 jaar		N = 415		N = 389	
		Positief	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Niet berekenbaar
		Negatief	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalentie (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 tot 39 jaar		N = 261		N = 238	
		Positief	8,2 (8/98) (5,0, 10,1)	13,3 (1,7, 105)	7,1 (7/99) (4,0, 9,2)	4,9 (1,0, 23,2)
		Negatief	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalentie (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	\geq 40 jaar		N = 261		N = 236	
		Positief	5,9 (3/51) (1,6, 9,7)	6,2 (1,1, 36,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,8 (1,6, 121)
		Negatief	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)	
		Prevalentie (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

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

NILM-populatie van ≥ 30 jaar: klinische prestaties van Aptima HPV assay met ThinPrep vloeibare cytologiemonsters bij de basislijn

In totaal zijn 11.644 vrouwen met NILM-cytologieresultaten in het NILM-onderzoek opgenomen, hiervan zijn 773 vrouwen teruggetrokken. De overgebleven 10.871 vrouwen komen in aanmerking voor het testen op het Panther System. Bij elf vrouwen ontbraken monsters en zij werden uit de basislijnevaluatie van het Aptima HPV assay op het Panther System gehouden. De overgebleven 10.860 beoordeelbare vrouwen waren 30 jaar en ouder, met NILM-cytologieresultaten en resultaten van het Aptima HPV assay op het Panther System. Van de 512 vrouwen met positieve Aptima HPV assay-resultaten op het Panther System ondergingen er 284 colposcopie bij de basislijn. Van de 10.348 vrouwen met negatieve Aptima HPV assay-resultaten ondergingen er 580 colposcopie bij de basislijn. Twintig (20) vrouwen hadden \geq CIN2 en elf (11) \geq CIN3. 798 Vrouwen hadden normale/CIN1-histologie en 46 vrouwen hadden een onbepaalde ziektestatus. De resultaten van het Aptima HPV assay op het Panther System per diagnose bij de basislijn door het consensus-histologiebeoordelingspanel worden weergegeven in Tabel 46.

Tabel 46: NILM-populatie van ≥ 30 jaar: resultaten van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test per diagnose door consensus-histologiebeoordelingspanel bij de basislijn

Aptima HPV Assay-resultaat*	HPV-DNA-test	Diagnose consensus-histologiebeoordelingspanel						
		Onbepaald**	Normaal	CIN1	CIN2	CIN3	Kanker	Totaal
Positief	Positief	11	211	12	4	7	2	247
Positief	Negatief	2	19	0	0	0	1	22
Positief	Geen resultaat***	2	12	1	0	0	0	15
Negatief	Positief	10	170	7	2	1	0	190
Negatief	Negatief	20	353	9	2	0	0	384
Negatief	Geen resultaat***	1	4	0	1	0	0	6
Totaal		46	769	29	9	8	3****	864

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

**46 vrouwen gingen naar het colposcopiebezoek, maar kregen geen diagnose gesteld vanwege de volgende redenen: er werd vastgesteld dat de biopten niet voldeden (n = 29), geen biopten verkregen (n = 15) en bioptglasjes verloren gegaan (n = 2).

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

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

In totaal hadden 10.042 vrouwen een ongeverifieerde (inclusief onbepaalde) ziektestatus bij de basislijn (Tabel 47). Omdat alleen willekeurig geselecteerde vrouwen met negatieve resultaten voor zowel het Aptima HPV assay op het Tigris DTS System als de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test voor colposcopie zijn doorverwezen, is het aandeel van vrouwen met ongeverifieerde ziektestatus in deze groep hoog (96,6%). 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 818 vrouwen met geverifieerde ziektestatus bij de basislijn zijn weergegeven.

Tabel 47: NILM-populatie van ≥ 30 jaar: classificatie van beoordeelbare NILM-vrouwen op resultaten van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test, ziektestatus (\geq CIN2 en \geq CIN3) en ziekteverificatiestatus

Aptima HPV Assay- resultaat*		HPV-DNA- test	Totaal aantal vrouwen	Geverifieerde ziektestatus: \geq CIN2		Geverifieerde ziektestatus: \geq CIN3		Ongeverifieerde ziektestatus
Panther System	Tigris DTS System			Zieke vrouwen (\geq CIN2)	Niet-zieke vrouwen ($<$ CIN2)	Zieke vrouwen (\geq CIN3)	Niet-zieke vrouwen ($<$ CIN3)	Vrouwen met onbekende ziektestatus (% onbekend)
Positief	Positief	Positief	313	13	189	9	193	111 (35,5%)
Positief	Positief	Negatief	37	1	18	1	18	18 (48,6%)
Positief	Positief	Geen resultaat**	22	0	13	0	13	9 (40,9%)
Positief	Negatief	Positief	70	0	34	0	34	36 (51,4%)
Positief	Negatief	Negatief	60	0	1	0	1	59 (98,3%)
Positief	Negatief	Geen resultaat**	10	0	0	0	0	10 (100%)
Negatief	Positief	Positief	46	0	33	0	33	13 (28,3%)
Negatief	Positief	Negatief	113	1	41	0	42	71 (62,8%)
Negatief	Positief	Geen resultaat**	8	0	4	0	4	4 (50,0%)
Negatief	Negatief	Positief	236	3	144	1	146	89 (37,7%)
Negatief	Negatief	Negatief	9.354	1	321	0	322	9.032 (96,6%)
Negatief	Negatief	Geen resultaat**	591	1	0	0	1	590 (99,8%)
Totaal			10.860	20	798	11	807	10.042 (92,5%)

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

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

De gecorrigeerde prevalentie van \geq CIN2 en \geq CIN3 in vrouwen met NILM-cytologieresultaten was respectievelijk 0,9% en 0,4%. Het gecorrigeerde, geschatte absolute en relatieve risico van detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 bij de basislijn wordt in Tabel 48 weergegeven. Het gecorrigeerde relatieve risico van \geq CIN2 was 7,5 (95% CI: 2,1, 26,3), wat betekent dat een vrouw die Aptima HPV assay-positief is, 7,5 keer waarschijnlijker \geq CIN2 heeft dan een vrouw die Aptima HPV assay-negatief is. Het gecorrigeerde relatieve risico van \geq CIN3 was 24,9 (95% CI: 2,0, 307,0). Het ongecorrigeerde absolute en relatieve risico van detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 bij de basislijn wordt in totaal in Tabel 49 en per leeftijdsgroep in Tabel 50 weergegeven.

Tabel 48: NILM-populatie van \geq 30 jaar: het absolute en relatieve risico op \geq CIN2 en \geq CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV Assay en een commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test (voor verificatiebias gecorrigeerde schattingen) bij de basislijn

	Assayresultaat	Aptima HPV Assay		HPV-DNA-test	
		Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
\geq CIN2	Positief	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negatief	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalentie (%)	0,9		0,9	
\geq CIN3	Positief	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negatief	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalentie (%)	0,4		0,4	

Tabel 49: NILM-populatie van \geq 30 jaar: het absolute en relatieve risico op \geq CIN2 en \geq CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test (ongecorrigeerde schattingen) bij de basislijn

	Assayresultaat	Aptima HPV Assay N = 818		HPV-DNA-test N = 800*	
		Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
\geq CIN2	Positief	5,2 (14/269) (3,5, 6,6)	4,8 (1,9, 12,3)	3,8 (16/416) (2,9, 4,5)	4,9 (1,4, 16,8)
	Negatief	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalentie (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
\geq CIN3	Positief	3,7 (10/269) (2,5, 4,3)	20,4 (2,6, 159)	2,4 (10/416) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,8)
	Negatief	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalentie (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

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

Tabel 50: NILM-populatie van ≥ 30 jaar: het absolute en relatieve risico op \geq CIN2 en \geq CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test per leeftijdsgroep (ongecorrigeerde schattingen) bij de basislijn

	Leeftijd	Assayresultaat	Aptima HPV Assay N = 818		HPV-DNA-test N = 800*	
			Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)	Absoluut risico (95% CI)	Relatief risico (95% CI)
\geq CIN2	30 tot 39 jaar		N = 383		N = 376	
		Positief	4,6 (7/153) (2,5, 5,9)	5,3 (1,1, 25,0)	3,3 (7/215) (1,8, 4,1)	2,6 (0,6, 12,4)
		Negatief	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Prevalentie (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 Jaar		N = 435		N = 424	
		Positief	6,0 (7/116) (3,2, 8,5)	4,8 (1,4, 16,1)	4,5 (9/201) (2,9, 5,3)	10,0 (1,3, 78,1)
		Negatief	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
		Prevalentie (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
\geq CIN3	30 tot 39 jaar		N = 383		N = 376	
		Positief	3,3 (5/153) (1,6, 4,1)	7,5 (0,9, 63,7)	2,3 (5/215) (1,1, 2,9)	3,7 (0,4, 31,7)
		Negatief	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
		Prevalentie (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	≥ 40 jaar		N = 435		N = 424	
		Positief	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Niet berekenbaar	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Niet berekenbaar
		Negatief	0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
		Prevalentie (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

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

In Tabel 51 worden de gecorrigeerde geschatte klinische prestaties van het Aptima HPV assay, inclusief gevoeligheid, specificiteit, PPV en NPV voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 bij de basislijn weergegeven, evenals de schattingen voor de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test. Ongecorrigeerde schattingen van de klinische prestaties worden weergegeven in Tabel 52. De gevoeligheid van het Aptima HPV assay en van de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test waren vergelijkbaar, terwijl de specificiteit significant hoger was voor het Aptima HPV assay (niet-overlappende 95% CI's). De schattingen voor de voorspellende waarde van het Aptima HPV assay waren klinisch relevant en vergelijkbaar met de schattingen voor de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test. De NPV's waren vergelijkbaar, maar voor de detectie van \geq CIN2 was de PPV voor het Aptima HPV assay licht hoger dan de PPV voor de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test (4,5% tegenover 3,7%).

Tabel 51: NILM-populatie van \geq 30 jaar: Prestaties van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 (voor verificatiebias gecorrigeerde schattingen) bij de basislijn

	Prestaties	Aptima HPV Assay		HPV-DNA-test	
		Schatting	(95% CI)	Schatting	(95% CI)
\geq CIN2	Gevoeligheid (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Specificiteit (%)	95,5	(95,1, 95,9)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,5	(2,7, 7,4)	3,7	(2,3, 6,1)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Prevalentie (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
\geq CIN3	Gevoeligheid (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Specificiteit (%)	95,4	(95,0, 95,8)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,0	(1,6, 5,5)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,3, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prevalentie (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Tabel 52: NLM-populatie van ≥ 30 jaar: prestaties van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test voor de detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 (ongecorrigeerde schattingen) bij de basislijn

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

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

Een directe vergelijking van het Aptima HPV assay op het Panther System met de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test laat een vergelijkbare gevoeligheid zien en een statistisch significant verbeterde specificiteit van het Aptima HPV assay ten opzichte van de commercieel verkrijgbare HPV-DNA-test voor detectie van \geq CIN2, zoals blijkt uit de verhoudingen tussen de relatieve hoeveelheden van echt- en vals-positieven (respectievelijk Tabel 53 en Tabel 54).

Tabel 53: NILM-populatie van \geq 30 jaar: verhouding tussen relatieve hoeveelheden echt-positieven (Aptima HPV Assay HPV-DNA-test) voor vrouwen met \geq CIN2 (ongecorrigeerde schattingen) bij de basislijn

		HPV-DNA-test		Totaal
		Positief	Negatief	
Aptima HPV Assay	Positief	13	1	14 (73,7%)
	Negatief	3	2	5
	Totaal	16 (84,2%)	3	19
Verhouding tussen relatieve hoeveelheden echt-positieven = 0,88 (14/16) (95% CI: 0,65, 1,10)				

Tabel 54: NILM-populatie van \geq 30 jaar: Verhouding tussen relatieve hoeveelheden vals-positieven (Aptima HPV Assay HPV-DNA-test) voor vrouwen met $<$ CIN2 (ongecorrigeerde schattingen) bij de basislijn

		HPV-DNA-test		Totaal
		Positief	Negatief	
Aptima HPV Assay	Positief	223	19	242 (31,0%)
	Negatief	177	362	539
	Totaal	400 (51,2%)	381	781
Verhouding tussen relatieve hoeveelheden van vals-positieven = 0,61 (242/400) (95% CI: 0,55, 0,66)				

NILM-populatie \geq 30 jaar: Aptima HPV assay op het Panther System klinische prestatie na 3 jaar opvolging

Er waren 10.843 evalueerbare vrouwen van 30 jaar of ouder met NILM cytologieresultaten en geldige Aptima HPV assay-resultaten bij de basislijn die in aanmerking kwamen voor de opvolgingsfase. Van de vrouwen zonder \geq CIN2, voltooide 67,0% (7247/10.823) van de vrouwen na 1 jaar opvolging een papuitstrijkbezoek, 60,3% (6.517/10.814) na jaar 2, en 58,7% (6339/10.807) na jaar 3. In het algemeen voltooide 58,8% (6375/10.843) van de vrouwen het onderzoek (hadden \geq CIN2 bij de basislijn of tijdens opvolging, en/of voltooiden vereiste bezoeken).

Van de 10.843 vrouwen hadden 511 (4,7%) positieve Aptima HPV assay testresultaten. Van deze 511 vrouwen hadden 255 (49,9%) ofwel positieve of negatieve ziektestatus na 3 jaar op basis van cytologie of colposcopie-/biopsieresultaten. De resterende 10.332 vrouwen waren

negatief voor Aptima HPV assay-resultaten bij de basislijn. Van deze 10.332 vrouwen hadden 5946 (57,5%) ofwel positieve of negatieve ziektestatus na 3 jaar. Van de 6201 vrouwen met ziektestatus na 3 jaar, hadden 47 vrouwen \geq CIN2, inclusief 23 \geq CIN3; 6154 vrouwen hadden normale/CIN1, bepaald door het Consensus-histologiebeoordelingspanel. De basislijnresultaten van de Aptima HPV assay en een commercieel beschikbaar HPV DNAarray, en de ziektestatus na 3 jaar (inclusief basislijn en opvolgingsevaluatie), bepaald door het consensus-histologiebeoordelingspanel, worden in Tabel 55 weergegeven.

Tabel 55: NILM-populatie \geq 30 jaar: classificatie van vrouwen die in aanmerking komen voor de opvolgingsfase volgens de basislijnresultaten op de Aptima HPV assay, de Aptima HPV assay-resultaten, basislijn HPV DNA-testresultaten en ziektestatus (\geq CIN2, \geq CIN3, niet geverifieerd) zoals bepaald in de basislijn en opvolgingsfasen.

Resultado no Aptima HPV Assay	Teste de DNA do HPV	Total de Mulheres	Estado de Doença Verificado: \geq CIN2		Estado de Doença Verificado: \geq CIN3		Estado de Doença Não Verificado	
			Mulheres Doentes (\geq CIN2)	Mulheres Não Doentes (<CIN2)	Mulheres Doentes (\geq CIN3)	Mulheres Não Doentes (<CIN3)	Perdidas para Acompanhamento	Indeterminado*
Positivo	Positivo	382	23	171	16	178	167	21
Positivo	Negativo	97	1	48	1	48	44	4
Positivo	Sem Resultado**	32	2	10	1	11	17	3
Negativo	Positivo	281	5	129	2	132	130	17
Negativo	Negativo	9 452	15	5 476	3	5 488	3 756	205
Negativo	Sem Resultado**	599	1	320	0	321	264	14
Total		10 843	47	6 154	23	6 178	4 378	264

*Vrouwen die afwijkende cytologietestresultaten hebben tijdens opvolging en die geen daaropvolgend consensusresultaat van het histologiebeoordelingspanel, en vrouwen met onvoldoende cytologie bij hun laatste bezoek. 174 vrouwen met onbepaalde ziektestatus voltooiden de opvolging volgens het protocol.

**631 vrouwen met Aptima HPV testresultaten hadden geen HPV DNA-testresultaten, voornamelijk omwille van onvoldoende volume cytologisch monstermateriaal.

Het cumulatief ziekterisico na 3 jaar (\geq CIN2 en \geq CIN3) is gebaseerd op een Kaplan-Meierschatting (tabelonderzoek) en omvat ziekte die gedetecteerd is bij de basislijn of tijdens opvolging. Vrouwen die enige ziekte-indicatie toonden (ASC-US of meer ernstige cytologieresultaten) maar zonder consensusresultaat van het histologiebeoordelingspanel werden opgenomen in de analyse door een methode met meervoudige berekening om het aantal vrouwen te voorspellen met ziekte die geïdentificeerd zouden geweest zijn moesten de vrouwen een colposcopie ondergaan hebben.

De cumulatieve absolute en relatieve risicoschattingen voor detectie van \geq CIN2 en \geq CIN3 worden in Tabel 56 getoond.

Table 56: NILM-populatie = 30 jaar: cumulatieve absolute en relatieve risico's* na 3 jaar op \geq CIN2 en \geq CIN3 voor resultaten van het Aptima HPV assay en een HPV DNA-test bij de basislijn

	Resultado do Ensaio	Aptima HPV Assay		Teste de ADN HPV	
		Risco Absoluto (95% CI)	Risco Relativo (95% CI)	Risco Absoluto (95% CI)	Risco Relativo (95% CI)
\geq CIN2	Positivo	7,90 (5,50, 11,27)	24,45 (13,85, 43,15)	6,43 (4,50, 9,14)	22,71 (12,20, 42,30)
	Negativo	0,32 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Prevalência (%)	0,68		0,68	
\geq CIN3	Positivo	5,23 (3,34, 8,13)	57,11 (21,09, 154,62)	4,14 (2,62, 6,52)	51,34 (17,74, 148,58)
	Negativo	0,09 (0,04, 0,23)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Prevalência (%)	0,34		0,35	

*De cumulatieve risico's na 3 jaar, aangepast voor andere mogelijke vertekeningen, waren gelijkaardig aan de risico's in deze tabel. Omwille van verwachte verschillen in risico's na 1 jaar en na 2 jaar voor de twee groepen vrouwen in het opvolgingsonderzoek (deze met colposcopie bij de basislijn en deze zonder colposcopie bij de basislijn), werd enkel het cumulatieve risico na 3 jaar gemeld voor de gecombineerde groepen.

Het cumulatief voorkomen na 3 jaar van \geq CIN2 en \geq CIN3 bij vrouwen met NILM cytologieresultaten bedroeg respectievelijk 0,68% en 0,34%. Het relatieve risico op \geq CIN2 bedroeg 24,45 (95% BI: 13,85; 43,15), wat aangeeft dat een vrouw die positief is voor het Aptima HPV assay 24,45 maal meer kans heeft om \geq CIN2 dan een vrouw die negatief is voor het Aptima HPV assay. Het relatieve risico op \geq CIN3 be 57.11 (95% CI: 21.09, 154.62).

Klinische prestaties van Aptima HPV Assay met SurePath-vloeistofcytologiemonsters

Er werden SurePath-vloeistofcytologiemonsters afgenomen bij Canadese vrouwen (n = 558) 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-monsteroverdrachtbuis en vervolgens behandeld met de Aptima-overdrachttoplossing. Elk monster werd in enkelvoud getest met het Aptima HPV assay. Van elk monster werd een afzonderlijk aliquot (1 ml) genomen voor evaluatie met een commercieel verkrijgbare HPV-PCR-test. De klinische gevoeligheid wat betreft de detectie van ziekte, gedefinieerd als een histologische uitslag \geq CIN3, werd berekend voor zowel het Aptima HPV assay als de HPV-PCR-test, zoals weergegeven in Tabel 57, met de positief en negatief voorspellende waarden.

Tabel 57: Prestaties van het Aptima HPV Assay en een HPV-DNA-test voor de detectie van \geq CIN3

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

Prestaties van Aptima HPV Assay bij monsters verkregen met het pakket voor verzameling en transport van baarmoederhalsmonsters

Hoog-risico HPV-positieve en hoog-risico HPV-negatieve klinische monsters die van zowel de screeningpopulatie (routinebezoek) als de verwijzingspopulatie (colposcopiebezoek) zijn verzameld met het Aptima CSCT-pakket, zijn met twee reagenspartijen met het Aptima HPV assay op het Panther en het Tigris DTS System getest. De overeenkomst tussen het Panther en het Tigris DTS System voor CSCT-monsters wordt in Tabel 58 weergegeven.

Voor CSCT-monsters is de algehele overeenkomst tussen het Panther en het Tigris DTS System $> 98\%$, zoals weergegeven in Tabel 58. Van de 632 geteste klinische monsters waren er 69 CIN2+ en 38 CIN3+. De gevoeligheid van het Aptima HPV assay voor de detectie van CIN2+ was $97,1\%$ (95% CI: $90,0\%$ - $99,2\%$) op het Panther System en $98,6\%$ (95% CI: $92,2\%$ - $99,7\%$) op het Tigris DTS System. De gevoeligheid voor detectie van CIN3+ was 100% (CI: $90,8\%$ - 100%) op zowel het Panther als het Tigris DTS System.

Tabel 58: De overeenkomst tussen Aptima HPV Assay-resultaten van Aptima CSCT-monsters getest op het Panther en het Tigris DTS System

		Tigris DTS System		Totaal
		Positief	Negatief	
Panther System	Positief	490	3	493
	Negatief	9	130	139
	Totaal	499	133	632

Totale overeenkomst = 98,1% (CI 96,7-98,9)

Positieve overeenkomst = 98,2% (CI 96,6-99,0)

Negatieve overeenkomst = 97,7% (CI 93,6-99,2)

Gevoeligheid analyse

De detectielimiet (Limit of Detection, LOD) bij de klinische cutoff is de concentratie HPV RNA die in 95% van de gevallen een positief resultaat oplevert (boven de klinische cutoff). De LOD van het Aptima HPV assay is bepaald door middel van het testen van verdunningspanels van *in-vitro* transcripts (IVT) voor alle 14 hoog-risico genotypen en 4 HPV-geïnfecteerde cellijnen: SiHa, HeLa, MS751 en ME180 (ATCC, Manassas, Virginia). Voor de IVT-panels is aan monstertransportmedium IVT in diverse concentraties toegevoegd en het aldus verkregen medium is vervolgens voorafgaand aan het testen verdund met afzonderlijke negatieve ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters. Voor de HPV-geïnfecteerde celpanels zijn aan gepoolde HPV-negatieve vloeistofcytologiemonsters HPV-geïnfecteerde cellen in diverse concentraties toegevoegd en de aldus verkregen pools zijn vervolgens voorafgaand aan het testen verdund met monstertransportmedium. Met elk van twee reagenspartijen zijn voor een totaal van 60 replicaties dertig replicaties van elk kopieniveau getest. Gedurende 17 dagen werden tests uitgevoerd, met 1 tot 12 testreeksen per dag, waarbij in elke reeks 5 replicaties van een bepaald genotype en concentratie werden getest. De 95%-detectielimiet is berekend uit de Probit-regressieanalyse van de positieve resultaten voor elke verdunningspaneel.

De resultaten van de Probit-analyse, Tabel 59, laten zien dat HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 en 68 95%-detectielimieten van minder dan 100 kopieën/reactie hebben en dat typen 52, 58 en 66 95%-detectielimieten tussen 100 en 500 kopieën/reactie hebben. De vier geteste cellijnen hebben 95%-detectielimieten van minder dan 1 cel/reactie.

Tabel 59: Detectielimiet (Limit of Detection, LOD) bij de klinische cutoff van het Aptima HPV Assay.

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

*Kopieën per reactie voor *in-vitro* transcripts en cellen per reactie voor cellijnen

Nauwkeurigheid assay

De nauwkeurigheid van het Aptima HPV assay werd in twee onderzoeken met hetzelfde panel van 20 onderdelen geëvalueerd. Onderzoek 1 werd op 3 locaties uitgevoerd, 2 externe en 1 interne, en onderzoek 2 werd intern uitgevoerd. Het panel bevatte 13 HPV-positieve onderdelen met concentraties op of boven de detectiegrens van het assay (verwachte positiviteit $\geq 95\%$), 3 HPV-positieve onderdelen met concentraties onder de detectiegrens van het assay (verwachte positiviteit $>0\%$ tot $<25\%$) en 4 HPV-negatieve onderdelen. HPV-positieve panelonderdelen werden bereid door toevoeging van *in-vitro* RNA-transcripts (IVT) aan PreservCyt-oplossing die was verdund met monstertransportmedium (STM), of van HPV-geïnfecteerde kweekcellen (SiHa, HeLa en MS751; ATCC, Manassas, Virginia) aan gepoolde negatieve klinische ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters die waren verdund met STM. HPV-negatieve panelonderdelen werden bereid met PreservCyt-oplossing of gepoolde negatieve klinische ThinPrep-vloeistofcytologiemonsters die waren verdund met STM.

In onderzoek 1 voerden 2 bedieners op elk van de 3 testlocaties (1 instrument per locatie) gedurende 3 dagen 2 Aptima HPV assay-werklijsten per dag (1 met elke reagenspartij) uit. 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 3 partijen x 3 werkljsten 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 60a (panelonderdelen met verwacht positief resultaat) en Tabel 60b (panelonderdelen met verwacht negatief resultaat) beschreven, met een samenvatting van de overeenkomst met de verwachte resultaten en analyt-S/CO-waarden op de 2,5-, 50- en 97,5-percentielen voor de S/CO-spreiding. De analyt-S/CO-variatie voor de panelonderdelen met verwacht positief resultaat wordt in Tabel 61 weergegeven voor onderzoek 1 en in Tabel 62 voor onderzoek 2.

Table 60a: Nauwkeurigheidsonderzoek 1 en 2 Aptima HPV Assay: beschrijving panel, positieve overeenkomst en percentielverdeling van analyt-S/CO-waarden voor panelonderdelen met verwacht positief resultaat

Beschrijving panel (kopieën of cellen/reactie)	Onderzoek 1 (3 testlocaties)	Onderzoek 2 (1 testlocatie)
	% positieve overeenkomst (95% CI)	% positieve overeenkomst (95% CI)
HPV-hoog-positief klinisch monster 1	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
HPV-hoog-positief klinisch monster 2	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16-IVT (1.830 kopieën)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,1, 100)
HPV 18-IVT (1.550 kopieën)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-laag-positief klinisch monster 1	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)
HPV-laag-positief klinisch monster 2	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
HPV-laag-positief klinisch monster 3	100 (108/108) (96,6, 100)	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)
HPV-laag-positief klinisch monster 4	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 16-IVT (183 kopieën)	100 (102/102) (96,4, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18-IVT (155 kopieën)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (159/159) (97,6, 100)
MS751-cellen (0,63 cellen)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa-cellen (0,35 cellen)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-cellen (0,90 cellen)	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)

IVT = *in-vitro* transcript

*Verwachte % positieve overeenkomst ~95%; lager waargenomen mogelijk vanwege productievariatie van het panelonderdeel.

Tabel 60b: Nauwkeurigheidsonderzoek 1 en 2 Aptima HPV Assay: beschrijving panel, negatieve overeenkomst en percentielverdeling van analyt-S/CO-waarden voor panelonderdelen met verwacht negatief resultaat

Beschrijving panel (kopieën of cellen/reactie)	Onderzoek 1 (3 testlocaties)	Onderzoek 2 (1 testlocatie)
	% negatieve overeenkomst (95% CI)	% negatieve overeenkomst (95% CI)
MS751-cellen (0,005 cellen)	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)
SiHa-cellen (0,008 cellen)	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
HeLa-cellen (0,02 cellen)	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)
HPV-negatief klinisch monster 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negatief klinisch monster 2	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt-oplossing 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt-oplossing 2	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (161/161) (97,7, 100)

IVT = *in-vitro* transcript

*Verwachte % negatieve overeenkomst > 75% en < 100%.

Tabel 61: Nauwkeurigheidsonderzoek 1 Aptima HPV Assay: signaalvariatie voor panelonderdelen met verwacht positief resultaat

Beschrijving panel (kopieën of cellen/reactie)	n	Gemiddelde S/CO	Tussen instrumenten		Tussen bedieners		Tussen partijen		Tussen werklijsten		Binnen werklijsten		Totaal	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV-hoog-positief klinisch monster 1	107*	29,34	0,00	0,0	0,00	0,0	1,43	4,9	1,87	6,4	1,49	5,1	2,79	9,5
HPV-hoog-positief klinisch monster 2	107*	30,09	0,55	1,8	0,00	0,0	1,06	3,5	0,73	2,4	2,21	7,3	2,61	8,7
HPV 16-IVT (1.830 kopieën)	107*	11,20	0,09	0,8	0,16	1,4	0,03	0,3	0,14	1,3	0,46	4,1	0,52	4,6
HPV 18-IVT (1.550 kopieën)	107*	14,89	0,18	1,2	0,00	0,0	0,20	1,3	0,14	0,9	1,53	10,3	1,56	10,5
HPV-laag-positief klinisch monster 1	107*	8,24	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,23	39,2	3,23	39,2
HPV-laag-positief klinisch monster 2	108	7,07	0,00	0,0	0,41	5,8	0,00	0,0	0,00	0,0	4,57	64,7	4,59	65,0
HPV-laag-positief klinisch monster 3	108	10,23	0,26	2,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,32	12,9	3,23	31,6	3,49	34,2
HPV-laag-positief klinisch monster 4	108	4,68	0,50	10,7	0,20	4,2	0,00	0,0	0,99	21,1	3,02	64,6	3,22	68,9
HPV 16-IVT (183 kopieën)	102*	11,09	0,08	0,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	2,3	0,54	4,9	0,61	5,5
HPV 18-IVT (155 kopieën)	108	11,78	0,00	0,0	0,43	3,7	0,00	0,0	1,12	9,5	1,97	16,7	2,30	19,6
MS751-cellen (0,63 cellen)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
HeLa-cellen (0,35 cellen)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
SiHa-cellen (0,90 cellen)	107*	7,74	0,37	4,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,85	49,8	3,87	50,1

*Twaalf monsters hadden ongeldige Aptima HPV assay-resultaten (1 voor HPV-hoog-positief klinisch monster 1, 1 voor HPV-hoog-positief klinisch monster 2, 1 voor HPV 16 IVT (1.830 kopieën), 1 voor HPV 18 IVT (1.550 kopieën), 1 voor HPV-laag-positief klinisch monster 1, 6 voor HPV 16 IVT (183 kopieën) en 1 voor SiHa-cellen (0,90 cellen)).

CV = variatiecoëfficiënt; IVT = *in-vitro* transcript; SD = standaardafwijking

Opmerking: De variatie van sommige factoren kan numeriek negatief zijn. Dit kan optreden als de variatie door deze factoren erg klein is. In die gevallen worden de SD en CV als 0 weergegeven.

Tabel 62: Nauwkeurigheidsonderzoek 2 Aptima HPV Assay: signaalvariatie voor panelonderdelen met verwacht positief resultaat

Beschrijving panel (kopieën of cellen/reactie)	n	Gemiddelde S/CO	Tussen instrumenten		Tussen bedieners		Tussen partijen		Tussen werkljsten		Binnen werkljsten		Totaal	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPV-hoog-positief klinisch monster 1	161*	26,81	0,75	2,8	0,00	0,0	0,91	3,4	0,48	1,8	1,84	6,9	2,24	8,3
HPV-hoog-positief klinisch monster 2	162	28,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,96	3,3	0,65	2,3	2,35	8,2	2,62	9,1
HPV 16-IVT (1.830 kopieën)	161*	11,07	0,14	1,2	0,00	0,0	0,05	0,5	0,16	1,4	0,32	2,9	0,39	3,5
HPV 18-IVT (1.550 kopieën)	162	13,34	0,14	1,1	0,12	0,9	1,00	7,5	0,31	2,3	0,75	5,6	1,31	9,8
HPV-laag-positief klinisch monster 1	162	7,57	0,56	7,5	0,55	7,3	0,63	8,3	0,00	0,0	3,61	47,7	3,75	49,5
HPV-laag-positief klinisch monster 2	162	7,59	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	5,25	69,2	5,25	69,2
HPV-laag-positief klinisch monster 3	161*	8,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	3,0	0,00	0,0	3,48	39,4	3,49	39,5
HPV-laag-positief klinisch monster 4	162	4,95	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	15,2	0,00	0,0	3,35	67,6	3,43	69,3
HPV 16-IVT (183 kopieën)	162	11,02	0,13	1,2	0,11	1,0	0,12	1,1	0,13	1,2	0,54	4,9	0,59	5,4
HPV 18-IVT (155 kopieën)	159*	11,40	0,16	1,4	0,17	1,5	1,21	10,6	0,23	2,0	1,17	10,3	1,72	15,0
MS751-cellen (0,63 cellen)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
HeLa-cellen (0,35 cellen)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
SiHa-cellen (0,90 cellen)	162	7,30	0,32	4,3	0,00	0,0	0,93	12,7	1,04	14,3	3,49	47,8	3,77	51,7

*Zes monsters hadden ongeldige Aptima HPV assay-resultaten (1 voor HPV-hoog-positief klinisch monster 1, 1 voor HPV 16 IVT (1.830 kopieën), 1 voor HPV-laag-positief klinisch monster 3, 3 voor HPV 18 IVT (155 kopieën).

CV = variatiecoëfficiënt; IVT = *in-vitro* transcript; SD = standaardafwijking

Opmerking: De variatie van sommige factoren kan numeriek negatief zijn. Dit kan optreden als de variatie door deze factoren erg klein is. In die gevallen worden de SD en CV als 0 weergegeven.

Kruisreactiviteit

Testen met potentieel kruisreactieve organismen voor het Aptima HPV assay werden uitgevoerd met behulp van het Tigris DTS System. Zie *Kruisreactiviteit* (Tabel 37) in de paragraaf Tigris DTS System voor de resultaten.

Interferentie

Testen met potentieel storende organismen voor het Aptima HPV assay werden uitgevoerd met behulp van het Tigris DTS System. Zie *Interferentie* (Tabel 38) 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., S. Franceschi, R. Howell-Jones, P. J. Snijders, G. M. Clifford.** 2010. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*, n/a. doi: 10.1002/ijc.25396.
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer.* **64(3)**:211-5.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond).* **110(5)**:525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* **16(1)**:1-17.
6. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **90(12)**:5583-7.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Sunyum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* **325(7364)**: 572-579.
8. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer.* **108(3)**:329-33. Erratum in: *Int J Cancer.* **108(6)**:945.
9. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence—implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol.* **73(1)**: 65-70.
10. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol.* **32 Suppl 1**:S16-24.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2010; **20(8)**:1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology.* 2011; **49(2)**:557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer.* 2011;**129**:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology.* 2012;**125**:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society.* 2013;**23(3)**:513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer.* 2013;**108**:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, Lyng E.** Prevalence of human papillomavirus infection in unselected SurePath samples using the APTIMA HPV mRNA assay. *The Journal of Molecular Diagnostics.* 2013;**15(5)**:670-7.
18. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lyng E.** A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer.* 2015;**51**:1456-66.
19. **Heideman DAM, Hesselink AT, van Kemenade FJ, Iftner T, Berkhof J, Topal F, et al.** The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *Journal of Clinical Microbiology.* 2013;**51(11)**:3653-7.
20. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlaberg R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods.* 2015;**221**:95-9.
21. **Iftner T, Becker S, Neis KJ, Castanon A, Iftner A, Holz B, et al.** Head-to-Head Comparison of the RNA368 Based Aptima Human Papillomavirus (HPV) Assay and the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in a Routine Screening Population of Women Aged 30 to 60 Years in Germany. *Journal of Clinical Microbiology.* 2015;**53**:2509-16.
22. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lyng E.** Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above. *PLoS One.* 2016 Jan 20;**11(1)**:e0147326.
23. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lyng E.** A daunting challenge: Human Papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30years. *Eur J Cancer.* 2015 Jul;**51(11)**:1456-66.
24. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
25. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem.* **35**: 1588-1594.
26. **Nelson, N. C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* **35**:8429-8438.

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



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

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

Technische ondersteuning: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

Bezoek www.hologic.com voor meer contactgegevens.

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

Hologic, Aptima, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep en Tigris zijn handelsmerken en/of gedeponeerde handelsmerken van Hologic, Inc. en/of haar dochterondernemingen in de Verenigde Staten en/of andere landen.

eppendorf (gestileerd) en REPEATER zijn handelsmerken van Eppendorf AG.

RAININ is een handelsmerk van Rainin Instruments, LLC.

TECAN en FREEDOM EVO zijn handelsmerken van Tecan Group AG.

SUREPATH en PREPSTAIN zijn handelsmerken van TriPath Imaging, Inc.

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

© 2007-2017 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.
AW-14517-1501 Rev. 003

2017-04