

# Aptima HPV Assay

*In-vitro*-Diagnostikum.  
Nur für den US-Export.

<b>Allgemeine Informationen</b> .....	<b>2</b>
Verwendungszweck .....	2
Zusammenfassung und Testerklärung .....	2
Testprinzip .....	3
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen .....	4
Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien .....	6
Probenentnahme und -lagerung .....	7
<b>Qualitätskontrollverfahren</b> .....	<b>21</b>
<b>Testauswertung</b> .....	<b>22</b>
<b>Einschränkungen</b> .....	<b>23</b>
<b>Erwartete Ergebnisse auf dem Tigris DTS System: Prävalenz von High-Risk-HPV-mRNA</b> .....	<b>25</b>
<b>Klinisches Studiendesign für den Aptima HPV Assay mit ThinPrep Flüssig-Zytologieproben</b> .....	<b>26</b>
<b>Leistung des Assays auf dem Tigris DTS System</b> .....	<b>28</b>
<b>Erwartete Ergebnisse auf dem Panther System: Prävalenz von High-Risk-HPV-mRNA</b> .....	<b>57</b>
<b>Design der klinischen Studie zum Aptima HPV Assay mit ThinPrep Flüssig-Zytologieproben</b> .....	<b>58</b>
<b>Leistung des Assays auf dem Panther System</b> .....	<b>61</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>85</b>

**Tigris™ DTS System**

<b>Tigris DTS System</b> .....	<b>9</b>
Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien .....	9
Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien .....	10
Optionale Materialien .....	11
<b>Testverfahren mit dem Tigris DTS System</b> .....	<b>11</b>
Verfahrenshinweise .....	14

**Panther™ System**

<b>Panther System</b> .....	<b>15</b>
Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien ...	15
Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien .....	16
Optionale Materialien .....	16
<b>Testverfahren mit dem Panther System</b> .....	<b>17</b>
Verfahrenshinweise .....	19

## Allgemeine Informationen

### Verwendungszweck

Der Aptima HPV Assay ist ein Targetamplifikationstest mithilfe von Nukleinsäuresonden zum qualitativen *In-vitro*-Nachweis von viraler E6/E7-Boten-RNA (messenger RNA, mRNA) von 14 Hochrisiko-Typen des Human-Papillomavirus (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). Der Aptima HPV Assay unterscheidet nicht zwischen den 14 Hochrisikotypen.

- Der Aptima HPV Assay ist für die Untersuchung von Patienten mit Pap-Testergebnis ASC-US (atypical squamous cells of undetermined significance, nicht eindeutig klassifizierbare plattenepitheliale Zellveränderungen) indiziert, um zu bestimmen, ob eine Überweisung zur Kolposkopie nötig ist. Die Ergebnisse dieses Tests sollen Frauen nicht davon abhalten eine Kolposkopie durchführen zu lassen.
- Der Aptima HPV Assay kann in Verbindung mit der Zervixzytologie ergänzend eingesetzt werden (Co-Testung), um das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von Hochrisiko-HPV-Typen zu bestimmen. Diese Information kann zusammen mit der vom Arzt durchgeführten Bewertung der zytologischen Historie, anderer Risikofaktoren und fachspezifischen Leitlinien als Grundlage für Therapieentscheidungen genutzt werden.
- Der Aptima HPV Assay kann als Erstlinien-Test für das primäre Screening mit oder ohne Zervixzytologie eingesetzt werden, um Frauen mit erhöhtem Risiko für die Entwicklung eines Zervixkarzinoms oder das Vorhandensein hochgradiger Krebsvorstufen zu identifizieren. Diese Information kann zusammen mit der vom Arzt durchgeführten Bewertung der zytologischen Historie, anderer Risikofaktoren und fachspezifischen Leitlinien als Grundlage für Therapieentscheidungen genutzt werden.

Mit dem Aptima HPV Assay können zervikale Abstrichproben, die in PreservCyt Lösung enthaltene ThinPrep Pap Test Probengefäßen gesammelt wurden, sowohl vor als auch nach der Pap-Aufarbeitung, sowie mit dem Aptima Zervixprobenentnahme- und Transportkit entnommene zervikale Proben getestet werden. Der Assay kann für Tests an diesen Probentypen auf den Direct Tube Sampling (DTS) Systemen, dem Tigris DTS System oder dem Panther System eingesetzt werden. Zervixproben, die in SurePath Konservierungsflüssigkeit gesammelt wurden, können mit dem Aptima HPV Assay auf dem Tigris DTS System und dem Panther System getestet werden.

### 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.<sup>1, 2, 3</sup> HPV ist ein weit verbreitetes, sexuell übertragenes DNA-Virus mit mehr als 100 Genotypen.<sup>4</sup>

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 Onkogene. 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.<sup>5, 6</sup>

14 HPV-Genotypen werden als pathogene oder Hochrisiko-Genotypen für Zervixerkrankungen angesehen.<sup>7</sup> 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.<sup>2, 5, 8</sup>

Patientinnen, die an persistierenden Infektionen durch einen dieser Typen leiden, sind einem erhöhten Risiko einer schweren Dysplasie oder eines Zervixkarzinoms ausgesetzt.<sup>7, 9</sup>

HPV-Infektionen sind sehr häufig, und bei den meisten Patientinnen heilen HPV-Infektionen innerhalb von 6 bis 12 Monaten aus.<sup>8, 10</sup> Das Vorhandensein von HPV-Nukleinsäure bedeutet nicht, dass eine Zervixdysplasie oder ein Zervixkarzinom vorliegt. Jedoch zielt ein wirksamer Ansatz für den Nachweis einer zervikalen Erkrankung auf die onkogenen Elemente des HPV ab, die eine persistierende Vireninfektion und Zelltransformation fördern.<sup>3</sup>

### **Klinische Leistung des Aptima HPV Assays im Zervixkarzinom-Primärscreening**

Die klinische Leistung des Aptima HPV Assays beim Einsatz im Primärscreening wurde durch unabhängige Wissenschaftler in zahlreichen Studien untersucht. 13 von Experten begutachtete Publikationen<sup>11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23</sup> aus zehn verschiedenen klinischen Studien berichten über die Leistung von Aptima HPV im Primärscreening von Frauen, die in neun verschiedenen Ländern in Studien eingeschlossen waren (China, Kanada, Frankreich, Mexiko, England, Dänemark, Holland, USA und Deutschland). Die Daten dieser Studien zeigen, dass die klinische Leistung von Aptima HPV beim Einsatz im Primärscreening auf zervikale Krebsvorstufen und Karzinomen mit der Leistung anderer klinisch validierter HPV-Tests vergleichbar ist.

### **Testprinzip**

Der Aptima HPV Assay umfasst drei Hauptschritte, die in einem einzigen Röhrchen ablaufen: Target Capture, Amplifikation der Zielsequenzen mittels transkriptionsvermittelter Amplifikation (Transcription-Mediated Amplification, TMA)<sup>24</sup> und Detektion der Amplifikationsprodukte (Amplikons) durch den Hybridisierungsschutzassay (Hybridization Protection Assay, HPA).<sup>25</sup> 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 einer Probentransportlösung (Specimen Transport Media, STM), die 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 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 Relative Lichteinheiten (Relative Light Unit (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. Das Signal der IC (internen Kontrolle) in jeder Reaktion wird anhand der unterschiedlichen Kinetik der Lichtemission von Sonden mit verschiedenen Markierungen vom HPV-Signal unterschieden.<sup>26</sup> Für die IC (interne Kontrolle) spezifisches Amplikon wird mit Sonden mit einer schnellen Lichtemission (Flasher) detektiert. Ein HPV-spezifisches Amplikon wird mit Sonden mit einer relativ langsameren Kinetik der Lichtemission (Glower) detektiert. Der Dual Kinetic Assay (DKA) ist ein Verfahren, das zur Unterscheidung zwischen Signalen der Flasher- und Glower-Markierungen eingesetzt wird.<sup>26</sup>

## Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- A. *In-vitro*-Diagnostikum.
- B. Weitere spezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen entnehmen Sie bitte den Bedienungsanleitungen für das Tigris DTS System und das Panther System (Tigris DTS System und Panther System Operator's Manuals).

## Laborbezogen

- C. Nur die im Lieferumfang enthaltenen oder angegebenen Einweg-Laborprodukte verwenden.
- D. 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.
- E. **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.
- F. Arbeitsflächen, Pipetten und andere Geräte müssen regelmäßig mit einer 2,5%igen bis 3,5%igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung dekontaminiert werden. Weitere Informationen entnehmen Sie bitte den Abschnitten *Testverfahren mit dem Tigris DTS System* oder *Testverfahren mit dem Panther DTS System*.

## Probenbezogen



- G. 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.

- H. 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.
- I. 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.
- J. 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.
- K. Nach der Durchstechung kann unter bestimmten Bedingungen aus den Kappen der Röhrchen Flüssigkeit auslaufen. Weitere Informationen entnehmen Sie bitte den Abschnitten *Testverfahren mit dem Tigris DTS System* oder *Testverfahren mit dem Panther DTS System*.
- L. Befindet sich eine Entnahmevorrichtung im Probenröhrchen, sollten ThinPrep Flüssig-Zytologieproben und Zervixprobenentnahme- und Transportproben (Cervical Specimen Collection and Transport bzw. CSCT-Proben) abgelehnt werden.
- M. Befindet sich im Fläschchen keine Entnahmevorrichtung, müssen SurePath Flüssig-Zytologieproben abgelehnt werden.

### Assaybezogen

- N. Die Reagenzien müssen bei den angegebenen Temperaturen gelagert werden. Die Assayleistung kann durch Verwendung von falsch gelagerten Reagenzien beeinträchtigt sein.
- O. Eine mikrobielle und Ribonuklease-Kontamination der Reagenzien vermeiden.
- P. Kits nicht nach dem Verfallsdatum verwenden.
- Q. Assayreagenzien oder Kalibratoren aus Kits mit verschiedenen Chargennummern nicht austauschen, vermischen oder kombinieren.
- R. Aptima Assay-Flüssigkeiten, Aptima Auto Detect Reagenzien, Aptima System Flüssigkonservierungsmittel (ausschließlich Tigris DTS System) und Aptima HPV Assay-Kontrollen (ausschließlich Tigris DTS System) gehören nicht zur Hauptcharge; eine beliebige Charge kann benutzt werden.
- S. Die Assayreagenzien müssen gründlich vermischt werden, um korrekte Assayergebnisse zu erhalten.
- T. Es müssen Spitzen mit hydrophoben Stöpseln verwendet werden.
- U. 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.hologicsds.com](http://www.hologicsds.com).

<b>EU-Gefahrenkennzeichnung</b>	
	<p><b>Selektionsreagenz</b>  <b>BORSÄURE 1 – 5%</b>            Natriumhydroxid &lt; 1%  <b>ACHTUNG</b>            H315 – Verursacht Hautreizungen            H319 – Verursacht schwere Augenreizung</p>
	<p><b>Target-Capture-Reagenz</b>  <b>EDETINSÄURE 1 – 5%</b>            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-Amplifikationsreagenz.
- HPV-Enzymreagenz.
- HPV-Sondenreagenz.
- Internes HPV-Kontrollreagenz.
- HPV-Positivkalibratoren und -Negativkalibratoren.
- HPV-Positivkontrollen und -Negativkontrollen (nur für Tigris DTS System).

B. Die folgenden Reagenzien sind bei 15 °C bis 30 °C (Raumtemperatur) zu lagern:

- HPV-Amplifikationsrekonstitutionslösung.
- HPV-Enzymrekonstitutionslösung.
- HPV-Sondenrekonstitutionslösung.
- HPV-Target-Capture-Reagenz.
- HPV-Selektionsreagenz.
- Waschlösung.
- Ölreagenz.
- Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit.
- Auto Detect Reagenz 1.
- Auto-Detect Reagenz 2.
- Aptima Konservierungsmittel für Systemflüssigkeit (nur für Tigris DTS System).

C. Nach der Rekonstitution sind die folgenden Reagenzien bei Lagerung bei 2 °C bis 8 °C 30 Tage lang stabil:

- HPV-Amplifikationsreagenz.
- HPV-Enzymreagenz.
- HPV-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 Assayreagenzien haben eine Haltbarkeit von 48 Stunden (kumulativ) im System.
- G. Im Panther System aufbewahrte Aptima HPV Assayreagenzien 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 das Aptima Probentransferröhrchen gemäß den Anweisungen in der Packungsbeilage des Aptima Probentransferkits.

#### *Aptima Zervixprobenentnahme- und Transportkit-Proben.*

Entnehmen Sie die Probe gemäß der Gebrauchsanweisung für das Aptima CSCT Kit.

### B. Probentransport 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 Flüssig-Zytologieprobe bzw. die in Probenentransferröhrchen verdünnten ThinPrep Flüssig-Zytologieproben bis zu 24 Monate bei -20 °C oder darunter 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 Probenentransferröhrchen transferiert werden.
3. Vor dem Überführen sind SurePath Flüssig-Zytologieproben bei 2 °C bis 25 °C zu lagern.
4. SurePath Flüssig-Zytologieproben, die in ein Aptima Probenentransferröhrchen transferiert wurden, können bis zu 7 Tage lang bei 2 °C bis 25 °C gelagert werden.

*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 oder darunter gelagert werden.

C. Behandlung der SurePath Flüssig-Zytologieproben:

**Hinweis:** Vor dem Test mit dem Aptima HPV Assay müssen SurePath Flüssig-Zytologieproben mit der Aptima Transferlösung behandelt werden.

1. Aptima Transferlösung

Behandelte Proben können vor dem Test mit dem Aptima HPV Assay bis zu 17 Tage lang bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Weitere Details finden Sie in der Packungsbeilage des Aptima Probenentransferkits.

D. 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 RCF (relative Zentrifugalkraft) zentrifugiert werden, um die gesamte Flüssigkeit zum Boden des Röhrchens zu bringen.

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



## Tigris DTS System

Die Reagenzien für den Aptima HPV Assay auf dem Tigris DTS System sind unten aufgeführt. Die Symbole zur Identifikation der Reagenzien sind neben dem Reagenznamen angegeben.

### Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien

**Aptima HPV Assay-Kit**, 250 Tests, Bestellnr. 302611 (4 Schachteln).

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

#### Aptima HPV, gekühlte Schachtel (Lagerung bei 2 °C bis 8 °C nach Empfang)

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

#### Aptima HPV, Raumtemperatur-Schachtel (Lagerung bei 15 °C bis 30 °C nach Empfang)

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

**Schachtel mit Aptima HPV Kalibratoren (Bestellnr. 302554)**  
(Lagerung bei 2 °C bis 8 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
<b>PCAL</b>	<b>HPV-Positivkalibrator</b> <i>Nicht infektiöses In-vitro-Transkript von HPV 16 mit 1.000 Kopien pro ml in gepufferter Lösung mit &lt; 5% Detergens.</i>	5 Fläschchen
<b>NCAL</b>	<b>HPV-Negativkalibrator</b> <i>Gepufferte Lösung mit &lt; 5% Detergens.</i>	5 Fläschchen

**Schachtel mit Aptima HPV Kontrollen (Bestellnr. 302556)**  
(Lagerung bei 2 °C bis 8 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
<b>PC</b>	<b>HPV-Positivkontrolle</b> <i>Lysierte, inaktivierte HPV-negative und HPV-positive kultivierte Zellen mit 25 Zellen pro ml in gepufferter Lösung mit &lt; 5% Detergens.</i>	5 Fläschchen
<b>NC</b>	<b>HPV-Negativkontrolle</b> <i>Lysierte, inaktivierte HPV-negative kultivierte Zellen in gepufferter Lösung mit &lt; 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
Aptima Assayflüssigkeitskit <i>(Aptima Waschlösung, Aptima Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit und Aptima Ölreagenz)</i>	302382
Aptima Auto Detect Kit	301048
Aptima System Fluid Preservative Kit (Konservierungsmittel-Kit für Systemflüssigkeit)	302380
Spitzen, 1.000 µL, leitfähig, zur Flüssigkeitsstandmessung	10612513 (Tecan)
Tigris DTS System Durchlaufkit <i>Multi-Röhrchen-Einheiten (Multi-tube Units, MTU)</i>	301191
<i>MTU-/Spitzen-Entsorgungsbeutel</i>	104772-02
<i>MTU-Abfalldeflektoren</i>	900907
<i>MTU-Abfallabdeckungen</i>	900931
	105523
Aptima Probentransferkit	301154C
Aptima Zervixprobenentnahme- und Transportkit	302657
Aptima durchlässige Kappen	105668
Ersatzkappen, undurchlässig	103036A
Ersatzkappen für die Rekonstitutionslösungen für Amplifikations- und Sondenreagenz	CL0041
Ersatzkappen für die Rekonstitutionslösung für Enzymreagenz	501616
Ersatzkappen für TCR und Selektionsreagenz	CL0040

Bleichmittel, mindestens 5%ige (0,7 M) Natriumhypochloritlösung	—
Wasser für das Tigris DTS System	—
<i>Spezifikationen bitte der Bedienungsanleitung für das Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual) entnehmen</i>	
Einweghandschuhe	—
Aptima Transferlösungskit (ausschließlich 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 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.

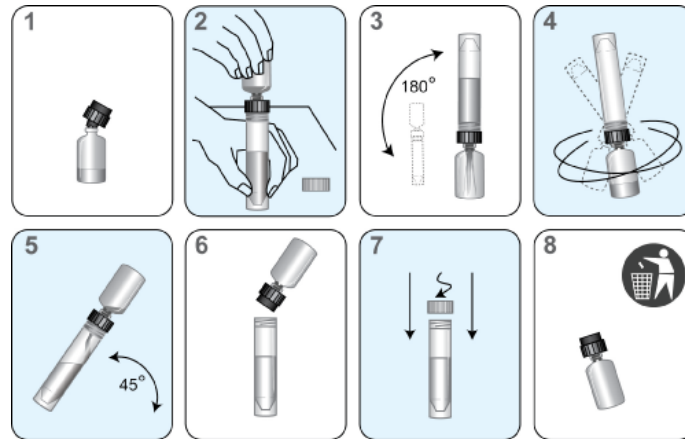
### B. Vorbereitung von Reagenzien eines neuen Kits.

**Hinweis:** Die Reagenzrekonstitution sollte vor Beginn von Arbeiten mit dem 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. Stellen Sie vor Anbringung des Rekonstitutionsverbindungsstücks sicher, dass die Rekonstitutionslösung und das gefriergetrocknete Reagenz übereinstimmende Etikettenfarben 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 (Abb. 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. 1, Schritt 2).
  - f. Drehen Sie die zusammengefügt Flaschen langsam um. Lassen Sie die Lösung aus der Flasche in das Glasfläschchen ablaufen (Abb. 1, Schritt 3).

- g. Mischen Sie die Lösung in der Flasche durch behutsames Schwenken. Vermeiden Sie Schaumbildung beim Schwenken der Flasche (Abb. 1, Schritt 4).
- h. Warten Sie, bis sich das gefriergetrocknete Reagenz aufgelöst hat, und drehen Sie dann die zusammengefügteten Flaschen erneut um. Ein Neigungswinkel von 45 °C ermöglicht, die Schaumbildung auf ein Mindestmaß zu beschränken (Abb. 1, Schritt 5). Lassen Sie die gesamte Flüssigkeit in die Plastikflasche zurücklaufen.
- i. Entfernen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und das Glasfläschchen (Abb. 1, Schritt 6).
- j. Verschließen Sie die Plastikflasche wieder. Beschriften Sie alle Fläschchen mit rekonstituierten Reagenzien mit den Initialen des Bedieners und dem Rekonstitutionsdatum (Abb. 1, Schritt 7).
- k. Verwerfen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und das Glasfläschchen (Abb. 1, Schritt 8).

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



**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 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  $60\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ , 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 ( $15\text{ °C}$  bis  $30\text{ °C}$ ) 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  $60\text{ °C}$ . 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  $42\text{ °C}$  bis  $60\text{ °C}$ . 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  $60\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ , 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 Kalibratoren, Kontrollen und Proben vor der Bearbeitung auf Raumtemperatur kommen.
2. **Proben nicht mit dem Vortex-Mischer mischen.**
3. SurePath Flüssig-Zytologieproben müssen vor dem Test mit dem Aptima HPV Assay gemäß den Anweisungen in *Probenentnahme und -lagerung* Abschnitt C mit Proteinase K behandelt werden.
4. Prüfen Sie die Probenröhrchen vor dem Laden in den 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 4 kann aus dem Probenröhrchendeckel Flüssigkeit auslaufen.

E. Vorbereitung des Systems:

Richten Sie das Gerät und die Arbeitsliste nach der Anweisung in der Bedienungsanleitung für das Tigris DTS System (*Tigris DTS System Operator's Manual*) und dem folgenden Abschnitt *Verfahrenshinweise* ein.

## Verfahrenshinweise

### A. Kalibratoren:

1. Jede Arbeitsliste muss 3 Replikate des Negativkalibrators und des Positivkalibrators enthalten. Für eine ordnungsgemäße Funktion mit der Aptima HPV Assay Software muss sich der Negativkalibrator in der ersten Röhrenposition des ersten Ständers der Arbeitsliste und der Positivkalibrator in der zweiten Röhrenposition des ersten Ständers der Arbeitsliste befinden.
2. Wenn versucht wird, mehr als drei Replikate aus einem Kalibratorröhrchen zu pipettieren, kann es zu Fehlern aufgrund unzureichender Mengen kommen.

### B. Kontrollen:

1. Für die Aptima HPV Assay Software sind Kontrollen am Anfang und am Ende des Durchlaufs erforderlich. Die Negativkontrolle muss sich in der dritten Röhrenposition des ersten Ständers und der zweitletzten Röhrenposition des letzten Ständers der Arbeitsliste befinden. Die Positivkontrolle muss sich in der vierten Röhrenposition des ersten Ständers und der letzten Röhrenposition des letzten Ständers der Arbeitsliste befinden.
2. Wenn versucht wird, mehr als einmal aus einem Kontrollenröhrchen zu pipettieren, kann es zu Fehlern aufgrund unzureichender Mengen kommen.

### C. Temperatur.

Raumtemperatur ist definiert als 15 °C bis 30 °C.

### D. Handschuhpuder.

Wie in jedem Reagenzsystem kann übermäßiger Puder auf manchen Handschuhen eine Kontamination geöffneter Röhrchen verursachen. Es werden ungepuderte Handschuhe empfohlen.

## Panther System

Die Reagenzien für den Aptima HPV Assay auf dem Panther System sind unten aufgeführt. Die Symbole zur Identifikation der Reagenzien sind neben dem Reagenznamen angegeben.

### Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien

**Aptima HPV Assay**, 250 Tests, Bestellnr. 303093 (3 Schachteln).

**Aptima HPV Assay**, 100 Tests, Bestellnr. 302929 (3 Schachteln).

Kalibratoren sind separat erhältlich. Siehe die Bestellnummern für Einzelpackungen.

#### Aptima HPV, gekühlte Schachtel (Lagerung bei 2 °C bis 8 °C nach Empfang)

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

#### Aptima HPV, Raumtemperatur-Schachtel (Lagerung bei Raumtemperatur, 15 °C bis 30 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
<b>AR</b>	<b>HPV-Amplifikationsrekonstitutionslösung</b> <i>Wässrige Lösung mit Konservierungsmitteln.</i>	1
<b>ER</b>	<b>HPV-Enzymrekonstitutionslösung</b> <i>HEPES-gepufferte Lösung mit oberflächenaktiver Substanz und Glycerol.</i>	1
<b>PR</b>	<b>HPV-Sondenrekonstitutionslösung</b> <i>Sukzinatgepufferte Lösung mit &lt; 5% Detergens.</i>	1
<b>S</b>	<b>HPV-Selektionsreagenz</b> <i>600 mM boratgepufferte Lösung mit oberflächenaktiver Substanz.</i>	1
<b>TCR</b>	<b>HPV-Target-Capture-Reagenz</b> <i>Nicht infektiöse Nukleinsäure in gepufferter Lösung mit Festphase (&lt; 0,5 mg/ml).</i>	1
	<b>Rekonstitutionsverbindungsstücke</b>	3
	<b>Barcode-Blatt für Hauptcharge</b>	1 Blatt

**Schachtel mit Aptima HPV Kalibratoren (Bestellnr. 302554)  
(Lagerung bei 2 °C bis 8 °C nach Empfang)**

Symbol	Komponente	Menge
PCAL	<b>HPV-Positivkalibrator</b> <i>Nicht infektiöses In-vitro-Transkript von HPV 16 mit 1.000 Kopien pro ml in gepufferter Lösung mit &lt; 5% Detergens.</i>	5 Fläschchen
NCAL	<b>HPV-Negativkalibrator</b> <i>Gepufferte Lösung mit &lt; 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>
Panther System	303095
Panther Durchlaufkit	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 (MTUs)</i>	104772-02
<i>Panther Entsorgungsbeutel-Kit</i>	902731
<i>Panther Abfallbehälterabdeckung</i>	504405
Spitzen, 1.000 µL, leitfähig, zur Flüssigkeitsstandmessung	10612513 (Tecan)
Aptima Probentransferkit	301154C
Aptima Zervixprobenentnahme- und Transportkit	302657
Aptima durchlässige Kappen	105668
Ersatzkappen, undurchlässig	103036A
Ersatzkappen für die Kits mit 250 Tests:	
<i>Rekonstitutionslösungen für Amplifikations- und Sondenreagenz</i>	CL0041
<i>Rekonstitutionslösung für Enzymreagenz</i>	501616
<i>TCR und Selektionsreagenz</i>	CL0040
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 (ausschließlich 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.

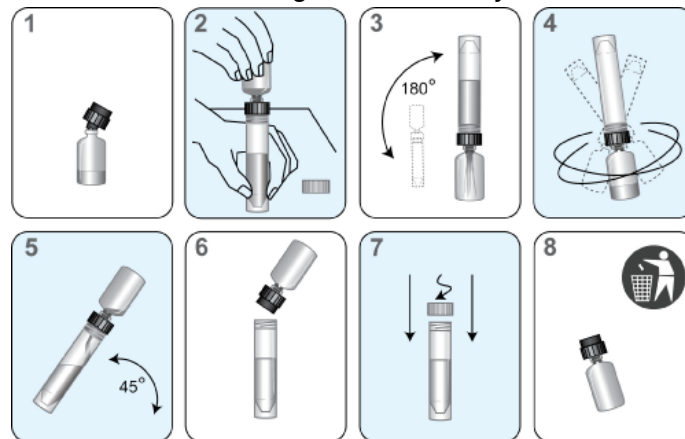
Reinigen Sie die Arbeitsflächen, wo die Reagenzien und Proben vorbereitet werden. Wischen Sie die Arbeitsflächen mit einer 2,5%igen bis 3,5%igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung ab. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung mindestens 1 Minute auf den Flächen einwirken. Spülen Sie sie anschließend 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 (Abb. 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 Flaschenöffnung (Abb. 2, Schritt 2).
  - f. Drehen Sie die zusammengefügt Flaschen langsam um. Lassen Sie die Lösung aus der Flasche in das Glasfläschchen ablaufen (Abb. 2, Schritt 3).
  - g. Mischen Sie die Lösung in der Flasche durch behutsames Schwenken. Vermeiden Sie Schaumbildung beim Schwenken der Flasche (Abb. 2, Schritt 4).
  - h. Warten Sie, bis sich das gefriergetrocknete Reagenz aufgelöst hat, und drehen Sie dann die zusammengefügt Flaschen erneut um. Ein Neigungswinkel von 45 °C ermöglicht, die Schaumbildung auf ein Mindestmaß zu beschränken (Abb. 2, Schritt 5). Lassen Sie die gesamte Flüssigkeit in die Plastikflasche zurücklaufen.
  - i. Entfernen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und das Glasfläschchen (Abb. 2, Schritt 6).
  - j. Verschließen Sie die Plastikflasche wieder. Beschriften Sie alle Fläschchen mit rekonstituierten Reagenzien mit den Initialen des Bedieners und dem Rekonstitutionsdatum (Abb. 2, Schritt 7).
  - k. Entsorgen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und das Fläschchen (Abb. 2, Schritt 8).

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



**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 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 Panther 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 den 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:

1. 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.
2. Laden Sie die Proben.

**Verfahrenshinweise**

## A. Kalibratoren:

1. Um eine korrekte Funktion mit der Aptima HPV Assay-Software auf dem Panther System sicherzustellen, sind drei Replikate des Positivkalibrators und drei Replikate des Negativkalibrators erforderlich. Ein Fläschchen jedes Kalibrators kann in eine beliebige Ständerposition in einer beliebigen Probenfachbahn auf dem Panther System geladen werden. Die Pipettierung der Proben beginnt, wenn eine der folgenden beiden Bedingungen erfüllt ist:
  - a. Das System bearbeitet derzeit einen Positiv- und einen Negativkalibrator.
  - b. Gültige Ergebnisse für die Kalibratoren werden auf dem System registriert.

2. Sobald die Kalibratorröhrchen für ein bestimmtes Reagenzkit 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 aus dem System entfernt wird
    - c. die Haltbarkeit des zugehörigen Assayreagenzienkits überschritten ist.
  3. Wenn versucht wird, mehr als drei Replikate aus einem Kalibratorröhrchen zu pipettieren, kann es zu Bearbeitungsfehlern 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.
- Eine ungültige Negativkontrolle (ausschließlich Tigris DTS System)
- Eine ungültige Positivkontrolle (ausschließlich Tigris DTS System)

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.

<b>Negativkalibrator</b>	
Analyt	$\geq 0$ und $\leq 45.000$ RLU
IC	$\geq 75.000$ und $\leq 400.000$ RLU
<b>Positivkalibrator</b>	
Analyt	$\geq 480.000$ und $\leq 1.850.000$ RLU
IC	$\leq 450.000$ RLU

### C. Berechnung des IC-Grenzwerts.

Der IC-Grenzwert wird anhand des IC-Signals (Flasher-Signal) der gültigen Replikate des Negativkalibrators bestimmt.

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

### D. Berechnung des Analyt-Grenzwerts.

Der Analyt-Grenzwert wird anhand des Analytsignals (Glower-Signal) der gültigen Replikate des Negativkalibrators sowie des Analytsignals der gültigen Replikate des Positivkalibrators bestimmt

$$\text{Analyt-Grenzwert} = \frac{[\text{mittlerer Analyt-RLU-Wert der gültigen Replikate des Negativkalibrators}]}{[0,09 \times \text{mittlerer Analyt-RLU-Wert der gültigen Replikate des Positivkalibrators}]}$$

### E. Berechnung des Verhältnisses von Analytsignal zu Grenzwert (Signal to Cutoff, S/CO).

Der S/CO-Wert des Analyten wird anhand des Analyt-RLU-Werts der Testprobe und des Analyt-Grenzwerts für den Durchlauf bestimmt.

$$\text{Analyt-S/CO} = \frac{\text{Analyt-RLU-Wert der Testprobe}}{\text{Analyt-Grenzwert}}$$

### F. Kontrollen-Annahmekriterien (ausschließlich Tigris DTS System).

Die Negativkontrolle muss ein gültiges negatives (IC-RLU  $\geq$  IC-Grenzwert und Analyt-S/CO  $<$  0,50) Ergebnis haben. Die Positivkontrolle muss ein gültiges positives (Analyt-S/CO  $\geq$  0,50) Ergebnis haben.

## Testauswertung

Die Assay-Ergebnisse werden automatisch von der Assay-Software ermittelt. Ein Testergebnis kann negativ, positiv oder ungültig sein und wird anhand des IC-RLU- und des S/CO-Werts für den Analyten bestimmt. Ein Testergebnis kann auch aufgrund anderer Parameter (abnormaler Verlauf der kinetischen Kurve), die außerhalb der normalen Erwartungswerte liegen, ungültig sein. Anfängliche ungültige Testergebnisse sollten wiederholt werden.

Aptima CSCT Kit-Proben können verdünnt werden, um mögliche Hemmstoffe außer Kraft zu setzen. Verdünnen Sie 1 Teil der ungültigen Proben mit 8 Teilen Probentransportmedium (die Lösung in den CSCT-Kit-Röhrchen); z.B. 560 µL Probe 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 Probe entsprechend dem Standard-Assayverfahren.

**Hinweis:** Eine Mindestmenge von 1,7 ml ist erforderlich, um 1 Teilprobe der Probe zu testen. Verdünnen Sie keine bereits verdünnten ungültigen Proben. Falls eine verdünnte Probe ein ungültiges Ergebnis erzielt, sollte eine neue Probe vom Patienten entnommen werden.

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay	Kriterien
<b>Negativ</b>	<i>Analyt-S/CO &lt; 0,50 IC ≥ IC-Grenzwert IC ≤ 2.000.000 RLU</i>
<b>Positiv</b>	<i>Analyt-S/CO ≥ 0,50 IC ≤ 2.000.000 RLU Analyt ≤ 13.000.000 RLU</i>
<b>Ungültig</b>	<i>IC &gt; 2.000.000 RLU oder Analyt-S/CO &lt; 0,50 und IC &lt; IC-Grenzwert oder Analyt &gt; 13.000.000 RLU</i>

## Einschränkungen

- A. Probentypen, die von den im Verwendungszweck angegebenen abweichen, wurden nicht geprüft.
- B. Die Leistung des Aptima HPV Assays wurde nicht bei Personen geprüft, die gegen HPV geimpft sind.
- C. Der Aptima HPV 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 Testobjektglases für den ThinPrep-Pap-Test weniger als 1 ml enthalten, gelten als unzureichend für den Aptima HPV Assay.
- F. Die Auswirkung einer Entnahme von 1 ml der SurePath Flüssig-Zytologieprobe vor der zytologischen Bearbeitung auf das zytologische Ergebnis wurde nicht geprüft.
- G. Die Testergebnisse können durch eine unsachgemäße Probenentnahme, Lagerung oder Probenbearbeitung beeinträchtigt sein.
- H. Die interne Kontrolle überwacht die Assayschritte Target Capture, Amplifikation und Detektion. Sie ist nicht als Kontrolle für eine ausreichende Zervixprobe vorgesehen.
- I. Ein negatives Ergebnis im Aptima HPV Assay schließt die Möglichkeit zytologischer Anomalien oder einer zukünftigen oder zugrunde liegenden Erkrankung des Schweregrads CIN2, CIN3 oder ein Karzinom nicht aus.
- J. Polyquaternium-15 enthaltende Intimgele können die Assayleistung beeinträchtigen, wenn sie in Konzentrationen von über 0,025% (Vol./Vol. oder Gew./Vol.) in einer Testprobe vorliegen.
- K. Tioconazol enthaltende Antimykotika können die Assayleistung beeinträchtigen, wenn sie in Konzentrationen von über 0,075% (Gew./Vol.) in einer Testprobe vorliegen.
- L. Der Aptima HPV Assay liefert qualitative Ergebnisse. Daher kann keine Korrelation zwischen der Stärke eines positiven Assaysignals und dem mRNA-Expressionsniveau in einer Probe aufgestellt werden.
- M. Die Detektion von Hochrisiko-HPV-mRNA ist abhängig von der Anzahl in der Probe vorhandener Kopien und kann durch Probeentnahmemethoden, Patientenfaktoren, das Infektionsstadium und das Vorhandensein von Störsubstanzen beeinträchtigt werden.
- N. 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.
- O. Die Auswirkungen anderer möglicher Variablen wie Vaginalausfluss, die Verwendung von Tampons, Intimduschen etc. sowie unterschiedliche Probeentnahmemethoden wurden nicht bewertet.

- P. Die Anwendung dieses Produkts muss auf Personen beschränkt werden, die in der Anwendung des Aptima HPV Assays geschult sind.
- Q. Eine Kreuzkontamination von Proben kann zu falschpositiven Ergebnissen führen. Die Verschleppungsrate des Aptima HPV Assays auf dem Tigris DTS System wurde im Rahmen einer nicht klinischen Studie ermittelt und beträgt 0,3%.
- R. Die Ergebnisse des Aptima HPV Assays müssen in Verbindung mit anderen dem Arzt zur Verfügung stehenden Labordaten und klinischen Befunden interpretiert werden.
- S. Bei diesem Test sind falschpositive Ergebnisse möglich. *In-vitro*-Transkripte der Niedrigrisiko-HPV-Genotypen 26, 67, 70 und 82 wiesen eine Kreuzreaktivität mit dem Aptima HPV Assay auf.
- T. Das Material der Positivkontrolle dient nicht der Leistungsüberwachung am Grenzwert für den Assay.



## 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.<sup>32,33</sup> 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. Frauen 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.<sup>34</sup> Die im Rahmen der klinischen Studie beobachtete Prävalenz von HPV-mRNA-positiven Proben wurde im Gesamten, nach Altersgruppe und nach Prüfstelle kategorisiert. Die Ergebnisse bei Kollektiven mit nicht klassifizierbaren Plattenepithelien (Atypical Squamous Cells of Underdetermined Significance, ASC-US) und mit negativen Ergebnissen hinsichtlich einer intraepithelialen Läsion oder einer Malignität (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM) gehen aus Tabelle 1 hervor.

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

	Positivitätsrate% (x/n)	
	ASC-US-Kollektiv (≥ 21 Jahre)	NILM-Kollektiv (≥ 30 Jahre)
<b>Alle</b>	41,8 (400/958)	5,0 (540/10.871)
<b>Altersgruppe (Jahre)</b>		
<b>21 bis 29</b>	60,3 (252/418)	N. zutr.
<b>30 bis 39</b>	36,8 (98/266)	6,9 (289/4199)
<b>≥ 40</b>	18,2 (50/274)	3,8 (251/6672)
<b>Prüfstelle</b>		
<b>1</b>	41,6 (134/322)	4,7 (172/3682)
<b>2</b>	41,4 (150/362)	5,2 (194/3702)
<b>3</b>	42,3 (116/274)	5,0 (174/3487)

N. zutr. – Nicht zutreffend

## **Klinisches Studiendesign für den Aptima HPV Assay mit ThinPrep Flüssig-Zytologieproben**

Eine prospektive, multizentrische klinische Studie in den USA, die sogenannte CLEAR-Studie, wurde zur Ermittlung der klinischen Leistung des Aptima HPV Assays für den Nachweis einer zervikalen intraepithelialen Neoplasie vom Schweregrad 2 oder einer Zervixerkrankung höheren Grades ( $\geq$  CIN2) durchgeführt. Die CLEAR-Studie beinhaltete eine Untersuchung zu Studienbeginn (Baseline Evaluierung) sowie eine dreijährige Nachsorgephase (Follow-up Evaluierung).<sup>34</sup>

### **CLEAR-Studie – Untersuchung zu Studienbeginn (Baseline Evaluierung)**

Die Frauen wurden zu Beginn der CLEAR-Studie (Baseline-Phase) abhängig von den Zytologieergebnissen 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. Die NILM-Studie war darauf ausgelegt, die Forderung nach ergänzendem Screening für Frauen ab 30 Jahren zu unterstützen, da sich Frauen in diesem Altersbereich mit zytologischen Befunden höheren Grades als eines ASC-US unabhängig von ihrem HPV-Status einer eingehenderen Untersuchung in Form einer Kolposkopie unterziehen sollten.<sup>35</sup>

Es wurden Frauen von 18 klinischen Prüfstellen, vorwiegend Kliniken für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, die eine breitgefächerte geografische Streuung und ein differenziertes Kollektiv abdeckten, eingeschlossen. Geeignete Frauen wurden abhängig von den ThinPrep flüssigkeitsbasierten Zytologie-Überweisungsproben der ASC-US-Studie oder der NILM-Studie zugeteilt. Verbliebene Überweisungsproben von Frauen der ASC-US-Studie und der NILM-Studie wurden zu Beginn (Baseline) sowohl mit dem Aptima HPV Assay als auch mit einem kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test getestet.

Zu Beginn wurden alle Frauen in der ASC-US-Studie, unabhängig von ihren HPV-Testergebnissen, zur Kolposkopie überwiesen. Es wurden Biopsien mittels endozervikaler Kürettage (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. Die nach dem Zufallsprinzip ausgewählten Frauen mit negativen Befunden aus beiden Assays wurden einbezogen, um durch eine berichtigte Leistungsschätzwerte anhand einer Methode der multiplen Imputation einem Verifizierungsbias entgegenzuwirken. 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).

Der Krankheitsstatus wurde anhand eines Konsenspanels zur Histologiebeurteilung, das auf der übereinstimmenden Meinung von mindestens 2 erfahrenen Pathologen beruht, ermittelt. Die Pathologen kannten weder den HPV-Status und den zytologischen Status der Frauen, noch die histologischen Diagnosen des jeweils anderen Pathologen. Bei Nichtübereinstimmung der Pathologen wurden die Präparate an einem Multihead-Diskussionsmikroskop gemeinsam von den drei Pathologen begutachtet um Konsens zu erzielen. Prüffärzte, Klinikärzte und Patientinnen waren gegenüber den HPV-Testergebnissen bis nach der Durchführung der Kolposkopie verblindet, um einen Bias auszuschließen. Zu Beginn wurde die klinische Leistung des Aptima HPV Assays hinsichtlich des Nachweises einer Zervixerkrankung  $\geq$  CIN2 und einer zervikalen intraepithelialen Neoplasie des Grades 3 oder höher ( $\geq$  CIN3) im relativen Verhältnis zum Status der Zervixerkrankung, die bei Studienbeginn festgestellt wurde, bewertet. Die klinische Leistung des kommerziell erhältlichen HPV DNA Test wurde ebenfalls ermittelt, um einen direkten Vergleich mit den Ergebnissen des Aptima HPV Assays zu ermöglichen.

## **CLEAR-Studie – Nachsorgephase (Follow-up Evaluierung)**

Frauen der NILM-Studie aus 14 klinischen Einrichtungen wurden ausgewählt, um an der dreijährigen Nachsorgephase (Follow-up) der Studie teilzunehmen, wenn i) sie bei Studienbeginn eine Kolposkopieuntersuchung hatten und keine Erkrankung  $\geq$  CIN2 festgestellt wurde oder ii) sie keine Kolposkopieuntersuchung zu Studienbeginn hatten. Die Nachsorgephase der Studie bestand aus jährlichen Untersuchungen. Bei diesen Untersuchungen wurden bei jeder Frau Zervixabstriche durchgeführt und manche Frauen wurden mit einem kommerziell erhältlichen HPV-Test getestet. Frauen, die während der Nachsorgephase ASC-US oder schwerwiegendere zytologische Ergebnisse aufwiesen, wurden zur Kolposkopie überwiesen. Bei ihnen wurden dieselben Biopsie- und Histologieverfahren durchgeführt, die auch zur Baseline Evaluierung in der NILM-Studie durchgeführt wurden. Der Status einer Zervixerkrankung bei der Nachsorgeuntersuchung wurde basierend auf der NILM-Zytologie oder bei Frauen mit abweichenden zytologischen Testergebnissen basierend auf normalen oder CIN1 Ergebnissen des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung als „negativ“ eingestuft. Bei Frauen, bei denen in der Nachsorgephase eine Erkrankung  $\geq$  CIN2 festgestellt wurde, wurde die Nachsorge als abgeschlossen betrachtet und sie nahmen nach Befund  $\geq$  CIN2 an keinen weiteren Untersuchungen teil. Bei Frauen, bei denen während der Nachsorgephase keine Erkrankung  $\geq$  CIN2 festgestellt wurde, die aber eine Studienuntersuchung im Nachsorgejahr 1 und/oder Nachsorgejahr 2 hatten und an einer Studienuntersuchung im Nachsorgejahr 3 teilnahmen, wurde die Nachsorge als abgeschlossen betrachtet.

Ziel der Nachsorgeuntersuchung war ein Vergleich des kumulativen 3-Jahres-Risikos für eine Zervixerkrankung bei Frauen mit positivem Aptima HPV Assay-Ergebnis zu Studienbeginn mit dem kumulativen 3-Jahres-Risiko einer Zervixerkrankung bei Frauen mit negativem Aptima HPV Assay-Ergebnis. Der 3-Jahres-Status der Zervixerkrankung wurde wie folgt bestimmt:

- Positiver Status einer Zervixerkrankung ( $\geq$  CIN2 und/oder  $\geq$  CIN3) – Frauen, bei denen eine Erkrankung  $\geq$  CIN2 bei Studienbeginn oder während der Nachsorge festgestellt wurde.
- Negativer Status einer Zervixerkrankung ( $<$  CIN2) – Frauen, die die Nachsorge ohne Diagnose  $\geq$  CIN2 abschlossen haben und deren Status der Zervixerkrankung nicht als „unbestimmt“ eingestuft wurde.
- Unbestimmter Status einer Zervixerkrankung – Frauen mit auffälligem zytologischen Testergebnis während der Nachsorge und ohne nachfolgendes Ergebnis des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung oder Frauen mit einer nicht auswertbaren Zytologie bei ihrer letzten Untersuchung.
- Abbruch der Nachsorge – Frauen, die die Nachsorge nicht abgeschlossen haben und die nicht mit dem Status „unbestimmt“ hinsichtlich einer Zervixerkrankung bewertet wurden.

Die klinische Leistung des Aptima HPV Assays zum Nachweis einer Erkrankung  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 wurde im Verhältnis zum 3-Jahres-Status der Zervixerkrankung evaluiert.

## Leistung des Assays auf dem Tigris DTS System

### ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe $\geq 21$ Jahre: Klinische Leistung des Aptima HPV Assays mit ThinPrep Flüssig-Zytologieproben

Insgesamt wurden 1252 Patientinnen ab 21 Jahren mit zytologischem Befund ASC-US in die ASC-US-Studie eingeschrieben. Davon wurden 294 Patientinnen ausgesondert und 19 hatten einen ungeklärten Krankheitsbefund; diese Patientinnen wurden von der Analyse ausgeschlossen. Die verbleibenden auswertbaren 939 Patientinnen waren 21 Jahre und älter mit zytologischem Befund ASC-US, Aptima HPV Assay-Ergebnissen und aussagekräftigem Krankheitsstatus. Einundneunzig (91) Patientinnen hatten  $\geq$  CIN2 und einundvierzig (41) hatten  $\geq$  CIN3. Die Prävalenz von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 betrug bei den auswertbaren Patientinnen mit zytologischem Befund ASC-US 9,7% bzw. 4,4%. Die Ergebnisse des Aptima HPV Assays nach Diagnose anhand des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung gehen aus Tabelle 2 hervor.

**Tabelle 2:** ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq 21$  Jahre: Ergebnisse des Aptima HPV Assays nach Diagnose anhand des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay*	HPV-DNA-Test	Diagnose anhand des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung						
		Ungeklärt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Krebs	Gesamt
Positiv	Positiv	6	170	113	41	32	1	363
Positiv	Negativ	0	7	0	1	2	0	10
Positiv	Kein Ergebnis***	0	14	11	0	2	0	27
Negativ	Positiv	0	47	13	2	3	0	65
Negativ	Negativ	10	371	55	6	1	0	443
Negativ	Kein Ergebnis***	3	40	7	0	0	0	50
<b>Gesamt</b>		19	649	199	50	40	1****	958

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

\*\*19 Probandinnen 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).

\*\*\*77 Patientinnen mit Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden keine HPV-DNA-Testergebnisse erhalten, hauptsächlich aufgrund unzureichender Menge der Zytologieprobe.

\*\*\*\*Eine Probandin hatte ein Adenocarcinoma in situ (AIS).

Die Schätzwerte der klinischen Leistung des Aptima HPV Assays, einschließlich Sensitivität, positivem prädiktivem Wert (PPV) und negativem prädiktivem Wert (NPV), bezüglich des Nachweises von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 auf Basis der Beurteilung aller Biopsien und unter Einschluss ausschließlich gezielter Biopsien sowie die Schätzwerte für den handelsüblichen HPV DNA-Test gehen aus Tabelle 3 hervor.

**Tabelle 3:** ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe ≥ 21 Jahre: Leistung des Aptima HPV Assays und eines HPV-DNA-Tests für den Nachweis von ≥ CIN2 und ≥ CIN3

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

\*74 Patientinnen mit Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden keine HPV-DNA-Testergebnisse erhalten, hauptsächlich aufgrund unzureichender Menge der Zytologieprobe.

\*\*Übereinstimmende histologische Befunde stammen ausschließlich von gezielten Biopsien. Bei Frauen ohne gezielte Biopsien war der Kolposkopiebefund normal, und diese Frauen sind in diesen Analysen als nicht erkrankt eingeschlossen (< CIN2 bzw. < CIN3). Wenn nur gezielte Biopsien einbezogen waren, konnte nicht immer ein Konsens erzielt werden.

Die Beurteilung aller Biopsien ergab, dass die Schätzwerte der klinischen Sensitivität des Aptima HPV Assays und des kommerziell erhältlichen HPV DNA Test, sofern beide Ergebnisse für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 vorlagen, ähnlich waren (Unterschiede hinsichtlich Sensitivitätsbewertung waren statistisch unerheblich: Sensitivitätsunterschied = 2,3% [95% VI: -9,5%, 4,8%]). Die Schätzwerte der klinischen Spezifität des Aptima HPV Assays für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 waren höher als für den kommerziell erhältlichen HPV DNA Test (Unterschiede bei den Schätzwerte der Spezifität waren statistisch signifikant). Für  $\geq$  CIN2 betrug der Spezifitätsunterschied 6,8% (95% VI: 4,9%, 9,0%). NPVs waren ähnlich, für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 war der PPV für den Aptima HPV Assay jedoch etwas höher als der PPV für den kommerziell erhältlichen HPV DNA Test (20,1% vs. 18,7%).

Von den 91  $\geq$  CIN2-Fällen wurden 60 (65,9%) in gezielten Biopsien identifiziert und 31 (34,1%) wurden zufällig und/oder in ECC-Biopsien identifiziert (d. h., nicht in gezielten Biopsien). Diese Untersuchungsergebnisse sind vergleichbar mit den Ergebnissen aus veröffentlichten Studien, wonach etwa 25% bis 40% der  $\geq$  CIN2-Fälle nur zufällig und/oder durch ECC-Biopsieproben identifiziert wurden.<sup>36,37</sup> Wurden ausschließlich gezielte Biopsien zur Bestimmung des Krankheitsstatus herangezogen (in der Annahme, dass das Histologieergebnis bei Frauen ohne gezielte Biopsie normal ist, da keine sichtbaren Läsionen vorlagen), betrug die Prävalenz von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 im Rahmen der Studie 6,4% bzw. 3,1%. Die Schätzwerte der klinischen Sensitivität für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 waren, wenn ausschließlich gezielte Biopsien verwendet wurden, in beiden Tests höher als wenn zur Berechnung alle Biopsien herangezogen wurden. Für beide Assays war die klinische Spezifität unter ausschließlicher Berücksichtigung von gezielten Biopsien vergleichbar mit der Spezifität unter Berücksichtigung aller Biopsien. Dementsprechend war unter ausschließlicher Berücksichtigung gezielter Biopsien die Spezifität des Aptima HPV Assays signifikant höher als die des kommerziell erhältlichen HPV DNA Tests.

Schätzwerte der klinischen Leistung des Aptima HPV Assays und des kommerziell erhältlichen HPV DNA Tests sind nach Altersgruppe in Tabelle 4 und Tabelle 5 dargestellt ( $\geq$  CIN2 bzw.  $\geq$  CIN3, basierend auf der Bewertung aller Biopsien).

**Tabelle 4:** ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe ≥ 21 Jahre: Leistung des Aptima HPV Assays und eines HPV-DNA-Tests für den Nachweis von ≥ CIN2 nach Altersgruppe

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

\*74 Patientinnen mit Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden keine HPV-DNA-Testergebnisse erhalten, hauptsächlich aufgrund unzureichender Menge der Zytologieprobe.

**Tabelle 5:** ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe ≥ 21 Jahre: Leistung des Aptima HPV Assays und eines HPV-DNA-Tests für den Nachweis von ≥ CIN3 nach Altersgruppe

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

\*74 Patientinnen mit Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden keine HPV-DNA-Testergebnisse erhalten, hauptsächlich aufgrund unzureichender Menge der Zytologieprobe.



Das absolute Erkrankungsrisiko ( $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3, basierend auf der Bewertung aller Biopsien) anhand von Ergebnissen im Aptima HPV Assay und das relative Erkrankungsrisiko bei positivem gegenüber negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay sowie die Schätzwerte für den kommerziell erhältlichen HPV DNA Test gehen aus Tabelle 6 hervor. Das relative Risiko für  $\geq$  CIN2 betrug 9,1 (95% VI: 5,0, 16,5), was darauf hindeutet, dass eine Frau mit positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay mit einer 9,1-fach höheren Wahrscheinlichkeit  $\geq$  CIN2 hat, als eine Frau mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay. Das relative Risiko für  $\geq$  CIN3 betrug 12,8 (95% VI: 4,6, 35,6).

**Tabelle 6:** ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  21 Jahre: Absolutes und relatives Risiko für  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV Assay und einem HPV-DNA-Test

	Testergebnis	Aptima HPV Assay N=939		HPV-DNA-Test N=865*	
		Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
$\geq$ CIN2	Positiv	20,1 (79/394) (18,1, 22,0)	9,1 (5,0, 16,5)	18,7 (79/422) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Negativ	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)		2,3 (10/443) (1,2, 3,8)	
	Prävalenz (%)	9,7 (91/939)		10,3 (89/865)	
$\geq$ CIN3	Positiv	9,4 (37/394) (8,1, 10,4)	12,8 (4,6, 35,6)	8,5 (36/422) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Negativ	0,7 (4/545) (0,2, 1,7)		0,7 (3/443) (0,2, 1,7)	
	Prävalenz (%)	4,4 (41/939)		4,5 (39/865)	

\*74 Patientinnen mit Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden keine HPV-DNA-Testergebnisse erhalten, hauptsächlich aufgrund unzureichender Menge der Zytologieprobe.

Schätzwerte des absoluten und des relativen Erkrankungsrisikos ( $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3, basierend auf der Beurteilung aller Biopsien) für den Aptima HPV Assay und den kommerziell erhältlichem HPV DNA Test sind nach Altersgruppe in Tabelle 7 gezeigt.

**Tabelle 7:** ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  21 Jahre: Absolutes und relatives Risiko für  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV Assay und in einem HPV-DNA-Test nach Altersgruppe

	Alter	Assayergebnis	Aptima HPV Assay N=939		HPV-DNA-Test N=865*	
			Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
$\geq$ CIN2	21 bis 29 Jahre		N=415		N=389	
		Positiv	22,0 (55/250) (19,6, 24,2)	6,1 (2,7, 13,7)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)
		Negativ	3,6 (6/165) (1,5, 7,0)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
	Prävalenz (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)		
	30 bis 39 Jahre		N=262		N=239	
		Positiv	18,9 (18/95) (14,7, 22,7)	15,8 (3,8, 66,7)	16,0 (16/100) (11,8, 19,6)	5,6 (1,9, 16,1)
		Negativ	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
	Prävalenz (%)	7,6 (20/262)		8,4 (20/239)		
	Ab 40 Jahren		N=262		N=237	
Positiv		12,2 (6/49) (5,8, 18,4)	6,5 (1,9, 22,2)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,2)	
Negativ		1,9 (4/213) (0,6, 3,4)		1,6 (3/184) (0,4, 3,4)		
Prävalenz (%)	3,8 (10/262)		4,2 (10/237)			
$\geq$ CIN3	21 bis 29 Jahre		N=415		N=389	
		Positiv	10,4 (26/250) (8,9, 11,4)	17,2 (2,4, 125)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Nicht kalkulierbar
		Negativ	0,6 (1/165) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
	Prävalenz (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)		
	30 bis 39 Jahre		N=262		N=239	
		Positiv	8,4 (8/95) (5,2, 10,4)	14,1 (1,8, 111)	7,0 (7/100) (3,9, 9,1)	4,9 (1,0, 22,9)
		Negativ	0,6 (1/167) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
	Prävalenz (%)	3,4 (9/262)		3,8 (9/239)		
	Ab 40 Jahren		N=262		N=237	
Positiv		6,1 (3/49) (1,6, 10,2)	6,5 (1,1, 38,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,9 (1,6, 122)	
Negativ		0,9 (2/213) (0,1, 2,0)		0,5 (1/184) (0,0, 1,8)		
Prävalenz (%)	1,9 (5/262)		2,1 (5/237)			

\*74 Patientinnen mit Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden keine HPV-DNA-Testergebnisse erhalten, hauptsächlich aufgrund unzureichender Menge der Zytologieprobe.

### NILM-Kollektiv in der Altersgruppe $\geq 30$ Jahre: Klinische Leistung des Aptima HPV Assays mit ThinPrep Flüssig-Zytologieproben zu Studienbeginn

Insgesamt waren 11.644 Patientinnen mit zytologischem Befund NILM in die NILM-Studie eingeschrieben. Davon wurden 773 Patientinnen ausgesondert und von der Untersuchung zu Studienbeginn ausgeschlossen. Die verbliebenen 10.871 auswertbaren Patientinnen waren 30 Jahre oder älter mit zytologischem Befund NILM und einem Ergebnis im Aptima HPV Assay. Von den 540 Patientinnen mit positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay unterzogen sich 335 einer Kolposkopie zu Studienbeginn. Von den 10.331 Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay unterzogen sich 530 einer Kolposkopie. Zwanzig (20) Patientinnen hatten  $\geq$  CIN2 und elf (11) Patientinnen hatten  $\geq$  CIN3; 799 Frauen hatten einen normalen/CIN1-Histologiebefund; 46 Frauen hatten einen ungeklärten Krankheitsstatus. Die Ergebnisse des Aptima HPV Assays nach Diagnose zu Studienbeginn anhand des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung gehen aus Tabelle 8 hervor.

**Tabelle 8:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq 30$  Jahre: Ergebnisse des Aptima HPV Assays und eines HPV DNA Tests anhand der Diagnose des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung zu Studienbeginn

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay*	HPV-DNA-Test	Diagnose anhand des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung						
		Ungeklärt	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Krebs	Gesamt
Positiv	Positiv	11	212	11	4	7	2	247
Positiv	Negativ	7	59	0	1	0	1	68
Positiv	Kein Ergebnis**	3	16	1	0	0	0	20
Negativ	Positiv	10	170	8	2	1	0	191
Negativ	Negativ	15	313	9	1	0	0	338
Negativ	Kein Ergebnis**	0	0	0	1	0	0	1
<b>Gesamt</b>		46	770	29	9	8	3***	865

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

\*\*Bei 21 Patientinnen mit Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden keine HPV-DNA-Testergebnisse erhalten, hauptsächlich aufgrund unzureichender Menge der Zytologieprobe.

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

Insgesamt war der Krankheitsstatus bei 10.052 Patientinnen zu Studienbeginn unbestätigt (bzw. ungeklärt) (Tabelle 9). Da nur nach dem Zufallsprinzip ausgewählte Patientinnen mit negativem Ergebnis sowohl im Aptima HPV Assay als auch im kommerziell erhältlichen 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 819 Patientinnen mit bestätigtem Krankheitsstatus zu Studienbeginn werden sowohl hinsichtlich eines Verifizierungsbias berichtigte als auch unberichtigte Leistungsschätzwerte präsentiert.

**Tabelle 9:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq 30$  Jahre: Klassifizierung von auswertbaren NILM-Patientinnen nach Ergebnis des Aptima HPV Assays und des HPV-DNA-Tests, nach Krankheitsstatus ( $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3) und nach bestätigtem Krankheitsstatus zu Studienbeginn

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay*	HPV-DNA-Test	Patientinnen gesamt	Bestätigter Krankheitsstatus: $\geq$ CIN2		Bestätigter Krankheitsstatus: $\geq$ CIN3		Unbestätigter Krankheitsstatus
			Erkrankte Frauen ( $\geq$ CIN2)	Nicht erkrankte Frauen ( $<$ CIN2)	Erkrankte Frauen ( $\geq$ CIN3)	Nicht erkrankte Frauen ( $<$ CIN3)	Frauen mit unbekanntem Krankheitsstatus (% Unbekannt)
Positiv	Positiv	360	13	223	9	227	124 (34,4%)
Positiv	Negativ	150	2	59	1	60	89 (59,3%)
Positiv	Kein Ergebnis**	30	0	17	0	17	13 (43,3%)
Negativ	Positiv	306	3	178	1	180	125 (40,8%)
Negativ	Negativ	9420	1	322	0	323	9097 (96,6%)
Negativ	Kein Ergebnis**	605	1	0	0	1	604 (99,8%)
<b>Gesamt</b>		10.871	20	799	11	808	10.052 (92,5%)

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

\*\*635 Patientinnen mit Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden keine HPV-DNA-Testergebnisse erhalten, hauptsächlich aufgrund unzureichender Menge der Zytologieprobe.

Die berichtigte Prävalenz von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 bei Patientinnen mit zytologischem Befund NILM betrug 0,9% bzw. 0,4%. Die berichtigten Schätzungen des absoluten und des relativen Risikos für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 zu Studienbeginn sind in Tabelle 10 dargestellt. Das berichtigte relative Risiko für  $\geq$  CIN2 betrug 8,1 (95% VI: 2,3, 28,1), was darauf hindeutet, dass Patientinnen mit positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay mit einer 8,1-fach höheren Wahrscheinlichkeit  $\geq$  CIN2 haben, als Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay. Das berichtigte relative Risiko für  $\geq$  CIN3 betrug 34,5 (95% VI: 2,7, 443,3). Die unberichtigten Schätzungen des absoluten und des relativen Risikos für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 zu Studienbeginn sind im Gesamten in Tabelle 11 und nach Altersgruppe in Tabelle 12 dargestellt.

**Tabelle 10:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  30 Jahre: Absolutes und relatives Risiko für  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV Assay und einem HPV-DNA-Test (hinsichtlich eines Verifizierungsbias berichtigte Schätzungen) zu Studienbeginn

Testergebnis		Aptima HPV Assay		HPV-DNA-Test	
		Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
$\geq$ CIN2	Positiv	4,7 (2,9, 7,6)	8,1 (2,3, 28,1)	3,7 (2,3, 6,0)	7,3 (1,6, 33,4)
	Negativ	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prävalenz (%)	0,9		0,9	
$\geq$ CIN3	Positiv	3,3 (1,4, 7,6)	34,5 (2,7, 443,3)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,4)
	Negativ	0,1 (0,0, 1,6)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prävalenz (%)	0,4		0,4	

**Tabelle 11:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  30 Jahre: Absolutes und relatives Risiko für  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV Assay und einem HPV-DNA-Test (unberichtigte Schätzungen) zu Studienbeginn

Testergebnis		Aptima HPV Assay N=819		HPV-DNA-Test N=801*	
		Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
$\geq$ CIN2	Positiv	4,8 (15/314) (3,4, 5,8)	4,8 (1,8, 13,1)	3,8 (16/417) (2,9, 4,4)	4,9 (1,4, 16,7)
	Negativ	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prävalenz (%)	2,4 (20/819)		2,4 (19/801)	
$\geq$ CIN3	Positiv	3,2 (10/314) (2,2, 3,7)	16,1 (2,1, 125)	2,4 (10/417) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,6)
	Negativ	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prävalenz (%)	1,3 (11/819)		1,4 (11/801)	

\*18 Patientinnen mit Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden keine HPV-DNA-Testergebnisse erhalten, hauptsächlich aufgrund unzureichender Menge der Zytologieprobe.

**Tabelle 12:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq 30$  Jahre: Absolutes und relatives Risiko für  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV Assay und einem HPV-DNA-Test nach Altersgruppe (unberichtigte Schätzungen) zu Studienbeginn

	Alter	Testergebnis	Aptima HPV Assay N=819		HPV-DNA-Test N=801*	
			Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
$\geq$ CIN2	30 bis 39 Jahre		N=384		N=377	
		Positiv	4,8 (8/167) (2,1, 9,2)	10,4 (1,3, 82,3)	3,2 (7/216) (1,3, 6,6)	2,6 (0,5, 12,4)
		Negativ	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		1,2 (2/161) (0,2, 4,4)	
		Prävalenz (%)	2,3 (9/384)		2,4 (9/377)	
	$\geq 40$ Jahre		N=435		N=424	
		Positiv	4,8 (7/147) (1,9, 9,6)	3,4 (1,0, 11,5)	4,5 (9/201) (2,1, 8,3)	10,0 (1,3, 78,1)
		Negativ	1,4 (4/288) (0,4, 3,5)		0,4 (1/223) (0,0, 2,5)	
		Prävalenz (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
$\geq$ CIN3	30 bis 39 Jahre		N=384		N=377	
		Positiv	3,0 (5/167) (1,0, 6,8)	6,5 (0,8, 55,1)	2,3 (5/216) (0,8, 5,3)	3,7 (0,4, 31,6)
		Negativ	0,5 (1/217) (0,0, 2,5)		0,6 (1/161) (0,0, 3,4)	
		Prävalenz (%)	1,6 (6/384)		1,6 (6/377)	
	$\geq 40$ Jahre		N=435		N=424	
		Positiv	3,4 (5/147) (1,1, 7,8)	Nicht kalkulierbar	2,5 (5/201) (0,8, 5,7)	Nicht kalkulierbar
		Negativ	0,0 (0/288) (0,0, 1,3)		0,0 (0/223) (0,0, 1,6)	
		Prävalenz (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

\*18 Patientinnen mit Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden keine HPV-DNA-Testergebnisse erhalten, hauptsächlich aufgrund unzureichender Menge der Zytologieprobe.

Die berichtigten Schätzungen der klinischen Leistung des Aptima HPV Assays, einschließlich Sensitivität, Spezifität, positivem prädiktivem Wert (PPV) und negativem prädiktivem Wert (NPV), für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 sowie die Schätzungen für den kommerziell erhältlichen HPV DNA Test gehen aus Tabelle 13 hervor. Die unberichtigten Schätzungen der klinischen Leistung sind in Tabelle 14 dargestellt. Der Aptima HPV Assay und der im Handel erhältliche HPV-DNA-Test hatten vergleichbare Sensitivität, wohingegen die Spezifität des Aptima HPV Assays signifikant höher war (nicht überlappende 95% VI). Die Schätzungen des prädiktiven Werts für den Aptima HPV Assay waren klinisch relevant und vergleichbar mit den Schätzungen für den kommerziell erhältlichen HPV DNA Test. NPVs waren ähnlich, für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 war der PPV für den Aptima HPV Assay jedoch etwas höher als der PPV für den kommerziell erhältlichen HPV DNA Test (4,7% vs. 3,7%).

**Tabelle 13:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  30 Jahre: Leistung des Aptima HPV Assays und eines HPV-DNA-Tests für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 (hinsichtlich eines Verifizierungsbias berichtigte Schätzwerte) zu Studienbeginn

	Leistung	Aptima HPV Assay		HPV-DNA-Test	
		Bewertung	(95% VI)	Bewertung	(95% VI)
$\geq$ CIN2	Sensitivität (%)	31,0	(5,9, 56,1)	35,4	(3,8, 66,9)
	Spezifität (%)	95,2	(94,8, 95,6)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,7	(2,9, 7,6)	3,7	(2,3, 6,0)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Prävalenz (%)	0,9		0,9	
$\geq$ CIN3	Sensitivität (%)	61,5	(14,0, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Spezifität (%)	95,2	(94,8, 95,6)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,3	(1,4, 7,6)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,4, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prävalenz (%)	0,4		0,4	

**Tabelle 14:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq 30$  Jahre: Leistung des Aptima HPV Assays und eines kommerziell erhältlichen HPV DNA Tests für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 (unberichtigte Schätzwerte) zu Studienbeginn

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

\*18 Patientinnen mit Ergebnis im Aptima HPV Assay wurden keine HPV-DNA-Testergebnisse erhalten, hauptsächlich aufgrund unzureichender Menge der Zytologieprobe.



Der direkte Vergleich des Aptima HPV Assays mit dem kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test zeigt eine vergleichbare Sensitivität und statistisch signifikant bessere Spezifität des Aptima HPV Assays gegenüber dem kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test für den Nachweis von  $\geq$  CIN2. Dies geht aus den Verhältnissen der richtig-positiv Raten gegenüber den falsch-positiv Raten hervor (Tabelle 15 bzw. Tabelle 16).

**Tabelle 15:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  30 Jahre: Verhältnis der richtig-positiv Raten (Aptima HPV Assay/HPV-DNA-Test) bei Patientinnen mit  $\geq$  CIN2 (unberichtigte Schätzwerte) zu Studienbeginn

		HPV-DNA-Test		Gesamt
		Positiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Positiv	13	2	15 (78,9%)
	Negativ	3	1	4
	Gesamt	16 (84,2%)	3	19
<b>Verhältnis der richtig-positiv Raten = 0,94 (15/16) (95% VI: 0,67, 1,20)</b>				

**Tabelle 16:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  30 Jahre: Verhältnis der falsch-positiv Raten (Aptima HPV Assay/ HPV-DNA-Test) bei Patientinnen mit  $<$  CIN2 (unberichtigte Schätzwerte) zu Studienbeginn

		HPV-DNA-Test		Gesamt
		Positiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Positiv	223	59	282 (36,1%)
	Negativ	178	322	500
	Gesamt	401 (51,3%)	381	782
<b>Verhältnis der falsch-positiv Raten = 0,70 (282/401) (95% VI: 0,64, 0,77)</b>				

## NILM-Kollektiv in der Altersgruppe $\geq 30$ Jahre: Klinische Leistung des Aptima HPV Assays nach 3-jähriger Nachsorge (Follow-up)

Zu Studienbeginn konnten 10.854 Frauen im Alter von 30 Jahren und älter mit NILM-Zytologieergebnissen und validen Aptima HPV Assay-Ergebnissen ausgewertet werden, die für die Nachsorgephase in Frage kamen. Von den Frauen ohne  $\geq$  CIN2 haben 66,9 % (7251/10.834) die Pap-Untersuchung im Nachsorgejahr 1, 60,2 % (6522/10.825) im Nachsorgejahr 2 und 58,6 % (6344/10.818) im Nachsorgejahr 3 abgeschlossen. Insgesamt haben 58,8 % (6380/10.854) der Frauen die Studie abgeschlossen (mit  $\geq$  CIN2 zu Studienbeginn oder während der Nachsorge und/oder haben die erforderlichen Untersuchungen abgeschlossen).

Von den 10.854 Frauen hatten 540 (5,0 %) ein positives Aptima HPV Assay-Ergebnis zu Studienbeginn. Von diesen 540 Frauen hatten 263 (48,7 %) einen positiven oder negativen Erkrankungsstatus nach drei Jahren - basierend auf Zytologie- oder Kolposkopie/Biopsieergebnissen. Die verbleibenden 10.314 Frauen hatten zu Studienbeginn ein negatives Aptima HPV Assay-Ergebnis. Von diesen 10.314 Frauen hatten 5943 (57,6 %) einen positiven oder negativen 3-Jahres-Erkrankungsstatus. Von den 6.206 Frauen mit einem 3-Jahres-Erkrankungsstatus wiesen 47 Frauen  $\geq$  CIN2 auf, darunter 23  $\geq$  CIN3; 6159 Frauen wiesen nach dem Konsenspanel zur Histologiebeurteilung einen normalen/CIN1-Status auf. Die Ergebnisse zu Studienbeginn des Aptima HPV Assays und eines kommerziell erhältlichen HPV DNA Assays sowie der 3-Jahres-Erkrankungsstatus (mit Untersuchung zu Studienbeginn und Nachsorge) des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung sind in Tabelle 17 aufgeführt.

**Tabelle 17:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq 30$  Jahre: Klassifizierung der Frauen, die für die Nachsorgephase anhand des Aptima HPV Assay-Ergebnisses zu Studienbeginn, des HPV DNA Testergebnisses zu Studienbeginn und des Erkrankungsstatus ( $\geq$  CIN2,  $\geq$  CIN3, unbestätigt), der zu Studienbeginn und in der Nachsorgephase festgestellt wurde, in Frage kamen

Aptima HPV Assay-Ergebnis	HPV DNA Test	Frauen gesamt	Bestätigter Erkrankungsstatus: $\geq$ CIN2		Bestätigter Erkrankungsstatus: $\geq$ CIN3		Unbestätigter Erkrankungsstatus	
			Erkrankte Frauen ( $\geq$ CIN2)	Nicht erkrankte Frauen ( $<$ CIN2)	Erkrankte Frauen ( $\geq$ CIN3)	Nicht erkrankte Frauen ( $<$ CIN3)	Für die Nachsorge verloren	Unbestimmt*
Positiv	Positiv	360	22	154	15	161	165	19
Positiv	Negativ	150	2	72	1	73	68	8
Positiv	Ohne Ergebnis**	30	2	11	1	12	14	3
Negativ	Positiv	304	6	146	3	149	133	19
Negativ	Negativ	9405	14	5455	3	5466	3735	201
Negativ	Ohne Ergebnis**	605	1	321	0	322	269	14
<b>Gesamt</b>		10.854	47	6159	23	6183	4384	264

\*Frauen mit abweichendem zytologischen Testergebnis während der Nachsorge und ohne nachfolgendes Ergebnis des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung und Frauen mit einer nicht auswertbaren Zytologie bei ihrer letzten Untersuchung. 174 Frauen haben die Nachsorge nach Protokoll mit einem unbestimmten Erkrankungsstatus abgeschlossen.

\*\*Bei 635 Frauen mit einem Aptima HPV Assay-Ergebnis lagen vor allem aufgrund der ungenügenden Menge der Zytologieproben keine HPV DNA-Testergebnisse vor.

Das kumulative Risiko einer Erkrankung innerhalb von drei Jahren ( $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3) basiert auf Kaplan-Meier-Einschätzung (Sterbetafelanalyse) und beinhaltet Erkrankungen, die bei Studienbeginn und bei der Nachsorge ermittelt wurden. Frauen mit Hinweisen auf eine Erkrankung (ASC-US oder schwerwiegendere Zytologieergebnisse) aber ohne Ergebnisse

des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung wurden in der Analyse berücksichtigt, indem durch Anwendung einer multiplen Imputationsmethode die Anzahl der erkrankten Frauen vorhergesagt wurde, die ermittelt worden wären, wenn die Frauen eine Kolposkopie erhalten hätten.

Die Schätzungen für das kumulative absolute und relative Risiko einer Erkrankung innerhalb von drei Jahren ( $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3) sind in Tabelle 18 aufgeführt.

**Tabelle 18:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  30 Jahre: Kumulatives absolutes und relatives Risiko einer Erkrankung innerhalb von drei Jahren mit  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 bei Ergebnissen des Aptima HPV Assays und eines HPV DNA-Tests zu Studienbeginn

	Testergebnis	Aptima HPV Assay		HPV DNA Test	
		Absolutes Risiko (95 % CI)	Relatives Risiko (95 % CI)	Absolutes Risiko (95 % CI)	Relatives Risiko (95 % CI)
$\geq$ CIN2	Positiv	7,39 (5,12; 10,59)	22,55 (12,68; 40,10)	6,42 (4,50; 9,13)	22,71 (12,19; 42,29)
	Negativ	0,33 (0,21; 0,51)		0,28 (0,17; 0,47)	
	Prävalenz (%)	0,68		0,68	
$\geq$ CIN3	Positiv	4,66 (2,94; 7,36)	44,12 (16,91; 115,10)	4,14 (2,62; 6,52)	51,33 (17,74; 148,55)
	Negativ	0,11 (0,04; 0,25)		0,08 (0,03; 0,22)	
	Prävalenz (%)	0,34		0,35	

\*Die kumulativen 3-Jahres-Risiken, die aufgrund anderer möglicher Bias angepasst wurden, waren mit den Risiken in dieser Tabelle vergleichbar. Aufgrund der zu erwartenden Unterschiede bei den Risiken in Jahr 1 und Jahr 2 der zwei Frauengruppen in den Nachsorgeuntersuchungen (mit Kolposkopie zu Studienbeginn und ohne Kolposkopie zu Studienbeginn) wurde lediglich das kumulative 3-Jahres-Risiko der kombinierten Gruppe angegeben.

Die kumulative 3-Jahres-Prävalenz für  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 bei Frauen mit NILM-Zytologieergebnis zu Studienbeginn betragen 0,68 % bzw. 0,34 %. Das relative Risiko für  $\geq$  CIN2 betrug 22,55 (95 % CI: 12,68; 40,10), was darauf hindeutet, dass bei einer Frau mit einem positiven Ergebnis des Aptima HPV Assays das Risiko für  $\geq$  CIN2 um 22,55 Mal höher ist als bei einer Frau mit einem negativen Ergebnis des Aptima HPV Assays. Das relative Risiko für  $\geq$  CIN3 betrug 44,12 (95 % CI: 16,91; 115,10).

## Klinische Leistung des Aptima HPV Assays mit SurePath Flüssig-Zytologieproben

### Mit Aptima Transferlösung behandelte SurePath Proben

SurePath Flüssig-Zytologieproben wurden bei kanadischen Frauen (n=558) entnommen, die zur Nachsorge wegen eines oder mehrerer abnormaler Pap-Tests, einer HPV-Infektion oder aus anderem Grund überwiesen wurden. Ein Aliquot (0,5 ml) jeder Probe wurde in ein Aptima Probenentransferröhrchen übertragen und dann mit Aptima Transferlösung behandelt. Ein einzelnes Replikat jeder Probe wurde mit dem Aptima HPV Assay getestet. Ein zusätzliches Aliquot (1 ml) jeder Probe wurde entnommen und mit einem kommerziell erhältlichen HPV PCR Test analysiert. Die klinische Sensitivität zur Detektion einer Krankheit, definiert als histologisch nachgewiesene  $\geq$  CIN3, wurde für den Aptima HPV Assay und den HPV PCR Test, wie in Tabelle 19 gezeigt, mit positiven und negativen prädiktiven Werten berechnet.

**Tabelle 19:** Leistung des Aptima HPV Assays und eines HPV PCR Tests zur Detektion von  $\geq$  CIN3

Leistung	Aptima HPV Assay N=558		HPV PCR Test N=558	
	Schätzung	(95% VI)	Schätzung	(95% VI)
<b>Sensitivität (%)</b>	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)
<b>Spezifität (%)</b>	56,8 (301/530)	(52,5 - 60,9)	49,1 (260/530)	(44,8 - 53,3)
<b>PPV (%)</b>	9,8 (25/254)	(8,1 - 11,2)	8,5 (25/295)	(7,0 - 9,5)
<b>NPV (%)</b>	99,0 (301/304)	(97,6 - 99,8)	98,9 (260/263)	(97,2 - 99,7)
<b>Prävalenz (%)</b>	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

**Tabelle 20:** Sensitivität des Aptima HPV Assays mit SurePath und ThinPrep  
Flüssig-Zytologieproben

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

## Leistungsmerkmale des Aptima HPV Assays mit Zervixprobenentnahme- und Transport-Proben

735 Probandinnen wurden gepaarte ThinPrep Flüssig-Zytologieproben und Aptima CSCT Kit-Proben entnommen. Ein Milliliter (1,0 ml) jeder ThinPrep Flüssig-Zytologieprobe wurde in 2,9 ml Aptima Probentransportmedium verdünnt und ein einzelnes Replikat wurde mit dem Aptima HPV Assay auf dem Tigris DTS System getestet. Ein einzelnes Replikat jeder CSCT-Probe wurde ebenfalls mit dem Aptima HPV Assay getestet. Es wurde die prozentuale Übereinstimmung mit dem Aptima HPV Assay zwischen der ThinPrep Flüssig-Zytologieprobe und der CSCT-Probe ermittelt; die Ergebnisse gehen aus Tabelle 21 hervor.

Die prozentuale positive Übereinstimmung betrug 95,9% (95% VI: 92,6-97,8), die prozentuale negative Übereinstimmung betrug 95,5% (95% VI: 93,3-97,0) und die Gesamtübereinstimmung betrug 95,6% (95% VI: 93,9-96,9). Es wurde eine starke Korrelation zwischen Flüssig-Zytologieproben und Transportkit-Proben beobachtet ( $\kappa = 0,90$ )

**Tabelle 21:** Gesamtübereinstimmung der Aptima HPV Assay-Ergebnisse von ThinPrep Flüssig-Zytologieproben und Aptima Zervixprobenentnahme- und Transportkit-Proben, die auf dem Tigris DTS System getestet wurden

		ThinPrep Flüssig-Zytologieproben		Gesamt
		Positiv	Negativ	
Aptima CSCT Kit-Proben	Positiv	234	22	256
	Negativ	10	469	479
	Gesamt	244	491	735

Positive Übereinstimmung = 95,9% (92,6-97,8)

Negative Übereinstimmung = 95,5% (93,3-97,0)

Gesamtübereinstimmung = 95,6% (93,9-96,9)

Kappa-Koeffizient = 0,90

## Analytische Sensitivität

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) am klinischen Grenzwert ist diejenige HPV-RNA-Konzentration, die in 95% der Fälle positiv (d. h. über dem klinischen Grenzwert) ist. Die LoD des Aptima HPV Assays wurde anhand von Tests an Verdünnungspanels von *In-vitro*-Transkripten (IVT) für alle 14 Hochrisiko-Genotypen sowie 4 HPV-infizierte Zelllinien (SiHa, HeLa, MS751 und ME180; ATCC, Manassas, Virginia [USA]) ermittelt. Für die IVT-Panels wurde Probentransportmedium mit IVT in verschiedenen Konzentrationen versetzt und anschließend vor dem Test mit einzelnen negativen ThinPrep Flüssig-Zytologieproben verdünnt. Für die HPV-infizierten Zellpanels wurden Pools aus HPV-negativen ThinPrep Flüssig-Zytologieproben mit HPV-infizierten Zellen in verschiedenen Konzentrationen versetzt und anschließend vor dem Test mit Probentransportmedium verdünnt. Dreißig Replikate jeder Kopienkonzentration wurden mit je zwei Reagenzienchargen getestet, sodass sich insgesamt 60 Replikate ergaben. Die Tests wurden im Verlauf von 14 Tagen durchgeführt, wobei pro Tag 1 bis 12 Durchläufe stattfanden und in jedem Durchlauf 5 Replikate eines bestimmten Genotyps und einer bestimmten Konzentration getestet wurden. Die 95%-Nachweisgrenze wurde anhand einer Probit-Regressionsanalyse der Positivitätsergebnisse für jedes Verdünnungspanel berechnet.

Die Ergebnisse der Probit-Analyse (Tabelle 22) zeigen, dass für HPV 16, 18, 31, 33, 35, 38, 45, 58, 59 und 68 eine 95%-Nachweisgrenze von jeweils weniger als 100 Kopien/Reaktion und für die Typen 51, 52, 56 und 66 eine 95%-Nachweisgrenze jeweils zwischen 100 und 300 Kopien/Reaktion ermittelt wurde. Für die vier getesteten Zelllinien ergaben sich 95%-Nachweisgrenzen von weniger als 1 Zelle/Reaktion.

**Tabelle 22:** Nachweisgrenze am klinischen Grenzwert des Aptima HPV Assays

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

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

## Präzision des Assays

Die Präzision des Aptima HPV Assays wurde in zwei Studien unter Verwendung desselben 20-teiligen Panels bewertet. Studie 1 wurde in 3 externen Prüfstellen durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit des Assays zu bestimmen. Studie 2 wurde hausintern durchgeführt, um die Wiederholbarkeit des Assays zu bestimmen. Das Panel umfasste 10 HPV-positive Proben mit Konzentrationen an bzw. oberhalb der Nachweisgrenze des Assays (erwartete Positivität:  $\geq 95\%$ ), 4 HPV-positive Proben mit Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze des Assays (erwartete Positivität:  $> 0\%$  bis  $< 25\%$ ) und 6 HPV-negative Proben. HPV-positive Panelproben wurden vorbereitet, indem Proben transportmedium (STM) oder HPV-infizierte kultivierte Zellen (SiHa, HeLa, ME180 und MS751; ATCC, Manassas, Virginia) mit *In-vitro*-RNA-Transkripte (IVT) in PreservCyt Konservierungslösung gespikkt wurden. HPV-negative Panelproben wurden mit STM oder gepoolten verbleibenden ThinPrep Flüssig-Zytologieproben vorbereitet.

In Studie 1 führten 2 Bediener an jeder der 3 Prüfstellen (1 Gerät pro Standort) über 3 Tage hinweg 1 Aptima HPV Assay Arbeitsliste für jede der 3 Reagenzienchargen pro Tag aus. Jede Arbeitsliste enthielt 3 Replikate jeder Probe des Reproduzierbarkeitspanels. Für jede Panelprobe wurden 162 einzelne Probenröhrchen getestet (3 Standorte x 1 Gerät x 2 Bediener x 3 Chargen x 3 Arbeitslisten x 3 Replikate). In Studie 2 wurden die Tests 20 Tage lang hausintern mit insgesamt 162 getesteten Reaktionen je Panelprobe durchgeführt (1 Standort x 3 Geräte x 3 Bediener x 3 Chargen x 2 Arbeitslisten x 3 Replikate).

Die Panelproben sind neben einer Zusammenfassung der Übereinstimmung mit erwarteten Ergebnissen und Analyt-S/CO-Werten am 2,5ten, 50sten und 97,5ten Perzentil der S/CO-Verteilung in Tabelle 23a (Panelproben mit erwartetem positivem Ergebnis) und Tabelle 23b (Panelproben mit erwartetem negativem Ergebnis) beschrieben. Die Analyt-S/CO-Variabilität der Panelproben mit erwartetem positivem Ergebnis geht aus Tabelle 24 (Studie 1) und Tabelle 25 (Studie 2) hervor.

Die positive Übereinstimmung für die HPV-positiven Panelproben mit Konzentrationen an oder oberhalb der Nachweisgrenze des Assays lagen für 9 der 10 Panelproben im Bereich zwischen 95,1% und 100% (Studie 1) und zwischen 93,2% und 100% (Studie 2). Die verbleibende HPV-positive Panelprobe erzielte in Studie 1 eine Übereinstimmung von 77,2% und eine Übereinstimmung von 79,0% in Studie 2, also niedriger als erwartet, aber in beiden Studien einheitlich. Die negative Übereinstimmung für die HPV-hochnegativen Panelproben mit Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze des Assays lag in Studie 1 im Bereich zwischen 78,8% und 93,8%, und in Studie 2 zwischen 82,1% und 95,7%. Die Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen für die HPV-negativen Panelproben lag in Studie 1 im Bereich zwischen 96,9% und 100%, und in Studie 2 zwischen 96,3% und 100%.



**Tabelle 23a:** Studie 1 und 2 zur Reproduzierbarkeit des Aptima HPV Assays: Panelbeschreibung, positive Übereinstimmung und Perzentilenverteilung von Analyt-S/CO-Werten für Panelproben mit erwartetem positivem Ergebnis

Panelbeschreibung (Kopien bzw. Zellen/Reaktion)	Studie 1 (3 Prüfstellen)	Studie 2 (1 Prüfstelle)
	% positive Übereinstimmung (95% VI)	% positive Übereinstimmung (95% VI)
HPV 16 & HPV 18 IVT (100 Kopien)	100 (161/161) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-Zellen (3 Zellen) & HeLa-Zellen (7,5 Zellen)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 18 IVT (100 Kopien)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (160/160) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (100 Kopien)	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
MS751-Zellen (1 Zelle)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)
ME180-Zellen (0,3 Zellen)	95,1 (154/162) (90,6, 97,5)	93,2 (151/162) (88,3, 96,2)
HPV 18 IVT (30 Kopien)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV 16 IVT (30 Kopien)	100 (162/162) (97,7, 100)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
HeLa-Zellen (2,5 Zellen)	100 (162/162) (97,7, 100)	95,6 (152/159) (91,2, 97,9)
SiHa-Zellen (1 Zelle)*	77,2 (125/162) (70,1, 83,0)	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)

IVT = *In-vitro*-Transkript. STM wurde mit IVT und PerservCyt-Lösung wurde mit Zellen gespikt.

\*Die erwartete prozentuale positive Übereinstimmung betrug ~95%; der beobachtete Wert ist niedriger, möglicherweise aufgrund von fertigungsbedingten Schwankungen bei der Panelprobe.

**Tabelle 23b:** Studie 1 und 2 zur Reproduzierbarkeit des Aptima HPV Assays: Panelbeschreibung, negative Übereinstimmung und Perzentilenverteilung von Analyt-S/CO-Werten für Panelproben mit erwartetem negativem Ergebnis

Panelbeschreibung (Kopien bzw. Zellen/Reaktion)	Studie 1 (3 Prüfstellen)	Studie 2 (1 Prüfstelle)
	% negative Übereinstimmung (95% VI)	% negative Übereinstimmung (95% VI)
HPV 18 IVT (1 Kopie)*	78,8 (126/160) (71,8, 84,4)	83,3 (135/162) (76,8, 88,3)
HPV 16 IVT (1 Kopie)*	80,9 (131/162) (74,1, 86,2)	88,3 (143/162) (82,4, 92,4)
HeLa-Zellen (0,05 Zellen)*	79,0 (128/162) (72,1, 84,6)	82,1 (133/162) (75,5, 87,2)
SiHa-Zellen (0,03 Zellen)*	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
STM-Charge 1	100 (162/162) (97,7, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM-Charge 2	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)	100 (162/162) (97,7, 100)
STM-Charge 3	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
ThinPrep Pool 1	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)	97,5 (158/162) (93,8, 99,0)
ThinPrep Pool 2	96,9 (157/162) (93,0, 98,7)	96,3 (156/162) (92,2, 98,3)
ThinPrep Pool 3	100 (162/162) (97,7, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

STM = Specimen Transport Medium (Probentransportmedium); IVT = *In-vitro*-Transkript. STM wurde mit IVT und PerservCyt-Lösung wurde mit Zellen gespikt.

\* Erwartete prozentuale negative Übereinstimmung > 75% und < 100%.

**Tabelle 24:** Studie 1 zur Reproduzierbarkeit des Aptima HPV Assays: Signal-Variabilität für Panelproben mit erwartetem positivem Ergebnis

Panelbeschreibung (Kopien bzw. Zellen/Reaktion)	n	Mittl. S/CO	Zwischen Prüfstellen		Zwischen Bedienern		Zwischen Chargen		Zwischen Arbeitslisten		Innerhalb Arbeitslisten		Gesamt	
			SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)
HPV 16 & HPV 18 IVT (100 Kopien)	161 <sup>^</sup>	23,4	0,1	0,4	0,1	0,4	0,9	4,0	0	0	1,6	7,0	1,9	8,1
SiHa-Zellen (3 Zellen) & HeLa-Zellen (7,5 Zellen)	162	17,9	0	0	1,4	8,1	0	0	0,6	3,1	5,1	28,6	5,3	29,9
HPV 18 IVT (100 Kopien)	162	11,8	0	0	0	0	0,8	6,4	0,1	0,9	1,2	10,1	1,4	12,0
HPV 16 IVT (100 Kopien)	162	10,8	0,2	1,5	0	0	0,1	1,1	0,3	2,6	0,3	3,1	0,5	4,5
MS751-Zellen (1 Zelle)	162	13,3	0,3	2,1	0	0	1,0	7,8	0,9	7,1	2,2	16,2	2,6	19,4
ME180-Zellen (0,3 Zellen)	162	6,5	0,2	3,2	0	0	0,6	8,6	0,4	5,5	2,4	36,2	2,5	37,7
HPV 18 IVT (30 Kopien)	162	9,0	0,7	7,3	0	0	0,7	7,2	0,8	8,3	2,3	25,3	2,6	28,5
HPV 16 IVT (30 Kopien)	162	10,8	0,1	0,8	0	0	0,1	1,3	0,4	3,8	0,9	8,4	1,0	9,3
HeLa-Zellen (2,5 Zellen)	162	12,4	0	0	0,4	3,3	0,4	3,1	0	0	2,3	18,4	2,4	19,0
SiHa-Zellen (1 Zelle)	162	7,5	0,3	3,7	1,0	13,0	0	0	0	0	4,8	63,6	4,9	65,0

SA = Standardabweichung; VK = Variationskoeffizient; IVT = *In-vitro*-Transkript; S/CO = Signal-to-cut-off ratio (Signal-zu-Grenzwert-Verhältnis)

<sup>^</sup>Eine Probe brachte ein ungültiges Aptima HPV Assayergebnis hervor und wurde bei der Analyse nicht berücksichtigt.

**Hinweis:** Bei einigen Faktoren kann die Variabilität zahlenmäßig negativ sein. Dies kann der Fall sein, wenn die Variabilität aufgrund dieser Faktoren sehr gering war. In diesen Fällen sind SA und VK als 0 angegeben.

**Tabelle 25:** Studie 2 zur Reproduzierbarkeit des Aptima HPV Assays: Signal-Variabilität für Panelproben mit erwartetem positivem Ergebnis

Panelbeschreibung (Kopien bzw. Zellen/Reaktion)	n	Mittl. S/CO	Zwischen Geräten		Zwischen Bedienern		Zwischen Chargen		Zwischen Arbeitslisten		Innerhalb Arbeitslisten		Gesamt	
			SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)
HPV 16 & HPV 18 IVT (100 Kopien)	162	23,2	0,4	1,5	0,6	2,3	0,8	3,4	0,8	3,4	1,5	6,3	2,0	8,4
SiHa-Zellen (3 Zellen) & HeLa-Zellen (7,5 Zellen)	162	18,6	0	0	1,7	9,3	0	0	3,5	18,6	3,7	20,0	5,4	28,9
HPV 18 IVT (100 Kopien)	160 <sup>^</sup>	11,9	0,1	0,6	0,2	1,6	0,8	7,0	0,4	3,6	1,3	11,3	1,7	13,8
HPV 16 IVT (100 Kopien)	162	10,8	0	0	0,1	1,3	0	0	0,2	2,2	0,7	6,1	0,7	6,6
MS751-Zellen (1 Zelle)	162	13,6	0	0	0,6	4,3	0	0	2,5	18,4	2,1	15,2	3,3	24,2
ME180-Zellen (0,3 Zellen)	162	5,8	0	0	0,6	10,8	0,5	9,4	2,2	36,9	1,7	29,7	2,9	49,5
HPV 18 IVT (30 Kopien)	162	8,8	0,4	4,4	0,5	6,0	0,7	7,9	1,0	11,5	1,9	21,4	2,4	26,6
HPV 16 IVT (30 Kopien)	162	10,5	0	0	0,1	1,3	0,2	2,0	1,6	14,9	1,2	11,2	2,0	18,8
HeLa-Zellen (2,5 Zellen)	159 <sup>^</sup>	12,0	0,6	5,1	1,0	8,5	0	0	2,8	23,8	2,0	16,6	3,7	30,6
SiHa-Zellen (1 Zelle)	162	7,4	0,9	12,5	0	0	0,7	9,3	1,8	24	4,2	56,8	4,7	63,8

SA = Standardabweichung; VK = Variationskoeffizient; IVT = *In-vitro*-Transkript; S/CO = Signal-to-cut-off ratio (Signal-zu-Grenzwert-Verhältnis)

<sup>^</sup>Fünf Proben hatten ungültige Aptima HPV Assayergebnisse, 2 für HPV 18 IVT (100 Kopien), 3 für HeLa-Zellen (2,5 Zellen), und wurden bei der Analyse nicht berücksichtigt.

**Hinweis:** Bei einigen Faktoren kann die Variabilität zahlenmäßig negativ sein. Dies kann der Fall sein, wenn die Variabilität aufgrund dieser Faktoren sehr gering war. In diesen Fällen sind SA und VK als 0 angegeben.

Außerdem wurde eine dritte Studie durchgeführt, in der die Reproduzierbarkeit des Assays bestimmt wurde, indem ein aus 6 Proben bestehendes Panel aus gepoolten klinischen ThinPrep Flüssig-Zytologieproben getestet wurde. Sechs individuelle Pools aus verbleibenden HPV-negativen ThinPrep Flüssig-Zytologieproben wurden als Matrix vorbereitet, von denen zwei als HPV-negative Panelproben getestet wurden. Für die Vorbereitung der HPV-niedrigpositiven (n=2) und HPV-hochpositiven (n=2) Panelproben wurden vier individuelle Pools aus HPV-positiven ThinPrep Flüssig-Zytologieproben verwendet. Die niedrigpositiven Panelproben hatten Konzentrationen an der Nachweisgrenze des Assays (erwartete Positivität:  $\geq 95\%$ , wurde für jeden einzelnen HPV-positiven Pool durch Testen von Verdünnungsreihen der Pools ermittelt). Die hochpositiven Panelproben hatten Konzentrationen von 1-2 Logarithmusstufen oberhalb der geschätzten Nachweisgrenze für jeden einzelnen HPV-positiven Pool (erwartete Positivität: 100%). Von jeder Panelprobe wurde am Tag der Testdurchführung 1 ml in ein Aptima Probenentransferröhrchen mit STM transferiert. Die Durchführung der Tests erfolgte hausintern über 6 Tage durch 2 Bediener (3 Tage pro Bediener) unter Verwendung von 1 Reagenziencharge, 3 Geräten und mit 2 Testdurchläufen pro Tag, bei denen das Panel zweifach getestet wurde.

Die Panelproben sowie eine Zusammenfassung der Übereinstimmung mit erwarteten Ergebnissen und Analyt-S/CO-Werten am 2,5ten, 50sten und 97,5ten Perzentil der Signal-Verteilung sind in Tabelle 26 beschrieben. Die Analyt-S/CO-Variabilität für die Panelproben mit erwartetem positivem Ergebnis geht aus Tabelle 27 hervor.

Für die HPV-hochpositiven Panelproben betrug die Übereinstimmung 100%, für die HPV-niedrigpositiven Panelproben  $\geq 98,6\%$  und für die HPV-negativen Panelproben  $\geq 94,4\%$ .

**Tabelle 26:** Studie 3 zur Reproduzierbarkeit des Aptima HPV Assays: Panelbeschreibung, prozentuale Übereinstimmung

Panelbeschreibung	% Übereinstimmung (95% VI)
Niedrigpositiv 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Niedrigpositiv 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Hochpositiv 1	100 (72/72) (94,9, 100)
Hochpositiv 2	100 (72/72) (94,9, 100)
Negativ 1	98,6 (71/72) (92,5, 99,8)
Negativ 2	94,4 (68/72) (86,6, 97,8)

**Tabelle 27:** Studie 3 zur Reproduzierbarkeit des Aptima HPV Assays: Signalanalyse für Panelproben mit erwartetem positivem Ergebnis

Panelbeschreibung	n	Mittl. S/CO	Zwischen Geräten		Zwischen Bedienern		Zwischen Chargen		Zwischen Arbeitslisten		Innerhalb Arbeitslisten		Gesamt	
			SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)	SA	VK (%)
Niedrigpositiv 1	72	9,8	0	0	0	0	0	0	2,2	22,8	3,0	30,4	3,7	38,0
Niedrigpositiv 2	72	10,5	0	0	2,2	21,0	0,9	9,0	3,7	35,3	2,7	26,1	5,2	49,5
Hochpositiv 1	72	22,7	1,3	5,6	0	0	0,1	0,5	3,0	13,3	3,7	16,4	5,0	21,9
Hochpositiv 2	72	23,9	0	0	0	0	0	0	2,9	12,3	3,0	12,4	4,2	17,4

SA = Standardabweichung; VK = Variationskoeffizient; S/CO = Signal-to-Cutoff-ratio (Signal-zu-Grenzwert-Verhältnis)

**Hinweis:** Bei einigen Faktoren kann die Variabilität zahlenmäßig negativ sein. Dies kann der Fall sein, wenn die Variabilität aufgrund dieser Faktoren sehr gering war. In diesen Fällen sind SA und VK als 0 angegeben.

## Kreuzreaktivität

Die analytische Spezifität des Aptima HPV Assays wurde anhand von PreservCyt-Lösungsmedium bewertet, das 1:2,9 in STM (Proben transportmedium) verdünnt und mit kultivierten Bakterien, Hefezellen oder Pilzen, kultivierten Viren oder *In-vitro*-Transkripten von Niedrigrisiko-HPV gespickt wurde. Die Organismen und Testkonzentrationen gehen aus Tabelle 28 hervor. Die Studienkriterien zur Bestimmung der Auswirkung vorhandener Mikroorganismen auf die Spezifität des Assays basierten auf der Positivität. Im Zusammenhang mit den Niedrigrisiko-HPV-Genotypen 26, 67, 70 und 82 wurde eine Kreuzreaktivität festgestellt, jedoch nicht im Zusammenhang mit den anderen getesteten Organismen.

**Tabelle 28:** Panel für analytische Spezifität: Organismen und Konzentration ohne Kreuzreaktivität

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

**Tabelle 28:** Panel für analytische Spezifität: Organismen und Konzentration ohne Kreuzreaktivität 32b(Fortsetzung)

Organismus	Testkonzentration ohne Kreuzreaktivität	Organismus	Testkonzentration ohne Kreuzreaktivität
<b>Hefen/Protozoen</b>			
<i>Candida albicans</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 <sup>7</sup> Zellen/ml
<b>Viren</b>			
Adenovirus 2	1x10 <sup>7</sup> VP/ml	Herpes-Simplex-Virus 1	2,5x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Zytomegalievirus	5,6x10 <sup>2</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	Herpes-Simplex-Virus 2	5x10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Epstein-Barr-Virus	4,3x10 <sup>6</sup> VP/ml	SV40	1,2 x10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
HIV-1	1,0x10 <sup>6</sup> Kopien/ml		
<b>Nicht zu den Zielsequenzen zählende HPV-Genotypen</b>			
HPV 6	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml	HPV 61	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml
HPV 11	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml	<b>HPV 67</b>	1 Kopie/ml
<b>HPV 26</b>	2,5 Kopien/ml	HPV 69	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml
HPV 30	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml	<b>HPV 70</b>	1 Kopie/ml
HPV 34	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml	HPV 71	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml
HPV 42	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml	HPV 73	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml
HPV 43	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml	HPV 81	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml
HPV 44	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml	<b>HPV 82</b>	1 Kopie/ml
HPV 53	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml	HPV 85	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml
HPV 54	2,5x10 <sup>6</sup> Kopien/ml		

VP = Virenpartikel

CFU = koloniebildende Einheiten (Colony Forming Units)

TCID<sub>50</sub> = Gewebekultur-Infektionsdosis 50, bei 50% der Gewebekulturen zur Infizierung führende Dosis (Tissue Culture Infective Dose 50)**Hinweis:** Bei den durch Fettdruck hervorgehobenen Typen wurde eine Kreuzreaktivität (> 5% Positivität) bei Tests mit Konzentrationen über den in der Tabelle angegebenen Werten beobachtet.

Die analytische Sensitivität des Aptima HPV Assays bei Vorhandensein von Mikroorganismen wurde mit demselben Panel wie in Tabelle 28 beschrieben bewertet, das ebenfalls mit einer niedrigen Konzentration von HPV-infizierten SiHa-Zellen gespikt war (1 Zelle pro Reaktion). Den Studienkriterien für die Untersuchung der Auswirkung des Vorhandenseins von Mikroorganismen auf die Sensitivität des Assays wurde Positivität zugrunde gelegt. Keiner der getesteten Organismen hatte Einfluss auf die Sensitivität des Aptima HPV Assays.

## Interferenz

1% und 10% Vol./Vol. oder Gew./Vol. der in Tabelle 29 beschriebenen Substanzen nach Verdünnung mit STM wurden einzeln in PreservCyt-Lösung gespikt und anschließend mit dem Aptima HPV Assay getestet. Alle Substanzen wurden in Gegenwart und Abwesenheit von HPV-infizierten kultivierten Zellen (SiHa, 3 Zellen/Reaktion) getestet. Mit zwei der sieben Gleitmittel, die Polyquaternium 15 enthielten, und mit einem der fünf Tioconazol enthaltenden Antimykotika wurde eine Interferenz beobachtet. Mit keiner der anderen getesteten Substanzen wurde eine Interferenz festgestellt.

**Tabelle 29:** Auf mögliche Interferenz mit dem Aptima HPV Assay getestete Substanzen

Produktkategorie	Marke bzw. Typ des Produktes	Höchste getestete Konzentration*, die keine Interferenz mit der Assayleistung ergab
<b>Gleitmittel</b>	KY Sensual Mist	10% Vol./Vol.
	KY Warming Jelly	10% Gew./Vol.
	KY Warming Liquid	10% Vol./Vol.
	Intingleitmittel, Hausmarke CVS	10% Gew./Vol.
	Wärmende Massagelotion und Intingleitmittel, Hausmarke Target	10% Vol./Vol.
	Astroglide Intingleitmittel	0,3% Gew./Vol. (0,075% Gew./Vol. Testprobe)
	Gleitflüssigkeit, Hausmarke Target	0,1% Vol./Vol. (0,025% Vol./Vol. Testprobe)
<b>Spermizide</b>	Gynol II vaginales Kontrazeptivum, Originalformel	10% Gew./Vol.
	Gynol II vaginales Kontrazeptivum, extra stark	10% Gew./Vol.
	Delfen vaginaler Kontrazeptivschaum	10% Gew./Vol.
	Encare vaginales Kontrazeptivum	10% Gew./Vol.
	Conceptrol vaginales Kontrazeptivum	10% Gew./Vol.
<b>Antimykotika/ juckreizstillende Medikamente</b>	Vagisil Maximum Strength	10% Gew./Vol.
	Monistat Soothing Care	10% Gew./Vol.
	Monistat 3 Kombinationspackung	10% Gew./Vol.
	Tioconazol 1, Hausmarke Target	0,3% Gew./Vol. (0,075% Gew./Vol. Testprobe)
	Miconazol 3, Hausmarke Target	10% Gew./Vol.
<b>Eisessig</b>	EMD M/N AX0073-11	10% Vol./Vol.
<b>Vollblut</b>	Vollblut	10% Vol./Vol.

\*Polyquaternium-15 enthaltende Intingleitmittel.



## Erwartete Ergebnisse auf dem Panther 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.<sup>32,33</sup> Viele Studien haben die HPV-Prävalenz anhand des Nachweises von HPV-DNA untersucht, aber nur wenige Studien geben die Prävalenz auf Basis des Nachweises von HPV-onkogener mRNA an. Frauen an verschiedenen klinischen Zentren (n=18), die eine breit gefächerte geografische Streuung und ein differenziertes Kollektiv (10 US-Bundesstaaten) repräsentieren, wurden in eine prospektive klinische Studie, die sogenannte CLEAR-Studie, aufgenommen.<sup>34</sup> Die anhand des Aptima HPV Assays auf dem Panther System im Rahmen der klinischen Studie beobachtete Prävalenz von HPV-mRNA-positiven Proben wurde insgesamt, nach Altersgruppe und nach Testzentrum kategorisiert. Die Ergebnisse gehen aus Tabelle 30 hervor, und zwar für die Populationen ASC-US (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, atypische Plattenepithelzellen von unbestimmter Bedeutung) und NILM (negativ für intraepitheliale Läsion oder Malignität).

**Tabelle 30:** Prävalenz von High-Risk-HPV-mRNA nach Altersgruppen, Testzentren sowie insgesamt

	Positivitätsrate % (x/n)	
	ASC-US-Population (≥ 21 Jahre)	NILM-Population (≥ 30 Jahre)
<b>Alle</b>	42,3 (404/956)	4,7 (512/10.860)
<b>Altersgruppe (Jahre)</b>		
<b>21 bis 29</b>	60,0 (251/418)	N. zutr.
<b>30 bis 39</b>	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
<b>≥ 40</b>	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
<b>Testzentrum</b>		
<b>1</b>	41,5 (134/323)	3,7 (304/8286)
<b>2</b>	43,1 (137/318)	9,2 (118/1285)
<b>3</b>	42,2 (133/315)	7,0 (90/1289)

N. zutr. – Nicht zutreffend

## Design der klinischen Studie zum Aptima HPV Assay mit ThinPrep Flüssig-Zytologieproben

Der Aptima HPV Assay auf dem Panther System wurde anhand von verbliebenen Überweisungszytologieproben evaluiert, die von Frauen während einer prospektiven, multizentrischen klinische Studie in den USA, der sogenannten CLEAR-Studie, entnommen wurden.<sup>34</sup>

### CLEAR-Studie - Untersuchung zu Studienbeginn (Baseline-Evaluierung)

Die CLEAR-Studie wurde zur Ermittlung der klinischen Leistung des Aptima HPV Assays auf dem Tigris DTS System für den Nachweis einer zervikalen intraepithelialen Neoplasie vom Schweregrad 2 oder einer Zervixerkkrankung höheren Grades ( $\geq$  CIN2) durchgeführt.<sup>34</sup> Die CLEAR-Studie beinhaltete eine Untersuchung zu Studienbeginn (Baseline-Evaluierung) sowie eine dreijährige Nachsorgephase (Follow-up Evaluierung). Die Teilnehmerinnen wurden aufgrund ihrer Zytologieergebnisse 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. Die NILM-Studie war darauf ausgelegt, die Forderung nach ergänzendem Screening für Frauen ab 30 Jahren zu unterstützen, da sich Frauen in diesem Altersbereich mit zytologischen Befunden höheren Grades als eines ASC-US unabhängig von ihrem HPV-Status einer Kolposkopie unterziehen sollten.<sup>35</sup>

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 erfasst. Geeignete Patientinnen wurden abhängig von den zur Überweisung führenden ThinPrep Flüssig-Zytologieproben der ASC-US-Studie oder der NILM-Studie zugeteilt. Zu Studienbeginn wurden verbliebene Überweisungsproben von Frauen der ASC-US-Studie und der NILM-Studie zunächst sowohl mit dem Aptima HPV Assay auf dem Tigris DTS System als auch mit einem kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test getestet. Anschließend wurden die Proben archiviert und bei -70 °C gelagert, bis sie mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System getestet wurden.

Alle Teilnehmerinnen der ASC-US-Studie wurden zu Studienbeginn unabhängig vom jeweiligen HPV-Ergebnis zur Kolposkopie überwiesen. Es wurden eine Biopsie mittels endozervikaler Kürettage (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 kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test positiv war, sowie randomisiert ausgewählte Teilnehmerinnen mit negativen Ergebnissen in beiden Assays zur Bewertung des Ausgangszustands zur Kolposkopie überwiesen. Die nach dem Zufallsprinzip ausgewählten Frauen mit negativen Befunden aus beiden Assays wurden einbezogen, um durch berichtigte Leistungsschätzwerte, die in einem Verfahren mit multipler Imputation erstellt wurden, einem Verifizierungsbias entgegenzuwirken. Von allen Teilnehmerinnen, die zur Kolposkopie erschienen, wurden ECC-Biopsien entnommen. Stanzbiopsien wurden nur von sichtbaren Läsionen entnommen (gezielte Methode, 1 Biopsie pro Läsion).

Der Erkrankungsstatus wurde mithilfe eines Konsenspanels zur Histologiebeurteilung 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. Bei einer Nichtübereinstimmung der Pathologen wurden die Präparate an einem Multihead-Diskussionsmikroskop gemeinsam von den drei Pathologen begutachtet um Konsens zu erzielen. Zur Vermeidung einer Verzerrung wurden die HPV-Testergebnisse den Prüfarzten, Klinikern und Teilnehmerinnen erst nach Abschluss des Kolposkopietermins mitgeteilt.

Zu Beginn wurde die klinische Leistung des Aptima HPV Assays hinsichtlich des Nachweises einer Zervixerkkrankung  $\geq$  CIN2 und einer zervikalen intraepithelialen Neoplasie des Grades 3 oder höher ( $\geq$  CIN3) im relativen Verhältnis zum Status der Zervixerkkrankung, die bei Studienbeginn festgestellt wurde, bewertet. Die klinische Leistung des kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Tests wurde ebenfalls ermittelt, um einen direkten Vergleich mit den Ergebnissen des Aptima HPV Assays zu ermöglichen.

### **CLEAR-Studie – Nachsorgephase (Follow-up Evaluierung)**

Frauen der NILM-Studie aus 14 klinischen Einrichtungen wurden ausgewählt, um an der dreijährigen Nachsorgephase der Studie teilzunehmen, wenn i) sie bei Studienbeginn eine Kolposkopieuntersuchung hatten und keine Erkrankung  $\geq$ CIN2 festgestellt wurde oder ii) sie keine Kolposkopieuntersuchung zu Studienbeginn hatten. Die Nachsorgephase der Studie bestand aus jährlichen Untersuchungen. Bei diesen Untersuchungen wurden bei jeder Frau Zervixabstriche durchgeführt und manche Frauen wurden mit einem kommerziell erhältlichen HPV-Test getestet. Frauen, die während der Nachsorgephase ASC-US oder schwerwiegendere zytologische Ergebnisse aufwiesen, wurden zur Kolposkopie überwiesen. Bei ihnen wurden dieselben Biopsie- und Histologieverfahren durchgeführt, die auch zur Baseline-Evaluierung in der NILM-Studie durchgeführt wurden. Der Status einer Zervixerkkrankung bei der Nachsorgeuntersuchung wurde basierend auf der NILM-Zytologie oder bei Frauen mit abweichenden zytologischen Testergebnissen basierend auf normalen oder CIN1 Ergebnissen des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung als „negativ“ eingestuft. Bei Frauen, bei denen während der Nachsorgephase eine Erkrankung  $\geq$  CIN2 festgestellt wurde, wurde die Nachsorge als abgeschlossen betrachtet und sie nahmen an keinen weiteren Untersuchungen teil. Bei Frauen, bei denen während der Nachsorgephase keine Erkrankung  $\geq$  CIN2 festgestellt wurde, die aber eine Studienuntersuchung im Nachsorgejahr 1 und/oder Nachsorgejahr 2 hatten und an einer Studienuntersuchung im Nachsorgejahr 3 teilnahmen, wurde die Nachsorge als abgeschlossen betrachtet.

Ziel der Nachsorgeuntersuchung war ein Vergleich des kumulativen 3-Jahres-Risikos für eine Zervixerkkrankung bei Frauen mit positivem Aptima HPV Assay-Ergebnis zu Studienbeginn mit dem kumulativen 3-Jahres-Risikos einer Zervixerkkrankung bei Frauen mit negativem Aptima HPV Assay-Ergebnis. Der 3-Jahres-Status der Zervixerkkrankung wurde wie folgt bestimmt:

- Positiver Status einer Zervixerkkrankung ( $\geq$  CIN2 und/oder  $\geq$  CIN3) – Frauen, bei denen eine Erkrankung  $\geq$  CIN2 bei Studienbeginn oder während der Nachsorge festgestellt wurde.
- Negativer Status einer Zervixerkkrankung ( $<$  CIN2) – Frauen, die die Nachsorge ohne Diagnose  $\geq$  CIN2 abschlossen haben und deren Status der Zervixerkkrankung nicht als „unbestimmt“ eingestuft wurde.
- Unbestimmter Status einer Zervixerkkrankung – Frauen mit auffälligem zytologischen Testergebnis während der Nachsorge und ohne nachfolgendes Ergebnis des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung oder Frauen mit einer nicht auswertbaren Zytologie bei ihrer letzten Untersuchung.

- Abbruch der Nachsorge – Frauen, die die Nachsorge nicht abgeschlossen haben und die nicht mit dem Status „unbestimmt“ hinsichtlich einer Zervixerkrankung bewertet wurden.

Die klinische Leistung des Aptima HPV Assays auf dem Panther System zum Nachweis einer Erkrankung  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 wurde im Verhältnis zum 3-Jahres-Status der Zervixerkrankung evaluiert.

## Leistung des Assays auf dem Panther System

### ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe $\geq 21$ Jahre: Klinische Leistung des Aptima HPV Assays

Insgesamt wurden 1252 Patientinnen ab 21 Jahren mit auf ASC-US lautendem zytologischem Befund in die ASC-US-Studie eingeschrieben. Davon wurden 294 Patientinnen ausgesondert. Die verbleibenden 958 Patientinnen kamen für Tests auf dem Panther System infrage. Bei zwei Patientinnen fehlten Proben und 19 hatten einen unbestimmten Krankheitsbefund; diese Patientinnen wurden von der Analyse ausgeschlossen. Die verbleibenden auswertbaren 937 Patientinnen waren 21 Jahre und älter mit zytologischem Befund ASC-US, Ergebnissen mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System und geklärtem Erkrankungsstatus. Einundneunzig (91) Patientinnen hatten  $\geq$  CIN2 und einundvierzig (41) hatten  $\geq$  CIN3. Die Prävalenz von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 bei auswertbaren Patientinnen mit auf ASC-US lautendem Zytologie-Ergebnis betrug 9,7% bzw. 4,4%. Die Ergebnisse des Aptima HPV Assays nach Diagnose anhand des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung gehen aus Tabelle 31 hervor.

**Tabelle 31:** ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq 21$  Jahre: Ergebnisse des Aptima HPV Assays nach Diagnose anhand des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay*	HPV-DNA-Test	Diagnose des histologischen Konsensbefund-Gremiums						Gesamt
		Unbestimmt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Karzinom	
Positiv	Positiv	6	178	110	40	32	1	367
Positiv	Negativ	0	5	2	0	2	0	9
Positiv	Kein Ergebnis***	0	15	11	0	2	0	28
Negativ	Positiv	0	39	15	3	3	0	60
Negativ	Negativ	10	372	53	7	1	0	443
Negativ	Kein Ergebnis***	3	39	7	0	0	0	49
<b>Gesamt</b>		19	648	198	50	40	1****	956

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

\*\*Bei 19 Teilnehmerinnen, die zum Kolposkopiertermin 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).

\*\*\*Für 77 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.

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

Die Schätzwerte der klinischen Leistung des Aptima HPV Assays, einschließlich Sensitivität, Spezifität, positivem prädiktivem Wert (PPV) und negativem prädiktivem Wert (NPV), bezüglich des Nachweises von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 auf Basis der Beurteilung aller Biopsien und unter Einschluss ausschließlich gezielter Biopsien sowie die Schätzwerte für den kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test gehen aus Tabelle 32 hervor.

**Tabelle 32:** ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq 21$  Jahre: Leistung des Aptima HPV Assays und eines kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Tests für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3

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

\*Für 74 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.

\*\*Das histologische Konsensergebnis beruhte ausschließlich auf Ergebnissen von gezielten Biopsien. Bei Frauen ohne gezielte Biopsien war der Kolposkopiebefund normal, und diese Frauen sind in diesen Analysen als nicht erkrankt eingeschlossen (< CIN2 bzw. < CIN3). Wenn nur gezielte Biopsien einbezogen waren, konnte nicht immer ein Konsens erzielt werden.

Die Beurteilung aller Biopsien ergab, dass die Schätzwerte der klinischen Sensitivität des Aptima HPV Assays und des kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Tests für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3, sofern beide Ergebnisse vorlagen, ähnlich waren (die Differenzen der geschätzten Sensitivitätswerte waren statistisch unerheblich). Für  $\geq$  CIN2 betrug die Sensitivitätsdifferenz -4,5% (95% VI: -12,2%, 2,5%). Die Schätzwerte der klinischen Spezifität des Aptima HPV Assays für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 waren höher als für den kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test (die Differenzen der geschätzten Spezifitätswerte waren statistisch signifikant). Für  $\geq$  CIN2 betrug die Spezifitätsdifferenz 6,1% (95% VI: 4,2%, 8,2%). Die NPVs waren ähnlich, für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 war der PPV für den Aptima HPV Assay jedoch etwas höher als der PPV für den kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test (19,3% gegenüber 18,8%).

Von den 91 Fällen  $\geq$  CIN2 wurden 60 (65,9%) in gezielten Biopsien identifiziert und 31 (34,1%) zufällig und/oder in ECC-Biopsien (d. h. nicht in gezielten Biopsien). Diese Untersuchungsergebnisse sind vergleichbar mit den Ergebnissen aus veröffentlichten Studien, wonach etwa 25% bis 40% der Fälle  $\geq$  CIN2 nur zufällig und/oder durch ECC-Biopsieproben identifiziert wurden.<sup>36,37</sup> Wurden ausschließlich gezielte Biopsien zur Bestimmung des Erkrankungsstatus herangezogen (in der Annahme, dass das Histologieergebnis bei Frauen ohne gezielte Biopsie normal ist, da keine sichtbaren Läsionen vorlagen), betrug die Prävalenz von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 im Rahmen der Studie 6,4% bzw. 3,1%. Die Schätzwerte der klinischen Sensitivität für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 waren, wenn ausschließlich gezielte Biopsien verwendet wurden, in beiden Tests höher als wenn zur Berechnung alle Biopsien herangezogen wurden. Für beide Assays war die klinische Spezifität unter ausschließlicher Berücksichtigung von gezielten Biopsien vergleichbar mit der Spezifität unter Berücksichtigung aller Biopsien. Dementsprechend war unter ausschließlicher Berücksichtigung gezielter Biopsien die Spezifität des Aptima HPV Assays signifikant höher als die des kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Tests.

Schätzwerte der klinischen Leistung des Aptima HPV Assays und des kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Tests sind nach Altersgruppe in Tabelle 33 und Tabelle 34 aufgeführt ( $\geq$  CIN2 bzw.  $\geq$  CIN3, basierend auf der Bewertung aller Biopsien).

**Tabelle 33:** ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe ≥ 21 Jahre: Leistung des Aptima HPV Assays und eines kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Tests für den Nachweis von ≥ CIN2 nach Altersgruppe

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

\*Für 74 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.



**Tabelle 34:** ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq 21$  Jahre: Leistung des Aptima HPV Assays und eines HPV-DNA-Tests für den Nachweis von  $\geq$  CIN3 nach Altersgruppe

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

\*Für 74 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.

Das absolute Erkrankungsrisiko ( $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3, basierend auf der Bewertung aller Biopsien) anhand von Ergebnissen im Aptima HPV Assay und das relative Erkrankungsrisiko bei positivem gegenüber negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay sowie die Schätzwerte für den kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test gehen aus Tabelle 35 hervor. Das relative Risiko für  $\geq$  CIN2 betrug 7,4 (95% VI: 4,3, 13,0), was bedeutet, dass eine Frau mit positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay mit einer 7,4-fach höheren Wahrscheinlichkeit  $\geq$  CIN2 hat als eine Frau mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay. Das relative Risiko für  $\geq$  CIN3 betrug 12,5 (95% VI: 4,5, 34,9).

**Tabelle 35:** ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  21 Jahre: Absolutes und relatives Risiko für  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV Assay und einem HPV-DNA-Test

	Assayergebnis	Aptima HPV Assay N=937		HPV-DNA-Test N=863*	
		Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
$\geq$ CIN2	Positiv	19,3 (77/398) (17,3, 21,2)	7,4 (4,3, 13,0)	18,8 (79/421) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Negativ	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prävalenz (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)	
$\geq$ CIN3	Positiv	9,3 (37/398) (8,0, 10,3)	12,5 (4,5, 34,9)	8,6 (36/421) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Negativ	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prävalenz (%)	4,4 (41/937)		4,5 (39/863)	

\*Für 74 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.

Schätzwerte des absoluten und des relativen Erkrankungsrisikos ( $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3, basierend auf der Beurteilung aller Biopsien) für den Aptima HPV Assay und den kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test sind nach Altersgruppe in Tabelle 36 aufgeführt.

**Tabelle 36:** ASC-US-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  21 Jahre: Absolutes und relatives Risiko für  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV Assay und einem HPV-DNA-Test nach Altersgruppe

	Alter	Assayergebnis	Aptima HPV Assay N=937		HPV-DNA-Test N=863*	
			Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
$\geq$ CIN2	21 bis 29 Jahre		N=415		N=389	
		Positiv	21,7 (54/249) (19,3, 23,9)	5,1 (2,4, 11,0)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)
		Negativ	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prävalenz (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 bis 39 Jahre		N=261		N=238	
		Positiv	17,3 (17/98) (13,1, 21,1)	9,4 (2,8, 31,3)	16,2 (16/99) (11,8, 19,8)	5,6 (1,9, 16,3)
		Negativ	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prävalenz (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	$\geq$ 40 Jahre		N=261		N=236	
Positiv		11,8 (6/51) (5,6, 17,7)	6,2 (1,8, 21,1)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,1)	
Negativ		1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)		
Prävalenz (%)		3,8 (10/261)		4,2 (10/236)		
$\geq$ CIN3	21 bis 29 Jahre		N=415		N=389	
		Positiv	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Nicht kalkulierbar
		Negativ	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prävalenz (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 bis 39 Jahre		N=261		N=238	
		Positiv	8,2 (8/98) (5,0, 10,1)	13,3 (1,7, 105)	7,1 (7/99) (4,0, 9,2)	4,9 (1,0, 23,2)
		Negativ	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prävalenz (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	$\geq$ 40 Jahre		N=261		N=236	
		Positiv	5,9 (3/51) (1,6, 9,7)	6,2 (1,1, 36,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,8 (1,6, 121)
		Negativ	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)	
		Prävalenz (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

\*Für 74 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.

## NILM-Kollektiv in der Altersgruppe $\geq 30$ Jahre: Klinische Leistung des Aptima HPV Assays mit ThinPrep-Flüssig-Zytologieproben zu Studienbeginn

Insgesamt wurden 11.644 Patientinnen mit auf NILM lautendem zytologischem Befund in die NILM-Studie aufgenommen. Davon wurden 773 Patientinnen ausgesondert. Die verbleibenden 10.871 Patientinnen kamen für Tests auf dem Panther System infrage. Bei elf Patientinnen fehlten Proben, sodass sie von der Erstuntersuchung des Aptima HPV Assays auf dem Panther System ausgeschlossen wurden. Die verbliebenen 10.860 auswertbaren Patientinnen waren 30 Jahre oder älter mit auf NILM lautendem zytologischem Befund und einem Ergebnis im Aptima HPV Assay auf dem Panther System. Von den 512 Patientinnen mit positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay auf dem Panther System erschienen 284 zur Kolposkopie zu Studienbeginn. Von den 10.348 Patientinnen mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay erschienen 580 zur Kolposkopie zu Studienbeginn. Zwanzig (20) Patientinnen hatten  $\geq$  CIN2 und elf (11) hatten  $\geq$  CIN3; bei 798 Patientinnen lautete das Histologie-Ergebnis Normal/CIN1; bei 46 Patientinnen war der Erkrankungsstatus unbestimmt. Die Ergebnisse des Aptima HPV Assays auf dem Panther System nach Diagnose anhand des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung gehen aus Tabelle 37 hervor.

**Tabelle 37:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq 30$  Jahre: Ergebnisse des Aptima HPV Assays und eines HPV-DNA-Tests und Diagnose des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay*	HPV-DNA-Test	Diagnose des histologischen Konsensbefund-Gremiums						
		Unbestimmt**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Karzinom	Gesamt
Positiv	Positiv	11	211	12	4	7	2	247
Positiv	Negativ	2	19	0	0	0	1	22
Positiv	Kein Ergebnis***	2	12	1	0	0	0	15
Negativ	Positiv	10	170	7	2	1	0	190
Negativ	Negativ	20	353	9	2	0	0	384
Negativ	Kein Ergebnis***	1	4	0	1	0	0	6
<b>Gesamt</b>		46	769	29	9	8	3****	864

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

\*\*Bei 46 Teilnehmerinnen, die zum Kolposkopietermin erschienen, konnte aus den folgenden Gründen keine Diagnose bestimmt werden: als unzureichend angesehene Biopsieproben (n=29), keine Biopsien entnommen (n=15) und Verlust der Biopsie-Objektträger (n=2).

\*\*\*Für 21 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.

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

Insgesamt war der Erkrankungsstatus bei 10.042 Patientinnen unbestätigt (einschließlich unbestimmt) (Tabelle 38). Da nur nach dem Zufallsprinzip ausgewählte Patientinnen mit negativem Ergebnis sowohl im Aptima HPV Assay auf dem Tigris DTS System als auch im kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test zur Kolposkopie überwiesen wurden, war in dieser Gruppe der Anteil an Patientinnen mit unbestätigtem Erkrankungsstatus hoch (96,6%). From reference PDF – trans. Für die 818 Patientinnen mit bestätigtem Erkrankungsstatus werden sowohl hinsichtlich eines Verifizierungsbias berichtigte als auch unberichtigte Leistungsschätzwerte präsentiert.

**Tabelle 38:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq 30$  Jahre: Klassifizierung von auswertbaren NILM-Patientinnen nach Ergebnis im Aptima HPV Assay und in einem HPV-DNA-Test, nach Erkrankungsstatus ( $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3) und Erkrankungsbestätigungsstatus

Ergebnis mit dem Aptima HPV Assay*		HPV-DNA-Test	Teilnehmerinnen insgesamt	Bestätigter Erkrankungsstatus: $\geq$ CIN2		Bestätigter Erkrankungsstatus: $\geq$ CIN3		Unbestimmter Erkrankungsstatus
Panther System	Tigris DTS System			Erkrankte Teilnehmerinnen ( $\geq$ CIN2)	Nicht erkrankte Teilnehmerinnen ( $<$ CIN2)	Erkrankte Teilnehmerinnen ( $\geq$ CIN3)	Nicht erkrankte Teilnehmerinnen ( $<$ CIN3)	Teilnehmerinnen mit unbekanntem Erkrankungsstatus (% unbekannt)
Positiv	Positiv	Positiv	313	13	189	9	193	111 (35,5%)
Positiv	Positiv	Negativ	37	1	18	1	18	18 (48,6%)
Positiv	Positiv	Kein Ergebnis**	22	0	13	0	13	9 (40,9%)
Positiv	Negativ	Positiv	70	0	34	0	34	36 (51,4%)
Positiv	Negativ	Negativ	60	0	1	0	1	59 (98,3%)
Positiv	Negativ	Kein Ergebnis**	10	0	0	0	0	10 (100%)
Negativ	Positiv	Positiv	46	0	33	0	33	13 (28,3%)
Negativ	Positiv	Negativ	113	1	41	0	42	71 (62,8%)
Negativ	Positiv	Kein Ergebnis**	8	0	4	0	4	4 (50,0%)
Negativ	Negativ	Positiv	236	3	144	1	146	89 (37,7%)
Negativ	Negativ	Negativ	9354	1	321	0	322	9032 (96,6%)
Negativ	Negativ	Kein Ergebnis**	591	1	0	0	1	590 (99,8%)
<b>Gesamt</b>			10.860	20	798	11	807	10.042 (92,5%)

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

\*\*Für 631 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.

Die berichtigte Prävalenz von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 bei Patientinnen mit auf NILM lautendem zytologischem Befund betrug 0,9% bzw. 0,4%. Die berichtigten Schätzungen des absoluten und des relativen Risikos für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 zu Studienbeginn sind in Tabelle 39 dargestellt. Das berichtigte relative Risiko für  $\geq$  CIN2 betrug 7,5 (95%-VI: 2,1, 26,3), was bedeutet, dass eine Frau mit positivem Ergebnis im Aptima HPV Assay mit einer 7,5-fach höheren Wahrscheinlichkeit  $\geq$  CIN2 hat als eine Frau mit negativem Ergebnis im Aptima HPV Assay. Das berichtigte relative Risiko für  $\geq$  CIN3 betrug 24,9 (95% VI: 2,0, 307,0). Die unberichtigten Schätzungen des absoluten und des relativen Risikos für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 zu Studienbeginn gehen aus Tabelle 40 (insgesamt) und Tabelle 41 (nach Altersgruppe) hervor.

**Tabelle 39:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  30 Jahre: Absolutes und relatives Risiko für  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV Assay und einem HPV-DNA-Test (hinsichtlich eines Verifizierungsbias berichtigte Schätzungen) zu Studienbeginn

	Assayergebnis	Aptima HPV Assay		HPV-DNA-Test	
		Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
$\geq$ CIN2	Positiv	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negativ	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prävalenz (%)	0,9		0,9	
$\geq$ CIN3	Positiv	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negativ	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prävalenz (%)	0,4		0,4	

**Tabelle 40:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  30 Jahre: Absolutes und relatives Risiko für  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV Assay und einem HPV-DNA-Test (unberichtigte Schätzungen) zu Studienbeginn

	Assayergebnis	Aptima HPV Assay N=818		HPV-DNA-Test N=800*	
		Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
$\geq$ CIN2	Positiv	5,2 (14/269) (3,5, 6,6)	4,8 (1,9, 12,3)	3,8 (16/416) (2,9, 4,5)	4,9 (1,4, 16,8)
	Negativ	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prävalenz (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)	
$\geq$ CIN3	Positiv	3,7 (10/269) (2,5, 4,3)	20,4 (2,6, 159)	2,4 (10/416) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,8)
	Negativ	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prävalenz (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)	

\*Für 18 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.

**Tabelle 41:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe ≥ 30 Jahre: Absolutes und relatives Risiko für ≥ CIN2 und ≥ CIN3 nach Ergebnis im Aptima HPV Assay und einem HPV-DNA-Test nach Altersgruppe (unberichtigte Schätzungen) zu Studienbeginn

	Alter	Assayergebnis	Aptima HPV Assay N=818		HPV-DNA-Test N=800*	
			Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)	Absolutes Risiko (95% VI)	Relatives Risiko (95% VI)
≥ CIN2	30 bis 39 Jahre		N=383		N=376	
		Positiv	4,6 (7/153) (2,5, 5,9)	5,3 (1,1, 25,0)	3,3 (7/215) (1,8, 4,1)	2,6 (0,6, 12,4)
		Negativ	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
		Prävalenz (%)	2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
	≥ 40 Jahre		N=435		N=424	
		Positiv	6,0 (7/116) (3,2, 8,5)	4,8 (1,4, 16,1)	4,5 (9/201) (2,9, 5,3)	10,0 (1,3, 78,1)
		Negativ	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)		0,4 (1/223) (0,0, 1,8)	
		Prävalenz (%)	2,5 (11/435)		2,4 (10/424)	
≥ CIN3	30 bis 39 Jahre		N=383		N=376	
		Positiv	3,3 (5/153) (1,6, 4,1)	7,5 (0,9, 63,7)	2,3 (5/215) (1,1, 2,9)	3,7 (0,4, 31,7)
		Negativ	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
		Prävalenz (%)	1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
	≥ 40 Jahre		N=435		N=424	
		Positiv	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Nicht kalkulierbar	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Nicht kalkulierbar
		Negativ	0,0 (0/319) (0,0, 0,8)		0,0 (0/223) (0,0, 1,1)	
		Prävalenz (%)	1,1 (5/435)		1,2 (5/424)	

\*Für 18 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.

Die berichtigten Schätzungen der klinischen Leistung des Aptima HPV Assays, einschließlich Sensitivität, Spezifität, positivem prädiktivem Wert (PPV) und negativem prädiktivem Wert (NPV), für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 zu Studienbeginn sowie die Schätzungen für den kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test gehen aus Tabelle 42 hervor. Die unberichtigten Schätzungen der klinischen Leistung sind in Tabelle 43 dargestellt. Der Aptima HPV Assay und der kommerziell erhältliche HPV-DNA-Test hatten vergleichbare Sensitivität, wohingegen die Spezifität des Aptima HPV Assays signifikant höher war (nicht überlappende 95% VI). Die Schätzungen des prädiktiven Werts für den Aptima HPV Assay waren klinisch relevant und vergleichbar mit den Schätzungen für den kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test. Die NPVs waren ähnlich, für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 war der PPV für den Aptima HPV Assay jedoch etwas höher als der PPV für den kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test (4,5% gegenüber 3,7%).

**Tabelle 42:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  30 Jahre: Leistung des Aptima HPV Assays und eines HPV-DNA-Tests für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 (hinsichtlich eines Verifizierungsbias berichtigte Schätzwerte) zu Studienbeginn

	Leistung	Aptima HPV Assay		HPV-DNA-Test	
		Schätzwert	(95% VI)	Schätzwert	(95% VI)
$\geq$ CIN2	Sensitivität (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Spezifität (%)	95,5	(95,1, 95,9)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,5	(2,7, 7,4)	3,7	(2,3, 6,1)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Prävalenz (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
$\geq$ CIN3	Sensitivität (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Spezifität (%)	95,4	(95,0, 95,8)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,0	(1,6, 5,5)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,3, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prävalenz (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	



**Tabelle 43:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq 30$  Jahre: Leistung des Aptima HPV Assays und eines HPV-DNA-Tests für den Nachweis von  $\geq$  CIN2 und  $\geq$  CIN3 (unberichtigte Schätzwerte) zu Studienbeginn

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

\*Für 18 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.

Der direkte Vergleich des Aptima HPV Assays auf dem Panther System mit dem kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test zeigt eine vergleichbare Sensitivität und statistisch signifikant bessere Spezifität des Aptima HPV Assays gegenüber dem kommerziell erhältlichen HPV-DNA-Test für den Nachweis von  $\geq$  CIN2. Dies geht aus den Verhältnissen der richtig-positiv Raten und der falsch-positiv Raten hervor (Tabelle 44 bzw. Tabelle 45).

**Tabelle 44:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  30 Jahre: Verhältnis der richtig-positiv Raten (Aptima HPV Assay/HPV-DNA-Test) bei Patientinnen mit  $\geq$  CIN2 (unberichtigte Schätzwerte) zu Studienbeginn

		HPV-DNA-Test		Gesamt
		Positiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Positiv	13	1	14 (73,7%)
	Negativ	3	2	5
	Gesamt	16 (84,2%)	3	19
Verhältnis der richtig-positiv Raten = 0,88 (14/16) (95% VI: 0,65, 1,10)				

**Tabelle 45:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$  30 Jahre: Verhältnis der falsch-positiv Raten (Aptima HPV Assay/HPV-DNA-Test) bei Patientinnen mit  $<$  CIN2 (unberichtigte Schätzwerte) zu Studienbeginn

		HPV-DNA-Test		Gesamt
		Positiv	Negativ	
Aptima HPV Assay	Positiv	223	19	242 (31,0%)
	Negativ	177	362	539
	Gesamt	400 (51,2%)	381	781
Verhältnis der falsch-positiv Raten = 0,61 (242/400) (95% VI: 0,55, 0,66)				

### NILM-Kollektiv in der Altersgruppe $\geq$ 30 Jahre: Klinische Leistung des Aptima HPV Assays auf dem Panther System nach 3-jähriger Nachsorge (Follow-up)

Zu Studienbeginn konnten 10.854 Frauen im Alter von 30 Jahren und älter mit NILM-Zytologieergebnissen und validem Aptima HPV Assay-Ergebnis ausgewertet werden, die für die Nachsorgephase in Frage kamen. Von den Frauen ohne  $\geq$ CIN2 haben 67,0% (7247/10.823) die Pap-Untersuchung im Nachsorgejahr 1, 60,3% (6517/10.814) im Nachsorgejahr 2 und 58,7% (6339/10.807) im Nachsorgejahr 3 abgeschlossen. Insgesamt haben 58,8% (6375/10.843) der Frauen die Studie abgeschlossen (mit  $\geq$ CIN2 zu Studienbeginn oder während der Nachsorge und/oder haben die erforderlichen Untersuchungen abgeschlossen).

Von den 10.843 auswertbaren Frauen hatten 511 (4,7%) ein positives Aptima HPV Assay-Ergebnis auf dem Panther System zu Studienbeginn. Von diesen 511 Frauen hatten 255 (49,9%) einen positiven oder negativen 3-Jahres-Erkrankungsstatus - basierend auf Zytologie- oder Kolposkopie/Biopsieergebnissen. Die verbleibenden 10.332 Frauen hatten zu

Studienbeginn ein negatives Aptima HPV Assay-Ergebnis auf dem Panther System. Von diesen 10.332 Frauen hatten 5946 (57,5%) einen positiven oder negativen 3-Jahres-Erkrankungsstatus. Von den 6.201 Frauen mit einem 3-Jahres-Erkrankungsstatus wiesen 47 Frauen  $\geq$ CIN2 auf, darunter 23  $\geq$ CIN3; 6154 Frauen wiesen nach dem Konsenspanel zur Histologiebeurteilung einen normalen/CIN1-Status auf. Die Ergebnisse zu Studienbeginn des Aptima HPV Assays und eines kommerziell erhältlichen HPV DNA Assays sowie der 3-Jahres-Erkrankungsstatus (mit Untersuchung zu Studienbeginn und Nachsorge) des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung sind in Tabelle 46 aufgeführt.

**Tabelle 46:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq$ 30 Jahre: Klassifizierung der Frauen, die für die Nachsorgephase anhand des Aptima HPV Assay-Ergebnisses zu Studienbeginn, des HPV DNA Testergebnisses zu Studienbeginn und des Erkrankungsstatus ( $\geq$ CIN2,  $\geq$ CIN3, unbestätigt), der zu Studienbeginn und in der Nachsorgephase festgestellt wurde, in Frage kamen

Aptima HPV Assay-Ergebnis	HPV DNA Test	Frauen gesamt	Bestätigter Erkrankungsstatus: $\geq$ CIN2		Bestätigter Erkrankungsstatus: $\geq$ CIN3		Unbestätigter Erkrankungsstatus	
			Erkrankte Frauen ( $\geq$ CIN2)	Nicht erkrankte Frauen ( $<$ CIN2)	Erkrankte Frauen ( $\geq$ CIN3)	Nicht erkrankte Frauen ( $<$ CIN3)	Für die Nachsorge verloren	Unbestimmt*
Positiv	Positiv	382	23	171	16	178	167	21
Positiv	Negativ	97	1	48	1	48	44	4
Positiv	Ohne Ergebnis**	32	2	10	1	11	17	3
Negativ	Positiv	281	5	129	2	132	130	17
Negativ	Negativ	9452	15	5476	3	5488	3756	205
Negativ	Ohne Ergebnis**	599	1	320	0	321	264	14
<b>Gesamt</b>		10.843	47	6154	23	6178	4378	264

\*Frauen mit abweichendem zytologischen Testergebnis während der Nachsorge und ohne nachfolgendes Ergebnis des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung und Frauen mit einer nicht auswertbaren Zytologie bei ihrer letzten Untersuchung. 174 Frauen haben die Nachsorge nach Protokoll mit einem unbestimmten Erkrankungsstatus abgeschlossen.

\*\*Bei 631 Frauen mit Aptima HPV Assay-Ergebnis lagen vor allem aufgrund der ungenügenden Menge der Zytologieproben keine HPV DNA-Testergebnisse vor.

Das kumulative Risiko einer Erkrankung innerhalb von drei Jahren ( $\geq$ CIN2 und  $\geq$ CIN3) basiert auf Kaplan-Meier-Einschätzung (Sterbetafelanalyse) und beinhaltet Erkrankungen, die bei Studienbeginn und bei der Nachsorge ermittelt wurden. Frauen mit Hinweisen auf eine Erkrankung (ASC-US oder schwerwiegenderere Zytologieergebnisse) aber ohne Ergebnisse des Konsenspanels zur Histologiebeurteilung wurden in der Analyse berücksichtigt, indem durch Anwendung einer multiplen Imputationsmethode die Anzahl der erkrankten Frauen vorhergesagt wurde, die ermittelt worden wären, wenn die Frauen eine Kolposkopie erhalten hätten.

Die Schätzungen für das kumulative absolute und relative Risiko einer Erkrankung innerhalb von drei Jahren ( $\geq$ CIN2 und  $\geq$ CIN3) sind in Tabelle 47 aufgeführt.

**Tabelle 47:** NILM-Kollektiv in der Altersgruppe  $\geq 30$  Jahre: Kumulatives absolutes und relatives Risiko einer Erkrankung innerhalb von drei Jahren mit  $\geq \text{CIN}2$  und  $\geq \text{CIN}3$  bei Ergebnissen des Aptima HPV Assays und eines HPV DNA-Tests zu Studienbeginn

	Testergebnis	Aptima HPV Assay		HPV DNA Test	
		Absolutes Risiko (95% CI)	Relatives Risiko (95% CI)	Absolutes Risiko (95% CI)	Relatives Risiko (95% CI)
$\geq \text{CIN}2$	Positiv	7,90 (5,50; 11,27)	24,45 (13,85; 43,15)	6,43 (4,50; 9,14)	22,71 (12,20; 42,30)
	Negativ	0,32 (0,21; 0,51)		0,28 (0,17; 0,47)	
	Prävalenz (%)	0,68		0,68	
$\geq \text{CIN}3$	Positiv	5,23 (3,34; 8,13)	57,11 (21,09; 154,62)	4,14 (2,62; 6,52)	51,34 (17,74; 148,58)
	Negativ	0,09 (0,04; 0,23)		0,08 (0,03; 0,22)	
	Prävalenz (%)	0,34		0,35	

\*Die kumulativen 3-Jahres-Risiken, die aufgrund anderer möglicher Bias angepasst wurden, waren mit den Risiken in dieser Tabelle vergleichbar. Aufgrund der zu erwartenden Unterschiede bei den Risiken in Jahr 1 und Jahr 2 der zwei Frauengruppen in den Nachsorgeuntersuchungen (mit Kolposkopie zu Studienbeginn und ohne Kolposkopie zu Studienbeginn) wurde lediglich das kumulative 3-Jahres-Risiko der kombinierten Gruppe angegeben.

Die kumulative 3-Jahres-Prävalenz für  $\geq \text{CIN}2$  und  $\geq \text{CIN}3$  bei Frauen mit NILM-Zytologieergebnissen zu Studienbeginn betragen 0,68% bzw. 0,34%. Das relative Risiko für  $\geq \text{CIN}2$  betrug 24,5 (95% CI: 13,85; 43,15), was darauf hindeutet, dass bei einer Frau mit einem positiven Ergebnis des Aptima HPV Assays auf dem Panther System das Risiko für  $\geq \text{CIN}2$  um 24,45 Mal höher ist als bei einer Frau mit einem negativen Ergebnis des Aptima HPV Assays. Das relative Risiko für  $\geq \text{CIN}3$  betrug 57,11 (95% CI: 21,09; 154,62).

### Klinische Leistung des Aptima HPV Assays mit SurePath Flüssig-Zytologieproben

SurePath Flüssig-Zytologieproben wurden von Frauen in Kanada (n=558) 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. Ein zusätzliches Aliquot (1 ml) jeder Probe wurde entnommen und mit einem kommerziell erhältlichen HPV-PCR-Test analysiert. Die klinische Sensitivität zum Nachweis einer Krankheit, definiert als histologisch nachgewiesene  $\geq$  CIN3, wurde für den Aptima HPV Assay und den HPV-PCR-Test, wie in Tabelle 48 gezeigt, mit positiven und negativen prädiktiven Werten berechnet.

**Tabelle 48:** Leistung des Aptima HPV Assays und eines HPV-PCR-Tests für den Nachweis von  $\geq$  CIN3

Leistung	Aptima HPV Assay N=558		HPV-PCR-Test N=558	
	Schätzwert	(95% VI)	Schätzwert	(95% VI)
<b>Sensitivität (%)</b>	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)	89,3 (25/28)	(72,8 - 96,3)
<b>Spezifität (%)</b>	58,7 (311/530)	(54,4 - 62,8)	49,1 (260/530)	(44,8 - 53,3)
<b>PPV (%)</b>	10,2 (25/244)	(8,4 - 11,7)	8,5 (25/295)	(7,0 - 9,5)
<b>NPV (%)</b>	99,0 (311/314)	(97,6 - 99,8)	98,9 (260/263)	(97,2 - 99,7)
<b>Prävalenz (%)</b>	5,0 (28/558)		5,0 (28/558)	

### Leistungsmerkmale des Aptima HPV Assays mit Zervixprobenentnahme- und Transport-Proben

Für Hochrisiko-HPV positive und für Hochrisiko-HPV negative klinische Proben, die von Kollektiven bei Screeninguntersuchungen (Routineterminen) und Überweisungen (Kolposkopierterminen) mit dem Aptima CSCT-Kit entnommen wurden, wurden mit dem Aptima HPV Assay auf dem Panther System und dem Tigris DTS System getestet, wobei zwei Reagenzienchargen eingesetzt wurden. Die Übereinstimmung zwischen dem Panther System und dem Tigris DTS System für CSCT-Proben geht aus Tabelle 49 hervor.

Für CSCT-Proben betrug die Gesamtübereinstimmung zwischen dem Panther System und dem Tigris DTS System  $> 98\%$ , wie in Tabelle 49 dargestellt. Von den getesteten 632 klinischen Proben waren 69 positiv für CIN2 und 38 positiv für CIN3. Die Sensitivität des Aptima HPV Assays für den positiven Nachweis von CIN2 betrug  $97,1\%$  (95% VI:  $90,0\%-99,2\%$ ) auf dem Panther System und  $98,6\%$  (95% VI:  $92,2\%-99,7\%$ ) auf dem Tigris DTS System. Die Sensitivität für den positiven Nachweis von CIN3 betrug  $100\%$  (VI:  $90,8\%-100\%$ ) sowohl auf dem Panther System als auch auf dem Tigris DTS System.

**Tabelle 49:** Übereinstimmung der Ergebnisse mit dem Aptima HPV Assay für Aptima CSCT-Proben auf dem Tigris DTS System und dem Panther System

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

Gesamtübereinstimmung = 98,1% (VI 96,7-98,9)

Positive Übereinstimmung = 98,2% (VI 96,6-99,0)

Negative Übereinstimmung = 97,7% (VI 93,6-99,2)

### Analytische Sensitivität

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) am klinischen Grenzwert ist diejenige HPV-RNA-Konzentration, die in 95% der Fälle positiv (d. h. über dem klinischen Grenzwert) ist. Die LoD des Aptima HPV Assays wurde anhand von Tests an Verdünnungspanels von In-vitro-Transkripten (IVT) für alle 14 Hochrisiko-Genotypen sowie 4 HPV-infizierte Zelllinien (SiHa, HeLa, MS751 und ME180; ATCC, Manassas, Virginia [USA]) ermittelt. Für die IVT-Panels wurde Proben-Transportmedium mit IVT in verschiedenen Konzentrationen versetzt und anschließend vor dem Test mit einzelnen negativen ThinPrep Flüssig-Zytologieproben verdünnt. Für die HPV-infizierten Zellpanels wurden Pools aus HPV-negativen ThinPrep Flüssig-Zytologieproben mit HPV-infizierten Zellen in verschiedenen Konzentrationen versetzt und anschließend vor dem Test mit Proben-Transportmedium verdünnt. Dreißig Replikate jeder Kopienkonzentration wurden mit je zwei Reagenzienchargen getestet, sodass sich insgesamt 60 Replikate ergaben. Die Tests wurden im Verlauf von 17 Tagen durchgeführt, wobei pro Tag 1 bis 12 Durchläufe stattfanden und in jedem Durchlauf 5 Replikate eines bestimmten Genotyps und einer bestimmten Konzentration getestet wurden. Die 95%-Nachweisgrenze wurde anhand einer Probit-Regressionsanalyse der Positivitätsergebnisse für jedes Verdünnungspanel berechnet.

Die Ergebnisse der Probit-Analyse (Tabelle 50) zeigen, dass für HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 und 68 eine 95%-Nachweisgrenze von jeweils weniger als 100 Kopien/Reaktion und für die Typen 52, 58 und 66 eine 95%-Nachweisgrenze jeweils zwischen 100 und 500 Kopien/Reaktion ermittelt wurde. Für die vier getesteten Zelllinien ergaben sich 95%-Nachweisgrenzen von weniger als 1 Zelle/Reaktion.

**Tabelle 50:** Nachweisgrenze am klinischen Grenzwert des Aptima HPV Assays

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

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

## Präzision des Assays

Die Präzision des Aptima HPV Assays wurde in zwei Studien anhand des gleichen, aus 20 Proben bestehenden Panels bewertet. Studie 1 wurde an 3 Zentren durchgeführt, 2 externen und 1 internen. Studie 2 wurde hausintern durchgeführt. Das Panel bestand aus 13 für HPV positiven Proben mit Konzentrationen an oder über der Nachweisgrenze des Assays (erwartete Positivität:  $\geq 95\%$ ), 3 für HPV positiven Proben mit Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze des Assays (erwartete Positivität:  $> 0\%$  bis  $< 25\%$ ) sowie 4 für HPV negativen Proben. HPV-positive Panelproben wurden angesetzt, indem mit Proben transportmedium (Specimen Transport Medium, STM) verdünnte PreservCyt Lösung mit In-vitro-RNA-Transkripten (IVT) bzw. mit STM verdünnte, gepoolte, negative ThinPrep Flüssig-Zytologieproben mit HPV-infizierten kultivierten Zellen (SiHa, HeLa und MS751; ATCC, Manassas, Virginia [USA]) versetzt wurden. HPV-negative Panelproben wurden mit PreservCyt Lösung oder gepoolten, negativen, mit STM verdünnten ThinPrep Flüssig-Zytologieproben angesetzt.

In Studie 1 führten 2 Bediener an jedem der 3 Testzentren (1 Gerät pro Zentrum) über 3 Tage hinweg 2 Aptima HPV Assay Arbeitslisten (1 pro Reagenziencharge) pro Tag aus. In jeder Arbeitsliste waren für jede Probe im Reproduzierbarkeitspanel 3 Replikate enthalten. Für jede Panelprobe wurden einhundertacht (108) einzelne Probenröhrchen getestet (3 Zentren x 1 Gerät x 2 Anwender x 2 Chargen x 3 Arbeitslisten 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 sind neben einer Zusammenfassung der Übereinstimmung mit erwarteten Ergebnissen und Analyt-S/CO-Werten am 2,5ten, 50sten und 97,5ten Perzentil der S/CO-Verteilung in Tabelle 51a (Panelproben mit erwartetem positivem Ergebnis) und Tabelle 51b (Panelproben mit erwartetem negativem Ergebnis) beschrieben. Die Analyt-S/CO-Variabilität der Panelproben mit erwartetem positivem Ergebnis geht aus Tabelle 52 (Studie 1) und Tabelle 53 (Studie 2) hervor.



**Tabelle 51a:** Studie 1 und 2 zur Präzision des Aptima HPV Assays: Panelbeschreibung, positive Übereinstimmung und Perzentilenverteilung von Analyt-S/CO-Werten für Panelproben mit erwartetem positivem Ergebnis

Panelbeschreibung (Kopien oder Zellen/Reaktion)	Studie 1 (3 Testzentren)	Studie 2 (1 Testzentrum)
	Prozentuale positive Übereinstimmung (95% VI)	Prozentuale positive Übereinstimmung (95% VI)
HPV-hochpositive klinische Probe 1	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
HPV-hochpositive klinische Probe 2	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-16-IVT (1830 Kopien)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (161/161) (97,1, 100)
HPV-18-IVT (1550 Kopien)	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-niedrigpositive klinische Probe 1	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)
HPV-niedrigpositive klinische Probe 2	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
HPV-niedrigpositive klinische Probe 3	100 (108/108) (96,6, 100)	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)
HPV-niedrigpositive klinische Probe 4	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
HPV-16-IVT (183 Kopien)	100 (102/102) (96,4, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HPV-18-IVT (155 Kopien)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (159/159) (97,6, 100)
MS751-Zellen (0,63 Zellen)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
HeLa-Zellen (0,35 Zellen)	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
SiHa-Zellen (0,90 Zellen)	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)

IVT = In-Vitro-Transkript

\*Die erwartete prozentuale positive Übereinstimmung betrug ~95%; der beobachtete Wert ist niedriger, möglicherweise aufgrund von fertigungsbedingten Schwankungen bei der Panelprobe.

**Tabelle 51b:** Studie 1 und 2 zur Präzision des Aptima HPV Assays: Panelbeschreibung, negative Übereinstimmung und Perzentilenverteilung von Analyt-S/CO-Werten für Panelproben mit erwartetem negativem Ergebnis

Panelbeschreibung (Kopien oder Zellen/Reaktion)	Studie 1 (3 Testzentren)	Studie 2 (1 Testzentrum)
	Prozentuale negative Übereinstimmung (95% VI)	Prozentuale negative Übereinstimmung (95% VI)
<b>MS751-Zellen (0,005 Zellen)</b>	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)
<b>SiHa-Zellen (0,008 Zellen)</b>	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)
<b>HeLa-Zellen (0,02 Zellen)</b>	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)
<b>HPV-negative klinische Probe 1</b>	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
<b>HPV-negative klinische Probe 2</b>	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	100 (162/162) (97,7, 100)
<b>PreservCyt-Lösung 1</b>	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
<b>PreservCyt-Lösung 2</b>	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (161/161) (97,7, 100)

IVT = In-Vitro-Transkript.

\*Erwartete prozentuale negative Übereinstimmung > 75% und < 100%.

**Tabelle 52:** Studie 1 zur Präzision des Aptima HPV Assays: Signal-Variabilität für Panelproben mit erwartetem positivem Ergebnis

Panelbeschreibung (Kopien oder Zellen/Reaktion)	n	Mittl. S/CO	Zwischen Geräten		Zwischen Anwendern		Zwischen Chargen		Zwischen Arbeitslisten		Innerhalb von Arbeitslisten		Gesamt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
HPV-hochpositive klinische Probe 1	107*	29,34	0,00	0,0	0,00	0,0	1,43	4,9	1,87	6,4	1,49	5,1	2,79	9,5
HPV-hochpositive klinische Probe 2	107*	30,09	0,55	1,8	0,00	0,0	1,06	3,5	0,73	2,4	2,21	7,3	2,61	8,7
HPV-16-IVT (1830 Kopien)	107*	11,20	0,09	0,8	0,16	1,4	0,03	0,3	0,14	1,3	0,46	4,1	0,52	4,6
HPV-18-IVT (1550 Kopien)	107*	14,89	0,18	1,2	0,00	0,0	0,20	1,3	0,14	0,9	1,53	10,3	1,56	10,5
HPV-niedrigpositive klinische Probe 1	107*	8,24	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,23	39,2	3,23	39,2
HPV-niedrigpositive klinische Probe 2	108	7,07	0,00	0,0	0,41	5,8	0,00	0,0	0,00	0,0	4,57	64,7	4,59	65,0
HPV-niedrigpositive klinische Probe 3	108	10,23	0,26	2,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,32	12,9	3,23	31,6	3,49	34,2
HPV-niedrigpositive klinische Probe 4	108	4,68	0,50	10,7	0,20	4,2	0,00	0,0	0,99	21,1	3,02	64,6	3,22	68,9
HPV-16-IVT (183 Kopien)	102*	11,09	0,08	0,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	2,3	0,54	4,9	0,61	5,5
HPV-18-IVT (155 Kopien)	108	11,78	0,00	0,0	0,43	3,7	0,00	0,0	1,12	9,5	1,97	16,7	2,30	19,6
MS751-Zellen (0,63 Zellen)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
HeLa-Zellen (0,35 Zellen)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
SiHa-Zellen (0,90 Zellen)	107*	7,74	0,37	4,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,85	49,8	3,87	50,1

\*Zwölf Proben erbrachten ungültige Ergebnisse im Aptima HPV Assay (1 für HPV-hochpositive klinische Probe 1, 1 für HPV-hochpositive klinische Probe 2, 1 für HPV-16-IVT (1830 Kopien), 1 für HPV-18-IVT (1550 Kopien), 1 für HPV-niedrigpositive klinische Probe 1, 6 für HPV-16-IVT (183 Kopien) und 1 für SiHa-Zellen (0,90 Zellen)).

VK = Variationskoeffizient; IVT = In-vitro-Transkript; SD = Standardabweichung

**Hinweis:** Bei einigen Faktoren kann die Variabilität zahlenmäßig negativ sein. Dies liegt daran, dass die Variabilität aufgrund dieser Faktoren sehr gering ist. In diesen Fällen sind SD und VK als 0 angegeben.

**Tabelle 53:** Studie 2 zur Präzision des Aptima HPV Assays: Signal-Variabilität für Panelproben mit erwartetem positivem Ergebnis

Panelbeschreibung (Kopien oder Zellen/Reaktion)	n	Mittl. S/CO	Zwischen Geräten		Zwischen Anwendern		Zwischen Chargen		Zwischen Arbeitslisten		Innerhalb von Arbeitslisten		Gesamt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
HPV-hochpositive klinische Probe 1	161*	26,81	0,75	2,8	0,00	0,0	0,91	3,4	0,48	1,8	1,84	6,9	2,24	8,3
HPV-hochpositive klinische Probe 2	162	28,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,96	3,3	0,65	2,3	2,35	8,2	2,62	9,1
HPV-16-IVT (1830 Kopien)	161*	11,07	0,14	1,2	0,00	0,0	0,05	0,5	0,16	1,4	0,32	2,9	0,39	3,5
HPV-18-IVT (1550 Kopien)	162	13,34	0,14	1,1	0,12	0,9	1,00	7,5	0,31	2,3	0,75	5,6	1,31	9,8
HPV-niedrigpositive klinische Probe 1	162	7,57	0,56	7,5	0,55	7,3	0,63	8,3	0,00	0,0	3,61	47,7	3,75	49,5
HPV-niedrigpositive klinische Probe 2	162	7,59	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	5,25	69,2	5,25	69,2
HPV-niedrigpositive klinische Probe 3	161*	8,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	3,0	0,00	0,0	3,48	39,4	3,49	39,5
HPV-niedrigpositive klinische Probe 4	162	4,95	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	15,2	0,00	0,0	3,35	67,6	3,43	69,3
HPV-16-IVT (183 Kopien)	162	11,02	0,13	1,2	0,11	1,0	0,12	1,1	0,13	1,2	0,54	4,9	0,59	5,4
HPV-18-IVT (155 Kopien)	159*	11,40	0,16	1,4	0,17	1,5	1,21	10,6	0,23	2,0	1,17	10,3	1,72	15,0
MS751-Zellen (0,63 Zellen)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
HeLa-Zellen (0,35 Zellen)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
SiHa-Zellen (0,90 Zellen)	162	7,30	0,32	4,3	0,00	0,0	0,93	12,7	1,04	14,3	3,49	47,8	3,77	51,7

\*Sechs Proben erbrachten ungültige Ergebnisse im Aptima HPV Assay (1 für HPV-hochpositive klinische Probe 1, 1 für HPV-16-IVT (1830 Kopien), 1 für HPV-niedrigpositive klinische Probe 3, 3 für HPV-18-IVT (155 Kopien).

VK = Variationskoeffizient; IVT = In-vitro-Transkript; SD = Standardabweichung

**Hinweis:** Bei einigen Faktoren kann die Variabilität zahlenmäßig negativ sein. Dies liegt daran, dass die Variabilität aufgrund dieser Faktoren sehr gering ist. In diesen Fällen sind SD und VK als 0 angegeben.

## Kreuzreaktivität

Tests mit potenziell kreuzreagierenden Organismen für den Aptima HPV Assay wurden mit dem Tigris DTS System durchgeführt. Die Ergebnisse finden Sie unter *Kreuzreaktivität* (Tabelle 28) im Abschnitt zum Tigris DTS System.

## Interferenz

Tests mit potenziell interferierenden Substanzen für den Aptima HPV Assay wurden mit dem Tigris DTS System durchgeführt. Die Ergebnisse finden Sie unter *Interferenz* (Tabelle 29) im Abschnitt zum Tigris DTS System.

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

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



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

Kundensupport: +1 800-442-9892  
customersupport@hologic.com

Technischer Kundendienst: +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com



**Hologic N.V.**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium



For more contact information visit [www.hologic.com](http://www.hologic.com).

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

Hologic, Aptima, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep und Tigris sind Marken und/oder eingetragene Marken von Hologic, Inc. und/oder seinen Tochterunternehmen in den Vereinigten Staaten und/oder anderen Ländern.

eppendorf (stilisiert) und REPEATER sind Marken der Eppendorf AG.

RAININ ist eine Marke von Rainin Instruments, LLC.

TECAN und FREEDOM EVO sind Marken der Tecan Group AG.

SUREPATH und PREPSTAIN sind Marken von TriPath Imaging, Inc.

Alle anderen in der Packungsbeilage angegebenen Marken sind Eigentum der jeweiligen Inhaber.

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

© 2007-2018 Hologic, Inc. Alle Rechte vorbehalten.  
AW-14517-801 Rev. 005

2018-03