

## VERWENDUNGSZWECK

Der **BD Onclarity HPV Assay (HPV-Test)** ist ein amplifizierter DNA-Test für den qualitativen Nachweis von Hochrisikotypen der humanen Papillomaviren (HPV). Mit dem Assay können alle Hochrisiko-HPV-Typen (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 und 68) nachgewiesen werden. Außerdem bietet er die Möglichkeit zur Genotypisierung von sechs Hochrisikotypen (HPV 16, 18, 31, 45, 51 und 52). Zu den mit dem **BD Onclarity HPV Assay** getesteten zervikalen Proben zählen **BD Onclarity HPV Cervical Brush Collection Kit** (zervikales Bürsten-Entnahmeset), **BD SurePath** Preservative Fluid (Konservierungsflüssigkeit) und PreservCyt-Lösung. (Dazu wird ein Aliquot verwendet, das vor oder nach der Verarbeitung für den **BD SurePath**- oder ThinPrep-Pap-Test entnommen wird). Der **BD Onclarity HPV Assay** wird mit dem **BD Viper LT System** durchgeführt.

## ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Humane Papillomaviren (HPV) sind die am häufigsten vorkommenden sexuell übertragbaren Viren weltweit. Rund 50 % aller sexuell aktiven Personen leiden einmal in ihrem Leben an einer HPV-Erkrankung im Genitalbereich. Die Betroffenen wissen häufig nicht, dass sie infiziert sind, und ergreifen keine Maßnahmen, um eine Übertragung des Virus auf andere zu verhindern. Es sind mehr als 40 HPV-Typen bekannt, die eine Infektion des Genitalbereichs auslösen können.<sup>1</sup> In vielen Fällen handelt es sich um transiente HPV-Infektionen, die von alleine ausheilen. In einigen Fällen ist das Virus jedoch persistent und löst eine abnorme Entwicklung normaler Zellen aus, die zu einer Krebserkrankung führt. Diese onkogenen HPV-Typen werden als Hochrisikoviren eingestuft. Zu diesen zählen unter anderem HPV 16 und 18. Andere Typen werden als Niedrigrisikoviren bezeichnet, da von diesen kein Krebsrisiko auszugehen scheint. Laut der World Health Organization (WHO) ist HPV weltweit mit etwa 250.000 Todesfällen pro Jahr die zweithäufigste Ursache für krebserkrankte Todesfälle bei Frauen. Allein in Europa sterben jährlich etwa 15.000 Menschen an der Erkrankung.<sup>2</sup> Schätzungen zufolge werden fast 70 % aller Fälle von Gebärmutterhalskrebs durch die HPV-Typen 16 und 18 hervorgerufen.<sup>3</sup>

Heute können Ärzte Pap-Tests einsetzen, um Veränderungen an den Zellen des Gebärmutterhalses festzustellen. Weisen diese Zellen Anomalitäten auf, kann ein HPV-Test durchgeführt werden, um zu untersuchen, ob die Veränderungen der Gebärmutter durch einen HPV-Typ hervorgerufen werden, der zu Gebärmutterhalskrebs führen kann. Nicht alle molekularen Assays können die verschiedenen HPV-Typen unterscheiden

Mit dem **BD Viper LT System** durchgeführt, ist der **BD Onclarity HPV Assay** ein amplifizierter DNA-Assay für den qualitativen Nachweis von Hochrisikotypen der humanen Papillomaviren (HPV). Mit dem Assay können die HPV-Typen 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 und 68 nachgewiesen werden. Außerdem bietet er gleichzeitig die Möglichkeit zur Identifizierung der Hochrisikotypen 16, 18, 31, 45, 51 und 52 sowie anderer Hochrisiko-Genotypen, die nach Genotypgruppe berichtet werden (P1: 33/58; P2: 56/59/66; P3: 35/39/68). Zu den zervikalen Proben, die mit dem **BD Onclarity HPV Assay** getestet werden können, zählen **BD SurePath** Preservative Fluid (mithilfe eines Aliquots, das vor oder nach der Verarbeitung für den **BD SurePath**-Pap-Test entnommen wird), PreservCyt-Lösung (mithilfe eines Aliquots, das vor oder nach der Verarbeitung für den PreservCyt-Pap-Test entnommen wird) und **BD Onclarity HPV Cervical Brush Collection Kit**.

## VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Der **BD Onclarity Human Papillomavirus (HPV) Assay** wurde für die Verwendung mit der **BD SurePath** Preservative Fluid (mithilfe eines Aliquots, das vor oder nach der Verarbeitung für den **BD SurePath**-Pap-Test entnommen wird), der PreservCyt-Lösung (mithilfe eines Aliquots, das vor oder nach der Verarbeitung für den PreservCyt-Pap-Test entnommen wird) und dem **BD Onclarity HPV Cervical Brush Collection Kit**, den zugehörigen Reagenzien, dem **BD Viper LT System** und der **BD FOX** Extraction (Extraktion) entwickelt.

Die Proben durchlaufen einen Vorwärmeschritt im **BD Pre-warm Heater** (Vorwärmblock). Dieser dient der Homogenisierung der Matrix, der Lysierung der Zellen und der Freisetzung der DNA, die extrahiert und amplifiziert werden kann. Nach dem Kühlvorgang werden die Proben in das **BD Viper LT System** eingesetzt, in dem anschließend die Schritte zur Extraktion und Amplifikation der Ziel-DNA erfolgen, ohne dass ein weiteres Eingreifen durch den Benutzer erforderlich ist. Die Probe wird in ein Extraktionsröhrchen übertragen, das Eisenoxidpartikel in löslicher Folie enthält. Anschließend wird Säure hinzugefügt, um den pH-Wert zu senken und das Eisenoxid positiv zu laden, was wiederum zur Bindung der negativ geladenen DNA führt. Dann werden die Partikel und die gebundene DNA mit Magneten an die Seiten des Extraktionsröhrchens gezogen und die behandelte Probe wird angesaugt und entsorgt. Die Partikel werden gereinigt und es wird ein Elutionspuffer mit hohem pH-Wert hinzugefügt, um die gereinigte DNA zu eluieren. Schließlich wird ein Neutralisierungspuffer verwendet, um den pH-Wert des Eluats für die Amplifikation der DNA zu optimieren.

Der **BD Onclarity HPV Assay** basiert auf dem gleichzeitigen Amplifizieren und Nachweisen der Ziel-DNA mithilfe von Amplifikations-Primern und mit fluoreszierendem Farbstoff markierten Nachweisenden unter Verwendung einer Polymerase-Kettenreaktion (PCR) in Echtzeit. Die Reagenzien liegen getrocknet in drei Röhrchen (G1, G2 und G3) vor, mithilfe derer die 14 HPV-Genotypen nachgewiesen werden können, sowie in einer aus der Probe gewonnenen internen Kontrolle, bestehend aus DNA-Fragmenten des humanen Beta-Globin-Gens. Jedes einzelne Röhrchen enthält die Amplifikations-Primer, mit fluoreszierendem Farbstoff markierte Nachweisenden, DNA-Polymerase, Nukleotide und weitere, für die Amplifikation erforderliche Reagenzien zu dem jeweiligen Assay. Das **BD Viper LT System** pipettiert einen Teil der gereinigten DNA-Lösung aus jedem Extraktionsröhrchen in eines der drei **BD Onclarity HPV-PCR-Röhrchen** (G1, G2 und G3), die anschließend versiegelt werden, um eine Kontamination zu verhindern. Das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von HPV-DNA wird anhand des PCR-Zyklus bestimmt, bei dem das Signal einen vordefinierten Schwellenwert überschreitet. Zusätzlich wird als interne Kontrolle zur Beurteilung der Verarbeitung, Extraktion und Amplifikation der Probe im Rahmen des Assays ein Fragment des humanen Beta-Globin-Gens extrahiert, amplifiziert und nachgewiesen.

## MITGELIEFERTE REAGENZIEN UND ARBEITSMATERIALIEN:

Jede Reagenzienpackung des **BD Onclarity HPV Assay** enthält:

**BD Onclarity HPV G1-PCR-Röhrchen**, 2 x 96: jedes G1-PCR-Röhrchen enthält ca. 32,5 pmol Oligonukleotide, 20 pmol mit fluoreszierendem Farbstoff markierte Nachweissonde, 80 nmol dNTPs und 0,52 Einheiten DNA-Polymerase mit Stabilisatoren und Pufferkomponenten.

**BD Onclarity HPV G2-PCR-Röhrchen**, 2 x 96: jedes G2-PCR-Röhrchen enthält ca. 42,5 pmol Oligonukleotide, 30 pmol mit fluoreszierendem Farbstoff markierte Nachweissonde, 80 nmol dNTPs und 0,52 Einheiten DNA-Polymerase mit Stabilisatoren und Pufferkomponenten.

**BD Onclarity HPV G3-PCR-Röhrchen**, 2 x 96: jedes G3-PCR-Röhrchen enthält ca. 42,5 pmol Oligonukleotide, 25 pmol mit fluoreszierendem Farbstoff markierte Nachweissonde, 80 nmol dNTPs und 0,52 Einheiten DNA-Polymerase mit Stabilisatoren und Pufferkomponenten.

**HINWEIS:** Jeder Beutel enthält einen Trockenmittelbeutel.

Kontrollset für den **BD Onclarity HPV Assay**: 24 **BD Onclarity HPV Positive Control Tubes** (Positiv-Kontrollröhrchen) mit ca. 14.430 Kopien von linearisierten HPV 16-Plasmiden, 8.325 Kopien von linearisierten HPV 18-Plasmiden, 8.418 Kopien von linearisierten HPV 56-Plasmiden sowie 3.885 Kopien eines Plasmids mit einer Gensequenz des humanen Beta-Globins in Trägermolekülsäure und 24 **BD Onclarity HPV Negative Control Tubes** (Negativ-Kontrollröhrchen), die nur Trägermolekülsäure enthalten. Die Konzentrationen der Trägermolekülsäure und der Plasmide werden mittels Spektralphotometrie bestimmt.

**BD Onclarity HPV Liquid-Based Cytology Specimen (LBC) Diluent Tubes** (Verdünnungsmittelröhrchen): 400 Röhrchen mit jeweils ca. 1,7 mL Puffer mit Salz, Reinigungsmittel und Konservierungsmittel.

**BD FOX PCR Extraction Tubes** (PCR-Extraktionsröhrchen): 48 Streifen mit 8 Röhrchen, die jeweils ca. 10 mg Eisenoxid in löslicher Folie enthalten.

**BD Viper PCR Extraction Reagent Trough with Piercing Tool** (PCR-Extraktionsreagenzbehälter und Punktionswerkzeug): Jeder mit 5 Kammern versehene Extraktionsreagenzbehälter enthält ca. 16,5 mL bindende Säure, 72,5 mL Waschpuffer, 25,4 mL Elutionspuffer und 19,4 mL Neutralisierungspuffer mit Konservierungsmittel sowie 15,5 mL Abfallneutralisierungslösung.

## GERÄT, LABORUTENSILIEN UND VERBRAUCHSMATERIALIEN

**Mitgeliefertes Arbeitsmaterial:** **BD Onclarity HPV Cervical Brush Collection Kit**, **BD Viper LT Instrument** (Gerät), **BD Viper LT Instrument Plates** (Geräteplatten), **BD Viper LT Pipette Tips** (Pipettenspitzen), **BD Viper LT Solid Waste Liners** (Beutel für Feststoffabfall), **BD Viper LT System PCR Tube/Tray Kit** (PCR-Röhrchen-/Schalen-Kit), **BD Viper LT System PCR Accessory Kit** (PCR-Zubehörkit), **BD Viper Pre-warm Heater** (Vorwärmblock), **BD Viper LT Specimen Rack** (Probenständer), **BD Viper Neutralization Pouches**, Specimen Tubes and Caps (Neutralisierungsbeutel, Probenröhrchen und Kappen) zur Verwendung mit dem **BD Viper-System** (Extraktionsmodus), **BD ProbeTec™ Chlamydia trachomatis Neisseria gonorrhoeae (CT/GC) Amplified DNA Assay** Endocervical Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit (Kit für die endozervikale Entnahme und den TROCKENTRANSPORT von Proben für den amplifizierten DNA-Test).

**Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial:** Nitrilhandschuhe, Verdünnungspipetten, aerosolbeständige Pipettenspitzen aus Polypropylen für  $0,5 \pm 0,05$  mL, Vortex-Mischer, 0,5%iges (v/v) Natriumhypochlorit, 1%iges (v/v) Natriumhypochlorit, 3%iges (w/v) Wasserstoffperoxid, Isopropyl-Alkohol, nukleasefreies Wasser für molekularbiologische Zwecke.

**Aufbewahrung und Handhabung:** Das **BD Onclarity HPV LBC Diluent** (Verdünnungsmittel) und das **BD Onclarity HPV Cervical Brush Diluent** (Verdünnungsmittel für die zervikale Bürste) müssen bei 2 – 25 °C aufbewahrt werden. Alle anderen Reagenzien können bei 2 – 33 °C aufbewahrt werden. Ungeöffnet sind die Reagenzienpackungen bis zum Verfallsdatum stabil. Nach dem Öffnen eines Beutels sind die ordnungsgemäß verschlossenen PCR-Röhrchen 4 Wochen lang bzw. bis zum Verfallsdatum stabil (es gilt der jeweils frühere Zeitpunkt). Nicht einfrieren.

## WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. *In-vitro*-Diagnostikum.
2. Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z. B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“<sup>4-7</sup> sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Weitere spezielle Vorsichts- und Warnhinweise sowie Anmerkungen zum **BD Viper LT**-Gerät enthält das Benutzerhandbuch zum **BD Viper LT T-System**.

### Proben:

3. Für flüssigkeitsbasierte Zytologieproben nur die **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** verwenden.
4. Für zervikale Bürstenabstriche nur das **BD Onclarity HPV Cervical Brush Collection Kit** verwenden.
5. Für ein optimales Ergebnis des **BD Onclarity HPV Assay** ist Voraussetzung, dass die Proben ordnungsgemäß entnommen, gehandhabt und transportiert werden.
6. Zervikale Bürste bei der Abstrichentnahme nicht zu stark drehen, um unnötiges Bluten zu reduzieren.
7. Die zum Labor gesandten Proben müssen ordnungsgemäß beschriftet sein.
8. Beim Abbrechen des Stiels der zervikalen Bürste darauf achten, dass der Inhalt nicht verspritzt oder verschüttet wird oder Aerosole entstehen. Kopf der zervikalen Bürste vor Kontamination schützen.
9. Kreuzkontamination während der Handhabung der Proben vermeiden. Sicherstellen, dass die Probenbehälter nicht mit anderen in Berührung kommen. Verwendetes Arbeitsmaterial entsorgen, ohne dieses über offene Probenbehälter hinweg zu transportieren. Sollten die Handschuhe mit den Proben in Berührung kommen, sind sie zu wechseln, um eine Kreuzkontamination zu vermeiden.
10. Eine übermäßige oder zu geringe Befüllung der **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** mit LBC-Proben kann die Testleistung beeinträchtigen. Eine übermäßige Befüllung der Röhrchen kann auch zu einem Überlaufen von Flüssigkeit auf das **BD Viper LT**-Deck führen und Kontaminationen verursachen.

11. Zervikale Proben müssen vor Ablauf des Verfallsdatums des **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchens** oder des **BD Onclarity HPV Cervical Brush Diluent-Röhrchens** entnommen und getestet werden.
12. Zum Transferieren von Proben in die **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** dürfen nur aerosolbeständige Pipettenspitzen aus Polypropylen verwendet werden.

#### Test/Reagenz:

13. Die **BD Onclarity HPV Positive** und **Negative Controls** müssen innerhalb von 24 Stunden nach der Hydrierung vorgewärmt werden.
14. Nur Proben- und Kontrollröhrchen mit durchbohrbaren Kappen im **BD Viper LT System** verwenden. Die durchbohrbaren Kappen vor dem Starten des Geräts nicht entfernen. Punktierbare durchbohrbare Kappen vor dem Starten des Geräts unbedingt durch neue durchbohrbare Kappen ersetzen.
15. Reagenzien aus Kits mit verschiedenen Chargennummern nicht gegeneinander austauschen oder miteinander kombinieren.
16. **BD Onclarity HPV Cervical Brush Diluent-Röhrchen** nicht testen, wenn die Bürste beim Eintreffen im Labor fehlt. Andernfalls kann es zu falsch negativen Testergebnissen kommen.
17. Nur die **BD Viper LT-Pipettenspitzen** verwenden, die im Lieferumfang des **BD Viper LT Systems** enthalten sind.
18. **BD Viper PCR Extraction Reagent Trough with Piercing Tool** (PCR-Extraktionsreagenzbehälter und Punktionswerkzeug)

#### VORSICHT



- H314** Versursacht schwere Verätzungen und schwere Augenschäden. **H302** Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. **P260** Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen. **P280** Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. **P303/361/353** BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen. **P304/340** BEI EINATMEN: Die betroffene Person an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. **P405** Unter Verschluss aufbewahren. **P501** Inhalt/Behälter gemäß den örtlichen/regionalen/nationalen/internationalen Bestimmungen entsorgen.
19. Nur die **BD Viper LT Clear Plate Sealers** (durchsichtigen Plattensiegel) auf den PCR-Röhrchen mit dem **BD Viper LT System** verwenden.
  20. Reagenzienbeutel mit nicht verwendeten PCR-Röhrchen **MÜSSEN** nach dem Öffnen wieder sorgfältig verschlossen werden. Vor dem Verschließen der Reagenzienbeutel sicherstellen, dass Trockenmittel vorhanden ist.
  21. Die PCR-Röhrchen **MÜSSEN** vor dem Entfernen der Platte aus dem **BD Viper LT System** ordnungsgemäß mit den **BD Viper LT Clear Plate Sealers** verschlossen werden. Das Verschließen gewährleistet eine geschlossene Reaktion bei Amplifikation und Nachweis und ist notwendig, um eine Kontamination des Geräts und des Arbeitsbereichs mit Amplifikationsprodukten zu vermeiden. **Keinesfalls die Abdeckung von den PCR-Röhrchen entfernen.**
  22. Zur Entsorgung der getesteten PCR-Röhrchen die im **BD Viper LT System PCR Accessory Kit** (PCR-Zubehör-Kit) enthaltenen Entsorgungsbeutel verwenden, um eine Kontamination des Arbeitsbereichs mit Amplifikationsprodukten zu vermeiden. Vor der Entsorgung sicherstellen, dass die Beutel ordnungsgemäß verschlossen sind.
  23. Aufgrund des Designs des **BD Viper LT Systems**, durch das das Amplikon-Kontaminierungsrisiko im Testbereich reduziert wird, ist zwar kein dedizierter Arbeitsbereich erforderlich, jedoch müssen anderweitige Vorsichtsmaßnahmen, insbesondere zur Vermeidung von Probenkontaminationen während der Verarbeitung, getroffen werden.
  24. Sollten die Handschuhe mit den Proben in Berührung kommen oder feucht erscheinen, **HANDSCHUHE unverzüglich WECHSELN**, um Kontaminationen anderer Proben zu vermeiden. Handschuhe vor dem Verlassen des Arbeitsbereichs und beim erneuten Betreten des Arbeitsbereichs wechseln.
  25. Im Falle einer Kontamination die Reinigungsanweisungen im Benutzerhandbuch zum **BD Viper LT System** befolgen.
  26. Im Fall eines ungewöhnlichen Vorgangs, z. B. bei einer Verschüttung in das **BD Viper LT-Gerät** oder bei einer DNA-Kontamination, die durch Reinigen nicht beseitigt werden kann, den technischen Kundendienst und Support von **BD** verständigen.

#### PROBENENTNAHME UND -TRANSPORT

Zu den zervikalen Proben, die mit dem **BD Onclarity HPV Assay** getestet werden können, zählen **BD Onclarity HPV Cervical Brush Collection Kit**, **BD SurePath Preservative Fluid** (mithilfe eines Aliquots, das vor oder nach der Verarbeitung für den **BD SurePath-Pap-Test** entnommen wird) und **PreservCyt-Lösung** (mithilfe eines Aliquots, das vor oder nach der Verarbeitung für den **ThinPrep-Pap-Test** entnommen wird).

Für den Versand im In- und Ausland sind die Proben gemäß den jeweils geltenden gesetzlichen Bestimmungen für den Transport von medizinischen Proben und Krankheitserregern bzw. infektiösen Substanzen zu beschriften. Während des Transports sind die maximalen Lagerzeiten und die Temperaturbedingungen für die Lagerung einzuhalten.

#### ENTNAHME VON ZERVIKALEN BÜRSTENABSTRICHEN

1. **BD Onclarity HPV Cervical Brush** in den Zervikalkanal einführen, bis nur noch die untersten Borsten der Bürste aus dem Muttermund herausragen. ¼- bis ½-Drehung in eine Richtung drehen. Bürste nicht überdrehen, um unnötiges Bluten zu reduzieren.
2. Den Deckel des **BD Onclarity HPV Cervical Brush Diluent-Röhrchens** entfernen und die Bürste unverzüglich bis zum Röhrchenboden einführen.
3. Den Stiel der Bürste vorsichtig an der perforierten Linie abbrechen. Verspritzen des Inhalts vermeiden.
4. Das Röhrchen wieder fest verschließen.

## LAGERUNG UND TRANSPORT VON ZERVIKALEN BÜRSTENABSTRICHEN

Die zervikalen Bürstenabstriche in **BD Onclarity HPV Cervical Brush Diluent-Röhrchen** müssen innerhalb von 30 Tagen nach Probenentnahme zum Labor und/oder Testzentrum transportiert werden, wenn sie bei Temperaturen von 2 – 30 °C gelagert werden, oder innerhalb von 30 Tagen, wenn sie bei -20 °C gefroren gelagert werden. Proben dürfen nicht über das Verfallsdatum des Verdünnungsmittelröhrchens für die zervikale Bürste hinaus gelagert und transportiert werden.

## ENTNAHME VON LBC-PROBEN

**BD SurePath-** oder PreservCyt-Proben müssen entweder mit einer endozervikalen Bürste oder einer endozervikalen Bürste-Spatel-Kombination gemäß den Anweisungen in der **BD SurePath-** bzw. PreservCyt-Packungsbeilage entnommen werden. Nach der Entnahme können **BD SurePath-** oder PreservCyt-Proben in der Originalflasche bei 2 – 30 °C bis zu 30 Tage gelagert bzw. transportiert werden oder bei -20 °C gefroren 30 Tage gelagert werden, bevor sie in **BD Onclarity HPV LBC Specimen Diluent-Röhrchen** (Probenverdünnungsmittelröhrchen) übertragen werden.

## LAGERUNG UND TRANSPORT VON LBC-PROBEN

### LBC-Probenübertragung in **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** – vor oder nach dem Entfernen eines Aliquots für die Verarbeitung für den **BD SurePath-** oder **ThinPrep-Test**.

Ein Aliquot von 0,5 mL der **BD SurePath-** oder der PreservCyt-Probe wird vor oder nach der Verarbeitung für den **BD SurePath-** bzw. **ThinPrep-Pap-Test** aus der Originalflasche in das **BD Onclarity HPV LBC Specimen Diluent-Röhrchen** von Hand übertragen. Bei der Handhabung des **BD Onclarity HPV LBC Specimen Diluent-Röhrchens** und der **BD SurePath-** oder PreservCyt-Probenflasche müssen Handschuhe getragen werden. Sollten die Handschuhe mit den Proben in Berührung kommen, sind sie unverzüglich zu wechseln, um keine anderen Proben zu kontaminieren.

### **BD SurePath-Probenübertragung vor oder nach der Verarbeitung für den **BD SurePath-Test****

**HINWEIS:** Die Packungsbeilage zum **BD PrepStain Slide Processor** (Objekträgerverarbeitungssystem) oder **BD Totalys SlidePrep** (Objekträgerverarbeitungssystem) enthält Anweisungen zur Entnahme eines Aliquots aus der **BD SurePath-Probenflasche** vor der Durchführung des flüssigkeitsbasierten **BD SurePath-Pap-Tests**.

**HINWEIS:** Jede Probe einzeln verarbeiten.

1. Das **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** mit den Patientenkenndaten beschriften.
2. Die Kappe des **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchens** abnehmen.
3. Zur Herstellung einer homogenen Mischung das **BD SurePath-Probenröhrchen** 10 – 20 s lang vortexen.
4. Mithilfe einer aerosolbeständigen Spitze schnell innerhalb einer Minute nach dem Vortexen 0,5 mL aus der Probenflasche in das **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** transferieren.
5. Pipettenspitze entsorgen.  
**HINWEIS:** Für jede Probe ist die Verwendung einer neuen Pipettenspitze erforderlich.
6. Das **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** mit der Kappe fest verschließen.
7. Das **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** 3 – 4 Mal umdrehen, um eine gründliche Mischung von Probe und Verdünnungsmittel zu gewährleisten.

### **PreservCyt-Probenübertragung vor oder nach der Verarbeitung für den **ThinPrep-Pap-Test****

**HINWEIS:** Im Nachtrag zum **ThinPrep 2000/3000 System-Benutzerhandbuch** finden Sie Anweisungen zur Entnahme eines Aliquots aus der PreservCyt-Probenflasche vor der Durchführung des **ThinPrep-Tests**.

**HINWEIS:** Jede Probe einzeln verarbeiten.

1. Das **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** mit den Patientenkenndaten beschriften.
2. Die Kappe des **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchens** abnehmen.
3. Zur Herstellung einer homogenen Mischung die PreservCyt-Probenflasche bei hoher Geschwindigkeit 8 – 12 s lang vortexen.
4. Sofort mithilfe einer aerosolbeständigen Spitze 0,5 mL aus der Probenflasche in das **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** transferieren.
5. Pipettenspitze entsorgen.  
**HINWEIS:** Für jede Probe ist die Verwendung einer neuen Pipettenspitze erforderlich.
6. Das **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** mit der Kappe fest verschließen.
7. Das **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** 3 – 4 Mal umdrehen, um eine gründliche Mischung von Probe und Verdünnungsmittel zu gewährleisten.

### Lagerung und Transport von Proben, die in **BD HPV LBC Diluent-Röhrchen** übertragen wurden

Nach der manuellen Übertragung in ein **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** können die verdünnten Proben bis zu 15 Tage lang bei 2 – 30 °C oder bis zu 30 Tage lang bei -20 °C gelagert werden.

## VERARBEITUNGSVERFAHREN FÜR ALLE PROBEN

**HINWEIS:** Bei gefrorenen Proben sicherstellen, dass sie bei Raumtemperatur vollständig aufgetaut sind und durch Umdrehen gut gemischt wurden, bevor sie weiterverarbeitet werden.

1. Anhand des Röhrchenanordnungsberichts die Proben in der richtigen Reihenfolge in den **BD Viper LT Specimen Rack** einsetzen und einrasten lassen.
2. Damit sind die Proben für das Vorwärmen bereit.
3. Vor dem weiteren Vorgehen die Handschuhe wechseln, um Kontaminierungen zu vermeiden.

## VORBEREITUNG DER QUALITÄTSKONTROLLEN

1. Die Kappen einer **BD Onclarity HPV Negative Control** und eines **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchens** abnehmen.
2. Gesamten Inhalt des **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchens** in die **BD Onclarity HPV Negative Control** geben.

3. Die rehydrierte **BD Onclarity HPV Negative Control** wieder verschließen. Das leere **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** wieder verschließen und entsorgen.
4. Die Kappen einer **BD Onclarity HPV Positive Control** und eines **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchens** abnehmen.
5. Gesamten Inhalt des **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchens** in die **BD Onclarity HPV Positive Control** geben.
6. Die rehydrierte **BD Onclarity HPV Positive Control** wieder verschließen. Das leere **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** wieder verschließen und entsorgen.
7. Anhand des Röhrchenanordnungsberichts die rehydrierte **BD Onclarity HPV Negative Control** an der richtigen Position in das **BD Viper LT Specimen Rack** einsetzen.
8. Anhand des Röhrchenanordnungsberichts die rehydrierte **BD Onclarity HPV Positive Control** an der richtigen Position in das **BD Viper LT Specimen Rack** einsetzen.
9. Damit sind die Kontrollen für das Vorwärmen mit den Proben bereit.

**HINWEIS:** Kontrollen müssen innerhalb von 24 Stunden nach der Hydrierung vorgewärmt werden.

#### **VORWÄRMVERFAHREN**

**HINWEIS:** Das Vorwärmverfahren muss für alle Proben durchgeführt werden, um sicherzustellen, dass die Probenmatrix homogen ist, bevor sie in das **BD Viper LT System** eingesetzt wird. Werden Proben nicht vorgewärmt, kann dies die Leistung des **BD Onclarity HPV Assay** und/oder des **BD Viper LT Systems** beeinträchtigen.

**HINWEIS:** Gefrorene oder im Kühlschrank aufbewahrte Proben müssen vor dem Vorwärmen bei Raumtemperatur vollständig aufgetaut werden.

1. Das **BD Viper LT Specimen Rack** in den **BD Pre-warm Heater** einsetzen und das Vorwärmprotokoll für den **BD Onclarity HPV Assay** auf dem **BD Viper LT-Gerät** auswählen.
2. Die Proben werden durch den **BD Pre-warm Heater** automatisch vorgewärmt und das Vorwärmen wird gemäß dem Vorwärmprotokoll für den **BD Onclarity HPV Assay** gesteuert.
3. Nach Abschluss des Vorwärmprotokolls für den **BD Onclarity HPV Assay** den Ständer vom Wärmeblock nehmen und in das **BD Viper LT-Gerät** einsetzen.
4. Anweisungen zum Testen von Proben und Kontrollen siehe „Testverfahren“.
5. Nach dem Vorwärmen können Proben bis zu 7 Tage lang bei 2 – 30 °C oder 30 Tage lang bei -20 °C gelagert werden, ohne dass vor dem Testen im **BD Viper LT System** ein weiteres Vorwärmen erforderlich ist.
6. Nach dem Vorwärmen können Kontrollen bis zu 24 Stunden bei 2 – 30 °C gelagert werden, ohne dass vor dem Testen im **BD Viper LT System** ein weiteres Vorwärmen erforderlich ist.

#### **TESTVERFAHREN**

Bezüglich spezifischer Anweisungen zum Systembetrieb und zur Wartung der Systemkomponenten siehe das Benutzerhandbuch zum **BD Viper LT System**. Als optimale Umgebungsbedingungen für den HPV Test erwiesen sich 18 - 27 °C bei 20 - 85% relativer Luftfeuchtigkeit.

#### **QUALITÄTSKONTROLLE**

Die Qualitätskontrolle muss unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder der Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie der Standard-Qualitätskontrollverfahren des betreffenden Labors erfolgen. Benutzern wird geraten, die einschlägigen CLSI-Richtlinien und CLIA-Vorschriften bezüglich geeigneter Maßnahmen zur Qualitätskontrolle einzusehen.

Das Kontrollenset für den **BD Onclarity HPV Assay** ist separat erhältlich. Bei jedem Testlauf und für jede neue Reagenzien-Kit-Chargennummer müssen je eine positive Kontrolle und eine negative Kontrolle mitgeführt werden. Die Kontrollen sind gemäß dem Benutzerhandbuch zum **BD Viper LT System** zu positionieren. Die positive HPV-Kontrolle dient nur zur Überprüfung erheblichen Reagenzienversagens. Die negative HPV-Kontrolle dient zur Überprüfung auf Reagenzien- und/oder Umgebungskontaminierung. Zusätzliche Kontrollen können in Übereinstimmung mit den Richtlinien oder Auflagen der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder Akkreditierungsorganisationen getestet werden.

#### **Allgemeine QK-Informationen für das BD Viper LT System:**

Die Position der PCR-Röhrchen wird in einem farbcodierten Plattenanordnungsbildschirm auf dem LCD-Monitor angezeigt. Ein Pluszeichen (+) in einem Röhrchen gibt an, dass es sich um eine positive QK-Probe handelt. Ein Minuszeichen (-) in einem Röhrchen gibt an, dass es sich um eine negative QK-Probe handelt. Für jede Reagenzien-Kit-Chargennummer muss ein QK-Paar eingegeben werden. Wenn die QK-Paare nicht ordnungsgemäß eingegeben wurden, wird ein Meldungsfenster angezeigt, das das Speichern des Ständers und ein Fortsetzen des Durchlaufs verhindert, bis die Qualitätskontrolle vollständig ist. Es können weitere (optionale) QK-Röhrchen eingegeben werden. Diese Röhrchen werden als normale Proben getestet und haben keine Auswirkungen auf den Status „Bestanden“ bzw. „Nicht bestanden“ des Laufs. Informationen dazu siehe das Benutzerhandbuch zum **BD Viper LT Systems**.

**HINWEIS: BD Onclarity HPV-Kontrollen** müssen vor dem Einsetzen in das **BD Viper LT Specimen Rack** manuell hydriert werden.

#### **Interpretation der Qualitätskontrollergebnisse:**

Die **BD Onclarity HPV Positive Control** (Positivkontrolle) und die **BD Onclarity HPV Negative Control** (Negativkontrolle) müssen positiv bzw. negativ ausfallen, damit Patientenergebnisse berichtet werden können. Wenn die Kontrollen nicht erwartungsgemäß ausfallen, ist der Testlauf ungültig und die Patientenergebnisse werden vom Gerät nicht berichtet. Wenn eine der Kontrollen nicht die zu erwartenden Ergebnisse erbringt, den gesamten Lauf mit einem neuen Kontrollenset, neuen Extraktionsröhrchen, einer neuen Extraktionsreagenzmulde und neuen PCR-Röhrchen wiederholen. Wenn sich das Problem nicht lösen lässt, zusätzliche Informationen vom technischen Kundendienst und Support von **BD** anfordern.

**Tabelle 1: Interpretation der Qualitätskontrollergebnisse**

Kontrolltyp	Symbol im Röhrchenergebnisbericht	QK-Ergebnis
<b>BD Onclarity</b> HPV Positive Control	OK	QK bestanden
<b>BD Onclarity</b> HPV Positive Control		QK nicht bestanden
<b>BD Onclarity</b> HPV Positive Control		QK nicht bestanden
<b>BD Onclarity</b> HPV Positive Control		QK nicht bestanden
<b>BD Onclarity</b> HPV Negative Control	OK	QK bestanden
<b>BD Onclarity</b> HPV Negative Control		QK nicht bestanden
<b>BD Onclarity</b> HPV Negative Control		QK nicht bestanden
<b>BD Onclarity</b> HPV Negative Control		QK nicht bestanden

Die Symbole im Röhrchenergebnisbericht sind unter „Interpretation der Testergebnisse“ beschrieben.

**INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE**

Beim **BD Onclarity** HPV Assay wird eine Polymerase-Kettenreaktion in Echtzeit verwendet, um humane Papillomaviren (HPV) in klinischen Proben nachzuweisen. Alle Berechnungen werden durch die **BD Viper** LT-Software automatisch durchgeführt. Das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von klinisch relevanter HPV-DNA wird anhand des PCR-Zyklus (Ct) bestimmt, bei dem das Signal einen vordefinierten Schwellenwert überschreitet. Im Rahmen des Assays wird ein Fragment des humanen Beta-Globin-Gens extrahiert, amplifiziert und nachgewiesen. Dies dient als interne Kontrolle zur Bewertung der Verarbeitung, Extraktion und Amplifikation der Probe und bietet Hinweise auf das Vorhandensein von PCR-Inhibitoren. Wenn das HPV-spezifische Signal höher als ein Schwellenwert des Zyklus ist, verwendet der Algorithmus bei der Interpretation der Ergebnisse die interne Kontrolle. Wenn das HPV-spezifische Signal kleiner oder gleich einem Schwellenwert des Zyklus ist, ignoriert der Algorithmus die interne Kontrolle.

Bei HPV-Proben wird im Röhrchenergebnisbericht ein „HR“-Ergebnis (die Kombination aller Genotypen) angezeigt. Ein positives Symbol in dieser Spalte zeigt an, dass für einen oder mehrere Genotypen, die mit dem HPV-Assay nachgewiesen werden können, ein positives Ergebnis erzielt wurde. Die Spalte „GT“ wird verwendet, um die Ergebnisse für Genotypen anzuzeigen, die in Ihrer Region nicht verfügbar sind. Diese Ergebnisse können nicht gekauft werden.

Die spezifischen Genotypen und kombinierten Genotypen werden in Spalten angezeigt. Wenn das Ergebnis für einen Genotyp gekauft wurde, werden diese Ergebnisse wie im Folgenden erläutert berichtet. Wenn die Ergebnisse für einen Genotyp nicht für den automatischen Erwerb konfiguriert wurden, sind diese Ergebnisse durch ein „Schlüssel“-Symbol verdeckt.

Das Gerät kann so konfiguriert werden, dass spezifische Genotypen gekauft/berichtet werden, nachdem der Lauf beendet ist. Für Anweisungen zur Autorisierung des automatischen Berichtens von Genotypen siehe das Benutzerhandbuch zum **BD Viper** LT System.

Falls die Kontrollergebnisse nicht erwartungsgemäß ausfallen, werden die Patientenergebnisse nicht berichtet. Informationen zu den erwarteten Kontrollwerten siehe den Abschnitt zur Qualitätskontrolle. Berichtete Ergebnisse werden wie folgt interpretiert.

**Tabelle 2: Interpretation der Ergebnisse des Tests auf Hochrisiko-HPV-Genotypen für den BD Onclarity HPV Assay**

Hochrisiko-HPV-Ergebnis	Interpretation	Ergebnis
HR	Positiv auf Hochrisiko-HPV-Typen	HPV-HR positiv
HR	Negativ auf Hochrisiko-HPV-Typen	HPV-HR negativ
	HPV-DNA, falls vorhanden, ist nicht nachweisbar.	Versagen der internen Kontrolle
	HPV-DNA, falls vorhanden, ist nicht nachweisbar.	Extraktionstransfer fehlgeschlagen
	HPV-DNA, falls vorhanden, ist nicht nachweisbar.	Fehler beim Flüssigkeitsstand
	HPV-DNA, falls vorhanden, ist nicht nachweisbar.	Fehler

**Tabelle 3: Interpretation der Ergebnisse des Tests auf spezifische HPV-Genotypen für den BD Onclarity HPV Assay**

HPV-Genotypergebnis	Interpretation	Ergebnis
16	Positiv auf HPV-Typ 16	HPV-Typ 16 positiv
16	Negativ auf HPV-Typ 16	HPV-Typ 16 negativ
18	Positiv auf HPV-Typ 18	HPV-Typ 18 positiv
18	Negativ auf HPV-Typ 18	HPV-Typ 18 negativ
45	Positiv auf HPV-Typ 45	HPV-Typ 45 positiv
45	Negativ auf HPV-Typ 45	HPV-Typ 45 negativ

(Fortsetzung)



HPV-Genotypergebnis	Interpretation	Ergebnis
P1 ⊕+	Positiv auf HPV-Typen 33 und/oder 58	HPV-Typen 33 und/oder 58 positiv
P1 ⊖	Negativ auf HPV-Typen 33 und/oder 58	HPV-Typen 33 und/oder 58 negativ
31 ⊕+	Positiv auf HPV-Typ 31	HPV-Typ 31 positiv
31 ⊖	Negativ auf HPV-Typ 31	HPV-Typ 31 negativ
P2 ⊕+	Positiv auf HPV-Typen 56, 59 und/oder 66	HPV-Typen 56, 59 und/oder 66 positiv
P2 ⊖	Negativ auf HPV-Typen 56, 59 und/oder 66	HPV-Typen 56, 59 und/oder 66 negativ
51 ⊕+	Positiv auf HPV-Typ 51	HPV-Typ 51 positiv
51 ⊖	Negativ auf HPV-Typ 51	HPV-Typ 51 negativ
52 ⊕+	Positiv auf HPV-Typ 52	HPV-Typ 52 positiv
52 ⊖	Negativ auf HPV-Typ 52	HPV-Typ 52 negativ
P3 ⊕+	Positiv auf HPV-Typen 35, 39 und/oder 68	HPV-Typen 35, 39 und/oder 68 positiv
P3 ⊖	Negativ auf HPV-Typen 35, 39 und/oder 68	HPV-Typen 35, 39 und/oder 68 negativ
GT ⊕+	Positive(s) Ergebnis(se) für HPV-Genotyp in Ihrer Region nicht verfügbar	Positive(s) Ergebnis(se) für HPV-Genotyp eingeschränkt
GT ⊖	Negative(s) Ergebnis(se) für HPV-Genotyp in Ihrer Region nicht verfügbar	Negative(s) Ergebnis(se) für HPV-Genotyp eingeschränkt
🔑	Ergebnis für HPV-Genotyp kann gekauft werden	Genotypergebnis ist gesperrt
--	Ergebnis für HPV-Genotyp kann nicht gekauft werden	Negatives HPV-Ergebnis, Versagen der internen Kontrolle, Fehler beim Flüssigkeitsstand oder Extraktionstransfer fehlgeschlagen

### Überprüfung auf Vorliegen von DNA-Kontaminierungen

Das folgende Testverfahren sollte mindestens einmal im Monat durchgeführt werden, um den Arbeitsbereich und die Geräteoberflächen auf das Vorliegen von DNA-Kontaminierungen zu überprüfen. Die Überprüfung des Umfelds ist äußerst wichtig, um eine Kontaminierung bereits vor der Entstehung von Schwierigkeiten zu erkennen.

1. Für jeden zu testenden Bereich einen sauberen Abstrichtupfer aus dem **BD ProbeTec Chlamydia trachomatis/ Neisseria gonorrhoeae** (CT/GC) Amplified DNA Assay Endocervical Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit verwenden.
2. Etwas nukleasefreies Wasser für molekularbiologische Zwecke in einen kleinen, sauberen Behälter geben.
3. Den Abstrichtupfer in das nukleasefreie Wasser für molekularbiologische Zwecke eintauchen und anschließend in langen Zügen über den ersten Bereich streichen.
4. Die Kappe von einem **BD Onclarity HPV LBC** Diluent-Röhrchen abnehmen und den Tupfer in das Verdünnungsmittel geben. Den Abstrichtupfer zum Mischen 5 – 10 s lang im **BD Onclarity HPV Diluent-Röhrchen** schwenken.
5. Den Abstrichtupfer an der Röhrcheninnenwand ausdrücken, sodass sich die Flüssigkeit am Röhrchenboden sammelt.
6. Den Abstrichtupfer vorsichtig aus dem **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** herausziehen, um Spritzer zu vermeiden. Den Abstrichtupfer entsorgen.
7. Das **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** mit der schwarzen durchbohrbaren Kappe wieder fest verschließen.
8. Für jeden gewünschten Bereich wiederholen.
9. Wenn alle Tupferproben genommen und in Verdünnungsmittel ausgepresst wurden, diese entsprechend des Vorwärmverfahrens aufbereiten und anschließend das Testverfahren befolgen.

Weitere Informationen zur Überprüfung des Umfelds und zu den Reinigungsverfahren siehe das Benutzerhandbuch zum **BD Viper LT System**. Lässt sich ein Kontaminierungsereignis nicht beseitigen, zusätzliche Informationen vom technischen Kundendienst und Support von **BD** anfordern.

### VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

1. Voraussetzung für eine optimale Testleistung ist die ordnungsgemäße Probenentnahme und -handhabung. Siehe den Abschnitt „Probenentnahme und Transport“ in dieser Packungsbeilage.
2. Ein negatives Testergebnis schließt die Möglichkeit einer Infektion nicht aus, da die Testergebnisse durch unsachgemäße Probenentnahme, technische Fehler, Probenverwechslung oder eine Anzahl von Mikroorganismen in der Probe, die unterhalb der Nachweisgrenze des Tests liegt, beeinträchtigt werden können.
3. Der **BD Onclarity HPV Assay** liefert qualitative Ergebnisse.
4. Die Verwendung des **BD Onclarity HPV Assay** ist auf Personal beschränkt, das im Testverfahren geschult und mit dem **BD Viper LT System** vertraut ist.

### LEISTUNGSMERKMALE

An zwei geographisch unterschiedlichen Klinikstandorten in Europa wurden **BD Onclarity HPV Cervical Brush**-Proben, **BD SurePath**-Proben und/oder **PreservCyt**-Proben von 836 dem Protokoll gemäß geeigneten Frauen entnommen, die aufgrund abnormer Ergebnisse beim Pap-Test oder einer HPV-Infektion zur Folgeuntersuchung erschienen, sowie von Frauen, die im Rahmen einer Routineuntersuchung in einer Klinik vorstellig wurden. Von jeder Studienteilnehmerin wurden zwei Proben in der folgenden Reihenfolge entnommen: eine **BD SurePath**-Probe (Standort A) oder eine

PreservCyt-Probe (Standort B) und eine **BD Onclarity HPV Cervical Brush**-Probe (transportiert in einem **BD Onclarity HPV Cervical Brush Diluent-Röhrchen**). Aus jedem entnommenen zytologischen Fläschchen wurden 0,5 mL in ein **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** aliquotiert. Zu den meisten Proben waren Zytologie, HPV-DNA-Ergebnisse (digene Hybrid Capture 2 (hc2) High-Risk HPV DNA Test) und das Ergebnis des Roche LINEAR ARRAY HPV Genotyping Test (RLA) verfügbar. Zu den meisten Probanden, die eine Hochrisiko-Klinik besuchten, waren Histologieergebnisse verfügbar.

An jedem Standort wurden außerdem Restproben (**BD SurePath** oder PreservCyt) mit zugehörigen Zytologieergebnissen, HPV-DNA-Ergebnissen (digene Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA Test), Ergebnissen des Roche LINEAR ARRAY HPV Genotyping Test und, sofern verfügbar, Histologieergebnissen einbezogen. Von jeder einbezogenen Probe wurden 0,5 mL in ein **BD Onclarity HPV LBC Diluent-Röhrchen** aliquotiert. Es wurden 510 konforme retrospektive Proben einbezogen, und zu 234 Frauen waren Histologieergebnisse verfügbar.

Alle Proben wurden mit dem **BD Viper LT System** gemäß den Angaben in der Packungsbeilage des Assays und dem Benutzerhandbuch getestet. Für jeden Medientyp wurde die klinische Sensitivität und Spezifität beim Nachweis einer Erkrankung berechnet, die definiert war als (1) Histologieergebnis zervikale intraepitheliale Neoplasie (CIN2) oder höher oder (2) Histologieergebnis zervikale intraepitheliale Neoplasie (CIN3) oder höher. Die finale Datenanalyse umfasst **BD Onclarity HPV Assay**-Ergebnisse von 472 **BD SurePath**-Proben, 361 PreservCyt-Proben und insgesamt 515 **BD Onclarity HPV Cervical Brush**-Proben: 247 **BD Onclarity HPV Cervical Brush**-Proben (in **BD Onclarity HPV Cervical Brush Diluent**) für Standort A und 268 **BD Onclarity HPV Cervical Brush**-Proben (in **BD Onclarity HPV Cervical Brush Diluent**) für Standort B. Die Leistungseinschätzung für den Nachweis einer hochgradigen zervikalen Erkrankung durch den **BD Onclarity HPV Assay** und den hc2-Assay sind in den folgenden Tabellen dargestellt: Tabellen 4 und 5 für **BD SurePath**-Medien, Tabellen 8 und 9 für PreservCyt-Medien und Tabellen 12 und 13 für die **BD Onclarity HPV Cervical Brush**-Proben.

Die Ergebnisse des **BD Onclarity HPV Assay** wurden außerdem mit den HPV-DNA-Ergebnissen des digene Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA Test und des Roche LINEAR ARRAY HPV Genotyping Test (zusammengesetzter Vergleichstest) verglichen. Ein positives Ergebnis der beiden (Hochrisiko-)Assays hc2 und RLA ist als positives Ergebnis des zusammengesetzten Vergleichstests definiert, ein negatives Ergebnis der beiden (Hochrisiko-)Assays hc2 und RLA ist als negatives Ergebnis des zusammengesetzten Vergleichstests definiert. Wenn die Ergebnisse der beiden Assays nicht übereinstimmen (oder nicht für beide Tests ein Ergebnis verfügbar war) ist das Ergebnis des zusammengesetzten Vergleichstests als ungeklärt definiert. Für jeden Medientyp wurden die positive, die negative, und die gesamte Übereinstimmung in Prozent mit dem zusammengesetzten Vergleichstest berechnet. Die finale Datenanalyse umfasst die Ergebnisse des **BD Onclarity HPV Assay** und des zusammengesetzten Vergleichstests (unabhängig vom histologischen Status) von 670 **BD SurePath**-Proben und 674 PreservCyt -Proben. (Tabellen 6 und 10)

Das absolute Risiko einer Erkrankung (CIN2+ oder CIN3+) bei der Studienpopulation zu jedem Medientyp wurde mithilfe des **BD Onclarity HPV Assay** für jeden Genotyp oder jede Genotypgruppe berechnet. Es wurden die absoluten Risiken berechnet, wenn der Genotyp (oder die Genotypgruppe) alleine und/oder in Gegenwart anderer Genotypen vorliegt. Zu jedem Medientyp ist eine Tabelle mit dem absoluten Risiko abgebildet. Jedes Medium wurde nur an einem Standort entnommen, daher kann erwartet werden, dass aufgrund der Populationsvariation Unterschiede bei den Positivraten von HPV und Genotypen auftreten. (Tabellen 7 und 11)

#### Klinische Leistung mit **BD SurePath**-Proben

**Tabelle 4: Leistung des **BD Onclarity HPV Assay** mit **BD SurePath**-Medien im Vergleich zu Histologieergebnissen (CIN2+)**

	BD Onclarity HPV Assay		hc2 HPV DNA Test	
	Schätzung	95%-Konfidenzintervall	Schätzung	95%-Konfidenzintervall
<b>Sensitivität</b>	97,9 % (190/194)	(94,8 %, 99,2 %)	98,4 % (190/193)	(95,5 %, 99,5 %)
<b>Spezifität</b>	22,7 % (63/278)	(18,1 %, 27,9 %)	17,0 % (47/277)	(13,0 %, 21,8 %)

**Tabelle 5: Leistung des **BD Onclarity HPV Assay** mit **BD SurePath**-Medien im Vergleich zu Histologieergebnissen (CIN3+)**

	BD Onclarity HPV Assay		hc2 HPV DNA Test	
	Schätzung	95%-Konfidenzintervall	Schätzung	95%-Konfidenzintervall
<b>Sensitivität</b>	97,7 % (126/129)	(93,4 %, 99,2 %)	98,4 % (126/128)	(94,5 %, 99,6 %)
<b>Spezifität</b>	18,7 % (64/343)	(14,9 %, 23,1 %)	14,0 % (48/342)	(10,8 %, 18,1 %)

**Tabelle 6: Leistung des **BD Onclarity HPV Assay** mit **BD SurePath**-Medien im Vergleich zum zusammengesetzten Vergleichstest**

BD Onclarity HPV Assay	Ergebnis des zusammengesetzten Vergleichstests			Gesamt	Positiv-Übereinstimmung in Prozent (95%-Konfidenzintervall)	Negativ-Übereinstimmung in Prozent (95%-Konfidenzintervall)	Übereinstimmung in Prozent insgesamt (95%-Konfidenzintervall)
	Positiv	Negativ	Ungeklärt*				
<b>Positiv</b>	532	6	27	565	98,5% (97,1%, 99,2%)	89,3% (78,5%, 95,0%)	97,7% (96,1%, 98,6%)
<b>Negativ</b>	8	50	47	105			
<b>Gesamt</b>	540	56	74	670			

\*hc2- und RLA-Ergebnisse stimmen nicht überein oder es war nicht für beide Tests ein Ergebnis verfügbar.



**Tabelle 7: Absolutes CIN2+- und CIN3+-Risiko bei BD Onclarity HPV Assay-Genotypen auf BD SurePath-Medien**

BD Onclarity HPV Assay-Genotyp	Infektion durch einen oder mehrere Genotypen		Infektion durch einen Genotyp oder eine Genotyp-Gruppe		Infektion durch einen oder mehrere Genotypen		Infektion durch einen Genotyp oder eine Genotyp-Gruppe	
	Absolutes CIN2+-Risiko	95%-Konfidenzintervall	Absolutes CIN2+-Risiko	95%-Konfidenzintervall	Absolutes CIN3+-Risiko	95%-Konfidenzintervall	Absolutes CIN2+-Risiko	95%-Konfidenzintervall
HPV16	63,9 % (99/155)	(56,1 %, 71,0 %)	64,9 % (48/74)	(53,5 %, 74,8 %)	43,9 % (68/155)	(36,3 %, 51,7 %)	47,3 % (35/74)	(36,3 %, 58,5 %)
HPV18	50,0 % (24/48)	(36,4 %, 63,6 %)	50,0 % (7/14)	(26,8 %, 73,2 %)	43,8 % (21/48)	(30,7 %, 57,7 %)	42,9 % (6/14)	(21,4 %, 67,4 %)
HPV45	46,7 % (21/45)	(32,9 %, 60,9 %)	23,5 % (4/17)	(9,6 %, 47,3 %)	31,1 % (14/45)	(19,5 %, 45,7 %)	17,6 % (3/17)	(6,2 %, 41,0 %)
HPV33/58	49,4 % (42/85)	(39,0 %, 59,8 %)	47,1 % (16/34)	(31,5 %, 63,3 %)	31,8 % (27/85)	(22,8 %, 42,3 %)	23,5 % (8/34)	(12,4 %, 40,0 %)
HPV31	64,2 % (52/81)	(53,3 %, 73,8 %)	72,7 % (16/22)	(51,8 %, 86,8 %)	40,7 % (33/81)	(30,7 %, 51,6 %)	50,0 % (11/22)	(30,7 %, 69,3 %)
HPV56/59/66	25,5 % (25/98)	(17,9 %, 35,0 %)	0,0 % (0/29)	(0,0 %, 11,7 %)	13,3 % (13/98)	(7,9 %, 21,4 %)	0,0 % (0/29)	(0,0 %, 11,7 %)
HPV51	41,7 % (15/36)	(27,1 %, 57,8 %)	25,0 % (2/8)	(7,1 %, 59,1 %)	25,0 % (9/36)	(13,8 %, 41,1 %)	12,5 % (1/8)	(2,2 %, 47,1 %)
HPV52	35,1 % (20/57)	(24,0 %, 48,1 %)	33,3 % (4/12)	(13,8 %, 60,9 %)	19,3 % (11/57)	(11,1 %, 31,3 %)	16,7 % (2/12)	(4,7 %, 44,8 %)
HPV35/39/68	36,0 % (27/75)	(26,1 %, 47,3 %)	33,3 % (7/21)	(17,2 %, 54,6 %)	17,3 % (13/75)	(10,4 %, 27,4 %)	19,0 % (4/21)	(7,7 %, 40,0 %)

**Klinische Leistung mit PreservCyt-Proben**

**Tabelle 8: Leistung des BD Onclarity HPV Assay mit PreservCyt-Medien im Vergleich zu Histologieergebnissen (CIN2+)**

	BD Onclarity HPV Assay		hc2 HPV DNA Test	
	Schätzung	95%-Konfidenzintervall	Schätzung	95%-Konfidenzintervall
<b>Sensitivität</b>	94,7 % (160/169)	(90,2 %, 97,2 %)	97,0 % (160/165)	(93,1 %, 98,7 %)
<b>Spezifität</b>	50,5 % (97/192)	(43,5 %, 57,5 %)	40,8 % (75/184)	(33,9 %, 48,0 %)

**Tabelle 9: Leistung des BD Onclarity HPV Assay mit PreservCyt-Medien im Vergleich zu Histologieergebnissen (CIN3+)**

	BD Onclarity HPV Assay		hc2 HPV DNA Test	
	Schätzung	95%-Konfidenzintervall	Schätzung	95%-Konfidenzintervall
<b>Sensitivität</b>	94,4 % (85/90)	(87,6 %, 97,6 %)	97,7 % (85/87)	(92,0 %, 99,4 %)
<b>Spezifität</b>	37,3 % (101/271)	(31,7 %, 43,2 %)	29,8 % (78/262)	(24,6 %, 35,6 %)

**Tabelle 10: Leistung des BD Onclarity HPV Assay mit PreservCyt-Medien im Vergleich zum zusammengesetzten Vergleichstest**

BD Onclarity HPV Assay	Ergebnis des zusammengesetzten Vergleichstests				Positiv-Übereinstimmung in Prozent (95%-Konfidenzintervall)	Negativ-Übereinstimmung in Prozent (95%-Konfidenzintervall)	Übereinstimmung in Prozent insgesamt (95%-Konfidenzintervall)
	Positiv	Negativ	Ungeklärt*	Gesamt			
<b>Positiv</b>	246	5	18	269	96,1 % (93,0 %, 97,9 %)	98,7 % (96,9 %, 99,4 %)	97,6 % (96,1 %, 98,5 %)
<b>Negativ</b>	10	366	29	405			
<b>Gesamt</b>	256	371	47	674			

\* hc2- und RLA-Ergebnisse stimmen nicht überein oder es war nicht für beide Tests ein Ergebnis verfügbar.

**Tabelle 11: Absolutes CIN2+- und CIN3+-Risiko bei BD Onclarity HPV Assay-Genotypen auf PreservCyt-Medien**

BD Onclarity HPV Assay-Genotyp	Infektion durch einen oder mehrere Genotypen		Infektion durch einen Genotyp oder eine Genotyp-Gruppe		Infektion durch einen oder mehrere Genotypen		Infektion durch einen Genotyp oder eine Genotyp-Gruppe	
	Absolutes CIN2+-Risiko	95%-Konfidenzintervall	Absolutes CIN2+-Risiko	95%-Konfidenzintervall	Absolutes CIN3+-Risiko	95%-Konfidenzintervall	Absolutes CIN3+-Risiko	95%-Konfidenzintervall
HPV 16	77,1 % (84/109)	(68,3 %, 84,0 %)	81,4 % (57/70)	(70,8 %, 88,8 %)	44,0 % (48/109)	(35,1 %, 53,4 %)	50,0 % (35/70)	(38,6 %, 61,4 %)
HPV 18	50,0 % (12/24)	(31,4 %, 68,6 %)	45,5 % (5/11)	(21,3 %, 72,0 %)	29,2 % (7/24)	(14,9 %, 49,2 %)	18,2 % (2/11)	(5,1 %, 47,7 %)
HPV 45	50,0 % (6/12)	(25,4 %, 74,6 %)	25,0 % (1/4)	(4,6 %, 69,9 %)	16,7 % (2/12)	(4,7 %, 44,8 %)	0,0 (0/4)	(0,0 %, 49,0 %)
HPV 33/58	70,0 % (28/40)	(54,6 %, 81,9 %)	75,0 % (15/20)	(53,1 %, 88,8 %)	35,0 % (14/40)	(22,1 %, 50,5 %)	50,0 % (10/20)	(29,9 %, 70,1 %)
HPV 31	67,7 % (42/62)	(55,4 %, 78,0 %)	71,0 % (22/31)	(53,4 %, 83,9 %)	30,6 % (19/62)	(20,6 %, 43,0 %)	41,9 % (13/31)	(26,4 %, 59,2 %)
HPV 56/59/66	34,0 % (18/53)	(22,7 %, 47,4 %)	11,1 % (2/18)	(3,1 %, 32,8 %)	9,4 % (5/53)	(4,1 %, 20,3 %)	0,0 % (0/18)	(0,0 %, 17,6 %)
HPV 51	48,0 % (12/25)	(30,0 %, 66,5 %)	27,3 % (3/11)	(9,7 %, 56,6 %)	16,0 % (4/25)	(6,4 %, 34,7 %)	18,2 % (2/11)	(5,1 %, 47,7 %)
HPV 52	73,9 % (17/23)	(53,5 %, 87,5 %)	85,7 % (6/7)	(48,7 %, 97,4 %)	26,1 % (6/23)	(12,5 %, 46,5 %)	42,9 % (3/7)	(15,8 %, 75,0 %)
HPV 35/39/68	38,5 % (10/26)	(22,4 %, 57,5 %)	40,0 % (2/5)	(11,8 %, 76,9 %)	15,4 % (4/26)	(6,1 %, 33,5 %)	20,0 % (1/5)	(3,6 %, 62,4 %)

**Klinische Leistung mit BD Onclarity HPV Cervical Brush-Proben**

**Tabelle 12: Leistung des BD Onclarity HPV Assay mit der BD Onclarity HPV Cervical Brush im Vergleich zu Histologieergebnissen (CIN2+)**

Labor		BD Onclarity HPV Assay		hc2 HPV DNA Test	
		Schätzung	95%-Konfidenzintervall	Schätzung	95%-Konfidenzintervall
A	Sensitivität	97,2 % (104/107)	(92,1 %, 99,0 %)	99,1 % (106/107)	(94,9 %, 99,8 %)
	Spezifität	17,9 % (25/140)	(12,4 %, 25,0 %)	21,4 % (30/140)	(15,4 %, 28,9 %)
B	Sensitivität	100,0 % (121/121)	(96,9 %, 100,0 %)	97,5 % (116/119)	(92,8 %, 99,1 %)
	Spezifität	37,4 % (55/147)	(30,0 %, 45,5 %)	43,0 % (61/142)	(35,1 %, 51,2 %)

**Tabelle 13: Leistung des BD Onclarity HPV Assay mit der BD Onclarity HPV Cervical Brush im Vergleich zu Histologieergebnissen (CIN3+)**

Labor		BD Onclarity HPV Assay		hc2 HPV DNA Test	
		Schätzung	95%-Konfidenzintervall	Schätzung	95%-Konfidenzintervall
A	Sensitivität	97,3 % (72/74)	(90,7 %, 99,3 %)	98,6 % (73/74)	(92,7 %, 99,8 %)
	Spezifität	15,0 % (26/173)	(10,5 %, 21,1 %)	17,3 % (30/173)	(12,4 %, 23,7 %)
B	Sensitivität	100,0 % (60/60)	(94,0 %, 100,0 %)	98,3 % (57/58)	(90,9 %, 99,7 %)
	Spezifität	26,4 % (55/208)	(20,9 %, 32,8 %)	31,0 % (63/203)	(25,1 %, 37,7 %)

**Analytische Studien**

**Analytische Sensitivität am klinischen Schwellenwert:**

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LOD) am klinischen Schwellenwert für HPV wurde für den BD Onclarity HPV Assay mithilfe der folgenden HPV-positiven Zelllinien bestimmt: SiHa (HPV 16), HeLa (HPV 18) und MS751 (HPV 45) sowie geklonter Plasmid-DNA mit den Sequenzen der folgenden HPV-Genotypen: HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 und 68 in BD SurePath Preservative Fluid, PreservCyt-Lösung und BD Onclarity HPV Cervical Brush Diluent mit einer HPV-negativen Zelllinie (C33A). Die HPV-Zelllinien wurden einzeln getestet, während die HPV-Plasmide in drei Gruppen aufgeteilt getestet wurden (1) HPV 31, 33, 51, 52 und 59, 2) HPV 56, 58, 68 und 3) HPV 35 und 66. Es wurde ein Minimum von 45 Replikaten jeder der sechs Zielkonzentrationen für die HPV-Zelllinien sowie von 20 Replikaten jeder der sechs Zielkonzentrationen für die HPV-Plasmide mit mindestens drei Reagenzienchargen und mindestens drei BD Viper LT Systemen getestet. Die LOD ist die Konzentration von HPV-DNA in unverdünnten Proben, für die in mindestens 95 % der Fälle positive Ergebnisse über dem klinischen Schwellenwert erzielt werden. Der maximale LOD-Wert für jeden HPV-Genotyp und jedes Medium ist in Tabelle 14 dargestellt.

**Tabelle 14: Analytische Sensitivität**

Ziel	BD SurePath-Medien (95%-Konfidenzintervall)	PreservCyt-Medien (95%-Konfidenzintervall)	BD Onclarity HPV Cervical Brush Diluent (95%-Konfidenzintervall)
<b>SiHa (HPV 16) Zellen/mL</b>	1584 (1276 – 1962)	1835 (1426 – 2358)	137 (131 – 144)
<b>HeLa (HPV 18) Zellen/mL</b>	915 (739 – 1131)	1786 (1175 – 2715)	51 (46 – 56)
<b>MS751 (HPV 45) Zellen/mL</b>	3793 (2944 – 4888)	5425 (4167 – 7066)	305 (284 – 343)
<b>HPV 31 Kopien/mL</b>	3652 (3159 – 3868)	4118 (3898 – 4228)	692 (650 – 817)
<b>HPV 33 Kopien/mL</b>	7326 (6578 – 8932)	8272 (7946 – 8743)	1376 (1272 – 1451)
<b>HPV 35 Kopien/mL</b>	6820 (6477 – 7282)	7282 (6895 – 7674)	1552 (1317 – 1780)
<b>HPV 39 Kopien/mL</b>	7894 (7115 – 8193)	8272 (7810 – 9398)	1531 (1419 – 1685)
<b>HPV 51 Kopien/mL</b>	6697 (5786 – 7097)	5909 (5553 – 6824)	1229 (1155 – 1353)
<b>HPV 52 Kopien/mL</b>	3582 (3414 – 4184)	4184 (3740 – 4761)	833 (744 – 934)
<b>HPV 56 Kopien/mL</b>	4976 (4140 – 5698)	4774 (4479 – 5997)	836 (737 – 911)
<b>HPV 58 Kopien/mL</b>	10094 (9403 – 11180)	11488 (8989 – 12360)	2990 (2656 – 7819)
<b>HPV 59 Kopien/mL</b>	4400 (4145 – 5069)	4374 (4105 – 5482)	772 (722 – 899)
<b>HPV 66 Kopien/mL</b>	3793 (3621 – 4030)	4462 (4008 – 4844)	701 (646 – 767)
<b>HPV 68 Kopien/mL</b>	10415 (9799 – 11642)	10481 (9816 – 12082)	2079 (1995 – 2125)

**Kreuzreaktion:**

Es wurde ein Testprofil aus Bakterien, Hefe und kultivierten Viren in Kombination mit geklonter Plasmid-DNA mit Hochrisiko- und Niedrigrisiko-HPV-Zielsequenzen verwendet, um die analytische Spezifität des **BD Onclarity HPV Assay** auf dem **BD Viper LT System** zu bewerten. Jede potenzielle Kreuzreaktion wurde einzeln in **BD SurePath Preservative Fluid** und **PreservCyt-Lösung** mit einer HPV-negativen Zelllinie (C33A) getestet. Die Mikroorganismen sind in den Tabellen 15 und 16 beschrieben. Der **BD Onclarity HPV Assay** zeigte bei keinem der getesteten Mikroorganismen eine Kreuzreaktion.

**Tabelle 15: Bezüglich analytischer Spezifität getestete Mikroorganismen**

Bakterien*	Viren**
<i>Actinomyces israelii</i>	Adenovirus Typ 5
<i>Atopobium vaginae</i>	EBV-1, B95-8-Stamm
<i>Bacteroides fragilis</i>	HCMV. AD169-Stamm
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	HIV-1
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	HSV1
<i>Bifidobacterium brevi</i>	HSV2
<i>Bifidobacterium longum ssp. longum</i>	<b>Hochrisiko-HPV***</b>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	HPV 16
<i>Clostridium perfringens</i>	HPV 18
<i>Corynebacterium genitalium</i>	HPV 31
<i>Enterobacter cloacae ssp. cloacae</i>	HPV 33
<i>Enterococcus faecalis</i>	HPV 35
<i>Enterococcus faecium</i>	HPV 39
<i>Escherichia coli</i>	HPV 45
<i>Fusobacterium nucleatum ssp. nucleatum</i>	HPV 51
<i>Gardnerella vaginalis</i>	HPV 52
<i>Klebsiella pneumoniae ssp. ozaenae</i>	HPV 56
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	HPV 58
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	HPV 59
<i>Mycoplasma genitalium</i>	HPV 66
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	HPV 68
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	
<i>Prevotella bivia</i>	
<i>Prevotella disiens</i>	
<i>Proteus mirabilis</i>	
<i>Proteus vulgaris</i>	
<i>Providencia stuartii</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	
<b>Hefe/Protozoen****</b>	
<i>Candida albicans</i>	
<i>Trichomonas vaginalis</i>	

\*Bakterien wurden bei ca.  $1,0 \times 10^7$  KBE/mL getestet, mit folgenden Ausnahmen: *Chlamydia trachomatis* ( $1,0 \times 10^7$  EB/mL), *Mycobacterium smegmatis* ( $2,5 \times 10^6$  KBE/mL) und *Ureaplasma urealyticum* ( $8,0 \times 10^6$  KBE/mL).

\*\*Viren wurden bei  $1,0 \times 10^6$  VP/mL getestet.

\*\*\*Hochrisiko-HPV-Plasmid-DNA wurde bei  $1,0 \times 10^6$  Kopien/mL getestet.

\*\*\*\* Hefe (*Candida albicans*) wurde bei ca.  $1,0 \times 10^7$  KBE/mL getestet; Protozoen (*Trichomonas vaginalis*) wurden bei  $1,4 \times 10^6$  KBE/mL getestet.

**Tabelle 16: Bezüglich analytischer Spezifität getestete Niedrigrisiko-HPV-Plasmide**

HPV 6	HPV 69
HPV 11	HPV 70
HPV 26	HPV 73
HPV 30	HPV 82
HPV 34	HPV 97
HPV 53	HPV c85
HPV 67	

\*Niedrigrisiko -HPV-Plasmid-DNA wurde bei  $1,0 \times 10^6$  Kopien/mL getestet.

## Störsubstanzen:

Das Potential für Störungen des **BD Onclarity HPV Assay** auf dem **BD Viper LT System** wurde mithilfe exogener und endogener Substanzen bestimmt, die in klinischen zervikalen Proben vorkommen können. Dazu wurden erstellte HPV-negative Proben und HPV-positive Proben (beimpft mit SiHa-, HeLa- und MS751-Zellen bei 3 x LOD) in Gegenwart oder Abwesenheit jeder der potenziell störenden Substanzen getestet. Die in dieser Studie verwendeten Substanzen sind in Tabelle 17 beschrieben. Die Konzentrationen geben den höchsten Wert an, bei dem die Substanzen keine Störung des **BD Onclarity HPV Assay** verursachen.

**Tabelle 17: Potenzielle Störsubstanzen**

	<b>BD Onclarity HPV Cervical Brush Diluent</b>	<b>BD SurePath-Medien</b>	<b>PreservCyt-Medien</b>
<b>Potenzielle Störsubstanz</b>	<b>Getestete Konzentration</b>	<b>Getestete Konzentration</b>	<b>Getestete Konzentration</b>
KY-Vaginalgleitgel	10 % (w/v)	6 % (w/v)	10 % (w/v)
VCF kontrazeptiver Vaginalfilm	3 % (w/v)	10 % (w/v)	10 % (w/v)
VCF kontrazeptiver Vaginalschaum	10 % (w/v)	10 % (w/v)	10 % (w/v)
Conceptrol kontrazeptives Gel	1 % (w/v)	10 % (w/v)	10 % (w/v)
Monistat 3*	2 % (w/v)	2 % (w/v)	1,8 % (w/v)
Clotrimazol 7	10 % (w/v)	10 % (w/v)	10 % (w/v)
Vagistat-1 Tioconazol	2 % (w/v)	2 % (w/v)	2 % (w/v)
Clindamycin-Vaginalcreme	9 % (w/v)	10 % (w/v)	10 % (w/v)
Summer's Eve-Intimdsuche	10 % (v/v)	10 % (v/v)	10 % (v/v)
Zovirax-(Acyclovir)-Creme	10 % (w/v)	8 % (w/v)	10 % (w/v)
Vandazole Gel (Metronidazol-Vaginalgel, 0,75 %)	10 % (w/v)	10 % (w/v)	10 % (w/v)
Summer's Eve-Deodorant	2% (w/v)	3% (w/v)	2 % (w/v)
Rinder-Mucin	10% (v/v)	10% (v/v)	10 % (v/v)
Progesteron	20 ng/mL	20 ng/mL	20 ng/mL
Estradiol	1,2 ng/mL	1,2 ng/mL	1,2 ng/mL
Vollblut	3 % (v/v)	5 % (v/v)	5 % (v/v)
Leukozyten	1x10 <sup>6</sup> Zellen/mL	1x10 <sup>6</sup> Zellen/mL	1x10 <sup>6</sup> Zellen/mL
Sperma	10 % (v/v)	10 % (v/v)	10 % (v/v)
Essigsäure-Spülung**			5 % (v/v)
Blut + Essigsäure-Spülung			5 % Blut (v/v), 2,5 % Essigsäure-Spülung (v/v)

\*Höhere Konzentrationen als die angegebenen führten zu Flüssigkeitsstand-Fehlern während der Extraktion auf dem **BD Viper LT System**.

\*\*Essigsäure-Spülung besteht aus 1 Teil Eisessig: 9 Teilen CytoLyt-Lösung.

## Störung durch konkurrierende Ziele:

Für den **BD Onclarity HPV Assay** wurde eine Bewertung des Potentials einer Inhibierung des HPV-Nachweises aufgrund des Vorliegens eines Ziels in hoher Konzentration und eines anderen in niedriger Konzentration bei einer Mischinfektionen durchgeführt. SiHa-, HeLa- und MS751-Zellen wurden einzeln oder gemeinsam bei 3 x LOD in Gegenwart oder Abwesenheit eines oder mehrerer konkurrierender HPV-Ziele bei 1,0 x 10<sup>6</sup> Kopien/mL in **BD SurePath Preservative Fluid**, **PreservCyt-Lösung** und **BD Onclarity HPV Cervical Brush Diluent** mit einer HPV-negativen Zelllinie (C33A) getestet (Tabelle 18).

**Tabelle 18: Störung durch konkurrierende Ziele**

HPV-Assay-Röhrchentyp	Individuelle zelluläre HPV-Ziele bei 3 x LOD	HPV-Plasmide bei 1 x 10 <sup>6</sup> Kopien/mL	Nachweis der zellulären HPV-Ziele in Gegenwart oder Abwesenheit konkurrierender Genotypen (HPV-Plasmide)
<b>G1-Genotypen mit koamplifizierten G1-Zielen</b>	SiHa (HPV 16)	HPV 18 + HPV 45	Ja
	HeLa (HPV 18)	HPV 16 + HPV 45	Ja
	HPV 45 (MS751)	HPV 16 + HPV 18	Ja
<b>G1-Genotypen mit koamplifizierten G2-Zielen</b>	SiHa + HeLa + MS751	HPV 31 + HPV 33 + HPV 56 + HPV 58 + HPV 59 + HPV 66	Ja
<b>G1-Genotypen mit koamplifizierten G3-Zielen</b>	SiHa + HeLa + MS751	HPV 35 + HPV 39 + HPV 51+ HPV 52 + HPV 68	Ja

**Reproduzierbarkeit:**

Die Reproduzierbarkeit des **BD Onclarity** HPV Assay wurde im **BD Viper** LT-Gerät mithilfe eines Testpanels mit 4 Proben bewertet, das sich aus negativen, stark negativen, schwach positiven und mäßig positiven Proben zusammensetzte. Die positiven Proben des Testpanels setzten sich aus SiHa-, HeLa- und MS751-Zellen zusammen, mit denen Pools aus HPV-negativen klinischen **BD SurePath**-Proben und **BD Onclarity** HPV Cervical Brush Diluent mit einer HPV-negativen Zelllinie (C33A) beimpft wurden. Das Testpanel wurde über 12 Tage gleichmäßig auf 3 Reagenzienchargen und 3 Geräte verteilt getestet. Die Daten sind in Tabelle 19 zusammengefasst.



**Tabelle 19: Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsdaten für den BD Onclarity HPV Assay auf dem BD Viper LT System**

Medien	Zelllinie (Genotyp)	Panel-Stufe	Konzentration Zellen/mL	% korrekt	95%-Konfidenzintervall	Mittl. CT	Zwischen Läufen			Innerh. Lauf		Gesamt	
							SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	
SurePath	SiHa (HPV 16)	Neg.	0	100 % (216/216)	(98,25 % – 100 %)	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
		Stark neg.	342	97,69 % (211/216)	(94,7 % – 99,01 %)	35,28	0,16	0,46	0,54	1,52	0,57	1,62	
		Schwach pos.	1582	100 % (216/216)	(100 % – 98,25 %)	32,31	0,16	0,50	0,22	0,69	0,30	0,92	
		Mäßig pos.	4746	100 % (216/216)	(100 % – 98,25 %)	31,07	0,22	0,69	0,22	0,71	0,35	1,11	
	HeLa (HPV 18)	Neg.	0	100 % (216/216)	(98,25 % – 100 %)	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
		Stark neg.	102	98,61 % (213/216)	(96 % – 99,53 %)	35,89	0,24	0,68	0,75	2,09	0,85	2,37	
		Schwach pos.	914	99,54 % (215/216)	(97,42 % – 99,92 %)	32,70	0,16	0,50	0,30	0,92	0,37	1,14	
	M5-751 (HPV 45)	Mäßig pos.	2742	100 % (216/216)	(100 % – 98,25 %)	30,68	0,13	0,43	0,22	0,72	0,30	0,98	
		Neg.	0	100 % (216/216)	(98,25 % – 100 %)	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
		Stark neg.	395	100 % (216/216)	(98,25 % – 100 %)	35,77	0,00	0,00	0,52	1,45	0,55	1,53	
	M5-751 (HPV 45)	Schwach pos.	3793	100 % (216/216)	(100 % – 98,25 %)	32,71	0,20	0,60	0,26	0,80	0,36	1,10	
		Mäßig pos.	11378	99,54 % (215/216)	(97,42 % – 99,92 %)	31,33	0,18	0,57	0,35	1,10	0,41	1,31	
Neg.		0	100 % (214/214)	(98,24 % – 100 %)	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	
Cervical Brush Diluent	SiHa (HPV 16)	Stark neg.	32	100 % (218/218)	(98,27 % – 100 %)	36,29	0,09	0,25	0,59	1,63	0,62	1,71	
		Schwach pos.	205	94,91 % (205/216)	(91,11 % – 97,13 %)	33,63	0,26	0,78	0,33	0,97	0,43	1,27	
		Mäßig pos.	615	100 % (216/216)	(98,25 % – 100 %)	31,80	0,16	0,51	0,18	0,56	0,25	0,79	
	HeLa (HPV 18)	Neg.	0	100 % (214/214)	(98,24 % – 100 %)	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
		Stark neg.	13	99,07 % (214/216)	(96,69 % – 99,75 %)	35,69	0,10	0,29	0,78	2,18	0,80	2,23	
		Schwach pos.	76	99,08 % (216/218)	(96,72 % – 99,75 %)	33,34	0,15	0,44	0,25	0,76	0,30	0,91	
	M5-751 (HPV 45)	Mäßig pos.	228	99,54 % (215/216)	(97,42 % – 99,92 %)	32,07	0,24	0,73	0,25	0,78	0,37	1,16	
		Neg.	0	100 % (214/214)	(98,24 % – 100 %)	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
		Stark neg.	59	100 % (216/216)	(98,25 % – 100 %)	36,54	0,22	0,61	0,62	1,68	0,66	1,81	
	M5-751 (HPV 45)	Schwach pos.	457	99,54 % (215/216)	(97,42 % – 99,92 %)	33,22	0,16	0,48	0,25	0,75	0,32	0,95	
		Mäßig pos.	1371	100 % (218/218)	(98,27 % – 100 %)	31,74	0,14	0,43	0,21	0,67	0,27	0,84	
		Neg.	0	100 % (214/214)	(98,24 % – 100 %)	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ

**Kreuzkontamination:**

Es wurde eine Studie zur Evaluierung des Risikos eines falsch positiven Ergebnisses im selben Testlauf (Kreuzkontamination innerhalb von Läufen) oder in einem Folgedurchlauf (Verschleppungskontamination zwischen Läufen) des **BD Viper LT** Systems durchgeführt. Über einen Zeitraum von fünf Tagen wurden auf drei Geräten jeweils ein Lauf pro Tag durchgeführt, sodass insgesamt 675 Testreplikate einbezogen wurden. Jeder Lauf bestand aus Proben in **BD SurePath** Preservative Fluid oder PreservCyt-Lösung, die eine HPV-negative Zelllinie (C33A) mit und ohne SiHa-Zellen, die bei 1,0 x 105 Zellen/ mL angeimpft wurden, enthielten. Diese Proben wurden abwechselnd in einem Schachbrettmuster angeordnet. Die Kontaminationsrate betrug bei **BD SurePath**-Konservierungsflüssigkeit und PreservCyt-Lösung insgesamt 0,00 %.

**Stabilität unverdünnter Proben (in der Flasche):**

Es wurden analytische Studien durchgeführt, mit denen die Lagerbedingungen bezüglich der Stabilität unverdünnter zervikaler Proben überprüft werden sollten. Dazu wurden Proben in **BD SurePath** Preservative Fluid-, PreservCyt-Lösung- und **BD Onclarity** HPV Cervical Brush Diluent, die eine HPV-negative Zelllinie (C33A) enthielten, mit SiHa Zellen bei 3 x LOD angeimpft und über mehrere Zeitpunkte hinweg bei 2 – 8 °C, 30 °C und -20 °C gelagert. Zu jedem Zeitpunkt wurden die Proben aus dem Lagerort entnommen und mit dem **BD Onclarity** HPV Assay auf dem **BD Viper LT** System getestet. Es wurden für jede Bedingung (Probentyp/Temperatur/Lagerdauer) 24 Assay-Replikate generiert. Bei 2 – 30 °C und bei -20 °C wurde eine Stabilität über 30 Tage erzielt.

**Stabilität verdünnter Proben:**

Es wurden analytische Studien durchgeführt, mit denen die Lagerbedingungen bezüglich der Stabilität verdünnter zervikaler Proben überprüft werden sollten. Dazu wurden Proben in **BD SurePath** Preservative Fluid- und PreservCyt-

Lösung, die eine HPV-negative Zelllinie (C33A) enthielten, mit SiHa Zellen bei 3 x LOD angeimpft, mit BD HPV LBC Diluent verdünnt und anschließend über mehrere Zeitpunkte hinweg bei 2 – 8 °C, 30 °C und -20 °C gelagert. Zu jedem Zeitpunkt wurden die Proben aus dem Lagerort entnommen und mit dem **BD Onclarity** HPV Assay auf dem **BD Viper** LT System getestet. Es wurden für jede Bedingung (Probentyp/Temperatur/Lagerdauer) 24 Assay-Replikate generiert. Bei 2 – 30 °C wurde eine Stabilität über 15 Tage erzielt und bei -20 °C eine Stabilität über 30 Tage.

#### **Stabilität von Proben nach dem Vorwärmen:**

Es wurden analytische Studien durchgeführt, mit denen die Lagerbedingungen bezüglich der Stabilität zervikaler Proben nach dem Vorwärmen überprüft werden sollten. Dazu wurden Proben in **BD SurePath** Preservative Fluid, PreservCyt-Lösung und **BD Onclarity** HPV Cervical Brush Diluent, die eine HPV-negative Zelllinie (C33A) enthielten, mit SiHa Zellen bei 3 x LOD angeimpft, mit **BD Onclarity** HPV LBC Diluent verdünnt und anschließend mit dem **BD Viper** LT Pre-warm Heater vorgewärmt. Die so verarbeiteten Proben wurden über mehrere Zeitpunkte hinweg bei 2 – 8 °C, 30 °C und -20 °C gelagert. Zu jedem Zeitpunkt wurden die Proben aus dem Lagerort entnommen und mit dem **BD Onclarity** HPV Assay auf dem **BD Viper** LT System getestet. Es wurden für jede Bedingung (Probentyp/Temperatur/Lagerdauer) 24 Assay-Replikate generiert. Bei 2 – 30 °C wurde eine Stabilität über 7 Tage erzielt und bei -20 °C eine Stabilität über 30 Tage.

#### **INTERPRETATION DER TABELLEN**

##### **Symbole und Abkürzungen**

###### **Symbole**

(+)	Positiv
(-)	Negativ
#	Anzahl
%	Prozentsatz

###### **Abkürzungen**

ASCUS	Atypische Plattenepithelzellen unbestimmter Signifikanz
cfu	Koloniebildende Einheiten
CI	Konfidenzintervall
CIN	Zervikale intraepitheliale Neoplasie
CV	Variationskoeffizient
HPV	Human Papillomavirus
HR	Hochrisiko
LBC	Flüssigkeitsbasierte Zytologie
n	Anzahl
NZ	Nicht zutreffend
NEG	Negativ
NPA	Negativ-Übereinstimmung in Prozent
PBS	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
POS	Positiv
PPA	Positiv-Übereinstimmung in Prozent
QC	Qualitätskontrolle
SD	Standardabweichung

##### **LIEFERBARE PRODUKTE**

Die folgenden **BD Onclarity**- und **BD Viper**-Produkte zur Verwendung mit dem **BD Viper** LT System sind ebenfalls erhältlich:

###### **Best.- Nr. Beschreibung**

442946	<b>BD Onclarity</b> HPV Assay Reagent Pack, 192 Tests
441993	Control Set for the <b>BD Onclarity</b> Onclarity HPV Assay, 24 positive und 24 negative Röhrchen
442841	<b>BD Viper</b> PCR Extraction Reagent Trough with Piercing Tool, 12 Extraktionsreagenzbehälter
441992	<b>BD FOX</b> PCR Extraction Tubes, 384 Röhrchen
441354	<b>BD Viper</b> System Neutralization Pouch, 12 Beutel
442840	<b>BD Onclarity</b> HPV Liquid Based Cytology Specimen (LBC) Diluent Tubes, 400
441991	<b>BD Onclarity</b> HPV Assay Cervical Brush Collection Kit, 100
442957	<b>BD Viper</b> LT System PCR Tube/Tray Kit
443430	Key Card for the <b>BD Viper</b> LT System
440476	<b>BD ProbeTec</b> <i>Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae</i> (CT/GC) Amplified DNA Assay Endocervical Specimen Collection and DRY TRANSPORT Kit
441996	<b>BD Viper</b> LT Pipette Tips, 3840
441995	<b>BD Viper</b> LT Solid Waste Liners, 80
442950	<b>BD</b> Pre-warm Heater
442967	<b>BD Viper</b> LT System PCR Accessory kit
442839	<b>BD Viper</b> LT System

LITERATUR: S. "References" im englischen Text.