


Cervista™ HPV HR

REF 92-011, PRD-01560

**SOLO PER ESPORTAZIONE.
NON IN VENDITA NEGLI STATI UNITI D'AMERICA E IN CANADA.****USO PREVISTO**

Il test Cervista HPV HR è indicato per l'uso nei due seguenti casi:

1. come guida nella gestione delle pazienti, in combinazione con lo screening per la citologia cervicale in donne di almeno 30 anni;
2. per il triage delle pazienti in cui i risultati del Pap test evidenziano cellule squamose atipiche di importanza indeterminata (ASC-US), per stabilire se devono essere richiamate alla colposcopia.

92-011-  96PRD-01560-  384 -15 °C
-30 °C**Rappresentante autorizzato nell'Unione europea:**

Hologic Ltd.
Heron House Oaks Business Park
Crewe Road
Wythenshawe, Manchester
M23 9HZ, Regno Unito
Tel: +44 (0)161 946 2206
Fax: +44 (0)161 602 0995
Email: AuthorisedRepresentativeEurope@hologic.com

**Non conservare in un congelatore no frost.
Proteggere dalla luce solare.**

SOMMARIO

USO PREVISTO	1
ABBREVIAZIONI UTILIZZATE	3
SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST	4
PRINCIPI DELLA PROCEDURA	4
REAGENTI FORNITI	6
AVVERTENZE E PRECAUZIONI	7
REQUISITI DI CONSERVAZIONE E MANIPOLAZIONE	7
ULTERIORI REAGENTI E MATERIALI	7
MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI	7
Materiali di consumo	7
Apparecchiature	8
PRELIEVO DEI CAMPIONI, ESTRAZIONE DEL DNA E CONSERVAZIONE PER ANALISI	8
PROCEDURA DEL TEST PER IL SISTEMA CERVISTA MTA	8
PROCEDURA MANUALE PER IL TEST CERVISTA HPV HR	9
Procedura di reazione	9
Raccolta dei dati.....	9
NOTE E PRECAUZIONI	10
INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI	10
TERMINOLOGIA	11
CONTROLLO DI QUALITÀ	12
Controllo negativo	12
Controlli per l'HPV	12
Verifica dei test.....	12
LIMITAZIONI	13
PRESTAZIONI	13
Performance del trial clinico	13
PRECISIONE	19
Prestazioni del test Cervista HPV HR	21
RISOLUZIONE DEI PROBLEMI: PROCEDURA MANUALE PER IL TEST CERVISTA HPV HR	22
RISOLUZIONE DEI PROBLEMI PER IL SISTEMA CERVISTA MTA	26
BIBLIOGRAFIA	27

ABBREVIAZIONI UTILIZZATE

ASC-US:	Cellule squamose atipiche di importanza indeterminata
CIN:	Neoplasia cervicale intraepiteliale
DNA:	Acido deossiribonucleico
FAM:	Colorante: carbossifluoresceina
FRET:	Trasferimento di energia per risonanza dovuta a fluorescenza
FOZ:	Fold Over Zero (segnale del campione o del controllo diviso per il segnale No Target Control)
gDNA:	DNA genomico
HIST2H2BE:	Gene 2 dell'istone umano, gene H2be
HPV:	Human papillomavirus
HR :	Alto rischio
Max:	Massimo
Min:	Minimo
MTA:	Automazione del medium throughput
NTC:	No Target Control
Oligo:	Oligonucleotide
Pap:	Test citologico cervicale di Papanicolau
Red:	Colorante rosso Redmond
RFU:	Unità di fluorescenza relativa

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Ogni anno negli Stati Uniti si registrano circa 11.000 nuovi casi di cancro cervicale invasivo e oltre 3500 decessi.¹ Il tasso di sopravvivenza relativa a cinque anni del cancro cervicale è del 92% se rilevato precocemente, mentre è circa il 72% in tutti gli stadi.¹ Il cancro cervicale è riconducibile a un'infezione persistente causata da Human papillomavirus (HPV).² Il cancro cervicale è facilmente prevenibile ove vengano applicati programmi di screening citologico e per l'HPV che facilitino l'individuazione e il trattamento delle lesioni precancerose.

In letteratura sono stati documentati oltre 100 tipi di HPV, di cui circa 40 infettano l'area anogenitale e vengono trasmessi per via sessuale. Tra i tipi di HPV trasmessi per via sessuale, 14 genotipi oncogeni (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68), indicati come tipi ad alto rischio (HR), vengono ora riconosciuti come la causa di quasi tutti i tumori cervicali.^{1,2} L'individuazione dell'HPV DNA ad alto rischio, unitamente a risultati citologici equivoci o ambigui (ASC-US), rappresenta per una donna un rischio più elevato di contrarre una sottostante neoplasia cervicale intraepiteliale 2 o 3 (CIN 2 o CIN 3).^{4,6,7} La CIN 3, pur essendo presente solo in circa il 5% dei casi ASC-US,⁵ è un precursore immediato del cancro cervicale e di conseguenza individuarla è essenziale per il trattamento della paziente.² Pertanto, l'individuazione di queste donne con citologia ASC-US unitamente a infezioni da HPV ad alto rischio è un valido ausilio per i medici nel decidere quali pazienti debbano essere controllate o trattate con una terapia più aggressiva.^{2,4,8,9}

Negli Stati Uniti dal 2002 vari gruppi di professionisti del settore sanitario hanno pubblicato linee guida per il trattamento delle pazienti, che raccomandano le modalità di screening del cancro cervicale in base all'età, alla presenza di anomalie citologiche nel campione del Pap test e ad altri fattori.^{6,10,11} Queste linee guida per il trattamento delle pazienti raccomandano di eseguire regolarmente test di screening per i tipi di HPV ad alto rischio, unitamente alla citologia, in casi specifici. Le principali raccomandazioni contenute nelle più recenti linee guida, le *2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests*, prescrivono fra l'altro: 1) screening delle donne di più di 30 anni con esame citologico o altro metodo di screening; e 2) trattamento delle donne di più di 20 anni con ASC-US.^{3,11} In tutti i casi, le decisioni relative al trattamento riflettono il quadro citologico complessivo delle pazienti e altri fattori di rischio, oltre alla presenza o all'assenza di tipi di HPV ad alto rischio.^{6,8,11}

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il Cervista HPV HR è un test diagnostico qualitativo *in vitro* per l'individuazione del DNA da 14 tipi di HPV ad alto rischio, ovvero 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68.

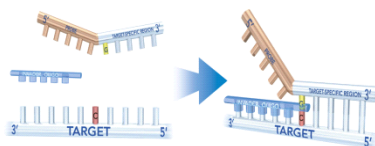
Il test Cervista HPV HR utilizza la chimica Invader™, un metodo di amplificazione del segnale per l'individuazione di particolari sequenze di acidi nucleici. Questo metodo utilizza due tipi di reazioni isotermiche: una prima reazione che si verifica a livello della sequenza del DNA target e una seconda reazione che produce un segnale fluorescente (Figura 1). Nella reazione primaria due tipi di oligonucleotidi specifici della sequenza (ovvero un oligonucleotide sonda e un oligonucleotide Invader) si legano alla sequenza target del DNA. Se questi oligonucleotidi coincidono per almeno una coppia di basi con la sequenza target, si forma una struttura invasiva che agisce da substrato per l'enzima Cleavase™. L'enzima cliva la porzione 5' (flap) della sonda nel punto di sovrapposizione.

Le sonde sono presenti in grandi quantità molari ed entrano ed escono rapidamente dalla sequenza target, per cui vengono generati numerosi flap 5' clivati per ogni sequenza target. I flap clivati quindi si legano a un oligonucleotide universale FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) a forcina, creando un'altra struttura invasiva che l'enzima Cleavase riconosce come substrato. L'enzima cliva gli oligonucleotidi FRET tra il fluoroforo e la molecola "quencher", generando un segnale fluorescente quando i flap clivati entrano ed escono. Per ogni copia del target, le reazioni primaria e secondaria combinate determinano un'amplificazione del segnale di 10^6 – 10^7 volte per ora.¹² Le sequenze flap e gli oligonucleotidi FRET sono universali in quanto non sono complementari alla sequenza target.

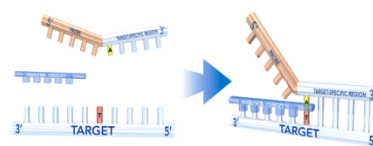
I reagenti per questo test sono forniti sotto forma di tre mix di oligonucleotidi, che individuano i 14 tipi di HPV raggruppati in base alle relazioni filogenetiche, ossia i tipi virali con sequenze di DNA simili. Questi tre mix di oligonucleotidi comprendono anche gli oligonucleotidi che si legano al gene 2 dell'istone umano (H2be, HIST2H2BE). L'HIST2H2BE serve anche da controllo interno che genera un segnale semi-quantitativo dal DNA genomico presente nel campione. Il formato del test Cervista HPV HR consente l'individuazione simultanea delle sequenze di HPV DNA e HIST2H2BE in un solo pozzetto, utilizzando due diverse sequenze di flap 5' sulle sonde, oltre a due diversi oligonucleotidi FRET, ciascuno dei quali con un fluoroforo spettralmente distinto (FAM e Red). Di norma, i flap 5' rilasciati si legano solo ai rispettivi oligonucleotidi FRET per generare segnali specifici per il target (Figura 1).

Un risultato positivo indica che almeno uno dei 14 tipi ad alto rischio è presente nel campione di DNA. Questo risultato è rappresentato da un segnale fluorescente FAM che si colloca sopra al valore di cut-off ricavato empiricamente. Per ogni reazione, il risultato negativo è costituito da un segnale fluorescente FAM che si colloca sotto il valore di cut-off ricavato empiricamente. Per determinare la quantità relativa di DNA campione in ogni reazione, l'HIST2H2BE umano viene misurato con un segnale fluorescente Red che si colloca sopra il valore di cut-off ricavato empiricamente in ciascuna reazione. La misurazione di questo target serve da meccanismo di controllo di qualità per confermare che un risultato negativo non è dovuto a un campione insufficiente.

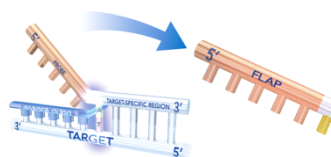
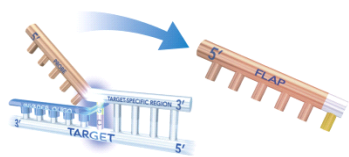
1a. Gli HPV oligo formano una struttura invasiva sull'HPV DNA.



1b. Gli HIST2H2BE oligo formano una struttura invasiva sul DNA genomico.



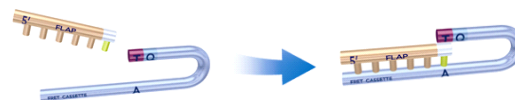
2. L'enzima Cleavase riconosce la struttura e cliva gli oligo sonda.



3a. I flap degli oligo sonda HPV formano una struttura invasiva sugli oligo FAM FRET.



3b. I flap degli oligo sonda HIST2H2BE formano una struttura invasiva sugli oligo Red FRET.



4. L'enzima Cleavase riconosce la struttura e rilascia i fluorofori dagli oligo FRET creando un segnale fluorescente.

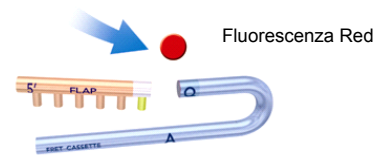
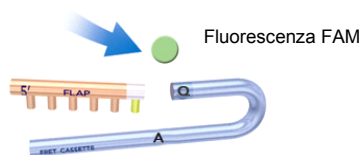


Figura 1: Rappresentazione grafica della chimica Invader nel Cervista HPV HR

REAGENTI FORNITI

Nota: per informazioni sulle indicazioni di pericolo e i consigli di prudenza che possono essere associati ai reagenti, consultare la libreria delle schede di sicurezza (Safety Data Sheet Library) all'indirizzo www.hologic.com/sds.

Tabella 1: Contenuto del Cervista HPV HR

Reagente	Abbreviazioni etichette flaconi	Quantità flaconi e volume reagenti (REF 92-011)	Quantità flaconi e volume reagenti (REF PRD-01560)	Descrizione dei componenti
HPV Oligo Mix 1	O1 (tappo blu e striscia blu)	1 x 1400 µL	8 x 1400 µL	Oligonucleotidi con affinità per HPV tipo 51, 56 e 66 sospesi in acqua e tampone MOPS (pH 7,5)
HPV Oligo Mix 2	O2 (tappo giallo e striscia gialla)	1 x 1400 µL	8 x 1400 µL	(Oligonucleotidi con affinità per HPV tipo 18, 39, 45, 59 e 68 sospesi in acqua e tampone MOPS (pH 7,5)
HPV Oligo Mix 3	O3 (tappo arancione e striscia arancione)	1 x 1400 µL	8 x 1400 µL	Oligonucleotidi con affinità per HPV tipo 16, 31, 33, 35, 52 e 58 sospesi in acqua e tampone MOPS (pH 7,5)
Cleavase Enzyme Solution	E (tappo viola e striscia viola)	1 x 1100 µL	8 x 970 µL	Soluzione enzimatica Cleavase sospesa in 140 mM di MgCl ₂ , 10 mM di Tris (pH 8,0), 25 mM di KCl, 0,25% di Tween 20, 0,25% di Nonidet P40, 25% di Glicerolo e 0,05 mg/mL di BSA
HPV Control 1	C1 (tappo trasparente e striscia nera)	1 x 350 µL	8 x 350 µL	1000 copie/µL DNA HPV clonato tipo 51 e 3000 copie/µL DNA HIST2H2BE clonato in tRNA di lievito e buffer con 10 mM Tris e 0,1 mM EDTA
HPV Control 2	C2 (tappo trasparente e striscia nera)	1 x 350 µL	8 x 350 µL	1000 copie/µL DNA HPV clonato tipo 18 e 3000 copie/µL DNA HIST2H2BE clonato in tRNA di lievito e buffer con 10 mM Tris e 0,1 mM EDTA
HPV Control 3	C3 (tappo trasparente e striscia nera)	1 x 350 µL	8 x 350 µL	1000 copie/µL DNA HPV clonato tipo 16 e 3000 copie/µL DNA HIST2H2BE clonato in tRNA di lievito e buffer con 10 mM Tris e 0,1 mM EDTA
No Target Control	NTC (tappo trasparente e striscia nera)	1 x 350 µL	8 x 350 µL	tRNA di lievito e buffer con 10 mM Tris e 0,1 mM EDTA

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Per uso diagnostico *in vitro*.
2. Attenersi alle precauzioni generali per la sicurezza quando si manipolano tessuti e liquidi umani. Smaltire i campioni in conformità con le direttive vigenti a livello locale.
3. Non mettere insieme reagenti provenienti da lotti differenti o da fiale diverse dello stesso lotto.
4. Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza.
5. I componenti dei prodotti (residui dei prodotti, confezioni) possono essere considerati rifiuti di laboratorio. Smaltire i reagenti inutilizzati e i rifiuti in conformità con le normative vigenti a livello nazionale, regionale e locale.

REQUISITI DI CONSERVAZIONE E MANIPOLAZIONE

- Conservare tutti i reagenti tra -30 °C e -15 °C.
- Non usare i reagenti dopo la data di scadenza indicata all'esterno della confezione.
- Non conservare in un congelatore no frost.
- Proteggere dalla luce solare.
- Prima dell'uso rimuovere i reagenti dal congelatore e lasciarli scongelare per almeno 30 minuti a temperatura ambiente o finché all'esame visivo non risulti alcun materiale congelato.
- Prima dell'uso agitare i reagenti su vortex.
- Hologic consiglia non più di sei (6) cicli di congelamento-scongelo per tutti i reagenti dei test Cervista HPV HR.
- Prima dell'uso, preparare un nuovo mix di reazione. Il mix di reazione una volta preparato deve essere usato entro 30 minuti.

ULTERIORI REAGENTI E MATERIALI

Il software Invader Call Reporter™ è un componente necessario di questo test diagnostico. Questo software viene fornito una volta con l'ordine iniziale del test Cervista HPV HR e successivamente in occasione degli ulteriori aggiornamenti del software. Contattare il distributore di zona se sono necessarie ulteriori copie.

Il kit per l'estrazione del DNA Genfind® è un accessorio del test Cervista HPV HR. Rivolgersi al rappresentante di zona per ordinare il kit per l'estrazione del DNA Genfind (REF 95-449).

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Materiali di consumo

- Puntali per pipette, con filtro barriera e senza nucleasi
- Piastre di polipropilene a 96 pozzetti
- Sigillanti trasparenti per piastre
- Olio minerale per biologia molecolare
- Provette di polipropilene sterili da 2,0 mL e tappi a vite

Apparecchiature

- Sistema Cervista MTA per utilizzatori dell'automazione
- Pipette
- Vortex
- Lettore di piastre in fluorescenza Tecan® Infinite™ F200, Tecan GENios™ o BioTek® FLx800™
- PC Desktop con sistema operativo Microsoft® Windows® XP o Windows 7 e software Microsoft Excel e Adobe® Reader®.
- Termociclatore o forno in grado di mantenere le corrette temperature di reazione

PRELIEVO DEI CAMPIONI, ESTRAZIONE DEL DNA E CONSERVAZIONE PER ANALISI

Tra i campioni cervicali che possono essere analizzati con il test Cervista HPV HR figurano i seguenti:

- Campioni raccolti nella PreservCyt™ Solution, il sistema di conservazione dei ThinPrep™ Pap test utilizzando un dispositivo approvato per i prelievi.
- Campioni raccolti nel SurePath™ Preservative Fluid usando un dispositivo approvato per i prelievi.

I campioni cervicali nella PreservCyt Solution possono essere conservati a temperatura ambiente (20–30 °C) fino a 24 settimane prima di eseguire il test.

I campioni cervicali nel SurePath Preservative Fluid possono essere conservati a temperatura ambiente (20–30 °C) fino a 6 settimane prima di eseguire il test.

Il kit per l'estrazione del DNA Genfind (REF 95-449) è stato convalidato per l'uso con il test Cervista HPV HR. La procedura raccomandata per l'estrazione del DNA dai campioni cervicali nella PreservCyt Solution o nel SurePath Preservative Fluid è inclusa nelle Istruzioni per l'uso del kit per l'estrazione del DNA Genfind.

I laboratori che eseguono il test Cervista HPV HR utilizzando un metodo di estrazione diverso da quello fornito nel kit per l'estrazione del DNA Genfind convalidato sono tenuti a convalidare il proprio metodo.

I campioni di DNA possono essere conservati a 2–8 °C fino a quattro settimane. Per periodi di conservazione superiori alle quattro settimane, collocare i campioni in un congelatore tra -30 °C e -15 °C.

PROCEDURA DEL TEST PER IL SISTEMA CERVISTA MTA

Consultare il manuale dell'operatore del sistema Cervista MTA (n. catalogo: MAN-02378-002) per l'uso del sistema automatizzato per l'esecuzione del test Cervista HPV HR.

PROCEDURA MANUALE PER IL TEST CERVISTA HPV HR

Procedura di reazione

1. Dispensare 10 μL di ogni controllo e DNA campione in tre pozzetti di una piastra a 96 pozzetti, come indicato nel layout delle piastre (Figura 2).

	Mix 1	Mix 2	Mix 3	Mix 1	Mix 2	Mix 3	Mix 1	Mix 2	Mix 3	Mix 1	Mix 2	Mix 3
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C1	C1	C1	S5	S5	S5	S13	S13	S13	S21	S21	S21
B	C2	C2	C2	S6	S6	S6	S14	S14	S14	S22	S22	S22
C	C3	C3	C3	S7	S7	S7	S15	S15	S15	S23	S23	S23
D	NTC	NTC	NTC	S8	S8	S8	S16	S16	S16	S24	S24	S24
E	S1	S1	S1	S9	S9	S9	S17	S17	S17	S25	S25	S25
F	S2	S2	S2	S10	S10	S10	S18	S18	S18	S26	S26	S26
G	S3	S3	S3	S11	S11	S11	S19	S19	S19	S27	S27	S27
H	S4	S4	S4	S12	S12	S12	S20	S20	S20	S28	S28	S28

Figura 2: Layout delle piastre del test Cervista HPV HR

2. Per ridurre al minimo l'evaporazione, coprire ogni pozzetto con 20 μL di olio minerale e con nastro sigillante per piastre.
3. Incubare i campioni a 95 °C per 5 minuti in un termociclatore.
4. Prima dell'uso, miscelare accuratamente e sistematicamente i reagenti e i mix di reazione.
5. Preparare i mix di reazione come indicato nelle istruzioni per la preparazione dei mix (stampate con il software Invader Call Reporter), o in base ai calcoli riportati nella Tabella 2. Preparare un mix di reazione per ciascuno dei tre HPV Oligo Mix.

Tabella 2. Istruzioni per la preparazione del mix di reazione

Componente	$\mu\text{L}/\text{Pozzetto}$	Numero di reazioni Campioni e Controlli [k]	25% overage	Volume totale
HPV Oligo Mix 1, 2 o 3	8 μL	k	1,25	= $8k(1,25)$
Cleavase Enzyme Solution	2 μL	k	1,25	= $2k(1,25)$
Volume totale del mix	10 μL	k	1,25	= $10k(1,25)$ μL

6. Ridurre l'impostazione della temperatura del termociclatore a 63 °C.
7. Dispensare 10 μL del mix di reazione appropriato in ogni pozzetto contenente un controllo o un campione (Figura 2), pipettando sotto l'olio minerale.
8. Lasciare in incubazione la piastra a 63 °C per 4 ore.

Raccolta dei dati

1. Portare sempre la piastra a temperatura ambiente prima di leggere i risultati. Se non è possibile leggere subito la piastra, conservarla a 2–8 °C (si consiglia di leggere la piastra entro 24 ore dal completamento del test).
2. Collocare la piastra a 96 pozzetti (il pozzetto A1 deve trovarsi nell'angolo in alto a sinistra) sul portapiastre del lettore di piastre in fluorescenza. Rimuovere il nastro sigillante per piastre.
3. Definire il tipo di piastra per stabilire le coordinate e l'altezza della sonda del particolare tipo di piastra. Salvare le impostazioni.

4. Leggere la piastra per intero. Sono necessarie due diverse scansioni separate: FAM (Eccitazione = 485 nm, Emissione = 530 nm) e Red (Eccitazione = 560 nm, Emissione = 612 nm). Per rilevare il segnale dell'HPV, configurare lo strumento per individuare prima il colorante FAM. Per rilevare il DNA genomico del campione, lo strumento deve essere configurato per individuare il colorante Red.
5. Regolare il guadagno del lettore di piastre in fluorescenza in modo che si trovi nel range dinamico lineare del lettore, in conformità con le istruzioni del produttore. Il guadagno deve essere regolato in modo che i valori forniti dal No Target Control (NTC) rientrino nel range di background del lettore, con un RFU minimo di 600. I valori NTC non devono essere uguali per i risultati FAM e Red.

NOTE E PRECAUZIONI

1. I laboratori devono adottare le buone pratiche di laboratorio e attenersi a tutte le normative vigenti a livello europeo, statale e locale.
2. Miscelare accuratamente e sistematicamente i campioni, i reagenti e i mix di reazione.
3. Per evitare contaminazioni incrociate, a ogni dispensazione o trasferimento usare puntali per pipette sterili, monouso, con filtro barriera e senza nucleasi.
4. Per preparare i mix di reazione utilizzare provette di polipropilene monouso sterili e senza nucleasi.
5. Prima di iniziare il test controllare se il tipo di piastra a 96 pozzetti è compatibile con il termociclatore e il lettore di piastre in fluorescenza da utilizzare.*
6. Utilizzare solo dispositivi calibrati.
7. Per un corretto funzionamento del software dell'Invader Call Reporter, dispensare i controlli del test nelle posizioni designate sul layout della piastra nella Figura 2.
8. Usare una nuova aliquota di olio minerale per ogni configurazione del test (una volta dispensati, non rimettere i reagenti nel contenitore originale).
9. Consultare il layout della piastra per assicurarsi che in ciascuna colonna venga dispensato il mix appropriato.*
10. Disporre sempre il puntale della pipetta vicino al fondo del pozzetto per assicurarsi che il mix di reazione venga dispensato sotto l'olio minerale. Miscelare con cura, riempiendo e svuotando la pipetta 3–5 volte.*

*Le note procedurali 5, 9 e 10 non si applicano al sistema Cervista MTA.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Per ciascuna delle tre reazioni viene generato un valore segnale/rumore (rapporto tra segnale del campione e segnale del pozzetto di reazione No Target Control). Questo valore segnale/rumore viene definito FOZ (Fold Over Zero). Per ogni specifico campione viene generato un risultato finale positivo, negativo o indeterminato in base all'analisi di tre diversi pozzetti di reazione.

Il rapporto tra i valori HPV FOZ generati dai tre mix di reazione determina se un campione è positivo. Il rapporto HPV FOZ viene calcolato dividendo il valore HPV FOZ più elevato tra i tre mix di reazione per il valore HPV FOZ più basso dei tre. Se un valore FOZ è inferiore a 1, viene arrotondato a 1 per calcolare il rapporto. Se il rapporto HPV FOZ è superiore o pari a 1,525, allora il campione è positivo per l'HPV. Tuttavia, in un sottogruppo di infezioni, i pozzetti delle tre reazioni possono generare un segnale molto più elevato rispetto al fondo. In alcuni casi questo mix di infezioni può generare segnali positivi di simile intensità in tutti i pozzetti delle tre reazioni, con un rapporto HPV FOZ inferiore a 1,525. Per evitare il rischio di falsi negativi dovuti al precedente scenario con tre positivi, si esegue una seconda misurazione, ossia: se il rapporto FOZ è inferiore a 1,525 ma tutti i valori FOZ delle tre reazioni sono superiori o uguali al secondo valore soglia di 1,93, allora il campione è positivo per l'HPV.

Si ottiene un risultato indeterminato in tre diversi scenari: 1) quando CV% tra i valori di gDNA FOZ è $\geq 25,0\%$ (alto CV%); 2) quando i tre valori HPV FOZ sono $< 0,7$ (basso HPV FOZ); e 3) quando la media del gDNA FOZ di un campione negativo è $< 1,5$ (basso gDNA).

Una sintesi dei criteri di determinazione descritti in precedenza è riportata nella Figura 3.

TERMINOLOGIA

HPV FOZ: per ogni HPV Oligo Mix, il segnale FAM del campione diviso per il segnale FAM del No Target Control.

Rapporto HPV FOZ: il più elevato HPV FOZ dei tre HPV Oligo Mix diviso per il più basso HPV FOZ dei tre HPV Oligo Mix (normalizzato a 1,0 se il FOZ è inferiore a 1,0).

gDNA FOZ medio: Il valore medio relativo ai tre valori del FOZ del DNA genomico ottenuti dai tre mix di reazione, calcolato dividendo il segnale Red del campione per il segnale Red del No Target Control.

CV% gDNA FOZ: coefficiente % di variazione dei valori di gDNA FOZ generati dai tre HPV Oligo Mix.

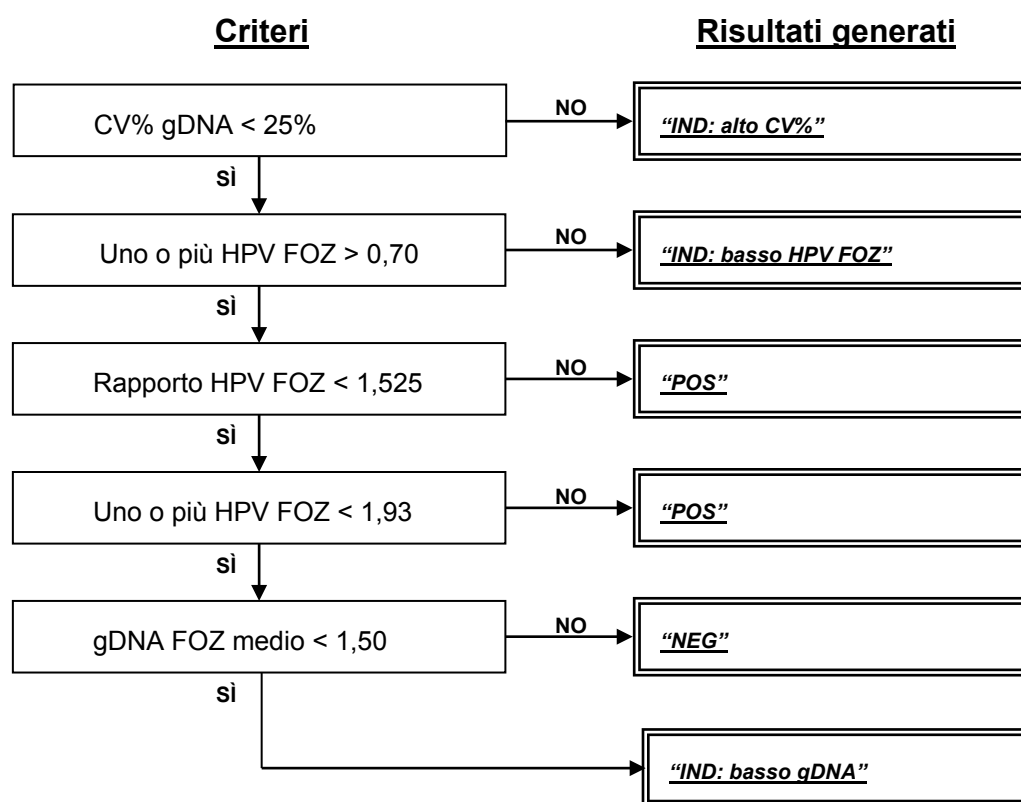


Figura 3: Criteri di determinazione ordinati dall'alto in basso

CONTROLLO DI QUALITÀ

Controllo negativo

1. I campioni di una piastra sono validi solo se il rispettivo No Target Control produce risultati adeguati. Se non risponde a tali criteri, i campioni e i controlli sulla piastra non sono validi e il test deve essere ripetuto (Tabella 3).
2. Il segnale minimo per ciascuno dei tre mix deve essere superiore o pari a 600 RFU (≥ 600).
3. Il CV% del segnale medio dell'HPV proveniente dai tre mix deve essere inferiore al 25,0% ($< 25,0\%$), altrimenti i campioni e i controlli sulla piastra non sono validi e dovranno essere ripetuti (Tabella 3).
4. Il CV% del segnale medio del gDNA proveniente dai tre mix deve essere inferiore al 25,0% ($< 25,0\%$).

Tabella 3: Criteri per il No Target Control

Risultato	Segnale min. HPV	Segnale min. gDNA	Max. CV% (HPV e gDNA)
Valido	600	600	24,9%

Controlli per l'HPV

1. Perché il test sia valido, i controlli per l'HPV (Controlli 1–3 per l'HPV) devono fornire risultati adeguati. Se i controlli non soddisfano tali criteri, i campioni sulla piastra non sono validi e il test deve essere ripetuto (Tabella 4).
2. Il rapporto HPV FOZ viene determinato dividendo l'HPV FOZ più elevato dei tre mix di reazione per l'HPV FOZ più basso dei tre (normalizzato a 1,0 se inferiore a 1,0). L'HPV Control 1 deve dare un valore HPV FOZ positivo ($\geq 1,525$) solo per l'HPV Oligo Mix 1, l'HPV Control 2 deve dare un valore HPV FOZ positivo ($\geq 1,525$) solo per l'HPV Oligo Mix 2 e l'HPV Control 3 deve dare un valore HPV FOZ positivo ($\geq 1,525$) solo per l'HPV Oligo Mix 3.
3. Il gDNA FOZ medio ricavato dai tre mix deve essere superiore o pari a 1,50 ($\geq 1,50$), altrimenti il controllo non sarà valido per il gDNA basso.
4. Il CV% del gDNA FOZ medio ricavato dai tre mix deve essere inferiore al 25,0% ($< 25,0\%$).

Tabella 4: Criteri per i controlli e i campioni di HPV

Controllo	Risultato	Rapporto HPV FOZ	Mix FOZ positivo	gDNA FOZ medio	CV% gDNA FOZ
HPV Control 1	Controllo valido	$\geq 1,525$	Solo mix 1	$\geq 1,50$	$< 25,0\%$
HPV Control 2	Controllo valido	$\geq 1,525$	Solo mix 2	$\geq 1,50$	$< 25,0\%$
HPV Control 3	Controllo valido	$\geq 1,525$	Solo mix 3	$\geq 1,50$	$< 25,0\%$

Verifica dei test

1. I risultati dei campioni sono validi se i controlli negativi e positivi forniscono risultati corretti. Se il No Target Control (controllo negativo) non è valido e/o se qualsiasi risultato dei controlli positivi non è valido, tutti i risultati dei campioni nella piastra sono invalidi e devono essere ripetuti. Consultare le sezioni sulla risoluzione dei problemi che si trovano nelle istruzioni per l'uso e nel Manuale dell'utente per il software Invader Call Reporter. Consultare la sezione sulla risoluzione dei problemi del manuale dell'operatore del sistema Cervista MTA (n. catalogo: MAN-02378-002) per il sistema Cervista MTA.
2. Tutti i requisiti dei controlli di qualità devono essere conformi alle normative nazionali, internazionali e regionali in vigore.

LIMITAZIONI

1. Il test Cervista HPV HR individua il DNA dell'HPV ad alto rischio tipo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. Questo test non individua il DNA dell'HPV a basso rischio (ad es. i tipi 6, 11, 42, 43, 44).
2. Il test Cervista HPV HR presenta reattività crociata per due tipi di HPV di cui si ignora il livello di rischio. Un risultato positivo per l'HPV è stato osservato con 5000 copie/reazione dell'HPV tipo 67 e 50.000 copie/reazione dell'HPV tipo 70.
3. Un risultato negativo non esclude la possibilità di infezioni da HPV, in quanto livelli molto bassi di infezione o errori di campionamento possono dar luogo a falsi negativi.
4. Il test è stato convalidato per l'uso solo con campioni di citologia cervicale prelevati in PreservCyt Solution o in SurePath Preservative Fluid.
5. Le performance del test Cervista HPV HR sono state determinate usando il DNA estratto con il kit per l'estrazione del DNA Genfind.
6. L'interferenza con il test è stata osservata nei campioni cervicali raccolti in PreservCyt Solution, contaminati con alti livelli (2%) di gel spermicida e/o creme antimicotiche quando il DNA è stato isolato con il kit per l'estrazione del DNA Genfind. In queste condizioni si possono ottenere risultati falsi negativi.
7. L'interferenza con il test è stata osservata nei campioni cervicali raccolti in SurePath Preservative Fluid, contaminati con spermicida e/o creme antimicotiche a livelli del 0,5% e con lubrificante personale ASTROGLIDE® a livelli dello 0,5% quando il DNA è stato isolato con il kit di estrazione del DNA Genfind. In queste condizioni si possono ottenere risultati falsi negativi. L'interferenza potenziale del lubrificante personale ASTROGLIDE non è stata esaminata nei campioni cervicali raccolti in PreservCyt Solution.

PRESTAZIONI

Performance del trial clinico

Uno studio clinico multicentrico, di prevalenza e prospettico, è stato condotto per valutare l'efficienza del test Cervista HPV HR nell'individuazione di Human papillomavirus e neoplasie cervicali intraepiteliali di grado 2 o superiore (CIN2+) nei campioni per citologia liquida. Campioni citologici residui in ThinPrep sono stati prelevati da 3540 donne che si erano sottoposte a screening di routine per il cancro cervicale. Allo studio hanno partecipato 2026 donne di almeno 30 anni con risultati citologici normali (WNL) e 1514 donne di almeno 18 anni con risultati ASC-US. I campioni citologici sono stati prelevati presso 89 istituti clinici negli Stati Uniti. Il DNA è stato estratto dai campioni cervicali residui in ThinPrep rimasti dopo il completamento delle normali procedure di screening per il cancro cervicale. Quindi il DNA è stato esaminato usando il test Cervista HPV HR.

Le performance analitiche del test sono state valutate rispetto ai risultati di PCR/sequenziamento. I campioni residui di DNA dei soggetti con ASC-US e WNL sono stati usati per l'amplificazione mediante PCR e sequenziamento. I campioni di DNA sono stati amplificati utilizzando i primer di consenso per il gene dell'HPV L1. Anche una porzione del gene della beta-globulina umana è stata amplificata come controllo interno. Gli ampliconi purificati sono stati usati come template in più reazioni di sequenziamento per 14 tipi di HPV ad alto rischio: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. I dati sul sequenziamento sono stati analizzati usando vari software di allineamento.

Dal raffronto tra il test Cervista HPV HR e il metodo PCR/sequenziamento nei soggetti con ASC-US e con WNL risulta una concordanza complessiva dell'86,1% tra i due metodi (IC 95% = 84,9–87,3%). La concordanza percentuale positiva tra i due metodi è stata pari a 91,8 (89,7–93,6%), mentre quella negativa è stata pari a 84,2% (IC 95% = 82,7–85,7%).

Le performance cliniche del test Cervista HPV HR sono state valutate rispetto ai risultati della colposcopia e dell'istologia. I campioni biotipici sono stati prelevati da donne con citologia ASC-US, in conformità con gli standard di assistenza dei centri clinici partecipanti. Un panel di revisione centrale ha fornito i risultati istologici di consenso, utilizzati come gold standard per determinare la presenza o l'assenza della patologia. In mancanza di dati istologici, l'assenza di lesioni cervicali visibili alla colposcopia e di risultanze biotipiche hanno escluso la presenza della patologia.

I soggetti ASC-US con patologia conclamata (istologia centrale o colposcopia negativa) e risultati al Cervista HPV HR sono stati 1347. Le Tavole 5 e 6 riportano un raffronto tra i risultati del Cervista HPV HR e la Colposcopia/Istologia centrale.

Tabella 5: Risultati del Cervista HPV HR e della colposcopia/istologia di consenso (CIN2+) nelle donne con citologia ASC-US

Cervista HPV HR	Colposcopia/Istologia		
	Positiva ^b	Negativa ^c	Totale
Positivo	64	705	769
Negativo^a	5	573	578
Totale	69	1278	1347

^a Include i risultati indeterminati

^b CIN2+ Istologia

^c Né CIN o CIN1 con istologia centrale o colposcopia senza istologia centrale

Tabella 6: Risultati del Cervista HPV HR e della colposcopia/istologia di consenso (CIN3+) nelle donne con citologia ASC-US

Cervista HPV HR	Colposcopia/Istologia		
	Positiva ^b	Negativa ^c	Totale
Positivo	22	705	727
Negativo ^a	0	573	573
Totale	22	1278	1300

^a Include i risultati indeterminati

^b CIN3+ comprende un adenocarcinoma in situ

^c Né CIN, CIN1 o CIN2 con istologia centrale o colposcopia senza istologia centrale

Tra le donne con citologia ASC-US la sensibilità clinica del test per CIN2+ è stata pari al 92,8% (IC 95% = 83,9–97,6%), mentre il valore predittivo negativo è stato del 99,1% (IC 95% = 98,0–99,7%). La sensibilità clinica e i valori predittivi negativi del test per CIN 3 sono stati entrambi del 100% (IC 95% = 84,6–100% e 99,4–100%).

Esistono diverse variabili fondamentali che sicuramente incidono sulle prestazioni dei test per l'HPV negli studi clinici. Alcune variabili, a titolo esemplificativo, sono le tecniche per il prelievo dei campioni cervicali, la qualità dei risultati citologici, l'età della popolazione sottoposta a test, l'incidenza della patologia, i metodi di accertamento della malattia e i criteri di interpretazione istologica. Considerando il numero di variabili presenti nei test di routine per l'HPV in più centri clinici, è indicativo che numerosi risultati ottenuti dal trial clinico Hologic siano simili a quelli osservati nelle condizioni controllate del trial descritte nel ASC-US/LSIL Triage Study (ALTS).^{7,4} La Tabella 7 raffronta l'impostazione dello studio, l'incidenza della patologia e le performance cliniche tra studio Hologic e ALTS. Le differenze dei tassi di CIN2+ registrate nei due studi potrebbero riflettere differenze di popolazione o di valutazione della patologia.

Tabella 7: Raffronto tra trial clinico Hologic e ALTS^{7,4}

Critero	ALTS	Hologic
Numero di siti/stati partecipanti	4 / 4	89 / 22
Età media dei soggetti	29	33
Soggetti con colposcopia completata	1149 ^a	1347 ^b
Soggetti senza lesioni; non è stata eseguita biopsia (%)	25%	28%
Soggetti senza lesioni patologiche alla biopsia (%)	49%	53%
Soggetti con CIN1 (%)	15%	14%
Soggetti con CIN2+ (%)	11%	5%
Tasso di individuazione per CIN2+	96%	93%
Tasso di individuazione per CIN3+	96%	100%
Valore predittivo negativo per CIN2+	98,9%	99,1%
Valore predittivo negativo per CIN3+	99,5%	100,0%
Tasso di richiamo alla colposcopia	57%	57% ^c
Concordanza con i risultati della PCR	82,7%	86,1%

^a Branca dell'ALTS con colposcopia immediata

^b Numero di soggetti con patologia conclamata e risultati al Cervista HPV HR

^c Il tasso di richiamo per le donne di almeno 30 anni è stato del 43%

Sensibilità analitica

Il DNA plasmidico clonato dell'HPV, rappresentativo dei 14 tipi individuati dal test Cervista HPV HR, è stato sottoposto a test per determinare la sensibilità analitica specifica di ciascun tipo. I valori del limite di rilevamento (Limit of Detection, LoD), da più concentrazioni dello specifico HPV target (linee guida CLSI/NCCLS EP17-A Vol. 24 No. 34), sono stati calcolati per i 14 tipi di HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) come funzione di una misura del Limit of Blank (LoB) e di una misura della varianza della popolazione (DS). Nove campioni di DNA HPV-negativi isolati da campioni cervicali sono stati usati per determinare il valore LoB (rapporto FAM FOZ = 1,20). Ogni DNA plasmidico dell'HPV è stato sottoposto a test con concentrazioni di 7500, 5000, 2500 e 1250 copie per reazione, ciascuna in un background di tre concentrazioni di DNA genomico isolato da un ceppo cellulare HPV-negativo (10 ng, 100 ng e 1 μ g per reazione). Tutti i campioni positivi e negativi sono stati testati in replicati di otto.

Il limite di rilevamento per ogni tipo di HPV è riportato nella Tabella 8. I limiti sono descritti in termini di rapporto FAM FOZ e come range del numero di copie.

Tabella 8: Sintesi della sensibilità analitica del test Cervista HPV HR

Tipo di HPV DNA	LoD (N° copie/Reazione)	LoD (Rapporto FAM FOZ)	DS
16	1250-2500	1,34	0,08
18	1250-2500	1,34	0,08
31	1250-2500	1,30	0,06
33	2500-5000	1,31	0,07
35	5000-7500	1,34	0,09
39	2500-5000	1,30	0,06
45	1250-2500	1,31	0,06
51	2500-5000	1,35	0,09
52	1250-2500	1,28	0,04
56	1250-2500	1,37	0,10
58	2500-5000	1,35	0,09
59	2500-5000	1,35	0,09
66	2500-5000	1,30	0,06
68	2500-5000	1,30	0,06
Media		1,324	0,074

Accuratezza e specificità rispetto al metodo PCR/sequenziamento del DNA

È stato condotto uno studio mirato a valutare la capacità del test Cervista HPV HR di individuare l'HPV DNA ad alto rischio nei campioni clinici. I campioni sono stati caratterizzati usando un metodo genotipico per le ricerche sull'HPV che utilizza l'amplificazione mediante PCR con primer a sequenza degenerata seguita da sequenziamento specifico per tipo di HPV. Il metodo PCR/sequenziamento è stato usato come la sola determinante per la presenza di HPV DNA.

Per lo studio sono stati utilizzati 192 campioni conservati in PreservCyt Solution, 189 dei quali mostrano evidenti risultati di sequenziamento. Due di questi 189 campioni sono risultati indeterminati al test Cervista HPV HR. I risultati indeterminati non sono stati inseriti nell'analisi comparativa del test Cervista HPV HR e nei metodi di PCR/sequenziamento.

Il rapporto tra risultati negativi con PCR/sequenziamento e positivi per il test Cervista HPV HR è stato di 5/187. Al contrario, il rapporto tra risultati positivi con PCR/sequenziamento e negativi per il test Cervista HPV HR è stato di 11/187 (Tabella 9).

Con questo tipo di analisi, è stata osservata una concordanza del 91,4% (171/187; IC 95% = 86,5–95,0%) tra i due metodi, con una concordanza positiva e negativa pari rispettivamente a 89,8% e 93,7% (IC 95% = 82,5–94,8 e 85,8–97,9%).

Tabella 9: Individuazione dell'HPV DNA: confronto tra test Cervista HPV HR e PCR con sequenziamento tipo-specifico

		PCR/Sequenziamento		Totale
		Negativo	Positivo	
Test Cervista HPV HR	Negativo	74	11	85
	Positivo	5	97	102
	Totale	79	108	187

Riproducibilità

In questo studio, la riproducibilità complessiva del test Cervista HPV HR è stata valutata in tre siti usando un gruppo di cellule in coltura HPV positive e negative, oltre a campioni cervicali HPV positivi e negativi. Il DNA è stato estratto da 2 mL di campioni cervicali o cellule in coltura sospesi in PreservCyt Solution. Il DNA è stato estratto utilizzando il kit per l'estrazione del DNA Genfind. Sedici campioni sono stati sottoposti a test in tre siti per cinque giorni non consecutivi nell'arco di due settimane. Per lo studio sono stati impiegati due lotti di kit Cervista HPV HR e tre lotti di kit per l'estrazione del DNA Genfind.

La concordanza è stata valutata entro il giorno/sito, calcolando la corrispondenza percentuale tra analisi per i tre possibili accoppiamenti in ciascun giorno/sito. La corrispondenza percentuale media e l'esatto intervallo di confidenza unilaterale del 95% sono presentati prima per ogni sito (riproducibilità intra-sito), quindi per tutti e tre i siti (riproducibilità inter-sito).

La concordanza tra giorni/nel sito è stata valutata calcolando la concordanza percentuale tra analisi per ogni due analisi eseguite in due giorni diversi in un sito per tutti i possibili accoppiamenti. La corrispondenza percentuale media e l'esatto intervallo di confidenza unilaterale del 95% vengono presentati prima per ogni sito (riproducibilità intra-sito, tra analisi), quindi per tutti e tre i siti (riproducibilità inter-sito, tra analisi).

La concordanza tra siti è stata valutata calcolando la corrispondenza percentuale tra analisi per ogni due analisi eseguite in due diversi siti per tutti i possibili accoppiamenti [n = 3 (siti 1 e 2, siti 1 e 3, siti 2 e 3)]. La corrispondenza percentuale media e l'intervallo di confidenza unilaterale del 95% sono riportati nelle Tavole 10 e 11.

Tabella 10: Corrispondenza percentuale tra giorni (nel sito) del test molecolare HPV HR

Sito	Numero di confronti	Numero di concordanze	Corrispondenza percentuale	Confidenza unilaterale del 95% Limite inferiore
Sito 1	200	200	100,0%	96,3%
Sito 2	200	193	96,5%	90,8%
Sito 3	200	200	100,0%	96,3%
Tutti e 3 i siti	600	593	98,8%	96,9%

Tabella 11: Corrispondenza percentuale tra siti del test molecolare HPV HR

Siti	Numero di confronti	Numero di concordanze	Corrispondenza percentuale	Confidenza unilaterale del 95% Limite inferiore
Sito 1 vs Sito 2	500	490	98,0%	96,6%
Sito 1 vs Sito 3	500	500	100,0%	99,4%
Sito 2 vs Sito 3	500	490	98,0%	96,6%
Tutte le coppie di siti	1500	1480	98,7%	97,9%

Sostanze interferenti

Quattro campioni cervicali (uno HPV negativo, tre HPV positivi) e tre campioni di ceppi cellulari (uno HPV negativo, due HPV positivi) sono stati sottoposti a test con sostanze aggiunte che potrebbero essere potenzialmente presenti nel campione cervicale. Le sostanze aggiunte ai campioni comprendevano PreservCyt Solution, due tipi di lavande vaginali, gel spermicida, due tipi di creme antimicotiche e campioni clinici negativi con sangue e muco riscontrabili visivamente. L'aggiunta di PreservCyt Solution, lavanda vaginale, gel spermicida e creme antimicotiche è stata eseguita a due livelli, 0,5% e 2%. Questi due livelli sono stati scelti per rappresentare situazioni estreme che potrebbero potenzialmente verificarsi durante il prelievo dei campioni se la cervice non venisse pulita prima di ottenere il campione. Il DNA è stato isolato da campioni puri e impuri usando il kit per l'estrazione del DNA Genfind ed è stato esaminato con il test Cervista HPV HR per valutare l'interferenza provocata dalle sostanze introdotte.

Il gel spermicida e le creme antimicotiche contenenti clotrimazolo o miconazolo a una concentrazione del 2% nel campione hanno prodotto risultati indeterminati e falsi negativi. Durante l'estrazione del DNA, il gel spermicida ha ostacolato la separazione delle microsferi magnetiche nel buffer Tris 10 mM, con conseguente basso recupero di DNA e campione di DNA insufficiente per il test. Questa interferenza è stata rilevata visivamente.

I livelli che devono raggiungere queste sostanze per provocare il fallimento del test sono insolitamente elevati e non si dovrebbero incontrare nei normali campioni clinici se il medico segue la corretta procedura per i prelievi, pulendo la cervice prima di ottenere il campione cellulare per il Pap test.

Il test Cervista HPV HR è stato controllato anche con componenti che potrebbero essere trasferiti inavvertitamente durante l'estrazione del campione con il kit per l'estrazione del DNA Genfind. Il DNA contenente tre livelli (0%, 5% e 10%) di etanolo al 70% o le microsferi magnetiche Genfind è stato sottoposto a test per valutare l'interferenza indotta dalle sostanze introdotte. L'interferenza è stata osservata quando il 10% del volume del campione di DNA conteneva etanolo al 70% o le microsferi purificate.

Reattività crociata

Un gruppo di batteri, funghi e virus comunemente riscontrati nel tratto anogenitale femminile, oltre a diversi tipi di Human papillomavirus clonati a rischio basso o indeterminato, sono stati esaminati con il test Cervista HPV HR per valutarne la possibile reattività crociata (Tavole 12–14).

Tabella 12:

Gli organismi elencati in basso sono stati aggiunti alla PreservCyt Solution a concentrazioni di circa 1×10^5 cfu/mL e 1×10^7 cfu/mL. Il DNA di questi organismi e un ceppo cellulare negativo (Jurkat, 1×10^5 cellule/mL) sono stati estratti usando il kit per l'estrazione del DNA Genfind. Tutti i campioni hanno dato risultati negativi con il test Cervista HPV HR.

<i>Candida albicans</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>

Tabella 13:

Il DNA purificato ottenuto dagli organismi elencati in basso è stato esaminato a concentrazioni di 1×10^5 copie/reazione e 1×10^7 copie/reazione con il test Cervista HPV HR. Tutti i campioni hanno dato risultati negativi.

Herpes simplex virus type 1 (HSV-1)	<i>Chlamydia trachomatis</i>
Herpes simplex virus type 2 (HSV-2)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Human Immunodeficiency virus type 1 (HIV-1, geni Pol ed Env)	<i>Neisseria meningitidis</i>
	<i>Mycoplasma hominis</i>

Tabella 14:

I campioni purificati di DNA clonato o amplicone da PCR per i seguenti tipi di HPV sono stati esaminati a concentrazioni di 1×10^5 copie/reazione e 1×10^7 copie/reazione, salvo diversa indicazione, usando il test Cervista HPV HR. Tutti i campioni hanno dato risultati negativi.

Human papillomavirus type 1a	Human papillomavirus type 44
Human papillomavirus type 6	Human papillomavirus type 53
Human papillomavirus type 11	Human papillomavirus type 67 [*]
Human papillomavirus type 42	Human papillomavirus type 70 [*]
Human papillomavirus type 43	Gene umano di controllo interno

^{*} Gli Human papillomavirus type 67 e 70 hanno dato risultati positivi con il test Cervista HPV HR a 1×10^5 e 1×10^7 copie/reazione. Una ulteriore titolazione di questi campioni ha dato luogo a risultati negativi con il test Cervista HPV HR a 1×10^3 copie/reazione e 1×10^4 copie/reazione rispettivamente.

Inoltre, è stato testato anche il DNA estratto da un gruppo di dodici campioni cervicali che erano stati conservati in PreservCyt Solution, contenenti HPV a rischio basso o indeterminato (HPV Type 6, 42, 43, 44, 53 o 70), previa conferma con PCR/sequenziamento, dando risultati negativi con il test Cervista HPV HR.

PRECISIONE

La ripetibilità e la precisione intralaboratorio del test Cervista HPV HR è stata dimostrata in uno studio di 21 giorni con tre operatori alternantisi, ciascuno dei quali ha eseguito due analisi al giorno su apparecchiature utilizzate individualmente. Per ogni analisi sono state utilizzate quattro piastre. Per le analisi nell'arco della giornata sono stati adottati diversi layout delle piastre.

Per ogni analisi sono stati utilizzati campioni di DNA genomico isolati da due ceppi cellulari HPV positivi (SiHa – Type 16 e HeLa – Type 18), un ceppo cellulare HPV negativo (Jurkat) e campioni preparati contenenti DNA plasmide e Jurkat DNA HPV16, HPV18, HPV31, HPV33, HPV35, HPV39, HPV45, HPV51, HPV52, HPV56, HPV58, HPV59, HPV66 o HPV68. Ogni campione è stato testato in duplicato a tre concentrazioni.

A 2500 copie/reazione, i campioni di DNA plasmide hanno dato il 57,4% (675/1176) di risultati positivi. A 5000 copie/reazione i campioni di DNA plasmide hanno dato il 97,2% (1143/1176) di risultati positivi. A 10.000 copie/reazione, i campioni di DNA plasmide hanno dato il 100,0% (1176/1176) di risultati positivi (Tabella 15).

Tabella 15: Sintesi dei valori positivi e negativi per ciascuno dei campioni testati.

Target		N	HPV positivi n (%)	HPV negativi n (%)
HPV 16	2500	84	82 (98%)	2 (2%)
	5000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 18	2500	84	64 (76%)	20 (24%)
	5000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 31	2500	84	58 (69%)	26 (31%)
	5000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 33	2500	84	13 (15%)	71 (84%)
	5000	84	81 (96%)	3 (4%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 35	2500	84	1 (1%)	83 (99%)
	5000	84	60 (71%)	24 (29%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 39	2500	84	52 (62%)	32 (38%)
	5000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 45	2500	84	84 (100%)	0 (0%)
	5000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 51	2500	84	77 (92%)	7 (8%)
	5000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 52	2500	84	21 (25%)	63 (75%)
	5000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 56	2500	84	64 (76%)	20 (24%)
	5000	84	83 (99%)	1 (1%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 58	2500	84	60 (71%)	24 (29%)
	5000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 59	2500	84	16 (19%)	68 (81%)
	5000	84	79 (94%)	5 (6%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 66	2500	84	40 (48%)	44 (52%)
	5000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 68	2500	84	43 (51%)	41 (49%)
	5000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)

Target		N	HPV positivi n (%)	HPV negativi n (%)
Cellule/ml estratti	2500 SiHa/97.500 Jurkat	84	0 (0%)	84 (100%)
	SiHa/Jurkat			
	5000 SiHa/95.000 Jurkat	84	15 (18%)	69 (82%)
	20.000 SiHa/80.000 Jurkat	84	84 (100%)	0 (0%)
	HeLa/Jurkat			
	1250 HeLa/98.750 Jurkat	84	65 (77%)	19 (23%)
	2500 HeLa/97.500 Jurkat	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000 HeLa/90.000 Jurkat	84	84 (100%)	0 (0%)
	Jurkat			
	10.000	84	2 (2%)	82 (98%)
	20.000	84	0 (0%)	84 (100%)
	100.000	84	0 (0%)	84 (100%)

Prestazioni del test Cervista HPV HR

Prestazioni del test Cervista HPV HR sui campioni raccolti in SurePath Preservative Fluid a confronto con i campioni raccolti nella soluzione PreservCyt:

418 soggetti in totale sono stati reclutati in uno studio di raccolta contemporanea per ottenere coppie di campioni cervicali raccolti in SurePath Preservative Fluid e in PreservCyt Solution da ogni soggetto. Ogni coppia di campioni è stata esaminata con il test Cervista HPV HR. Si è rilevata una concordanza percentuale totale del 92% per i risultati ottenuti per i campioni raccolti in SurePath Preservative Fluid rispetto ai risultati ottenuti per i campioni raccolti in PreservCyt Solution.

Tabella 16: Riepilogo dei risultati del test Cervista su campioni cervicali raccolti contemporaneamente in SurePath Preservative Fluid e in PreservCyt Solution

	Risultati dei campioni SurePath	Risultati dei campioni PreservCyt
Totale	418	418
% positivi	29,4%	29,2%
% negativi	69,9%	70,6%
% indeterminati	0,7%	0,2%

RISOLUZIONE DEI PROBLEMI: PROCEDURA MANUALE PER IL TEST CERVISTA HPV HR

Problema	Causa possibile	Possibile soluzione
Volume insufficiente per il mix di reazione	Il numero di campioni inserito nella tab Assay Selection (selezione del test) del software è inferiore a quello dei campioni posti sulla piastra.	Ricalcolare manualmente la quantità richiesta di mix di reazione per completare la piastra. Ripetere gli stampati utilizzando il corretto numero di campioni.
	Mix di reazione in eccesso nella micropiastra a 96 pozzetti.	Verificare che in ogni pozzetto sia stato dispensato il volume corretto di mix di reazione. Verificare che i dati di calibrazione sull'apparecchio siano aggiornati.
Il No Target Control visualizza i seguenti risultati: <ul style="list-style-type: none"> • Aumenta guadagno per scansione 1 • Aumenta guadagno per scansione 2 • Aumenta guadagno per entrambe le scansioni 	Il guadagno del lettore di micropiastre in fluorescenza è troppo basso, per cui i valori del segnale di fluorescenza sono inferiori al minimo richiesto.	Aumentare il guadagno del fluorometro per le scansioni selezionate in modo che il No Target Control produca un segnale minimo di 600 RFU e rileggere la piastra.
Errori durante l'importazione dei dati: "Controlla il guadagno di FAM e Red e rileggi la piastra per intero. (Non sono consentite letture parziali.)" "Controlla il guadagno di FAM e rileggi la piastra per intero. (Non sono consentite letture parziali.)" "Controlla il guadagno di Red e rileggi la piastra per intero. (Non sono consentite letture parziali.)"	Problemi al fluorometro	Per i problemi al fluorometro connessi a questo errore, consultare la Guida alla risoluzione dei problemi nel Manuale d'uso del Software per Invader Call Reporter.
	Il periodo di incubazione è stato più lungo di quanto indicato.	Verificare che l'incubazione sia stata eseguita per il tempo indicato e alla temperatura specificata.

Problema	Causa possibile	Possibile soluzione
Il No Target Control visualizza i seguenti risultati: CV% alto (HPV NTC) CV% alto (gDNA NTC)	Miscelazione dei reagenti insufficiente o irregolare.	<ul style="list-style-type: none"> • Assicurarsi che tutti i campioni, i reagenti e i mix di reazione siano ben miscelati. • Per aggiungere il mix di reazione nei pozzetti, poggiare i puntali sul fondo dei pozzetti (sotto l'olio minerale) e pipettare lentamente 3–4 volte in ambo le direzioni. • Verificare che tutto il liquido venga espulso dai puntali durante le operazioni. • Verificare che a ogni pozzetto sia stato aggiunto il reagente appropriato. • Verificare che a ogni pozzetto sia stato aggiunto il volume corretto di reagente. • Verificare che i dati di calibrazione sull'apparecchio siano aggiornati. • Controllare visivamente eventuali incongruenze tra i volumi dei pozzetti.
	Preparazione errata dei mix di reazione.	
	Aggiunta non sistematica di No Target Control o di mix di reazione alla micropiastra.	
	Sospetta contaminazione durante l'aggiunta di campioni o la preparazione di mix di reazione	<ul style="list-style-type: none"> • Per preparare i mix di reazione usare puntali con filtro barriera senza nucleasi e provette sterili. • Indossare i guanti per predisporre il test. • Assicurarsi che i puntali delle pipette tocchino solo la soluzione dispensata. • Non toccare i puntali delle pipette con le mani. • Pulire le superfici del laboratorio con materiali adeguati.
	Evaporazione dei campioni	Verificare che sia stato aggiunto olio minerale ai pozzetti.
	Bolle nei pozzetti delle piastre di reazione	Se possibile, centrifugare le piastre prima della scansione in fluorescenza.
	I mix di reazione preparati non sono stati utilizzati entro i tempi suggeriti.	Usare i mix di reazione entro 30 minuti dalla preparazione.

Problema	Causa possibile	Possibile soluzione
Il controllo visualizza Controllo non valido (Invalid Control)	Miscelazione dei controlli insufficiente o irregolare	<ul style="list-style-type: none"> • Assicurarsi che tutti i controlli e i reagenti vengano miscelati accuratamente e in modo sistematico. • Per aggiungere il mix di reazione nei pozzetti, poggiare i puntali sul fondo dei pozzetti (sotto l'olio minerale) e pipettare lentamente 3-4 volte in ambo le direzioni. • Verificare che tutto il liquido venga espulso dai puntali durante le operazioni. • Verificare che il controllo appropriato venga aggiunto a ogni pozzetto. • Verificare che a ogni pozzetto venga aggiunto il volume corretto di controllo. • Controllare i dati di calibrazione sull'apparecchio. • Controllare visivamente eventuali incongruenze tra i volumi dei pozzetti.
	Aggiunta non sistematica del mix di reazione	
	Aggiunta del controllo insufficiente o non sistematica	
	Non è stato aggiunto il controllo corretto alla piastra o non è stato collocato nella giusta posizione.	Verificare che siano stati aggiunti i controlli appropriati nelle corrette posizioni sulla piastra.
	Il periodo di incubazione è stato più breve o più lungo di quanto indicato.	Verificare che l'incubazione sia stata eseguita per il tempo indicato e alla temperatura specificata.
	Sospetta contaminazione durante l'aggiunta di campioni.	Per la configurazione usare puntali con filtro barriera senza nucleasi e provette sterili.
		Indossare i guanti per predisporre il test.
		Assicurarsi che i puntali delle pipette tocchino solo la soluzione dispensata.
		Non toccare i puntali delle pipette con le mani.
	Pulire le superfici del laboratorio con materiali adeguati.	
Evaporazione dei campioni	Verificare che sia stato aggiunto olio minerale ai pozzetti.	
Errato orientamento della piastra	Per la scansione, orientare la piastra in modo che il pozzetto A-1 si trovi nell'angolo superiore sinistro.	
Bolle nei pozzetti delle piastre di reazione	Se possibile, centrifugare le piastre prima della scansione in fluorescenza.	
I mix di reazione preparati non sono stati utilizzati entro i tempi suggeriti.	Usare i mix di reazione entro 30 minuti dalla preparazione.	

Problema	Causa possibile	Possibile soluzione	
Il campione dà il risultato "IND: CV% alto".	Miscelazione dei campioni insufficiente o irregolare	<ul style="list-style-type: none"> Assicurarsi che tutti i campioni e i reagenti siano ben miscelati. Per aggiungere il mix di reazione nei pozzetti, poggiare i puntali sul fondo (sotto l'olio minerale) e pipettare lentamente 3-4 volte in ambo le direzioni. Verificare che tutto il liquido venga espulso dai puntali durante le operazioni. Verificare che a ogni pozzetto sia stato aggiunto il campione appropriato. Verificare che a ogni pozzetto sia stato aggiunto il volume corretto di campione. Verificare che i dati di calibrazione sull'apparecchio siano aggiornati. Controllare visivamente eventuali incongruenze tra i volumi dei pozzetti. 	
	Aggiunta non sistematica del mix di reazione		
	Aggiunta non sistematica del campione		
	Sospetta contaminazione durante l'aggiunta di campioni.		Per la configurazione usare puntali con filtro barriera senza nucleasi e provette sterili.
			Indossare i guanti per predisporre il test.
			Assicurarsi che i puntali delle pipette tocchino solo la soluzione dispensata.
			Non toccare i puntali delle pipette con le mani.
		Pulire le superfici del laboratorio con materiali adeguati.	
Evaporazione dei campioni	Verificare che sia stato aggiunto olio minerale ai pozzetti.		
Bolle nei pozzetti delle piastre di reazione	Se possibile, centrifugare le piastre prima della scansione in fluorescenza.		
I mix di reazione preparati non sono stati utilizzati entro i tempi suggeriti.	Usare i mix di reazione entro 30 minuti dalla preparazione.		
Il campione dà il risultato "IND: gDNA basso"	Insufficiente numero di cellule nel campione.	<ul style="list-style-type: none"> Miscelare il campione e ripetere l'estrazione del DNA. Verificare che a ogni pozzetto sia stato aggiunto il volume corretto di campione. Verificare se per l'estrazione del DNA è stata applicata la corretta procedura. 	
	Possibile errore durante l'estrazione del DNA.		
	È stata usata una quantità di DNA insufficiente per il dosaggio.		
	Inibizione del campione di DNA	Ripetere l'estrazione del DNA dal campione.	
		Consultare le Istruzioni per l'uso, sezione Prestazioni (Sostanze interferenti).	
È possibile che i campioni di DNA non siano stati completamente denaturati.	Verificare che il campione sia stato denaturato alla giusta temperatura e per il tempo richiesto.		

Problema	Causa possibile	Possibile soluzione
Il campione dà il risultato "IND: basso HPV FOZ".	Possibile errore durante l'estrazione del DNA	<ul style="list-style-type: none"> • Ripetere l'estrazione del DNA dal campione. • Verificare se per l'estrazione del DNA è stata applicata la corretta procedura. • Consultare le Istruzioni per l'uso, sezione Prestazioni (Sostanze interferenti).
	Inibizione del campione di DNA	
Volume insufficiente del campione di DNA.	Volume di eluizione insufficiente durante l'estrazione del DNA	Ripetere l'estrazione del DNA dal campione.
		Verificare se per l'estrazione del DNA è stata applicata la corretta procedura.
Alto numero di campioni di DNA con valori FAM FOZ positivi in tutti e tre mix di reazione.	Possibile errore durante l'estrazione del DNA	<ul style="list-style-type: none"> • Ripetere l'estrazione del DNA dal campione. • Verificare se per l'estrazione del DNA è stata applicata la corretta procedura.
	Possibile contaminazione del reagente durante l'estrazione del DNA	

RISOLUZIONE DEI PROBLEMI PER IL SISTEMA CERVISTA MTA

Consultare la sezione sulla risoluzione dei problemi del manuale dell'operatore del sistema Cervista MTA (n. catalogo: MAN-02378-002) per i sistemi Cervista MTA.

BIBLIOGRAFIA

1. Sito web del National Cancer Institute: www.cancer.gov (2008).
2. Meijer CJ, Snijders PJ, and Castle PE. 2006. Clinical utility of HPV genotyping. *Gynecol Oncol* 103: 12-17.
3. Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D. 2007. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. *Am J Obstet Gynecol* 197(4): 346-55.
4. Sherman ME, Schiffman M, and Cox TJ. 2002. Effects of age and human papilloma viral load on colposcopy triage: data from the randomized Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study (ALTS). *Jour Nat Can Inst* 94(2): 102-107.
5. Davey DD, Neal MH, Wilbur DC, Colgan TJ, Styer PE, and Mody DR. 2004. Bethesda 2001 implementation and reporting rates: 2003 practices of participants in the college of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Cervicovaginal Cytology. *Arch Path Lab Med* 128: 1224-1229.
6. Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA* 2002; 287: 2120-2129.
7. Solomon D, Schiffman M, and Tarone R. 2001. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *Jour Nat Can Inst*; 93(4): 293-299.
8. Mayrand MH, E Duarte-Franco, I Rodrigues, SD Walter, J Hanley. 2007. A Ferenczy, S Ratnam, F Coutlée, EL Franco. Human Papillomavirus DNA versus Papanicolau Screening Tests for Cervical Cancer. *N Engl J Med* 357(16): 1579-1588.
9. Wheeler CM, WC Hunt, M Schiffman, PE Castle. 2006. Human papillomavirus genotypes and the cumulative 2-Year risk of cervical cancer. *J Infect Dis* 194: 1291-1299.
10. Saslow D, Runowicz CD, Solomon D, Moscicki A-B, Smith RA, Eyre HJ, Cohen C. American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. *CA Can Jour Clin* 2002; 53: 342-362.
11. Wright TC Jr, Schiffman M, Solomon D, Cox JT, Garcia F, Goldie S, Hatch K, Noller KL, Roach N, Runowicz C, Saslow D. 2004. Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. *Obstet Gynecol* 103: 304-309.
12. Hall JG, Eis PS, Law SM, Reynaldo LP, Prudent JR, Marshall DJ, Allawi HT, Mast AL, Dahlberg JE, Kwiatkowski RW, de Arruda M, Neri BP, and Lyamichev VI. 2000. Sensitive detection of DNA polymorphisms by the serial invasive signal amplification reaction. *PNAS* 97(15): 8272-8277.

Informazioni sui contatti

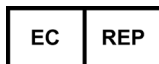


Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 USA

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

Assistenza tecnica: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Per ulteriori informazioni di contatto visitare il sito www.hologic.com.

**Rappresentante autorizzato nell'Unione europea:**

Hologic Ltd.
 Heron House Oaks Business Park
 Crewe Road
 Wythenshawe, Manchester
 M23 9HZ, Regno Unito
 Tel: +44 (0)161 946 2206
 Fax: +44 (0)161 602 0995
 Email: AuthorisedRepresentativeEurope@hologic.com

AVVISO AL DESTINATARIO SULLA LICENZA LIMITATA

Questo prodotto, fornito da Hologic o da un suo distributore autorizzato, include una licenza limitata e non esclusiva, conforme a determinati diritti di proprietà intellettuale detenuti da Hologic. Questa licenza si applica solo nel caso in cui il prodotto venga utilizzato per lo scopo previsto. Questa licenza limitata non include il diritto di utilizzare il prodotto per la ricerca o lo sviluppo di nuovi prodotti, la fabbricazione di prodotti, la decodifica, miglioramenti della tecnologia del prodotto stesso o per altri fini di natura commerciale. Il cliente non è autorizzato a cedere questo prodotto a terzi per qualsivoglia scopo senza il previo consenso scritto di Hologic. Se non diversamente indicato in questo paragrafo, non viene concessa alcuna altra licenza, espressa, implicita o per preclusione.

Per informazioni sulla disponibilità di ulteriori licenze per applicare le metodologie brevettate, rivolgersi a:

Legal Department, Hologic, Inc., 250 Campus Drive, Marlborough, MA, 01752, (508) 263-2900.

Questo prodotto potrebbe essere protetto da uno o più brevetti USA identificati nel sito www.hologic.com/patents.

GARANZIA LIMITATA DEL PRODOTTO

GARANZIE. Si garantisce al cliente originario che le prestazioni dell'apparecchiatura, dei materiali di consumo e del software rimarranno sostanzialmente conformi alle specifiche di prodotto pubblicate per il periodo di un (1) anno a partire dalla data di installazione (se applicabile) o dalla data di consegna, a seconda della condizione che si verifica per prima. Le opzioni post-vendita e gli accessori sono garantiti per sei (6) mesi, mentre i tubi radiogeni sono garantiti secondo il metodo lineare prorata temporis, come indicato nella specifica di prodotto applicabile ("Periodo di garanzia"). Le parti di ricambio sono garantite per la durata rimanente del periodo di garanzia, ovvero per novanta (90) giorni dalla consegna, a seconda della condizione che si verifica per prima. Si garantisce che i materiali di consumo rimarranno conformi alle specifiche pubblicate fino alla data di scadenza riportata sulle rispettive confezioni. Si garantisce che i servizi saranno prestati a regola d'arte. Hologic non garantisce che l'uso dei suoi prodotti sarà ininterrotto o esente da errori, né che i suoi prodotti possano funzionare con prodotti di terzi non autorizzati da Hologic. LA RESPONSABILITÀ IN GARANZIA DI HOLOGIC SI LIMITA ESPRESSAMENTE ALLA RIPARAZIONE O SOSTITUZIONE DEL PRODOTTO (A DISCREZIONE DI HOLOGIC E NELLA FORMA IN CUI È ORIGINARIAMENTE SPEDITO), OVVERO ALLA CORREZIONE DEL SERVIZIO OGGETTO DEL RECLAMO O, A GIUDIZIO DI HOLOGIC, ALL'INDENNIZZO O ACCREDITO AL CLIENTE DI UN IMPORTO PARI AL RELATIVO PREZZO, TARIFFA O ADDEBITO RISCOSSO DA HOLOGIC. LE SUMMENZIONATE GARANZIE SOSTITUISCONO ED ESCLUDONO QUALSIASI ALTRA GARANZIA QUI NON ESPRESSAMENTE DEFINITA, ESPRESSA O IMPLICITA, LEGALE O DI ALTRA NATURA, INCLUSE, A TITOLO PURAMENTE INDICATIVO, EVENTUALI GARANZIE IMPLICITE DI COMMERCIALIZZABILITÀ O IDONEITÀ A UNO SCOPO SPECIFICO. DETTA GARANZIA LIMITATA È CONCESSA UNICAMENTE AL CLIENTE ORIGINARIO E NON PUÒ ESSERE ESTESA O INVOCATA DA UNA TERZA PARTE, QUAND'ANCHE SI TRATTI DI CLIENTI DEL CLIENTE. QUESTA GARANZIA DECADE IN CASO DI TRASFERIMENTO DEL PRODOTTO DA PARTE DEL CLIENTE A QUALSIASI SOGGETTO CHE DETENGA MENO DEL CINQUANTA (50) PER CENTO DI PROPRIETÀ SUL PRODOTTO. POICHÉ ALCUNI PAESI NON CONSENTONO LE ESCLUSIONI DELLE GARANZIE IMPLICITE, LE ESCLUSIONI SUDDETTE POTREBBERO NON VALERE PER TUTTI I CLIENTI. I CLIENTI POTREBBERO ANCHE VANTARE ALTRI DIRITTI, CHE VARIANO DA UN PAESE ALL'ALTRO. Queste garanzie non si applicano qualora il prodotto sia stato: (a) riparato, spostato o alterato da personale diverso dal personale di assistenza autorizzato Hologic; (b) sottoposto ad abuso fisico (anche termico od elettrico), sollecitazioni o uso improprio; (c) conservato, mantenuto o azionato in modo incompatibile con le specifiche o istruzioni Hologic applicabili; ovvero (d) designato come fornito sulla base di una garanzia diversa da quella di Hologic o come pre-release o "come tale".

RIVENDICAZIONI DI GARANZIA E RIMEDI. Nel caso di una rivendicazione in garanzia, Hologic sostituirà con articoli nuovi o riparati qualsiasi parte di apparecchiatura, componente o materiale di consumo fornito che violi la garanzia e compirà ogni ragionevole sforzo per rimediare tempestivamente o trovare una soluzione temporanea a eventuali difetti o bug software che impediscano il funzionamento in sostanziale conformità con le specifiche operative. In alternativa, Hologic può decidere di rimborsare o accreditare al Cliente un importo pari al prezzo d'acquisto dell'apparecchiatura, componente, software o materiale di consumo difettoso ovvero del servizio fornito. Gli articoli sostituiti diventeranno di proprietà di Hologic. Tutte le rivendicazioni devono essere presentate contattando Hologic entro il periodo di garanzia applicabile ed entro trenta (30) giorni dal rilevamento della violazione o non conformità. Si devono concedere ad Hologic accesso e opportunità ragionevoli per ispezionare tutti i materiali associati. Qualora Hologic e il cliente non siano in grado di rimediare a una rivendicazione e il cliente non abbia informato Hologic entro un (1) anno dall'insorgere della rivendicazione, il cliente non avrà il diritto di promuovere conseguenti azioni legali. Questi rimedi costituiscono la sola responsabilità di Hologic e l'unico rimedio disponibile per il cliente in caso di violazione della garanzia e sostituiscono qualsiasi altro rimedio in virtù della normativa vigente o della legalità. Questi rimedi costituiscono la sola responsabilità di Hologic e l'unico rimedio disponibile per il cliente in caso di violazione della garanzia e sostituiscono qualsiasi altro rimedio in virtù della normativa vigente o della legalità.

LIMITAZIONE DI RESPONSABILITÀ. HOLOGIC DECLINA QUALSIASI RESPONSABILITÀ PER EVENTUALI PERDITE, DANNI O SPESE SPECIALI, INCIDENTALI, PUNITIVE, ESEMPLARI O CONSEGUENZIALI (COMPRESA, A TITOLO INDICATIVO, LA PERDITA DI UTILI, DATI O USO), DERIVANTI DIRETTAMENTE O INDIRETTAMENTE DALLA VENDITA, MANIPOLAZIONE, SERVIZIO O UTILIZZO DEL PRODOTTO ORDINATO O FORNITO, OVVERO DA QUALSIASI CAUSA AD ESSI CORRELATA, A MENO CHE CIÒ NON SIA ESPRESSAMENTE CONCORDATO PER ISCRITTO DALLE PARTI. AD ECCEZIONE DELLE LESIONI PERSONALI O DELLA MORTE NELLA MISURA IN CUI SIANO IL RISULTATO DI NEGLIGENZA, COLPA OD OMISSIONE DI HOLOGIC, IN NESSUN CASO HOLOGIC SARÀ RESPONSABILE, IN VIRTÙ DI QUALSIASI TEORIA LEGALE NÉ PER QUALSIASI CAUSA, SULLA BASE DELLA GARANZIA, DEL CONTRATTO, TORTO, NEGLIGENZA O ALTRO PRINCIPIO, ANCHE NEL CASO IN CUI NE FOSSE STATA PREVENTIVAMENTE INFORMATA, PER IMPORTI ECCEDENTI IL PREZZO O COSTO RICEVUTO DA HOLOGIC

Hologic, Cervista, Cleavase, Invader, Invader Call Reporter, PreservCyt e ThinPrep sono marchi commerciali e/o marchi commerciali registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli Stati Uniti e/o in altri paesi.

Tutti gli altri marchi commerciali che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

È possibile che alcuni componenti dell'analisi dell'acido nucleico, quali composizioni e metodi specifici per la manipolazione o la visualizzazione di acidi nucleici per l'analisi, siano coperti da uno o più brevetti di proprietà di terzi. Allo stesso modo, è possibile che gli acidi nucleici contenenti sequenze di nucleotide siano brevettati. La creazione, l'uso e la vendita di tali componenti o acidi nucleici potrebbero richiedere una o più licenze. Nessuna parte di questo documento potrà essere interpretata come autorizzazione o licenza implicita a creare, usare o vendere i componenti o gli acidi nucleici in virtù di questi brevetti.

©2011-2016 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.
Codice 15-3053-701, Revisione 106