

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

In-vitro-Diagnostikum.

Nur für den US-Export.

Allgemeine Informationen	2
Verwendungszweck	2
Zusammenfassung und Testerklärung	2
Testprinzip	3
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	4
Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien	5
Probenentnahme und -lagerung	6
Testauswertung	22
Einschränkungen	23
Erwartete Ergebnisse auf dem Tigris DTS System: Prävalenz von High-Risk-HPV-mRNA	24
Leistung des Assays auf dem Tigris DTS System	25
Erwartete Ergebnisse auf dem Panther System: Prävalenz von High-Risk-HPV-mRNA	44
Leistung des Assays auf dem Panther System	45
Bibliographie	62

Tigris™ DTS™ System

Tigris DTS System	9
Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien	9
Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien	10
Testverfahren mit dem Tigris DTS System	11
Verfahrenshinweise	13

Panther™ System

Panther System	15
Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien	15
Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien	16
Testverfahren mit dem Panther System	17
Verfahrenshinweise	19

Allgemeine Informationen

Verwendungszweck

Der Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ist ein *In-vitro*-Nukleinsäureamplifikationstest für den qualitativen Nachweis von viraler E6/E7-Boten-RNA (messenger RNA, mRNA) der Hochrisikotypen 16, 18 und 45 des humanen Papillomavirus (Human Papillomavirus, HPV) in Proben von Patientinnen mit positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay. HPV-mRNA wird in Papanicolaou-Zervixproben für die flüssigkeitsbasierte Zytologie, die in ThinPrep™-Fläschchen mit PreservCyt™-Lösung entnommen wurden, sowohl vor als auch nach der Papanicolaou-Bearbeitung oder in mit dem Aptima Zervixprobenentnahme- und Transportkit entnommenen Proben nachgewiesen. In SurePath Konservierungsflüssigkeit entnommene Zervixproben können mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay getestet werden. Der Assay wird mit dem Tigris DTS System und dem Panther System verwendet.

Zusammenfassung und Testerklärung

Das Zervixkarzinom ist weltweit eine der am häufigsten vorkommenden Krebsarten bei Frauen. HPV ist als Krankheitserreger für über 99% der Zervixkarzinome verantwortlich.^{1,2,3} HPV ist ein weit verbreitetes, sexuell übertragenes DNA-Virus mit mehr als 100 Genotypen.⁴

Das virale HPV-Genom ist eine doppelsträngige, zirkuläre DNA mit einer Länge von ca. 7900 Basenpaaren. Das Genom weist acht überlappende Open Reading Frames (offene Leserahmen) auf. Es gibt sechs frühe (E) Gene, zwei späte (L) Gene und eine nicht translatierte lange Kontrollregion (Untranslated Long Control Region). Die Gene L1 und L2 kodieren das große und das kleine Kapsidprotein. Frühe Gene regulieren die Replikation des HPV-Virus. Die Gene E6 und E7 der Hochrisiko-HPV-Genotypen gelten als krebserregend. Die von der polycistronischen mRNA der Gene E6/E7 exprimierten Proteine greifen in die p53- und Retinoblastom-Protein-Funktionen von Zellen ein, was zur Unterbrechung von Prüfpunkten im Zellzyklus und zur Instabilität des Zellgenoms führt.^{5,6}

Vierzehn Genotypen gelten als pathogen bzw. als Hochrisikotypen in Bezug auf das Fortschreiten einer Zervixerkrankung.⁷ Die Genotypen 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 und 68 sind in zahlreichen Studien mit einem Fortschreiten der Erkrankung in Verbindung gebracht worden.^{2,5,8} Patientinnen, die an persistierenden Infektionen durch einen dieser Typen leiden, sind einem erhöhten Risiko einer schweren Zervixdysplasie oder eines Zervixkarzinoms ausgesetzt.^{7,9}

Studien haben gezeigt, dass verschiedene Hochrisiko-HPV-Typen verschiedene Risikoniveaus der Entwicklung einer schweren Dysplasie oder eines Zervixkarzinoms vermitteln. Die HPV-Typen 16, 18 und 45 sind weltweit mit rund 80% aller invasiven Zervixkarzinome in Zusammenhang gebracht worden.^{2,10} Diese drei Typen kommen in 75% aller Plattenepithelkarzinome vor, wobei Typ 16 die Mehrheit (85%) dieser Infektionen ausmacht. Bei Adenocarcinomen sind die HPV-Typen 16, 18 und 45 in 80-94% der Fälle vorhanden, wobei Typ 18 und 45 nahezu die Hälfte dieser Infektionen ausmachen.^{2,10} Das Vorhandensein des HPV-Typs 18 bei Zervixkarzinomen im Frühstadium wurde mit einer ungünstigen Prognose in Zusammenhang gebracht.¹¹ Das Vorhandensein von HPV-Typ 18 und 45 in präkanzerösen Läsionen ist höher als angegeben, was möglicherweise auf das Vorhandensein okkulten Läsionen im Zervixkanal zurückzuführen ist, die bei der kolposkopischen Untersuchung nicht zugänglich sind.¹² Bei Patientinnen, die mit HPV-Typ 16 und/oder 18 infiziert sind, ist das kumulative Risiko für die Entwicklung einer Zervixerkrankung 10 Mal höher als das Risiko der Entwicklung einer Erkrankung aufgrund anderer Hochrisikotypen.^{13,14,15}

Testprinzip

Der Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay umfasst drei Hauptschritte, die in einem einzigen Röhrchen ablaufen: Target Capture, Amplifikation der Zielsequenzen mittels transkriptionsvermittelter Amplifikation (Transcription-Mediated Amplification, TMA)¹⁶ und Detektion der Amplifikationsprodukte (Amplikons) durch den Hybridisierungsschutzassay (Hybridization Protection Assay, HPA).¹⁷ Der Assay verfügt über eine interne Kontrolle (Internal Control, IC) zur Überwachung von Capture, Amplifikation und Detektion der Nukleinsäuren sowie von Bediener- und Gerätefehlern.

Die Proben werden in ein Röhrchen mit Probentransportmedium (Specimen Transport Media, STM), das die Zellen lysiert, die mRNA freisetzt und sie vor Abbau während der Lagerung schützt, entnommen bzw. in ein solches Röhrchen transferiert. Bei der Durchführung des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays wird die Target-mRNA durch Verwendung von Fänger-Oligomeren, die an magnetische Mikropartikel gebunden sind, von der Probe isoliert. Die Fänger-Oligomere enthalten Sequenzen, die zu spezifischen Regionen der HPV-mRNA-Targetmoleküle komplementär sind, sowie Desoxyadenosinreste. Während des Hybridisierungsschritts binden sich die sequenzspezifischen Regionen der Fänger-Oligomere an spezifische Regionen des HPV-mRNA-Targetmoleküls. Das Capture des Fänger-Oligomer/Target-Komplexes aus der Lösung erfolgt dann durch Verminderung der Reaktionstemperatur auf Raumtemperatur. Diese Temperatursenkung ermöglicht das Auftreten einer Hybridisierung zwischen dem Desoxyadenosinbereich auf dem Fänger-Oligomer und den Polydesoxythymidin-Molekülen, die kovalent an die Magnetpartikel gebunden sind. Diese Mikropartikel, einschließlich der an sie gebundenen HPV-mRNA-Targetmoleküle, werden mithilfe von Magneten an die Wand des Reaktionsröhrchens gezogen und der Überstand wird aspiriert. Die Partikel werden gewaschen, um Reste der Probenmatrix zu entfernen, die Amplifikationshemmer enthalten kann.

Nach Abschluss des Target Capture wird die HPV-mRNA mittels TMA amplifiziert. TMA ist ein transkriptionsbasiertes Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren, das zwei Enzyme, reverse MMLV-Transkriptase und T7-RNA-Polymerase, verwendet. Die reverse Transkriptase wird zur Erzeugung einer DNA-Kopie der Target-mRNA-Sequenz, die eine Promotersequenz für T7-RNA-Polymerase enthält, verwendet. T7-RNA-Polymerase produziert mehrere Kopien des RNA-Amplikons vom Template der DNA-Kopie.

Die Detektion des Amplikons erfolgt mit HPA unter Einsatz von chemilumineszierend markierten Nukleinsäure-Einzelstrangsonden, die zum Amplikon komplementär sind. Die markierten Nukleinsäuresonden hybridisieren spezifisch an das Amplikon. Das Selektionsreagenz differenziert zwischen hybridisierten und nicht hybridisierten Sonden, indem es die Markierung auf den nicht hybridisierten Sonden inaktiviert. Bei der Detektion wird das von den markierten RNA:DNA-Hybriden abgegebene Licht als Photonensignale, so genannten relativen Lichteinheiten (Relative Light Units, RLU), in einem Luminometer gemessen. Endgültige Assayergebnisse werden anhand des Verhältnisses von Analytsignal zu Grenzwert (Analyte Signal-to-Cutoff, S/CO) interpretiert.

Jeder Reaktion wird über das Target-Capture-Reagenz die IC (interne Kontrolle) zugesetzt. Die IC (interne Kontrolle) überwacht die Assayschritte Target Capture, Amplifikation und Detektion. Der Dual Kinetic Assay (DKA) ist ein Verfahren, das zur Unterscheidung zwischen dem HPV-Signal und dem IC-Signal eingesetzt wird.¹⁸ Die IC- und HPV-16-Amplikons werden mit Sonden mit einer schnellen Lichtemissionskinetik (Flasher) detektiert. Das Signal der IC in jeder Reaktion wird anhand der Größenordnung der Lichtemission vom HPV-16-Signal unterschieden. Für HPV 18 und 45 spezifische Amplikons werden mit Sonden mit einer relativ langsameren Kinetik der Lichtemission (Glower) detektiert.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- A. *In-vitro*-Diagnostikum.
- B. Für den professionellen Einsatz.
- C. Weitere spezifische Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen zu den Geräten finden Sie in der *Bedienungsanleitung für das Tigris DTS System* (Tigris DTS System Operator's Manual) bzw. der *Bedienungsanleitung für das Panther System* (Panther System Operator's Manual).

Laborbezogen

- D. Nur die im Lieferumfang enthaltenen oder angegebenen Einweg-Laborprodukte verwenden.
- E. Die normalen Vorsichtsmaßnahmen im Labor ergreifen. In den ausgewiesenen Arbeitsbereichen nicht essen, trinken oder rauchen. Ungepuderte Einweghandschuhe, Augenschutz und Laborkittel beim Umgang mit Proben und Kitreagenzien tragen. Nach der Handhabung von Proben und Kitreagenzien die Hände gründlich waschen.
- F. **Warnung: Reiz- und Ätzstoffe:** Kontakt von Auto Detect 2 mit Haut, Augen und Schleimhäuten vermeiden. Bei Kontakt dieser Flüssigkeit mit der Haut oder den Augen den betroffenen Bereich mit Wasser abwaschen. Bei Verschütten dieser Flüssigkeit die Verschüttung mit Wasser verdünnen und dann aufwischen.
- G. Arbeitsflächen, Pipettierer und andere Geräte müssen regelmäßig mit einer 2,5% bis 3,5% (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung dekontaminiert werden. Weitere Informationen finden Sie unter *Testverfahren mit dem Tigris DTS System* bzw. *Testverfahren mit dem Panther System*.

Probenbezogen



- H. Um die Probenintegrität zu wahren, müssen während des Probenversands und der Lagerung die ordnungsgemäßen Temperaturbedingungen aufrecht erhalten werden. Die Probenstabilität wurde ausschließlich unter den empfohlenen Versand- und Lagerungsbedingungen geprüft.
- I. Die Verfallsdaten auf den Probenentnahme-/Transferkits und -röhrchen gelten für die Entnahme-/Transferstelle und nicht für die Testeinrichtung. Die zu irgendeinem Zeitpunkt vor diesen Verfallsdaten gesammelten/transferierten Proben sind selbst nach diesen Verfallsdaten gültig für Tests, vorausgesetzt sie wurden gemäß der entsprechenden Packungsbeilage transportiert oder gelagert.
- J. Proben können infektiös sein. Bei der Durchführung dieses Assays sind die allgemein gültigen Vorsichtsmaßnahmen zu befolgen. Der Laborleiter muss die richtigen Handhabungs- und Entsorgungsverfahren festlegen. Es darf nur Personal, das in der Handhabung von infektiösen Materialien angemessen geschult wurde, gestattet werden, dieses Verfahren auszuführen.
- K. Kreuzkontamination in den Probenbehandlungsschritten vermeiden. Es ist sicherzustellen, dass die Probenbehälter nicht miteinander in Berührung kommen. Benutzte Materialien dürfen nicht über offene Behälter hinweg entsorgt werden. Wechseln Sie die Handschuhe, wenn sie mit Proben in Kontakt kommen.
- L. Unter bestimmten Bedingungen kann bei der Punktion Flüssigkeit aus den Röhrchendeckeln austreten. Weitere Informationen finden Sie unter *Testverfahren mit dem Tigris DTS System* bzw. *Testverfahren mit dem Panther System*.
- M. ThinPrep flüssige Zytologieproben und Proben mit dem Aptima Zervixprobenentnahme- und Transportkit (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) sollten zurückgewiesen werden, wenn sich die Entnahmevorrichtung noch im Probenröhrchen befindet.

- N. Befindet sich im Fläschchen keine Entnahmevorrichtung, müssen SurePath Flüssig-Zytologieproben abgelehnt werden.

Assaybezogen

- O. Die Reagenzien müssen bei den angegebenen Temperaturen gelagert werden. Die Assayleistung kann durch Verwendung von falsch gelagerten Reagenzien beeinträchtigt sein.
- P. Eine mikrobielle und Ribonuklease-Kontamination der Reagenzien vermeiden.
- Q. Kits nicht nach dem Verfallsdatum verwenden.
- R. Assayreagenzien oder Kalibratoren aus Kits mit verschiedenen Chargennummern nicht austauschen, vermischen oder kombinieren.
- S. Aptima Assayflüssigkeiten, Aptima Konservierungsmittel für Systemflüssigkeit (nur beim Tigris DTS System) und die Auto-Detect-Reagenzien gehören nicht zur Hauptcharge; sie können aus einer beliebigen Charge stammen.
- T. Die Assayreagenzien müssen gründlich vermischt werden, um korrekte Assayergebnisse zu erhalten.
- U. Es müssen Spitzen mit hydrophoben Stöpseln verwendet werden.
- V. Einige Reagenzien dieses Kits sind mit Risiko- und Sicherheitssymbolen gekennzeichnet.

Hinweis: Die Gefahrenhinweise entsprechen den Einstufungen gemäß den EU-Sicherheitsdatenblättern (SDB). Für Ihre Region spezifische Informationen zu Gefahrenhinweisen finden Sie im regionsspezifischen Sicherheitsdatenblatt (SDB) in der Sicherheitsdatenblatt-Sammlung (Safety Data Sheet Library) unter www.hologiclds.com.

EU-Gefahrenkennzeichnung	
	<p>Selektionsreagenz BORSÄURE 1 – 5% Natriumhydroxid < 1% ACHTUNG H315 – Verursacht Hautreizungen H319 – Verursacht schwere Augenreizung</p>
	<p>Target-Capture-Reagenz EDETINSÄURE 1 – 5% H411 – Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung P273 – Freisetzung in die Umwelt vermeiden P280 – Augen-/Gesichtsschutz tragen</p>

Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien

Reagenzien dürfen nach dem auf den Fläschchen angegebenen Verfallsdatum nicht mehr verwendet werden. Nachfolgend finden Sie weitere Angaben zur Lagerung.

- A. Die folgenden Reagenzien sind nach Empfang gekühlt bei 2 °C bis 8 °C zu lagern:
- HPV 16 18/45 Amplifikationsreagenz
 - HPV 16 18/45 Enzymreagenz
 - HPV 16 18/45 Sondenreagenz
 - HPV 16 18/45 Internes Kontrollreagenz
 - HPV 16 18/45 Positivkalibratoren und HPV 16 18/45 Negativkalibratoren

- B. Die folgenden Reagenzien sind bei 15 °C bis 30 °C (Raumtemperatur) zu lagern:
- HPV 16 18/45 Lösung zur Amplifikationsrekonstitution
 - HPV 16 18/45 Lösung zur Enzymrekonstitution
 - HPV 16 18/45 Lösung zur Sondenrekonstitution
 - HPV 16 18/45 Target-Capture-Reagenz
 - HPV 16 18/45 Selektionsreagenz
 - Waschlösung
 - Ölreagenz
 - Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit
 - Auto Detect Reagenz 1
 - Auto-Detect Reagenz 2
 - Aptima System Fluid Preservative (Konservierungsmittel für Systemflüssigkeit) (Nur Tigris DTS System)
- C. Nach der Rekonstitution sind die folgenden Reagenzien bei Lagerung bei 2 °C bis 8 °C 30 Tage lang stabil:
- HPV 16 18/45 Amplifikationsreagenz
 - HPV 16 18/45 Enzymreagenz
 - HPV 16 18/45 Sondenreagenz
- D. Target-Capture-Arbeitsreagenz (working Target Capture Reagent, wTCR) ist 30 Tage lang stabil, wenn es bei 15 °C bis 30 °C gelagert wird. Nicht gekühlt lagern.
- E. Entsorgen Sie alle unbenutzten rekonstituierten Reagenzien einschließlich wTCR nach 30 Tagen oder nach Ablauf des Verfallsdatums der Hauptcharge (das frühere Datum ist ausschlaggebend).
- F. Im Tigris DTS System aufbewahrte Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay-Reagenzien haben eine Haltbarkeit von 48 Stunden (kumulativ) im System.
- G. Im Panther System aufbewahrte Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay-Reagenzien haben eine Haltbarkeit von 72 Stunden (kumulativ) im System.
- H. Das Sondenreagenz und das rekonstituierte Sondenreagenz sind lichtempfindlich. Die Reagenzien sind vor Licht geschützt zu lagern.
- I. Reagenzien nicht einfrieren.

Probenentnahme und -lagerung

- A. Probenentnahme und -bearbeitung

ThinPrep Flüssig-Zytologieproben

1. Entnehmen Sie Zervixproben gemäß den Anweisungen des Herstellers mit besenartigen Entnahmeverrichtungen oder Zyto-Bürstchen/Spachtel und geben sie diese in ThinPrep Papanicolaou-Testfläschchen mit PreservCyt-Lösung.
2. Vor oder nach der Bearbeitung mit dem ThinPrep 2000 System, ThinPrep 3000 System, ThinPrep 5000 Prozessor oder ThinPrep 5000 Prozessor mit Autoloader überführen Sie 1 ml der ThinPrep Flüssig-Zytologieproben gemäß den Anweisungen der Packungsbeilage für das Aptima Probentransferkit in ein Aptima Probentransferröhrchen.

SurePath Flüssig-Zytologieproben

1. Entnehmen Sie eine SurePath Flüssig-Zytologieprobe gemäß der Gebrauchsanweisung für den SurePath Pap-Test und/oder das PrepStain System.
2. Übertragen Sie die SurePath Flüssig-Zytologieprobe in ein Aptima Probentransferröhrchen gemäß den Anweisungen in der Packungsbeilage des Aptima Probentransferkits.

Aptima Zervixprobenentnahme- und Transportkit-Proben

Die Patientenprobe entsprechend der Gebrauchsanweisung des CSCT-Kits entnehmen.

B. Transport und Lagerung vor dem Test*ThinPrep Flüssig-Zytologieproben*

1. Transportieren Sie die ThinPrep Flüssig-Zytologieproben bei 2 °C bis 30 °C.
2. Die Proben sollten innerhalb von 105 Tagen nach der Entnahme in Aptima Probentransferröhrchen transferiert werden.
3. Vor dem Transfer sind ThinPrep Flüssig-Zytologieproben bei 2 °C bis 30 °C zu lagern, jedoch nicht länger als 30 Tage über 8 °C.
4. ThinPrep Flüssig-Zytologieproben, die in ein Aptima Probentransferröhrchen transferiert wurden, können bis zu 60 Tage lang bei 2 °C bis 30 °C gelagert werden.
5. Wenn längere Lagerzeiten erforderlich sind, können die ThinPrep flüssigen Zytologieproben bzw. die in Probentransferröhrchen verdünnten ThinPrep flüssigen Zytologieproben bis zu 24 Monate bei -20 °C bis -70 °C gelagert werden.

SurePath Flüssig-Zytologieproben

1. Transportieren Sie die SurePath Flüssig-Zytologieproben bei 2 °C bis 25 °C.
2. Die Proben sollten innerhalb von 7 Tagen nach der Entnahme in Aptima Probentransferröhrchen transferiert werden.
3. Vor dem Transfer sind SurePath Flüssig-Zytologieproben bei 2 °C bis 25 °C zu lagern.
4. SurePath Flüssig-Zytologieproben, die in ein Aptima Probentransferröhrchen transferiert wurden, können bis zu 7 Tage lang bei 2 °C bis 25 °C gelagert werden.
5. Transferierte SurePath Proben müssen vor dem Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay mit Aptima Transferlösung behandelt werden. Behandelte Proben können vor dem Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bis zu 17 Tage lang bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Weitere Details finden Sie in der Packungsbeilage des Probentransferkits.

Aptima Zervixprobenentnahme- und Transportkit-Proben

1. Transportieren und lagern Sie die Proben bis zu 60 Tage bei 2 °C bis 30 °C.
2. Wenn eine längere Lagerung erforderlich ist, können Transportkit-Proben bis zu 24 Monate bei -20 °C bis -70 °C gelagert werden.

C. Probenlagerung nach dem Test

1. Die bereits getesteten Proben müssen aufrecht in einem Ständer gelagert werden.
2. Die Probenröhrchen sind mit einem neuen Barrierschutz aus sauberem Plastik oder sauberer Folie abzudecken.
3. Wenn getestete Proben gefroren oder versandt werden müssen, entfernen Sie die durchlässigen Kappen und setzen Sie neue undurchlässige Kappen auf die Probenröhrchen. Wenn Proben zum Test an eine andere Einrichtung versandt werden müssen, müssen die angegebenen Temperaturen eingehalten werden. Vor der Entfernung des Deckels von bereits getesteten und wieder verschlossenen Proben müssen die Probenröhrchen 5 Minuten bei 420 relative Zentrifugalkraft (Relative Centrifugal Force, RCF) zentrifugiert werden, um die gesamte Flüssigkeit zum Boden des Röhrchens zu bringen.

Hinweis: Der Versand der Proben muss in Übereinstimmung mit geltenden örtlichen, nationalen und internationalen Frachtbestimmungen erfolgen.

Tigris DTS System

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Kit, 100 Tests (3 Schachteln) Bestellnr. 303234

Kalibratoren sind separat erhältlich. Siehe die nachstehenden Bestellnummern für Einzelpackungen.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay gekühlte Schachtel (nach Erhalt bei 2 °C bis 8 °C lagern)

Symbol	Komponente	Menge
A	HPV 16 18/45 Amplifikationsreagenz <i>Nicht infektiöse Nukleinsäuren, getrocknet in gepufferter Lösung mit < 5% Füllstoff.</i>	1 Fläschchen
E	HPV 16 18/45 Enzymreagenz <i>Reverse Transkriptase und RNA-Polymerase, getrocknet in HEPES-gepufferter Lösung mit < 10% Füllreagenz.</i>	1 Fläschchen
P	HPV 16 18/45 Sondenreagenz <i>Nicht infektiöse chemilumineszierende DNA-Sonden (< 500 ng/Fläschchen), getrocknet in sukzinatgepufferter Lösung mit < 5% Detergens.</i>	1 Fläschchen
IC	HPV 16 18/45 Internes Kontrollreagenz <i>Nicht infektiöses RNA-Transkript in gepufferter Lösung mit < 5% Detergens.</i>	1 Fläschchen

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Raumtemperaturschachtel (nach Erhalt bei 15 °C bis 30 °C lagern)

Symbol	Komponente	Menge
AR	HPV 16 18/45 Lösung zur Amplifikationsrekonstitution <i>Wässrige Lösung mit Konservierungsmitteln.</i>	1 Fläschchen
ER	HPV 16 18/45 Lösung zur Enzymrekonstitution <i>HEPES-gepufferte Lösung mit oberflächenaktiver Substanz und Glycerol.</i>	1 Fläschchen
PR	HPV 16 18/45 Lösung zur Sondenrekonstitution <i>Sukzinatgepufferte Lösung mit < 5% Detergens.</i>	1 Fläschchen
S	HPV 16 18/45 Selektionsreagenz <i>600 mM boratgepufferte Lösung mit oberflächenaktiver Substanz.</i>	1 Fläschchen
TCR	HPV 16 18/45 Target-Capture-Reagenz <i>Nicht infektiöse Nukleinsäure in gepufferter Lösung mit Festphase (< 0,5 mg/ml).</i>	1 Fläschchen
	Rekonstitutionsverbindungsstücke	3
	Barcode-Blatt für Hauptcharge	1 Blatt

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Kalibratorenschachtel (Bestellnr. 303235)
(Lagerung bei 2 °C bis 8 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
PCAL1	HPV 16 18/45 Positivkalibrator 1 <i>Nicht infektiöses In-vitro-Transkript von HPV 18 mit 750 Kopien pro ml in einer gepufferten Lösung mit < 5% Detergens.</i>	5 Fläschchen
PCAL2	HPV 16 18/45 Positivkalibrator 2 <i>Nicht infektiöses In-vitro-Transkript von HPV 16 mit 1.000 Kopien pro ml in gepufferter Lösung mit < 5% Detergens.</i>	5 Fläschchen
NCAL	HPV 16 18/45 Negativkalibrator <i>Pufferlösung mit < 5% Detergens.</i>	5 Fläschchen

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Hinweis: Materialien, die von Hologic erhältlich sind, sind mit der Bestellnummer aufgeführt, sofern nicht anders angegeben.

	<u>Bestellnr.</u>
Tigris DTS System	105118
Tigris DTS System Durchlaufkit	301191
Multi-Röhrchen-Einheiten (Multi-Tube Units, MTU)	104772-02
MTU-/Spitzen-Entsorgungsbeutel	900907
MTU-Abfalldeflektoren	900931
MTU-Abfallabdeckungen	105523
Aptima Assayflüssigkeitskit	302382
(Aptima Waschlösung, Aptima Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit und Aptima Ölreagenz)	
Aptima Auto Detect Kit	301048
Aptima System Fluid Preservative Kit (Konservierungsmittel-Kit für Systemflüssigkeit)	302380
Spitzen, 1.000 µl, leitfähig, zur Flüssigkeitsstandmessung	10612513 (Tecan)
Aptima Probentransferkit	301154C
Aptima Probentransferkit — druckbar	PRD-05110
Aptima Zervixprobenentnahme- und Transportkit	302657
Aptima durchlässige Kappen	105668
Ersatzkappen, undurchlässig	103036A
Ersatzkappen für die Kits mit 100 Tests:	
Rekonstitutionslösungen für Amplifikations- und Sondenreagenz	CL0041
Rekonstitutionslösung für Enzymreagenz	CL0041
TCR und Selektionsreagenz	501604
Bleichmittel, mindestens 5%ige (0,7 M) Natriumhypochloritlösung	—
Wasser für das Tigris DTS System	—
Spezifikationen bitte der Bedienungsanleitung für das Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual) entnehmen	
Einweghandschuhe	—
Aptima Transferlösungskit (nur für SurePath Proben)	303658

Optionale Materialien

	<u>Bestellnr.</u>
Bleach Enhancer für die Reinigung	302101

Testverfahren mit dem Tigris DTS System

Hinweis: Nähere Verfahrensinformationen zum Tigris DTS System finden Sie in der Bedienungsanleitung für das Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual).

A. Vorbereitung des Arbeitsbereichs

Reinigen Sie die Arbeitsflächen, wo die Reagenzien vorbereitet werden. Wischen Sie die Arbeitsflächen und Pipettierer mit einer Natriumhypochloritlösung von 2,5% bis 3,5% (0,35 M bis 0,5 M) ab. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung mindestens 1 Minute auf den Flächen und Pipettierer einwirken. Spülen Sie sie anschließend mit Wasser ab. Die Natriumhypochloritlösung darf nicht antrocknen. Decken Sie die Arbeitsfläche, auf der die Reagenzien vorbereitet werden, mit sauberen, absorbierenden Labortischunterlagen mit Kunststoffunterschicht ab.

B. Vorbereitung von Reagenzien eines neuen Kits

Hinweis: Die Reagenzrekonstitution sollte vor Beginn von Arbeiten mit dem Tigris DTS System durchgeführt werden.

1. Kombinieren Sie zur Rekonstitution von Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz jeweils die Flasche mit gefriergetrocknetem Reagenz mit der Rekonstitutionslösung. Lassen Sie ggf. gekühlte Rekonstitutionslösungen vor Gebrauch auf Raumtemperatur kommen.
 - a. Paaren Sie jede Rekonstitutionslösung mit ihrem gefriergetrockneten Reagenz.
 - b. Prüfen Sie die Chargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt, um sicherzustellen, dass die richtigen Reagenzien miteinander gepaart wurden.
 - c. Öffnen Sie das Fläschchen mit dem gefriergetrockneten Reagenz und stecken Sie das gekerbte Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks fest in die Fläschchenöffnung (Abb. Abbildung 1, Schritt 1).
 - d. Öffnen Sie die entsprechende Rekonstitutionslösung und legen Sie den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche.
 - e. Halten Sie die Flasche mit der Lösung auf dem Labortisch fest und stecken Sie das andere Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks fest in die Flaschenöffnung (Abb. Abbildung 1, Schritt 2).
 - f. Drehen Sie die zusammengefügte Flasche langsam um. Lassen Sie die Lösung aus der Flasche in das Glasfläschchen ablaufen (Abb. Abbildung 1, Schritt 3).
 - g. Mischen Sie die Lösung im Fläschchen gründlich durch behutsames Schwenken. Beim Schwenken des Fläschchens Schaumbildung vermeiden (Abb. Abbildung 1, Schritt 4).
 - h. Warten Sie, bis sich das gefriergetrocknete Reagenz aufgelöst hat, und drehen Sie dann die zusammengefügte Flasche erneut um. Ein Neigungswinkel von 45° ermöglicht, die Schaumbildung auf ein Mindestmaß zu beschränken (Abb. Abbildung 1, Schritt 5). Lassen Sie die gesamte Flüssigkeit in die Plastikflasche zurücklaufen.
 - i. Entfernen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und das Fläschchen (Abb. Abbildung 1, Schritt 6).
 - j. Verschließen Sie die Plastikflasche wieder. Tragen Sie die Initialen des Bedieners und das Rekonstitutionsdatum auf dem Etikett ein (Abbildung 1, Schritt 7).

- k. Entsorgen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und das Fläschchen (Abb. Abbildung 1, Schritt 8).

Warnung: Bei der Rekonstitution von Reagenzien Schaumbildung vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung im Tigris DTS System.

Hinweis: Mischen Sie Amplifikations-, Enzym-, Sonden- und Selektionsreagenz vor dem Einsetzen in das System gründlich durch vorsichtiges Umdrehen. Beim Umdrehen der Reagenzien Schaumbildung vermeiden.

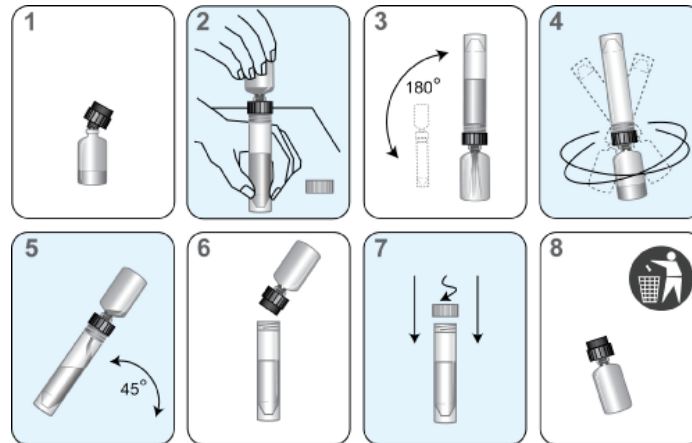


Abbildung 1. Rekonstitutionsverfahren mit dem Tigris DTS System

2. Bereiten Sie das Target-Capture-Arbeitsreagenz (working Target Capture Reagent, wTCR) vor.
 - a. Stellen Sie sicher, dass die richtigen Flaschen TCR und IC miteinander gepaart wurden.
 - b. Prüfen Sie die Reagenzchargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt, um sicherzustellen, dass die richtigen Reagenzien miteinander gepaart wurden.
 - c. Öffnen Sie die Flasche mit TCR und legen Sie den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche.
 - d. Öffnen Sie die Flasche mit IC und gießen Sie den gesamten Inhalt in die Flasche mit TCR. Sie können erwarten, dass eine geringe Menge Flüssigkeit in der IC-Flasche verbleibt.
 - e. Verschließen Sie die TCR-Flasche und schwenken Sie die Lösung behutsam, um den Inhalt zu mischen. Vermeiden Sie während dieses Schritts Schaumbildung.
 - f. Tragen Sie die Initialen des Bedieners und das aktuelle Datum auf dem Etikett ein.
 - g. Entsorgen Sie die IC-Flasche und den Deckel.
 - h. Im wTCR kann sich ein Präzipitat bilden, was zu ungültigen Ergebnissen aufgrund von Volumenüberprüfungsfehlern führen kann. Das Präzipitat kann aufgelöst werden, indem das wTCR bis zu 90 Minuten lang auf 42 °C bis 60 °C erwärmt wird. Lassen Sie das wTCR vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen. Nicht verwenden, wenn immer noch ein Präzipitat vorhanden ist.
3. Vorbereitung von Selektionsreagenz
 - a. Prüfen Sie die Reagenzchargennummer auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt, um sicherzustellen, dass es zum Kit gehört.
 - b. Wenn das Selektionsreagenz ein Präzipitat enthält, erwärmen Sie es bis zu 45 Minuten lang auf 60 °C ± 1 °C, um die Auflösung des Präzipitats zu erleichtern.

Vermischen Sie den Flascheninhalt vorsichtig alle 5 bis 10 Minuten. Lassen Sie das Selektionsreagenz vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen. Nicht verwenden, wenn immer noch ein Präzipitat oder Trübung vorhanden ist.

Hinweis: Mischen Sie alle Reagenzien vor dem Laden in das System durch vorsichtiges Umdrehen gründlich durch. Beim Umdrehen der Reagenzien Schaumbildung vermeiden.

C. Reagenzienvorbereitung für bereits rekonstituierte Reagenzien

1. Zuvor rekonstituierte Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenzien müssen vor dem Start des Tests auf Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) gebracht werden.
2. Wenn das rekonstituierte Sondenreagenz ein Präzipitat enthält, das bei Raumtemperatur nicht wieder in Lösung geht, erwärmen Sie es 1 bis 2 Minuten lang auf höchstens 60 °C. Nicht verwenden, wenn ein Präzipitat oder eine Trübung vorhanden ist.
3. Wenn das wTCR ein Präzipitat enthält, erwärmen Sie es bis zu 90 Minuten lang auf 42 °C bis 60 °C. Lassen Sie das wTCR vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen. Nicht verwenden, wenn immer noch ein Präzipitat vorhanden ist.
4. Wenn das Selektionsreagenz ein Präzipitat enthält, erwärmen Sie es bis zu 45 Minuten lang auf 60 °C ± 1 °C, um die Auflösung des Präzipitats zu erleichtern. Vermischen Sie den Flascheninhalt vorsichtig alle 5 bis 10 Minuten. Lassen Sie das Selektionsreagenz vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen. Nicht verwenden, wenn immer noch ein Präzipitat oder Trübung vorhanden ist.
5. Mischen Sie alle Reagenzien vor dem Laden in das System durch vorsichtiges Umdrehen gründlich durch. Beim Umdrehen der Reagenzien Schaumbildung vermeiden.
6. Füllen Sie Reagenzienflaschen nicht nach. Das Tigris DTS System erkennt Flaschen, die nachgefüllt wurden, und nimmt sie nicht an.

D. Probenhandhabung

1. Lassen Sie die Proben (Kalibratoren und Patientenproben) vor der Bearbeitung auf Raumtemperatur kommen.
2. **Proben nicht mit dem Vortex-Mischer mischen.**
3. Prüfen Sie die Probenröhrchen vor dem Laden in die Ständer. Wenn ein Probenröhrchen Blasen oder ein geringeres Volumen aufweist, als es normalerweise beobachtet wird, zentrifugieren Sie das Röhrchen 5 Minuten bei 420 RCF, um sicherzustellen, dass sich keine Flüssigkeit im Deckel befindet.

Hinweis: Bei Nichtbefolgen von Schritt 3 kann aus dem Probenröhrchendeckel Flüssigkeit auslaufen.

E. Vorbereitung des Systems

Richten Sie das System und die Arbeitsliste entsprechend den Anweisungen in der Betriebsanleitung (*Tigris DTS System Operator's Manual*) *Verfahrenshinweise* und im nachstehenden Abschnitt ein.

Verfahrenshinweise

A. Kalibratoren

1. Jede Arbeitsliste muss 2 Replikate des Negativkalibrators und jedes Positivkalibrators enthalten. Für eine ordnungsgemäße Funktion mit der Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Software muss sich der Negativkalibrator in der ersten Röhrchenposition des ersten Ständers der Arbeitsliste, der Positivkalibrator 1 in der zweiten Röhrchenposition des ersten Ständers der Arbeitsliste und der Positivkalibrator 2 in der dritten Röhrchenposition des ersten Ständers der Arbeitsliste befinden.

2. Wenn versucht wird, mehr als zwei Replikate aus einem Kalibratorröhrchen zu pipettieren, kann es zu Fehlern aufgrund unzureichender Mengen kommen.
 3. Kalibratoren sind mit der entsprechenden Reagenzienhauptcharge zu verwenden. Der Bediener muss überprüfen, ob die korrekte Kalibratorcharge mit der entsprechenden Hauptcharge an Kitreagenzien verwendet wird, wie sie auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt angegeben sind. Beim Bestellen zusätzlicher Kalibratoren muss die entsprechende Chargennummer angegeben werden.
- B. Temperatur
Raumtemperatur ist definiert als 15 °C bis 30 °C.
- C. Handschuhpuder
Wie in jedem Reagenzsystem kann übermäßiger Puder auf manchen Handschuhen eine Kontamination geöffneter Röhrchen verursachen. Es werden ungepuderte Handschuhe empfohlen.

Panther System

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, 100 Tests, (3 Schachteln) Bestellnr. 303236

Kalibratoren sind separat erhältlich. Siehe nachstehende Bestellnummern für Einzelpackungen.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay gekühlte Schachtel (nach Erhalt bei 2 °C bis 8 °C lagern)

Symbol	Komponente	Menge
A	HPV 16 18/45 Amplifikationsreagenz <i>Nicht infektiöse Nukleinsäuren, getrocknet in gepufferter Lösung mit < 5% Füllstoff.</i>	1 Fläschchen
E	HPV 16 18/45 Enzymreagenz <i>Reverse Transkriptase und RNA-Polymerase, getrocknet in HEPES-gepufferter Lösung mit < 10% Füllreagenz.</i>	1 Fläschchen
P	HPV 16 18/45 Sondenreagenz <i>Nicht infektiöse chemilumineszierende DNA-Sonden (< 500 ng/Fläschchen), getrocknet in sukzinatgepufferter Lösung mit < 5% Detergens.</i>	1 Fläschchen
IC	HPV 16 18/45 internes Kontrollreagenz <i>Nicht infektiöses RNA-Transkript in gepufferter Lösung mit < 5% Detergens.</i>	1 Fläschchen

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Raumtemperaturschachtel (nach Erhalt bei 15 °C bis 30 °C lagern)

Symbol	Komponente	Menge
AR	HPV 16 18/45 Rekonstitutionslösung für Amplifikationsreagenz <i>Wässrige Lösung mit Konservierungsmitteln.</i>	1 Fläschchen
ER	HPV 16 18/45 Rekonstitutionslösung für Enzymreagenz <i>HEPES-gepufferte Lösung mit oberflächenaktiver Substanz und Glycerol.</i>	1 Fläschchen
PR	HPV 16 18/45 Rekonstitutionslösung für Sondenreagenz <i>Sukzinatgepufferte Lösung mit < 5% Detergens.</i>	1 Fläschchen
S	HPV 16 18/45 Selektionsreagenz <i>600 mM boratgepufferte Lösung mit oberflächenaktiver Substanz.</i>	1 Fläschchen
TCR	HPV 16 18/45 Target-Capture-Reagenz <i>Nicht infektiöse Nukleinsäure in gepufferter Lösung mit Festphase (< 0,5 mg/ml).</i>	1 Fläschchen
	Rekonstitutionsverbindungsstücke	3
	Barcode-Blatt für Hauptcharge	1 Blatt

Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay Kalibratorenschachtel (Bestellnr. 303235)
(nach Erhalt bei 2 °C bis 8 °C lagern)

Symbol	Komponente	Menge
PCAL1	HPV 16 18/45 Positivkalibrator 1 <i>Nicht infektiöses HPV-18-In-vitro-Transkript mit 750 Kopien pro ml in gepufferter Lösung mit < 5% Detergens.</i>	5 Fläschchen
PCAL2	HPV 16 18/45 Positivkalibrator 2 <i>Nicht infektiöses HPV-16-In-vitro-Transkript mit 1.000 Kopien pro ml in gepufferter Lösung mit < 5% Detergens.</i>	5 Fläschchen
NCAL	HPV 16 18/45 Negativkalibrator <i>Pufferlösung mit < 5% Detergens.</i>	5 Fläschchen

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Hinweis: Materialien, die von Hologic erhältlich sind, sind mit der Bestellnummern aufgeführt, sofern nicht anders angegeben.

	<u>Bestellnr.</u>
Panther System	303095
Panther Durchlauf-Kit	303096
<i>Aptima Assayflüssigkeitskit</i>	303014
<i>(Aptima Waschlösung, Aptima Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit und Aptima Ölreagenz)</i>	
<i>Aptima Auto Detect Kit</i>	303013
<i>Multi-Röhrchen-Einheiten (Multi-Tube Units, MTUs)</i>	104772-02
<i>Panther Entsorgungsbeutel-Kit</i>	902731
<i>Panther Abfallabdeckung</i>	504405
Spitzen, 1.000 µl, leitfähig, zur Flüssigkeitsstandmessung	10612513 (Tecan)
Aptima Probentransferkit	301154C
Aptima Probentransferkit — druckbar	PRD-05110
Aptima Zervixprobenentnahme- und Transportkit	302657
Aptima durchlässige Kappen	105668
Ersatzkappen, undurchlässig	103036A
Ersatzkappen für die Kits mit 100 Tests:	
<i>Rekonstitutionslösungen für Amplifikations- und Sondenreagenz</i>	CL0041
<i>Rekonstitutionslösung für Enzymreagenz</i>	CL0041
<i>TCR und Selektionsreagenz</i>	501604
Bleichmittel, mindestens 5%ige (0,7 M) Natriumhypochloritlösung	—
Einweghandschuhe	—
Aptima Transferlösungskit (nur für SurePath Proben)	303658

Optionale Materialien

	<u>Bestellnr.</u>
Bleach Enhancer für die Reinigung	302101

Testverfahren mit dem Panther System

Hinweis: Nähere Verfahrensinformationen zum Panther System finden Sie in der Bedienungsanleitung für das Panther System (Panther System Operator's Manual).

A. Vorbereitung des Arbeitsbereichs

Reinigen Sie die Arbeitsflächen, wo die Reagenzien und Proben vorbereitet werden. Wischen Sie die Arbeitsflächen mit einer 2,5%igen bis 3,5%igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung ab. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung mindestens 1 Minute auf den Flächen einwirken. Spülen Sie sie anschließend mit Wasser ab. Die Natriumhypochloritlösung darf nicht antrocknen. Decken Sie die Arbeitsfläche, auf der die Reagenzien und Proben vorbereitet werden, mit sauberen, absorbierenden Labortischunterlagen mit Kunststoffunterschicht ab.

B. Vorbereitung von Reagenzien eines neuen Kits

Hinweis: Die Reagenzrekonstitution sollte vor Beginn von Arbeiten mit dem Panther System durchgeführt werden.

1. Kombinieren Sie zur Rekonstitution von Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz jeweils die Flasche mit gefriergetrocknetem Reagenz mit der Rekonstitutionslösung. Lassen Sie ggf. gekühlte Rekonstitutionslösungen vor Gebrauch auf Raumtemperatur kommen.
 - a. Paaren Sie jede Rekonstitutionslösung mit ihrem gefriergetrockneten Reagenz. Stellen Sie vor Anbringung des Rekonstitutionsverbindungsstücks sicher, dass die Rekonstitutionslösung und das Reagenz gleichfarbige Etiketten aufweisen.
 - b. Prüfen Sie die Chargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt, um sicherzustellen, dass die richtigen Reagenzien miteinander gepaart wurden.
 - c. Öffnen Sie das Fläschchen mit dem gefriergetrockneten Reagenz und stecken Sie das gekerbte Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks fest in die Fläschchenöffnung (Abbildung 2, Schritt 1).
 - d. Öffnen Sie die entsprechende Rekonstitutionslösung und legen Sie den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche.
 - e. Halten Sie die Flasche mit der Lösung auf dem Labortisch fest und stecken Sie das andere Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks fest in die Flasche (Abbildung 2, Schritt 2).
 - f. Drehen Sie die zusammengebauten Flaschen langsam um. Lassen Sie die Lösung aus der Flasche in das Glasfläschchen ablaufen (Abbildung 2, Schritt 3).
 - g. Mischen Sie die Lösung in der Flasche durch behutsames Schwenken. Beim Schwenken der Flasche Schaumbildung vermeiden (Abbildung 2, Schritt 4).
 - h. Warten Sie, bis sich das gefriergetrocknete Reagenz aufgelöst hat, und drehen Sie dann die zusammengebauten Flaschen erneut um. Ein Neigungswinkel von 45° ermöglicht, die Schaumbildung auf ein Mindestmaß zu beschränken (Abbildung 2, Schritt 5). Lassen Sie die gesamte Flüssigkeit in die Plastikflasche zurücklaufen.
 - i. Entfernen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und das Glasfläschchen (Abbildung 2, Schritt 6).
 - j. Verschließen Sie die Plastikflasche wieder. Tragen Sie die Initialen des Bedieners und das Rekonstitutionsdatum auf dem Etikett ein (Abbildung 2, Schritt 7).
 - k. Entsorgen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und das Fläschchen (Abbildung 2, Schritt 8).

Warnung: Bei der Rekonstitution von Reagenzien Schaumbildung vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung im Panther System.

Hinweis: Mischen Sie Amplifikations-, Enzym-, Sonden- und Selektionsreagenz vor dem Einsetzen in das System gründlich durch vorsichtiges Umdrehen. Beim Umdrehen der Reagenzien Schaumbildung vermeiden.

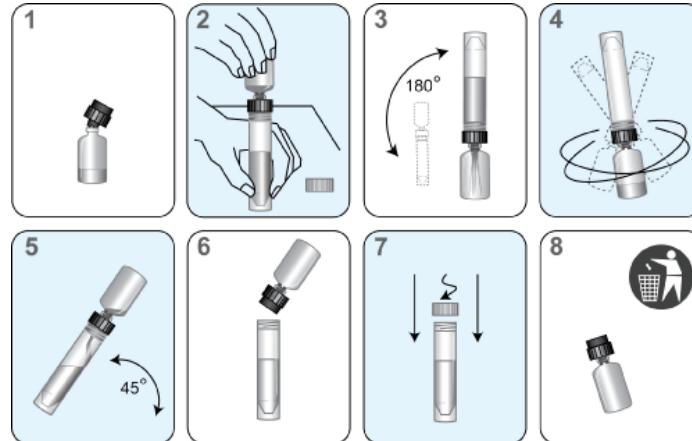


Abbildung 2. Rekonstitutionsverfahren mit dem Panther System

2. Bereiten Sie das Target-Capture-Arbeitsreagenz (working Target Capture Reagent, wTCR) vor.
 - a. Stellen Sie sicher, dass die richtigen Flaschen TCR und IC miteinander gepaart wurden.
 - b. Prüfen Sie die Reagenzchargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt, um sicherzustellen, dass die entsprechenden Reagenzien im Kit miteinander gepaart wurden.
 - c. Öffnen Sie die Flasche mit TCR und legen Sie den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche.
 - d. Öffnen Sie die Flasche mit IC und gießen Sie den gesamten Inhalt in die Flasche mit TCR. Sie können erwarten, dass eine geringe Menge Flüssigkeit in der IC-Flasche verbleibt.
 - e. Verschließen Sie die TCR-Flasche und schwenken Sie die Lösung behutsam, um den Inhalt zu mischen. Vermeiden Sie während dieses Schritts Schaumbildung.
 - f. Tragen Sie die Initialen des Bedieners und das aktuelle Datum auf dem Etikett ein.
 - g. Entsorgen Sie die IC-Flasche und den Deckel.
 - h. Im wTCR kann sich ein Präzipitat bilden, was zu ungültigen Ergebnissen aufgrund von Volumenüberprüfungsfehlern führen kann. Das Präzipitat kann aufgelöst werden, indem das wTCR bis zu 90 Minuten lang auf 42 °C bis 60 °C erwärmt wird. Lassen Sie das wTCR vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen. Nicht verwenden, wenn immer noch ein Präzipitat vorhanden ist.
3. Vorbereitung von Selektionsreagenz
 - a. Prüfen Sie die Reagenzchargennummer auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt, um sicherzustellen, dass es zum Kit gehört.
 - b. Wenn das Selektionsreagenz ein Präzipitat enthält, erwärmen Sie es bis zu 45 Minuten lang auf 60 °C ± 1 °C, um die Auflösung des Präzipitats zu erleichtern. Vermischen Sie den Flascheninhalt vorsichtig alle 5 bis 10 Minuten. Lassen Sie das

Selektionsreagenz vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen. Nicht verwenden, wenn immer noch ein Präzipitat oder Trübung vorhanden ist.

Hinweis: Mischen Sie alle Reagenzien vor dem Laden in das System durch vorsichtiges Umdrehen gründlich durch. Beim Umdrehen der Reagenzien Schaumbildung vermeiden.

C. Reagenzienvorbereitung für bereits rekonstituierte Reagenzien

1. Zuvor rekonstituiertes Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz muss vor dem Start des Tests jeweils auf Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) gebracht werden.
2. Wenn das rekonstituierte Sondenreagenz ein Präzipitat enthält, das bei Raumtemperatur nicht wieder in Lösung geht, erwärmen Sie es 1 bis 2 Minuten lang auf höchstens 60 °C. Nicht verwenden, wenn ein Präzipitat oder eine Trübung vorhanden ist.
3. Wenn das wTCR ein Präzipitat enthält, erwärmen Sie es bis zu 90 Minuten lang auf 42 °C bis 60 °C. Lassen Sie das wTCR vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen. Nicht verwenden, wenn immer noch ein Präzipitat vorhanden ist.
4. Wenn das Selektionsreagenz ein Präzipitat enthält, erwärmen Sie es bis zu 45 Minuten lang auf 60 °C ± 1 °C, um die Auflösung des Präzipitats zu erleichtern. Vermischen Sie den Flascheninhalt vorsichtig alle 5 bis 10 Minuten. Lassen Sie das Selektionsreagenz vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen. Nicht verwenden, wenn immer noch ein Präzipitat oder Trübung vorhanden ist.
5. Mischen Sie alle Reagenzien vor dem Laden in das System durch vorsichtiges Umdrehen gründlich durch. Beim Umdrehen der Reagenzien Schaumbildung vermeiden.
6. Füllen Sie Reagenzienflaschen nicht nach. Das Panther System erkennt Flaschen, die nachgefüllt wurden, und nimmt sie nicht an.

D. Probenhandhabung

1. Lassen Sie die Proben (Kalibratoren, Patientenproben und ggf. vom Anwender bereitgestellte externe Qualitätskontrollproben) vor der Bearbeitung auf Raumtemperatur kommen.
2. **Mischen Sie Proben nicht mit dem Vortex-Mischer.**
3. Prüfen Sie die Probenröhrchen vor dem Laden in den Ständer. Wenn ein Probenröhrchen Luftbläschen enthält oder ein geringeres Volumen aufweist, als es normalerweise beobachtet wird, zentrifugieren Sie das Röhrchen 5 Minuten lang bei 420 RCF, um sicherzustellen, dass sich keine Flüssigkeit im Deckel befindet.

Hinweis: Bei Nichtbefolgen von Schritt 3 kann aus dem Probenröhrchendeckel Flüssigkeit auslaufen.

E. Vorbereitung des Systems

Richten Sie das Gerät nach der Anweisung in der *Bedienungsanleitung für das Panther System* (Panther System Operator's Manual) und dem folgenden Abschnitt *Verfahrenshinweise* ein. Achten Sie darauf, Reagenzienständer und TCR-Adapter der geeigneten Größe zu verwenden.

Verfahrenshinweise

A. Kalibratoren

1. Zum sachgemäßen Arbeiten mit der Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay-Software auf dem Panther System sind zwei Replikate für den Negativkalibrator und für jeden Positivkalibrator erforderlich. Ein Fläschchen jedes Kalibrators kann in eine beliebige Ständerposition in einer Probenfachbahn auf dem Panther System geladen werden. Die Pipettierung der Proben beginnt, wenn eine der folgenden beiden Bedingungen erfüllt ist:
 - a. Das Panther System bearbeitet derzeit Positiv- und Negativkalibratoren.

- b. Gültige Ergebnisse für die Kalibratoren werden auf dem Panther System registriert.
 2. Sobald die Kalibratorröhrchen für ein bestimmtes Reagenzienkit pipettiert wurden und in Bearbeitung sind, können mit dem zugehörigen Assayreagenzienkit bis zu 24 Stunden lang Patientenproben ausgeführt werden, es sei denn, dass:
 - a. die Kalibratoren ungültig sind
 - b. das zugehörige Assayreagenzienkit wird aus dem Panther System genommen.
 - c. die Haltbarkeit des zugehörigen Assayreagenzienkits überschritten ist.
 3. Wenn versucht wird, mehr als zwei Replikate aus einem Kalibratorröhrchen zu pipettieren, kann es zu Fehlern aufgrund unzureichender Mengen kommen.
- B. Temperatur
- Raumtemperatur ist definiert als 15 °C bis 30 °C.
- C. Handschuhpuder
- Wie in jedem Reagenzsystem kann übermäßiger Puder auf manchen Handschuhen eine Kontamination geöffneter Röhrchen verursachen. Es werden ungepuderte Handschuhe empfohlen.

Qualitätskontrollverfahren

A. Laufvaliditätskriterien

Die Software stellt automatisch die Gültigkeit des Durchlaufs fest. Die Software macht einen Durchlauf ungültig, wenn einer der folgenden Zustände eintritt:

- Mehr als ein ungültiges Replikat des Negativkalibrators.
- Mehr als ein ungültiges Replikat des Positivkalibrators 1.
- Mehr als ein ungültiges Replikat des Positivkalibrators 2.
- Mehr als 1 von 6 ungültigen Kalibratorreplikaten kombiniert.

Der Bediener kann einen Durchlauf ungültig machen, wenn bei der Durchführung des Assays technische Schwierigkeiten oder Schwierigkeiten des Bedieners bzw. Gerätes beobachtet und dokumentiert werden.

Ein ungültiger Durchlauf muss wiederholt werden. Abgebrochene Durchläufe müssen wiederholt werden.

B. Kalibrator-Annahmekriterien

Die nachstehende Tabelle definiert die RLU-Kriterien für die Replikate des Negativ- und Positivkalibrators.

	Tigris DTS System	Panther System
Negativkalibrator		
18/45 RLU	$\geq 0 \text{ und } \leq 60.000 \text{ RLU}$	$\geq 0 \text{ und } \leq 60.000 \text{ RLU}$
IC/16 RLU	$\geq 75.000 \text{ und } \leq 300.000 \text{ RLU}$	$\geq 75.000 \text{ und } \leq 300.000 \text{ RLU}$
Positivkalibrator 1		
18/45 RLU	$\geq 850.000 \text{ und } \leq 2.200.000 \text{ RLU}$	$\geq 800.000 \text{ und } \leq 2.200.000 \text{ RLU}$
IC/16 RLU	$\leq 475.000 \text{ RLU}$	$\leq 475.000 \text{ RLU}$
Positivkalibrator 2		
18/45 RLU	$\leq 115.000 \text{ RLU}$	$\leq 115.000 \text{ RLU}$
IC/16 RLU	$\geq 625.000 \text{ und } \leq 4.000.000 \text{ RLU}$	$\geq 625.000 \text{ und } \leq 4.000.000 \text{ RLU}$

C. IC-Grenzwert

Der IC-Grenzwert wird anhand des IC/16-Analysignals der gültigen Replikate des Negativkalibrators bestimmt.

$$\text{IC-Grenzwert} = 0,5 \times [\text{mittlerer IC/16-RLU-Wert der gültigen Replikate des Negativkalibrators}]$$

D. Analyt-16-Grenzwert

Der Analyt-Grenzwert für HPV 16 wird anhand des IC/16-RLU-Signals der gültigen Replikate des Negativkalibrators und der gültigen Replikate des Positivkalibrators 2 bestimmt.

$$\text{Analyt-16-Grenzwert} = 2 \times [\text{mittlerer IC/16-RLU-Wert der gültigen Replikate des Negativkalibrators}] + 0,1 \times [\text{mittlerer IC/16-RLU-Wert der gültigen Replikate des Positivkalibrators 2}]$$

E. Analyt-18/45-Grenzwert

Der Analyt-Grenzwert für HPV 18/45 wird anhand des 18/45-RLU-Signals der gültigen Replikate des Negativkalibrators und der gültigen Replikate des Positivkalibrators 1 bestimmt.

$$\text{Analyt-18/45-Grenzwert} = 1 \times [\text{mittlerer 18/45-RLU-Wert der gültigen Replikate des Negativkalibrators}] + 0,18 \times [\text{mittlerer 18/45-RLU-Wert der gültigen Replikate des Positivkalibrators 1}]$$

Testauswertung

Die Testergebnisse werden automatisch von der Assay-Software ermittelt. Ein Testergebnis kann negativ auf HPV 16 und HPV 18/45, negativ auf HPV 16 und positiv auf HPV 18/45, positiv auf HPV 16 und negativ auf HPV 18/45, positiv auf HPV 16 und HPV 18/45 oder ungültig sein und wird anhand des IC-RLU- und des S/CO-Werts, wie in der nachstehenden Tabelle beschrieben, bestimmt. Ein Testergebnis kann auch aufgrund anderer Parameter (z.B. abnormaler Verlauf der Kurve), die außerhalb der normalen Erwartungswerte liegen, ungültig sein. Ungültige Testergebnisse sollten wiederholt werden.

CSCT-Kit-Proben können verdünnt werden, um potenziell interferierende Substanzen auszuschalten. Verdünnen Sie 1 Teil der ungültigen Patientenprobe mit 8 Teilen Probentransportmedium (die Lösung in den CSCT-Kit-Röhrchen); z.B. 560 µl Patientenprobe in ein neues CSCT-Kit-Röhrchen, das 4,5 ml Probentransportmedium enthält. Drehen Sie die verdünnte Probe vorsichtig um, um sie zu vermischen. Vermeiden Sie Schaumbildung. Testen Sie die verdünnte Patientenprobe entsprechend dem Standard-Assayverfahren.

Hinweis: Verdünnen Sie keine bereits verdünnten ungültigen Proben. Falls eine verdünnte Probe ein ungültiges Ergebnis erzielt, sollte eine neue Probe vom Patienten entnommen werden.

Ergebnis des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays	Kriterien
Negativ - 16 Negativ - 18/45	<i>IC/HPV 16 RLU \geq IC-Grenzwert und HPV 16 S/CO $<$ 1,00 und HPV 18/45 S/CO $<$ 1,00</i>
Negativ - 16 Positiv - 18/45	<i>HPV 16 S/CO $<$ 1,00 und HPV 18/45 S/CO \geq 1,00 und HPV 18/45 RLU \leq 3.000.000</i>
Positiv - 16 Negativ - 18/45	<i>HPV 16 S/CO \geq 1,00 und IC/HPV 16 RLU \leq 4.000.000 und HPV 18/45 S/CO $<$ 1,00</i>
Positiv - 16 Positiv - 18/45	<i>HPV 16 S/CO \geq 1,00 und IC/HPV 16 RLU \leq 4.000.000 und HPV 18/45 S/CO \geq 1,00 und HPV 18/45 RLU \leq 3.000.000</i>
Ungültig	<i>HPV 16 S/CO $<$ 1,00 und HPV 18/45 S/CO $<$ 1,00 und IC/HPV 16 RLU $<$ IC-Grenzwert oder IC/HPV 16 RLU $>$ 4.000.000 oder HPV 18/45 RLU $>$ 3.000.000</i>

Einschränkungen

- A. Andere Probentypen als die unter „Verwendungszweck“ genannten wurden nicht bewertet.
- B. Die Leistung des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays wurde nicht bei Personen geprüft, die gegen HPV geimpft sind.
- C. Der Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay wurde nicht in Fällen mit Verdacht auf sexuellen Missbrauch bewertet.
- D. Die Prävalenz von HPV-Infektionen in einem Kollektiv kann die Leistung beeinträchtigen. Der positive prädiktive Wert nimmt ab, wenn ein Kollektiv mit niedriger Prävalenz bzw. Personen ohne Infektionsrisiko getestet werden.
- E. ThinPrep Flüssig-Zytologieproben, die nach der Vorbereitung eines Testobjektträgers für den ThinPrep-Pap-Test weniger als 1 ml enthalten, gelten als unzureichend für den Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.
- F. Die Testergebnisse können durch eine unsachgemäße Probenentnahme, Lagerung oder Probenbearbeitung beeinträchtigt sein.
- G. Die interne Kontrolle überwacht die Assayschritte Target Capture, Amplifikation und Detektion. Sie ist nicht als Kontrolle für eine ausreichende Zervixprobe vorgesehen.
- H. Ein negatives Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay schließt die Möglichkeit zytologischer Anomalien oder einer zukünftigen oder zugrunde liegenden Erkrankung des Schweregrads CIN2, CIN3 oder ein Karzinom nicht aus.
- I. Der Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay liefert qualitative Ergebnisse. Daher kann keine Korrelation zwischen der Stärke eines positiven Assaysignals und dem mRNA-Expressionsniveau in einer Probe aufgestellt werden.
- J. Die Detektion von mRNA von Hochrisiko-HPV (Typ 16, 18 und 45) ist abhängig von der Anzahl in der Probe vorhandener Kopien und kann durch Probeentnahmemethoden, Patientenfaktoren, das Infektionsstadium und das Vorhandensein von Störsubstanzen beeinträchtigt werden.
- K. Die Infektion mit HPV ist kein Indikator für zytologisches HSIL oder zugrunde liegende hochgradige CIN, und lässt nicht auf die Entwicklung von CIN2, CIN3 oder Krebs schließen. Die meisten Frauen, die sich mit einem oder mehreren Hochrisiko-HPV-Typen infiziert haben, entwickeln weder CIN2, CIN3 noch Krebs.
- L. Die folgenden Substanzen können die Funktion des Assays stören, wenn sie über den angegebenen Konzentrationen vorhanden sind: vaginale Gleitmittel (mit Polyquaternium 15) bei 1% Gew./Vol., Fungizidsalbe (mit Tioconazol) bei 0,03% Gew./Vol., Schleim bei 0,3% Gew./Vol., intravaginale Hormone (mit Progesteron) bei 1% Gew./Vol., Trichomonas vaginalis bei 3×10^4 Zellen/ml.
- M. HPV 45 in hoher Konzentration kann die Fähigkeit des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays zum Nachweis von HPV 16 in niedriger Konzentration reduzieren.
- N. Die Wirkung von anderen potenziellen Variablen wie z. B. Scheidenausfluss, Verwendung von Tampons usw. sowie Variablen bei der Probenentnahme wurden nicht bewertet.
- O. Die Anwendung dieses Produkts kann auf Personen beschränkt werden, die eine Ausbildung zur Anwendung des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays durchlaufen haben.
- P. Eine Kreuzkontamination von Proben kann zu falschpositiven Ergebnissen führen. Die Verschleppungsrate des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays auf dem Tigris DTS System und dem Panther System wurde in nicht-klinischen Studien ermittelt und betrug 0,35% bzw. 0,19%.
- Q. Die Ergebnisse des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays müssen in Verbindung mit anderen dem Arzt zur Verfügung stehenden Labordaten und klinischen Befunden interpretiert werden.

Erwartete Ergebnisse auf dem Tigris DTS System: Prävalenz von High-Risk-HPV-mRNA

Die Prävalenz von Hochrisiko-HPV-Infektionen variiert stark und wird von mehreren Faktoren beeinflusst, wobei das Alter der größte Einflussfaktor ist.^{19,20} Viele Studien haben die HPV-Prävalenz anhand der Detektion von HPV-DNA untersucht, aber nur wenige Studien geben die Prävalenz auf Basis der Detektion von mRNA onkogener HPV an. Patientinnen an verschiedenen Studienzentren (n=18), die eine breit gefächerte geografische Streuung und ein differenziertes Kollektiv (10 US-Bundesstaaten) repräsentieren, wurden in eine prospektive klinische Studie, die so genannte CLEAR-Studie, aufgenommen, um den Aptima HPV Assay zu bewerten, der 14 Hochrisiko-HPV-Typen detektiert.²¹ In einer separaten klinischen Studie wurden Proben von Patientinnen in der CLEAR-Studie mit positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bewertet. Die Prävalenz von HPV 16, 18 und 45 sowie der übrigen 11 in der klinischen Studie beobachteten Typen von High-Risk-HPV wurde anhand der Ergebnisse beim Test mit dem Aptima HPV Assay und dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sowohl insgesamt als auch nach Altersgruppen und Testzentren eingestuft. Die Ergebnisse für die Populationen „Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance“ (ASC-US) und „Negativ für intraepitheliale Läsion oder Malignität“ (NILM) gehen aus Tabelle 1 hervor.

Tabelle 1: Prävalenz von Hochrisiko-HPV-mRNA in Kollektiven nach Altersgruppe, nach Prüfstelle und im Gesamten

	Positivitätsrate % (x/n)							
	ASC-US-Kollektiv (≥ 21 Jahre)				NILM-Population (≥ 30 Jahre)			
	HPV 16 Pos.	HPV 18/45 Pos.	HPV-16- und -18/45-pos.	Pos. auf 11 andere HR*	HPV 16 Pos.	HPV 18/45 Pos.	HPV-16- und -18/45-pos.	Pos. auf 11 andere HR*
Alle	7,8 (71/912)	5,2 (47/912)	0,3 (3/912)	25,5 (233/912)	0,4 (47/10.846)	0,4 (47/10.846)	0 (0/10.846)	3,9 (421/10.846)
Altersgruppe (Jahre)								
21 bis 29	13,2 (51/386)	4,9 (19/386)	0,5 (2/386)	38,3 (148/386)	N. zutr.	N. zutr.	N. zutr.	N. zutr.
30 bis 39	5,4 (14/257)	7,0 (18/257)	0,4 (1/257)	21,8 (56/257)	0,7 (30/4.188)	0,6 (27/4.188)	0 (0/4.188)	5,3 (221/4.188)
≥ 40	2,2 (6/269)	3,7 (10/269)	0 (0/269)	10,8 (29/269)	0,3 (17/6.658)	0,3 (20/6.658)	0 (0/6.658)	3,0 (200/6.658)
Prüfstelle								
1	9,0 (27/301)	4,3 (13/301)	0,7 (2/301)	24,9 (75/301)	0,4 (13/3.666)	0,5 (18/3.666)	0 (0/3.666)	3,8 (141/3.666)
2	7,4 (23/310)	6,1 (19/310)	0 (0/310)	26,5 (82/310)	0,5 (18/3.671)	0,5 (17/3.671)	0 (0/3.671)	3,7 (136/3.671)
3	7,0 (21/301)	5,0 (15/301)	0,3 (1/301)	25,2 (76/301)	0,5 (16/3.509)	0,3 (12/3.509)	0 (0/3.509)	4,1 (144/3.509)

N. zutr. = Nicht zutreffend, HR = Hochrisiko, Pos. = Positiv

*HPV-Typ 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 und 68

Leistung des Assays auf dem Tigris DTS System

Design der klinischen Studie zum Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay mit ThinPrep flüssigen Zytologieproben

Der Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay wurde unter Verwendung von Papanicolaou-Überweisungsproben, die Patientinnen im Rahmen der in den USA durchgeführten, prospektiven, multizentrischen, klinischen Studie namens CLEAR nach Erhalt einer entsprechenden Einwilligung entnommen worden waren, bewertet. Die CLEAR-Studie wurde zur Ermittlung der klinischen Leistung des Aptima HPV Assays für den Nachweis von einer zervikalen intraepithelialen Neoplasie (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN) vom Grad 2 oder von Zervixerkrankungen höheren Grades (\geq CIN2) durchgeführt. Die Patientinnen wurden abhängig von den ThinPrep flüssigkeitsbasierten Zytologie-Überweisungsproben aus dem Zervixkarzinom-Routinescreening der ASC-US-Studie oder der NILM-Studie zugeteilt. Die ASC-US-Studienpopulation umfasste Frauen ab 21 Jahren mit zytologischen ASC-US-Befunden, und das NILM-Studienkollektiv umfasste Frauen ab 30 Jahren mit zytologischen NILM-Befunden.

Es wurden Frauen von 18 klinischen Prüfstellen, vorwiegend Kliniken für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, die eine breitgefächerte geografische Streuung und ein differenziertes Kollektiv abdeckten, analysiert. In der CLEAR-Studie wurden verbliebene Papanicolaou-Überweisungsproben sowohl mit dem Aptima HPV Assay als auch mit einem handelsüblichen HPV DNA Test getestet. In der klinischen Studie mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay wurden verbliebene Papanicolaou-Überweisungsproben mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay getestet.

Es wurden alle Patientinnen in der ASC-US-Studie, unabhängig von ihren Testergebnissen im Aptima HPV Assay und dem handelsüblichen HPV-DNA-Test, zur Kolposkopie überwiesen. Es wurden Biopsien mittels endozervikaler Kürettage (Endocervical Curettage, ECC) und zervikale Stanzbiopsien (1 Biopsie aus jedem der 4 Quadranten) entnommen. War eine Läsion sichtbar, wurde eine Stanzbiopsie entnommen (gezielte Methode; 1 Biopsie je Läsion), und Quadranten ohne sichtbare Läsion wurden an der Transformationszone biopsiert (randomisierte Methode).

In der NILM-Studie wurden Frauen mit positivem Aptima HPV Assay und/oder dem handelsüblichen HPV DNA-Test sowie nach dem Zufallsprinzip ausgewählte Frauen mit negativen Befunden aus beiden Assays zur Erstuntersuchung vor Behandlung zur Bewertung mittels Koloskopie überwiesen. Jeder Patientin, die sich einer Kolposkopie unterzog, wurde eine ECC-Biopsie entnommen. Stanzbiopsien wurden nur bei sichtbaren Läsionen entnommen (gezielte Methode; 1 Biopsie je Läsion). Die Nachsorge bei Patientinnen in der NILM-Studie ohne \geq CIN2-Befund zum Studienbeginn wird über 3 Jahre mit jährlichen zytologischen Untersuchungen fortgesetzt. Frauen mit ASC-US oder zytologischen Befunden höheren Grades während der Nachsorgefrist werden zur Durchführung einer Kolposkopie überwiesen, wobei dasselbe Biopsieverfahren wie bei der Erstuntersuchung vor Behandlungsbeginn Anwendung findet.

Der Erkrankungsstatus wurde mithilfe eines histologischen Konsensbefund-Gremiums bestimmt, das auf der übereinstimmenden Meinung von mindestens 2 erfahrenen Pathologen beruhte. Die Pathologen kannten weder den HPV-Status und den zytologischen Status der Patientinnen, noch die histologischen Diagnosen des jeweils anderen Pathologen. Prüfarzte, Klinikärzte und Patientinnen waren gegenüber den Testergebnissen des Aptima HPV Assays und des handelsüblichen HPV-DNA-Test bis nach der Durchführung der Kolposkopie verblindet, um einen Bias auszuschließen.

Zur Validierung der beabsichtigten Verwendung des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays als Reflex-Test bei positivem Ergebnis in einem Aptima HPV Assay kamen verbliebene Papanicolaou-Überweisungsproben aller auswertbaren Patientinnen in der ASC-US-Studie und der NILM-Studie mit positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay für eine Testung mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay infrage. Es wurde die klinische Leistung des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays hinsichtlich des Nachweises einer Zervixerkrankung \geq CIN2 und einer zervikalen intraepithelialen Neoplasie des Grades 3 oder höher (\geq CIN3) bewertet.

ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe ≥ 21 Jahre: Klinische Leistung des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays mit ThinPrep Flüssig-Zytologieproben

Insgesamt gab es 400 auswertbare Frauen ab 21 Jahren mit zytologischem Befund ASC-US und positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay, deren Papanicolaou-Überweisungsproben für die Testung mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay infrage kamen. Von diesen Frauen lagen von 46 keine Papanicolaou-Überweisungsproben zur Testung vor und 6 hatten einen ungeklärten Krankheitsbefund; diese Frauen wurden von der Analyse ausgeschlossen. Die verbleibenden 348 auswertbaren Patientinnen mit schlüssigem Krankheitsstatus hatten ausgehend von der Reflex-Testung nach positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay gültige Ergebnisse im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Siebenundsechzig (67) Patientinnen hatten eine Erkrankung \geq CIN2 und 29 hatten eine Erkrankung \geq CIN3.

Von den 348 auswertbaren Patientinnen mit positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay hatten 117 Patientinnen ein positives Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, was auf das Vorhandensein von HPV 16 und/oder HPV 18/45 hinweist; 231 hatten ein negatives Ergebnis, was auf das Vorhandensein von mindestens einem der anderen 11 Hochrisiko-HPV-Typen hinweist, die von dem Aptima HPV Assay detektiert werden (HPV-Typ 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 und 68). Weitere 545 auswertbare Patientinnen ab 21 Jahren mit zytologischem Befund ASC-US hatten in der CLEAR-Studie ein negatives Ergebnis im Aptima HPV Assay. Ein negatives Ergebnis im Aptima HPV Assay weist darauf hin, dass keiner der 14 Hochrisiko-HPV-Typen vorhanden ist. Diese Ergebnisse wurden daher für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet. Die Prävalenz von \geq CIN2 und \geq CIN3 betrug bei den auswertbaren Patientinnen mit zytologischem Befund ASC-US 8,8% bzw. 3,7%. Die Ergebnisse des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays nach Ergebnis im Aptima HPV Assay und nach Diagnose anhand des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung gehen aus Tabelle 2 hervor.

Tabelle 2: ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe ≥ 21 Jahre: Ergebnisse des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays und des Aptima HPV Assays nach Diagnose anhand des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Ergebnis im AHPV-GT Assay*	Interpretation	Diagnose anhand des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung						
			Ungeklärt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Karzinom	Gesamt
Positiv	HPV 16 Pos., HPV 18/45 Neg	HPV 16 Pos.	1	27	18	11	14	0	71
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos.	HPV 18/45 Pos.	3	23	14	3	3	1	47
	HPV 16 Pos., HPV 18/45 Pos.	HPV-16- und -18/45-pos.	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Pos. auf andere HR HPV	2	125	73	23	10	0	233
Gesamt			6	176	105	38	28	1	354
Negativ	HPV 16/18/45 Neg***	HR HPV Neg	13	458	75	8	4	0	558
Gesamt			19	634	180	46	32	1****	912

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, CIN1 = Zervikale Intraepitheliale Neoplasie Grad 1, HR = Hochrisiko, Neg = Negativ, Pos. = Positiv

*Alle Proben brachten gültige Endergebnisse (nach dem ersten Test oder nach Klärung zunächst ungültiger Ergebnisse pro Verfahren).

**19 Patientinnen unterzogen sich einer Kolposkopie, jedoch konnte aus folgenden Gründen keine Diagnose gestellt werden: < 5 Biopsieproben mit Histologieergebnis Normal/CIN1 (n=15), keine Biopsien entnommen (n=3) und Verlust der Biopsie-Objekträger (n=1).

***Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet.

****Eine Patientin hatte ein Adenocarcinoma in situ (AIS).

Das absolute Erkrankungsrisiko (\geq CIN2 und \geq CIN3) anhand des Ergebnisses im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und des Ergebnisses im Aptima HPV Assay ist in Tabelle 3 gezeigt. Das Risiko für \geq CIN2 bei Patientinnen mit HPV-Typ 16, 18, und/oder 45 betrug 29,1% gegenüber 14,3% bei Patientinnen mit mindestens einem der anderen 11 Hochrisiko-HPV-Typen und 2,2% bei Patientinnen ohne Hochrisiko-HPV-Typ. Das absolute Risiko nach Altersgruppe ist in Tabelle 4 gezeigt.

Tabelle 3: ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe \geq 21 Jahre: Absolutes Risiko für \geq CIN2 und \geq CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und im Aptima HPV Assay

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Ergebnis im AHPV-GT Assay	Interpretation	\geq CIN2	\geq CIN3
			Absolutes Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)
Positiv	HPV 16 Pos. und/oder HPV 18/45 Pos.	HPV 16 und/oder HPV 18/45 Pos.	29,1 (34/117) (22,4, 36,0)	16,2 (19/117) (11,4, 21,1)
	HPV 16 Pos., HPV 18/45 Neg	Nur HPV 16 Pos.	35,7 (25/70) (26,1, 45,9)	20,0 (14/70) (12,6, 28,0)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos.	Nur HPV 18/45 Pos.	15,9 (7/44) (7,2, 28,3)	9,1 (4/44) (2,9, 19,5)
	HPV 16 Pos., HPV 18/45 Pos.	HPV-16- und -18/45-pos.	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45 Neg	Pos. auf andere HR HPV	14,3 (33/231) (10,9, 17,9)	4,3 (10/231) (2,4, 6,8)
	Pos. oder Neg	HR HPV Pos.	19,3 (67/348) (17,1, 21,3)	8,3 (29/348) (6,9, 9,4)
Negativ	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)	0,7 (4/545) (0,2, 1,6)
Prävalenz			8,8% (79/893)	3,7% (33/893)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Hochrisiko, Pos. = Positiv, Neg = Negativ

*Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet.

Tabelle 4: ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe ≥ 21 Jahre: Absolutes Risiko für \geq CIN2 und \geq CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und im Aptima HPV Assay nach Altersgruppe

	Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Ergebnis im AHPV-GT Assay	Interpretation	\geq CIN2	\geq CIN3
				Absolutes Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)
21 bis 29 Jahre	Positiv	HPV 16 Pos. und/oder HPV 18/45 Pos.	HPV 16 und/oder HPV 18/45 Pos.	26,8 (19/71) (18,3, 35,7)	15,5 (11/71) (9,3, 21,8)
		HPV 16 Pos., HPV 18/45 Neg	Nur HPV 16 Pos.	28,0 (14/50) (17,5, 39,6)	18,0 (9/50) (9,9, 26,9)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos.	Nur HPV 18/45 Pos.	15,8 (3/19) (3,7, 36,3)	5,3 (1/19) (0,2, 22,5)
		HPV 16 Pos., HPV 18/45 Pos.	HPV-16- und -18/45-pos.	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45 Neg	Pos. auf andere HR HPV	17,0 (25/147) (12,6, 21,5)	5,4 (8/147) (2,8, 8,5)
		Pos. oder Neg	HR HPV Pos.	20,2 (44/218) (17,6, 22,5)	8,7 (19/218) (7,1, 9,8)
	Negativ	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	3,6 (6/165) (1,5, 6,9)	0,6 (1/165) (0,0, 2,7)
Prävalenz				13,1% (50/383)	5,2% (20/383)
30 bis 39 Jahre	Positiv	HPV 16 Pos. und/oder HPV 18/45 Pos.	HPV 16 und/oder HPV 18/45 Pos.	32,3 (10/31) (19,0, 45,9)	16,1 (5/31) (7,0, 25,4)
		HPV 16 Pos., HPV 18/45 Neg	Nur HPV 16 Pos.	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos.	Nur HPV 18/45 Pos.	18,8 (3/16) (3,0, 40,6)	12,5 (2/16) (1,3, 30,8)
		HPV 16 Pos., HPV 18/45 Pos.	HPV-16- und -18/45-pos.	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45 Neg	Pos. auf andere HR HPV	12,7 (7/55) (6,2, 20,5)	3,6 (2/55) (0,6, 9,1)
		Pos. oder Neg	HR HPV Pos.	19,8 (17/86) (15,1, 23,9)	8,1 (7/86) (4,7, 10,3)
	Negativ	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)	0,6 (1/167) (0,0, 2,3)
Prävalenz				7,5% (19/253)	3,2% (8/253)
≥ 40 Jahren	Positiv	HPV 16 Pos. und/oder HPV 18/45 Pos.	HPV 16 und/oder HPV 18/45 Pos.	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		HPV 16 Pos., HPV 18/45 Neg	Nur HPV 16 Pos.	66,7 (4/6) (27,1, 93,5)	33,3 (2/6) (6,2, 69,2)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos.	Nur HPV 18/45 Pos.	11,1 (1/9) (0,5, 39,7)	11,1 (1/9) (0,5, 37,1)
		HPV 16 Pos., HPV 18/45 Pos.	HPV-16- und -18/45-pos.	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Pos. auf andere HR HPV	3,4 (1/29) (0,1, 14,0)	0 (0/29) (0,0, 8,2)
		Pos. oder Neg	HR HPV Pos.	13,6 (6/44) (6,5, 20,6)	6,8 (3/44) (1,8, 11,4)
	Negativ	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)
Prävalenz				3,9% (10/257)	1,9% (5/257)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Hochrisiko, Pos. = Positiv, Neg = Negativ

*Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet.

Das relative Erkrankungsrisiko bei positivem im Vergleich zu negativem Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ist in Tabelle 5 gezeigt. Bei Patientinnen mit HPV-Typ 16, 18 und/oder 45 war die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens von \geq CIN2 13,2 Mal höher und die des Vorliegens von \geq CIN3 22,1 Mal höher als bei Patientinnen ohne Hochrisiko-HPV-Typ. Bei Patientinnen mit HPV-Typ 16, 18 und/oder 45 war die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens von \geq CIN2 2,0 Mal höher und die des Vorliegens von \geq CIN3 3,8 Mal höher als bei Patientinnen mit mindestens einem der anderen 11 Hochrisiko-HPV-Typen.

Tabelle 5: ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe \geq 21 Jahre: Relatives Risiko für \geq CIN2 und \geq CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und im Aptima HPV Assay

Interpretation des Ergebnisses des Aptima Assays	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relatives Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
HPV 16 und/oder 18/45 Positiv vs HR HPV Negativ	13,2 (7,0, 24,7)	22,1 (7,7, 63,8)
HPV 16 und/oder 18/45 Positiv vs Positiv auf andere HR HPV	2,0 (1,3, 3,1)	3,8 (1,8, 7,8)
Positiv auf andere HR HPV vs HR HPV Negativ	6,5 (3,4, 12,3)	5,9 (1,9, 18,6)
HR HPV Positiv vs HR HPV Negativ	8,7 (4,8, 15,9)	11,4 (4,0, 32,0)
Prävalenz	8,8% (79/893)	3,7% (33/893)

VI = Vertrauensintervall, HR = Hochrisiko

*Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet.

Die Wahrscheinlichkeitsverhältnisse (\geq CIN2 und \geq CIN3) nach Ergebnis mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay gehen aus Tabelle 6 hervor. Die Wahrscheinlichkeit des Vorhandenseins der HPV-Typen 16, 18 und/oder 45 in einer Patientin mit \geq CIN2 ist 4,2 Mal höher und in einer Patientin mit \geq CIN3 5,1 Mal höher.

Tabelle 6: ASC-US-Population \geq 21 Jahre: Wahrscheinlichkeitsverhältnisse für \geq CIN2 und \geq CIN3 nach Ergebnis mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype und dem Aptima HPV Assay

Interpretation des Ergebnisses des Aptima Assays*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Wahrscheinlichkeitsverhältnis (95% VI)	Wahrscheinlichkeitsverhältnis (95% VI)
HPV 16 und/oder 18/45 Positiv	4,2 (3,0, 5,8)	5,1 (3,4, 6,9)
Positiv auf andere HR-HPV	1,7 (1,3, 2,3)	1,2 (0,6, 1,9)
HR-HPV-negativ	0,2 (0,1, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

VI = Vertrauensintervall, HR = Hochrisiko

*Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet.

NILM-Population in der Altersgruppe ≥ 30 Jahre: Klinische Leistung des Aptima HPV 16 18/45 Genotyp-Assays mit ThinPrep Flüssig-Zytologieproben

Insgesamt waren die Papanicolaou-Überweisungsproben von 540 auswertbaren Patientinnen ab 30 Jahren mit zytologischem Befund NILM und positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay für die Testung mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay geeignet. Von diesen Patientinnen lagen von 25 keine Papanicolaou-Überweisungsproben zur Testung vor; diese Frauen wurden von der Analyse ausgeschlossen. Bei den verbleibenden 515 auswertbaren Frauen waren die Ergebnisse im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay gültig. Davon unterzogen sich 317 einer Kolposkopie. Fünfzehn (15) Patientinnen hatten \geq CIN2 und 10 hatten \geq CIN3; bei 283 Frauen war die Histologie normal/CIN1; bei 19 Frauen war der Krankheitsstatus ungeklärt.

Von den 298 auswertbaren Patientinnen mit schlüssigem Krankheitsstatus und positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay hatten 61 ein positives Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, was auf das Vorhandensein von HPV 16 und/oder HPV 18/45 hinweist; 237 hatten ein negatives Ergebnis, was auf das Vorhandensein mindestens eines der anderen 11 Hochrisiko-HPV-Typen hinweist. Weitere 505 auswertbare Frauen ab 30 Jahren mit zytologischem Befund NILM und schlüssigem Krankheitsstatus hatten in der CLEAR-Studie ein negatives Ergebnis im Aptima HPV Assay. Ein negatives Ergebnis im Aptima HPV Assay weist darauf hin, dass keiner der 14 Hochrisiko-HPV-Typen vorhanden ist. Diese Ergebnisse wurden daher für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet. Die Ergebnisse des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays nach Ergebnis im Aptima HPV Assay und nach Diagnose anhand des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung gehen aus Tabelle 7 hervor.

Tabelle 7: NILM-Population in der Altersgruppe ≥ 30 Jahre: Ergebnisse im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und im Aptima HPV Assay nach Diagnose anhand des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Ergebnis im AHPV-GT Assay*	Interpretation	Diagnose anhand des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung						
			Ungeklärt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Karzinom	Gesamt
Positiv	HPV 16 Pos., HPV 18/45 Neg	HPV 16 Pos.	2	27	0	0	3	1	33
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos.	HPV 18/45 Pos.	1	26	1	1	0	2	31
	HPV 16 Pos., HPV 18/45 Pos.	HPV-16- und -18/45-pos.	0	0	0	0	0	0	0
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Pos. a uf andere HR HPV	16	218	11	4	4	0	253
Gesamt			19	271	12	5	7	3	317
Negativ	HPV 16/18/45 Neg***	HR HPV Neg	25	483	17	4	1	0	530
Gesamt			44	754	29	9	8	3****	847

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Hochrisiko, Pos. = Positiv, Neg = Negativ

*Alle Proben lieferten schließlich gültige Ergebnisse (nach ersten Tests oder nach Klärung zunächst ungültiger Ergebnisse pro Verfahren).

**44 Patientinnen unterzogen sich einer Kolposkopie, jedoch konnte aus folgenden Gründen keine Diagnose gestellt werden: aufgrund unzureichender Proben konnte kein Konsens erzielt werden (n=28), aufgrund von Basisfaktoren wurden keine Biopsien entnommen (n=13), aufgrund eines Fehlers erfolgte keine Biopsieentnahme oder -auswertung (n=3).

***Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet.

****Drei Patientinnen hatten ein Adenocarcinoma in situ (AIS).

Von den 515 Patientinnen mit positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay und Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay hatten 217 Frauen einen nicht bestätigten (bzw. ungeklärten) Krankheitsstatus (Tabelle 8). Von den 10.331 Frauen aus der ursprünglichen CLEAR-Studie mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay war der Krankheitsstatus bei 9.826 Frauen nicht bestätigt. Da nur nach dem Zufallsprinzip ausgewählte Patientinnen mit negativem Ergebnis sowohl im Aptima HPV Assay als auch im handelsüblichen HPV-DNA-Test zur Kolposkopie überwiesen wurden, war in dieser Gruppe der Anteil an Patientinnen mit unbestätigtem Krankheitsstatus hoch (96,6%). Um diesen Verifizierungsbias zu berichtigen, wurde eine Methode mit multipler Imputation angewandt, um die Zahl der Patientinnen mit einer Erkrankung abzuschätzen, die festgestellt worden wäre, wenn sich alle Frauen einer Kolposkopie unterzogen hätten. Für die 803 Patientinnen mit bestätigtem Krankheitsstatus werden sowohl hinsichtlich eines Verifizierungsbias berichtigte als auch unberichtigte Leistungsschätzwerte präsentiert.

Tabelle 8: NILM-Population in der Altersgruppe ≥ 30 Jahre: Klassifizierung von auswertbaren NILM-Patientinnen nach Ergebnis im Aptima HPV Assay, im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, im HPV-DNA-Test, nach Krankheitsstatus (≥ CIN2 und ≥ CIN3) und Krankheitsbestätigungsstatus

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay*	Ergebnis mit dem AHPV-GT Assay*	HPV-DNA-Test	Teilnehmerinnen insgesamt	Geklärter Erkrankungsstatus: ≥ CIN2		Geklärter Erkrankungsstatus: ≥ CIN3		Ungeklärter Erkrankungsstatus
				Erkrankte Teilnehmerinnen (≥ CIN2)	Nicht erkrankte Teilnehmerinnen (≥ CIN2)	Erkrankte Teilnehmerinnen (≥ CIN3)	Nicht erkrankte Teilnehmerinnen (≥ CIN3)	Teilnehmerinnen mit unbekanntem Erkrankungsstatus (% unbekannt)
Positiv	Positiv	Positiv	83	6	48	5	49	29 (34,9%)
	Positiv	Negativ	9	1	5	1	5	3 (33,3%)
	Positiv	Kein Ergebnis**	2	0	1	0	1	1 (50,0%)
	Negativ	Positiv	271	7	171	4	174	93 (34,3%)
	Negativ	Negativ	137	1	52	0	53	84 (61,3%)
	Negativ	Kein Ergebnis**	13	0	6	0	6	7 (53,8%)
Gesamt			515	15	283	10	288	217 (42,1%)
Negativ	N. zutr.***	Positiv	306	3	178	1	180	125 (40,8%)
	N. zutr.***	Negativ	9.420	1	322	0	323	9.097 (96,6%)
	N. zutr.***	Kein Ergebnis**	605	1	0	0	1	604 (99,8%)
Gesamt			10.846	20	783	11	792	10.043 (92,6%)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, N. zutr. = Nicht zutreffend

*Alle Proben lieferten schließlich gültige Ergebnisse (nach ersten Tests oder nach Klärung zunächst ungültiger Ergebnisse pro Verfahren).

**Bei 620 Frauen mit Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden keine HPV-DNA-Testergebnisse erhalten, hauptsächlich aufgrund unzureichender Menge der Zytologieprobe.

***Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet.

Das berichtigte absolute Krankheitsrisiko (≥ CIN2 und ≥ CIN3) nach Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Ergebnis im Aptima HPV Assay ist in Tabelle 9a gezeigt. Das Risiko von ≥ CIN2 bei Frauen mit Vorliegen von HPV-Typ 16, 18 und/oder 45 betrug 12,6% gegenüber 3,4% bei Frauen mit Vorliegen mindestens eines der anderen 11 Hochrisiko-HPV-Typen und 0,6% bei Frauen ohne Vorliegen eines Hochrisiko-HPV-Typs. Das unberichtigte absolute Krankheitsrisiko ist im Gesamten in Tabelle 9b und nach Altersgruppe in Tabelle 10 gezeigt.

Tabelle 9a: NILM-Population in der Altersgruppe ≥ 30 Jahre: Absolutes Risiko für \geq CIN2 und \geq CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay (hinsichtlich eines Verifizierungsbias berichtigte Schätzwerte)

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Ergebnis im AHPV-GT Assay	Interpretation	\geq CIN2	\geq CIN3
			Absolutes Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)
Positiv	HPV 16 Pos. und/oder HPV 18/45 Pos.	HPV 16 und/oder HPV 18/45 Pos.	12,6 (3,7, 21,4)	9,5 (2,1, 16,8)
	HPV 16 Pos., HPV 18/45 Neg	Nur HPV 16 Pos.	14,5 (2,1, 26,9)	12,1 (0,7, 23,4)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos.	Nur HPV 18/45 Pos.	10,7 (0,0, 22,5)	6,9 (0,0, 16,2)
	HPV 16 Pos., HPV 18/45 Pos.	HPV-16- und -18/45-pos.	N. zutr.	N. zutr.
	HPV 16/18/45 Neg	Pos. auf andere HR HPV	3,4 (1,2, 5,6)	1,8 (0,1, 3,5)
	Pos. oder Neg	HR HPV Pos.	5,0 (2,6, 7,5)	3,2 (1,3, 5,2)
Negativ	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	0,6 (0,1, 1,2)	0,4 (0,0, 0,7)
Prävalenz			0,9%	0,5%

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Hochrisiko, Pos. = Positiv, Neg = Negativ, N. zutr. = Nicht zutreffend
 *Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet.

Tabelle 9b: NILM-Population in der Altersgruppe ≥ 30 Jahre: Absolutes Risiko für \geq CIN2 und \geq CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay (unberichtigte Schätzwerte)

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Ergebnis im AHPV-GT Assay	Interpretation	\geq CIN2	\geq CIN3
			Absolutes Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)
Positiv	HPV 16 Pos. und/oder HPV 18/45 Pos.	HPV 16 und/oder HPV 18/45 Pos.	11,5 (7/61) (5,4, 18,9)	9,8 (6/61) (4,6, 15,2)
	HPV 16 Pos., HPV 18/45 Neg	Nur HPV 16 Pos.	12,9 (4/31) (4,0, 26,0)	12,9 (4/31) (4,3, 23,8)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos.	Nur HPV 18/45 Pos.	10,0 (3/30) (2,4, 23,0)	6,7 (2/30) (0,8, 17,7)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos.	HPV-16- und -18/45-pos.	N. zutr. (0/0)	N. zutr. (0/0)
	HPV 16/18/45 Neg	Pos. auf andere HR HPV	3,4 (8/237) (1,7, 5,3)	1,7 (4/237) (0,6, 3,2)
	Pos. oder Neg	HR HPV Pos.	5,0 (15/298) (3,6, 6,2)	3,4 (10/298) (2,3, 3,9)
Negativ	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)
Prävalenz			2,5% (20/803)	1,4% (11/803)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Hochrisiko, Pos. = Positiv, Neg = Negativ, N. zutr. = Nicht zutreffend
 *Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet.

Tabelle 10: NILM-Population in der Altersgruppe ≥ 30 Jahre: Absolutes Risiko für ≥ CIN2 und ≥ CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay nach Altersgruppe (unberichtigte Schätzwerte)

	Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Ergebnis im AHPV-GT Assay	Interpretation	≥ CIN2	≥ CIN3
				Absolutes Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)
30 bis 39 Jahre	Positiv	HPV 16 Pos. und/oder HPV 18/45 Pos.	HPV 16 und/oder HPV 18/45 Pos.	8,8 (3/34) (2,2, 17,8)	5,9 (2/34) (1,0, 13,3)
		HPV 16 Pos., HPV 18/45 Neg	Nur HPV 16 Pos.	0,0 (0/17) (0,0, 15,5)	0,0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos.	Nur HPV 18/45 Pos.	17,6 (3/17) (3,2, 35,4)	11,8 (2/17) (1,3, 27,0)
		HPV 16 Pos., HPV 18/45 Pos.	HPV 16 & 18/45 Pos.	N. zutr. (0/0)	N. zutr. (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Pos. auf andere HR HPV	4,0 (5/124) (1,7, 6,2)	2,4 (3/124) (0,7, 4,2)
		Pos. oder Neg	HR HPV Pos.	5,1 (8/158) (3,2, 6,1)	3,2 (5/158) (1,5, 4,0)
	Negativ	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	0,5 (1/217) (0,0, 1,9)	0,5 (1/217) (0,0, 1,7)
Prävalenz				2,4% (9/375)	1,6% (6/375)
≥ 40 Jahren	Positiv	HPV 16 Pos. und/oder HPV 18/45 Pos.	HPV 16 und/oder HPV 18/45 Pos.	14,8 (4/27) (4,7, 27,3)	14,8 (4/27) (5,1, 22,8)
		HPV 16 Pos., HPV 18/45 Neg	Nur HPV 16 Pos.	28,6 (4/14) (6,3, 50,7)	28,6 (4/14) (6,4, 46,5)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos.	Nur HPV 18/45 Pos.	0,0 (0/13) (0,0, 20,1)	0,0 (0/13) (0,0, 17,1)
		HPV 16 Pos., HPV 18/45 Pos.	HPV 16 & 18/45 Pos.	N. zutr. (0/0)	N. zutr. (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Pos. auf andere HR HPV	2,7 (3/113) (0,7, 5,8)	0,9 (1/113) (0,0, 3,1)
		Pos. oder Neg	HR HPV Pos.	5,0 (7/140) (2,6, 7,0)	3,6 (5/140) (1,9, 4,2)
	Negativ	HPV 16/18/45 Neg*	HR HPV Neg	1,4 (4/288) (0,5, 2,5)	0,0 (0/288) (0,0, 0,8)
Prävalenz				2,6% (11/428)	1,2% (5/428)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Hochrisiko, Pos. = Positiv, Neg = Negativ, N. zutr. = Nicht zutreffend
 *Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet.

Das relative Krankheitsrisiko bei positivem gegenüber negativem Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay ist in Tabelle 11 (hinsichtlich eines Verifizierungsbias berichtigt) und in Tabelle 12 (unberichtigt) gezeigt. Bei Patientinnen mit HPV-Typ 16, 18 und/oder 45 war die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens von \geq CIN2 20,9 Mal höher und die des Vorliegens von \geq CIN3 29,4 Mal höher als bei Patientinnen ohne Hochrisiko-HPV-Typ. Bei Patientinnen mit HPV-Typ 16, 18 und/oder 45 war die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens von \geq CIN2 3,7 Mal höher und die des Vorliegens von \geq CIN3 5,3 Mal höher als bei Patientinnen mit mindestens einem der anderen 11 Hochrisiko-HPV-Typen.

Tabelle 11: NILM-Population in der Altersgruppe \geq 30 Jahre: Relatives Risiko für \geq CIN2 und \geq CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und im Aptima HPV Assay (hinsichtlich eines Verifizierungsbias berichtigte Schätzwerte)

Interpretation des Aptima Assays*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relatives Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
HPV 16 und/oder 18/45 Pos. vs HR HPV Neg	20,9 (6,3, 69,3)	29,4 (7,2, 120,8)
HPV 16 und/oder 18/45 Pos. vs Pos. auf andere HR HPV	3,7 (1,5, 9,5)	5,3 (1,5, 18,2)
Pos. auf andere HR HPV vs HR HPV Neg	5,6 (1,8, 17,7)	5,6 (1,2, 26,0)
HR HPV Pos. vs HR HPV Neg	8,5 (2,9, 24,8)	10,1 (2,7, 38,2)
Prävalenz	0,9%	0,5%

VI = Vertrauensintervall, HR = Hochrisiko, Pos. = Positiv, Neg = Negativ

*Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet.

Tabelle 12: NILM-Population in der Altersgruppe \geq 30 Jahre: Relatives Risiko für \geq CIN2 und \geq CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und im Aptima HPV Assay (unberichtigte Schätzwerte)

Interpretation des Aptima Assays*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relatives Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
HPV 16 und/oder 18/45 Pos. vs HR HPV Neg	11,6 (3,8, 35,4)	49,7 (6,1, 406)
HPV 16 und/oder 18/45 Pos. vs Pos. auf andere HR HPV	3,4 (1,3, 9,0)	5,8 (1,7, 20,0)
Pos. auf andere HR HPV vs HR HPV Neg	3,4 (1,1, 10,3)	8,5 (1,0, 75,8)
HR HPV Pos. vs HR HPV Neg	5,1 (1,9, 13,8)	16,9 (2,2, 132)
Prävalenz	2,5% (20/803)	1,4% (11/803)

VI = Vertrauensintervall, HR = Hochrisiko, Pos. = Positiv, Neg = Negativ

*Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet.

Die Wahrscheinlichkeitsverhältnisse (\geq CIN2 und \geq CIN3) nach Ergebnis mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay gehen aus Tabelle 13 (mit Ausgleich für den Verifizierungsbias) bzw. Tabelle 14 (nicht kompensiert) hervor. Die Wahrscheinlichkeit des Vorhandenseins der HPV-Typen 16, 18 und/oder 45 in einer Patientin mit \geq CIN2 ist 17,1 Mal höher und in einer Patientin mit \geq CIN3 21,9 Mal höher.

Tabelle 13: NILM-Population \geq 30 Jahre: Wahrscheinlichkeitsverhältnisse für \geq CIN2 und \geq CIN3 nach Ergebnissen mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay (Schätzwerte mit Ausgleich für den Verifizierungsbias)

Interpretation der Ergebnisse des Aptima Assays*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Wahrscheinlichkeitsverhältnis (95% VI)	Wahrscheinlichkeitsverhältnis (95% VI)
HPV 16 und/oder 18/45 Pos.	17,1 (6,2, 46,9)	21,9 (7,3, 65,2)
Pos. auf andere HR HPV	4,2 (1,7, 10,1)	3,8 (1,2, 12,6)
HR-HPV-negativ	0,7 (0,5, 1,0)	0,7 (0,4, 1,1)

VI = Vertrauensintervall, HR = Hochrisiko, Pos. = Positiv

*Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet.

Tabelle 14: NILM-Population in der Altersgruppe \geq 30 Jahre: Wahrscheinlichkeitsverhältnisse und Erkrankungswahrscheinlichkeiten für \geq CIN2 und \geq CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und im Aptima HPV Assay (unberichtigte Schätzwerte)

Interpretation der Ergebnisse des Aptima Assays*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Wahrscheinlichkeitsverhältnis (95% VI)	Wahrscheinlichkeitsverhältnis (95% VI)
HPV 16 und/oder 18/45 Pos.	5,1 (2,3, 9,1)	7,9 (3,5, 12,9)
Pos. auf andere HR HPV	1,4 (0,7, 2,2)	1,2 (0,4, 2,3)
HR-HPV-negativ	0,4 (0,1, 0,7)	0,1 (0,0, 0,6)

VI = Vertrauensintervall, HR = Hochrisiko, Pos. = Positiv

*Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bezeichnet.

Klinische Leistung des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays mit SurePath flüssigen Zytologieproben

SurePath Flüssig-Zytologieproben wurden von Frauen in Kanada entnommen, die zur Nachsorge wegen eines oder mehrerer abnormer Pap-Tests, einer HPV-Infektion oder aus anderem Grund weiterverwiesen wurden. Ein Aliquot (0,5 ml) jeder Probe wurde in ein Aptima Probentransferröhrchen übertragen und dann mit Aptima Transferlösung behandelt. Ein einzelnes Replikat jeder Probe wurde mit dem Aptima HPV Assay getestet (n=494). Positive Proben wurden anschließend mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay getestet. Ein zusätzliches Aliquot (1 ml) jeder Probe wurde entnommen und mit einem kommerziell erhältlichen HPV-PCR-Test analysiert (n=557). Das absolute Erkrankungsrisiko (\geq CIN3) anhand von Ergebnissen im Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay geht aus Tabelle 15 hervor. Ähnliche Ergebnisse werden für den kommerziell erhältlichen HPV-PCR-Test dargestellt, der HPV 16 und HPV 18, nicht aber HPV 45, separat von den anderen Hochrisiko-Genotypen unterscheiden kann. Das relative Erkrankungsrisiko für Genotyp-positive gegenüber negativen Ergebnissen für den Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und den HPV-PCR-Test geht aus Tabelle 16 hervor.

Tabelle 15: Absolutes Risiko für \geq CIN3 nach Ergebnis mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und einem kommerziell erhältlichen HPV-PCR-Test

HR-HPV-Ergebnis	Genotyp-Ergebnis	Interpretation	Absolutes Risiko für \geq CIN3 nach Aptima (95%-VI)	Absolutes Risiko für \geq CIN3 nach HPV-PCR (95%-VI)
Positiv	HPV-16-pos und/oder HPV-18/45*-pos	HPV-16- und/oder HPV-18/45*-pos	14,6 (9,6-19,5)	14,4 (10,4-18,1)
	HPV-16-pos und HPV-18/45*-neg	Nur HPV-16-pos	19,4 (12,0-26,8)	16,8 (11,6-21,9)
	HPV-16-neg und/oder HPV-18/45*-pos	Nur HPV-18/45*-pos	3,3 (0,1-13,8)	7,1 (1,0-18,8)
	HPV-16-pos und/oder HPV-18/45*-pos	HPV-16- und HPV-18/45*-pos	25,0 (1,3-75,2)	14,3 (0,7-49,9)
	HPV-16-neg und/oder HPV-18/45*-neg	Pos für andere HR-HPV	2,5 (1,4-3,7)	2,1 (1,1-3,3)
	Pos oder neg	HR-HPV-pos	9,8 (8,1-11,2)	8,5 (7,0-9,5)
Negativ**	HPV-16-neg und/oder HPV-18/45*-neg	HR-HPV-neg	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
Prävalenz (%)			4,9%	5,0%

HR = Hochrisiko; pos = positiv; neg = negativ

*Der HPV-PCR-Test unterscheidet nur HPV 16 und HPV 18 von den anderen 12 Hochrisiko-Genotypen einschließlich HPV 45.

**Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

Tabelle 16: Relatives Risiko für \geq CIN3 nach Ergebnis mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und einem kommerziell erhältlichen HPV-PCR-Test

Ergebnis mit dem Aptima Assay		Ergebnis mit dem HPV-PCR-Test	
Testauswertung	Relatives Risiko für \geq CIN3 (95%-VI)	Testauswertung	Relatives Risiko für \geq CIN3 (95%-VI)
HPV-16- und/oder -18/45-positiv gegenüber HR-HPV-negativ	14,8 (4,3-50,3)	HPV-16- und/oder -18-positiv gegenüber HR-HPV-negativ	12,6 (3,8-41,9)
HPV-16- und/oder -18/45-positiv gegenüber positiv für anderen HR-HPV-Typ	2,0 (0,8-4,6)	HPV-16- und/oder -18-positiv gegenüber positiv für anderen HR-HPV-Typ	3,9 (1,6-9,5)
Positiv für anderen HR-HPV-Typ gegenüber HR-HPV-negativ	7,5 (2,0-28,6)	Positiv für anderen HR-HPV-Typ gegenüber HR-HPV-negativ	3,2 (0,8-12,8)
HR-HPV-positiv gegenüber HR-HPV-negativ	10,0 (3,0-32,7)	HR-HPV-positiv gegenüber HR-HPV-negativ	7,4 (2,3-24,3)
Prävalenz	4,9%	Prävalenz	5,0%

Klinische Leistung des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays mit Zervixprobenentnahme- und Transport-Proben

CSCT-Proben stammten von Patientinnen bei routinemäßigen Screening- oder Nachsorgeterminen und wurden mit dem Aptima HPV Assay getestet. Verbliebene CSCT-Proben (n=378) mit positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Tigris DTS-System getestet. Der HPV-Genotyp jeder Probe wurde mit einem DNA-Genotypisierungstest bestimmt. Proben mit abweichenden Ergebnissen im Genotypisierungstest (DNA und Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay) wurden mit einem validierten Reverse-Transkriptase-PCR- Sequenzierungstest analysiert, um ihren Status in Bezug auf HPV 16, HPV 18, und HPV 45 zu klären. Es wurde die klinische Übereinstimmung (positiv und negativ) des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays hinsichtlich der Erkennung von Hochrisiko-HPV 16, 18 und 45 ermittelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 17 dargestellt.

Tabelle 17: Klinische Übereinstimmung des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays auf dem Tigris DTS System für den Nachweis von High-Risk-HPV 16, 18 und 45 in CSCT-Proben

		Referenzmethode				Gesamt
		HPV-16-pos, HPV-18/ 45-neg	HPV-16-neg, HPV-18/ 45-pos	HPV-16-pos, HPV-18/ 45-pos	HPV-16-neg, HPV-18/ 45-neg	
Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	HPV-16-pos, HPV-18/45-neg	125	0	1	0	126
	HPV-16-neg, HPV-18/45-pos	0	43	0	1	44
	HPV-16-pos, HPV-18/45-pos	0	0	8	1	9
	HPV-16-neg, HPV-18/45-neg	1	1	0	197	199
	Gesamt	126	44	9	199	378

pos = positiv, neg = negativ

Positive Übereinstimmung: 98,3% (176/179) (95% VI: 95,2, 99,4)

Negative Übereinstimmung: 99,0% (197/199) (95% VI: 96,4, 99,7)

Analytische Sensitivität

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LOD) am klinischen Grenzwert ist eine Konzentration, die in 95% der Fälle positiv (über dem klinischen Grenzwert) ist. Die LOD des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays wurde durch Testung einzelnegativer klinischer ThinPrep Flüssig-Zytologieproben bestimmt, die mit verschiedenen Konzentrationen von *In-vitro*-HPV-Transkripten gespikt waren. Dreißig Replikate jedes Kopienniveaus wurden mit je drei Reagenzienchargen getestet, so dass sich insgesamt 90 Replikate ergaben. Die Testung wurde über 6 Tage mit jeweils 3 Durchläufen pro Tag durchgeführt. In jedem Durchlauf wurden 5 Replikate eines bestimmten Genotyps getestet. Die 95%-Nachweisgrenze (Tabelle 18) wurde aus einer Probit-Regressionsanalyse der Positivitätsergebnisse für jedes Verdünnungspanel berechnet.

Tabelle 18: Nachweisgrenze am klinischen Grenzwert des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays

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

*Kopien pro Reaktion für *In-vitro*-Transkripte und Zellen pro Reaktion für Zelllinien

Präzision des Assays

Die Präzision des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays wurde in zwei Studien anhand des gleichen, aus 22 Proben bestehenden Panels bewertet. Studie 1 wurde an 3 externen Testzentren durchgeführt und diente dazu, die Reproduzierbarkeit des Assays zu ermitteln. Studie 2 wurde intern durchgeführt und diente dazu, die Präzision innerhalb des Labors zu ermitteln. Das Panel bestand aus 14 für HPV 16 und/oder 18/45 positiven Proben mit Konzentrationen an oder über der Nachweisgrenze des Assays (erwartete Positivität: $\geq 95\%$), 5 für HPV 16 und/oder 18/45 positiven Proben mit Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze des Assays (erwartete Positivität: $> 0\%$ bis $< 25\%$), sowie 3 für HPV negativen Proben. Die für HPV 16 und/oder 18/45 positiven Panelproben wurden präpariert, indem mit HPV infizierte Kulturzellen (SiHa, HeLa und MS751; ATCC, Manassas, Virginia [USA]) zu gepoolten ThinPrep flüssigen Zytologie-Restproben zugegeben wurden oder indem für HPV 16, 18 und/oder 45 positive klinische Patientenproben in gepoolten ThinPrep flüssigen Zytologie-Restproben verdünnt wurden. Die für HPV negativen Panelproben wurden mit gepoolten ThinPrep flüssigen Zytologieproben präpariert.

In Studie 1 führten jeweils 2 Anwender an den 3 Testzentren (1 Gerät pro Zentrum) im Verlauf von 3 Tagen pro Tag 2 Arbeitslisten mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay durch. Die Tests wurden mit 1 Reagenziencharge durchgeführt. In jeder Arbeitsliste waren für jede Probe im Reproduzierbarkeitspanel 3 Replikate enthalten. Für jede Panelprobe wurden 108 einzelne Probenröhrchen getestet (3 Zentren x 1 Gerät x 2 Anwender x 1 Charge x 2 Arbeitslisten pro Tag x 3 Tage x 3 Replikate). In Studie 2 wurden die Tests intern im Verlauf von 20 Tagen durchgeführt, und zwar mit insgesamt 162 getesteten Reaktionen für jede Panelprobe (1 Zentrum x 3 Geräte x 3 Anwender x 3 Chargen x 2 Arbeitslisten x 3 Replikate).

Die Panelproben werden in Tabelle 19a und Tabelle 19b beschrieben, ebenso eine Zusammenfassung zur Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen für HPV 16 bzw. HPV 18/45.

Tabelle 19a: Präzisionsstudie 1 und 2 zum Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Panelbeschreibung und prozentuale Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen für HPV 16

Panelbeschreibung (Zellen/Reaktion)	Erwartetes Ergebnis für HPV 16	Prozentuale Übereinstimmung (95% VI)	
		Studie 1 (3 Testzentren)	Studie 2 (1 Testzentrum)
SiHa-Zellen (3,0 Zellen)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa-Zellen (0,6 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-Zellen (11,0 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16, klinische Probe 1	Positiv	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45, klinische Probe 1	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa-Zellen (1,6 Zellen) und HeLa-Zellen (3,3 Zellen)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa-Zellen (1,6 Zellen) und MS751-Zellen (42,5 Zellen)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa-Zellen (15,7 Zellen) und HeLa-Zellen (0,3 Zellen)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa-Zellen (15,7 Zellen) und MS751-Zellen (4,3 Zellen)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-Zellen (1,6 Zellen)	Positiv	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
HeLa-Zellen (0,3 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
MS751-Zellen (4,3 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16, klinische Probe 2	Positiv	97,2 (104/107) (92,1, 99,0)	94,4 (152/161) (88,7, 97,0)
HPV 18/45, klinische Probe 2	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-Zellen (0,1 Zellen)	Negativ	85,2 (92/108) (77,3, 90,7)	84,6 (137/162) (78,2, 89,3)
HeLa-Zellen (0,02 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-Zellen (0,04 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16, klinische Probe 3	Negativ	95,4 (103/108) (89,6, 98,0)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 18/45, klinische Probe 3	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV-negative klinische Probe 1	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negative klinische Probe 2	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negative klinische Probe 3	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

VI = Score-Vertrauensintervall

Hinweis: Die prozentuale Übereinstimmung wurde eventuell durch Variationen bei der Beimischung, Verdünnung und/oder Aliquotierung beeinträchtigt.

Tabelle 19b: Präzisionsstudie 1 und 2 zum Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Panelbeschreibung und prozentuale Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen für HPV 18/45

Panelbeschreibung (Zellen/Reaktion)	Prozentuale Übereinstimmung (95% VI)		
	Erwartetes Ergebnis für HPV 18/45	Studie 1 (3 Testzentren)	Studie 2 (1 Testzentrum)
SiHa-Zellen (3,0 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
HeLa-Zellen (0,6 Zellen)	Positiv	93,5 (101/108) (87,2, 96,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
MS751-Zellen (11,0 Zellen)	Positiv	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV 16, klinische Probe 1	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45, klinische Probe 1	Positiv	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa-Zellen (1,6 Zellen) und HeLa-Zellen (3,3 Zellen)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-Zellen (1,6 Zellen) und MS751-Zellen (42,5 Zellen)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
SiHa-Zellen (15,7 Zellen) und HeLa-Zellen (0,3 Zellen)	Positiv	63,9 (69/108) (54,5, 72,3)	67,7 (109/161) (60,1, 74,4)
SiHa-Zellen (15,7 Zellen) und MS751-Zellen (4,3 Zellen)	Positiv	98,1 (106/108) (93,5, 99,5)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
SiHa-Zellen (1,6 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HeLa-Zellen (0,3 Zellen)	Positiv	71,3 (77/108) (62,1, 79,0)	92,5 (149/161) (87,4, 95,7)
MS751-Zellen (4,3 Zellen)	Positiv	86,1 (93/108) (78,3, 91,4)	69,1 (112/162) (61,6, 75,7)
HPV 16, klinische Probe 2	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)
HPV 18/45, klinische Probe 2	Positiv	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	79,6 (129/162) (72,8, 85,1)
SiHa-Zellen (0,1 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa-Zellen (0,02 Zellen)	Negativ	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	86,4 (140/162) (80,3, 90,9)
MS751-Zellen (0,04 Zellen)	Negativ	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
HPV 16, klinische Probe 3	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV 18/45, klinische Probe 3	Negativ	80,6 (87/108) (72,1, 86,9)	81,5 (132/162) (74,8, 86,7)
HPV-negative klinische Probe 1	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV-negative klinische Probe 2	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negative klinische Probe 3	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

VI = Score-Vertrauensintervall

Hinweis: Die prozentuale Übereinstimmung wurde eventuell durch Variationen bei der Beimischung, Verdünnung und/oder Aliquotierung beeinträchtigt.

Kreuzreaktivität

Die analytische Spezifität des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays wurde anhand von Pools von verbleibenden ThinPrep Flüssig-Zytologieproben bewertet, die 1:2,9 in STM verdünnt (vergleichbar mit in ein Aptima Transferröhrchen überführten Proben) und mit kultivierten Bakterien, Hefezellen oder Pilzen, kultivierten Viren oder *In-vitro*-Transkripten von anderen, nicht zu den Zielsequenzen zählenden HPV gespickt wurden. Die Organismen und Testkonzentrationen, bei denen keine Kreuzreaktivität beobachtet wurde, sind in Tabelle 20 angegeben. Die Studienkriterien zur Bestimmung der Auswirkung vorhandener Mikroorganismen auf die Spezifität des Assays basierten auf der Positivität.

Tabelle 20: Panel für analytische Spezifität: Organismen und Konzentration ohne Kreuzreaktivität

Organismus	Test konzentration ohne Kreuzreaktivität	Organismus	Test konzentration ohne Kreuzreaktivität
Bakterien			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium*</i>	2,5x10 ⁶ Kopien/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 ⁵ IFU/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Prevotaella bivia</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml		
Andere, nicht zu den Zielsequenzen zählende Hochrisiko-HPV-Genotypen*			
HPV 31	2,5x10 ⁶ Kopien/ml	HPV 56	2,5x10 ⁶ Kopien/ml
HPV 33	2,5x10 ⁶ Kopien/ml	HPV 58	2,5x10 ⁶ Kopien/ml
HPV 35	2,5x10 ⁶ Kopien/ml	HPV 59	2,5x10 ⁶ Kopien/ml
HPV 39	2,5x10 ⁶ Kopien/ml	HPV 66	2,5x10 ⁶ Kopien/ml
HPV 51	2,5x10 ⁶ Kopien/ml	HPV 68	2,5x10 ⁶ Kopien/ml
HPV 52	2,5x10 ⁶ Kopien/ml		
Hefen/Protozoen			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis**</i>	1x10 ⁵ Zellen/ml

Tabelle 20: Panel für analytische Spezifität: Organismen und Konzentration ohne Kreuzreaktivität
(Fortsetzung)

Organismus	Test konzentration ohne Kreuzreaktivität	Organismus	Test konzentration ohne Kreuzreaktivität
Viren			
Adenovirus	5,25x10 ⁷ PFU/ml	HIV-1	2,5x10 ⁶ Kopien/ml
Zytomegalievirus	1,58x10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	Herpes-Simplex-Virus 1	3,39x10 ⁶ TCID ₅₀ /ml
Epstein-Barr-Virus	1,59x10 ⁵ TD ₅₀ /ml	Herpes-Simplex-Virus 2	2,29x10 ⁶ TCID ₅₀ /ml
Andere, nicht zu den Zielsequenzen zählende HPV-Genotypen*			
HPV 6	2,5x10 ⁶ Kopien/ml	HPV 53	2,5x10 ⁶ Kopien/ml
HPV 11	2,5x10 ⁶ Kopien/ml	HPV 67	2,5x10 ⁶ Kopien/ml
HPV 26	2,5x10 ⁶ Kopien/ml	HPV 69	2,5x10 ⁶ Kopien/ml
HPV 30	2,5x10 ⁶ Kopien/ml	HPV 70	2,5x10 ⁶ Kopien/ml
HPV 34	2,5x10 ⁶ Kopien/ml	HPV 73	2,5x10 ⁶ Kopien/ml
HPV 42	2,5x10 ⁶ Kopien/ml	HPV 82	2,5x10 ⁶ Kopien/ml
HPV 43	2,5x10 ⁶ Kopien/ml	HPV 85	2,5x10 ⁶ Kopien/ml
HPV 44	2,5x10 ⁶ Kopien/ml		

CFU = Colony Forming Units (Koloniebildende Einheiten), PFU = Plaque Forming Units (Plauebildende Einheiten),

TD₅₀ = Transformationsdosis 50, TCID₅₀ = Tissue Culture Infective Dose 50 (Gewebekultur-Infektionsdosis 50)

*Testung eines *In-vitro*-Transkripts.

**Für *Trichomonas vaginalis* wurde zwar keine Kreuzreaktivität, wohl aber eine Interferenz beobachtet (siehe unten).

Die analytische Sensitivität des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays bei Vorhandensein von Mikroorganismen wurde mit demselben Panel wie in Tabelle 20 beschrieben bewertet, das ebenfalls mit einer niedrigen Konzentration von HPV-infizierten SiHa-Zellen (1,6 Zellen pro Reaktion) und HPV-infizierten HeLa-Zellen (0,3 Zellen pro Reaktion) gespikt war. Den Studienkriterien für die Untersuchung der Auswirkung des Vorhandenseins von Mikroorganismen auf die Sensitivität des Assays wurde Positivität zugrunde gelegt. Das Vorhandensein der Mikroorganismen verursachte keine Interferenzen des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays, mit Ausnahme von *Trichomonas vaginalis* (TV). Eine Interferenz bei TV wurde bei Konzentrationen über 3 x 10⁴ Zellen/ml beobachtet.

Interferenz

Die in Tabelle 21 beschriebenen Substanzen wurden einzeln in gepoolte und in STM 1:2,9 verdünnte ThinPrep Flüssig-Zytologieproben in den in der Tabelle angegebenen Konzentrationen gespikt. Alle Substanzen wurden in Gegenwart und Abwesenheit von HPV-infizierten kultivierten Zellen (SiHa, 1,6 Zellen/Reaktion und HeLa, 0,3 Zellen/Reaktion) mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay getestet. Eine Interferenz wurde bei den folgenden Substanzen bei Vorliegen über den angegebenen Konzentrationen beobachtet: vaginale Gleitmittel (mit Polyquaternium 15) bei 1% Gew./Vol., Fungizidsalbe (mit Tioconazol) bei 0,03% Gew./Vol., Schleim bei 0,3% Gew./Vol., intravaginale Hormone (mit Progesteron) bei 1% Gew./Vol.

Tabelle 21: Auf mögliche Interferenz mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay getestete Substanzen

Produktkategorie	Marke bzw. Typ des Produktes	Höchste getestete Konzentration, bei der sich keine Interferenz mit dem Assay ergab*
Vaginalgleitmittel	KY Natural Feeling Liquid	10% Vol./Vol.
	up & up Intingleitflüssigkeit (Hausmarke Target)	
	Astroglide**	1% Gew./Vol.
Spermizid/Kontrazeptivgel	Vaginaler Kontrazeptivschaum (VCF)	10% Gew./Vol.
	Options Conceptrol Vaginales Kontrazeptivgel	
Antimykotische Creme	up & up (Hausmarke Target) Miconazole 3	10% Gew./Vol.
	Monistat 3 Kombinationspackung	
	up & up (Hausmarke der Target-Kette) Tioconazol 1	0,03% Gew./Vol.
Intim dusche	Summer's Eve Intim dusche	10% Vol./Vol.
	up & up (Hausmarke Target) Vaginaldusche	
Intimspray	Summer's Eve Intimdeo	10% Gew./Vol.
	FDS Intimdeo	
Schleim	Muzin vom Schwein	0,3% Gew./Vol.
Intravaginale Hormone	Estrace Vaginalsalbe (Östrogen)	10% Gew./Vol.
	Crinone Salbe (Progesteron)	1% Gew./Vol.
Vollblut***	Vollblut	5% Vol./Vol.
Leukozyten	Leukozyten	1x10 ⁷ Zellen/ml
Eisessig-Waschlösung [^]	Eisessig + Cytolyt-Lösung	2,6% Vol./Vol.

*Konzentration in der Testprobe; ThinPrep Flüssig-Zytologieproben wurden 1:2,9 in STM verdünnt (vergleichbar mit in ein Aptima Transferröhrchen überführten Proben)

**Intingleitmittel mit Polyquaternium 15.

***Vollblut ergab in einer Testkonzentration von 10% Vol./Vol. Interferenz mit dem Assay

[^]Eisessig-Waschlösung wurde durch Mischen von 1 Teil Eisessig und 9 Teilen Cytolyt-Lösung nach den Angaben in der *Bedienungsanleitung des ThinPrep 2000 Systems* (ThinPrep 2000 System Operator's Manual) hergestellt.

Erwartete Ergebnisse auf dem Panther System: Prävalenz von High-Risk-HPV-mRNA

Die Prävalenz von High-Risk-HPV-Infektionen variiert stark und wird von mehreren Faktoren beeinflusst, wobei das Lebensalter den größten Beitrag leistet.^{19,20} Die Prävalenz von HPV ist in zahlreichen Studien anhand des Nachweises von HPV-DNA untersucht worden, es liegen jedoch nur wenige Studien vor, die auf dem Nachweis von onkogener HPV-mRNA basieren.

Patientinnen an einer Reihe verschiedener klinischer Zentren (n=18), die eine breite geografische Verteilung und verschiedene Bevölkerungsgruppen abdeckten (10 Einzelstaaten in den USA), wurden in eine prospektive klinische Studie aufgenommen (die sogenannte CLEAR-Studie), um den Aptima HPV Assay, der 14 Typen von High-Risk-HPV nachweisen kann, zu bewerten.²¹

Proben von Teilnehmerinnen der CLEAR-Studie mit positiven Ergebnissen beim Test mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System wurden in einer separaten klinischen Studie an drei Testzentren mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System bewertet. Die Prävalenz von HPV 16, 18/45 sowie der übrigen 11 in der klinischen Studie beobachteten Typen von High-Risk-HPV wurde anhand der Ergebnisse beim Test mit dem Aptima HPV Assay und dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System sowohl insgesamt als auch nach Altersgruppen und Testzentren eingestuft. Ein negatives Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System bedeutet, dass keiner der 14 Typen von High-Risk-HPV vorhanden ist; diese Ergebnisse wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System festgelegt. Die Ergebnisse gehen aus Tabelle 22 hervor, und zwar für die Populationen atypische Plattenepithelzellen von unbestimmter Bedeutung (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) und negativ für intraepitheliale Läsion oder Malignität (NILM).

Tabelle 22: Prävalenz von High-Risk-HPV-mRNA in Populationen nach Altersgruppen, Testzentren sowie insgesamt

	Positivitätsrate % (x/n)							
	ASC-US-Population (≥ 21 Jahre)				NILM-Population (≥ 30 Jahre)			
	HPV-16- pos	HPV-18/45- pos	HPV-16- und 18/45-pos	11 andere HR*-pos	HPV-16- pos	HPV-18/45- pos	HPV-16- und 18/45-pos	11 andere HR*-pos
Alle	7,8 (71/911)	5,3 (48/911)	0,3 (3/911)	26,0 (237/911)	0,5 (50/10,839)	0,5 (49/10,839)	< 0,1 (1/10,839)	3,6 (391/10,839)
Altersgruppe (Jahre)								
21 bis 29	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	N. zutr.	N. zutr.	N. zutr.	N. zutr.
30 bis 39	5,5 (14/255)	6,7 (17/255)	0,4 (1/255)	23,1 (59/255)	0,7 (31/4,183)	0,7 (31/4,183)	0 (0/4,183)	5,1 (215/4,183)
≥ 40	1,9 (5/268)	4,1 (11/268)	0 (0/268)	11,6 (31/268)	0,3 (19/6656)	0,3 (18/6656)	< 0,1 (1/6656)	2,6 (176/6656)
Testzentrum**								
1	5,6 (17/304)	6,6 (20/304)	0,3 (1/304)	27,0 (82/304)	0,4 (16/3610)	0,4 (16/3610)	< 0,1 (1/3610)	3,6 (130/3610)
2	9,6 (29/303)	3,6 (11/303)	0,3 (1/303)	26,4 (80/303)	0,5 (18/3614)	0,4 (15/3614)	0 (0/3614)	3,6 (130/3614)
3	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3615)	0,5 (18/3615)	0 (0/3615)	3,6 (131/3615)

N. zutr. = Nicht zutreffend, HR = High-Risk, pos = positiv

Hinweis: Teilnehmerinnen mit negativen Ergebnissen mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System festgelegt.

* HPV-Typen 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 und 68

** In der NILM-Population wurden nicht alle Teilnehmerinnen mit negativen Ergebnissen mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System getestet. Für die Analyse nach Testzentren wurden die Ergebnisse für diese Teilnehmerinnen randomisiert einem der 3 Testzentren zugewiesen.

Leistung des Assays auf dem Panther System

Design der klinischen Studie zum Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay mit ThinPrep flüssigen Zytologieproben

Der Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System wurde anhand von Überweisungs-Zytologieproben bewertet. Diese stammten von Teilnehmerinnen an der als CLEAR-Studie bezeichneten prospektiven multizentrischen klinischen Studie in den USA, mit deren Einverständnis. Die CLEAR-Studie wurde durchgeführt, um die klinische Leistungsfähigkeit des Aptima HPV Assays auf dem Tigris DTS System für den Nachweis einer zervikalen intraepithelialen Neoplasie des Schweregrads 2 oder darüber (\geq CIN2) zu ermitteln. Die Teilnehmerinnen wurden aufgrund ihrer Ergebnisse in der zur Überweisung führenden ThinPrep flüssigkeitsbasierten Zytologie beim routinemäßigen Screening auf Zervixkarzinom entweder der ASC-US-Studie oder der NILM-Studie zugewiesen. Die Population der ASC-US-Studie bestand aus Frauen ab 21 Jahren mit einem auf ASC-US lautenden Zytologie-Ergebnis und die Population der NILM-Studie bestand aus Frauen ab 30 Jahren mit einem auf NILM lautenden Zytologie-Ergebnis.

Patientinnen an 18 klinischen Zentren, bei denen es sich überwiegend um Geburtshilfe- bzw. Gynäkologiekliniken handelte und die eine breite geografische Verteilung und verschiedene Bevölkerungsgruppen abdeckten, wurden analysiert. Im Rahmen der CLEAR-Studie wurden die zur Überweisung führenden Zytologie-Restproben sowohl mit dem Aptima HPV Assay auf dem Tigris DTS System als auch mit einem HPV-DNA-Test mit FDA-Zulassung getestet. Infrage kommende, zur Überweisung führende Zytologie-Restproben aus der CLEAR-Studie wurden mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System getestet. Für die klinische Studie zum Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay wurden Proben der zur Überweisung führenden Zytologie-Restproben mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System getestet.

Alle Teilnehmerinnen der ASC-US-Studie wurden unabhängig vom jeweiligen HPV-Ergebnis zur Kolposkopie überwiesen. Es wurden eine Biopsie mittels endozervikaler Kürettage (Endocervical Curettage, ECC) sowie Zervix-Stanzbiopsien (1 Biopsie aus jedem der 4 Quadranten) entnommen. Wenn eine Läsion sichtbar war, wurde eine Stanzbiopsie entnommen (gerichtete Methode, 1 Biopsie pro Läsion); in Quadranten ohne sichtbare Läsionen wurden Biopsien aus der Transformationszone entnommen (Zufallsmethode).

In der NILM-Studie wurden Teilnehmerinnen, deren Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay auf dem Tigris DTS System und/oder dem HPV-DNA-Test mit FDA-Zulassung positiv war, sowie randomisiert ausgewählte Teilnehmerinnen mit negativen Ergebnissen in beiden Assays zur Bewertung des Ausgangszustands zur Kolposkopie überwiesen. Von allen Teilnehmerinnen, die zur Kolposkopie erschienen, wurden ECC-Biopsien entnommen. Stanzbiopsien wurden nur von sichtbaren Läsionen entnommen (direkte Methode, 1 Biopsie pro Läsion). Die Nachsorge für die Teilnehmerinnen in der NILM-Studie ohne \geq CIN2 dauert noch 3 Jahre lang mit jährlichen Zytologietermen an. Teilnehmerinnen mit ASC-US oder schwerwiegenderen Zytologie-Ergebnissen während des Nachsorgezeitraums werden zur Kolposkopie überwiesen, wobei der gleiche Biopsie-Eingriff wie bei der Bewertung des Ausgangszustands verwendet wird.

Der Erkrankungsstatus wurde mithilfe eines histologischen Konsensbefund-Gremiums bestimmt, das auf der übereinstimmenden Meinung von mindestens 2 erfahrenen Pathologen beruhte. Den erfahrenen Pathologen wurde weder der HPV- und Zytologie-Status der Teilnehmerinnen noch die histologische Diagnose des anderen Pathologen mitgeteilt. Zur Vermeidung einer Verzerrung wurden die HPV-Testergebnisse den Prüfarzten, Klinikern und Teilnehmerinnen erst nach Abschluss des Kolposkopietermins mitgeteilt.

Um den Verwendungszweck des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System als Reflextest für mit dem Aptima HPV Assay positive Patientenproben zu validieren, kamen die zur Überweisung führenden Zytologie-Restproben von allen auswertbaren Teilnehmerinnen an der ASC-US-Studie und der NILM-Studie mit einem positiven Ergebnis mit

dem Aptima HPV Assay für Tests mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System infrage. Die klinische Leistungsfähigkeit des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays auf dem Panther System für den Nachweis von \geq CIN2 und einer zervikalen intraepithelialen Neoplasie des Schweregrads 3 oder darüber (\geq CIN3) wurde bewertet.

ASC-US-Population \geq 21 Jahre: Klinische Leistungsfähigkeit des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays mit ThinPrep flüssigen Zytologieproben

Insgesamt gab es 404 auswertbare Teilnehmerinnen im Alter von mindestens 21 Jahren mit einem auf ASC-US lautenden Zytologie-Ergebnis und einem positiven Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System, deren zur Überweisung führende Zytologieproben für Tests mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System infrage kamen. Bei 45 dieser Teilnehmerinnen war kein für die Tests in dieser Studie ausreichendes Volumen der zur Überweisung führenden Zytologieprobe vorhanden, während bei 6 Teilnehmerinnen eine unbestimmte Krankheitsdiagnose vorlag; nach einer Fehlwertanalyse gingen diese Teilnehmerinnen nicht in die Berechnungen zur Leistungsfähigkeit ein. Die 353 auswertbaren Teilnehmerinnen mit schlüssigem Krankheitsstatus hatten gültige Ergebnisse mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System auf der Grundlage von Reflextests nach einem positiven Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System. Siebenundsechzig (67) Teilnehmerinnen hatten \geq CIN2 und 30 hatten \geq CIN3.

Von den 353 auswertbaren Teilnehmerinnen mit positivem Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System hatten 118 Teilnehmerinnen ein positives Ergebnis mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System, was auf das Vorliegen von HPV 16 und/oder HPV 18/45 hinwies; 235 hatten ein negatives Ergebnis, was auf das Vorliegen von einem oder mehreren der übrigen 11 Typen von High-Risk-HPV hinwies, die der Aptima HPV Assay nachweist (d. h. die HPV-Typen 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 und 68). Weitere 539 auswertbare Teilnehmerinnen im Alter von mindestens 21 Jahren mit einem auf ASC-US lautenden Zytologie-Ergebnis hatten ein negatives Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System. Ein negatives Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay bedeutet, dass keiner der 14 Typen von High-Risk-HPV vorhanden ist; diese Ergebnisse wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System festgelegt. Die Prävalenz von \geq CIN2 und \geq CIN3 bei auswertbaren Teilnehmerinnen mit auf ASC-US lautendem Zytologie-Ergebnis betrug 9,1% bzw. 3,8%. Auf der Grundlage von Tests auf dem Panther System werden die Ergebnisse mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay nach dem Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay sowie der Diagnose des histologischen Konsensbefund-Gremiums in Tabelle 23 dargestellt.

Tabelle 23: ASC-US-Population ≥ 21 Jahre: Ergebnisse mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und dem Aptima HPV Assay nach Diagnose des histologischen Konsensbefund-Gremiums

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Ergebnis mit dem AHPV-GT Assay*	Interpretation	Diagnose des histologischen Konsensbefund-Gremiums						
			Unbestimmt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Karzinom	Gesamt
Positiv	HPV-16-pos, HPV-18/45-neg	HPV-16-pos	1	26	18	11	15	0	71
	HPV-16-neg, HPV-18/45-pos	HPV-18/45-pos	3	23	16	2	3	1	48
	HPV-16-pos, HPV-18/45-pos	HPV-16- und 18/45-pos	0	1	0	1	1	0	3
	HPV-16-neg, HPV-18/45-neg	Pos für andere HR-HPV	2	132	70	23	10	0	237
Gesamt			6	182	104	37	29	1	359
Negativ	HPV-16/18/45-neg***	HR-HPV-neg	13	450	75	10	4	0	552
Gesamt			19	632	179	47	33	1****	911

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, CIN1 = zervikale intraepitheliale Neoplasie des Schweregrads 1, HR = High-Risk, neg = negativ, pos = positiv

*Für alle Proben wurden endgültige Ergebnisse erzielt (durch endgültige Tests oder nach Abklärung von zuerst ungültigen Proben gemäß dem Verfahren).

**Bei 19 Teilnehmerinnen, die zum Kolposkopietermin erschienen, konnte aus den folgenden Gründen keine Diagnose bestimmt werden: < 5 Biopsieproben entnommen, die alle das Histologie-Ergebnis normal/CIN1 erbrachten (n=15), keine Biopsien entnommen (n=3) und Verlust der Biopsie-Objektträger (n=1).

***Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

****Eine Teilnehmerin litt an einem Adenocarcinoma in situ (AIS).

Das absolute Erkrankungsrisiko (≥ CIN2 und ≥ CIN3) nach den Ergebnissen mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und dem Aptima HPV Assay geht aus Tabelle 24 hervor. Das Risiko für ≥ CIN2 bei Teilnehmerinnen mit Vorliegen der HPV-Typen 16, 18 und/oder 45 betrug 28,8%, gegenüber 14,0% bei Teilnehmerinnen mit Vorliegen eines oder mehrerer der übrigen 11 Typen von High-Risk-HPV und 2,6% bei Teilnehmerinnen ohne Vorliegen eines High-Risk-HPV-Typs. Das absolute Risiko nach Altersgruppen geht aus Tabelle 25 hervor.

Tabelle 24: ASC-US-Population ≥ 21 Jahre: Absolutes Risiko für ≥ CIN2 und ≥ CIN3 für Ergebnisse mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Ergebnis mit dem AHPV-GT Assay	Interpretation	≥ CIN2	≥ CIN3
			Absolutes Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)
Positiv	HPV-16-pos und/oder HPV-18/45-pos	HPV-16 und/oder HPV-18/45-pos	28,8 (34/118) (22,2, 35,7)	16,9 (20/118) (12,1, 21,8)
	HPV-16-pos, HPV-18/45-neg	Nur HPV-16-pos	37,1 (26/70) (27,4, 47,4)	21,4 (15/70) (13,8, 29,5)
	HPV-16-neg, HPV-18/45-pos	Nur HPV-18/45-pos	13,3 (6/45) (5,5, 25,1)	8,9 (4/45) (2,9, 19,1)
	HPV-16-pos, HPV-18/45-pos	HPV-16- und 18/45-pos	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV-16/18/45-neg	Pos für andere HR-HPV	14,0 (33/235) (10,7, 17,7)	4,3 (10/235) (2,3, 6,7)
	Pos oder neg	HR-HPV-pos	19,0 (67/353) (16,8, 21,1)	8,5 (30/353) (7,1, 9,6)
Negativ	HPV-16/18/45-neg*	HR-HPV-neg	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)	0,7 (4/539) (0,2, 1,6)
Prävalenz			9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

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

*Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

Tabelle 25: ASC-US-Population ≥ 21 Jahre: Absolutes Risiko für \geq CIN2 und \geq CIN3 für Ergebnisse mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay nach Altersgruppen

	Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Ergebnis mit dem AHPV-GT Assay	Interpretation	\geq CIN2	\geq CIN3
				Absolutes Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)
21 bis 29 Jahre	Positiv	HPV-16-pos und/oder HPV-18/45-pos	HPV-16 und/oder HPV-18/45-pos	27,4 (20/73) (19,0, 36,2)	16,4 (12/73) (10,3, 22,5)
		HPV-16-pos, HPV-18/45-neg	Nur HPV-16-pos	29,4 (15/51) (18,8, 41,1)	19,6 (10/51) (11,3, 28,5)
		HPV-16-neg, HPV-18/45-pos	Nur HPV-18/45-pos	15,0 (3/20) (3,6, 34,6)	5,0 (1/20) (0,2, 21,6)
		HPV-16-pos, HPV-18/45-pos	HPV-16- und 18/45-pos	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV-16/18/45-neg	Pos für andere HR-HPV	17,1 (25/146) (12,7, 21,7)	5,5 (8/146) (2,8, 8,6)
		Pos oder neg	HR-HPV-pos	20,5 (45/219) (17,9, 23,0)	9,1 (20/219) (7,5, 10,2)
	Negativ	HPV-16/18/45-neg*	HR-HPV-neg	4,2 (7/166) (1,9, 7,6)	0,6 (1/166) (0,0, 2,7)
Prävalenz				13,5% (52/385)	5,5% (21/385)
30 bis 39 Jahre	Positiv	HPV-16-pos und/oder HPV-18/45-pos	HPV-16 und/oder HPV-18/45-pos	30,0 (9/30) (16,5, 43,9)	16,7 (5/30) (6,9, 26,2)
		HPV-16-pos, HPV-18/45-neg	Nur HPV-16-pos	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV-16-neg, HPV-18/45-pos	Nur HPV-18/45-pos	13,3 (2/15) (1,3, 35,2)	13,3 (2/15) (1,3, 32,1)
		HPV-16-pos, HPV-18/45-pos	HPV-16- und 18/45-pos	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV-16/18/45-neg	Pos für andere HR-HPV	12,1 (7/58) (5,7, 19,5)	3,4 (2/58) (0,5, 8,5)
		Pos oder neg	HR-HPV-pos	18,2 (16/88) (13,4, 22,3)	8,0 (7/88) (4,6, 10,0)
	Negativ	HPV-16/18/45-neg*	HR-HPV-neg	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)
Prävalenz				7,6% (19/251)	3,2% (8/251)
≥ 40 Jahre	Positiv	HPV-16-pos und/oder HPV-18/45-pos	HPV-16 und/oder HPV-18/45-pos	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		HPV-16-pos, HPV-18/45-neg	Nur HPV-16-pos	80,0 (4/5) (36,8, 99,0)	40,0 (2/5) (6,3, 78,2)
		HPV-16-neg, HPV-18/45-pos	Nur HPV-18/45-pos	10,0 (1/10) (0,4, 36,6)	10,0 (1/10) (0,4, 33,1)
		HPV-16-pos, HPV-18/45-pos	HPV-16- und 18/45-pos	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV-16/18/45-neg	Pos für andere HR-HPV	3,2 (1/31) (0,1, 13,2)	0 (0/31) (0,0, 7,8)
		Pos oder neg	HR-HPV-pos	13,0 (6/46) (6,1, 19,7)	6,5 (3/46) (1,7, 10,9)
	Negativ	HPV-16/18/45-neg*	HR-HPV-neg	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)
Prävalenz				3,9% (10/256)	2,0% (5/256)

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

*Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

Das relative Erkrankungsrisiko für positive gegenüber negativen Ergebnissen mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay geht aus Tabelle 26 hervor. Bei Teilnehmerinnen mit Vorliegen der HPV-Typen 16, 18 und/oder 45 war eine Erkrankung mit \geq CIN2 11,1-mal so wahrscheinlich und eine Erkrankung mit \geq CIN3 22,8-mal so wahrscheinlich wie bei Teilnehmerinnen ohne Vorliegen eines High-Risk-HPV-Typs. Bei Teilnehmerinnen mit Vorliegen der HPV-Typen 16, 18 und/oder 45 war eine Erkrankung mit \geq CIN2 2,1-mal so wahrscheinlich und eine Erkrankung mit \geq CIN3 4,0-mal so wahrscheinlich wie bei Teilnehmerinnen mit Vorliegen eines oder mehrerer der übrigen 11 High-Risk-HPV-Typen.

Tabelle 26: ASC-US-Population \geq 21 Jahre: Relatives Risiko für \geq CIN2 und \geq CIN3 für Ergebnisse mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay

Interpretation der Ergebnisse des Aptima Assays*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relatives Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
HPV-16- und/oder -18/45-positiv gegenüber HR-HPV-negativ	11,1 (6,2, 20,0)	22,8 (8,0, 65,6)
HPV-16- und/oder -18/45-positiv gegenüber positiv für anderen HR-HPV-Typ	2,1 (1,3, 3,1)	4,0 (1,9, 8,2)
Positiv für anderen HR-HPV-Typ gegenüber HR-HPV-negativ	5,4 (2,9, 9,9)	5,7 (1,8, 18,1)
HR-HPV-positiv gegenüber HR-HPV-negativ	7,3 (4,2, 12,8)	11,5 (4,1, 32,2)
Prävalenz	9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

VI = Vertrauensintervall, HR = High-Risk

*Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

Die Wahrscheinlichkeitsverhältnisse (\geq CIN2 und \geq CIN3) nach Ergebnissen mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay gehen aus Tabelle 27 hervor. Die HPV-Typen 16, 18 und/oder 45 waren bei Teilnehmerinnen mit \geq CIN2 mit der 4,1-fachen Wahrscheinlichkeit und bei Teilnehmerinnen mit \geq CIN3 mit der 5,2-fachen Wahrscheinlichkeit vorhanden.

Tabelle 27: ASC-US-Population \geq 21 Jahre: Wahrscheinlichkeitsverhältnisse für \geq CIN2 und \geq CIN3 nach Ergebnissen mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay

Interpretation der Ergebnisse des Aptima Assays*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Wahrscheinlichkeitsverhältnis (95% VI)	Wahrscheinlichkeitsverhältnis (95% VI)
HPV-16- und/oder -18/45-positiv	4,1 (2,9, 5,6)	5,2 (3,5, 7,0)
Positiv für anderen HR-HPV-Typ	1,6 (1,2, 2,1)	1,1 (0,6, 1,8)
HR-HPV-negativ	0,3 (0,2, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

VI = Vertrauensintervall, HR = High-Risk

*Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

NILM-Population ≥ 30 Jahre: Klinische Leistungsfähigkeit des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays mit ThinPrep flüssigen Zytologieproben

Insgesamt gab es 512 auswertbare Teilnehmerinnen im Alter von mindestens 30 Jahren mit einem auf NILM lautenden Zytologie-Ergebnis und einem positiven Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System, deren zur Überweisung führende Zytologieproben für Tests mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay infrage kamen. Bei 21 dieser Teilnehmerinnen (von denen 11 zur Kolposkopie erschienen und 10 nicht) war kein für die Tests in dieser Studie ausreichendes Volumen der zur Überweisung führenden Zytologieprobe vorhanden; nach einer Fehlwertanalyse gingen diese Teilnehmerinnen nicht in die Berechnungen zur Leistungsfähigkeit ein. Die 491 auswertbaren Teilnehmerinnen hatten gültige Ergebnisse mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Zweihundertdreiundsiebzig (273) dieser Teilnehmerinnen erschienen zur Kolposkopie. Vierzehn (14) Teilnehmerinnen hatten ≥ CIN2 und 10 hatten ≥ CIN3; bei 245 Teilnehmerinnen lautete das Histologie-Ergebnis normal/CIN1; bei 14 Teilnehmerinnen war der Erkrankungsstatus unbestimmt.

Von den 259 auswertbaren Teilnehmerinnen mit schlüssigem Erkrankungsstatus und positivem Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System hatten 65 Teilnehmerinnen ein positives Ergebnis mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System, was auf das Vorliegen von HPV 16 und/oder HPV 18/45 hinwies; 194 hatten ein negatives Ergebnis, was auf das Vorliegen von einem oder mehreren der übrigen 11 Typen von High-Risk-HPV hinwies. Weitere 549 auswertbare Teilnehmerinnen im Alter von mindestens 30 Jahren mit einem auf NILM lautenden Zytologie-Ergebnis und schlüssigem Erkrankungsstatus hatten ein negatives Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System. Ein negatives Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay bedeutet, dass keiner der 14 Typen von High-Risk-HPV vorhanden ist; diese Ergebnisse wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System festgelegt. Die Ergebnisse mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay werden nach dem Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay sowie der Diagnose des histologischen Konsensbefund-Gremiums in Tabelle 28 dargestellt.

Tabelle 28: NILM-Population ≥ 30 Jahre: Ergebnisse mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und dem Aptima HPV Assay nach Diagnose des histologischen Konsensbefund-Gremiums

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Ergebnis mit dem AHPV-GT Assay*	Interpretation	Diagnose des histologischen Konsensbefund-Gremiums						
			Unbestimmt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Karzinom	Gesamt
Positiv	HPV-16-pos, HPV-18/45-neg	HPV-16-pos	2	28	0	0	3	1	34
	HPV-16-neg, HPV-18/45-pos	HPV-18/45-pos	1	28	1	1	0	2	33
	HPV-16-pos, HPV-18/45-pos	HPV-16- und 18/45-pos	0	1	0	0	0	0	1
	HPV-16-neg, HPV-18/45-neg	Pos für andere HR-HPV	11	175	12	3	4	0	205
Gesamt			14	232	13	4	7	3	273
Negativ	HPV-16/18/45-neg***	HR-HPV-neg	31	527	16	5	1	0	580
Gesamt			45	759	29	9	8	3****	853

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

*Für alle Proben wurden gültige Endergebnisse erzielt (im ersten Test oder nach Abklärung von zuerst ungültigen Proben gemäß dem Verfahren).

**Bei 45 Teilnehmerinnen, die zum Kolposkopie-Termin erschienen, konnte aus den folgenden Gründen keine Diagnose bestimmt werden: aufgrund unzureichender Patientenproben wurde kein Konsens erreicht (n=29), wegen zugrunde liegender Faktoren wurden keine Biopsien entnommen (n=13), irrtümlich wurden keine Biopsien entnommen bzw. untersucht (n=3).

***Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

****Drei Teilnehmerinnen litten an einem Adenocarcinoma in situ (AIS).

Unter den 491 Teilnehmerinnen mit einem positiven Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System und einem Ergebnis mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay auf dem Panther System waren 232 Teilnehmerinnen mit ungeklärtem Erkrankungsstatus (einschließlich unbestimmt) (Tabelle 29). Unter den 10.348 Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay in der ursprünglichen CLEAR-Studie waren 9.799 Teilnehmerinnen mit ungeklärtem Erkrankungsstatus. Aufgrund des Studiendesigns, demzufolge nur randomisiert ausgewählte Teilnehmerinnen mit negativem Ergebnis sowohl mit dem Aptima HPV Assay auf dem Tigris DTS System als auch mit dem DNA-Test mit FDA-Zulassung zur Kolposkopie überwiesen wurden, lag der Anteil der Teilnehmerinnen mit ungeklärtem Erkrankungsstatus in dieser Gruppe hoch (96,2%). Als Ausgleich für diesen Verifizierungsbias wurde eine Methode mit multipler Imputation verwendet, um die Anzahl der erkrankten Teilnehmerinnen abzuschätzen, die identifiziert worden wären, wenn sich alle Teilnehmerinnen einer Kolposkopie unterzogen hätten. Sowohl die Leistungsschätzungen mit Ausgleich für den Verifizierungsbias als auch nicht kompensierte Leistungsschätzungen anhand der 808 Teilnehmerinnen mit geklärtem Erkrankungsstatus sind hier aufgeführt.

Tabelle 29: NILM-Population ≥ 30 Jahre: Einstufung der auswertbaren NILM-Teilnehmerinnen nach Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay, Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HPV-DNA-Test, Erkrankungsstatus (≥ CIN2 und ≥ CIN3) und Verifizierungsstatus der Erkrankung

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay*	Ergebnis mit dem AHPV-GT Assay*	HPV-DNA-Test	Teilnehmerinnen insgesamt	Geklärter Erkrankungsstatus: ≥ CIN2		Geklärter Erkrankungsstatus: ≥ CIN3		Ungeklärter Erkrankungsstatus
				Erkrankte Teilnehmerinnen (≥ CIN2)	Nicht erkrankte Teilnehmerinnen (< CIN2)	Erkrankte Teilnehmerinnen (≥ CIN3)	Nicht erkrankte Teilnehmerinnen (< CIN3)	Teilnehmerinnen mit unbekanntem Erkrankungsstatus (% unbekannt)
Positiv	Positiv	Positiv	88	6	52	5	53	30 (34,1%)
	Positiv	Negativ	10	1	5	1	5	4 (40,0%)
	Positiv	Kein Ergebnis**	2	0	1	0	1	1 (50,0%)
	Negativ	Positiv	291	7	169	4	172	115 (39,5%)
	Negativ	Negativ	85	0	14	0	14	71 (83,5%)
	Negativ	Kein Ergebnis**	15	0	4	0	4	11 (73,3%)
Gesamt			491	14	245	10	249	232 (47,3%)
Negativ	N. zutr.***	Positiv	282	3	177	1	179	102 (36,2%)
	N. zutr.***	Negativ	9.467	2	362	0	364	9.103 (96,2%)
	N. zutr.***	Kein Ergebnis**	599	1	4	0	5	594 (99,2%)
Gesamt			10.839	20	788	11	797	10.031 (92,5%)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, N. zutr. = Nicht zutreffend

*Für alle Proben wurden gültige Endergebnisse erzielt (im ersten Test oder nach Abklärung von zuerst ungültigen Proben gemäß dem Verfahren).

**Für 616 Teilnehmerinnen mit einem Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay lag kein Ergebnis mit dem HPV-DNA-Test vor; dies war hauptsächlich auf ein zu geringes Volumen der Zytologieprobe zurückzuführen.

***Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

Das kompensierte absolute Risiko einer Erkrankung (\geq CIN2 und \geq CIN3) nach Ergebnis mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay bzw. Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay geht aus Tabelle 30a hervor. Das Risiko für \geq CIN2 bei Teilnehmerinnen mit Vorliegen der HPV-Typen 16, 18 und/oder 45 betrug 10,8%, gegenüber 3,8% bei Teilnehmerinnen mit Vorliegen eines oder mehrerer der übrigen 11 Typen von High-Risk-HPV und 1,0% bei Teilnehmerinnen ohne Vorliegen eines High-Risk-HPV-Typs. Das nicht kompensierte absolute Risiko einer Erkrankung geht aus Tabelle 30b (insgesamt) und Tabelle 31 (nach Altersgruppen) hervor.

Tabelle 30a: NILM-Population \geq 30 Jahre: Absolutes Risiko für \geq CIN2 und \geq CIN3 für Ergebnisse mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay (Schätzwerte mit Ausgleich für den Verifizierungsbias)

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Ergebnis mit dem AHPV-GT Assay	Interpretation	\geq CIN2	\geq CIN3
			Absolutes Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)
Positiv	HPV-16-pos und/oder HPV-18/45-pos	HPV-16 und/oder HPV-18/45-pos	9,7 (4,6, 20,2)	8,5 (3,8, 19,2)
	HPV-16-pos, HPV-18/45-neg	Nur HPV-16-pos	10,4 (4,0, 27,1)	10,3 (3,9, 27,1)
	HPV-16-neg, HPV-18/45-pos	Nur HPV-18/45-pos	8,8 (2,9, 26,4)	6,5 (1,7, 25,1)
	HPV-16-pos, HPV-18/45-pos	HPV-16- und 18/45-pos	0,0	0,0
	HPV-16/18/45-neg	Pos für andere HR-HPV	3,2 (1,6, 6,3)	1,8 (0,6, 4,9)
	Pos oder neg	HR-HPV-pos	4,6 (2,8, 7,4)	3,2 (1,7, 5,9)
Negativ	HPV-16/18/45-neg*	HR-HPV-neg	0,7 (0,2, 2,5)	0,2 (0,0, 4,8)
Prävalenz			1,1%	0,8%

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = High-Risk, pos = positiv, neg = negativ, N. zutr. = Nicht zutreffend
*Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

Tabelle 30b: NILM-Population \geq 30 Jahre: Absolutes Risiko für \geq CIN2 und \geq CIN3 für Ergebnisse mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay (nicht kompensierte Schätzwerte)

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Ergebnis mit dem AHPV-GT Assay	Interpretation	\geq CIN2	\geq CIN3
			Absolutes Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)
Positiv	HPV-16-pos und/oder HPV-18/45-pos	HPV-16- und/oder HPV-18/45-pos	10,8 (7/65) (5,1, 17,7)	9,2 (6/65) (4,3, 14,2)
	HPV-16-pos, HPV-18/45-neg	Nur HPV-16-pos	12,5 (4/32) (3,7, 25,2)	12,5 (4/32) (3,9, 23,1)
	HPV-16-neg, HPV-18/45-pos	Nur HPV-18/45-pos	9,4 (3/32) (2,2, 21,8)	6,3 (2/32) (0,9, 16,8)
	HPV-16-pos, HPV-18/45-pos	HPV-16- und 18/45-pos	0,0 (0/1) (0,0, 93,5)	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)
	HPV-16/18/45-neg	Pos für andere HR-HPV	3,6 (7/194) (1,7, 6,0)	2,1 (4/194) (0,7, 3,9)
	Pos oder neg	HR-HPV-pos	5,4 (14/259) (3,7, 6,8)	3,9 (10/259) (2,6, 4,5)
Negativ	HPV-16/18/45-neg*	HR-HPV-neg	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)
Prävalenz			2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = High-Risk, pos = positiv, neg = negativ, N. zutr. = Nicht zutreffend
*Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

Tabelle 31: NILM-Population ≥ 30 Jahre: Absolutes Risiko für ≥ CIN2 und ≥ CIN3 für Ergebnisse mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay nach Altersgruppen (nicht kompensierte Schätzwerte)

	Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Ergebnis mit dem AHPV-GT Assay	Interpretation	≥ CIN2	≥ CIN3
				Absolutes Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)
30 bis 39 Jahre	Positiv	HPV-16-pos und/oder HPV-18/45-pos	HPV-16 und/oder HPV-18/45-pos	8,1 (3/37) (2,0, 16,4)	5,4 (2/37) (0,9, 12,3)
		HPV-16-pos, HPV-18/45-neg	Nur HPV-16-pos	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV-16-neg, HPV-18/45-pos	Nur HPV-18/45-pos	15,0 (3/20) (3,9, 30,6)	10,0 (2/20) (1,0, 22,8)
		HPV-16-pos, HPV-18/45-pos	HPV-16- und 18/45-pos	N. zutr. (0/0)	N. zutr. (0/0)
		HPV-16/18/45-neg	Pos für andere HR-HPV	3,6 (4/111) (1,2, 6,2)	2,7 (3/111) (0,7, 4,7)
		Pos oder neg	HR-HPV-pos	4,7 (7/148) (2,6, 6,1)	3,4 (5/148) (1,6, 4,3)
	Negativ	HPV-16/18/45-neg*	HR-HPV-neg	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)
Prävalenz				2,4% (9/378)	1,6% (6/378)
≥ 40 Jahre	Positiv	HPV-16-pos und/oder HPV-18/45-pos	HPV-16 und/oder HPV-18/45-pos	14,3 (4/28) (4,8, 26,4)	14,3 (4/28) (5,0, 21,9)
		HPV-16-pos, HPV-18/45-neg	Nur HPV-16-pos	26,7 (4/15) (6,4, 47,9)	26,7 (4/15) (6,5, 43,1)
		HPV-16-neg, HPV-18/45-pos	Nur HPV-18/45-pos	0 (0/12) (0,0, 21,5)	0 (0/12) (0,0, 18,6)
		HPV-16-pos, HPV-18/45-pos	HPV-16- und 18/45-pos	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)	0,0 (0/1) (0,0, 93,1)
		HPV-16/18/45-neg	Pos für andere HR-HPV	3,6 (3/83) (1,0, 7,8)	1,2 (1/83) (0,0, 4,1)
		Pos oder neg	HR-HPV-pos	6,3 (7/111) (3,3, 8,9)	4,5 (5/111) (2,3, 5,4)
	Negativ	HPV-16/18/45-neg*	HR-HPV-neg	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0 (0/319) (0,0, 0,8)
Prävalenz				2,6% (11/430)	1,2% (5/430)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = High-Risk, pos = positiv, neg = negativ, N. zutr. = Nicht zutreffend
 *Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

Das relative Erkrankungsrisiko für positive gegenüber negativen Ergebnissen mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay geht aus Tabelle 32 (mit Ausgleich für den Verifizierungsbias) bzw. Tabelle 33 (nicht kompensiert) hervor. Bei Teilnehmerinnen mit Vorliegen der HPV-Typen 16, 18 und/oder 45 war eine Erkrankung mit \geq CIN2 12,7-mal so wahrscheinlich und eine Erkrankung mit \geq CIN3 18,4-mal so wahrscheinlich wie bei Teilnehmerinnen ohne Vorliegen eines High-Risk-HPV-Typs. Bei Teilnehmerinnen mit Vorliegen der HPV-Typen 16, 18 und/oder 45 war eine Erkrankung mit \geq CIN2 2,9-mal so wahrscheinlich und eine Erkrankung mit \geq CIN3 3,8-mal so wahrscheinlich wie bei Teilnehmerinnen mit Vorliegen eines oder mehrerer der übrigen 11 High-Risk-HPV-Typen.

Tabelle 32: NILM-Population \geq 30 Jahre: Relatives Risiko für \geq CIN2 und \geq CIN3 für Ergebnisse mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay (Schätzwerte mit Ausgleich für den Verifizierungsbias)

Interpretation der Ergebnisse des Aptima Assays*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relatives Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
HPV-16- und/oder -18/45-pos gegenüber HR-HPV-neg	12,9 (3,1, 54,6)	53,3 (1,5, >999)
HPV-16- und/oder -18/45-pos gegenüber pos für anderen HR-HPV-Typ	3,0 (1,1, 8,8)	4,8 (1,2, 19,2)
Pos für anderen HR-HPV-Typ gegenüber HR-HPV-neg	4,3 (1,2, 15,1)	11,0 (0,4, 289,2)
Pos für HR-HPV gegenüber HR-HPV-neg	6,1 (1,8, 21,0)	20,2 (0,7, 567,7)
Prävalenz	1,1%	0,8%

VI = Vertrauensintervall, HR = High-Risk, pos = positiv, neg = negativ

*Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

Tabelle 33: NILM-Population \geq 30 Jahre: Relatives Risiko für \geq CIN2 und \geq CIN3 für Ergebnisse mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay (nicht kompensierte Schätzwerte)

Interpretation der Ergebnisse des Aptima Assays*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Relatives Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
HPV-16- und/oder -18/45-pos gegenüber HR-HPV-neg	9,9 (3,4, 28,4)	50,7 (6,2, 414,4)
HPV-16- und/oder -18/45-pos gegenüber pos für anderen HR-HPV-Typ	3,0 (1,1, 8,2)	4,5 (1,3, 15,4)
Pos für anderen HR-HPV-Typ gegenüber HR-HPV-neg	3,3 (1,1, 9,7)	11,3 (1,3, 100,7)
Pos für HR-HPV gegenüber HR-HPV-neg	4,9 (1,9, 12,7)	21,2 (2,7, 164,7)
Prävalenz	2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

VI = Vertrauensintervall, HR = High-Risk, pos = positiv, neg = negativ

*Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

Die Wahrscheinlichkeitsverhältnisse (\geq CIN2 und \geq CIN3) nach Ergebnissen mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay gehen aus Tabelle 34 (mit Ausgleich für den Verifizierungsbias) bzw. Tabelle 35 (nicht kompensiert) hervor. Die HPV-Typen 16, 18 und/oder 45 waren bei Teilnehmerinnen mit \geq CIN2 mit der 17,1-fachen Wahrscheinlichkeit und bei Teilnehmerinnen mit \geq CIN3 mit der 21,9-fachen Wahrscheinlichkeit vorhanden.

Tabelle 34: NILM-Population \geq 30 Jahre: Wahrscheinlichkeitsverhältnisse für \geq CIN2 und \geq CIN3 nach Ergebnissen mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay (Schätzwerte mit Ausgleich für den Verifizierungsbias)

Interpretation der Ergebnisse des Aptima Assays*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Wahrscheinlichkeitsverhältnis (95% VI)	Wahrscheinlichkeitsverhältnis (95% VI)
HPV-16- und/oder -18/45-positiv	11,2 (3,3, 38,4)	24,1 (2,6, 225,9)
Positiv für anderen HR-HPV-Typ	3,5 (1,3, 9,4)	4,7 (0,7, 29,8)
HR-HPV-negativ	0,8 (0,6, 1,1)	0,4 (0,1, 2,2)

VI = Vertrauensintervall, HR = High-Risk

*Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

Tabelle 35: NILM-Population \geq 30 Jahre: Wahrscheinlichkeitsverhältnisse für \geq CIN2 und \geq CIN3 nach Ergebnissen mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und Aptima HPV Assay (nicht kompensierte Schätzwerte)

Interpretation der Ergebnisse des Aptima Assays*	\geq CIN2	\geq CIN3
	Wahrscheinlichkeitsverhältnis (95% VI)	Wahrscheinlichkeitsverhältnis (95% VI)
HPV-16- und/oder -18/45-positiv	4,8 (2,1, 8,5)	7,4 (3,3, 12,0)
Positiv für anderen HR-HPV-Typ	1,5 (0,7, 2,5)	1,5 (0,5, 2,9)
HR-HPV-negativ	0,4 (0,2, 0,8)	0,1 (0,0, 0,6)

VI = Vertrauensintervall, HR = High-Risk

*Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

Klinische Leistung des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays mit SurePath flüssigen Zytologieproben

SurePath Flüssig-Zytologieproben wurden von Frauen in Kanada entnommen, die zur Nachsorge wegen eines oder mehrerer abnormer Pap-Tests, einer HPV-Infektion oder aus anderem Grund weiterverwiesen wurden. Ein Aliquot (0,5 ml) jeder Probe wurde in ein Aptima Probentransferröhrchen übertragen und dann mit Aptima Transferlösung behandelt. Ein einzelnes Replikat jeder Probe wurde mit dem Aptima HPV Assay getestet (n=481). Positive Proben wurden anschließend mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay getestet. Die Ergebnisse mit dem Aptima HPV Assay gehen aus Tabelle 36 hervor. Ähnliche Ergebnisse werden für den kommerziell erhältlichen HPV-PCR-Test dargestellt, der HPV 16 und HPV 18, nicht aber HPV 45, separat von den anderen Hochrisiko-Genotypen unterscheiden kann. Das relative Erkrankungsrisiko für Genotyp-positive gegenüber negativen Ergebnissen für den Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und den HPV-PCR-Test geht aus Tabelle 37 hervor.

Tabelle 36: Absolutes Risiko für \geq CIN3 nach Ergebnis mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und einem kommerziell erhältlichen HPV-PCR-Test

HR-HPV-Ergebnis	Genotyp-Ergebnis	Interpretation	Absolutes Risiko für \geq CIN3 nach Aptima (95%-VI)	Absolutes Risiko für \geq CIN3 nach HPV-PCR (95%-VI)
Positiv	HPV-16-pos und/oder HPV-18/45*-pos	HPV-16- und/oder HPV-18/45*-pos	12,5 (7,6-17,3)	14,4 (10,4-18,1)
	HPV-16-pos und HPV-18/45*-neg	Nur HPV-16-pos	16,4 (9,2-23,9)	16,8 (11,6-21,9)
	HPV-16-neg und/oder HPV-18/45*-pos	Nur HPV-18/45*-pos	3,3 (0,1-13,2)	7,1 (1,0-18,8)
	HPV-16-pos und/oder HPV-18/45*-pos	HPV-16- und HPV-18/45*-pos	33,3 (1,8-83,7)	14,3 (0,7-49,9)
	HPV-16-neg und/oder HPV-18/45*-neg	Pos für andere HR-HPV	2,0 (1,0-3,1)	2,1 (1,1-3,3)
	Pos oder neg	HR-HPV-pos	10,2 (8,4-11,7)	8,5 (7,0-9,5)
Negativ**	HPV-16-neg und/oder HPV-18/45*-neg	HR-HPV-neg	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
Prävalenz (%)			4,0%	5,0%

HR = Hochrisiko; pos = positiv; neg = negativ

*Der HPV-PCR-Test unterscheidet nur HPV 16 und HPV 18 von den anderen 12 Hochrisiko-Genotypen einschließlich HPV 45.

**Teilnehmerinnen mit einem negativen Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay wurden für Analysezwecke als negativ beim Test mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay festgelegt.

Tabelle 37: Relatives Risiko für \geq CIN3 nach Ergebnis mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay und einem kommerziell erhältlichen HPV-PCR-Test

Ergebnis mit dem Aptima Assay		Ergebnis mit dem HPV-PCR-Test	
Testauswertung	Relatives Risiko für \geq CIN3 (95%-VI)	Testauswertung	Relatives Risiko für \geq CIN3 (95%-VI)
HPV-16- und/oder -18/45-positiv gegenüber HR-HPV-negativ	13,1 (3,7-45,9)	HPV-16- und/oder -18/45-positiv gegenüber HR-HPV-negativ	12,6 (3,8-41,9)
HPV-16- und/oder -18/45-positiv gegenüber positiv für anderen HR-HPV-Typ	2,0 (0,7-5,4)	HPV-16- und/oder -18/45-positiv gegenüber positiv für anderen HR-HPV-Typ	3,9 (1,6-9,5)
Positiv für anderen HR-HPV-Typ gegenüber HR-HPV-negativ	6,6 (1,6-27,1)	Positiv für anderen HR-HPV-Typ gegenüber HR-HPV-negativ	3,2 (0,8-12,8)
HR-HPV-positiv gegenüber HR-HPV-negativ	10,7 (3,3-35,1)	HR-HPV-positiv gegenüber HR-HPV-negativ	7,4 (2,3-24,3)
Prävalenz	4,0%	Prävalenz	5,0%

Klinische Leistungsfähigkeit des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays mit Zervixprobenentnahme- und Transport-Proben

Die Leistungsfähigkeit des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays wurde anhand von CSCT-Proben (Cervical Specimen Collection and Transport) von Patientinnen bewertet, die aufgrund eines abnormen Ergebnisses im Pap-Test zu einem Nachsorgetermin überwiesen wurden. Die Patientenproben wurden zuerst mit dem Aptima HPV Assay getestet (n=651). Patientenproben mit einem positiven Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay (n=414) wurden anschließend mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay sowohl auf dem Tigris DTS System als auch auf dem Panther System getestet.

Die klinische Übereinstimmung des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays beim Nachweis von High-Risk-HPV 16, 18 und 45 für das Panther System wurde anhand des als Referenzmethode verwendeten Tigris DTS Systems ermittelt. Die prozentuale positive und negative Übereinstimmung wurde jeweils mit dem zugehörigen 95%-Score-Vertrauensintervall berechnet. Die Ergebnisse gehen aus Tabelle 38 hervor.

Tabelle 38: Klinische Übereinstimmung des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays auf dem Panther System beim Nachweis von High-Risk-HPV 16, 18 und 45 in CSCT-Patientenproben

		Ergebnis mit dem Tigris DTS System				Gesamt
		HPV-16-pos, HPV-18/45-neg	HPV-16-neg, HPV-18/45-pos	HPV-16-pos, HPV-18/45-pos	HPV-16-neg, HPV-18/45-neg	
Ergebnis mit dem Panther System	HPV-16-pos, HPV-18/45-neg	194	0	1	3	198
	HPV-16-neg, HPV-18/45-pos	0	34	0	0	34
	HPV-16-pos, HPV-18/45-pos	0	0	7	0	7
	HPV-16-neg, HPV-18/45-neg	1	1	0	173	175
	Gesamt	195	35	8	176	414

pos = positiv, neg = negativ

Positive Übereinstimmung: 98,7% (235/238) (95% VI: 96,4, 99,6)

Negative Übereinstimmung: 98,3% (173/176) (95% VI: 95,1, 99,4)

Analytische Sensitivität

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) am klinischen Grenzwert ist eine Konzentration, die in 95% der Fälle positiv (d. h. über dem klinischen Grenzwert) ist. Die LoD des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays wurde anhand von Tests an einzelnen oder gepoolten negativen klinischen ThinPrep flüssigen Zytologieproben, die mit *In-vitro*-HPV-Transkripten oder HPV-infizierten Kulturzellen (SiHa, HeLa und MS751; ATCC, Manassas, Virginia [USA]) bei verschiedenen Konzentrationen versetzt waren, näherungsweise ermittelt. Für Panels mit *In-vitro*-Transkripten wurden für jede Kopienkonzentration 60 Replikate mit je zwei Reagenzienchargen getestet, sodass sich insgesamt 120 Replikate ergaben. Für Zelllinienpanels wurden für jede Kopienkonzentration 30 Replikate mit je zwei Reagenzienchargen getestet, sodass sich insgesamt 60 Replikate ergaben. Die Tests wurden über einen Zeitraum von acht Tagen durchgeführt, wobei jeden Tag mindestens drei Durchläufe stattfanden und pro Genotyp in jedem Durchlauf fünf Replikate getestet wurden. Die 95%-Nachweisgrenze (Tabelle 39) wurde anhand einer Probit-Regressionsanalyse der Positivitätsergebnisse für jedes Verdünnungspanel berechnet.

Tabelle 39: Nachweisgrenze am klinischen Grenzwert des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays

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

*Kopien pro Reaktion für *In-vitro*-Transkripte und Zellen pro Reaktion für Zelllinien

Präzision des Assays

Die Präzision des Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assays wurde in zwei Studien anhand des gleichen, aus 24 Proben bestehenden Panels bewertet. Studie 1 wurde an 3 externen Testzentren durchgeführt und diente dazu, die Reproduzierbarkeit des Assays zu ermitteln. Studie 2 wurde intern durchgeführt und diente dazu, die Präzision innerhalb des Labors zu ermitteln. Das Panel bestand aus 17 für HPV 16 und/oder 18/45 positiven Proben mit Konzentrationen an oder über der Nachweisgrenze des Assays (erwartete Positivität: $\geq 95\%$), 3 für HPV 16 und/oder 18/45 positiven Proben mit Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze des Assays (erwartete Positivität: $> 0\%$ bis $< 25\%$), sowie 4 für HPV negativen Proben. Für HPV 16 und/oder 18/45 positive Panelproben wurden durch Zusatz von *In-vitro*-Transkripten oder HPV-infizierten Kulturzellen (SiHa, HeLa und MS751; ATCC, Manassas, Virginia [USA]) zu gepoolten ThinPrep flüssigen Zytologie-Restproben oder durch Verdünnung von klinischen Patientenproben mit HPV 16, 18 und/oder 45 in gepoolten ThinPrep flüssigen Zytologie-Restproben präpariert. HPV-negative Panelproben wurden mit gepoolten ThinPrep flüssigen Zytologieproben oder PreservCyt-Lösung präpariert.

In Studie 1 führten jeweils 2 Anwender an den 3 Testzentren (1 Gerät pro Zentrum) im Verlauf von 3 Tagen pro Tag 2 Arbeitslisten mit dem Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay durch. Die Tests wurden mit zwei Reagenzienchargen durchgeführt. In jeder Arbeitsliste waren für jede Probe im Reproduzierbarkeitspanel 3 Replikate enthalten. Für jede Panelprobe wurden 108 einzelne Probenröhrchen getestet (3 Zentren x 1 Gerät x 2 Anwender x 2 Chargen x 3 Tage x 3 Replikate). In Studie 2 wurden die Tests intern im Verlauf von 13 Tagen durchgeführt, und zwar mit insgesamt 162 getesteten Reaktionen für jede Panelprobe (1 Zentrum x 3 Geräte x 3 Anwender x 3 Chargen x 2 Arbeitslisten x 3 Replikate).

Die Panelproben werden in Tabelle 40a und Tabelle 40b beschrieben, ebenso eine Zusammenfassung zur Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen für HPV 16 bzw. HPV 18/45.

Tabelle 40a: Präzisionsstudie 1 und 2 zum Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Panelbeschreibung und prozentuale Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen für HPV 16

Panelbeschreibung (Kopien oder Zellen/Reaktion)	Erwartetes Ergebnis für HPV 16	Prozentuale Übereinstimmung (95% VI)	
		Studie 1 (3 Testzentren)	Studie 2 (1 Testzentrum)
HPV 16 IVT (240 Kopien)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (260 Kopien)	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (350 Kopien)	Negativ	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HPV 16, klinische Probe 1	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45, klinische Probe 1	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa-Zellen (4 Zellen) und HeLa-Zellen (0,7 Zellen)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-Zellen (0,4 Zellen) und HeLa-Zellen (7 Zellen)	Positiv	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
SiHa-Zellen (0,4 Zellen)	Positiv	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
HeLa-Zellen (0,7 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-Zellen (0,2 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (158/159) (96,5, 99,9)
HPV 16 IVT (24 Kopien)	Positiv	100 (107/107) (96,5, 100)	96,9 (157/162) (93,2, 98,7)
HPV 18 IVT (26 Kopien)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (35 Kopien)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16, klinische Probe 2	Positiv	98,1 (105/107) (93,4, 99,5)	98,8 (160/162) (95,7, 99,7)
HPV 16, klinische Probe 3	Positiv	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
HPV 18/45, klinische Probe 2	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45, klinische Probe 3	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-Zellen (0,001 Zellen)	Negativ	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (158/161) (94,8, 99,4)
HeLa-Zellen (0,001 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-Zellen (0,006 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negative klinische Probe 1	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negative klinische Probe 2	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ PreservCyt 1	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ PreservCyt 2	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

VI = Score-Vertrauensintervall

Hinweis: Die prozentuale Übereinstimmung wurde eventuell durch Variationen bei der Beimischung, Verdünnung und/oder Aliquotierung beeinträchtigt.

Tabelle 40b: Präzisionsstudie 1 und 2 zum Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: Panelbeschreibung und prozentuale Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen für HPV 18/45

Panelbeschreibung (Kopien oder Zellen/Reaktion)	Prozentuale Übereinstimmung (95% VI)		
	Erwartetes Ergebnis für HPV 18/45	Studie 1 (3 Testzentren)	Studie 2 (1 Testzentrum)
HPV 16 IVT (240 Kopien)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (260 Kopien)	Positiv	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (350 Kopien)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16, klinische Probe 1	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45, klinische Probe 1	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
SiHa-Zellen (4 Zellen) und HeLa-Zellen (0,7 Zellen)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-Zellen (0,4 Zellen) und HeLa-Zellen (7 Zellen)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-Zellen (0,4 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
HeLa-Zellen (0,7 Zellen)	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-Zellen (0,2 Zellen)	Positiv	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	88,7 (141/159) (84,5, 93,5)
HPV 16 IVT (24 Kopien)	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (26 Kopien)	Positiv	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 45 IVT (35 Kopien)	Positiv	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
HPV 16, klinische Probe 2	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16, klinische Probe 3	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18/45, klinische Probe 2	Positiv	100 (107/107) (96,5, 100)	95,7 (155/162) (91,7, 98,0)
HPV 18/45, klinische Probe 3	Positiv	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
SiHa-Zellen (0,001 Zellen)	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
HeLa-Zellen (0,001 Zellen)	Negativ	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
MS751-Zellen (0,006 Zellen)	Negativ	75,0 (81/108) (66,1, 82,2)	88,3 (143/162) (84,2, 93,2)
HPV-negative klinische Probe 1	Negativ	99,1 (106/107) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negative klinische Probe 2	Negativ	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ PreservCyt 1	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-negativ PreservCyt 2	Negativ	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

VI = Score-Vertrauensintervall

Hinweis: Die prozentuale Übereinstimmung wurde eventuell durch Variationen bei der Beimischung, Verdünnung und/oder Aliquotierung beeinträchtigt.

Kreuzreaktivität

Tests mit potenziell kreuzreagierenden Organismen für den Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay wurden mit dem Tigris DTS System durchgeführt. Die Ergebnisse finden Sie unter *Kreuzreaktivität* (Tabelle 20) im Abschnitt zum Tigris DTS System.

Interferenz

Tests mit potenziell interferierenden Substanzen für den Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay wurden mit dem Tigris DTS System durchgeführt. Die Ergebnisse gehen aus *Interferenz* (Tabelle 21) im Abschnitt zum Tigris DTS System hervor.

Bibliographie

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



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Kundensupport: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com
Technischer Kundendienst: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Weitere Kontaktinformationen finden Sie unter www.hologic.com.

Dieses Produkt ist nur zur Verwendung im Bereich der *In-vitro*-Diagnostik beim Menschen bestimmt.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, PreservCyt, ThinPrep und Tigris sind Marken oder eingetragene Marken von Hologic, Inc. und/oder seinen Tochterunternehmen in den Vereinigten Staaten und/oder anderen Ländern.

RAININ ist eine Marke von Rainin Instruments, LLC.

SUREPATH und PREPSTAIN sind Marken von TriPath Imaging, Inc.

Alle anderen Marken, die möglicherweise in dieser Packungsbeilage erscheinen, gehören dem jeweiligen Eigentümer.

Dieses Produkt ist ggf. von mindestens einem US-Patent geschützt (siehe www.hologic.com/patents).

© 2007-2019 Hologic, Inc. Alle Rechte vorbehalten.
AW-11504-801 Rev. 010

2019-06